

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

**TRATAMIENTOS DE TEMPERATURA Y HUMEDAD PARA
INCREMENTAR EL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN EN
SEMILLA DE TECA (*Tectona grandis* Linn. f.)**

**Tesis Presentada para Optar al Grado de Licenciado en Ingeniería Agronómica
con Énfasis en Fitotecnia**

ANDRÉS ANTONIO MONGE VARGAS

Ciudad Universitaria “Rodrigo Facio”

San José, Costa Rica

2011

**TRATAMIENTOS DE TEMPERATURA Y HUMEDAD PARA
INCREMENTAR EL PORCENTAJE DE GERMINACIÓN EN
SEMILLA DE TECA (*Tectona grandis* Linn. f.)**

Tesis Presentada para Optar por el Grado Académico de Licenciado en
Ingeniería Agronómica con Énfasis en Fitotecnia

Tribunal Examinador

Dr. Eric Guevara Berger

Director Escuela de Agronomía

Dra. Adriana Murillo Williams

Directora de Tesis

Ing. Ramiro Alizaga López, M. Sc.

Miembro del Comité

Ing. Gilberto Cabalceta Aguilar, M. Sc.

Miembro del Comité

Ing. Jorge Herrera Quirós, M. Sc.

Miembro del Comité

Andrés Antonio Monge Vargas

Sustentante

DEDICATORIA

Muy en especial a la memoria de mi madre Luz Marina que siempre me apoyó. A mi padre Antonio por confiar en mí, y a Ricardo y Yolanda por ser otros padres para mí.

*“ No es la fuerza, sino la perseverancia de
los altos sentimientos la que hace
a los hombres superiores ”*

Friedrich Nietzsche

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, a toda mi familia y amigos por el apoyo brindado en los momentos difíciles y ayudarme a seguir adelante con este proyecto.

A mi directora de tesis Dra. Adriana Murillo Williams por su paciencia, comprensión y orientación durante el desarrollo de este trabajo.

Al Ing. Ramiro Alizaga López M. Sc. y al Ing. Jorge Herrera Quirós M. Sc. por contribuir en la elaboración y redacción de esta tesis, y al mismo tiempo por compartir su conocimiento y enseñanzas en mi formación profesional.

Al Ing. Gilberto Cabalceta Aguilar M. Sc. por su gran disposición, disponibilidad y valiosos aportes en el desarrollo de este trabajo final de graduación

A la empresa de los hermanos Cabalceta (Santa Cruz, Guanacaste) por facilitarnos parte de la semilla que se utilizó en esta tesis.

A todo el personal del CIGRAS en especial al Laboratorio de Semillas: Carlos Hernández, Guillermo Solano y Marco Brizuela (que en paz descansa), por su colaboración y buena voluntad que hicieron posible la ejecución de este proyecto.

ÍNDICE

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Generalidades de la teca	4
Usos de la teca	5
Anatomía y botánica de la teca	5
Características del árbol	5
Características del fruto	6
Características de la semilla	6
Tratamientos para mejorar la germinación	9
Alternancia entre secamiento y humedecimiento	9
Alternancia de temperaturas	9
Imbibición	9
Envejecimiento	10
Calor seco	10
Escarificación física	10
Escarificación química	11
Tratamientos con otras sustancias	11
Rayos gama	12
Inoculación con hongos	12
Otros métodos de propagación	12
Patógenos	13
MATERIALES Y MÉTODOS	14
Localización del experimento	14
Material experimental	14
Pruebas de germinación	14
Experimentos realizados	15
Pruebas de tetrazolio	15
Prueba preliminar de germinación de los lotes	15
Pruebas de germinación con la semilla extraída del fruto	16
Prueba de germinación con frutos recién cosechados	16
Pruebas con fungicida	16
Porcentaje de humedad de los frutos con diferentes períodos de imbibición	16
Porcentaje de humedad de las semillas en diferentes períodos de imbibición	17
Tratamientos pregerminativos de imbibición	17
Tratamientos pregerminativos de inmersión en agua en una incubadora a 40°C y calor húmedo	18
Unidad experimental	18
VARIABLES EVALUADAS	18

Diseño experimental	19
Análisis estadístico	19
RESULTADOS	20
Pruebas de tetrazolio	20
Prueba preliminar de germinación de los lotes	20
Pruebas de germinación con la semilla extraída del fruto	21
Prueba de germinación con frutos recién cosechados	21
Pruebas con fungicida	22
Porcentaje de humedad de los frutos con diferentes períodos de imbibición	22
Porcentaje de humedad de las semillas con diferentes períodos de imbibición	23
Tratamientos pregerminativos de imbibición	24
Tratamientos pregerminativos de inmersión en agua en una incubadora a 40°C y calor húmedo	25
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	41
RECOMENDACIONES	43
BIBLIOGRAFÍA	44
APÉNDICE	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de humedad en frutos de teca de lotes de germinación alta, media y baja sometidos de 0 hasta 8 días de imbibición en agua. _____27

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1.** Porcentaje de viabilidad según la prueba de tetrazolio en semilla de teca de lotes de germinación alta y baja, en frutos escarificados comercialmente y sin escarificar. _____ 28
- Cuadro 2.** Porcentaje de geminación y número de plántulas normales en frutos de teca de lotes de germinación alta, media y baja, escarificados (comercialmente y en el laboratorio) y quebrados o sin quebrar e imbibidos por 24 horas en una solución de ácido giberélico de 100 mg l⁻¹. 29
- Cuadro 3.** Porcentaje de geminación y número de plántulas normales frutos de teca recién cosechados escarificados comercialmente (quebrados y sin quebrar) y no escarificados (quebrados y sin quebrar). _____ 30
- Cuadro 4.** Porcentaje de geminación y número de plántulas normales en frutos de teca quebrados y sin quebrar, tratados y sin tratar con el fungicida Carboxín-Captan. _____ 31
- Cuadro 5.** Porcentaje de humedad en semilla de teca extraída de frutos escarificados quebrados y sin quebrar de lotes de germinación alta, media y baja, sometidos a 1, 4 y 6 días de imbibición en agua. _____ 32
- Cuadro 6.** Porcentaje de germinación en frutos escarificados de teca en lotes de germinación alta, media y baja, sometidos a 4 tratamientos pregerminativos: Testigo, CIGRAS e imbibición por 4 y 6 días. _____ 33
- Cuadro 7.** Porcentaje de germinación en frutos de teca en lotes de alta, media y baja germinación sometidos a 8 tratamientos pregerminativos: Testigo, CIGRAS, calor húmedo 2, 4 y 6 días, e inmersión en agua una incubadora a 40°C por 2, 4 y 6 días. _____ 34

RESUMEN

Se estudió el efecto de diferentes temperaturas y contenido de humedad de la semilla sobre la germinación de la semilla de teca. Se utilizaron frutos con y sin mesocarpo procedentes de lotes con alta (70 %), media (60 %) y baja (40 %) germinación y la viabilidad de la semilla se confirmó por medio de la prueba de tetrazolio. Los frutos sin mesocarpo y las semillas se trataron con el fungicida Vitavax 40% (carboxín-captan) a una dosis de 2 g kg^{-1} de semilla y se pusieron a germinar a 30°C . Los frutos sin mesocarpo se sumergieron en agua durante 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 días para desarrollar la curva de absorción de agua. Seguidamente se realizó lo mismo para determinar la humedad propiamente de la semilla pero con 0, 1, 4 y 6 de imbibición, con frutos quebrados y sin quebrar. Finalmente se aplicaron los siguientes tratamientos pregerminativos: protocolo del CIGRAS (pequeña fisura en frutos escarificados e inmersión durante 24 horas en una solución de 100 mg l^{-1} de ácido giberélico), inmersión de los frutos en agua por 4 y 6 días, calor húmedo durante 2, 4 y 6 días, inmersión en agua en una incubadora a 40°C por 2, 4 y 6 días y un testigo.

Según la prueba de tetrazolio la viabilidad de la semilla fue cercana al 100%. La aplicación del fungicida favoreció la germinación en la semilla extraída de los frutos desde 200 hasta 400% y en los frutos tratados se incrementó en un 40% donde también se benefició el número de plántulas por fruto. En la absorción de agua por parte del fruto el lote de calidad baja fue significativamente superior a los demás con un 46% de humedad y el punto máximo de absorción para los tres lotes se dio cerca de los 4 días, mientras que en la semilla el quebrado aumentó la absorción en el lote de calidad baja a los 4 días con un 28% de humedad y no influyó positivamente en el lote de calidad alta que presentó una humedad constante. Los tratamientos pregerminativos de 4 y 6 días de

imbibición e inmersión en agua en un incubadora a 40°C (2, 4 y 6 días) presentaron porcentajes de germinación inferiores al testigo, sin embargo el tratamiento con calor húmedo durante 6 días obtuvo un 66% y fue significativamente superior al testigo (59%) y similar al CIGRAS (64%) en el primer conteo a los 11 días después de la siembra.

Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, la semilla de teca presenta reposo físico a causa de su grueso mesocarpo y endocarpo lignificado que limitan la entrada del agua y el oxígeno a la semilla. Sin embargo aunque se elimine el mesocarpo y se hagan fisuras en el endocarpo, existen otros factores que todavía limitan la germinación. En este sentido el contenido de humedad de la semilla, la presencia de inhibidores en la testa de la semilla y los patógenos tanto en la superficie del fruto como en la semilla misma pueden perjudicar la germinación. Tratamientos como la escarificación del fruto, fisuras en el endocarpo y aplicación de fungicidas pueden favorecer la germinación.

INTRODUCCIÓN

Las plantaciones comerciales de especies forestales en Costa Rica se incrementaron en los últimos decenios debido al aumento en la demanda de productos forestales y la carencia de bosques naturales explotables (Rojas y Murillo, 2000). Desde hace aproximadamente 20 años el gobierno costarricense emitió decretos para la eliminación de impuestos al equipo importado utilizado en actividades forestales y otros beneficios que incentivan la inversión en esta actividad (Schmincke, 2000). Una de las especies prioritarias para proyectos forestales es la teca (*Tectona grandis* Linn. f.) (Castro y Raigosa, 2000), especie que representa 20 % de las áreas reforestadas en la última década en el país (Bermejo *et al.*, 2004).

La teca es una de las especies más valoradas en los trópicos por su excelente textura y durabilidad (Husen y Pal, 2006), las cuales permiten la fabricación de lujosos artículos (Husen y Pal, 2007). En ambientes adecuados, como en la India, la teca alcanza anualmente de 4 m³ ha⁻¹ a 18 m³ ha⁻¹ de madera (Jayasankar *et al.*, 1999 a). En Costa Rica se obtienen rendimientos entre 15 m³ ha⁻¹ y 20 m³ ha⁻¹ de madera de calidad aceptable (Rojas y Murillo, 2000; Schmincke, 2000). Con más de 2,5 millones de hectáreas en plantaciones en todo el mundo, hoy en día la teca es una de las especies maderables más utilizadas en el planeta, después de *Eucalyptus grandis* y *E. camaldensis*, las cuales cubren un área de 3 000 000 ha cada una (Behaghel, 1999).

La teca se puede propagar por medio del cultivo de tejidos (Monteuuis *et al.*, 1998; Daquinta *et al.*, 2001) o mediante estacas, pero la reproducción sexual es el método más común utilizado comercialmente (Husen y Pal, 2007). Además, factores como la utilización de semilla de mala calidad y la siembra en sitios inadecuados pueden afectar la calidad de la madera (Rojas y Murillo, 2000).

Según Robertson (2002) la germinación de la semilla de teca se ve afectada por su alto reposo, el cual ha sido relacionado con la estructura física, grado de madurez de la semilla y la presencia de sustancias inhibidoras de la germinación (Kaosa-ard, 1986; citado por Robertson, 2002). Sin embargo, el factor principal asociado con el reposo de las semillas es el grueso pericarpo, que no se ablanda lo suficiente para permitir el crecimiento y multiplicación de las células del embrión (Tewari, 1999).

Debido a los bajos porcentajes de germinación que presenta la semilla a consecuencia de la latencia física por causa de su grueso mesocarpo y duro endocarpo, se utilizan métodos de escarificación a nivel de campo que requieren de diferentes tiempos alternados de inmersión en agua y secado al sol para favorecer la germinación de la semilla (Trujillo, 1995; Robertson, 2002). Sin embargo estos procedimientos son muy lentos, los resultados son poco efectivos y no pueden ser utilizados de forma práctica en el laboratorio para realizar pruebas de germinación, por lo tanto es evidente la necesidad de establecer un protocolo más ágil y rápido ante una economía forestal que se encuentra en crecimiento constante.

OBJETIVOS

Objetivo general

Investigar el efecto de diversos tratamientos de temperatura y humedad sobre el porcentaje de germinación, la velocidad de germinación y el número de plántulas por fruto en teca.

Objetivos específicos

1. Determinar la curva de absorción de agua de frutos y de las semillas de teca.
2. Determinar los porcentajes de germinación en frutos de teca después de diferentes períodos de imbibición.
3. Determinar los porcentajes de germinación después de la aplicación de tratamientos con calor húmedo a 40°C e inmersión en agua en una incubadora a 40°C durante 2, 4 y 6 días.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades de la teca

La teca es un árbol tropical originario del sureste Asiático (Bermejo *et al.*, 2004), con plantaciones que ocupan un área de 25 000 000 ha, distribuidas principalmente en Myanmar (14 000 000 ha), India (9 000 000 ha), Tailandia (2 000 000 ha) y Laos (20 000 ha) (Behaghel, 1999). La teca se introdujo, probablemente, hace unos 400 a 600 años en Java, donde se aclimató y distribuyó a distintas partes de Asia, Africa y América Central (Pandey y Brown, 2000; citados por Husen y Pal, 2007).

Es una especie de rápido crecimiento que se desarrolla principalmente en bosques secos y húmedos por debajo de los 1000 msnm (Rojas, 2001; Husen y Pal, 2007). Crece adecuadamente en localidades con una precipitación anual entre 1250 mm y 3750 mm, en un ámbito de temperatura entre 13°C y 43°C (Rojas, 2001; Husen y Pal, 2007) y alta luminosidad (Healey y Gara, 2003; Husen y Pal, 2007). La teca se desarrolla bien en suelos profundos, fértiles y bien drenados con un nivel de pH no menor a 6,5 (Rojas, 2001; Husen y Pal, 2007). En Costa Rica las plantaciones comerciales se han establecido en tres zonas: el Pacífico Sur, Pacífico Seco y Atlántico Norte (Rojas, 2001).

La producción de madera de teca en el mundo se estima en 4 000 000 m³ anuales y se espera un incremento de 20 000 000 m³ para el año 2020 (Behaghel, 1999). Sin embargo, en zonas donde la explotación ha sido fuerte la producción ha disminuido por problemas de germinación y el crecimiento deficiente de los árboles nuevos (Bhargava y Khalatkar, 1987).

Usos de la teca

La madera de teca posee una alta resistencia al fuego y a los ácidos, gracias a su particular característica aceitosa (Robertson, 2002). Los principales usos de la teca son la fabricación de postes, construcción de marcos y cabañas (Maldonado y Loupe, 1999), elaboración de muebles lujosos, puentes pequeños y tejados (Maldonado y Loupe, 1999; Husen y Pal, 2007). Adicionalmente, se utiliza como barrera rompe vientos para proteger las plantaciones de frutales como el mango (Maldonado y Loupe, 1999, Rojas, 2001). Uno de los usos más recientes es la fitorremediación de suelos contaminados con petróleo en lugares donde se realiza la explotación de este material crudo (Agbogidi *et al.*, 2007).

Según Castro y Raigosa (2000), en Costa Rica se produce madera de teca de muy buena calidad, que presenta características como resistencia, flexión, estática, dureza tanto en los extremos como en los lados, así como en la compresión paralela y perpendicular. En Abangares estas propiedades fueron mecánicamente superiores, con respecto a la calidad de la madera que se produce en lugares como la India y Myanmar (Castro y Raigosa, 2000).

Anatomía y botánica de la teca

Características del árbol

Es un árbol de la familia Verbenaceae, deciduo con una copa redondeada, que bajo condiciones favorables puede desarrollar un tallo de 30 m de altura y con buen fuste (Francis, 2003; Husen y Pal, 2007). Las hojas son largas, elípticas u ovaladas, y usualmente de 30 cm a 60 cm de largo (Husen y Pal, 2007). El árbol posee una flor hermafrodita con protandria, por lo que la polinización es cruzada y se realiza en gran parte por insectos del género *Ceratina* y especies como la *Apis mellifera*

(Tangmitcharoen y Owens, 1997). La polinización puede ser exitosa en un 78 % de las flores, sin embargo, solamente se llegan a desarrollar de un 3 % a 5 % de frutos después de la fertilización, ya que se presenta incompatibilidad gametofítica en el estilo y en el ovario (Tangmitcharoen y Owens, 1997). Adicionalmente, los embriones pueden ser abortados en cualquier momento debido a fallos en el desarrollo del endosperma (Palupi y Owens, 1997).

Características del fruto

El fruto es una drupa dura e irregularmente redondeada. Su tamaño varía entre 5 mm y 20 mm, el promedio varía entre 11 mm y 17 mm (Rachmawati *et al.*, 2002). La estructura consiste de una capa delgada exterior (cáliz persistente), una capa gruesa de corcho en el medio (mesocarpo) y una parte interna que contiene cuatro cámaras que contienen las semillas (endocarpo) (Rachmawati *et al.*, 2002). El número de frutos secos por kilogramo varía de 1100 a 3500 con un promedio de 2000 frutos por kilogramo (Rachmawati *et al.*, 2002; Sivakumar *et al.*, 2002; Francis, 2003;). De acuerdo con la zona de procedencia, los frutos pueden variar considerablemente en tamaño, peso, y forma (Jayasankar *et al.*, 1999 b). Por lo general, el fruto es recogido del suelo una vez que se desprende del árbol por la acción del viento (Jatt *et al.*, 2007).

Características de la semilla

La semilla es ovalada, de 6 mm x 4 mm aproximadamente. Rara vez las cuatro cámaras, que presenta el fruto están ocupadas por una semilla (Rachmawati *et al.*, 2002). Se estima que el 40 % de los frutos de teca contienen solamente una semilla totalmente desarrollada y un 16 % contienen dos semillas desarrolladas (Kamra, 1973;

citado por Rajput y Tiwari, 2001), por lo que con frecuencia el fruto contiene de una a dos semillas (Rachmawati *et al.*, 2002).

La semilla de teca es ortodoxa (Mullawarman *et al.*, 2003) y se puede almacenar por dos o tres años sin pérdida de la viabilidad (Kadambi, 1993; Tewari, 1999). Casi todas las semillas presentan algún grado de reposo, lo que hace difícil una adecuada germinación (Robertson, 2002). Los bajos porcentajes de germinación se han atribuido a diferentes factores: un pericarpo grueso que limita la absorción de agua y oxígeno por parte de la semilla, inmadurez fisiológica de la semilla, inhibidores químicos presentes en el pericarpo y desbalances hormonales después de la maduración (Masilamani y Dharmalingam, 1998; Manonmani y Vanangamudi, 2003). Según Kadambi (1993) la principal causa que evita la germinación de la semilla de teca es el grueso pericarpo, que no se ablanda lo suficiente para permitir el desarrollo de las células del embrión.

Por otro lado, existe una gran irregularidad en la germinación de acuerdo con la procedencia del material (Yadav, 1992; Kadambi, 1993; Jayasankar *et al.*, 1999 b; Manonmani y Vanangamudi, 2003). Los árboles de teca crecen en diferentes condiciones climáticas y edáficas, lo que por procesos evolutivos, genera ecotipos con capacidades de germinación que puede variar considerablemente (Kadambi, 1993; Jayasankar *et al.*, 1999 b). En este sentido se determinó que semilla proveniente de regiones húmedas tiene mejor germinación que la de zonas secas (Rajput y Tiwari, 2001).

Por otro lado, en cuanto al tamaño, forma y peso de los frutos se reportan resultados variables. Jayasankar *et al.* (1999 b) y Khera *et al.* (2004) indican que el peso y tamaño de los frutos no tiene una influencia significativa en el porcentaje de germinación, crecimiento inicial de los semilleros, altura de las plántulas y el contenido de materia seca y sugieren que las características son meramente componentes de origen

genético. Sin embargo, Mathew y Vasudeva (2003) reportan que la germinación puede verse influenciada por la densidad del fruto, diámetro, grosor de mesocarpo y peso de la semilla. Los resultados obtenidos por estos autores indican que el diámetro y el peso de la fruta tienen una influencia directa sobre la germinación inicial (21 días después de la siembra), mientras que la germinación después de los 140 días es independiente de estas características (Mathew y Vasudeva, 2003). Otra conclusión importante derivada de este estudio es que las semillas de clones obtenidos de árboles viejos (de más de 30 años de edad) poseen una capacidad germinativa y de crecimiento en semilleros inferior a semillas provenientes de clones producidos de plantaciones más jóvenes (20 años de edad), lo que apoya la hipótesis de una carga genética acumulada con la edad (Mathew y Vasudeva, 2003). Otro de los factores que afectan la germinación es el tiempo de almacenamiento de la semilla. Se ha reportado que la semilla fresca tiene menor germinación que semilla almacenada por un año (Tiwari *et al.*, 2004). Además, se ha reportado que semilla de dos o tres años de almacenamiento puede presentar hasta un 25 % más de germinación que semilla fresca (Masilamani y Dharmalingam, 1998). De igual forma, Emmanuel y Dharmaswamy (1991) indican que la semilla de teca se puede almacenar hasta por dos años a 5°C sin tener reducciones en la germinación, ya que períodos más largos pueden afectarla.

Por otra parte, Sivakumar *et al.* (2002), encontraron que cuanto mayor sea el radio del mesocarpo menor será el porcentaje de germinación. Además determinaron que cuando hay dos o más semillas por fruto la germinación se favorece.

Tratamientos para mejorar la germinación

Alternancia entre secamiento y humedecimiento: El método de humedecimiento y secamiento alternativo antes de la siembra consiste en colocar los frutos en una bolsa y sumergirlos en agua a temperatura ambiente por 12 horas continuas (Robertson, 2002). Posteriormente, las semillas se esparcen en el suelo para secarla al sol durante 12 horas y este procedimiento se repite por 10 a 14 días antes de la siembra (Robertson, 2002). Con este procedimiento, se ha reportado que el 35 % de la semilla germinará el primer año, mientras que la semilla no germinada pero viable, germinará en los siguientes años (Robertson, 2002). Existe otro método similar en el cual el tiempo de tratamiento se extiende a 47 días, período durante el cual los frutos se cubren con paja sobre un germinador, se quema la paja y posteriormente se procede a sembrarlos (Trujillo, 1995).

Alternancia de temperaturas: Rajput y Tiwari (2001) reportaron que la alternancia de temperaturas de 0°C a 50°C aumentó la germinación en algunos lotes de semillas de teca de 2 % a 35 %. Sin embargo, algunas semillas en este experimento no requirieron estos tratamientos pregerminativos para germinar (Rajput y Tiwari, 2001).

Imbibición: Rajput y Tiwari (2001), consideran que el fruto de teca no tiene reposo físico porque el endocarpo que posee no es una estructura totalmente impermeable al agua y que un período de imbibición de 24 horas en agua es suficiente para promover la germinación. Por otro lado, Yadav (1992) indica que la germinación es más rápida cuando la semilla se sumerge en agua y se seca al sol en intervalos de 24 horas, o cuando se mantiene en agua por 6 días continuos.

Envejecimiento: Masilamani y Dharmalingam (1998) colocaron frutos de 10 meses de cosechados en una cámara con 100 % de humedad relativa a 40°C en períodos de 5 hasta 15 días y posteriormente se pusieron a germinar en potes expuestos al sol. El mejor tratamiento fue la semilla que se mantuvo 13 días en la cámara, la cual registró una germinación de 54 % superior al control (0 días) que alcanzó un 18% (Masilamani y Dharmalingam, 1998).

Calor seco: Los frutos se calientan de una a cinco semanas a 50°C o 48 horas a 80°C (referencia) Sin embargo, este es un método difícil de implementar para lotes grandes porque se requiere de un horno muy grande. Se han reportado valores promedio de germinación de 27 % de germinación, lo que representó un aumento del 200 % en germinación con respecto al control (sin tratamiento) (Vásquez, 2000; Rachmawati *et al.*, 2002).

Escarificación física: Existen diferentes métodos físicos de escarificación por medio de máquinas que eliminan una parte de la cubierta de la semilla, como la pistola de semillas, el cautín (o quemador incandescente) y el quemador mecánico; los cuales permiten realizar una pequeña fisura en algún punto de la semilla para la entrada del aire y el agua al embrión (Poulsen y Stubsgaard, 2000). También se usan máquinas que eliminan el mesocarpo por medio de abrasión con un sistema de rotación de frutos sumergidos previamente en agua por 24 horas (Grewal *et al.*, 1993; Bapat y Phulari, 1995).

Sin embargo, algunos investigadores consideran que estos métodos no se pueden utilizar para grandes volúmenes de semilla y pueden afectar la germinación por daño mecánico a la semilla (Rajput y Tiwari, 2001). Además de máquinas para eliminar el

mesocarpo, también se han utilizado termitas, que mejoran la germinación en un 20 % con respecto al tratamiento de humedecimiento y secamiento por 13 días (Chacko, 1998). Al mismo tiempo, con este tratamiento se reduce el volumen de los frutos en un 33 % y el peso en un 61 %, lo cual facilita su manejo y almacenamiento.

Escarificación química: La escarificación por medio de sustancias químicas, como el H_2SO_4 , promueven la germinación hasta en un 24% al incrementar la suavidad de la cubierta del fruto (Jatt *et al.*, 2007). Según Manonmani y Vanangamudi (2003) la escarificación con ácido sulfúrico triplica con respecto al testigo (sin escarificación), ya que hace más permeable el endocarpo para la entrada del agua y oxígeno.

Tratamientos con otras sustancias: Sustancias químicas, como el AG_3 , kinetina, y KNO_3 , promueven la germinación (Jatt *et al.*, 2007). En el caso del ácido giberélico, la aplicación externa de éste se ha utilizado para incrementar la germinación debido a que las giberelinas promueven la mayor liberación de enzimas de las células de la capa de aleurona (principalmente alfa-amilasa) (Taiz y Zeiger, 2006). Estas enzimas hidrolizan el almidón, los lípidos y las proteínas del endosperma y los convierten en azúcares de cadena corta, ácidos grasos y aminoácidos que serán utilizados primero por el embrión y luego por la plántula (Curtis 2006). En semilla de teca el AG_3 en una concentración de 25 mg l^{-1} tiene un efecto promotor de la germinación de hasta un 400 % con respecto al testigo sin tratamiento (Jatt *et al.*, 2007).

Con respecto a otros tratamientos pregerminativos, se ha reportado que un tratamiento con KNO_3 al 2 % junto con la inmersión en ácido sulfúrico concentrado durante una hora puede aumentar la germinación de frutos de teca en un 300 % con respecto al control (Manonmani y Vanangamudi, 2003). El KNO_3 mejora la

germinación debido a la conversión a nitrato dentro de la semilla y que promueve el ciclo de las pentosas fosfato hacia una inhibición de la catalasa y una oxidación de NADPH₂ (Hendricks y Taylorson, 1974). Por otra parte, de acuerdo con Agboola (1998) la inmersión de la semilla de teca en una solución de KMnO₄ por 36 horas incrementa la germinación en un 7 % con respecto al testigo, cuya germinación fue de 65 %.

Rayos gama: Los resultados obtenidos por Bhargava y Khalatkar (1987) indican que por medio de la utilización de rayos gamma se puede incrementar la germinación en 100 %, obtener mayor número de hojas y brotes, y ampliar el área fotosintética con respecto al testigo (sin irradiación), hasta un máximo de 20 kR. Los autores reportaron que dosis mayores a ésta reducen los parámetros anteriormente señalados.

Inoculación con hongos: Los resultados reportados por Francis (2003) indicaron que inoculación de las semillas con el hongo *Scytalidium* sp., el cual fue aislado de la corteza del árbol de teca, mejoró la germinación al pasar de 20 % a 96 % (Francis, 2003).

Otros métodos de propagación

Debido a la variabilidad en cuanto al número de semillas por fruto y a su baja germinación, Husen y Pal (2007) reprodujeron materiales clonales para un programa forestal de teca, a partir de estacas tomadas de la parte media de las ramas de árboles de

plantaciones jóvenes (Husen y Pal, 2006). Sin embargo, a pesar de que se pueden implementar programas de propagación vegetativa, los volúmenes de producción son bajos y costosos, por lo que se dificulta su implementación (Palanisamy y Subramanian, 2001). En algunos casos se utilizan los clones para la producción de semilla de calidad genética y no con fines comerciales (Palupi y Owens, 1998).

El cultivo *in vitro* se ha utilizado para la propagación de materiales con bajas capacidades germinativas. En este caso se utiliza la microreproducción por medio de estacas de tallos procedentes de brotes axilares de genotipos de plantas germinadas *in vitro*, o de plantas que se desarrollan en condiciones naturales (Monteuuis *et al.*, 1998)

La propagación por medio de estacas o cultivo de tejidos son alternativas que surgieron en vista de la alta demanda de materiales para la siembra y la falta de semilla sexual, sin embargo el mejor método para la multiplicación de esta especie sigue siendo la semilla, por los bajos costos y la facilidad de manejo (Monteuuis y Goh, 1999).

Patógenos

Las semillas que se extraen de los frutos son muy suaves y frágiles, y por ser ricas en nutrientes son fácilmente atacadas por hongos, que pueden estar presentes en la superficie de la semilla o en el medio ambiente (Tiwari *et al.*, 2004). En la literatura se ha reportado el uso del fungicida cerasan (fenil acetato de mercurio) aplicado a la semilla, el cual evitó el ataque de hongos y favoreció considerablemente la germinación (Tiwari *et al.*, 2004).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Análisis de Calidad de Semillas del Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica.

Material experimental

Se utilizaron frutos de teca procedentes de muestras comerciales analizadas en el laboratorio durante los años 2006, 2007 y 2008. Las muestras se agruparon en lotes de alta, media y baja germinación, con porcentajes aproximados de 70, 60 y 40, respectivamente. Además, se separaron en lotes de frutos escarificados comercialmente (sin mesocarpo) y no escarificados (con mesocarpo). De esta forma, se establecieron 6 lotes: alta, media y baja germinación escarificados, y alta, media y baja germinación sin escarificar.

Pruebas de germinación

En las pruebas de germinación se utilizaron cajas plásticas transparentes de 37 cm de largo x 27 cm de ancho x 14 cm de profundidad con tapa y se utilizó turba (FAFARD[®], Quebec, Canadá) como sustrato (ISTA, 1999). Las cajas se colocaron en una cámara de germinación a 30°C y una humedad relativa de 100 % e iluminación constante. La germinación se evaluó 11 y 28 días después de la siembra (DDS) siguiendo las normas de la International Seed Testing Association (ISTA, 1999).

Experimentos realizados

Pruebas de tetrazolio

Con el fin de evaluar la viabilidad de las semillas se extrajeron 50 semillas de teca de frutos de lotes de alta y baja germinación, escarificados comercialmente y sin escarificar y se realizaron tres tratamientos: a) semilla entera; b) semilla partida por la mitad en un corte longitudinal y c) semilla partida por la mitad en un corte transversal, luego se sumergieron en una solución de tetrazolio (2, 3, 5 – trifenil tetrazolio) con una concentración de 10 g l^{-1} , se colocaron en una cámara de germinación a 30°C durante 24 horas y se determinó la cantidad de semillas viables por tratamiento.

Prueba preliminar de germinación de los lotes

Se realizó una prueba de germinación para constatar los porcentajes de germinación de los lotes escarificados comercialmente y no escarificados. Se siguió el protocolo de análisis del CIGRAS para teca, el cual consiste en escarificar los frutos por medio de una mezcladora marca SORVALL durante 3 minutos, para eliminar el mesocarpo en los lotes no escarificados. Posteriormente, se realizó una pequeña fisura (quebrado leve) en cada uno de los frutos para facilitar la absorción de agua. Este procedimiento se realiza con un “gato” hidráulico modificado para que funcione como una prensa mecánica. Posteriormente los frutos se colocan en una solución de ácido giberélico (Progibb 4 %) con una concentración de 100 mg l^{-1} durante 24 horas y luego se siembran en cajas plásticas transparentes para germinación con turba como sustrato. También, se puso a germinar un testigo que siguió el protocolo del CIGRAS pero que no recibió el proceso de quebrado.

Pruebas de germinación con la semilla extraída del fruto

Semillas de frutos de teca de los lotes de alta y baja germinación, escarificados comercialmente y sin escarificar, fueron extraídas para realizar una prueba de germinación. Se extrajeron 50 semillas por lote y se colocaron en cajas plásticas con turba en una cámara de germinación a 30°C. Posteriormente, se realizó otra prueba de germinación con la misma cantidad de semilla tratada con el fungicida carboxín-captan (Vitavax 40 %) a razón de 2 g de i.a. por kilogramo de semilla.

Prueba de germinación con frutos recién cosechados

Se usaron frutos de teca recién cosechados procedentes de Santa Cruz, Guanacaste (latitud: 10°16'00" N; longitud: 85°35'00" O) y se aplicaron los siguientes tratamientos pregerminativos: a) escarificación comercial y quebrado, b) escarificación comercial c) quebrado de frutos sin escarificar y d) testigo (frutos sin escarificar que no recibieron ningún tratamiento). En todos los casos, con excepción del testigo, los frutos se sumergieron por 24 horas en una solución de ácido giberélico con una concentración de 100 mg l⁻¹, antes de colocarlos en la cámara de germinación a 30°C.

Pruebas con fungicida

Se tomaron frutos de muestras tratadas con y sin el fungicida carboxín-captan y se realizó una prueba de germinación con dos tratamientos: a) protocolo del CIGRAS y b) protocolo del CIGRAS sin quebrar el fruto.

Porcentaje de humedad de los frutos con diferentes períodos de imbibición

Frutos de teca escarificados comercialmente de las tres calidades (alta, media y baja germinación) se imbibieron en agua destilada por períodos de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 días, y cada 24 horas se cambió el agua. Transcurrido los respectivos tiempos de

imbibición, los frutos se secaron superficialmente con papel toalla y de inmediato se registró el peso fresco (peso final) y se determinó su porcentaje de humedad. Se utilizaron tres repeticiones por tratamiento y 20 frutos por unidad experimental. La humedad base húmeda (Hbh) se determinó con la siguiente fórmula:

$$H_{bh} = \frac{100 * (\text{Peso inicial} - \text{Peso final})}{\text{Peso inicial}}$$

Porcentaje de humedad de las semillas en diferentes períodos de imbibición

Al igual que en el ensayo anterior, se tomaron frutos de teca escarificados comercialmente de las tres calidades (alta, media y baja germinación), y se aplicaron los siguientes tratamientos: a) 1 día de imbibición, b) 1 de imbibición + quebrado, c) 4 días de imbibición, d) 4 días de imbibición + quebrado, e) 6 días de imbibición, f) 6 días de imbibición + quebrado y 0 días de imbibición (testigo). Cada 24 horas se cambió el agua y se usaron 25 frutos por tratamiento. Cuando se cumplió el período de tiempo correspondiente, los frutos se quebraron y se extrajeron cuidadosamente las semillas de cada fruto. A cada semilla por separado se le determinó el porcentaje de humedad en base humedad en un horno de convección mecánica marca IMPERIAL IV (LAB-LINE INSTRUMENTS) a 103°C por 17 horas (ISTA, 1999).

Tratamientos pregerminativos de imbibición

Para este ensayo se utilizaron frutos de teca escarificados comercialmente de las tres calidades (alta, media y baja germinación) y a cada lote se le aplicaron cuatro tratamientos de imbibición en agua: a) protocolo del CIGRAS, b) imbibición por 4 días, c) imbibición por 6 días y d) sin imbibición (testigo). En los tratamientos de imbibición se utilizó H₂O destilada y se cambió cada 24 horas. Cada tratamiento y el testigo se pusieron a germinar de acuerdo con el procedimiento descrito para las pruebas de germinación.

Tratamientos pregerminativos de inmersión en agua en una incubadora a 40°C y calor húmedo

Frutos escarificados comercialmente de lotes de alta, media y baja germinación se sometieron a cuatro tratamientos: a) protocolo del CIGRAS; b) inmersión en agua, que consistió en sumergir los frutos en agua en una incubadora graduada a 40°C por períodos de 2, 4 y 6 días, el agua se cambió cada 24 horas; c) calor húmedo, los frutos se colocaron sobre papel de germinación humedecido en bandejas plásticas transparentes de 11 cm x 6 cm x 1,5 cm con tapa, una lámina de agua de 1 cm y una bandeja de plástico en el medio en donde se situaron los frutos sobre el papel. Cada bandeja se introdujo en una bolsa plástica transparente y se colocó en una incubadora graduada a 40°C por 2, 4 y 6 días; d) testigo (sin calentamiento). Después de los tratamientos, los frutos se colocaron en las condiciones ya descritas para su germinación.

Unidad experimental

En el caso de los ensayos de germinación la unidad experimental consistió de 50 frutos por cada repetición. Para el experimento de velocidad de imbibición se usaron 20 frutos por unidad experimental. En el caso de la velocidad de imbibición se consideró cada semilla como una unidad experimental debido a la variabilidad entre datos.

VARIABLES EVALUADAS

En las pruebas de germinación se evaluó el porcentaje de germinación y el número de plántulas normales totales a los 11 y 28 días después de la siembra. En el caso de los tratamientos de imbibición se determinó el contenido de humedad.

Diseño experimental

En todos los experimentos se utilizó un diseño experimental irrestricto al azar.

Para los experimentos preliminares para determinar la calidad de los lotes, la semilla recién cosechada y la prueba con fungicida, se utilizaron 4 repeticiones de 50 semillas por tratamiento. Para los experimentos de tratamientos pregerminativos de imbibición, de inmersión en agua en una incubadora a 40°C y calor húmedo, se utilizaron 3 repeticiones por tratamiento.

Análisis estadístico

Primeramente se determinó la homogeneidad de las varianzas por medio del análisis de gráficos de los residuales. En este sentido, el ensayo de tratamientos pregerminativos de inmersión en agua en una incubadora a 40°C y calor húmedo, requirió de una transformación v y para los datos a los 11 días después de la siembra. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza y complementariamente se realizó una prueba de Diferencia Mínima Significativa (d.m.s), por medio del programa de análisis estadístico y biometría Infostat versión 1.0. Además en el experimento de porcentaje de humedad de los frutos con diferentes períodos de imbibición se realizó un análisis de regresión donde las curvas de regresión se compararon por medio de un análisis de polinomios ortogonales.

RESULTADOS

Pruebas de tetrazolio

En el Cuadro 1 se puede observar que las semillas de frutos de alta germinación escarificados comercialmente y de baja germinación sin escarificar presentaron 100% de viabilidad, mientras que los lotes de alta germinación sin escarificar y baja germinación escarificada obtuvieron un 98%. Los datos presentados en el Cuadro 1 corresponden a semillas enteras, sin embargo, los mismos resultados se alcanzaron cuando las semillas se cortaron longitudinal o transversalmente.

Prueba preliminar de germinación de los lotes

En esta prueba las interacciones entre los factores calidad, escarificación y quebrado no fueron significativas (Cuadro 2). Como se observa en el Cuadro 2 la germinación final para los lotes de alta, media y baja fue 76 %, 67 % y 45 %, respectivamente. En cuanto al número de plántulas por fruto el comportamiento fue similar, sin embargo las diferencias solo fueron significativas entre la calidad alta y la baja para las dos fechas de evaluación. Por otra parte, el método de escarificación no influyó en el porcentaje de germinación y en el número de plántulas por fruto para esta prueba. El quebrado del fruto favoreció la germinación a los 11 DDS, sin embargo a los 28 las diferencias no fueron significativas y el promedio final fue de 64 % para los frutos quebrados y de 60 % para los que no se quebraron. En cuanto al número de plántulas por fruto, éste fue mayor en los frutos sin quebrar a los 11 y 28 DDS, donde el tratamiento quebrado alcanzó un 1,62 y el tratamiento sin quebrar 1,76 plántulas/fruto como promedios finales.

Pruebas de germinación con la semilla extraída del fruto

La aplicación del fungicida carboxín-captan sobre la semilla de teca favoreció la germinación tanto en el lote de germinación alta como en el de baja, independientemente de haber sido escarificados. El lote de germinación alta escarificado fue el que experimentó el mayor incremento (400 %) al pasar de 14 % a 70 % de germinación, mientras que el que obtuvo el menor aumento fue el lote de germinación baja escarificado (200 %), el cual se incrementó de 14 % a 42 %.

Prueba de germinación con frutos recién cosechados

Los factores de escarificación y quebrado favorecieron la germinación a los 11 y 28 DDS (Cuadro 3), donde se obtuvieron porcentajes finales de germinación de 66 % para escarificado y 45 % sin escarificar, lo que representó una diferencia de 21 %. Por otra parte, el fruto quebrado tuvo 61,5 % y el tratamiento sin quebrar obtuvo un 49,5 %, para una diferencia del 12 % ($P < 0,05$). En cuanto al número de plántulas por fruto no se presentaron diferencias significativas para los factores evaluados, con un valor máximo de 1,58 para el tratamiento sin quebrar y mínimo de 1,50 para quebrado.

En el Cuadro 3, también se puede notar que hubo una interacción de los dos factores evaluados (escarificación y quebrado) para la variable de número de plántulas por fruto ya que cuando los frutos fueron escarificados y quebrados presentaron un valor significativamente menor (1,45) al que se obtuvo cuando los frutos no se quebraron (1,66) ($P < 0,05$) (Apéndice A).

Pruebas con fungicida

En el Cuadro 4 se puede observar que no se presentó una interacción entre el quebrado del fruto y el uso del fungicida, sin embargo sí se presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en cada factor a los 11 y 28 DDS, tanto para la germinación como para el número de plántulas normales por fruto. El quebrado incrementó la germinación en 18 % y el uso del fungicida en 40 %, mientras que el número de plántulas normales por fruto se vio favorecido por el quebrado y el uso del fungicida.

Porcentaje de humedad de los frutos con diferentes períodos de imbibición

En la Figura 1 se presenta el contenido de humedad de frutos de teca de lotes de germinación alta, media y baja sometidos desde 0 hasta 8 días de imbibición. Los tres lotes incrementaron su humedad conforme aumentó el tiempo de imbibición, y de acuerdo con el análisis de las curvas de regresión por polinomios ortogonales no se presentaron diferencias significativas en el comportamiento de las 3 curvas. Sin embargo se presentaron diferencias entre los lotes y los días de imbibición. El lote de germinación alta alcanzó la máxima imbibición a los 3 días (40 % de humedad), pero estadísticamente se mantuvo constante desde los 3 hasta los 8 días; mientras que los lotes de media y baja no mostraron una tendencia tan clara. El lote de germinación baja alcanzó su primer punto máximo a los 3 días con 47 % de humedad, que no fue significativamente diferente con respecto a 2 y 4 días de imbibición, donde los porcentajes de humedad máximos fueron 44 % y 46 %, respectivamente. El lote de germinación media presentó un comportamiento muy similar al anterior y ambos fueron superiores al lote de alta a los 4 días. Posteriormente en ambos lotes la humedad bajó gradualmente hasta 40 % a los 6 días y luego se presentó otro aumento hasta alcanzar

nuevamente 47 % a los 8 días, período en el que también fueron superiores al lote de germinación alta que logró 40 % de humedad.

El lote de germinación baja absorbió más agua que el de alta en la mayoría de los casos, excepto para los días 5 y 6. Por su parte el lote de germinación media presentó un comportamiento similar al lote de germinación baja y valores similares al lote de germinación alta excepto para los días 1, 4 y 8 días donde obtuvo mayor humedad que el lote de alta (Figura 1).

Porcentaje de humedad de las semillas con diferentes períodos de imbibición

En este experimento fue significativa la interacción de los tres factores: calidad, días de imbibición y quebrado (Cuadro 5). La humedad inicial de la semilla fue de 6,17 %, 11,64 % y 9,72 % para los lotes de calidad baja, media y alta, respectivamente. El quebrado aumentó la humedad en los lotes de germinación baja cuando se imbibió por 4 y 6 días, y presentó el valor más alto a los 4 días (28 %), mientras que en los frutos sin quebrar el porcentaje de humedad de la semilla no varió en el tiempo y el valor promedio fue de 18 %. El lote de germinación media presentó mayor humedad cuando los frutos se quebraron y alcanzó el valor más alto a los 4 días, que se repitió a los 6 días (24 %). La humedad de la semilla de los frutos que no se quebraron aumentó progresivamente en el tiempo: 15 % (2 días), 18 % (4 días) y 22 % a los 6 días, donde no se presentaron diferencias significativas con respecto a los frutos quebrados. Por otra parte en el lote de germinación alta los frutos sin quebrar obtuvieron mayor humedad con 1 día de imbibición (27 %), que los frutos quebrados (22 %). A los 4 días la humedad fue de 23 % y a los 6 días de 26 %, tanto para la semilla de los frutos quebrados como los que no se quebraron. El quebrado incrementó la humedad de los

lotes de germinación media y baja, sin embargo no influyó en el lote de germinación alta.

Con respecto al efecto de cada factor, el lote de germinación alta obtuvo 24% de humedad, valor superior a los lotes de media y baja con un valor promedio de 20% para ambos. Con relación al factor tiempo (días de imbibición), el contenido de humedad aumentó progresivamente desde 20 % con 1 día hasta 22 % y 23 % a los 4 y 6 días respectivamente. Por otra parte los frutos que se quebraron alcanzaron una humedad de 23,3 % que fue mayor a los que no se quebraron con un 20,8 %.

Tratamientos pregerminativos de imbibición

Como se observa en el Cuadro 6 no hubo interacciones significativas entre los factores de calidad y los tratamientos pregerminativos.

Se presentaron diferencias en la germinación a los 11 y 28 DDS para el factor calidad donde los lotes de alta y media fueron superiores ($P < 0,05$) al de baja, con valores finales de 71 %, 68 % y 39 % respectivamente. En cuanto al efecto de los tratamientos, el testigo y CIGRAS no fueron diferentes entre sí pero fueron superiores a 4 y 6 días de imbibición que a su vez no presentaron diferencias entre sí (Cuadro 6).

Por otro lado, la variable de número de plántulas por fruto solamente presentó diferencias significativas a los 28 DDS para el factor de calidad, donde alta y media no fueron diferentes entre sí con valores de 1,70 y 1,75 respectivamente, pero fueron superiores ($P < 0,05$) a la calidad baja con un valor promedio de 1,54.

Tratamientos pregerminativos de inmersión en agua en una incubadora a 40°C y calor húmedo

Como se desprende del Cuadro 7 en este experimento no se presentaron interacciones entre la calidad del fruto y los tratamientos pregerminativos.

En cuanto al factor de calidad los tres lotes presentaron diferencias significativas en la germinación a los 11 y 28 DDS, donde alta alcanzó mayor germinación con un promedio final de 66 %, seguido de media (61 %) y baja (36 %). El número de plántulas por fruto a los 11 DDS fue superior para la calidad alta con respecto a media y baja, las cuales no presentaron diferencias significativas entre sí, mientras que a los 28 DDS se obtuvieron diferencias significativas entre las tres calidades con promedios de 1,74 para alta, 1,61 media y baja 1,49.

Por otro lado, los tratamientos de inmersión en agua en una incubadora a 40°C presentaron los porcentajes de germinación más bajos y asimismo, conforme se incrementó el tiempo de exposición, la germinación fue menor en las dos fechas de evaluación con un porcentaje final de 47 % para 2 días, de 38 % para 4 días y de 23 % para 6 días. Además, no se presentaron diferencias significativas entre el tratamiento CIGRAS y el Testigo para las dos fechas evaluadas. A los 11 DDS el tratamiento de calor húmedo 6 días fue superior al Testigo y no presentó diferencias significativas con respecto a los tratamientos CIGRAS y calor húmedo de 4 días. El tratamiento de calor húmedo de 2 días fue menor a los tratamientos anteriormente mencionados pero no presentó diferencias significativas con el Testigo y 4 días de calor. A los 28 DDS no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos de calor húmedo, Testigo y CIGRAS, con porcentajes finales de 64,7 % para Testigo, CIGRAS 66 %, calor 2 días 60 %, calor 4 días 66,9 % y calor 6 días 67,1 %, Sin embargo, se establecieron diferencias significativas entre los tratamientos de calor húmedo de 2 y 6 días.

Por otra parte el número de plántulas por fruto para el factor de calidad a los 11 DDS fue mayor para alta con respecto a media y baja que no presentaron diferencias significativas entre sí. A los 28 DDS se presentaron diferencias en las tres calidades con valores finales de 1,74 alta, 1,61 media y 1,49 baja. No se encontraron diferencias significativas a los 11 y 28 DDS entre los tratamientos de calor húmedo, inmersión en agua en una incubadora a 40°C 2 días, Testigo y CIGRAS. El tratamiento de inmersión en agua en una incubadora a 40°C 6 días fue inferior a todos. Finalmente el tratamiento de inmersión en agua en la incubadora a 40°C 4 días a los 11 DDS fue inferior a los tratamientos Testigo y calor 2 días (Apéndice B).

Figuras

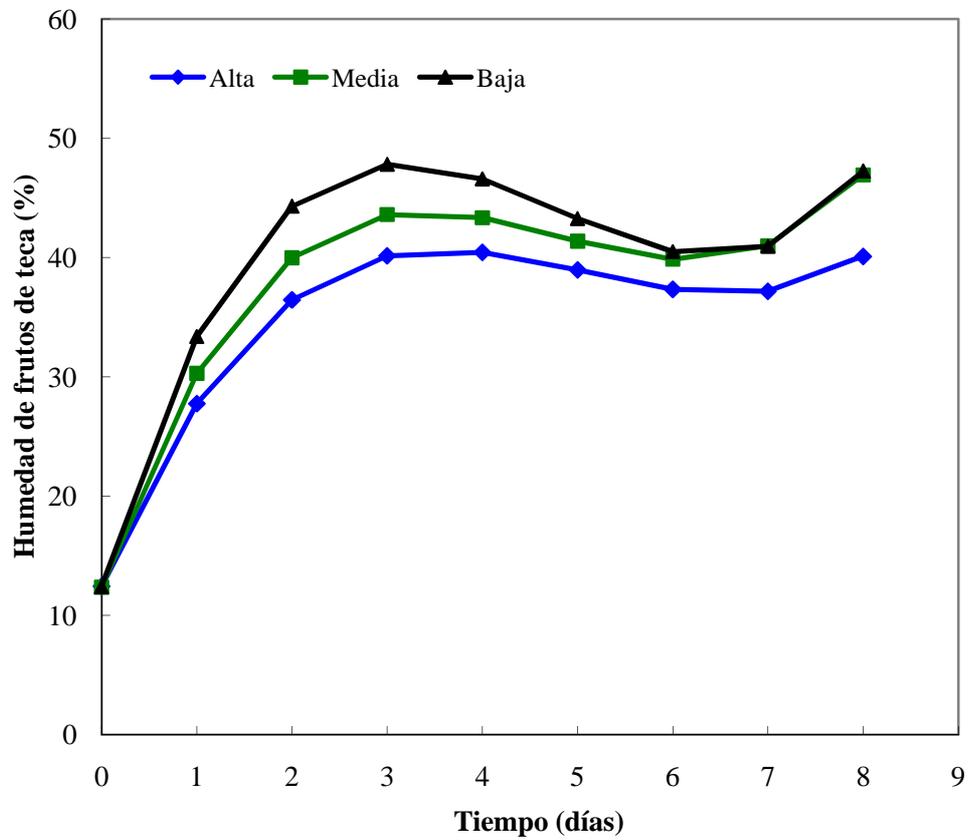


Figura 1. Porcentaje de humedad en frutos de teca de lotes de germinación alta, media y baja sometidos de 0 hasta 8 días de imbibición en agua.

Cuadros

Cuadro 1. Porcentaje de viabilidad según la prueba de tetrazolio en semilla de teca de lotes de germinación alta y baja, en frutos escarificados comercialmente y sin escarificar.

Tratamiento	Viabilidad (%)
Alta germinación escarificada comercialmente	100
Alta germinación sin escarificar	98
Baja germinación escarificada comercialmente	98
Baja germinación sin escarificar	100

Cuadro 2. Porcentaje de germinación y número de plántulas normales en frutos de teca de lotes de germinación alta, media y baja, escarificados (comercialmente y en el laboratorio) y quebrados o sin quebrar e imbibidos por 24 horas en una solución de ácido giberélico de 100 mg l⁻¹.

Tratamiento	Germinación 11 DDS †	Germinación 28 DDS	Número de plántulas por fruto 11 DDS	Número de plántulas por fruto 28 DDS
	%	%		
<u>Calidad</u>				
Alta	69,88	75,88	1,84	1,80
Media	61,50	67,00	1,73	1,68
Baja	38,63	44,63	1,64	1,59
DMS (0,05)				
‡	5,37	5,72	0,14	0,12
<u>Escarificación (E)</u>				
Laboratorio	54,75	61,50	1,74	1,68
Comercial	58,58	63,50	1,74	1,70
DMS (0,05)	NS §	NS	NS	NS
<u>Quebrado (Q)</u>				
Quebrado	60,50	64,17	1,62	1,62
Sin quebrar	52,83	60,83	1,85	1,76
DMS (0,05)	4,38	NS	0,11	0,10
<u>ANDEVA</u>				
C X E	NS	NS	NS	NS
C X Q	NS	NS	NS	NS
E X Q	NS	NS	NS	NS
C X E X Q	NS	NS	NS	NS

*, **, *** Valor significativo en probabilidades de 0,05; 0,01 y 0,001, respectivamente

† DDS, Días después de la siembra

‡ DMS, Diferencia mínima significativa

§ NS, Valor no significativo para un nivel de probabilidad de 0,05

Cuadro 3. Porcentaje de germinación y número de plántulas normales en frutos de teca recién cosechados escarificados comercialmente (quebrados y sin quebrar) y no escarificados (quebrados y sin quebrar).

Tratamiento	Germinación 11 DDS † %	Germinación 28 DDS %	Número de plántulas por fruto 11 DDS	Número de plántulas por fruto 28 DDS
<u>Escarificación (E)</u>				
Escarificado	61,75	66,00	1,59	1,55
Sin escarificar	42,75	45,00	1,55	1,53
DMS ‡ (0,05)	7,51	8,55	NS §	NS
<u>Quebrado (Q)</u>				
Quebrado	59,00	61,50	1,52	1,50
Sin quebrar	45,50	49,50	1,61	1,58
DMS (0,05)	7,51	8,55	NS	NS
<u>ANDEVA</u>				
E X Q	NS	NS	*	*

*, **, *** Valor significativo en probabilidades de 0,05; 0,01 y 0,001, respectivamente

† DDS, Días después de la siembra

‡ DMS, Diferencia mínima significativa

§ NS, valor no significativo para un nivel de probabilidad de 0,05

Cuadro 4. Porcentaje de germinación y número de plántulas normales en frutos de teca quebrados y sin quebrar, tratados y sin tratar con el fungicida Carboxín-Captan.

Tratamiento	Germinación 11 DDS † %	Germinación 28 DDS %	Número de plántulas por fruto 11 DDS	Número de plántulas por fruto 28 DDS
<u>Quebrado (Q)</u>				
Quebrado	61,57	64,00	1,47	1,47
Sin quebrar	50,50	54,62	1,60	1,57
DMS ‡ (0,05)	5,22	4,94	0,07	0,09
<u>Fungicida (F)</u>				
Con fungicida	64,32	69,26	1,60	1,57
Sin fungicida	47,75	49,36	1,47	1,46
DMS (0,05)	5,22	4,94	0,09	0,09
<u>ANDEVA</u>				
Q X F	NS §	NS	NS	NS

*, **, *** Valor significativo en probabilidades de 0,05; 0,01 y 0,001, respectivamente

† DDS, Días después de la siembra

‡ DMS, Diferencia mínima significativa

§ NS, valor no significativo para un nivel de probabilidad de 0,05

Cuadro 5. Porcentaje de humedad en semilla de teca extraída de frutos escarificados quebrados y sin quebrar de lotes de germinación alta, media y baja, sometidos a 1, 4 y 6 días de imbibición en agua.

Tratamiento	Humedad de la semilla
	%
<u>Calidad (C)</u>	
Alta	24,80
Media	20,71
Baja	20,72
DMS † (0,05)	1,17
<u>Días (D)</u>	
1 día	20,24
4 días	22,69
6 días	23,30
DMS (0,05)	1,17
<u>Quebrado (Q)</u>	
Quebrado	23,31
Sin quebrar	20,80
DMS (0,05)	0,95
<u>ANDEVA</u>	
C X D	***
C X Q	***
D X Q	***
C X D X Q	**

*, **, *** Valor significativo en probabilidades de 0,05; 0,01 y 0,001, respectivamente

† DMS, Diferencia mínima significativa

Cuadro 6. Porcentaje de germinación y número de plántulas normales en frutos escarificados de teca en lotes de germinación alta, media y baja, sometidos a 4 tratamientos pregerminativos: Testigo, CIGRAS e imbibición por 4 y 6 días.

Tratamiento	Germinación 11 DDS † %	Germinación 28 DDS %	Número de plántulas por fruto 11 DDS	Número de plántulas por fruto 28 DDS
<u>Calidad (C)</u>				
Alta	64,83	71,00	1,78	1,70
Media	63,33	67,83	1,75	1,75
Baja	29,83	38,67	1,65	1,54
DMS ‡ (0,05)	5,53	6,33	NS §	0,11
<u>Tratamiento (T)</u>				
Testigo	59,11	64,67	1,75	1,69
CIGRAS	64,44	66,00	1,70	1,70
4 días imbibición	45,56	55,33	1,66	1,58
6 días imbibición	41,56	50,67	1,80	1,69
DMS (0,05)	6,39	7,31	NS	NS
<u>ANDEVA</u>				
C X T	NS	NS	NS	NS

*, **, *** Valor significativo en probabilidades de 0,05; 0,01 y 0,001, respectivamente

† DDS, Días después de la siembra

‡ DMS, Diferencia mínima significativa

§ NS, valor no significativo para un nivel de probabilidad de 0,05

Cuadro 7. Porcentaje de germinación y número de plántulas normales en frutos de teca en lotes de alta, media y baja germinación sometidos a 8 tratamientos pregerminativos: Testigo, CIGRAS, calor húmedo 2, 4 y 6 días, e inmersión en agua una incubadora a 40°C por 2, 4 y 6 días.

Tratamiento	Germinación 11 DDS † %	Germinación 28 DDS %	Número de plántulas por fruto 11 DDS	Número de plántulas por fruto 28 DDS
<u>Calidad (C)</u>				
Alta	62,42 (7,8) ‡	66,17	1,78	1,74
Media	58,00 (7,5)	60,58	1,62	1,61
Baja	31,58 (5,5)	35,67	1,52	1,49
DMS § (0,05)	0,2	4,23	0,12	0,11
<u>Tratamiento (T)</u>				
Testigo	59,11 (7,6)	64,67	1,75	1,69
CIGRAS	64,44 (8,0)	66,00	1,70	1,70
CH ¶ 2 d	57,33 (7,5)	60,00	1,78	1,75
CH 4 d	62,89 (7,8)	66,89	1,72	1,69
CH 6 d	65,78 (8,1)	67,11	1,68	1,67
A40°C # 2 d	41,56 (6,4)	46,89	1,63	1,57
A40°C 4 d	35,56 (5,8)	38,22	1,53	1,55
A40°C 6 d	18,67 (4,2)	23,33	1,31	1,26
DMS (0,05)	0,4	6,91	0,20	0,18
<u>ANDEVA</u>				
C X T	NS ††	NS	NS	NS

*, **, *** Valor significativo en probabilidades de 0,05; 0,01 y 0,001, respectivamente

† DDS, Días después de la siembra

‡ Valor en paréntesis corresponde al dato transformado mediante raíz cuadrada

§ DMS, Diferencia mínima significativa

¶ CH, Calor Húmedo

A40°C, Agua en incubadora a 40°C

†† NS, valor no significativo para un nivel de probabilidad de 0,05

DISCUSIÓN

La viabilidad de los lotes evaluados fue cercana al 100%, sin embargo esto no se demostró en los porcentajes de germinación ya que cada uno de los lotes se mantuvo en el ámbito de germinación establecido desde el inicio en la prueba preliminar de germinación. Esto indica que existe algún factor, como por ejemplo, algún tipo de reposo, el cual impide la germinación de un porcentaje importante de las semillas. El mesocarpo del fruto es una de las principales barreras físicas a la germinación en teca (Tewari, 1999; Singh *et al.*, 2007). Lo anterior se evidenció en las pruebas en las que se removió el mesocarpo del fruto (escarificación), ya que este proceso incrementó la germinación en un 21 % con respecto a los frutos no escarificados y sin diferencias en el número de plántulas por fruto entre los dos tratamientos (Cuadro 3).

Otra de las barreras físicas a la germinación en teca es el endocarpo (Camacho, 1994; Rajput y Tiwari, 2001; Jatt *et al.*, 2007) el cual limita la entrada del agua y de oxígeno a las semillas y presenta una resistencia mecánica contra la expansión del embrión (Camacho, 1994). Los tratamientos pregerminativos de calentamiento y enfriamiento del fruto provocan una ligera ruptura del endocarpo (Jatt *et al.*, 2007). Este es un proceso semejante al quebrado que se usó en este trabajo, el cual facilita la absorción del agua, el flujo del oxígeno y posiblemente reduce la presión de esta estructura sobre el desarrollo del embrión (Jatt *et al.*, 2007). En este trabajo el quebrado del endocarpo, en frutos recién cosechados incrementó la germinación en un 12% (Cuadro 3).

Otro factor que afecta la germinación es la presencia de microorganismos tanto en la superficie del fruto como en la semilla misma. Normalmente los frutos de teca se cosechan del suelo y pueden acarrear una serie de contaminantes, entre ellos hongos patógenos (*Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Aspergillus niger*,

Fusarium sp., *Penicillium sp.*, *Phoma sp.*, *Paecilomyces sp.*, *Verticillium sp.*) y saprófitos (Mohanani *et al.*, 2005). En las pruebas de germinación con semilla extraída de los frutos, la germinación fue más alta en semillas tratadas con el fungicida carboxín-captan que en las semillas no tratadas.

También cuando se aplicó el fungicida a frutos de cosecha reciente el porcentaje de germinación aumentó en un 20 % y se favoreció la cantidad de plántulas por fruto con respecto a los frutos no tratados (Cuadro 4). Esto puede estar relacionado con el hecho de que las semillas de teca son muy suaves, frágiles y ricas en nutrientes, lo que facilita el ataque de hongos (Tiwari *et al.*, 2004). En estudios realizados en semillas de teca, se reportó que la aplicación del fungicida fenil acetato de mercurio logró incrementar la germinación de 6 (testigo sin fungicida) a 45 % (Tiwari *et al.*, 2004), lo cual indica que, como se observó en este experimento, los microorganismos presentes en la semilla pueden afectar negativamente la germinación.

Por otro lado en la prueba preliminar de germinación (Cuadro 2) el procedimiento de quebrado del fruto favoreció la germinación en el primer conteo sin embargo a los 28 días no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. La respuesta observada puede estar relacionada a que los frutos utilizados para la formación de los lotes tenían más de un año de almacenamiento lo cual es una estrategia que se usa a nivel comercial para superar el reposo en lotes de germinación baja. Al respecto Tewari (1999) indica que el almacenamiento de semilla fresca con un 18% de germinación por 2 años con y sin mesocarpo, sólo requiere la inmersión en agua por 24 y 48 horas para alcanzar una germinación de 50 % y 63 %, respectivamente.

Con respecto a la eliminación del mesocarpo según Bebart (1999), Camacho (1994) y Jha (1999) la efectividad del método de escarificación depende de la remoción de la mayor cantidad de la cubierta externa sin que esto cause daño a la semilla. En este

trabajo el efecto de la escarificación comercial y de laboratorio fue muy similar. Este es un resultado esperado, ya que ambas técnicas se basan en la eliminación del mesocarpo. Por otra parte, la escarificación puede dañar las semillas (Rajput y Tiwari, 2001) como sucedió en este ensayo, donde el número de plántulas por fruto se vio afectado negativamente por la interacción de los factores de escarificación y quebrado (Cuadro 3). Además, el procedimiento de quebrado como factor individual también perjudicó el número de plántulas por fruto en la prueba preliminar (Cuadro 2) debido a que la fisura que se provoca puede dañar algunas de las semillas viables y con capacidad germinativa que se encuentran en los lóculos del fruto. Sin embargo, aunque el número de plántulas se afectó negativamente, la germinación se vio favorecida en la mayoría de los casos y este es el parámetro más importante para establecer la calidad comercial de un lote de semillas de teca. Lo anterior realza la importancia que tiene realizar el procedimiento de quebrado en esta especie en particular porque si no se realiza se puede subestimar el potencial germinativo de algunos lotes de semillas de buena calidad.

La absorción de agua por parte del fruto fue mayor en el lote de calidad baja y el máximo de absorción para los tres lotes se dio cercano a los 4 días. El lote de calidad alta presentó una absorción constante en el tiempo a partir de los 3 días, mientras que los lotes de media y baja calidad fueron muy irregulares (Figura 1). Es posible que el lote de calidad alta tuviera un endocarpo más permeable lo que permitió el fácil ingreso del agua. Por su parte, los lotes de calidad media y baja pueden haber tenido un endocarpo menos permeable, el cual representó mayor resistencia a la entrada del agua. Lo anterior también se evidenció en el ensayo de absorción de agua por parte de la semilla, con la interacción de calidad x días de imbibición x quebrado (Cuadro 5). La semilla del lote de germinación baja solamente absorbió agua cuando se quebró y sumergió en agua durante 4 días. El lote de calidad media absorbió agua

progresivamente en el tiempo, mientras que en el lote de calidad alta el quebrado no influyó probablemente porque los frutos poseían un endocarpo más permeable al agua lo que facilitó la entrada de la misma hasta la semilla. No obstante, aún cuando el agua ingrese a los lóculos de los frutos y las semillas puedan absorberla no se garantiza la germinación, porque en especies que poseen reposo mecánico también se puede presentar el reposo fisiológico a causa de inhibidores o impermeabilidad en la cubierta de la semilla (Camacho, 1994).

El endocarpo en el lote de calidad alta no representó una barrera física a la entrada al agua. Autores como Rajput y Tiwari (2001) señalan que la semilla de teca no tiene reposo físico porque el fruto es permeable al agua y la semilla puede absorberla perfectamente después de algunas horas de imbibición (1-48 horas). Los autores pusieron a imbibir semillas y frutos por separado y el porcentaje de humedad fue el mismo en las semillas extraídas de los frutos y en las semillas que se mantuvieron en ellos. Sin embargo, los lotes de calidad media y baja presentan reposo físico y no poseen impermeabilidad en la cubierta de la semilla porque las semillas de todos los lotes absorbieron agua (Figura 1 y Cuadro 5).

Además, Camacho (1994) indica que el contenido de humedad de la semilla es el factor que determina la profundidad del reposo físico de las semillas, debido al grado de compactación de las células de macroesclerénquima. En ambientes secos la humedad de la semilla es más baja y provoca que las células de macroesclerénquima se compacten y se induce mayor impermeabilidad (Camacho, 1994). En achiote se determinó que semilla con un porcentaje de humedad más bajo (21%) tenía menos germinación que cuando presentó más humedad (28 %) a causa de una cubierta seminal más gruesa en la semilla de baja humedad (Yogeesha *et al.*, 2005). Por lo tanto, este es otro factor que puede intervenir en la germinación de la semilla de teca porque el lote de

baja calidad presentó un porcentaje de humedad promedio de 6,17%, mientras que el porcentaje de humedad de las semillas de alta calidad fue 9,72%.

En frutos de teca, los tratamientos pregerminativos buscan ablandar el endocarpo lo suficiente como para permitir la entrada del agua y la fácil emergencia de la radícula (Jha, 1999; Tewari, 1999). Sin embargo, los tratamientos pregerminativos de imbibición (Cuadro 6) empleados con ese propósito, no fueron efectivos para aumentar el número de plántulas por fruto y por el contrario, el porcentaje de germinación fue menor cuando aumentó el tiempo de imbibición. La respuesta observada concuerda con los estudios realizados por Rajput y Tiwari (2001) quienes determinaron que cuando el agua ingresa fácilmente a la semilla, la exposición a períodos largos de imbibición (más de 2 días) perjudica su calidad. Además Mishra y Pal (1997) señalan que el tratamiento pregerminativo que se utilice debe permitir un flujo adecuado de oxígeno para que el proceso de germinación inicie, sin embargo con la técnica de imbibición empleada en este trabajo el acceso al oxígeno pudo haber sido limitado.

Por otro lado los tratamientos de inmersión en agua en una incubadora a 40°C perjudicaron la germinación de las semillas y cuanto mayor fue el tiempo de exposición de los frutos, menor fue la germinación y el número de plántulas por fruto, lo cual coincide resultados que indican que los tratamientos térmicos en frutos de teca pueden reducir viabilidad de las semillas (Camacho, 1994).

Por el contrario el tratamiento de calor húmedo de 6 días favoreció la germinación conforme aumentó la exposición al tratamiento. Esto puede indicar que de alguna forma el calor húmedo creó ablandamientos similares a las que provoca el quebrado y permitió la entrada de oxígeno y agua en forma de vapor hasta la semilla. De manera similar se han realizado estudios con tratamientos de temperaturas alternas de 0°C-50°C (Rajput y Tiwari, 2001) y de 4°C-40°C (Jatt *et al.*, 2007) para crear fisuras

en el fruto. En el experimento de Rajput y Tiwari (2001) se estudiaron frutos procedentes de tres zonas húmedas y una seca. En este experimento el tratamiento fue efectivo en semillas proveniente de dos zonas húmedas (germinación de 18 %-40 %), mientras que en semillas provenientes de la zona seca no fue efectivo (0 %).

Es importante indicar que a pesar que diferentes autores reportan que el ácido giberélico (AG₃) promueve la germinación de semilla de teca (Mishra y Pal, 1997; Jatt *et al.*, 2007), en este estudio no tuvo ningún efecto positivo. Al respecto Camacho (1994) sugiere que el incremento en la germinación asociado al AG₃ ocurre cuando hay deficiencia de hormonas promotoras de la germinación o a la incapacidad de la semilla para sintetizarlas.

Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, la semilla de teca presenta reposo físico a causa de su grueso mesocarpo y endocarpo lignificado que limitan la entrada del agua y el oxígeno a la semilla. Sin embargo aunque se elimine el mesocarpo y se hagan fisuras en el endocarpo, existen otros factores que todavía limitan la germinación. En este sentido el contenido de humedad de la semilla, la presencia de inhibidores en la testa de la semilla y los patógenos tanto en la superficie del fruto como en la semilla misma pueden perjudicar la germinación. Tratamientos como la escarificación del fruto, fisuras en el endocarpo y aplicación de fungicidas pueden favorecer la germinación.

CONCLUSIONES

- La viabilidad de los lotes de alta y baja germinación fue cercana al 100%.
- La semilla de teca presenta reposo físico a causa de su grueso mesocarpo y duro endocarpo que limitan la entrada del agua.
- No se presentaron diferencias entre el método de escarificación del laboratorio y el comercial, y ambos son procedimientos ágiles y eficientes para eliminar el mesocarpo e incrementar la germinación.
- El procedimiento de quebrado incrementa la germinación pero es una técnica poco práctica para aplicación comercial.
- La aplicación del fungicida carboxín-captan favorece la germinación de las semillas desnudas, el número de frutos que producen una plántula normal (germinación comercial) y el número de plántulas por fruto.
- La aplicación del ácido giberélico en este trabajo no tuvo efectos positivos en la germinación por lo que es un factor que se debe considerar en los tratamientos pregerminativos para no incurrir en gastos innecesarios.
- El quebrado favoreció la absorción de agua por parte de la semilla en el lote de baja calidad a los 4 días y no tuvo efecto positivo en el lote de alta calidad.
- La semilla de frutos quebrados de calidad baja fue la que absorbió menos agua a pesar de que los frutos enteros fueron los que absorbieron más agua.
- La inmersión prolongada en agua perjudicó la germinación al igual que la inmersión en agua en la incubadora a 40°C.
- El tratamiento de calor húmedo de 6 días fue superior al testigo pero igual al protocolo del CIGRAS y es una técnica que se podría implementar a nivel de

laboratorio y que tendría que considerarse y evaluarse a gran escala porque posiblemente demande un alto costo.

- La humedad de la semilla, la presencia de inhibidores en la testa y los patógenos tanto en la superficie del fruto como en la semilla misma pueden perjudicar la germinación.

RECOMENDACIONES

- Realizar más pruebas con fungicidas tanto en frutos como en semillas y utilizar otros ingredientes activos.
- Investigar más acerca del contenido de humedad inicial de la semilla de teca y como puede ésta afectar la germinación.
- El calor húmedo es un tratamiento promisorio que podría experimentarse por períodos de exposición más largos en los lotes de baja calidad.
- Deben de emplearse metodologías distintas a las de este trabajo que reduzcan el daño que ocurre en algunas semillas con las técnicas de escarificación, quebrado y la inmersión en agua en la incubadora a 40°C, las cuales pueden afectar negativamente el número de plántulas por fruto.
- En el caso de la inmersión en agua en la incubadora a 40°C se debería evaluar con períodos de inmersión más cortos (horas).

BIBLIOGRAFÍA

- AGBOGIDI, O; DOLOR, E; OKECHUKWU, E. 2007. Evaluation of *Tectona grandis* (Linn.) y *Gmelina arborea* (Roxb.) for phytoremediation in crude oil contaminated soils. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 72: 149-152.
- AGBOOLA, D. 1998. Effect of saline solutions and salt stress on seed germination of some tropical forest tree species. *Revista de Biología Tropical* 46: 1109-1115.
- BAPAT, A; PHULARI, M. 1995. Teak fruit treatment machine, a prototype II. *Indian Forester* 121: 545-549.
- BEBARTA, K. 1999. Teak: ecology, silviculture, management and profitability. Dehra Dun, India. International Book Distributors. 380 p.
- BEHAGHEL, I. 1999. The state of teak (*Tectona grandis* L.F.) plantations in the world. *Bois et Forêts des Tropiques* 262: 18-30.
- BERMEJO, I; CAÑELLAS, I; SAN MIGUEL, A. 2004. Growth and yield models for teak plantations in Costa Rica. *Forest Ecology and Management* 189: 97-110.
- BHARGAVA, Y; KHALATKAR, A. 1987. Improved performance of *Tectona grandis* seeds with gamma irradiation. *Acta Horticulturae* 215: 51-53.
- CAMACHO, F. 1994. Dormición de semillas: causas y tratamientos. D.F., México. Editorial Trillas. 125 p.
- CASTRO, F; RAIGOSA, J. 2000. Crecimiento y propiedades físico-mecánicas de la madera de teca (*Tectona grandis*) de 17 años de edad en San Joaquín de Abangares, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 24: 7-23.

- CHACKO, K. 1998. Termite-aided mesocarp removal of teak (*Tectona grandis* L. f.) fruits for enhanced germination and cost-effective seed handling. *Indian Forester* 124: 134-140.
- CURTIS, H. 2006. *Invitación a la biología*. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana S.A. 768 p.
- DAQUINTA, M; RAMOS, L; CAPOTE, I; LEZCANO, Y; RODRÍGUEZ, R; TRINA, D; ESCALONA, M. 2001. Micropropagación de la teca (*Tectona grandis* L.F.). *Revista Forestal Centroamericana* 35: 25-28.
- EMMANUEL, C; DHARMASWAMY, S. 1991. Seed source variation in storage life of teak seeds. *Silvae Genetica* 40: 249-250.
- FRANCIS, K. 2003. Part II Species descriptions: *Tectona grandis* L.f. USDA Forest Service. Estados Unidos de América. 747 p.
- GREWAL, J; ANMOL, K; GAIKWAL, S. 1993. Teak fruit treatment machine, a prototype. *Indian Forester* 119: 252-254.
- HEALEY, S; GARA, R. 2003. The effect of a teak (*Tectona grandis*) plantations on the establishment of native species in an abandoned pasture in Costa Rica. *Forest Ecology and Management* 176: 497-507.
- HENDRICKS, S; TAYLORSON, R. 1974. Promotion of seed germination by nitrate, nitrite, hydroxylamine and ammonium salts. *Plant Physiology* 54: 304-309.
- HUSEN, A; PAL, M. 2006. Variation in shoot anatomy and rooting behaviour of stem cuttings in relation to age of donor plants in teak (*Tectona grandis* Linn. f.). *New Forests* 31: 57-73.
- HUSEN, A; PAL, M. 2007. Effect of branch position and auxin treatment on clonal propagation of *Tectona grandis* Linn. f. *New Forests* 34: 223-233.

- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). 1999. Rules. Seed Science and Technology 27: 191 p.
- JATT, T; SUHAIL, M; ABRO, H; SATAR, A. 2007. Alleviating seed dormancy of *Tectona grandis* L. by temperature, plant growth regulators and inorganic salts. Pakistan Journal of Botany 39: 2581-2583.
- JAYASANKAR, S; BABU, L; SUDHAKARA, K; DHANESH, P. 1999 (a). Evaluation of provenances for seedlings attributes in teak (*Tectona grandis* Linn. f). Silvae Genetica 48: 115-122.
- JAYASANKAR, S; BABU, L; SUDHAKARA, K; UNNITHAN, V. 1999 (b). Provenance variation in seed and germination characteristics of teak (*Tectona grandis* L. f.). Seed Science and Technology 27: 131-139.
- JHA, K. 1999. Teak (*Tectona grandis*) farming. Charbagh, India. International Book Distributing Company. 125 p.
- KADAMBI, K. 1993. Silviculture and management of teak. Dehra Dun, India. Natraj Publishers. 137 p.
- KHERA, N; SAXENA, A; SINGH, R. 2004. Seed size variability and its influence on germination and seedling growth of five multipurpose tree species. Seed Science and Technology 32: 319-330.
- MALDONADO, G; LOUPE, D. 1999. Teak from village plantations in Côte D'Ivoire. Bois et Forets des Tropiques 262: 30.
- MANONMANI, V; VANANGAMUDI, K. 2003. Studies on enhancing seed germination and seedling vigour in teak (*Tectona grandis*). Journal of Tropical Forest Science 15: 51-58.
- MASILAMANI, P; DHARMALINGAM, C. 1998. Germination improvement in teak (*Tectona grandis* Linn. f.) through forced ageing. Current Science 75: 356.

- MATHEW, J; VASUDEVA, R. 2003. Clonal variation for seed germination in teak (*Tectona grandis* Linn. f). *Current Science* 84: 1133-1136.
- MISHRA, M; PAL, M. 1997. Physiological assessment of germinability of teak seed. *In: Proceedings of the International Teak Symposium*. Ed. por Chand, S; Mohanan, C; Sankar, S. Kerela, India. p. 68-69.
- MOHANAN, C; CHACKO, K; CHANDRAN, A; VARMA, G. 2005. Seed health problems in tropical forest tree seeds and their impact on seedling production. *Working Papers of the Finnish Forest Research Institute* 11: 83-93.
- MONTEUUIS, O; BON, M; GOH, D. 1998. Propagation du teck par culture *in vitro*. *Bois et forets des tropiques* 255: 19-29.
- MONTEUUIS, O ; GOH, D. 1999. About the use of clones in teak. *Bois et forets des tropiques* 261 : 28-38.
- MULLAWARMAN; ROSHETKO, J; MAHARI, S; IRIANTONO, D. 2003. Tree seed management. Bogor, Indonesia. Winrock International and ICRAF. 55 p.
- PALANISAMY, K; SUBRAMANIAN, K. 2001. Vegetative propagation of mature teak tree (*Tectona grandis* L.). *Silvae Genetica* 50: 188-191.
- PALUPI, E; OWENS, J. 1997. Pollination, fertilization and embryogenesis of teak (*Tectona grandis* L.f.). *International Journal of Plant Sciences* 158: 259-273.
- PALUPI, E; OWENS, J. 1998. Reproductive phenology and reproductive success of teak (*Tectona grandis* L. F.). *International Journal of Plant Sciences* 159: 833-842.
- POULSEN, K; STUBSGAARD, F. 2000. Tres métodos de escarificación mecánica de semillas de testa dura. En: *Técnicas para la escarificación de semillas forestales*. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 60 p.

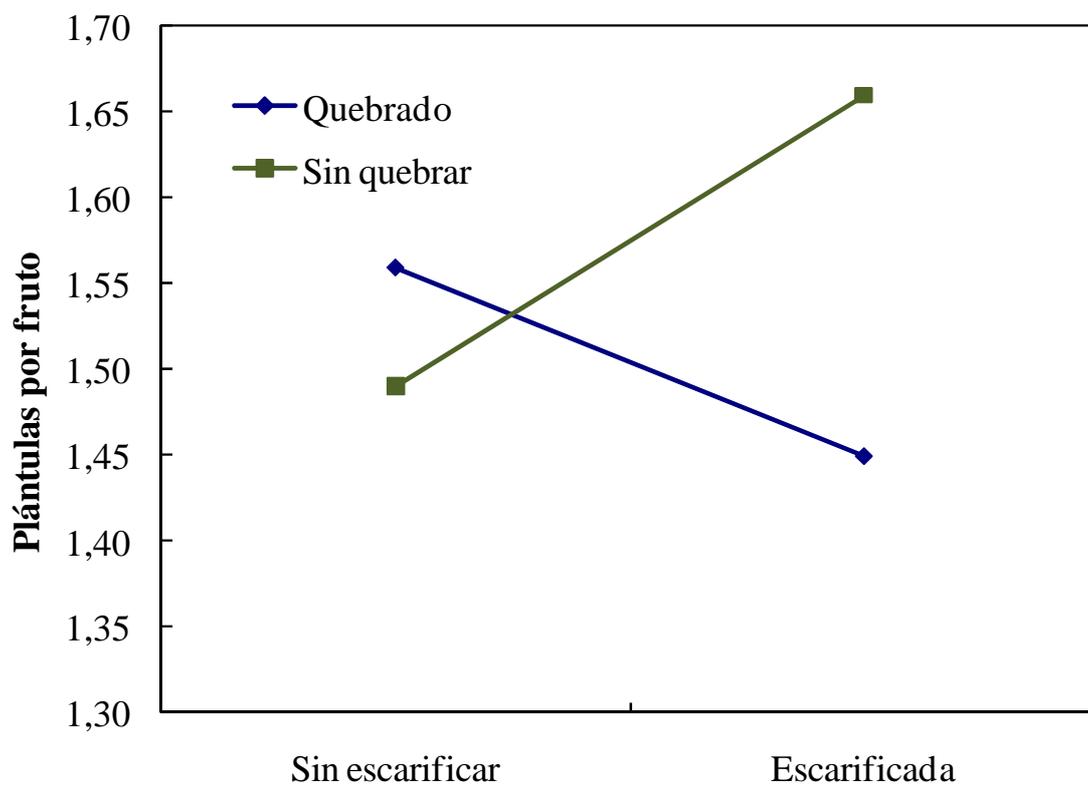
- RACHMAWATI, H; IRIANTONO, D; HANSEN, C. 2002. Seed leaflet N° 61. *Tectona grandis* L. f.. DANIDA Forest Seed Centre. Humleback, Dinamarca.
- RAJPUT, A; TIWARI, K. 2001. Effect of alternate chilling/heating on germination of fresh teak (*Tectona grandis* L.f.) drupes, without scarification of felty mesocarp. *Seed Science and Technology* 29: 57-64.
- ROBERTSON, B. 2002. Growing teak in the top end of the NT. *Agnote* 346 (20): 1-5.
- ROJAS, F. 2001. Plantaciones forestales. San José, Costa Rica. EUNED. 231 p.
- ROJAS, O; MURILLO, O. 2000. Calidad de las plantaciones de teca en la península de Nicoya, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 24: 65-75.
- SCHMINCKE, K. 2000. Teak plantation in Costa Rica, precious wood's experiences. *Unasyuva* 201: 29-35.
- SINGH, V; DHANAI, C; PANWAR, G; GUPTA, G; KUMAR, A. 2007. Effect of pre-sowing seed treatments on seedling growth attributes of teak (*Tectona grandis* L.). *Progressive Research* 2: 76-78.
- SIVAKUMAR, V; PARTHIBAN, K; GURUDEV, B; GNANAMBAL, V; ANANDALAKSHMI, R; GEETHA, S. 2002. Variability in drupe characters and their relationship on seed germination in teak (*Tectona grandis* L.f.). *Silvae Genetica* 51: 232-237.
- TAIZ, L; ZEIGER, E. 2006. Fisiología vegetal. Sunderland, Estados Unidos de América. Universitat Jaume. 1338 p.
- TANGMITCHAROEN, S; OWENS, J. 1997. Floral biology, pollination, pistil receptivity, and pollen tube growth of teak (*Tectona grandis* Linn f.). *Annals of Botany* 79: 227-241.
- TEWARI, D. 1999. A monograph of teak (*Tectona grandis* Linn. f.). Dehra Dun, India. International Book Distributors. 479 p.

- TIWARI, C; SHARMA, S; VERMA, R. 2004. Effect of fungicide and plant growth hormones on germination of teak (*Tectona grandis*). Journal of Tropical Forest Science 16: 25-34.
- TRUJILLO, E. 1995. Manejo de semillas forestales. Turrialba, Costa Rica. CATIE. 47 p.
- VÁZQUEZ, W. 2000. Protocolo de germinación para *Tectona grandis* L. en laboratorio. In: Segundo Simposio sobre avances en la producción de semillas forestales en América Latina. Ed. por SALAZAR, R. Turrialba, Costa Rica. p. 159-162.
- YADAV, J. 1992. Pre-treatment of teak seed to enhance germination. Indian Forester 118: 260-264.
- YOGESHA, H; SHIVANANDA, T; BHANUPRAKASH, K. 2005. Effect of seed maturity seed moisture and various pre-treatment on seed germination of annatto (*Bixa orellana* L.). Seed Science and Technology 33: 97-104.

APÉNDICE

APÉNDICE A

Interacción entre escarificación y quebrado en los frutos recién cosechados para la variable de plántulas por fruto a los 28 días después de la siembra.



APÉNDICE B

Datos totales de frutos germinados, porcentaje de germinación, número de plántulas y número de plántulas por fruto para el experimento de tratamientos pregerminativos de inmersión en agua en una incubadora a 40°C y calor húmedo.

DDS †	Calidad	Tratamiento	Repetición	Frutos germinados	Germinación (%)	Plántulas	Plántulas / fruto
11	Alta	Testigo	1	35	70	74	2,11
11	Alta	Testigo	2	37	74	63	1,70
11	Alta	Testigo	3	35	70	68	1,94
11	Alta	CIGRAS	1	41	82	80	1,95
11	Alta	CIGRAS	2	38	76	65	1,71
11	Alta	CIGRAS	3	34	68	66	1,94
11	Alta	CH ‡ 2 d	1	32	64	68	2,13
11	Alta	CH 2 d	2	33	66	68	2,06
11	Alta	CH 2 d	3	41	82	72	1,76
11	Alta	CH 4 d	1	47	94	84	1,79
11	Alta	CH 4 d	2	42	84	76	1,81
11	Alta	CH 4 d	3	32	64	55	1,72
11	Alta	CH 6 d	1	42	84	84	2,00
11	Alta	CH 6 d	2	33	66	60	1,82
11	Alta	CH 6 d	3	42	84	76	1,81
11	Alta	A40°C 2 d	1	21	42	38	1,81
11	Alta	A40°C 2 d	2	29	58	43	1,48
11	Alta	A40°C 2 d	3	26	52	45	1,73
11	Alta	A40°C 4 d	1	23	46	34	1,48
11	Alta	A40°C 4 d	2	23	46	38	1,65
11	Alta	A40°C 4 d	3	28	56	49	1,75
11	Alta	A40°C 6 d	1	13	26	19	1,46
11	Alta	A40°C 6 d	2	12	24	19	1,58
11	Alta	A40°C 6 d	3	10	20	15	1,50
11	Media	Testigo	1	38	76	67	1,76
11	Media	Testigo	2	37	74	64	1,73
11	Media	Testigo	3	33	66	58	1,76
11	Media	CIGRAS	1	37	74	72	1,95
11	Media	CIGRAS	2	36	72	63	1,75
11	Media	CIGRAS	3	36	72	55	1,53
11	Media	CH 2 d	1	36	72	58	1,61

DDS †	Calidad	Tratamiento	Repetición	Frutos germinados	Germinación (%)	Plántulas	Plántulas / fruto
11	Media	CH 2 d	2	33	66	66	2,00
11	Media	CH 2 d	3	33	66	59	1,79
11	Media	CH 4 d	1	44	88	85	1,93
11	Media	CH 4 d	2	37	74	66	1,78
11	Media	CH 4 d	3	29	58	44	1,52
11	Media	CH 6 d	1	34	68	60	1,76
11	Media	CH 6 d	2	32	64	49	1,53
11	Media	CH 6 d	3	39	78	58	1,49
11	Media	A40°C 2 d	1	27	54	39	1,44
11	Media	A40°C 2 d	2	22	44	37	1,68
11	Media	A40°C 2 d	3	22	44	36	1,64
11	Media	A40°C 4 d	1	20	40	35	1,75
11	Media	A40°C 4 d	2	18	36	29	1,61
11	Media	A40°C 4 d	3	19	38	25	1,32
11	Media	A40°C 6 d	1	13	26	16	1,23
11	Media	A40°C 6 d	2	9	18	11	1,22
11	Media	A40°C 6 d	3	12	24	13	1,08
11	Baja	Testigo	1	15	30	29	1,93
11	Baja	Testigo	2	16	32	21	1,31
11	Baja	Testigo	3	20	40	30	1,50
11	Baja	CIGRAS	1	20	40	32	1,60
11	Baja	CIGRAS	2	24	48	38	1,58
11	Baja	CIGRAS	3	24	48	32	1,33
11	Baja	CH 2 d	1	17	34	19	1,12
11	Baja	CH 2 d	2	17	34	26	1,53
11	Baja	CH 2 d	3	16	32	33	2,06
11	Baja	CH 4 d	1	21	42	34	1,62
11	Baja	CH 4 d	2	15	30	24	1,60
11	Baja	CH 4 d	3	16	32	27	1,69
11	Baja	CH 6 d	1	26	52	47	1,81
11	Baja	CH 6 d	2	24	48	32	1,33
11	Baja	CH 6 d	3	24	48	38	1,58
11	Baja	A40°C 2 d	1	15	30	21	1,40
11	Baja	A40°C 2 d	2	11	22	24	2,18
11	Baja	A40°C 2 d	3	14	28	18	1,29
11	Baja	A40°C 4 d	1	13	26	18	1,38
11	Baja	A40°C 4 d	2	9	18	13	1,44
11	Baja	A40°C 4 d	3	7	14	10	1,43
11	Baja	A40°C 6 d	1	6	12	7	1,17
11	Baja	A40°C 6 d	2	4	8	6	1,50
11	Baja	A40°C 6 d	3	5	10	5	1,00
28	Alta	Testigo	1	41	82	80	1,95

DDS †	Calidad	Tratamiento	Repetición	Frutos germinados	Germinación (%)	Plántulas	Plántulas / fruto
28	Alta	Testigo	2	39	78	65	1,67
28	Alta	Testigo	3	36	72	69	1,92
28	Alta	CIGRAS	1	42	84	81	1,93
28	Alta	CIGRAS	2	40	80	68	1,70
28	Alta	CIGRAS	3	34	68	66	1,94
28	Alta	CH 2 d	1	34	68	70	2,06
28	Alta	CH 2 d	2	35	70	68	1,94
28	Alta	CH 2 d	3	42	84	73	1,74
28	Alta	CH 4 d	1	50	100	87	1,74
28	Alta	CH 4 d	2	42	84	76	1,81
28	Alta	CH 4 d	3	34	68	57	1,68
28	Alta	CH 6 d	1	42	84	84	2,00
28	Alta	CH 6 d	2	34	68	61	1,79
28	Alta	CH 6 d	3	42	84	76	1,81
28	Alta	A40°C 2 d	1	25	50	42	1,68
28	Alta	A40°C 2 d	2	34	68	50	1,47
28	Alta	A40°C 2 d	3	28	56	47	1,68
28	Alta	A40°C 4 d	1	24	48	35	1,46
28	Alta	A40°C 4 d	2	25	50	41	1,64
28	Alta	A40°C 4 d	3	30	60	51	1,70
28	Alta	A40°C 6 d	1	18	36	24	1,33
28	Alta	A40°C 6 d	2	13	26	20	1,54
28	Alta	A40°C 6 d	3	10	20	15	1,50
28	Media	Testigo	1	39	78	68	1,74
28	Media	Testigo	2	41	82	69	1,68
28	Media	Testigo	3	35	70	60	1,71
28	Media	CIGRAS	1	38	76	73	1,92
28	Media	CIGRAS	2	36	72	63	1,75
28	Media	CIGRAS	3	36	72	56	1,56
28	Media	CH 2 d	1	37	74	59	1,59
28	Media	CH 2 d	2	33	66	66	2,00
28	Media	CH 2 d	3	35	70	61	1,74
28	Media	CH 4 d	1	46	92	87	1,89
28	Media	CH 4 d	2	37	74	66	1,78
28	Media	CH 4 d	3	30	60	46	1,53
28	Media	CH 6 d	1	37	74	63	1,70
28	Media	CH 6 d	2	33	66	50	1,52
28	Media	CH 6 d	3	40	80	59	1,48
28	Media	A40°C 2 d	1	28	56	40	1,43
28	Media	A40°C 2 d	2	22	44	37	1,68
28	Media	A40°C 2 d	3	24	48	39	1,63
28	Media	A40°C 4 d	1	20	40	35	1,75

DDS †	Calidad	Tratamiento	Repetición	Frutos germinados	Germinación (%)	Plántulas	Plántulas / fruto
28	Media	A40°C 4 d	2	19	38	30	1,58
28	Media	A40°C 4 d	3	19	38	25	1,32
28	Media	A40°C 6 d	1	16	32	19	1,19
28	Media	A40°C 6 d	2	10	20	13	1,30
28	Media	A40°C 6 d	3	16	32	17	1,06
28	Baja	Testigo	1	18	36	32	1,78
28	Baja	Testigo	2	19	38	24	1,26
28	Baja	Testigo	3	23	46	35	1,52
28	Baja	CIGRAS	1	20	40	32	1,60
28	Baja	CIGRAS	2	26	52	41	1,58
28	Baja	CIGRAS	3	25	50	33	1,32
28	Baja	CH 2 d	1	19	38	22	1,16
28	Baja	CH 2 d	2	17	34	26	1,53
28	Baja	CH 2 d	3	18	36	35	1,94
28	Baja	CH 4 d	1	23	46	37	1,61
28	Baja	CH 4 d	2	19	38	29	1,53
28	Baja	CH 4 d	3	20	40	33	1,65
28	Baja	CH 6 d	1	26	52	47	1,81
28	Baja	CH 6 d	2	24	48	32	1,33
28	Baja	CH 6 d	3	24	48	38	1,58
28	Baja	A40°C § 2 d	1	16	32	22	1,38
28	Baja	A40°C 2 d	2	15	30	29	1,93
28	Baja	A40°C 2 d	3	19	38	24	1,26
28	Baja	A40°C 4 d	1	13	26	18	1,38
28	Baja	A40°C 4 d	2	11	22	15	1,36
28	Baja	A40°C 4 d	3	11	22	19	1,73
28	Baja	A40°C 6 d	1	7	14	8	1,14
28	Baja	A40°C 6 d	2	8	16	10	1,25
28	Baja	A40°C 6 d	3	7	14	7	1,00

† DDS, Días después de la siembra

‡ CH, Calor Húmedo

§ A40°C, Agua en incubadora a 40°C