

## Efecto de Algunos Antioxidantes para Conservar la Viabilidad en Semillas de *Tabebuia rosea*<sup>1</sup>

ENRIQUE TRUJILLO<sup>2</sup>, HECTOR LAVERDE<sup>3</sup> y JAIRO F. CLAVIJO<sup>3</sup>

**Resumen.** Varios experimentos de laboratorio se llevaron a cabo con el objeto de evaluar la eficiencia de los antioxidantes carbón activado, L-cisteína, ácido ascórbico, ácido cítrico aplicados solos o en mezclas y del almacenamiento al vacío bajo condiciones de luz y oscuridad para evitar la pérdida de viabilidad de las semillas de *Tabebuia rosea* Bert. Los frutos se recolectaron de diez árboles localizados en la región de Garagoa, Boyacá y se trajeron al laboratorio donde la extracción de la semilla, secamiento y almacenamiento se realizaron bajo condiciones de luz o de oscuridad. Una vez aplicados los tratamientos la semilla se almacenó a 10°C y se hicieron pruebas de germinación a los 60, 90, 120, 150 y 180 días. Se encontró que el uso de estos compuestos antioxidantes efectivamente favorecen la conservación de la viabilidad de las semillas de ocobo y que el mejor tratamiento fue la combinación de empaque y almacenamiento al vacío y oscuridad, lo cual comprueba que tanto el oxígeno como la luz tienden a deteriorar la viabilidad de las semillas ricas en grasas.

### INTRODUCCION

El conocimiento y manejo de semillas de especies forestales tropicales ha sido objeto de muy poca o ninguna investigación acerca de su comportamiento en general y en especial de sus características fisiológicas, en cuyo estudio se encuentran las respuestas de

las técnicas de manipuleo para su conservación y/o germinación.

Rojas (1985) señala que el Ocobo (*Tabebuia rosea* Bert.), como buena parte de los árboles tropicales, tiene semillas con muy corta viabilidad, a lo cual se suma el hecho de la irregularidad de las fructificaciones y la dificultad para encontrar árboles adecuados. Por lo tanto, es indispensable el estudio sobre técnicas de conservación para contar con material genético y para el abastecimiento a los programas de reforestación. La obtención y conservación de las semillas constituyen un primer obstáculo para la propagación de muchas especies valiosas.

La pérdida de viabilidad en el ocobo se manifiesta por una colaboración oscura característica de la oxidación de sus tejidos. Los síntomas evidentes son: el cambio de la coloración de la testa y el embrión, de crecimiento progresivo de la capacidad de germinación, incremento en el número de plántulas anormales, baja tolerancia a las condiciones de almacenamiento, sensibilidad a la radiación, presencia de mohos e incremento de la temperatura durante el almacenamiento (Cardozo, 1988).

Respecto a la pérdida de viabilidad, en el desarrollo del proyecto marco INDERENA-CONIF-CIID, Cardozo (1988) indica que antes de la aparición de los síntomas morfofisiológicos ocurren cambios bioquímicos y daños subcelulares, como por ejemplo, acumulación de sustancias tóxicas, disminución de la tasa respiratoria y de síntesis de ATP, reducción de la síntesis de proteínas y RNA, aberraciones cromosómicas y daños consecuentes en el DNA, pérdida de la capacidad de síntesis de enzimas hidrolíticas, cambios de los ácidos grasos insaturados y alteraciones en el sistema de membranas.

El daño en la integridad de las membranas

<sup>1</sup> Adaptación de la tesis de magister del primer autor. Recibido para publicación el 10 de junio de 1989.

<sup>2</sup> Funcionario del INDERENA. A.A. 57596, Bogotá, D.E.

<sup>3</sup> Profesores Asistente y Asociado respectivamente, de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. A.A. 14490.

aparece como un evento temprano en el deterioro de las semillas y se han sugerido que la peroxidación de radicales libres de los lípidos es el mecanismo que desencadena el envejecimiento celular. Los ácidos grasos insaturados como el ácido linolénico y algunos fosfolípidos disminuyen durante el envejecimiento de algunas semillas (Cardozo, 1988).

Si se tiene en cuenta que la luz y el oxígeno son responsables en buena parte de la oxidación biológica, un adecuado manejo de la oscuridad y el uso de compuestos antioxidantes pueden mejorar la conservación de la viabilidad en las semillas de aquellas especies ricas en grasas (Montes, 1988)<sup>4</sup>.

Los procesos oxidativos en las semillas son muy complejos y variados, lo que impide una definición precisa sobre los mecanismos de acción de la mayoría de los compuestos antioxidantes. Algunos compuestos, tales como, la L-cisteína, el ácido ascórbico y ácido cítrico compiten por el oxígeno con proteínas o lípidos evitando así la oxidación de estas sustancias complejas. Otros compuestos, como el carbón activado, inhiben la oxidación retirando el sustrato del medio (Bernal, 1983; Montes, 1988<sup>4</sup>; Stryer, 1988).

El objetivo de la presente investigación fue el de evaluar la eficiencia de los antioxidantes carbón activado, L-cisteína, ácido ascórbico y ácido cítrico aplicados solos y en mezcla y del almacenamiento al vacío bajo condiciones de luz y oscuridad para evitar la pérdida de viabilidad de las semillas de *Tabebuia rosea*.

## MATERIALES Y METODOS

El material biológico utilizado en la presente investigación se recolectó de 10 árboles localizados en la región de Garagoa, Departamento de Boyacá, Colombia, a una altura de 1600 msnm, una precipitación de 1200 a 2000 mm anuales, una temperatura de 17 a 24°C, una humedad relativa de 70 a 85% y 1900 horas de brillo solar al año.

---

<sup>4</sup> Montes, V. 1988. Conferencia sobre oxidación de tejidos. Seminario Internacional sobre Investigaciones en Semillas Forestales Tropicales. Bogotá.

Los frutos maduros se llevaron al laboratorio donde se procedió a la extracción de la semilla bajo condiciones de luz natural y bajo oscuridad (luz verde). El procesamiento de los frutos bajo luz natural se cumplió permitiendo su secado a condiciones ambientales, se extrajo la semilla en presencia de la luz y se dejó secar al ambiente hasta un contenido de humedad de un 10%. El procesamiento de los frutos en la oscuridad se llevó a cabo en un cuarto oscuro bajo una lámpara de luz fría recubierta con varias capas de papel celofán verde. En este caso, la semilla se extrajo y se secó en estufa hasta obtener un 10% de humedad.

La semilla extraída por los dos métodos fue colocada en recipientes herméticos color ámbar y almacenada en nevera a una temperatura promedio de 10°C por 25 días antes de la aplicación de los tratamientos.

Las semillas fueron sometidas a diferentes tratamientos antioxidantes los cuales se aplicaron por una sola vez bajo condiciones de luz natural y de oscuridad de acuerdo con los métodos de extracción. La forma como los tratamientos se ordenaron fue la siguiente:

1. L-Cisteína (100 ppm) + luz natural
2. L-Cisteína (100 ppm) + oscuridad
3. Ac. ascórbico (100 ppm) + Ac. cítrico (100 ppm) + luz natural
4. Ac. ascórbico (100 ppm) + Ac. cítrico (100 ppm) + oscuridad
5. Carbón activado (5g/l) + luz natural
6. Carbón activado (5g/l) + oscuridad
7. L-cisteína + Ac. ascórbico + Ac. cítrico + carbón activado + luz natural
8. L-cisteína + Ac. ascórbico + Ac. cítrico + carbón activado + oscuridad
9. Empaque al vacío + luz natural
10. Empaque al vacío + oscuridad
11. Testigo bajo luz natural
12. Testigo bajo oscuridad

Los tratamientos implicaron imbibición de la semilla por una hora en las soluciones antioxidantes, luego de lo cual, se dejó secar la semilla hasta 10% de humedad y se almacenó. En el caso del empaque al vacío, las semillas extraídas bajo condiciones de oscuridad fueron introducidas en una bolsa plástica de color negro y sellada con la ayuda de

un inductor de vacío. Las semillas bajo condiciones de luz fueron introducidas en una bolsa plástica transparente. Un mes después de estas aplicaciones se realizó una prueba de germinación con los testigos para comprobar el nivel de viabilidad de la semilla.

Con el objeto de evaluar la efectividad de los tratamientos se realizaron cinco pruebas de germinación utilizando 50 semillas por tratamiento en papel de germinación el cual se mantuvo con humedad constante y dentro de un germinador a 24°C por 25 días. Las cinco pruebas se realizaron a los 60, 90, 120, 150 y 180 días después de la aplicación de los tratamientos.

El diseño estadístico utilizado fue el completamente al azar con 3 replicaciones. Los datos se expresaron en porcentaje y se transformaron por la fórmula del arcoseno raíz cuadrada del porcentaje. Los promedios fueron comparados utilizando contrastes ortogonales y los resultados se presentan de acuerdo o nó a la significancia de los mismos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El Cuadro 1 contiene los porcentajes promedios de germinación de las semillas de *Tabebuia rosea* sometidas a los diferentes tratamientos antioxidantes. En términos generales, se observa que el mejor tratamiento fue el de las semillas almacenadas al vacío y en la oscuridad ya que después de seis

meses mostraban un 58.6% de germinación, resultado que fue significativamente mayor que los mostrados por los otros tratamientos, para ese mismo mes. Una prueba de germinación que se realizó al mes de cosecha la semilla bajo luz y oscuridad mostró para ambos casos un porcentaje de 86.7. Si este resultado se compara con los obtenidos en el mes dos, se puede deducir que para este mes la viabilidad de la semilla se había reducido a la mitad y que el tratamiento con L-cisteína y vacío independientes de la luz y oscuridad todavía mantenía una alta viabilidad en la semilla.

Como se suponía, la acción de los diferentes tratamientos se fue deteriorando mes a mes y con mayor intensidad en unos casos que en otros. La mezcla general de antioxidantes químicos al igual que los testigos al mes 4, ya no presentaron ningún efecto sobre la viabilidad de las semillas pues los porcentajes de germinación fueron cero. Esto demuestra que la mezcla de ascórbico cítrico, L-cisteína y carbón activado puede presentar problemas de antagonismo que impide el efecto conjunto de los productos. Por otra parte, los tratamientos con L-cisteína y vacío son los que sufren menos deterioro durante los seis meses de almacenamiento, sobre todo si se comparan con los testigos o con la mezcla general. Con relación al carbón activado, se puede establecer que es un tratamiento promedio que al final

**Cuadro 1.** Porcentajes mensuales de germinación de semillas de *Tabebuia rosea* sometidas a diferentes tratamientos antioxidantes.

TRATAMIENTOS	PORCENTAJE DE GERMINACION				
	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6
L-cisteína luz	85.33	58.65	38.67	32.00	25.30
Carbón activado luz	73.33	45.30	26.66	32.66	25.30
Ascórbico+ cítrico luz	48.00	36.00	26.66	22.60	20.00
Mezcla general luz	41.33	37.30	0.00	0.00	0.00
Vacío luz	80.00	70.60	41.33	36.00	32.00
Testigo luz	40.00	13.33	0.00	0.00	0.00
L-cisteína oscuridad	89.33	64.00	41.33	38.60	34.60
Carbón activado oscuridad	74.66	50.66	29.30	26.60	24.00
Ascórbico+ cítrico oscuridad	48.00	40.00	32.00	26.60	22.60
Mezcla general oscuridad	48.00	44.00	0.90	0.00	0.00
Vacío oscuridad	80.90	80.00	65.30	60.00	58.60
Testigo oscuridad	46.60	17.33	0.00	0.00	0.00

del experimento mostró porcentajes de germinación entre 24 y 25% y que es superior a la mezcla general y al testigo durante todos los seis meses y superior a la mezcla ácido ascórbico más ácido cítrico durante el mes 2 y 3.

La mezcla de ácido ascórbico más ácido cítrico muestra un comportamiento especial. Su efecto es similar bien sea bajo condiciones de luz u oscuridad. Su capacidad para mantener la viabilidad de las semillas en el mes 2 es parecida a la de los testigos, es decir, que las semillas han perdido un 50% de su poder germinativo. Sin embargo, su efecto es más prolongado que el de los testigos puesto que al final del mes 6 todavía las semillas presentan un porcentaje de germinación de un 20% aproximadamente, mientras que las semillas de los testigos dejaron de ser viables desde el mes 4 (Cuadro 1).

En el Cuadro 2 se observa la significancia estadística de los principales contrastes octogonales y la tendencia general de los mismos mes a mes. Los tratamientos en oscuridad versus los tratamientos con luz evidencian diferencias mensuales altamente significativas. Con excepción del mes 6 las diferencias entre el almacenamiento en la oscuridad

y con luz son marcadas destacándose los tratamientos en oscuridad, los cuales poseen los porcentajes más altos. Se deduce, por lo tanto, que existe una alta incidencia de la luz en el manejo de frutos y semillas bajo condiciones de oscuridad. Este resultado está de acuerdo con lo señalado por Montes (1988)<sup>4</sup> quien plantea que la luz es responsable parcialmente de la oxidación de semillas ricas en grasas.

Definitivamente los diferentes tratamientos ejercen un efecto promotor de la viabilidad de las semillas de ocobo. Cuando se examinan los contrastes de los testigos con luz y oscuridad versus los tratamientos con sustancias antioxidantes o vacío bajo las mismas condiciones de luz se notan diferencias mensuales altamente significativas a favor de los antioxidantes. Lógicamente dentro de éstos los que más se destacan son la L-cisteína y el vacío tal como se evidencia en el Cuadro 1.

Los tratamientos en los cuales se empleó el vacío son realmente promisorios especialmente cuando se combinan con el manejo de frutos y semillas bajo condiciones de oscuridad. Los contrastes ortogonales especial-

<sup>4</sup> *Op. Cit.*

**Cuadro 2.** Significancia estadística de los principales ortogonales realizados mes a mes con los porcentajes de germinación de semillas de *Tabebuia rosea*.

CONTRASTE	SIGNIFICANCIA ESTADISTICA				
	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6
Oscuridad vs. Luz	**		**	**	**
Tratamiento luz vs. Testigo luz	**	**	**	**	**
Tratamiento oscuridad vs. Testigo oscuridad	**	**	**	**	**
Vacío luz vs. mezcla general, L-cisteína, carbón, cítrico+ascórbico luz.	**	**	**	**	**
Vacío oscuridad vs. mezcla general, L-cisteína, carbón, cítrico+ascórbico oscuridad.	**		**	**	**
L-cisteína, carbón cítrico+ascórbico luz vs. Mezcla general luz.	**	*	**	**	**
L-cisteína, carbón, cítrico+ascórbico oscuridad vs. Mezcla general oscuridad.	**		**	**	**
L-cisteína luz vs. cítrico+ascórbico luz	**	**	**	*	
L-cisteína oscuridad vs. cítrico+ascórbico oscuridad.	**	**	*	*	**

mente los realizados durante los tres últimos meses del experimento muestran diferencias altamente significativas entre el vacío y los tratamientos con la mezcla general, L-cisteína, carbón activado y la mezcla ácido ascórbico más ácido cítrico. Las diferencias son mucho más marcadas cuando la comparación se hace con los resultados encontrados en la oscuridad. Es evidente que la ausencia de oxígeno restringe las reacciones oxidativas dentro de los tejidos y células de las semillas y procesos tales como el ciclo de Krebs o la ruta del glioxilato no se ven favorecidos, lo cual impide una descomposición rápida de los ácidos grasos y por lo tanto una pérdida prematura de vigor (Stryer, 1988; Barcelo, 1983; Popinigis, 1977).

Es de anotar aquí, que el Proyecto Inderena-Conif-CIID (Conif, 1987) encontró que es posible conservar la viabilidad de las semillas de *Tabebuia rosea* por más tiempo cuando son almacenadas con un contenido de humedad de un 8% aproximadamente y con una temperatura promedio de 20°C. Esta práctica, unida al uso de vacío y oscuridad, podría ser la respuesta para incrementar notablemente el período de almacenamiento de las semillas sin un deterioro grande de su viabilidad.

Cuando se compara la L-cisteína con la mezcla ácido ascórbico más ácido cítrico se nota un mejor efecto de la L-cisteína sobre la viabilidad de las semillas especialmente en los cinco primeros meses, cuando el experimento se hace con luz y durante los seis meses cuando se utiliza oscuridad.

En términos generales, el uso de compuestos antioxidantes como L-cisteína, carbón activado y ácido ascórbico más ácido cítrico favorecen la conservación de la viabilidad en semillas de *Tabebuia rosea* y muestran promedios de germinación superiores a los de los testigos, los cuales perdieron totalmente su habilidad para germinar al cabo de cuatro

meses. Estos resultados son más altos cuando las semillas se procesan y almacenan bajo condiciones de oscuridad. Se debe tener en cuenta que la aplicación de estas sustancias fue única al inicio del experimento y es posible que en el transcurso de los meses las semillas las hayan hidrolizado o metabolizado parcial o completamente (Montes, 1988)<sup>4</sup>.

En general, el uso de compuestos antioxidantes, especialmente L-cisteína, carbón activado y ácido ascórbico más ácido cítrico, favorecen la conservación de la viabilidad en semillas de *Tabebuia rosea*. El mejor tratamiento fue la combinación de empaque y almacenamiento al vacío y oscuridad, lo cual comprueba que tanto el oxígeno como la luz tienden a deteriorar la viabilidad de las semillas ricas en grasas. Es recomendable para posteriores trabajos probar diferentes dosis de los compuestos y distintos tiempos de aplicación con el objeto de llegar a una recomendación de manejo de esta semilla más precisa.

---

<sup>4</sup> *Op. Cit.*

## LITERATURA CITADA

1. Barcelo, C.N. y G. Nicolás. 1983. Fisiología vegetal. Ediciones Pirámide, Madrid. 781 p.
2. Bernal, R.R. 1983. Estudio de los medios de cultivo para la propagación por meristemas de rosa. Tesis de Grado, Universidad Nacional. Bogotá. 112 p.
3. Cardozo, H. 1988. Informe técnico del proyecto Inderena-Conif-CIID. Mimeografiado. 45 p.
4. Conif, 1987. Informe anual de avance. Mejoramiento de semillas y fuentes semilleras en Colombia, Proyecto 3. Bogotá. pp 85-0009.
5. Popinigis, F. 1977. Fisiología da semente. Primera edición. Editorial Brasilia. 289 p.
6. Rojas, F. 1985. Primer Taller Nacional de Semillas y Viveros. Instituto Tecnológico de Costa Rica, San José. 536 p.
7. Stryer, L. 1988. Biochemistry. Tercera ed. W.H. Freeman y Co. New York. 1089 p.