



Crédito: Sociedade Chauá

« la información sobre la germinación contribuye a una mejor comprensión de la reproducción de las plantas) »»,

Baskin and Baskin (1998).

Esta guía fue escrita por Santiago Velazco, Pablo Hoffmann y el equipo Chauá, y traducida por Cynthia Gandeborn.



1. La Sociedade Chauá es una ONG que trabaja para la conservación de los ecosistemas naturales y la biodiversidad, en Paraná, Brasil: <http://www.chaua.org.br/>.

Introducción

Las diferentes especies arbóreas requieren distintas condiciones para favorecer su germinación y crecimiento. Entonces ¿qué debes hacer si has intentado cultivar plántulas de una especie de interés y has fracasado (o no sabes cómo hacerlo)? Una opción es realizar experimentos informales propios para comprobar si la aplicación de ciertos factores puede afectar la germinación y mejorarla. El objetivo de esta guía es proporcionar orientación sobre cómo realizar estos experimentos y luego analizar y utilizar los datos recolectados.

¿Para quién es esta guía?

Para personas no especializadas, encargadas de la germinación, el cultivo y la restauración de especies arbóreas raras o amenazadas. Las técnicas que se describen en este documento son más avanzadas que en las guías anteriores de esta serie, por ello recomendamos que el equipo cuente con cierta formación y experiencia en horticultura antes de completar las pruebas experimentales.

La Global Trees Campaign es una colaboración entre:



Copyright 2015 Global Trees Campaign.

Esta guía fue producida por Fauna & Flora International, como contribución a la Global Trees Campaign

www.globaltrees.org

twitter.com/globaltrees

www.facebook.com/globaltrees

Antes de comenzar

Las pruebas de germinación son experimentos que permiten comprobar: (a) qué **condiciones** conducen a tasas más altas de germinación y (b) **cuántos días, semanas o meses** tardan las semillas en germinar. En el largo plazo, esta información puede ahorrar mucho tiempo y esfuerzo al vivero y, en último término, permitir el cultivo de una mayor cantidad de plántulas de mejor calidad.

Sin embargo, en el corto plazo, las pruebas de germinación pueden demandar mucho tiempo al involucrar una recopilación regular de datos. Para asegurarse de que el equipo se encuentre tan preparado como sea posible, recomendamos que se familiarice con los procedimientos generales del cultivo de árboles a partir de semillas (véase la [Guía GTC 7](#)). Luego, antes de comenzar: (1) investiga la biología de la especie objetivo; (2) asegúrate de que el equipo cuente con las competencias adecuadas; (3) establece las instalaciones adecuadas con el equipamiento necesario y (4) obtén una fuente de semillas.

ETAPA 1: Conoce la especie objetivo por adelantado

A) Verifica la existencia de protocolos ya desarrollados

Otras personas pueden haber desarrollado protocolos de germinación para la especie objetivo (o especies estrechamente relacionadas). Es posible que obtengas acceso a ellos si (i) buscas en la *Seed Information Database* (base de datos de información de semillas) de Kew: <http://data.kew.org/sid/> u otros recursos en línea, (ii) revisas literatura publicada, (iii) visitas jardines botánicos o bancos de semillas o (iv) consultas con alguien que cultive o utilice la especie.

Aunque existan protocolos para la especie objetivo, es posible que todavía desees realizar experimentos propios. Es importante establecer cuáles son las mejores condiciones para las semillas recolectadas en la localidad.

B) Comprende la ecología de la especie

La información general sobre la ecología de la especie objetivo puede ayudar a desarrollar preguntas de investigación relativas a su germinación. A continuación detallamos algunos factores a tener en cuenta cuando busques en la literatura.

¿Qué clima suele tolerar la especie?

Esto puede indicar la temperatura o los niveles de humedad óptimos para interrumpir la latencia o promover la germinación.

¿En qué tipo de hábitat y suelo suele encontrarse?

Esto puede indicar el sustrato de cultivo óptimo para la especie. Por ejemplo, muchas especies requieren la presencia de ciertos hongos o bacteria en el suelo.

¿A qué comunidad ecológica pertenece (es decir, es una especie pionera, secundaria o clímax)?

Esto puede indicar los niveles óptimos de sombra (por ejemplo, es probable que las especies pioneras requieran o toleren los rayos del sol, en cambio las especies clímax pueden requerir o tolerar la sombra).

¿Se encuentran la semillas de la especie objetivo en período de latencia? y de ser así, ¿cómo se interrumpe?

Esto puede indicar si las semillas requieren tratamiento o estratificación antes de la germinación.

¿Se trata de semillas recalcitrantes (de baja capacidad de almacenamiento) u ortodoxas (de alta capacidad de almacenamiento)?

Esto puede informar el momento oportuno para el experimento y su posible duración

ETAPA 2: Asegúrate de que el equipo cuente con las competencias adecuadas

Los procedimientos que se detallan en esta guía son más complejos que los descritos en la [Guía 7](#) (acerca de la explicación de la germinación básica). Por ello, debes asegurarte de que al menos una persona del equipo posea **conocimientos de horticultura** bien desarrollados y que al menos un miembro se sienta cómodo con **las estadísticas y el análisis de datos básicos**.

Todo el proceso requiere recopilación e ingreso periódico de datos, entonces asegúrate de que el equipo esté bien informado de antemano y que cada miembro sea altamente organizado y posea un buen manejo del tiempo.

ETAPA 3: Establece las instalaciones y adquiere el equipamiento

Instalaciones

Es posible realizar pruebas muy básicas de germinación en un invernadero o vivero, siempre que el equipo tenga acceso a un espacio de trabajo protegido y agua corriente.

Para pruebas más complejas, que involucren un control más preciso de temperatura, humedad y fotoperíodo, es posible que tengas que usar un edificio pequeño que funcione como un laboratorio. Si planeas utilizar cámaras de germinación, necesitarás acceso a electricidad.

Equipamiento básico y recursos útiles para toda prueba de germinación

- Bandejas modulares de germinación de semillas (por ejemplo, bandejas plásticas con un hueco pequeño para cada plántula).
- Sustrato de cultivo.
- Coberturas de malla.
- Coberturas de sombra (redes, hojas de palma, bambú, etc.) para realizar pruebas de luz versus sombra.
- Regaderas.
- Etiquetas, bolígrafos, correctores líquidos y lápices.
- Cuadernos, hojas de datos.
- Acceso a una computadora portátil o de escritorio para ingresar los datos.

Equipamiento y recursos adicionales u opcionales para probar condiciones particulares (dependiendo de lo que se quiera probar)

- Mortero, cuchillos o mezclador de cemento para probar los efectos de la escarificación de semillas.
- Ácidos y productos químicos (**que deberán manejarse con extremo cuidado**) para probar diferentes tratamientos previos.
- Una tetera u olla para probar el agua hirviendo como un tratamiento previo.
- Sustratos de cultivo diferentes (por ejemplo, arena, vermiculita, papel).
- Cámaras de germinación simples para probar diferentes temperaturas.
- Cámaras germinadoras sofisticadas para probar diferentes temperaturas, niveles de luz y humedad o fotoperíodos.

ETAPA 4: Obtén una fuente de semillas para llevar a cabo las pruebas

Finalmente, asegúrate de contar con una fuente fiable de semillas (véase la [Guía GTC 5](#) para obtener orientación sobre la recolección de semillas). Comprueba que el origen de las semillas que utilices en los experimentos tenga la misma procedencia (esto es, la ubicación de los árboles productores de las semillas), para asegurarte de que la fuente de las semillas no influya en los resultados.

Las semillas también deberán limpiarse y procesarse con antelación a las pruebas (véase la [Guía GTC 6](#) para obtener orientación sobre cómo hacer esto).

Diseño del experimento

Los factores que pueden influir en la germinación de la especie objetivo son varios, e incluyen:

(1) Las características físicas de las mismas semillas:

- El grado de madurez de las semillas o los frutos.
- Los niveles internos de humedad de las semillas.
- El tamaño y la forma de las semillas.

(2) Las aplicaciones que ayudan a superar la latencia de las semillas:

- Escarificación (extracción parcial de la cubierta de la semilla).
- Remojado en agua fría o caliente.
- Tratamiento químico.
- Tratamientos de congelación o térmicos.

(3) Los factores medioambientales:

- Condiciones de iluminación (natural, artificial, sombra o ausencia de luz).
- Fotoperíodo (relación entre las horas de luz y oscuridad).
- Temperatura.
- Niveles de humedad del medioambiente (regulados dentro de las cámaras de germinación).
- Sustratos (arena, vermiculita, papel, suelo y presencia de hongos o bacteria).
- Profundidad del sustrato (algunas especies sólo germinan sobre la superficie del sustrato).

Selecciona uno o dos de estos factores (conocidos como tratamientos) para el experimento de prueba en la especie objetivo. Puedes seleccionar los tratamientos en base a la investigación realizada en la Etapa 1 (cómo crece y se reproduce la especie en la naturaleza). Alternativamente puedes realizar ajustes menores a intentos previos de germinación de la especie.

Puedes comparar cómo influyen los distintos tipos de tratamiento en la germinación. Por ejemplo, prueba los efectos de los diferentes métodos utilizados para superar la latencia.

| Tratamiento 1 (T1) | Tratamiento 2 (T2) | Tratamiento 3 (T3) |
|------------------------------------|--|-----------------------------|
| Remojado de semillas en agua fría. | Remojado de semillas en agua caliente. | Escarificación de semillas. |

En otros casos, puedes comparar los distintos niveles de un tratamiento. Por ejemplo, prueba los efectos de diferentes temperaturas ambientales en la germinación.

| Tratamiento 1 | Tratamiento 2 | Tratamiento 3 |
|---------------|---------------|---------------|
| 18 °C | 22 °C | 26 °C |

En experimentos más complejos, es posible probar varios factores diferentes al mismo tiempo (y cómo interactúan entre sí). Por ejemplo, prueba los efectos de diferentes niveles de iluminación y distintos sustratos en la germinación. En este caso puedes acabar con seis tratamientos diferentes.

En todo caso, recomendamos mantener los experimentos tan simples como sea posible. Cuantos más tratamientos utilices, más recursos gastarás y más compleja será la recopilación de datos y el análisis.

| | | Luz | |
|----------|-------------|--------------------|--------------------|
| | | Natural | Sin luz |
| Sustrato | Papel | Tratamiento 1 (T1) | Tratamiento 2 (T2) |
| | Vermiculita | Tratamiento 3 (T3) | Tratamiento 4 (T4) |
| | Arena | Tratamiento 5 (T5) | Tratamiento 6 (T6) |

Métodos de estandarización, repeticiones y controles

Los árboles individuales producen semillas que varían en tamaño, estructura y viabilidad. Dentro de un lote de semillas seleccionado al azar, habrá algunas que germinen y otras que no, y esto puede carecer en absoluto de relación con los tratamientos aplicados en un experimento.

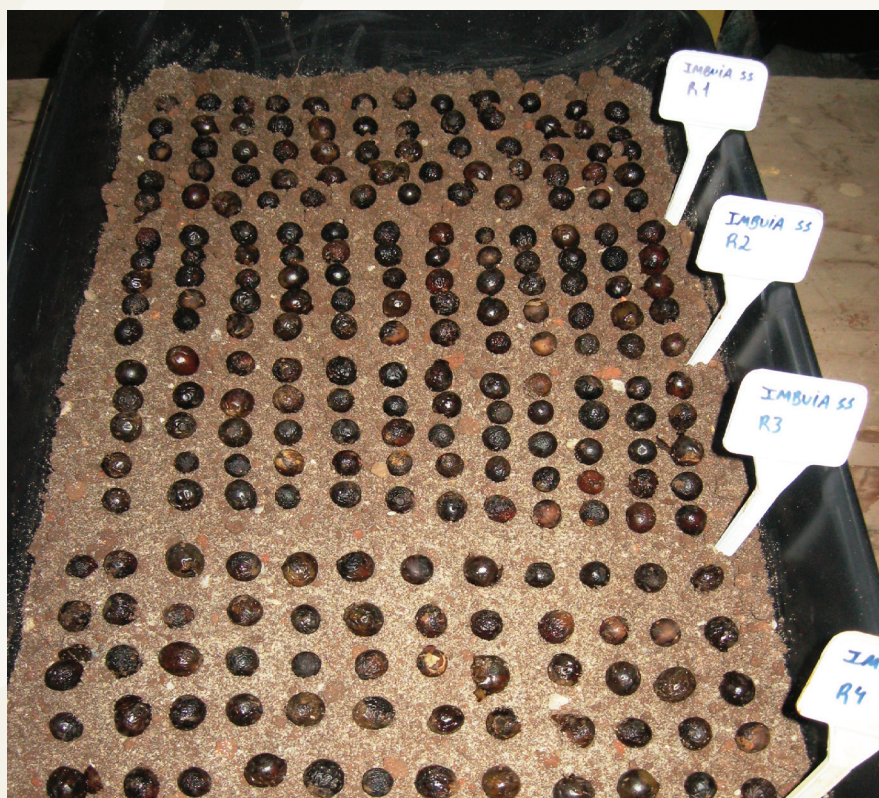
Esta variación puede causar problemas para el experimento. Por ejemplo, al comparar el éxito de germinación entre dos tratamientos diferentes (como temperaturas diferentes), **¿cómo puedes saber con seguridad** si las diferencias de germinación se deben en realidad a la temperatura y no a una simple casualidad (es decir, que las semillas utilizadas para el Tratamiento 2 contenían casualmente un número mayor de semillas dañadas)?

Para resolver este problema puedes utilizar tres métodos: la **estandarización**, la **repetición** y el uso de **controles**.

Por ejemplo, si comparas los efectos de diferentes temperaturas en la germinación de semillas, trata de asegurarte, en la medida de lo posible, de que **todo factor que pueda influir en los resultados se encuentre estandarizado** (es decir, que sean iguales para todos los tratamientos). Esto implica el uso del mismo tipo de semillas para todos los tratamientos (de la misma procedencia, exclusión de semillas dañadas, etc.), asegurándote de que los demás factores (en este caso: la luz, el agua y el sustrato) sean exactamente iguales para todos los tratamientos.

La **repetición** de tratamientos reduce las posibilidades de que algún factor desconocido influya en los resultados (por ejemplo, bajo éxito en la germinación natural de una proporción de semillas del lote). Intenta repetir cada tratamiento al menos cuatro veces (o más si cuentas con suficientes semillas y recursos disponibles). El resultado final será el promedio de todas las repeticiones (para reducir la probabilidad que los resultados atípicos de una repetición influyan sobre el resultado final del tratamiento).

Finalmente, incluye **controles** dentro del experimento como un medio de verificación de que los efectos observados se deben en realidad a las diferencias entre tratamientos. Un lote de semillas de control no recibirá tratamiento alguno –para permitir la comparación de las tasas de germinación con lo que habría ocurrido de todos modos.



En este experimento, el tratamiento aplicado a las semillas del árbol de imbuia (*Ocotea porosa*) se repite cuatro veces para mejorar la fiabilidad de los resultados. Crédito: Sociedade Chauá.

| Tratamiento previo | Luz | Tratamiento | Repeticiones | Semillas por repetición | Total de semillas para tratamiento |
|---------------------------------------|---------|-------------|--------------|-------------------------|------------------------------------|
| Remojado de semillas en agua fría | Natural | T1 | 4 | 50 | 200 |
| | Sin luz | T2 | 4 | 50 | 200 |
| Remojado de semillas en agua caliente | Natural | T3 | 4 | 50 | 200 |
| | Sin luz | T4 | 4 | 50 | 200 |
| Ninguno (control) | Natural | T5 | 4 | 50 | 200 |
| | Sin luz | T6 | 4 | 50 | 200 |
| Total | | 6 | 24 | 300 | 1200 |

Implementación del experimento

Luego de seleccionar un diseño experimental (que incluya la descripción del número de tratamientos, las repeticiones y las semillas por repetición que te propones utilizar), estarás listo para realizar el primer experimento.

Prepara una bandeja modular de germinación para cada tratamiento, sembrando una sola semilla por módulo. Si siembras las semillas en el suelo, no lo hagas demasiado profundo – tendrás que observar cada semilla mientras germina. Si realizas los experimentos en un vivero, quizá prefieras cubrir las bandejas con una malla metálica para protegerlas de los animales.

A continuación, agrupa las bandejas para cada tratamiento para formar un **bloque** en el experimento. Luego, repite cada bloque el número de veces deseado (recuerda etiquetar cada bandeja con el número de bloque y tratamiento).

| Repetición | Tratamiento 1 | Tratamiento 2 | Tratamiento 3 | Tratamiento 4 |
|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Bloque 1 | 50 seeds | 50 seeds | 50 seeds | 50 seeds |
| Bloque 2 | 50 seeds | 50 seeds | 50 seeds | 50 seeds |
| Bloque 3 | 50 seeds | 50 seeds | 50 seeds | 50 seeds |
| Bloque 4 | 50 seeds | 50 seeds | 50 seeds | 50 seeds |



Bandeja de germinación para el Tratamiento 1 – Bloque 1

Recopilación de datos – ¿Qué mides?

La recopilación de datos típica implica la inspección de todas las bandejas de germinación al menos una vez por semana (o con más frecuencia si las semillas germinan con rapidez). Esto permite medir: **1) el número total de semillas** que germinan y no germinan o que fueron dañadas por patógenos, hongos o insectos, al final de la prueba, y **2) la velocidad** de germinación.

Prepara una hoja de datos para actualizar después de cada inspección. Cada día de inspección, utiliza un corrector líquido o un marcador permanente para colocar un punto correspondiente a cada módulo con una planta recién germinada. Después, anota el total de puntos germinados en la hoja de datos.

| Fecha | Bloque 1 | | | |
|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | Tratamiento 1 | Tratamiento 2 | Tratamiento 3 | Tratamiento 4 |
| 15/09/2014 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18/09/2014 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 21/09/2014 | 4 | 1 | 0 | 0 |
| 24/09/2014 | 7 | 2 | 0 | 1 |

Es posible que quieras medir el número de semillas que germinaron pero después murieron. Para ello, al final del experimento, cuenta el número de puntos con plántulas muertas.

Análisis y escritura de resultados

Después de completar los experimentos, el paso siguiente es analizar y presentar los resultados al equipo de proyecto y las otras partes interesadas. La manera más sencilla de presentar los resultados de cada tratamiento es mostrar el porcentaje de semillas que germinó al final del experimento:

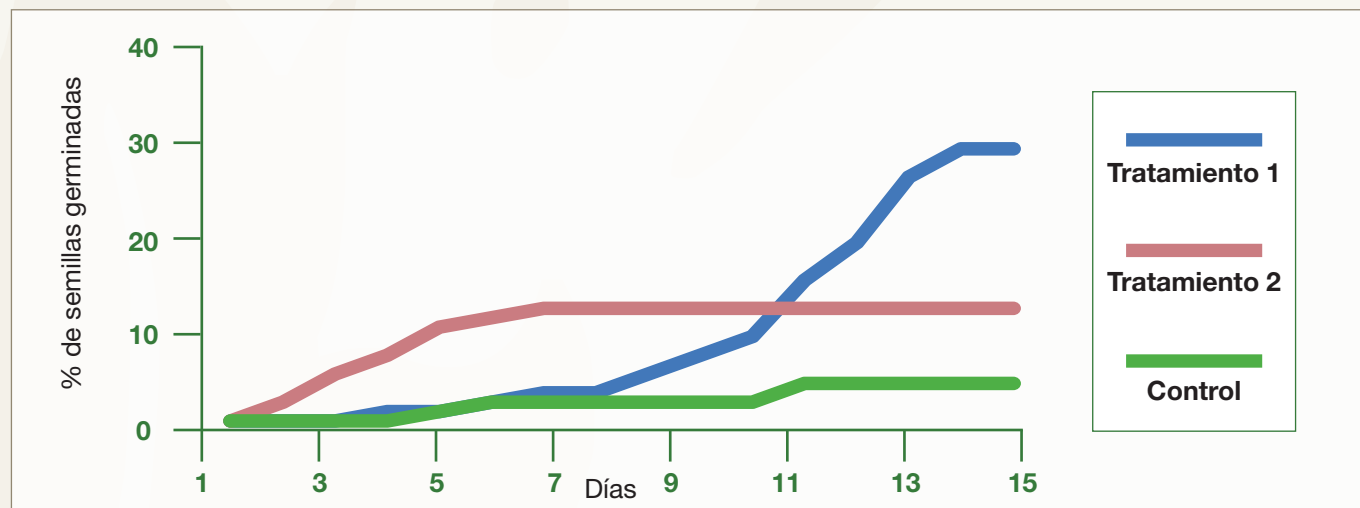
$$\text{Porcentaje de semillas germinadas} = \frac{\text{Número de semillas}}{\text{Total de semillas sembradas}} \times 100$$

Sin embargo, es posible que también desees comparar los distintos tratamientos con algún análisis estadístico básico. Esto ayudará a demostrar qué tan fiables son los resultados.

Para realizar esto, ingresa los datos en una hoja de cálculos Microsoft Office Excel y calcula la media (el promedio) de semillas germinadas bajo cada tratamiento. Luego, utiliza un programa informático de estadísticas para comparar las diferencias entre todas las medias, realizando una prueba de «análisis de varianza» (ANOVA). Las diferencias entre medias son estadísticamente significativas si los resultados de las pruebas poseen un valor $P < 0,05$. Si observas diferencias significativas, confirma los resultados por medio de «comparaciones entre pares» entre la media de cada tratamiento individual y la media del control.

Curvas e índices de germinación

Otra forma de representar los resultados de las pruebas de germinación es mediante la creación de curvas de germinación. Se trata de gráficos que muestran cómo cambia el porcentaje de semillas germinadas, para los diferentes tratamientos, con el tiempo (desde la fecha original de siembra hasta el final del experimento).



El tiempo y la velocidad de germinación también pueden representarse por medio de índices. Estos incluyen el índice de la velocidad de germinación, el tiempo promedio de germinación y la velocidad promedio de germinación (para obtener orientación sobre cómo efectuar los cálculos, véanse las referencias en la página 8).

El uso de la información de las pruebas de germinación

La comparación de resultados de los diferentes tratamientos de germinación debería permitirte optimizar las condiciones de germinación para la especie objetivo. Asegúrate de poner por escrito los métodos y los resultados para crear un **protocolo de germinación**. En el futuro, el equipo u otros grupos podrán seguirlo y adaptarlo.

La información sobre la velocidad y los plazos de tiempo de germinación también pueden tener una utilidad increíble. Si te propones plantar plántulas de la especie objetivo en su hábitat natural, es muy probable que debas hacerlo en una época del año en particular (por ejemplo, en los trópicos estacionales, suele ser al inicio de la temporada de lluvias). Si sabes cuánto tiempo llevará (a) superar la latencia de la especie, (b) alcanzar tasas altas de germinación y (c) cuánto tiempo toma cada plántula en alcanzar un tamaño y vigor adecuados para su plantación, puedes comenzar con la planificación de fechas apropiadas para la siembra de la especie.

Referencias seleccionadas y orientación adicional

Referencias y orientación adicional acerca de algunos de los métodos descritos en esta guía.

Orientación sobre experimentos de germinación

Baskin, C. C. y Baskin, J. M. (2001). *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Elsevier. Disponible por pedido en: http://bit.ly/gtc_ref_8c

Elliot, S., Blakesley, D. and Hardwick, K. (2013). *Restoring Tropical Forests: a practical guide*. Kew Royal Botanic Gardens; pp.344. Disponible por pedido en: http://bit.ly/gtc_ref_7g

Orientación sobre la medición de tasas de germinación

Ranal, M.A. y Garcia de Santana, D. (2006). How and why to measure the germination process? *Revista Brasil. Bot.*, 29(1), 1-11. Disponible en: http://bit.ly/gtc_ref_8a

Orientación sobre el comportamiento de las semillas y la superación de la latencia de las semillas

Millennium Seed Bank Resources. Disponible en: http://bit.ly/gtc_ref_8b

Ejemplos de experimentos de germinación

Daws, M.I., Burslem, D.F.R.P., Crabtree, L.M, Kirkman. P., Mullins, C.E. y J.W. Dalling (2002). Differences in seed germination responses may promote coexistence of four sympatric Piper species. *Functional Ecology*, 16(2): 258-267. Disponible en: http://bit.ly/gtc_ref_8d

Ejemplos de protocolos de germinación

Kew. *Seed Information Database*. Disponible en: http://bit.ly/gtc_ref_6e

Román, F., De Liones, R., Sautu, A., Deago, J. y Hall, J.S. (2012). *Guía para la Propagación de 120 Especies de Árboles Nativos de Panamá y el Neotrópico*. Environmental Leadership and Training Initiative, ELTI. Yale School of Forestry & Environmental Studies. Disponible en: http://bit.ly/gtc_ref_7a

Para obtener más información, o para bajar las otras guías de la serie, visita nuestro sitio web www.globaltrees.org/resources/practical-guidance

Reconocimientos

Extendemos nuestro agradecimiento a Dan Luscombe (Bedgebury National Pinetum), Matt Parratt (Forest Research) y Tracie Evans (The Centre for Ecology & Hydrology) por sus comentarios a este escrito.