

Efecto del estrés osmótico sobre la germinación de semillas de *Tecoma stans* (Bignoniaceae)

Roberto A. Cordero S.

Depto. Biología, Univ. Puerto Rico, Tío Piedras, Puerto Rico 00931.

José F. Di Stefano G.

Esc. Biología, Univ. Costa Rica, San José, Costa Rica.

(Rec. 24-VIII-1990. Acep. 1-II-1990)

Abstract: The germination of *Tecoma stans* (Bignoniaceae) was tested under four concentrations of polyethylene-glycol (PEG), during one month. Germination was strongly inhibited at -1.0 MPa (8.6 %) and was totally arrested at -1.5 MPa. At -0.5, -0.1 MPa, and control treatments, a 72, 88, and 88.6 % germination was obtained, respectively. The germination index showed a reduction of the process speed as the osmotic potential of the solution decreased. An absence of damage was observed after a month of permanent soaking in PEG solutions of -1.0 and -1.5 MPa. This osmotic pretreatment improved and accelerated the initiation of germination.

Key words: *Tecoma stans*, germination, PEG, osmotic stress, Costa Rica.

El período de germinación y establecimiento de las plántulas es altamente importante para la supervivencia de las especies forestales, especialmente en aquellos climas donde la disponibilidad de agua está restringida durante alguna parte del año (Bewley y Black 1982). La capacidad de algunas semillas para germinar en condiciones de estrés hídrico, les confiere ventajas ecológicas pues las plántulas se establecen cuando otras especies sensibles a la sequía no lo pueden hacer (Augspurger 1979, Bewley y Black 1982, Vuillemin 1982, Garwood 1983, 1986). También se ha observado una menor mortalidad de plántulas durante períodos secos en especies resistentes (Fournier y Salas 1967, Augspurger 1979).

La información sobre el efecto de la tensión hídrica en la germinación de árboles tropicales es escasa. Sin embargo, la inhibición de la germinación es el principal efecto observado (Bewley y Black 1982). En algunas coníferas (Tesche 1975, Falusi *et al.* 1983) y en ciertas angiospermas arbóreas (Vuillemin 1982), la resistencia al déficit hídrico favorece su germinación en hábitats secos.

Los requerimientos ambientales y la capacidad de establecimiento de las plántulas de árboles en los bosques tropicales es muy discu-

tida y tiene interés ecológico, especialmente ahora que tales bosques sufren un deterioro acelerado (Vázquez-Yanes 1974, Augspurger 1979, Garwood 1983, Denslow 1987).

Tecoma stans (L.) H. B. K. es un árbol de 10 a 20 m, frecuente en bosques secos caducifolios y húmedos del piso basal al premontano (Holdridge 1964), tales como en las regiones Pacífico norte y central de Costa Rica, y en zonas alteradas. *T. stans* se utiliza como leña y ornamental (Holdridge y Poveda 1975). Florece al comienzo de la estación seca y frutifica a mediados de este período. Las semillas son pequeñas (1.0 cm largo), aplanadas, circunvaladas y con alas hialino-membranosas contenidas en cápsulas alargadas, cilíndricas y dehiscentes.

El presente estudio examina la respuesta germinativa de sus semillas sometidas a varios niveles de estrés hídrico y su efecto como pretreatment de germinación.

MATERIAL Y METODOS

En marzo de 1985, se recolectaron frutos secos sin abrir de varios árboles ubicados en Ciudad Colón, Costa Rica. Estos fueron almacenados en bolsas de papel a temperatura

ambiente, durante siete meses. Se procedió a eliminar las semillas muy pequeñas y dañadas, y se realizó una prueba en la que se obtuvo un 85 % de germinación.

Para la simulación de la tensión hídrica, se prepararon soluciones de PEG (polietilenglicol, masa molar 6000) con potenciales osmóticos de -0.1, -0.5, -1.0 y -1.5 MPa (a 23 C, Michel y Kauffman 1973, Papendick y Campbell 1981). Se prefirió usar PEG en ve de NaCl, glucosa, sacarosa o manitol, debido a que es químicamente inerte y no tóxico, parece no penetrar la cubierta seminal y es estable osmóticamente (Parmar y Moore 1966, Thill *et al.* 1979).

Las semillas fueron enjuagadas en una solución de hipoclorito de sodio al 5 % para luego ser colocadas en cajas de Petri cada una con 10-15 ml de las soluciones de PEG (agua destilada para el testigo). Cada tratamiento incluyó cinco repeticiones con 35 semillas cada uno. Se mantuvieron a temperatura ambiente bajo luz indirecta, por un mes. Las soluciones de PEG se renovaron a los 8 días del ensayo, mientras que al testigo se le agregaba agua destilada regularmente.

Se registró la germinación (diaria inicialmente, luego cada 2-3 días), considerándose efectiva si se observaba la brotación de radículas geotrópicamente positivas (Laboriau 1983).

Para el caso de los tratamientos a -1.0 y -1.5 MPa, las semillas no germinadas al cabo de un mes, fueron trasladadas a platos de Petri con agua destilada. Se observó se germinaban durante 8 días.

El porcentaje y el índice de germinación (IG) fueron calculados según el método propuesto por Scott *et al.* (1984). Se realizó un análisis de variancia de una vía transformándose los porcentajes finales de germinación al arco-seno (Scott *et al.* 1984). La prueba "LSD" de Fisher se utilizó para distinguir diferencias entre tratamientos.

RESULTADOS

La germinación comenzó entre el segundo y tercer día en los dos tratamientos con potenciales osmóticos más altos (testigo y -0.1 MPa, Fig. 1). Para los tratamientos a -0.5 y -1.0 MPa, el inicio de la germinación se detectó hasta el quinto y noveno día. No se registró germinación cuando la solución PEG era de -1.5 MPa.

Al cabo de un mes, los tratamientos con los dos potenciales osmóticos más altos presentaron

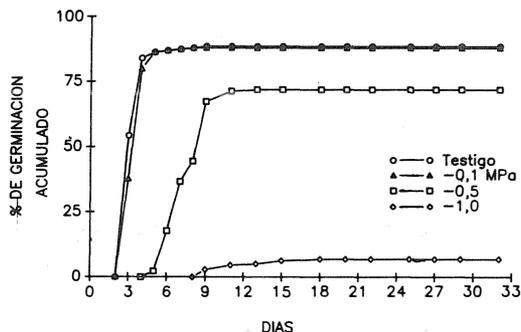


Fig. 1: Germinación acumulada (%) de semillas de *Tecoma stans* H.B.K. en cuatro concentraciones de polietilenglicol.

CUADRO 1

Germinación final acumulada de semillas de *Tecoma stans* e índice de germinación bajo estrés inducido con soluciones de polietilenglicol. Desviación estándar entre paréntesis

| Tratamiento (MPa) | Germinación (%) | Índice de germinación |
|-------------------|------------------|-----------------------|
| 0.0 (Testigo) | 88.6 a (9.7) | 4.02 a (0.53) |
| -0.1 | 88.0 a (14.3) | 4.16 a (0.64) |
| -0.5 | 72.0 a (18.5) | 5.54 b (0.82) |
| -1.0 | 8.6 b (8.1) | 0.76 c (0.95) |
| -1.5 | 0.0c (0.0) | 0.00 c (0.00) |

Letras diferentes indican diferencias significativas ("LSD" Fisher, $p < 0.005$).

la germinación acumulada más alta (88%), reduciéndose en al menos un 16 % en los demás tratamientos (Cuadro 1).

Como demuestra el índice de germinación (IG, Cuadro 1, Fig. 1), las semillas de *T. stans* sometidas a potenciales osmóticos altos tendieron a germinar más rápidamente, y fueron significativamente diferentes cuando se compararon con los potenciales menores de -0.5 MPa. El bajo valor de IG observado en los tratamientos a -1.0 y -1.5 MPa es en parte consecuencia de la escasa germinación.

Cuando se transfirieron las semillas tratadas a -1.0 y -1.5 a agua destilada, se obtuvieron altos

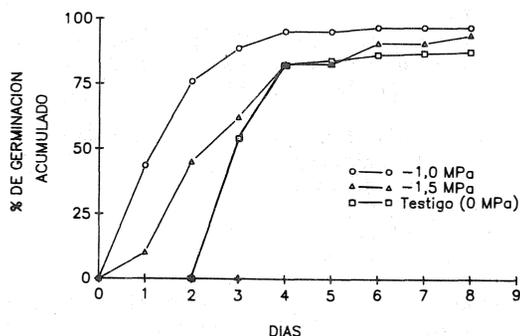


Fig. 2: Germinación acumulada (%) de semillas de *Tecoma stans* pretratadas con soluciones osmóticas de polietilenglicol a -1.0 y -1.5 MPa durante un mes y transferidas a agua destilada. El testigo corresponde al experimento de la Fig. 1.

porcentajes de germinación de 96.8 y 93.0 (Fig. 2), superiores a los del testigo del ensayo anterior. El IG fue de 1.82 y 3.05, y se notó un retraso en alcanzar el máximo de germinación acumulada (Fig. 2). Además, puede observarse que las semillas pretratadas a las concentraciones mayores de PEG iniciaron su germinación tres días antes que el testigo o a -0.1 MPa (Fig. 1 y 2).

DISCUSION

Una fuerte inhibición de la germinación y un retraso en su iniciación conforme decrece el potencial osmótico inducido por PEG, fueron los efectos principales observados en las semillas de *T. stans*. Algunas semillas lograron germinar a -1.0 MPa (Fig. 1, Cuadro 1), aunque parece que el potencial osmótico umbral está entre -0.5 y -1.0 MPa. Se ha demostrado que las semillas producidas por árboles que crecen en lugares secos tienden a tolerar potenciales osmóticos más bajos para germinar, como fue el caso de *Pinus halapensis* (Falusi et al. 1983).

En las semillas pretratadas a -1.0 y -1.5 MPa se observó un aumento en el porcentaje (en aprox. 5 %) y una mayor rapidez en la iniciación (en aprox. 2 días con respecto al testigo) de la germinación. En otros estudios los efectos del pretratamiento han sido aún más fuertes. Por ejemplo, en semillas de apio pretratadas a -1.0 MPa por 21 días a 15 C, germinaron en 1-4 días al transferirlas a agua a 20 C, mientras que las semillas no tratadas tardaron alrededor de 14 días para lograr el 50 % de germinación (Salter y Darby 1976). Bodsworth y Bewley

(1981) encontraron efectos similares en semillas de maíz, trigo y sorgo germinadas en un amplio ámbito de temperaturas, mientras que Heydecker et al. (1973) informan de aumentos significativos en las tasas de brotación de radículas en semillas pretratadas con soluciones de PEG; su magnitud dependió del potencial osmótico, temperatura y duración.

Al cabo de un mes, las semillas en los tratamientos con altos potenciales osmóticos habían cambiado de coloración, y las testas estaban más blandas y gruesas. Esto puede indicar que la imbibición había ocurrido y que sólo el crecimiento (alargamiento) radical resultó afectado. Algunos trabajos realizados con otras especies mostraron respuestas similares (Hegarty y Ross 1978, Ross y Hegarty 1980, Falusi et al. 1983).

La rápida y alta germinación de las semillas pretratadas (Fig. 2) demostró la inexistencia de daños metabólicos permanentes causados por las soluciones PEG, por lo cual éste puede utilizarse como inductor inerte de sequía.

Si se extrapolan estos resultados a las condiciones naturales, las semillas de *T. stans* tendrán una germinación muy baja o nula cuando los potenciales hídricos en el suelo sean igual o menores de -1.0 MPa. Se ha demostrado en especies de bosques semicaducifolios que hasta un 50 % de las dicotiledóneas presentan una alta relación entre sequía y latencia (Garwood 1983).

En ausencia de otros factores limitantes, el estrés osmótico y las lluvias esporádicas al inicio de la estación lluviosa podrían actuar como pretratamiento y favorecer la germinación una vez que los suelos alcancen un déficit moderado de agua en ventaja sobre otras especies. Garwood (1986) encontró que las semillas que germinan tempranamente en claros, producen plántulas de semillas germinadas tardíamente.

Otros aspectos como el tiempo de dispersión, latencia, viabilidad, factores de micrositio e interacciones bióticas particulares podrían también ser causas importantes de variaciones inter e intraespecíficas en el tiempo y la rapidez de germinación (Garwood 1986).

RESUMEN

La germinación de semillas de *Tecoma stans* (Bignoniaceae) se determinó en cuatro concentraciones de polietilenglicol durante un

mes. La germinación fue fuertemente inhibida a -1.0 MPa (8.6 %) y fue totalmente bloqueada a -1.5 MPa. La germinación en los tratamientos a -0.5, -0.1 y testigo fueron 72, 88 y 88.6 %, respectivamente. El índice de germinación (IG) indicó una reducción de la tasa de germinación conforme el potencial osmótico de la solución decreció. No se observaron daños en aquellas semillas que permanecieron durante un mes en las soluciones de PEG a -1.0 y -1.5 MPa. Estos pretratamientos mejoraron y aceleraron la iniciación de la germinación de las semillas.

AGRADECIMIENTOS

Luis A. Fournier, Elemer G. García y Diana García ofrecieron valiosas ideas y comentarios al manuscrito. E. García, Rocío López y Marco V. Gutiérrez contribuyeron con la realización del estudio.

REFERENCIAS

- Augsburger, C. K. 1979. Irregular rain cues and the germination and seedling survival of a Panamanian shrub (*Hybanthus pruniifolius*). *Oecologia* 44: 53-59.
- Bewley, J.D. & M. Black. 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. II. Viability, dormancy and environmental control. Springer-Verlag, Berlín. 375 p.
- Bodsworth, S., & J. D. Bewley. 1981. Osmotic priming of seeds of crop species with polyethylene glycol as a mean of enhancing early and synchronous germination at cool temperatures. *Can. J. Bot.* 59: 672-676.
- Denslow, J.S. 1987. Tropical rain forest gaps and tree species diversity. *Ann. Rev. Syst.* 18: 431-451.
- Garwood, N. 1983. Seed germination in a seasonal tropical forest in Panama: a community study. *Ecol. Monogr.* 53: 159-181.
- Garwood, N. 1985. The role of mucilage in the germination of Cuipo, *Cavanillesia platanifolia* (H. & B.) H.B.K. (Bombacaceae), a tropical tree. *Amer. J. Bot.* 72: 1095-1105.
- Garwood, N. 1986. Constrains on the timing of germination in a tropical forest, p. 347-355 *In*: A. Estrada & T.H. Fleming (eds). *Frugivores and seed dispersal*. Dr. Junk Pub., Berlín.
- Falusi, N., R. Calamasi & A. Tocci. 1983. Sensitivity of seed germination on seedling root growth to moisture stress in four provenances of *Pinus halapensis* Mill. *Silvae Genetica* 32: 4-9.
- Fournier, L.A. & S. Salas. 1967. Tabla de vida para el primer año de la población de *Dipterodendron costaricense* Radlk. *Turrialba* 17: 348-350.
- Hegarty, G. W. & H. A. Ross. 1978. Some characteristics of water sensitivity process in the inhibition of germination by water stress. *Ann. Bot.* 42: 1223-1226.
- Herrera, W. 1985. *Clima de Costa Rica*. Vol. 2. EUNED. San José, 118 p.
- Heydecker, W., J. Higgins & R. L. Guliver. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* 246: 42-44.
- Holdridge, L. R. 1964. *Life Zone Ecology*. Tropical Science Center. San José. 206 p.
- Holdridge, L. R. & L. J. Poveda. 1975. *Arboles de Costa Rica*. Vol. 1. Centro Científico Tropical. San José. 546 p.
- Laboriau, L. G. 1983. *Germination das sementes*. Organización de Estados Americanos. Washington, D.C. 174 p.
- Michel, B. E. & M. R. Kauffmann. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51: 914-916.
- Papendick, R. L. & G. S. Campbell. 1981. The theory and measurement of water potential, p 1-22. *In*: J.L. Parr *et al.* (eds.). *Water potential relations in soil microbiology*. Soil Sci. Soc. Amer. Public. # 19, Madison.
- Parmar, M. T. & R. P. Moore. 1966. Effect of simulated drought by polyethylene glycol solutions on corn (*Zea mays* L.) germination and seedling development. *Agron. J.* 58: 391-392.
- Ross, H. A. & T. W. Hegarty. 1980. Action of growth regulators on Lucerne germination and growth under water stress. *New Phytol.* 85: 495-502.
- Salter, P.J. & R. J. Darby. 1976. Synchronization of germination of celery seeds. *Ann. Appl. Biol.* 84: 415-424.
- Scott, S.J., R. A. Jones & W. A. Williams. 1984. Review of data analysis methods for germination. *Crop Sci.* 24: 1192-1194.
- Tesche, M. 1975. Germination of conifer seeds under conditions of simulated drought stress in polyethylene glycol. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* 167: 577-584.
- Thill, D. C., R. D. Schirman & P.P. Appleby. 1979. Osmotic stability of mannitol and polyethylene glycol 20000 solutions used as seed germination media. *Agron. J.* 71: 105-108.
- Vázquez-Yanes, C. 1974. Studies on the seed germination of *Ochroma logopus* Swartz. *Turrialba* 24: 176-179.
- Vuillemin, J. 1982. Ecophysiologie comparée du développement initial de *Quercus pubescens* Will. et *Q. ilex* L. II. Germination et Ecología. *Mediterranea* 8: 147-151.