

ARTICULOS GENERALES

Efectividad de la encapsulación de semillas forestales para la reforestación de montañas

Effectiveness of the capsulation of forest seeds for the reforestation of mountains

Nadina Nieves¹; Iris Capote¹; Yaima Pino¹; Eulogio Cárdenas².

1.Laboratorio de Cultivo de Células y Tejidos, Centro de Bioplantas, UNICA, CP 69450, Ciego de Avila, Cuba. Teléfono: 5333 225768 – 208177.

E-mail: nnieves@bioplantacuba.cu, nadina_nieves2001@yahoo.com

RESUMEN. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la encapsulación sobre la germinación de semillas de especies forestales de bajo peso para su utilización en las siembras masivas aéreas. Se trabajó con semillas de *Casuarina equisetifolia*, *Colubrina arborescens*, *Guazuma tomentosa*, *Hibiscus elatus*, *Albizia lebeck*, *Leucaena leucocephala*, *Tectona grandis* y *Calophyllum antillanum*. Para formar las cápsulas se usaron suelos rojo y pardos solos o combinados con zeolita y Stockosorb. La germinación se evaluó en canteros. Ambos suelos mostraron buenos resultados combinados con zeolita. La cápsula de suelo negro favoreció la germinación en algarrobo y teca, con diferencias estadísticas en el segundo caso. Mientras que la afectó ligeramente en bijáguara y guásima, sin diferencias estadísticas, aunque sí en el caso de la leucaena. En el suelo rojos la teca y la majagua mejoraron su germinación significativamente por el encapsulado, mientras que se redujo en la guásima, el ocuje, la bijáguara y el algarrobo de forma significativa.

Palabras clave: Reforestación, semilla, zeolita.

ABSTRACT. The objective of the work was to evaluate the effect of the encapsulation on the germination of seeds of forest species of low weight for its use in the aerial massive sowings. Was worked with seeds of *Casuarina equisetifolia*, *Colubrina arborescens*, *Guazuma tomentosa*, *Hibiscus elatus*, *Albizia lebeck*, *Leucaena leucocephala*, *Tectona grandis*, *Calophyllum antillanum*, *Swietenia mahogany*. In order to form the capsules red ground and dark ground single or combined with zeolite and Stockosorb were used. The germination was evaluated in stonecutters. Both used types of ground showed good results combined with zeolite. In black ground in carob tree and theca the germination by effect of the capsule was favoured, with statistical differences in the second case. Whereas in colubrina and guasuma was affected slightly, without statistical differences, although yes in the case of the leucaena. In the red ground the theca and Hibiscus significantly improved their germination by the encapsulation, whereas it was reduced in guasuma, calophyllum, colubrina and the mahogany tree of significant form.

Key words: Reforestation, seed, zeolite.

INTRODUCCIÓN

La semilla es el vehículo que conecta una generación con otra en gran parte del reino vegetal. Por medio de la semilla, las plantas son capaces de transmitir su constitución genética en forma generacional y por lo tanto, las semillas son el medio de multiplicación, almacenaje y dispersión más adecuado. Son el sistema ideal de propagación; ellas contienen cantidades

importantes de sustancias de reserva que aseguran el crecimiento y establecimiento de las plántulas y son quiescentes para minimizar la respiración y maximizar la longevidad. Están recubiertas por una testa que permite su manipulación y reduce el ataque de patógenos (McKersie, 1995)

El tratamiento de las semillas es un método ampliamente usado para incrementar su germinación. Por ejemplo, se han cubierto semillas con compuestos peróxidos que proveen oxígeno a las semillas plantadas en condiciones de suelos anóxicos o cercanos a la anoxia (Leaver y Roberts, 1984). En otros casos el retardo de la germinación se ha investigado a través de la inhibición para prevenir los daños imbibicionales del frío de semillas que se siembran en un suelo húmedo y frío (Priestly and Leopold, 1985; Taylor *et al.*, 1992). Otras tecnologías de la semilla se han focalizado sobre la aplicación de macro y microelementos o bacterias beneficiosas para mejorar el crecimiento temprano de la planta (euto y Archie, 1978; Glick, 1995; Bashan, 1998). Para incrementar la absorción de nutrientes, algunos investigadores han tratado semillas con microorganismos beneficiosos que pueden proliferar sobre la semilla y mejorar la fijación de nitrógeno (Tonkin, 1984; Kanvinde y Sastry, 1990)

Por otra parte, la encapsulación de semillas se utiliza ampliamente en el mundo y se justifica en aquellas especies que presentan semillas de muy pequeño tamaño como el tabaco, la lechuga, etc. Igualmente estos métodos son ampliamente usados para la conservación, el manejo y el intercambio de material de especies forestales (Maruyama *et al.*, 1997), fundamentalmente mediante el encapsulado de yemas y ápices meristemáticos como en olivo (Micheli *et al.*, 1998), manzana (Piccioni, 1997; Capuano *et al.*, 1998), guayaba (Danso y Ford-Lloyd, 2003) y cultivos hortícolas (Rao *et al.*, 2000). Mientras que Popeia *et al.* (1992) la utilizaron con ventajas económicas en la siembra aérea de las semillas encapsuladas de *Tibouchina* spp.

La encapsulación de semillas botánicas, según diferentes autores, se realiza con dos objetivos fundamentales:

1. Cambiar la conformación externa de las semillas, según Kaufman (1991) cuando las semillas no encapsuladas son demasiado pequeñas, ligeras o variables en el diámetro. (Pompeia *et al.*, 1989)

2. Mejorar el ambiente cercano donde se producirá la germinación de la semilla y el desarrollo de la planta, mediante la adición de reguladores del crecimiento, fungicidas y microorganismos beneficiosos. (Heacox *et al.*, 1989; Vavrina y McGovern; 1990; Garret *et al.*, 1991)

Uno de los materiales más utilizados en la encapsulación de semillas botánicas es el alginato de sodio, pero presenta el inconveniente de que se deshidrata muy fácilmente y es atacado rápidamente por hongos y bacterias. (Redenbaugh *et al.*, 1988)

Existe una rica variedad de formas, tamaño y peso de las semillas, independientemente de la planta de procedencia, ya sea una pequeña herbácea o un corpulento árbol. Estas cualidades son factores a evaluar a la hora de establecer un método de plantación. En el caso de los forestales, los cuales constituyen la cubierta de la mayor parte de las zonas montañosas, la fragilidad de las semillas se convierte en una limitante cuando el acceso no permite la plantación de posturas y por vía aérea es difícil ubicarlas debido a la velocidad de los vientos y el impulso que proporcionan los equipos de aspersión.

En este estudio se describe un método de encapsulación de semillas de árboles forestales, el cual permite incrementar su peso y tamaño con vistas a su utilización en las siembras masivas aéreas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con especies de alto interés forestal para los programas de reforestación de las zonas de montaña en Cuba, algunas de las cuales tienen semillas extremadamente frágiles y otras recalcitrantes para los procesos de vivero y germinación.

Para la conformación de la cápsula se utilizaron como sustrato suelos rojos (ferralítico rojo compactado) y negros (oscuro plástico gleisoso) de fácil compactación. Se utilizó además Stockosorb (copolímero de ácido acrílico y acrilamida, de 400F, granulado fino, un absorbente de agua activo por dos años en el suelo), y zeolita (mineral ionicamente activo), los que sirvieron como componentes adicionales para favorecer la germinación.

Especies evaluadas:

Casuarina (*Casuarina equisetifolia*)
 Bijáguara (*Colubrina arborescens*)
 Guásima (*Guazuma tomentosa*)
 Majagua (*Hibiscus eliatius*)
 Algarrobo de olor (*Albizia lebeck*)
 Ocuje (*Calophyllum antillanum*)
 Leucaena (*Leucaena leucocephalo*)
 Teca (*Tectona grandis*)
 Caoba (*Swietenia mahogany*)

Preparación del sustrato:

El Stockosorb se hidrató en solución acuosa a razón de 5 g.l⁻¹. La mezcla suelo-zeolita se realizó en proporción 2:1 y se mezclaron ambos hasta lograr uniformidad. En todos los casos se utilizó como solución acuosa las sales de MS (Murashige y Skoog, 1962) y se añadió ácido giberélico (GA₃ en concentración de 2 mg.l⁻¹). Para el recubrimiento de la cápsula se empleó alginato de sodio al 1 %, el cual se acomplejó en solución de cloruro de calcio 100 mMol.l⁻¹. Todos los componentes se unieron, excepto el alginato, el cual se utilizó para endurecer la misma luego del secado.

Se determinó el incremento en peso de las semillas mediante el pesaje de las mismas antes y después del recubrimiento. Para ello se tomaron 20 semillas de cada tipo. Cada semilla se consideró una unidad experimental.

Procedimiento para el encapsulado:

Las semillas se seleccionaron eliminando las vanas y malformadas, buscando homogeneidad en la muestra. Se recubrieron con el sustrato, teniendo en cuenta aplicar una cubierta en proporción con el tamaño de la

misma para evitar excesos que pudieran afectar la germinación del embrión, para lo que se consideró una capa de 1 a 2 mm y se dejaron secar a temperatura ambiente por 24 horas. Se recubrieron posteriormente con alginato de calcio, para lo cual las semillas se pasaron por la solución de alginato de sodio y luego se dejaron en agitación por 10 minutos en cloruro de calcio 100 mMol.L⁻¹, luego de lo cual se dejaron secar a temperatura ambiente durante 12

Se realizaron dos experimentos: uno con suelo negro y uno con suelo rojo, por separado, con un control sin encapsular para cada caso. Las pruebas de germinación se realizaron en canteros con siembra superficial y riego cada 24 h. Cada tratamiento constó de 20 semillas de cada tipo por tratamiento, con tres réplicas cada una, en un bloque completamente aleatorizado. El experimento fue repetido tres veces.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el utilitario Statistical Package for Social Sciences (SPSS) para Windows (versión 8). Los datos obtenidos se procesaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple y en los casos en que se presentaron diferencias estadísticas se procedió a ejecutar la prueba de Tukey (p < 0,05). En la Tabla 1 se expone el incremento en peso de las semillas en los dos sustratos evaluados.

Como se puede observar en la Tabla 1, el encapsulado con ambos sustratos produjo un incremento notable en el peso de las semillas, lo cual facilitó su manejo, fundamentalmente en el

Tabla 1. Cambios en el peso de las semillas producidas por el proceso de encapsulación (gramos)

TIPO DE SEMILLA	PESO SEMILLA DESNUDA (g)	MEZCLA EN SUELO ROJO		MEZCLA EN SUELO NEGRO	
		PESO/SEM. ENCAP. (g)	DIFERENC EN PESO (g)	PESO/SEM. ENCAP. (g)	DIFERENC EN PESO (g)
Casuarina	0,00148	0,20326	0,20178	0,29325	0,29177
Bijáguara	0,01691	0,28892	0,27201	0,39579	0,37888
Guásima	0,00500	0,20550	0,01555	0,37936	0,37435
Majagua	0,01869	0,35375	0,32506	0,38199	0,38192
Algarrobo	0,19250	1,06742	0,87492	0,75887	0,56637
Leucaena	0,06340	0,77170	0,70830	0,66050	0,59710
Teca	0,73760	4,83894	4,10134	2,85120	2,11360
Ocuje	3,39130	12,2403	8,84900	6,24157	2,85027

caso de las muy pequeñas. De igual modo, sirvió de protección a las mismas, ya que aunque la siembra se hizo de forma superficial no se detectaron pérdidas por la acción de aves, roedores u otros.

En la figura 1 se muestra la germinación de las semillas en el sustrato de suelo negro, comparado con el tratamiento control sin encapsular.

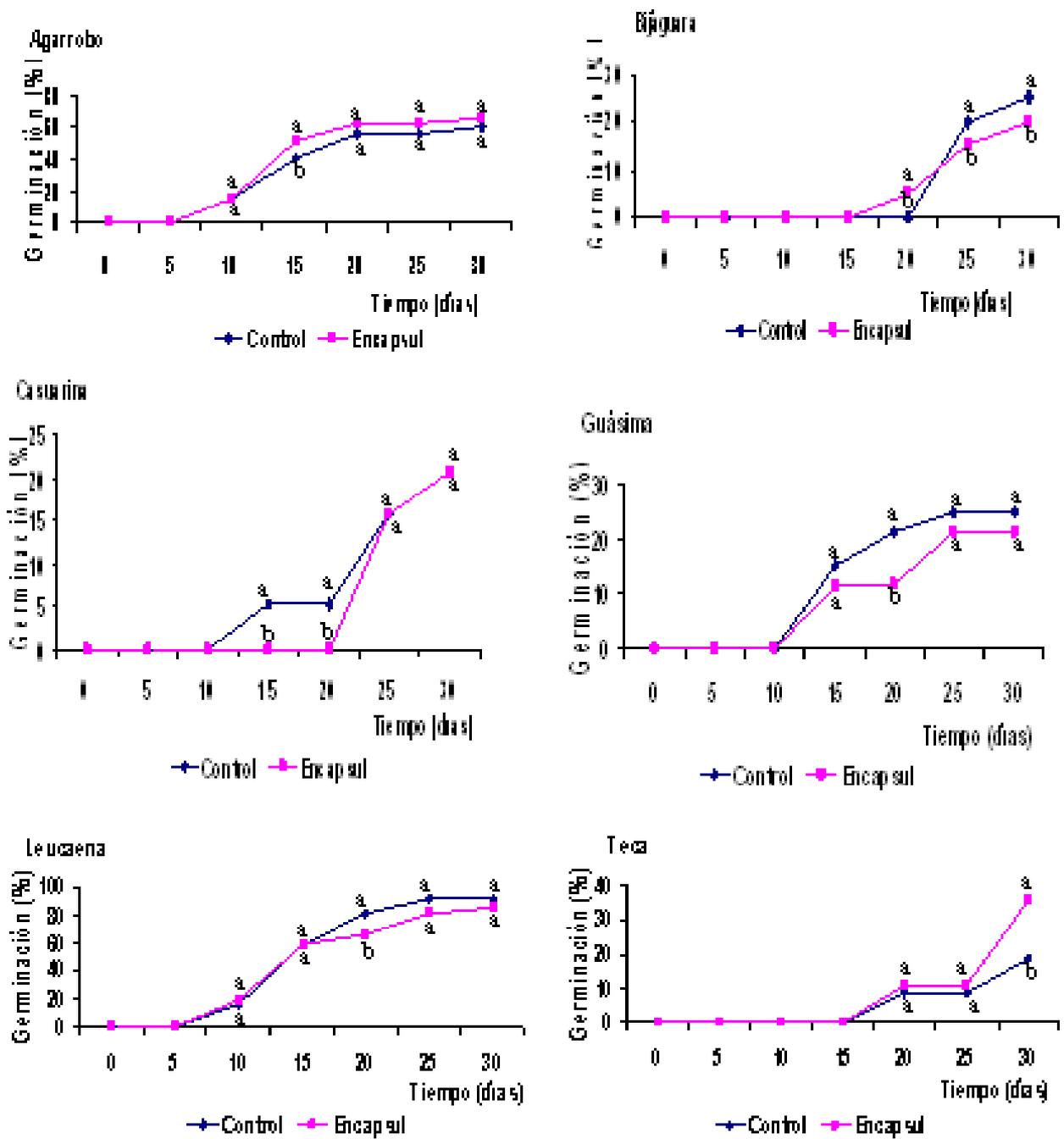


Figura 1. Respuesta de las semillas encapsuladas en sustrato de suelo negro

Letras desiguales difieren estadísticamente para n = 60, según prueba de Tukey (p < 0,05)

Como se aprecia en la figura 1, las semillas de algarrobo y leucaena siguieron una tendencia similar en el proceso de germinación. La brotación de las plantas ocurrió pasados los cinco días de la siembra

y sólo hubo diferencias estadísticas entre el control y las encapsuladas a los 15 y 20 días, respectivamente, aunque el porcentaje de germinación de la leucaena fue superior al algarrobo.

La bijáguara y la teca germinaron pobremente en ambos tratamientos y lo hicieron posterior a los 15 días de plantadas, aunque para el caso de la bijáguara la encapsulación favoreció en cinco días el proceso, sin embargo, en estas semillas, la cubierta afectó en un 10 % la germinación, con diferencias estadísticas, mientras que la teca se vio favorecida en un 20 %.

En las semillas de casuarina el encapsulado retrasó la germinación 10 días, pero cinco días después se igualaron ambos tratamientos. El proceso de germinación en las semillas de guásima fue inferior en las semillas encapsuladas, sin diferencias estadísticas al final del proceso. En este tipo de sustrato no germinaron las semillas de ocuje y majagua. (figura 2)

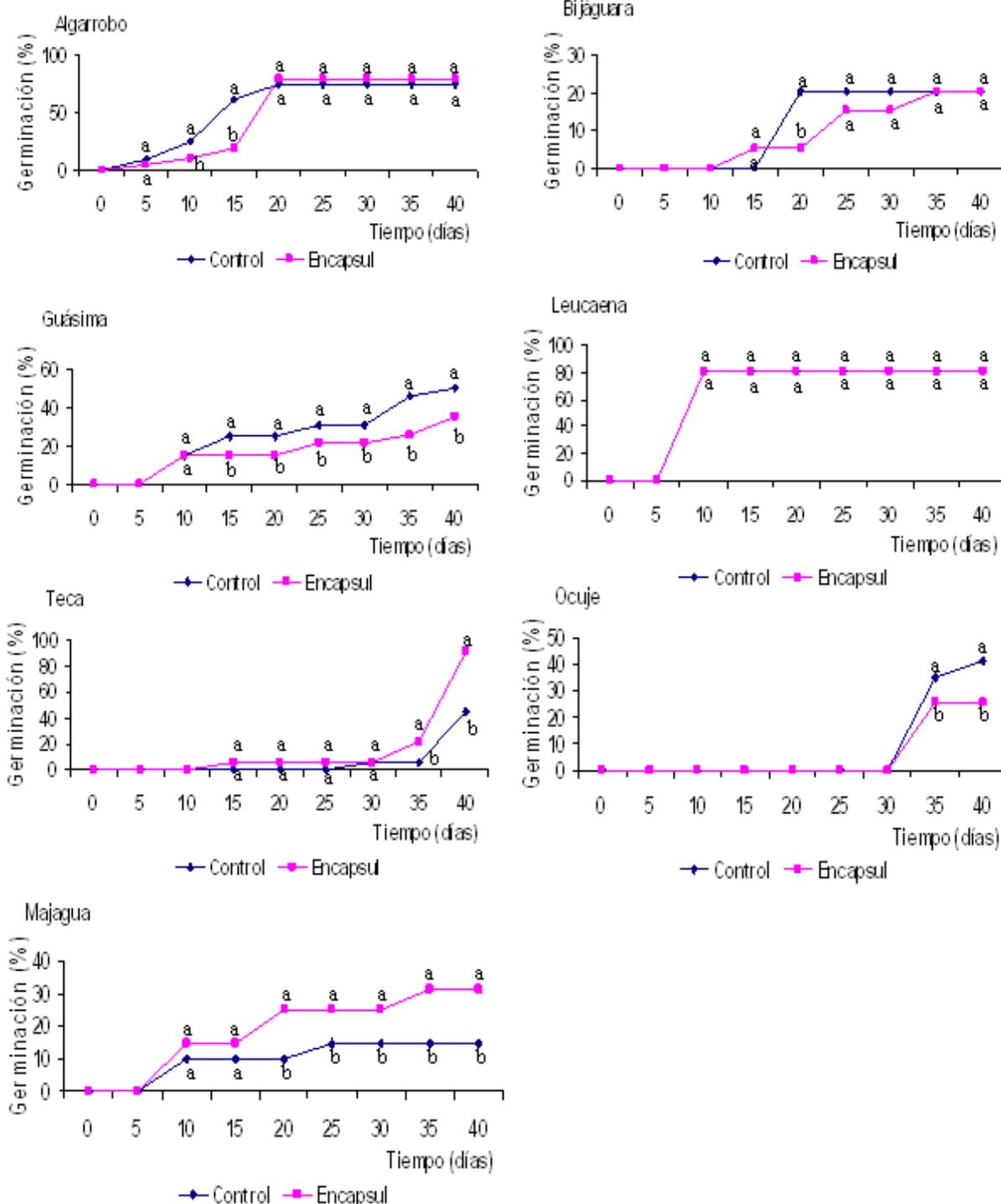


Figura 2. Germinación de las semillas encapsuladas en sustrato de suelo rojo

Letras desiguales difieren estadísticamente para n = 60, según prueba de Tukey (p < 0.05).

Se puede apreciar en la figura 2 que el algarrobo y la leucaena tuvieron un comportamiento similar, con una rápida germinación, principalmente el primero, sin diferencias con el tratamiento control y con alto porcentaje de germinación, con un adelanto en cinco días la relación con el sustrato de suelo negro (figura 1). Las semillas de bijáguara encapsuladas germinaron con mayor rapidez cuando fueron encapsuladas y, aunque luego se retrasaron con respecto al control, finalizaron con igual porcentaje de emisión de las plantas.

La teca tuvo una germinación lenta, similar a lo ocurrido en el sustrato de suelo de negro, pero finalmente alcanzó un 90 % en las semillas encapsuladas, contra un 40 % en el control, difiriendo estadísticamente.

En la guásima ambos tratamientos tuvieron similar tendencia, pero el encapsulado afectó significativamente la germinación de las semillas en un 10%. El ocuje, que no germinó en el sustrato de suelo negro lo hizo en el rojo, aunque tardó 30 días en hacerlo y las semillas encapsuladas estuvieron significativamente inferiores al control. La majagua tampoco germinó en el suelo negro y en el sustrato rojo tuvo un mejor comportamiento en las encapsuladas, las que fueron superiores estadísticamente con respecto a las semillas no encapsuladas. Solo la leucaena y la teca germinaron a altos porcentajes, el resto de las semillas lo hizo en muy bajo porcentaje, lo cual parece estar dado por la calidad de las mismas, pues este comportamiento fue similar en ambos tipos de sustrato.

El uso de recubrimientos para mejorar la calidad de germinación de las semillas es una práctica que se ha aplicado en diferentes formas y en diversos cultivos. En semillas de maíz (*Zea maíz*), se empleó con la mezcla polímero-captan en el cual el control de patógenos fue relacionado con la emergencia de las plántulas y la velocidad de crecimiento temprano, bajo condiciones de campo, para la infección de semillas y de plántulas por *Pythium* spp., lo cual constituyó un punto de partida para posteriores investigaciones sobre prácticas de manejo de patógenos del suelo. (Arias et al., 1998)

La peletización es una tecnología que usa materiales tales como arcilla para mejorar el tamaño o la forma irregular de algunas semillas y hacerlas esféricas para facilitar el manejo mecánico. La peletización mejora la velocidad de siembra y la individualización de las semillas. La codificación de colores también puede ser usada para identificar variedades, así como mejorar la disponibilidad de oxígeno en suelos muy húmedos (Durrant y Loads, 1986). Por otra parte, la cubierta a semillas como una nueva tecnología también se usa para reducir la exposición de los trabajadores a pesticidas. Estas cubiertas son altamente permeables al agua y son asperjadas sobre las semillas. La aplicación de fungicidas y fertilizantes en la cubierta de las semillas proporciona beneficios adicionales a los cultivos. (Hummel, 1991)

En el presente trabajo, en la mayoría de las especies evaluadas no hubo efectos adversos por el recubrimiento y en muchos casos se favoreció, lo que evidencia la posibilidad de aplicar el recubrimiento de las semillas con estas arcillas para aplicar por vía aérea, ya que proporcionan peso a las mismas, se pueden incorporar sustancias que beneficien la germinación y no tienen efecto tóxico sobre las mismas ni efectos nocivos sobre los trabajadores.

Los sustratos empleados en este trabajo se hidratan con la humedad del suelo o el agua de lluvia y permiten la emergencia de la planta con facilidad, además de ser muy económicos y completamente ecológicos. Por otra parte, las sales y el ácido giberélico que se añaden ayudan al proceso de la germinación y constituyen un aporte para los primeros estados del desarrollo del embrión.

El método posibilita recuperar áreas devastadas por incendios u otros desastres naturales, más aún si se tiene en cuenta que en 1995 la superficie forestal mundial (incluidos los bosques naturales y las plantaciones forestales) se calculaba en 3 454 millones de hectáreas y entre 1990 y 1995, la superficie total de bosques disminuyó en 56,3 millones de hectáreas, fundamentalmente en los países en desarrollo. (FAO, 1999)

Las pruebas realizadas en condiciones de cantero son fácilmente reproducibles en condiciones de campo, ya que las semillas no se sembraron, sino que se dejaron sobre la superficie del suelo, de forma similar a si son aplicadas por vía aérea, donde la humedad natural de los suelos, la lluvia y el rocío pueden contribuir a humedecer el sustrato y facilitar la hidratación de las semillas.

CONCLUSIONES

1. El método de encapsulación propuesto es económico, pues sólo requiere de suelos plásticos, de fácil compactación, las cuales se le pueden añadir iones minerales, hormonas vegetales y otros componentes que ayuden a mejorar la calidad del proceso de germinación.

2. Con el procedimiento de encapsulado las semillas aumentan el peso sin perder viabilidad, puede ser fácilmente mecanizable y por tanto su aplicación a gran escala resulta factible, así como su empleo para la aplicación aérea, sin alteraciones en la ecología del área.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arias, B.; C. Denis ; J. McGee; and S. Burris: "Tratamiento de semillas de maíz con polímeros para el control de *pythium spp*". *Fitopatol. venez.* 11 (1):10-15, 1998.

2. Bashan, Y: "*Azospirillum* plant growth-promoting strains are nonpathogenic on tomato, pepper, cotton, and wheat". *Can. J. Microbiol.* 44:168-174, 1998.

3. Bewley, J.D. and M. Black: *Seeds: Physiology of development and germination*, Plenum Press, New York, 367 pp., 1985.

4. Capuano, G.; E. Piccioni; A. Standardi: "Effect of different treatment on the conversion of M.26 apple rootstock synthetic seeds obtained from encapsulated apical and axillary mitropropated buds". *Journal of Hort. Sci and Biotech.* 73(3): 299-305, 1998.

5. Danso, K.E. and B.V. Ford-Lloyd: "Encapsulation of nodal cuttings and shoot tips for storage and exchange of cassava germplasm". *Plant Cell Reports.* 21(8): 718-725, 2003.

6. Durrant, M.J. and A.H. Loads: "The effect of pellet structure on the germination and emergence of sugar-beet seed". *Seed Sci. and Technol.* 14:343-53, 1986.

7. FAO: *Resumen Analítico, en Situación de los bosques del mundo*, 1999.

8. Garret, R.E.; J.J. Mehlschaw; N.E. Smith and M. K. Redenbaugh: "Gel Encapsulation of tomato seeds". *Applied in Agriculture.* 7(1):25-31, 1991.

9. Glick, B.R.: "The enhancement of plant growth by free-living bacteria". *Can. J. Microbiol.* 41:109-117, 1995.

10. Heacox, L.: "Seeds of change". *Ag. Consultant.* 45(1):7-8, 1989.

11. Hummel, N.W., Jr.: "Coated seed". *Grounds Maint.* 26(8):20, 22, 26, 1991.

12. Kaufman, G.: "Seed Coating: A tool for stand establishment; a stimulus to seed quality". *Hort. Technology.* Oct.-Dec. 98-102, 1991.

13. Leaver, J.P. and E.H. Roberts: "Peroxides in seed coatings". *Outlook Agriculture.* 13:147-153, 1984.

14. Maruyama, E.; I. Kinoshita ; K. Ishii; K. Ohba and A. Saito: "Germplasm conservation of the tropical forest trees, *Cedrela odorata L.*, *Guazuma crinita Mart.*, and *Jacaranda mimosaeifolia D. Don.*, by shoot tip encapsulation in calcium-alginate and storage at 12-25°C". *Plant Cell Report.* 16:393-396, 1997.

15. McKersie, B.D.: *Somatic Embryogenesis in Alfalfa: A Model for the Development of Dry Artificial Seed Technology.* pp. 833-846, en *Seed Development and Germination.* Eds. Kigel, J. y Galili, G.- Marcel Dekker, Inc. New York, 853 pp., 1995.

16. Micheli, M.; M. Mencuccini and A. Standardi: "Encapsulation of *in vitro* proliferated buds of olive". *Adv. Hort. Sci.* 12:163-168, 1998.

17. Murashige, T. and F. Skoog: "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures". *Physiologia Plantarum.* 15: 473-497, 1962.

18. Piccioni, E.: *Plantlets from encapsulated micropropagated buds of M.26 apple rootstock.* *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 47:255-260, 1997.

19. Pompeia, S.L.; D.Z.A. Pradella; K.M. Diniz R.P. Santos: Comportamento dos Manacás-da-Serra (Tibouchi-na spp) semeados por via aérea em Cubatão. In II Congresso Nacional de Essencial Nativos. São Paulo, pp. 126-131, 1992.

20. Pompeia, S.L.; D.Z.A. Pradella ; S.E. Mantias; R.P. Santos; K.M. Diniz: A semeadura aérea na Serrado Mar em Cubatão. *Ambiente* 3(1):13-19, 1989.

21. Priestly, D.A., Leopold, A.C. (1986). Alleviation of imbibitional injury by use of lanolin. *Crop Sci.*26:1252-1254.

22. Rao, P.S.; P. Suprasanna and V.A. Bapat "Synthetic seed technology in horticultural crops. Biotech", *In Hort. Plant. Crops*. Eds. K.L. Chadha, P.N. Ravindran and Leela Sahijram, pp 32-54, 2000.

23. Redenbaugh, K.; D. Slade; P. Viss and M. Kossler: Artificial seeds: Encapsulation of somatic embryos, in *Forest and Crop Biotechnology. Progress and Prospects*. Fredrick A. Valentine Ed. Cap. 25:400-408, 1988.

24. Scott, D.and W.J. Archie:" Sulphur, phosphate and molybdenum coating of legume seed". *N.Z. J. Agric. Res.* 21:643-649, 1978.

25. Tonkin, J.H.B.: "Pelleting and other presowing treatments". *Adv. Res. Technol. Seeds.* 9:94-127, 1984.

26. Vavrina, C.S. and R.J. McGovern : "Seed treatment target soilborne diseases". *Amer. Veg. Grower.* 38(13):63-64, 1990.

Recibido: 23/12/2008

Aceptado: 26/10/2009