

SOBRE LA REPRODUCCION DE Rauvolfia cubana A. DC. II.

Lic. Manuel Granda

Lic. Víctor Fuentes

Estación Experimental en Plantas Medicinales "Dr. J.T. Roig."

ABSTRACT

Germination test of seeds of Rauvolfia cubana A.DC. coming from fruits of different forms are carried out, and significant differences are not obtained. The biometric study of the seeds only permits to differentiate the seeds coming from ovoid fruits (with only one of the two carpels developed) as the smaller length and height.

In the search of a fast method for the viability determination of the seeds of this species, germination test in natural and laboratory conditions are made simultaneously with a biochemical test with 2,3,5 - triphenyl tetrazolium

chloride (TTC). The statistical comparisons doesn't show differences among the three methods. The utilization of the TTC method is commendable because of its easiness and rapidity.

RESUMEN

Se realizan pruebas de germinación en semillas de Rauvolfia cubana A.DC. provenientes de frutos de diferentes formas, no detectándose diferencias significativas entre los valores obtenidos. El estudio biométrico efectuado en dichas semillas sólo permite diferenciar las semillas provenientes de frutos ovoides (desarrollo de sólo uno de los 2 carpelos) como los menos largos y altos.

Para la búsqueda de un método rápido para la determinación de la viabilidad de las semillas de esta especie, se simultanean pruebas de germinación en condiciones naturales y de laboratorio, con un test bioquímico con cloruro de 2,3,5, -trifenil tetrazolio (CTT). La comparación estadística de los resultados no arrojó diferencias significativas entre los mismos, por lo que se recomienda el empleo del test de CTT por su mayor rapidez y facilidad de utilización.

INTRODUCCION

Las dificultades afrontadas para la reproducción sexual de Rauvolfia cubana A.DC. (Fuentes y Granda, 1980) nos han llevado a comprobar si la forma variable de los frutos, característica de la especie, influye significativamente en la germinación de sus semillas. Tres tipos de frutos fundamentales es posible diferenciar, en dependencia del desarrollo desigual de los carpelos, pudiendo encontrarse frutos acorazonados (desarrollo igual de los 2 carpelos), sub-acorazonados (desarrollo desigual de los 2 carpelos) y ovoide (cuando sólo desarrolla un carpelo).

Se ha hecho necesario además la búsqueda de un método rápido para la determinación de la viabilidad de las semillas, ya que los métodos tradicionales de comprobación de la germina-

ción en el laboratorio o en condiciones naturales, además del largo tiempo que requirieran, poseen el inconveniente de requerir condiciones de asepsia para evitar el ataque de hongos.

Debido a esto, se decidió simultanear una experiencia de germinación en placas con arena sílice como sustrato y la siembra de las semillas en bolsas con turba (condiciones naturales) con la aplicación de un test bioquímico con cloruro de 2,3,5 - trifenil tetrazolio (CTT), método comunmente utilizado en el laboratorio para determinar la viabilidad, especialmente, con semillas latentes de árboles (Hartmann y Kester, 1975).

El test de germinación con CTT se basa en la propiedad que tienen los embriones vivos de teñirse de rojo al combinarse el hidrógeno que liberan en la respiración con la solución incolora de tetrazolio (Colbry y col, 1961). Si bien esta prueba no resulta decisiva para determinar la capacidad germinativa de las semillas, por depender ésta de diversos factores, ofrece sin duda un buen índice de la misma.

MATERIALES Y METODOS

Las semillas utilizadas fueron obtenidas de la colección de especies del género Rauvolfia L. de la Estación Experimental en Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig" del municipio San Antonio de los Baños, provincia La Habana, donde la media anual de temperatura para 1979 fue de 25.13°C y la suma anual de precipitaciones de 2068,46 mm.

Las mismas fueron almacenadas por seis meses según lo recomendado por Fuentes y Granda (1980), en sobres de papel, y desinfectadas antes de la siembra en solución de sulfato cúprico al 20% durante 5 a 10 minutos.

Para la prueba de CTT se aislaron 300 embriones, según la metodología utilizada por Müntz y col. (1969) para semillas de café, los cuales fueron incubados a 30°C en solución de tetrazolio al 1% durante 8 horas. Se consideraron como vivos

aquellos embriones en los que se teñían uniformemente de rojo la radícula y los cotiledones, tras la incubación en la solución de CTT. Una muestra de embriones hervidos durante 10 minutos y por consiguiente, muertos, se utilizó como control.

Para todas las pruebas de germinación en condiciones de laboratorio se utilizó la metodología usual, mediante placas de Petri de 9cm de diámetro con arena sílice húmeda como base y colocando 25 semillas en cada placa, para un total de 300 semillas, para la comparación con la prueba del CTT y 400 semillas para el estudio de la germinación de semillas provenientes de frutos de forma diferente. Las placas se conservaron en incubadoras a 30°C.

Para la prueba de germinación en condiciones naturales se sembraron directamente con turba, sustrato natural en que sue le crecer R. cubana, obtenido del litoral cenagoso de Guanímar, al sur de La Habana, donde se presenta la especie con relativa abundancia.

Los conteos de la germinación, tanto en placas como en bolsas se realizaron cada 5 días hasta 3 meses después de la siembra.

En el caso de las semillas provenientes de frutos de forma diferente, antes de la siembra se sometieron a un estudio biométrico, registrándose los valores del largo, ancho y altura para la comparación estadística de dichos valores, esta fue realizada mediante la aplicación del análisis de varianza a un diseño completamente aleatorizado.

Para los datos de germinación el análisis de varianza se aplicó a un diseño de bloques al azar (Dixon y Massey, 1964) tras la previa transformación de los valores en % por la fórmula Arcosen $\sqrt{\%}$ (Bliss, 1937). La aplicación del test de Rangos Múltiples de Duncan (Steel y Torrie, 1960), permitió comparar y diferenciar entre sí los valores medios observados.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla I se muestran los resultados obtenidos al apli-

car el análisis de varianza a los valores del largo, ancho y altura de las semillas de Rauvolfia cubana A.DC. obtenidas de frutos de forma acorazonada, subacorazonada y ovoides. Al manifestarse diferencia altamente significativa para el largo y la altura, se hizo necesario la aplicación, en ambos casos, del Test de Duncan para la comparación de los valores medios, presentándose los resultados en la tabla II. Sólo podemos diferenciar con estas magnitudes, las semillas de frutos ovoides como las de menor largo y altura. Los valores no son significativamente diferentes entre las semillas de frutos acorazonados y los de fruto subacorazonados.

Los valores obtenidos al realizar prueba de germinación para semillas provenientes de estos 3 tipos de frutos, se han representado en la tabla III. La aplicación a los mismos del análisis de varianza empleando un diseño de bloques al azar, no arrojó diferencia significativa entre bloques ni entre tratamientos, tal y como puede ser observado en la tabla IV, por lo que podemos señalar que la forma de los frutos, debido al desarrollo desigual de los carpelos, no afecta de manera significativa la germinación de las semillas de esta especie.

La realización de pruebas de germinación tanto en condiciones de laboratorio como en condiciones naturales y su comparación con el test bioquímico del CTT, arrojó los resultados que aparecen reflejados en la tabla V. El tratamiento estadístico de los mismos, llevado a cabo mediante el análisis de varianza (tabla VI) no manifestó diferencia significativa entre los % de germinación de las 3 pruebas, aún cuando se observa un mayor % de viabilidad (50,3) en la prueba de te-trazolio.

CONCLUSIONES

1. Las mediciones efectuadas del largo, ancho y altura en semillas provenientes de frutos de forma acorazonada, subacorazonada y ovoide de R. cubana sólo permiten separar

las provenientes de frutos ovoides por ser los menos largos y altos. Entre las semillas de los 2 tipos de frutos restantes, no se detectaron diferencias significativas en las magnitudes consideradas.

2. No existe diferencia en los % de germinación de las semillas provenientes de las 3 formas de frutos citadas, por lo que es posible afirmar que el hecho de provenir de frutos con formas diferentes no afecta de manera significativa la germinación de las semillas de esta especie.
3. Por los resultados obtenidos, se manifiesta una buena correspondencia entre las pruebas de germinación en laboratorio y en condiciones naturales, con el test bioquímico del CTF. Esto, unido a la rapidez de la prueba del tetrazolio, son ventajas que nos hacen recomendar este test para realizar las comprobaciones periódicas de la calidad de las semillas de R.cubana.

BIBLIOGRAFIA

- Bliss, C.I. (1957) : Plant Protection # 12. Leningrado.
- Colbry, V.L. et al (1961) : Pruebas de germinación en el laboratorio. Semillas, Anuario de Agricultura: 771-787. U.S. Dep. Agric. Washington, DC.
- Dixon, W.J. y F.J. Massey (1964) : Introducción al análisis estadístico. Ediciones Revolucionarias, La Habana.
- Fuentes, V.R. y M.M. Granda (1980). Sobre la reproducción de Rauvolfia cubana A.DC: I. Resúmenes Ira. Jornada Científica Soc. Ciencias Biológicas. Ciudad de La Habana.
- Hartmann, H.R y D. E. Kester (1975) : Propagación de plantas Principios y práctica: 160-164. Ediciones Revolucionarias, La Habana.
- Müntz, K et al (1969). La aplicación de un rápido test de germinación de semillas de café con CTF. Serie biológica No. 17. Academia de Ciencias de Cuba.

Steel, R.G. y J.H. Torrie (1960) : Principles and procedures
of statistics. Mc. Graw Hill Book Co.

Recibido: 2 de Agosto de 1980

Tabla I: Resultados de la aplicación del análisis de varianza a los valores medidos del largo, ancho y altura en semillas obtenidas de frutos de 3 formas diferentes de R.cubana.

Fuentes de Variación	GL.	Largo			Ancho			Altura		
		SC.	F.	SIG.	SC.	F.	SIG.	SC.	F.	SIG.
Total	89	48,60	-	-	19,50	-	-	3,37	-	-
Tratamiento	2	3,46	3,33	**	0,62	1,43	NS	0,84	14,58	**
Error	87	45,13	-	-	18,88	18,88	-	2,53	-	-

Tabla II : Aplicación del Test de Duncan a los valores del largo y altura de semillas de R.cubana.

Forma Frutos	Largo		Altura	
	X (mm)		X (mm)	
Acorazonados	9,30	a	1,44	a
Sub-Acorazonados	8,92	ab	1,41	a
Ovoides	8,86	b	1,22	b

Tabla III : % de germinación de semillas de *R.cubana* provenientes de 3 formas de frutos diferentes.

Forma Frutos	% de germinación / réplica				
	I	II	III	IV	X
Acorazonados	32	40	8	20	25
Sub-Acorazonados	40	8	4	0	13
Ovoides	24	24	32	12	23

Tabla IV: Análisis de varianza aplicado a los valores del % de germinación en placas de semillas de *R.cubana* obtenidas de frutos de formas diferentes.

Fuentes variación	GL	SC	F	SIG.
Total	11	1607,70	-	-
Tratamientos	2	382,55	1,87	NS
Réplicas	3	611,42	1,99	NS
Error	6	613,72	-	-

Tabla V : Resultados obtenidos al realizar diferentes pruebas para determinación de viabilidad de semillas de R.cubana.

Prueba	% germinación / réplica			
	I	II	III	X
OTT	40	46	65	50,3
Germinación placas	48	36	33	39,0
Germinación turba	37	32	37	35,3

Tabla VI : Análisis de varianza para detectar diferencias en los % de viabilidad obtenidos para semillas de R.cubana por 3 procedimientos diferentes.

Fuentes de variación	GL	SC	F	SIG.
Total	8	288,99	-	-
Tratamiento	2	125,33	1,80	NS
Réplica	2	24,96	0,36	NS
Error	4	138,80	-	-