

**ESTANDARIZACION DE UNA METODOLOGIA PARA GERMINAR SEMILLAS
DEL HÍBRIDO INTERESPECIFICO *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* EN
CORPOICA - TUMACO¹**

**STANDARDIZATION ONE METHODOLOGY FOR TO GERMINATE SEEDS OF
INTERSPECIFIC HYBRID *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* IN
CORPOICA - TUMACO.¹**

Jennifer Guerrero A.²; Silvio Bastidas P.³; Javier García A.⁴

RESUMEN: En la Estación Experimental El Mira de CORPOICA, ubicada en el municipio de Tumaco, se llevó a cabo esta investigación, justificada por el bajo porcentaje de germinación de las semillas de los híbridos *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* (OxG). Para esto se evaluó el efecto de tres tratamientos: **Estratos** (Exterior, Medio, Interior); **Humedad de las semillas** (18%-22%, 20%-24%, 22%-26%) y **Días de calentamiento** (60, 70, 80, 90 y 100 días a 39°C) utilizando un diseño experimental en Bloques Completos al Azar con arreglo factorial 3x3x5+3, con 3 repeticiones de 50 semillas cada uno (45 tratamientos OxG y 3 tratamientos testigo). La metodología utilizada se basó en el protocolo para germinar semillas Ténera de la especie *Elaeis guineensis* (testigo). El ANDEVA indicó diferencias significativas para Estratos, Humedad de las semillas, Días de calentamiento y la interacción Humedad de las semillas por Días de calentamiento. Se encontró que las semillas OxG del Estrato Exterior del racimo germinan 8,9% y 14,3% más que los Estratos Medio e Interno, respectivamente. El mejor tratamiento para germinar semillas OxG consiste en: Hidratar las semillas en el primer periodo de remojo hasta que alcanzan 20% de humedad, luego calentarlas durante 70 días a 39°C y finalmente colocarlas a germinar cuando alcanzan 24% de humedad en el segundo periodo de remojo; con esta combinación se alcanzó un promedio de 40,37% de germinación. Se identificó que además

¹ Trabajo de grado para optar título de Ingeniero Agrónomo

² Candidata a Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Nariño. jennifer_guerreroa@yahoo.es

³ Investigador Master Principal, Corpoica Estación Experimental El Mira, Tumaco, Nariño. sebastidas@corpoica.org.co

⁴ Profesor Asistente. Ingeniero Agrónomo M.Sc. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Nariño.

de baja germinación, los híbridos OxG presentan poca velocidad de germinación (bajo vigor germinativo) debido a madurez diferencial de los embriones.

Palabras clave: Germinación, Semillas OxG, Híbridos OxG, Estratificación de semillas.

ABSTRACT: In the Experimental Station El Mira de Corpoica, located in the municipality of Tumaco, it carried out this investigation justified by the low percentage of germination of seeds of the hybrids *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*. For this, it was evaluated the effect of three treatments: Stratum (External, Middle, Internal); Humidity of the seeds (18%-22%, 20%-24%, 22%-26%) and Days of heating (60, 70, 80, 90 and 100 days at 39°C) in the Estación Experimental El Mira of Corpoica, municipality of Tumaco, using an experimental design in Randomized Blocks with 3x3x5+3 in factorial arrangement, with 3 replications of 50 seeds each (45 OxG treatments and 3 Ténera treatments witness). The methodology used was based on the protocol for germination of Ténera seeds of the species *Elaeis guineensis*. The ANOVA indicated significant differences for Stratum, Humidity of the seeds, Days of heating and for the interaction Humidity of the seeds by Days of heating. It was found that: seeds of the External stratum of the bunch germinates 8.9% and 14.3% more than the Middle stratum and Internal stratum, respectively. The best treatment for germinating OxG seeds is the following combination of germinative pre-treatments: Soaking until the seeds reach 20% humidity in the first period of soaking, then to apply heat for 70 days at 39°C and finally put to germinate when the seeds reached 24% moisture in the second period of soaking, with this treatment was achieved an average of 40.37% germination. It identified that in addition to low germination, the hybrids have low germination rate (low germinative vigor) due to differential maturation of the embryos.

Keywords: Germination, Seeds OxG, hybrids OxG, Stratification of seeds

INTRODUCCIÓN

El complejo pudrición de cogollo (CPC) es el disturbio más grave reportado en las plantaciones de palma de aceite de Suramérica; en la zona palmera de Tumaco, Colombia su presencia ha sido devastadora. En 2005 reportes recopilados en las plantaciones Astorga, Salamanca, Manigua, Santafé, Santa Elena y La Miranda, indicaban niveles de incidencia acumulada del 0,1 al 0,9% (Torres y Betancourt, 2006); dos años después, diciembre de 2007 el CPC ya estaba presente en más del 95% del área palmera de Tumaco, con una incidencia promedio de 52,5% con variaciones entre plantaciones; se estimó que a corto plazo iba a extenderse al 100% del área (Hurtado y Mercado, 2007). En Tumaco el impacto del CPC ha sido tan grande, que en los próximos cuatro años está programada la resiembra del 50% del área palmera, más de 16.000 ha, con el nuevo cultivar híbrido OxG, en un plan de emergencia concertado con el Gobierno a través del MADR, el sector privado y los productores (MADR *et al.*, 2007).

La solución al problema causado por CPC pareciera venir con la siembra del cultivar híbrido OxG obtenido mediante cruzamiento controlado entre palmas de la especie Nolí (*Elaeis Oleifera*) portadora de genes para resistencia al CPC y palmas de aceite (*Elaeis guineensis*). El híbrido OxG se ha reportado tolerante al CPC (Hartley, 1988; Meunier, 1991; Reyes *et al.*, 2002, Bastidas *et al.*, 2003; Amblard *et al.*, 2004; Torres *et al.*, 2004; Zambrano, 2004; Chinchilla, *et al.*, 2007 y Bastidas *et al.*, 2007).

Con la llegada de un nuevo cultivar llegan nuevos problemas, uno de ellos es la baja germinación de sus semillas; cuatro productores nacionales de semillas del híbrido OxG, Hacienda La Cabaña, Meta; Unipalma, Meta; Indupalma, Cesar y Corpoica El Mira, Nariño y un productor internacional, Embrapa, Amazonas, Brasil, reportan porcentajes de germinación menores al 30%; además, los híbridos OxG presentan las siguientes limitantes tecnológicas como: 1) Baja oferta de semillas a nivel nacional e internacional; 2) Disponibilidad restringida para pequeños y medianos productores de Tumaco, por oferta y por precio; 3) Alto costo de producción, puesto que se requiere manejar grandes volúmenes

de semillas por el bajo porcentaje de germinación; 4) Alto costo de la semilla; el valor de cada semilla germinada en el país varía entre US\$ 2 y 3 por unidad, contra US\$ 0,75 a 0,80 de una semilla germinada de palma de aceite (Casas Comerciales⁵) expresado de otra forma, los productores de semillas están trasladando parte del sobre costo de producción a los palmicultores; 5) Las semillas OxG presentan latencia de tipo exógeno, son recalcitrantes y por consiguiente pierden viabilidad en corto tiempo; 6) Los embriones del híbrido OxG Presentan desarrollo incompleto (inmadurez fisiológica); los anteriores limitantes hacen que la utilización del método tradicional para germinación de semillas de palma de aceite no sea el más adecuado para los híbridos (Corley, 1982; Villa, *et al.*, 2007 y Valbuena, 2008).

El objetivo de esta investigación es adaptar una metodología para aumentar los porcentajes de germinación de las semillas OxG, con base en el protocolo disponible para palma de aceite *Elaeis guineensis*, como medio para contribuir a satisfacer la demanda de este insumo y para reducir los costos de producción.

DISEÑO METODOLÓGICO

La investigación se realizó entre marzo de 2008 y febrero de 2009 en el laboratorio de producción de semillas de la Estación Experimental El Mira de Corpoica en Tumaco, Nariño, con semillas sexuales del híbrido interespecifico *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* (híbrido OxG) del código Cereté x Deli. Como testigo se usaron semillas Ténera de palma de aceite. Fueron evaluados 3 factores con 3, 3 y 5 niveles respectivamente, con un diseño experimental en Bloques Completos al Azar en arreglo Factorial 3x3x5+3, con 3 repeticiones de 50 semillas cada una, generando 45 tratamientos de OxG y 3 tratamientos de Ténera como testigos, para un total de 48 tratamientos (Tabla 1).

⁵ Información suministrada por los productores de semillas del híbrido (La Cabaña, Meta; Unipalma, Meta, Indupalma, Cesar y Corpoica El Mira)

Aplicación de los tratamientos: La metodología empleada explora valores cercanos a protocolos utilizados para germinar semillas Ténera de la especie *Elaeis guineensis* (Ortiz y Fernández, 1994 y Corpoica, 2003). Los factores y niveles en evaluación fueron:

1. Estratos: Entendiendo como Estrato la parte del racimo donde están ubicadas las semillas con respecto al raquis central del mismo. Pasos para estratificar el racimo:

1.1 Seleccionar y cosechar racimos OxG⁶.

1.2 Con una hachuela retirar una a una las espigas del racimo; dividir imaginariamente cada espiga en tres partes iguales equivalentes a tres Estratos, **Interno, Medio y Externo** (Figura 1). Para el caso de frutos desgranados hacer la estratificación según el color del fruto (Figura 2).⁷ En cada Estrato seleccionar 795 semillas.

1.3 Despulpar los frutos para obtener las semillas; desinfectarlas sumergiéndolas durante un (1) minuto en una solución al 15% de hipoclorito de sodio comercial del 5,25%; secarlas en zarandas bajo sombra por 24 horas

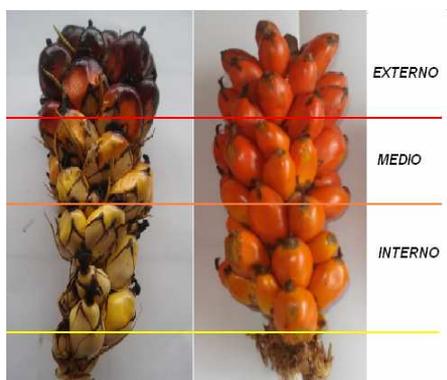


Figura 1. Estratificación del racimo



Figura 2. Estratificación del racimo por color

2. Humedad de las semillas: Este factor corresponde al porcentaje de humedad que deben contener las semillas para romper la latencia; fueron evaluados tres niveles de humedad por parejas: **(18%-22%)**; **(20%-24%)** y **(22%-26%)**. El primer valor de la pareja corresponde a la humedad de las semillas después del primer periodo de remojo, justo al momento de

⁶ Los racimos OxG del Código Cereté x Deli de Corpoica El Mira se caracterizan por ser grandes y contener entre 2.500 y 4.000 semillas pequeñas.

⁷ Baja cantidad de frutos son desgranados con el golpeteo de la hachuela.

iniciar el tratamiento con calor; el segundo valor a la humedad de las semillas después del segundo periodo de remojo, al iniciar el proceso de germinación. Pasos:

- 2.1 Repartir las semillas de cada Estrato en tres grupos de 265 cada uno.
- 2.2 Asignar a cada grupo el primer valor de cada nivel del factor Humedad de las semillas, esto es 18%, 20% y 22%, respectivamente.
- 2.3 Tomar una muestra al azar del 2% de semillas de cada grupo; pesar la muestra fresca y registrar su peso (**pmf**).
- 2.4 Secar la muestra de semillas en un horno por 48 horas a 105°C; luego enfriar durante 6 horas en un desecador de vidrio con sílica gel.
- 2.5 Tomar el peso de la muestra seca y registrar su peso (**pms**).
- 2.6 Calcular el porcentaje de humedad del grupo de semillas con la fórmula:

$$\% H = ((pmf-pms)/pms) \times 100$$

- 2.7 Pesar el 98% restante de las semillas de cada grupo y registrar su peso inicial (**pi**).
- 2.8 Calcular el peso requerido (**PR**) del 98% de las semillas. Este peso garantiza que las semillas alcanzaron el 18%, 20% ó 22% de humedad. El PR se obtiene aplicando una de las siguientes fórmulas, según el tratamiento:

$$PR \text{ para } 18\% = ((pi \times pms)/pmf) \times 1.18$$

$$PR \text{ para } 20\% = ((pi \times pms)/pmf) \times 1.20$$

$$PR \text{ para } 22\% = ((pi \times pms)/pmf) \times 1.22$$

- 2.9 A continuación someter las semillas a remojo por varios días. A partir del decimoquinto día de remojo, pesar las semillas diariamente hasta cuando alcanzan el PR. Colocarlas a la sombra para secar la humedad superficial.
- 2.10 Luego, cada grupo de 260 semillas se divide en cinco subgrupos de 52 semillas.

3. Días de calentamiento de las semillas: Este factor se refiere al número de días de tratamiento con calor aplicado a las semillas. Pasos:

- 3.1 Asignar a cada subgrupo de 52 semillas un tratamiento del factor días de calentamiento: **60 días, 70 días, 80 días, 90 días y 100 días**. Introducir las semillas de cada tratamiento en bolsas plásticas de 25 cm de ancho por 30 cm de largo.

3.2 Doblar la boca de la bolsa, hacer un plisado y amarrar con una banda de caucho dejando una cámara de aire dentro para respiración de las semillas (Figura 3).

3.3 Llevar las bolsas con semillas al cuarto de calentamiento para someterlas a 39°C durante 60 días, 70 días, 80 días, 90 días y 100 días, según el tratamiento (Figura 3).



Figura 3. Semillas sometidas a calentamiento

3.4 Después de transcurrido el tiempo de calentamiento, sacar las semillas del cuarto y repetir con cada uno de los tratamientos, los pasos 2.3 hasta el 2.9. Tomar una muestra del 4% para estimar la humedad, 22%, 24% y 26% según el tratamiento. Las fórmulas de cálculo para el nuevo peso requerido (NPR) son:

$$NPR \text{ para } 22\% = ((pi \times pms)/pmf) \times 1.22$$

$$NPR \text{ para } 24\% = ((pi \times pms)/pmf) \times 1.24$$

$$NPR \text{ para } 26\% = ((pi \times pms)/pmf) \times 1.26$$

3.5 Tratar las semillas mediante inmersión en una solución al 15% de hipoclorito de sodio comercial del 5,25% durante un (1) minuto. Las semillas están listas para iniciar el proceso de germinación.

4. Germinación de Semillas: Tres factores físicos inducen la germinación de las semillas de palma de aceite: Temperatura, humedad y oxígeno (MADR, 1979; Hartley, 1993; Figueredo, 1996 y MPOB, 2000). La temperatura fue suministrada en el cuarto de calentamiento, la humedad durante el primero y segundo períodos de remojo; por lo tanto para que finalmente ocurra la germinación se requiere oxígeno y más humedad. El proceso de germinación se completa con los siguientes pasos:

4.1 Cada día, abrir las bolsas que contienen las semillas de los diferentes tratamientos, extraerlas y extenderlas sobre una toalla absorbente; rociarlas con agua. Dejar al aire libre unos minutos hasta que pierden la humedad superficial.

4.2 Secar el agua de las paredes de la bolsa con una tela absorbente y repetir el paso 3.2.

4.3 Repetir los dos pasos anteriores hasta la germinación de las semillas. La emergencia del embrión a través del poro germinativo es evidencia de germinación. En este trabajo la germinación (variable respuesta) fue monitoreada durante 61 días, revisando y totalizando a los 16, 31, 46 y 61 días después de iniciado el proceso.

Los resultados de los porcentajes de germinación fueron transformados en arco seno previo al Análisis de Varianza (ANDEVA). Para la comparación de medias entre tratamientos se empleó la prueba de Tukey, además se realizaron análisis de regresión y curvas de tendencia para determinar la dependencia entre variables (Steel y Torrie, 1985). Particularidad del diseño: bloquear por el gradiente racimo para contrarrestar el efecto debido al genotipo; un racimo de semillas OxG fue utilizado como bloque del cual salieron las semillas para los 45 tratamientos de una repetición.

Tabla 1. Tratamientos en evaluación generados por la combinación de tres factores y sus niveles

Trat	Etrato + Humedad + Días calentamiento	Trat	Etrato + Humedad + Días calentamiento	Trat	Etrato + Humedad + Días calentamiento
1	Ext + 18 - 22% + 60 días	16	Med + 18 - 22% + 60 días	31	Int + 18 - 22% + 60 días
2	Ext + 18 - 22% + 70 días	17	Med + 18 - 22% + 70 días	32	Int + 18 - 22% + 70 días
3	Ext + 18 - 22% + 80 días	18	Med + 18 - 22% + 80 días	33	Int + 18 - 22% + 80 días
4	Ext + 18 - 22% + 90 días	19	Med + 18 - 22% + 90 días	34	Int + 18 - 22% + 90 días
5	Ext + 18 - 22% + 100días	20	Med + 18 - 22% + 100días	35	Int + 18 - 22% + 100 días
6	Ext + 20 - 24% + 60 días	21	Med + 20 - 24% + 60 días	36	Int + 20 - 24% + 60 días
7	Ext + 20 - 24% + 70 días	22	Med + 20 - 24% + 70 días	37	Int + 20 - 24% + 70 días
8	Ext + 20 - 24% + 80 días	23	Med + 20 - 24% + 80 días	38	Int + 20 - 24% + 80 días
9	Ext + 20 - 24% + 90 días	24	Med + 20 - 24% + 90 días	39	Int + 20 - 24% + 90 días
10	Ext + 20 - 24% + 100días	25	Med + 20 - 24% + 100días	40	Int + 20 - 24% + 100 días
11	Ext + 22 - 26% + 60 días	26	Med + 22 - 26% + 60 días	41	Int + 22 - 26% + 60 días
12	Ext + 22 - 26% + 70 días	27	Med + 22 - 26% + 70 días	42	Int + 22 - 26% + 70 días
13	Ext + 22 - 26% + 80 días	28	Med + 22 - 26% + 80 días	43	Int + 22 - 26% + 80 días
14	Ext + 22 - 26% + 90 días	29	Med + 22 - 26% + 90 días	44	Int + 22 - 26% + 90 días
15	Ext + 22 - 26% + 100días	30	Med + 22 - 26% + 100días	45	Int + 22 - 26% + 100 días
46	Ext + 18 - 22% + 60 días (Testigo)	47	Med + 18 - 22% + 60 días (Testigo)	48	Int + 18 - 22% + 60 días (Testigo)

Trat = Tratamiento Ext = Externo Med = Medio Int = Interno

RESULTADOS Y DISCUSION

El ANDEVA (Tabla 2) indicó diferencias significativas entre tratamientos con respecto a las fuentes de variación: Estrato, Humedad, Días de calentamiento, así como para la interacción entre Humedad y Días de calentamiento. En la Tabla.3 se presentan los resultados de germinación obtenidos en cada uno de los 48 tratamientos.

ESTRATOS: El ANDEVA detectó diferencias estadísticas significativas entre Estratos, indicando que la germinación de las semillas OxG depende de la ubicación de éstas con respecto al raquis del racimo (Tabla 2). Las diferencias entre Estratos fueron apreciables: 8,9% entre Externo y Medio y 14,3% entre Externo e Interno. En los híbridos OxG el mayor porcentaje promedio de germinación se obtuvo con las semillas del Estrato Externo con 24,45%, siendo inferior al 89,67% obtenido por el tratamiento Testigo Ténera Estrato Medio (Tabla 3, Figura 4). Con respecto a palma de aceite Hartley, (1988) reporta que tanto las semillas de racimos inmaduros para la cosecha como las semillas de racimos sobre maduros proporcionan buena germinación.

En los híbridos OxG es válida la hipótesis que los frutos del exterior del racimo contienen las semillas con mayor porcentaje de germinación (Figura 1). Siempre se ha considerado que los frutos del exterior de los racimos tienen mayor grado de madurez y a medida que se acercan al raquis del racimo son menos maduros (Hartley, 1988 y Villa, *et al.*, 2007), sin embargo entran en contradicción con el Testigo, puesto que las semillas Ténera de la parte media germinaron en mayor proporción, indicando que madurez de los frutos no es sinónimo de madurez de los embriones (madurez fisiológica de las semillas) afirmación corroborada por Hartley (1988) quien dice que el grado de madurez del fruto de palma de aceite no tiene efecto en el porcentaje de germinación. En la Figura 2 se aprecia el gradiente de madurez por el color de sus frutos; la diferencia entre Estratos es marcada en palma de aceite, en cambio no lo es tanto en los frutos del híbrido OxG, sin embargo en palma de aceite esta diferencia no afecta el porcentaje de germinación.

Tabla 2. Cuadrados Medios del análisis de varianza para el porcentaje de germinación de las semillas del híbrido OxG. Datos transformados con Arco seno ($\sqrt{X+1}$).

Fuente	Grados de libertad	Cuadrados Medios
ESTRATOS	2	1704.14**
HUMEDAD	2	1243.13**
CALOR	4	534.73*
ESTRATOS*HUMEDAD	4	70.920
ESTRATOS* CALOR	8	59.32
HUMEDAD* CALOR	8	432.83*
ESTRATOS*HUMEDAD* CALOR	16	31.03
ERROR	99	216.50

*= Significativo al 5% de probabilidad; **= Significativo al 1% de probabilidad

Tabla 3. Porcentajes de germinación de las semillas del híbrido OxG para los factores Estrato, Humedad de las semillas y Días de calentamiento, con sus respectivos niveles

Especies	Estratos	%	Días de Calentamiento					Promedio Estratos
			Humedad	60 Días	70 Días	80 Días	90 Días	
OxG	EXTERNO	18 – 22	21.58	25.08	28.90	25.55	21.48	24.52
		20 – 24	20.74	40.37	23.08	23.65	11.04	23.78
		22 – 26	25.86	36.30	28.97	19.07	15.04	25.05
	MEDIO	18 – 22	10.93	18.69	22.31	15.82	19.19	17.39
		20 – 24	14.01	26.07	11.05	12.75	19.19	16.61
		22 – 26	7.40	16.48	19.50	9.45	10.61	12.69
	INTERNO	18 – 22	8.59	6.74	6.32	14.67	12.50	9.76
		20 – 24	5.63	7.64	12.19	7.02	5.83	7.66
		22 – 26	5.04	20.37	10.61	17.31	11.54	12.97
	Promedio Estratos	Externo	22.73	33.92	26.98	22.76	15.85	24.45
		Medio	10.78	20.41	17.62	12.67	16.33	15.56
	Promedio %	Interno	6.42	11.58	9.71	13.00	9.96	10.13
		18 – 22	13.70	16.84	19.18	18.68	17.72	17.22
	Humedad	20 – 24	13.46	24.69	15.44	14.47	12.02	16.02
22 – 26		12.77	24.38	19.69	15.28	12.40	16.90	
Promedio Días de calentamiento			13.31	21.97	18.10	16.14	14.05	16.71
TENERA	EXTERNO	18 – 22	76.75	-	-	-	-	76.75
	MEDIO	18 – 22	89.67	-	-	-	-	89.67
	INTERNO	18 – 22	77.26	-	-	-	-	77.26
	Promedio		81.23	-	-	-	-	81.23

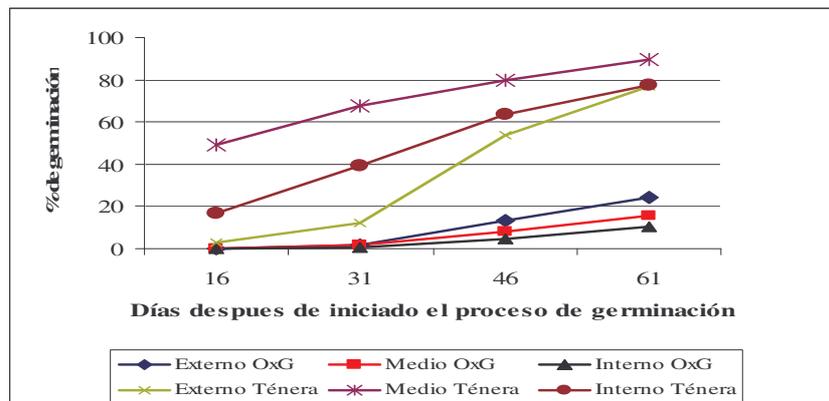


Figura 4. Porcentajes de germinación tomando en cuenta el Estrato del racimo

El bajo porcentaje de germinación de las semillas OxG se debe tanto a factores endógenos (esterilidad, inmadurez embrionaria, etc.) como a factores exógenos (restricciones, latencia, inhibiciones químicas, etc.) (Hartmann y Kester, 1981). Cabe recordar que los híbridos OxG son el resultado del cruzamiento artificial entre plantas de especies diferentes del mismo género; la naturaleza proporciona ejemplos sobre la esterilidad de los híbridos interespecíficos; en los animales la mula es el ejemplo más conocido. La existencia de factores restrictivos que inducen latencia prolongada en las semillas OxG explican los resultados, puesto que investigaciones relacionadas con germinación in Vitro de embriones OxG, indican porcentajes de germinación superiores al 84%, contradiciendo la hipótesis sobre la esterilidad de los embriones híbridos (Villa, *et al.*, 2007 y Valbuena, *et al.*, 2008).

El bajo porcentaje de germinación de las semillas OxG representa para los productores manejar grandes volúmenes de semillas para poder atender la demanda, lo cual significa mayor espacio en infraestructura, mano de obra adicional y mayor cantidad de insumos, que se traduce en altos costos de producción. Para minimizar costos se debe hacer más eficiente el proceso de germinación de semillas, mediante selección y descarte de aquellas que de antemano se sabe que no van a germinar, adicionalmente se recomienda eliminar las semillas del estrato interno porque presentan bajo porcentaje de germinación (10,13%) disminuyendo así en más de 1/3 el volumen de semillas a manejar (figura 5).

La Figura 5 representa el volumen de semillas que se pierde antes de iniciar el proceso de germinación. Únicamente el 43,77% de las semillas de un racimo OxG del código Cereté x Deli, entran a proceso de germinación; por lo tanto es sobre esta cantidad de semillas donde se deben enfocar los esfuerzos para identificar aquellas con bajos niveles de germinación.

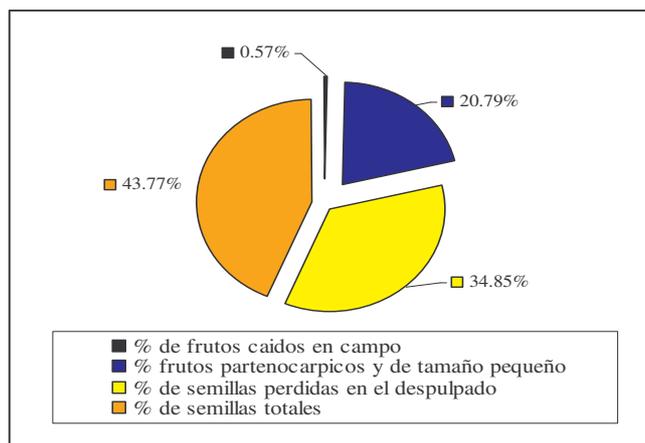


Figura 5. Frutos perdidos por racimo antes de iniciar el proceso de germinación de las semillas OxG

HUMEDAD DE LAS SEMILLAS: El ANDEVA (Tabla 2) detectó diferencias significativas en los porcentajes de germinación según la humedad de las semillas durante el primero y segundo períodos de remojo, confirmando que este tratamiento pregerminativo es un factor importante para romper la latencia de las semillas junto con la temperatura y el oxígeno; tanto que si falta uno de los tres el proceso de germinación falla (MADR, 1979; Hartley, 1993; Figueredo, 1996 y MPOB, 2000.). El exceso de humedad también es perjudicial porque causa deterioro del embrión y retarda el proceso germinativo (Hartley, 1988).

Se encontró que la germinación promedio de las semillas OxG acondicionadas con 18% y 22% de humedad, después del primero y segundo periodos de remojo respectivamente, fue 17,22%; con humedad de 22% y 26% germinaron en promedio 16,90%, mientras que con 20% y 24% de humedad germinaron 16,02% de las semillas (Tabla 3). Los dos tratamientos extremos son los mejores, por lo tanto cabe suponer que existen niveles óptimos por encima y por debajo de los porcentajes de humedad hasta ahora empleados en el Laboratorio de

semillas de Corpoica El Mira. Los resultados permiten dejar planteada la siguiente hipótesis para resolver en otra investigación: 18% es la humedad ideal de las semillas OxG para entrar al cuarto de calentamiento y 26% la humedad ideal para la germinación de las semillas.

Considerando los tres niveles de humedad, se encontró que las semillas OxG empiezan a geminar 15 días más tarde con respecto al testigo Ténera. Por otra parte, la mayor cantidad de semillas germinadas del híbrido OxG se obtuvo entre los 46 y 61 días en los tres niveles del factor humedad (Figura 6) indicando que la latencia de las semillas OxG es más larga que la latencia de las semillas Ténera.

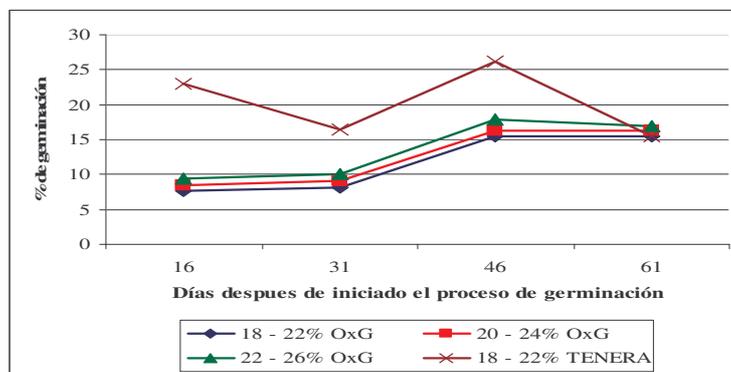


Figura 6. Porcentaje de germinación de las semillas OxG tomando en cuenta el porcentaje de humedad

Los resultados demuestran amplia variabilidad en la madurez de los embriones dentro del racimo. Para ganar en conocimiento, se recomienda monitorear la germinación a los 76, 91 y 106 días, con el fin de determinar la fecha cuando empieza a declinar la germinación de las semillas OxG con respecto a la lectura anterior.

La baja velocidad de germinación por muchos días indica variabilidad en la madurez fisiológica de los embriones, razón que explica el bajo vigor germinativo de las semillas OxG, entendiendo como vigor a la velocidad o tiempo para la germinación (Hartmann y Kester, 1981).

Un análisis de regresión entre los días de remojo de las semillas OxG y porcentaje de humedad alcanzado por estas, presenta una relación directa, ajustándose a un modelo de regresión lineal; esto significa que a medida que transcurren los días las semillas absorben cantidades más o menos constantes de humedad (Figura 7). Lógicamente, se espera que la tendencia cambie cuando las semillas se acerquen al punto de saturación.

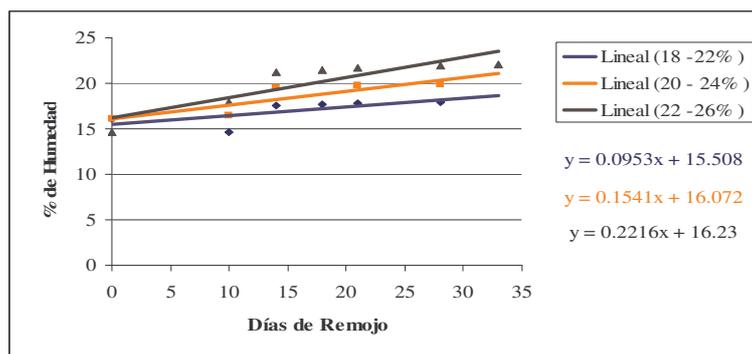


Figura 7. Variación porcentual del contenido de humedad de las semillas respecto a los días de remojo

El bajo porcentaje de germinación de las semillas OxG se puede explicar en parte, debido a que estas pierden humedad rápidamente. En palma de aceite la pérdida de humedad bajo condiciones de sombra, también sigue una tendencia lineal, pero en este caso es inversa y con una pendiente menos pronunciada (Hartley, 1988). Bajo condiciones de laboratorio se ha encontrado que la pérdida de humedad en las semillas disminuye la viabilidad de los embriones a nivel del haustorio y la radícula (Figura 8), en tal grado que pierden conexión con el endospermo, el cual aporta los nutrientes necesarios para el proceso de germinación (Villa *et al.*, 2007 y Rendón, 2008). En palma de aceite la viabilidad de las semillas disminuye paulatinamente, encontrando alto porcentaje de semillas viables aún después de 12 meses de almacenamiento (Hartley, 1988 y Corpoica, 2003). Es posible que las semillas OxG pierdan humedad más rápidamente que las semillas de palma de aceite; hasta la fecha se desconoce el tiempo que las semillas OxG pueden permanecer viables bajo almacenamiento.



Figura 8. Patrones de tinción con Tetrazolio en los embriones de palma de aceite, indicando diferentes niveles de viabilidad según la intensidad del color

En la Figura 8 se aprecia que además de los embriones viables (coloreados) y de aquellos no viables o muertos (blancos) pueden aparecer embriones parcialmente coloreados con diferentes grados de tinción en regiones esenciales (radícula, plúmula, eje embrional y haustorio) como lo reporta Rendón (2008)

DÍAS DE CALENTAMIENTO: Con respecto a los días de calentamiento, el ANDEVA indicó diferencias significativas, existiendo una tendencia de superioridad cuando se calientan las semillas OxG por espacio de 70 días (Tabla 2).

Consistentemente se informa que el método de calor seco es útil para acelerar la germinación; las semillas tratadas con calor entre 38° y 40°C por períodos de 40 a 60 días, con un contenido óptimo de humedad aceleran y aumentan la germinación, de igual forma, la tensión de oxígeno acelera el proceso de germinación, sin embargo, a temperatura ambiente el aumento de la tensión de oxígeno no es efectivo. Esto demuestra la importancia del calentamiento de las semillas, la humedad y del suministro de oxígeno (Kin, 1981; Addae-Kagyah 1988; Hartley, 1988 y Corrado y Wuidart 1990).

Está comprobado que las semillas de palma de aceite necesitan pasar por un periodo de 60 a 80 días de calentamiento, a temperatura entre 38°C y 40°C, a una humedad de 22% para lograr una germinación satisfactoria (Quesada, 1997); por su parte, Figueredo, (1996) dice que sometiendo semillas de Nolí (*Elaeis oleifera*) y de cruzamientos OxG a temperaturas de 38 a 39.5°C durante 105 días, con 18 a 23% de humedad y con oxigenación máxima posible se puede obtener un alto porcentaje de germinación.

Un análisis de regresión entre periodos quincenales de conteo de semillas germinadas y el porcentaje de germinación, indica que hasta los 61 días (último registro en este trabajo) se presenta una relación directa, propia de un modelo de regresión lineal; esto significa que a medida que transcurre el tiempo aumentaba el número de semillas germinadas. Este análisis está demostrando que aún no se ha llegado al tope de germinación, que 61 días después de iniciado el proceso aún quedan semillas viables, comprobando nuevamente el bajo vigor germinativo de las semillas OxG (Figura 9).

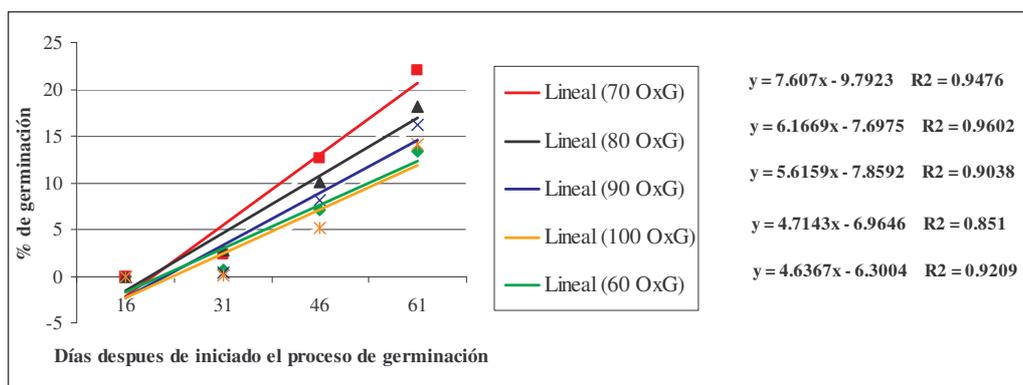


Figura 9. Porcentaje de germinación tomando en cuenta los incrementos en cada periodo de conteo de semillas germinadas del híbrido OxG.

En la Figura 9 se observa que el mejor tratamiento para germinar semillas OxG consiste en calentar las semillas durante 70 días, seguido de cerca por el tratamiento 80 días. Se recomienda monitorear la germinación desde 65 hasta los 75 días de calentamiento, puesto que 60 días de calentamiento fue el peor tratamiento y a partir de 80 días empieza a descender la germinación. Todos los tratamientos están muy por debajo de las semillas Ténera calentadas durante 60 días.

El ANDEVA (Tabla 2) indica una interacción estadísticamente significativa entre la humedad de las semillas y los días de calentamiento a que fueron sometidas; en la figura 10 se nota que el porcentaje de germinación de las semillas OxG es diferente según la combinación de niveles de humedad y días de calentamiento.

Cuando las semillas se calientan durante 70 días y tienen 18–22% de humedad, su germinación es menor que cuando tienen 20–24% ó 22–26%; en cambio cuando se calientan durante 80 días o más y tienen 18–22% de humedad su germinación es mayor que cuando tienen 20–24% ó 22–26%, demostrando la interacción. Se puede concluir que es necesario decidir el porcentaje de humedad y los días de calentamiento correctos para germinar semillas OxG.

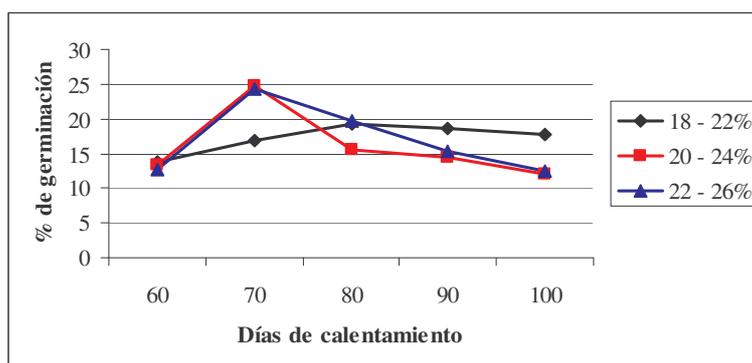


Figura 10. Porcentajes de germinación de semillas OxG en función de los porcentajes de humedad y los días de calentamiento

ANÁLISIS GENERAL: Según la prueba de Tukey, con el tratamiento 7 se obtiene el mayor promedio de germinación con 40,37%, seguido por el tratamiento 12 con 36,30% de germinación. Estos dos tratamientos demuestran la importancia de la humedad para romper la latencia de las semillas, puesto que con una variación del 2% en humedad se incrementa la germinación en 4,07% (40,37-36,30) de semillas germinadas. La combinación de factores y niveles de más bajo comportamiento fue el tratamiento 41 con tan solo 5,04% de semillas germinadas. Comparando el primero y el último tratamiento se deduce el efecto de escoger el estrato, la humedad y los días de calentamiento adecuados, sobre la germinación; en este caso la diferencia fue de 35,33% (Figura 11).

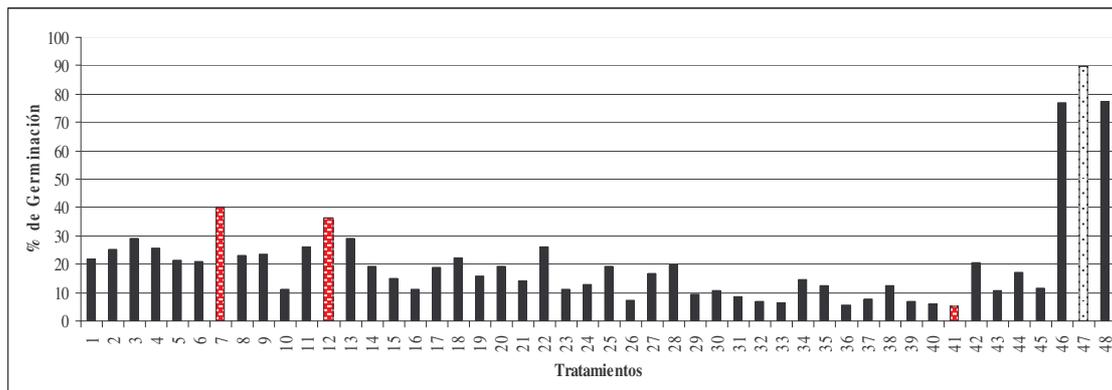


Figura 11. Comparación de 48 tratamientos con relación al porcentaje de germinación de de las semillas de los híbridos OxG y del testigo Ténera de palma de aceite

En Corpoica La Selva, Rionegro, Antioquia, utilizando el método de tinción por Tetrazolium se encontró que la viabilidad de los embriones OxG es de 44,21%, mientras que 70,02% fue la viabilidad de los embriones Ténera de palma de aceite (Rendón, 2008). Estos datos son similares a los obtenidos con el tratamiento 7 (40,37%) y con el testigo Ténera (89,67%) por lo tanto validan resultados de la presente investigación. Se deduce que la germinación de las semillas OxG está correlacionada con el porcentaje de viabilidad de sus embriones. El tratamiento 7 debe ser el protocolo adoptado para germinar semillas del híbrido OxG del código Cereté x Deli; además es necesario validar este protocolo con semillas OxG del código Cereté x Yangambi, también de Corpoica El Mira.

Por otra parte, en Corpoica Tibaitatá, Mosquera, Cundinamarca, se encontró 84,37% de germinación de embriones de las semillas OxG In Vitro de en medios nutritivos, a pesar que las pruebas de viabilidad de dichos embriones con tetrazolium indicaban valores desde 2% hasta 65% dependiendo del tiempo de desecación (Villa, *et al.*, 2007). En otra investigación en curso, también en Corpoica Tibaitatá, están obteniendo desde 78 hasta 90% de embriones germinados In Vitro, con 97.8% de sobrevivencia bajo condiciones Ex Vitro, dos meses después de su germinación (Valbuena, 2008). La comparación de estos resultados con la germinación de las semillas OxG (40,37%) del presente trabajo permite confirmar la existencia de factores exógenos que están causando latencia prolongada en las

semillas OxG, puesto que la germinación in vitro es alta en comparación con la germinación tradicional en los mismos materiales genéticos. Por otra parte desmienten la hipótesis de la baja viabilidad de los embriones OxG (semillas).

CONCLUSIONES

- Las semillas OxG del Estrato Exterior del racimo presentan mayores porcentajes de germinación, que las semillas de los estratos Medio e Interior, seguidas de cerca por las semillas del Estrato Medio.
- El mejor tratamiento, consiste en colocar a germinar únicamente las semillas del Estrato Externo, hidratar las semillas hasta que alcanzan 20% de humedad en el primer periodo de remojo, luego calentarlas durante 70 días a 39°C y finalmente colocarlas a germinar cuando alcanzan 24% de humedad en el segundo periodo de remojo. Con este tratamiento se obtuvo un promedio de 40,37% de germinación; 10% más con respecto a la germinación promedio registrada por diferentes productores de este tipo de semillas a nivel nacional (30%).

RECOMENDACIONES

- Eliminar las semillas del Estrato Interior para ganar espacio en cuartos de calentamiento, de germinación y en los tanques de hidratación; para aumentar el volumen de germinación y disminuir costos.
- Se recomienda adoptar este protocolo en el laboratorio de producción de semillas de la Estación Experimental El Mira de Corpoica - Tumaco, para germinar semillas de los híbridos OxG del código Cereté x Deli.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Addae-Kagyah, K.W. 1988. Effect of seed storage, heat pretreatment and its duration on germination and growth of nursery stock of the idolatrica palm, *Elaeis guineensis* var *idolatrica* (Chevalier). Tropical Agriculture (Trinidad) 65 (1): 77 – 83.
- Amblard, P., Billotte, N., Cochard, B., Durand, T., Jacquemard, C.J., Louise, C., Novy, B., Potier, F. 2004. El mejoramiento de la palma de aceite *Elaeis guineensis* y *Elaeis oleifera* por el Cirad – CP. Palmas, volumen especial, Colombia 25(2): 306 – 310.
- Bastidas, P. S.; Peña, R. E.; Reyes, C. R. 2003. Avances sobre el comportamiento de los híbridos de primera generación de retrocruzamiento entre palma americana (*Elaeis oleifera*) y palma africana (*Elaeis guineensis*). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA. Revista Regional, Novedades Técnicas Vol 3(3):32-36.
- Bastidas, S., Peña, E., Reyes, R., Tolosa, W. 2007. Comportamiento agronómico del cultivar híbrido RC1 de palma de aceite (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) x *Elaeis guineensis*. En: Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria. Vol 8(1): 5 – 11.
- Chinchilla, C., Alvarado, A., Albertazzi, H, Torres, R. 2007. Tolerancia y Resistencia a las Pudriciones Del Cogollo en fuentes de diferente origen de *Elaeis guineensis*. Palmas. (Colômbia)Volumen especial 28 (1): 273 – 284
- Corley, R.H.V. 1982. Chapter 3: Germination and seedling growth. pp. 23 – 36. Second edition. En: Developments in Crop Science (1): Oil Palm Research. Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- CORPOICA. 2003. Procedimiento técnico para la producción de semillas de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) de material mejorado obtenido por Corpoica en el Centro Experimental el Mira. Tumaco. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - CORPOICA. p 52 – 68.
- Corrado, F.; Wuidart, W. 1990. Germinación de las semillas de palma Africana (*E. guineensis*) en bolsas de polietileno. Método por “calor seco”. Oléagineux 45 (11): 516 – 518.
- FigueredoV.,H.P. 1996. Proceso germinativo de la semilla de palma de aceite, pp.55-68. En: Memorias. Primer curso internacional de palma de aceite. Centro de investigacion de Palma de Aceite CENIPALMA. Santafé de Bogotá. D.C., Colombia, 433p.
- Hartley, C.W.S. 1988. the oil palm (*Elaeis guineensis* J.). tercera edicion. Longman Scientific and Technical. 762 p.
- Hartley, C.W.S. 1993. La palma de aceite. C.E.C.S.A., México, pp:181-191
- Hartmann, T., Kester, E. 1981. Propagación de plantas principios y prácticas. Segunda impresión. Editorial Continental. Mexico. 814 p.
- Hurtado, R.; Mercado, H. 2007. Determinación del número de hectáreas afectadas por pudrición de cogollo y porcentaje de incidencia. Taller técnico científico sobre avances y resultados en los procesos de investigación y manejo del complejo pudrición del cogollo en Tumaco. San Andrés de Tumaco, Colombia. Octubre 24 y 25. CD ROM.

Kin, T.T. 1981. Investigations into fruit set capacities of the *Elaeis oleifera* Ander controlled pollination conditions and germination requirements of the interespecific *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis* (pisifera) hybrid seeds. Planter, Kuala Lumpur 57: 444 – 451.

MADR; CORPOICA; CENIPALMA; FEDEPALMA. 2007. Taller técnico científico sobre avances y resultados en los procesos de investigación y manejo del complejo pudrición del cogollo en Tumaco. San Andrés de Tumaco, Colombia. Octubre 24 y 25. CD ROM.

MADR; INSPV. 1979. Manual para evaluación de plántulas en análisis de germinación. Coruña, Madrid. 130 p.

Malaysian Palm Oil Board (MPOB). 2000. Advances in oil palm Research. Malaysia, Ministry of Primary Industries, 775 p.

Meunier, J. 1991. Una posible solución genética para el control de Pudrición de Cogollo en la palma aceitera: híbrido interespecifico *E. oleifera* x *E. guineensis*. Palmas (Colombia) 12 (2). p 39 – 42.

Ortiz, V.R., Fernández, H.O., 1994. El cultivo de la palma aceitera. EUNED (Costa Rica) pp 50-51.

Quesada, G. 1997. Tecnología de palma aceitera Cultivo e industria de la palma aceitera (*Elaeis guineensis*) En: Ministerio de Agricultura y Ganadería INTA http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec_palma.pdf 42p.; consulta marzo 2009.

Rendón, C. 2008. Viabilidad de embriones y polen en algunas variedades e híbridos de palma de aceite. Trabajo para optar al título en Ingeniería Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. Medellín. 57p.

Reyes, C. R.; Bastidas, P. S.; Peña, R. E. 2002. Proceso de obtención de materiales mejorados de palma de aceite (*Elaeis guineensis*) Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA. Revista Regional, Novedades Técnicas Vol 3(1):26-32.

Steel y Torrie. 1985. Bioestadística: Principios y Procedimientos. Segunda edición. McGRAW-HILL. Bogota. Colombia. 622 p.

Torres, M; Rey, L; Gelves, F; Santacruz, L. 2004. Evaluación del comportamiento de los híbridos interespecificos *Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*, en la plantación Guaicaramo S.A. Palmas (Colombia), volumen especial 25 (2), p 350 – 357.

Torres, S. J. L.; Betancourt, M. F. 2006. Situación actual de la pudrición del cogollo (PC) en la zona occidental. Curso taller Manejo de la pudrición de cogollo en la zona occidental. San Andrés de Tumaco, Colombia. (Medio Magnético, CD).

Valbuena, B. R. I. 2008. Germinación in vitro de semillas del híbrido ínterespecífico (*Elaeis oleifera* x *Elaeis guineensis*) con tolerancia a la pudrición del cogollo, para contribuir a la renovación de plantaciones en el núcleo productivo del municipio de Tumaco Nariño, como estrategia de manejo integrado de la enfermedad. Proyecto de investigación en formato Sistema Integral de Gestión de Proyectos. Convocatoria del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural 2008.

Villa, A.; Jiménez, P.; Valbuena, I.; Bastidas, S.; Núñez, M., 2007. Estudio preliminar para el establecimiento de un protocolo de crioconservación para palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Agronomía Colombiana* 25 (2), p 215 – 223.

Zambrano, R, J. E., 2004. Los híbridos interespecíficos *Elaeis oleifera* (H.B.K) Cortés x *Elaeis guineensis* Jacq. Una alternativa de renovación para la Zona Oriental de Colombia. *Palmas (Colombia)*, volumen especial 25 (2): 339 – 349.