

# Evaluación de la germinación de semillas de palma de iraca (*Carludovica palmata*) en condiciones *in vitro* y *ex vitro*

Evaluation of the germination of iraca palm seeds (*Carludovica palmata*) under *in vitro* and *ex vitro* conditions

Juan C. Zambrano-Arteaga <sup>1\*</sup>, Rodrigo A. Hoyos-Sánchez <sup>2</sup>, Diego Chicaiza-Finley <sup>3</sup>.

- Recibido: 14/Abr/2020
- Aceptado: 05/Ago/2021
- Publicación en línea: 09/Ago/2021

**Citación:** Zambrano-Arteaga JC, Hoyos-Sánchez RA, Chicaiza-Finley D. 2022. Evaluación de la germinación de semillas de palma de iraca (*Carludovica palmata*) en condiciones *in vitro* y *ex vitro*. *Caldasia* 44(2):221-230. doi: <https://doi.org/10.15446/caldasia.v44n2.86282>

## ABSTRACT

The fiber of the iraca palm is used as a raw material in the elaboration of multiple crafts including the Panama hat, reason why it is important to study factors that contribute to the germinability of seeds, useful for their propagation. The goal of this study was to evaluate the germination capacity under *in vitro* and *ex vitro* conditions of seeds from two stages of maturity of *Carludovica palmata* infructescences. Germination percentages were evaluated through four disinfection protocols, two maturity statuses of the infructescences in *in vitro* conditions, three gibberellic acid concentrations ( $GA_3$ ) in *ex vitro*, and two in *in vitro* conditions, and finally four germination substrates, peat, soil, peat-soil, and MS medium. The seeds from the stage of maturity E1 presented a lower germination percentage (17.95 %) compared with the seeds from the stage E2 (86.84 %) ( $P < 0.05$ ), which determines the use of this stage of maturity in subsequent experiments. On the other hand, the seeds germinate efficiently under *in vitro* conditions in semi-solid medium MS, obtaining a germination percentage of 88.2 %, much higher than that obtained with conventional substrates ( $P < 0.05$ ), showing that this method is very efficient for the multiplication of iraca palm, so it can be used in the large-scale production of seedlings of this crop.

**Keywords:** *In vitro* culture, gibberellin, jipijapa palm, toquilla straw.

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Bioquímica - Estudios Genéticos - BIOGEN. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Nariño - UDENAR, Calle 18 Cr 50 Ciudadela Universitaria Torobajo, Pasto, Colombia, E-mail: [jczambranoa@udenar.edu.co](mailto:jczambranoa@udenar.edu.co)

<sup>2</sup> Grupo de Investigación Biotecnología Vegetal, Facultad Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín - UNALMED, Calle 59A No 63 - 20, Edificio 19-308, Medellín, Colombia. E-mail: [rhoyos@unal.edu.co](mailto:rhoyos@unal.edu.co).

<sup>3</sup> Grupo de Investigación Biotecnología Vegetal, Escuela de Biociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín - UNALMED, Calle 59A No 63 - 20, Edificio 19-308, Medellín, Colombia, E-mail: [dchicai@unal.edu.co](mailto:dchicai@unal.edu.co).

\* Autor para correspondencia.



## RESUMEN

La fibra de la palma de iraca es usada como materia prima en la elaboración de múltiples artesanías incluyendo el sombrero de Panamá, razón por la cual es importante estudiar factores que contribuyan a la germinabilidad de las semillas, útiles en su propagación. El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de germinación de las semillas en condiciones *in vitro* y *ex vitro* procedentes de dos estadios de madurez de infrutescencias de *Carludovica palmata*. Los porcentajes de germinación se evaluaron mediante cuatro protocolos de desinfección, dos estados de madurez de las infrutescencias en condiciones *in vitro*, tres concentraciones de ácido giberélico ( $GA_3$ ) en condiciones *ex vitro* y dos *in vitro* y finalmente cuatro sustratos de germinación, turba, tierra, tierra-turba y medio MS. Las semillas provenientes del estado de madurez E1, presentaron un menor porcentaje de germinación (17,95 %) comparado con las semillas provenientes de las del estado E2 (86,84 %) ( $P < 0,05$ ), lo que determinó el uso de este estado de madurez en los experimentos posteriores. Por otra parte, se determinó que las semillas germinan eficientemente en condiciones *in vitro* en medio semisólido MS, obteniendo un porcentaje de germinación del 88,2 %, muy superior al obtenido con sustratos convencionales ( $P < 0,05$ ), evidenciando así que este método es muy eficiente para la multiplicación de palma de iraca y puede ser usado en la producción a gran escala de plántulas de este cultivo.

**Palabras clave:** Cultivo *in vitro*, giberelina, paja toquilla, palma jipijapa.

## INTRODUCCIÓN

*Carludovica palmata* (Ruiz-L H & Pavón y Jiménez JA), es una planta monocotiledonea que pertenece a la familia Cyclanthaceae. Se caracteriza por poseer hojas adultas palmadas y laminales que forman dobleces sobre las nervaduras, adquiriendo una forma de sombrilla (Harling et al. 1998). La palma de iraca también conocida como jipijapa o paja toquilla, se encuentra en la zona Neotropical del continente americano, desde Perú hasta México (Fadiman 2001), su distribución y crecimiento se da normalmente a altitudes de 900 a 1800 m., con temperaturas que fluctúan entre los 22 °C y 26 °C (Bennett et al. 1992, Muñoz-R y Tuberquia-M 1999). Aunque en Colombia puede encontrarse en zonas boscosas por debajo de los 900 m. Históricamente la industrialización del cultivo de la palma de iraca se asocia a la fabricación de sombreros, actividad que inició en el siglo XVI en Montecristi en la provincia de Manabí Ecuador (Anchundia-Rodríguez et al. 2016).

La explotación de la palma de iraca exhibe un gran potencial económico como producto forestal no maderable (te Velde et al. 2006, Galviz-Quezada et al. 2019), producto alimenticio (Álvarez Salas 2015), posible fuente de fibras vegetales en biocompuestos (Bourmaud et al. 2018) y como materia prima en la fabricación de diversas arte-

sanías (Muñoz-R y Tuberquia-M 1999). Sin embargo, los cultivos de palma de iraca se han reducido significativamente dado que han sido reemplazados por otros cultivos (Córdoba y Portilla 2005), incluyendo plantas ilícitas y también por el bajo relevo generacional de productores de iraca.

La palma de iraca se reproduce asexualmente, regularmente, por medio de hijuelos o tallos subterráneos (Harling et al. 1998). Este sistema de propagación no permite amplias tasas de multiplicación, ya que la cantidad de rizomas está limitada por la capacidad natural de la planta para producirlos, además de verse comprometida su integridad, ya que se afecta el sistema radicular al sacar los hijuelos para obtener material vegetal de propagación (Córdoba y Portilla 2005). Por otra parte, la baja tasa de germinación de las semillas producidas sexualmente (Gómez et al. 2011), la inexistencia de semilla certificada y mejorada genéticamente es una limitante para que los productores puedan ampliar sus áreas cultivadas (Córdoba y Portilla 2005), lo que conlleva a una alta demanda de la materia prima requerida para todos los usos mencionados anteriormente.

Se han considerado varios factores que afectan la baja tasa germinativa de las semillas, como la inmadurez del embrión, la estructura de la testa, las condiciones de luz

y temperatura, así como el tratamiento de desinfección al que son sometidas tradicionalmente (Orozco-Segovia et al. 2003). Así mismo, en muchas especies de plantas, la germinación de sus semillas es lenta y heterogénea, afectando negativamente la emergencia de las plántulas (Yang et al. 2007). Por ello, se utilizan diferentes métodos para aumentar el porcentaje de germinación, entre los que están: deshidratación e hidratación (Rubio Neto et al. 2012), uso de reguladores de crecimiento como el ácido giberélico ( $GA_3$ ) (Saldívar-Iglesias et al. 2010), escarificación (Moussa et al. 1998), y cultivo *in vitro* de embriones aislados (Tzec-Simá et al. 2006), que han permitido superar los problemas causados por la latencia de las semillas.

Por lo tanto, se requiere desarrollar métodos que permitan mejorar la capacidad germinativa de las semillas de la palma de iraca (Hoyos Sánchez et al. 2020), mediante el uso de reguladores de crecimiento y tratamientos de desinfección eficientes, para disponer de material vegetal de propagación, que conlleve a la obtención de protocolos eficientes y económicos y que puedan ser replicados por los productores de palma de iraca para mejorar su productividad. El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad de germinación de las semillas en condiciones *in vitro* y *ex vitro* procedentes de dos estadios de madurez de infrutescencias de *Carludovica palmata*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las pruebas experimentales de esta investigación se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal y el Viveiro de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín.

### Obtención de material vegetal

Las semillas fueron obtenidas de infrutescencias sanas y frescas de palma de iraca (Figs. 1a y 1b), provenientes de la colección *Arboretum* y *Palmetum* de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, ubicada a los 6°15' Norte y 75°34' Oeste, en una zona geográfica con una temperatura que oscila entre 16 y 26 °C, una precipitación promedio de 2958 mm al año y una altitud de 1475 m. Las infrutescencias cosechadas se lavaron con agua corriente y jabón antibacterial, luego se secaron y se cortaron en trozos pequeños con un bisturí hasta separar las bayas. Se extrajeron manualmente las semillas de las bayas y se colocaron en papel secante y se dejaron a temperatura ambiente, a la sombra, durante ocho días. Pasado este tiempo, las semillas fueron roseadas con una solución del fungicida

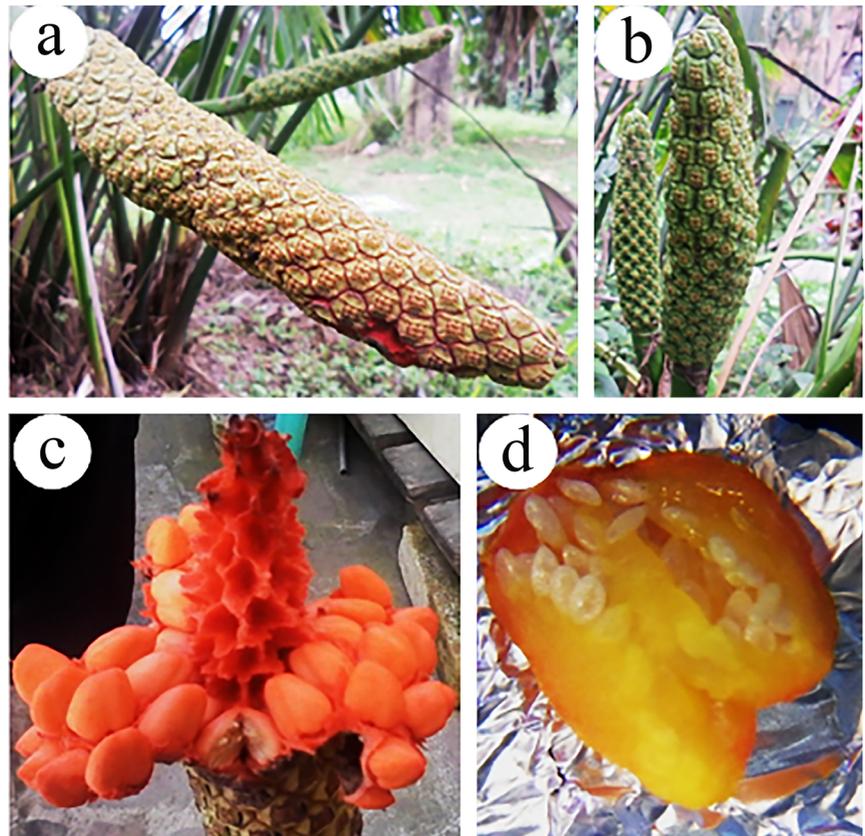
Propamocarb® a una concentración de 5,0 mL<sup>-1</sup>, después se sumergieron en un recipiente con 15 mL de agua destilada y dos gotas de Tween 20 durante 30 minutos. Luego las semillas fueron lavadas tres veces con agua destilada estéril, para posteriormente sumergirlas en una solución de etanol al 70 % v/v durante cinco minutos y lavarlas de nuevo tres veces con agua destilada estéril.

### Estados de madurez de la infrutescencia en la germinación de semillas cultivadas *in vitro*.

Para evaluar la capacidad germinativa de las semillas, según el estado de madurez de las infrutescencias, se partió de dos estadios de desarrollo muy contrastantes a saber: estado E1, el cual fue asignado a las infrutescencias inmaduras de color verde ligeramente oscuro, internamente poco carnosas y sin tejidos blandos (Fig. 1b), y estado E2, a las infrutescencias maduras de color verde amarillento, con tejido interno blando de color rojo intenso (Figs. 1a, 1c y 1d).

Las infrutescencias fueron cosechadas y de estas se registraron las siguientes características: longitud, grosor, número de bayas, número de semillas por cada baya y peso de las semillas. La medición se realizó en una muestra de 24 infrutescencias tipo E2 y 25 infrutescencias tipo E1, muestreadas al azar. El conteo de las semillas se realizó a partir de una muestra de 34 bayas igualmente muestreadas al azar, obtenidas de cuatro infrutescencias. Las infrutescencias tipo E1 presentaron las siguientes características: longitud 19,2 ± 2,7 cm, grosor 10,4 ± 1,2 cm, cada infrutescencia contenía 279,8 ± 51 bayas y cada baya contenía 88,3 ± 13 semillas sanas. Las infrutescencias tipo E2 presentaron las siguientes características: longitud 20,0 ± 2,6 cm, grosor 12,0 ± 1,4 cm, cada infrutescencia contenía 245 ± 43 bayas, y cada baya contenía un promedio de 87 ± 4,8 semillas sanas (Fig. 1d), con un peso promedio de 0,75 ± 0,04 mg por cada semilla seca.

Las semillas se desinfectaron como se describió anteriormente, pero con la adición de NaClO al 2,0 % p/v. Las semillas se colocaron repartidas en frascos de vidrio de boca ancha de 7 onzas, con 15 ml de medio de cultivo MS cada uno. El medio MS semisólido (Murashige y Skoog 1962) se preparó con sales y vitaminas básicas, suplementado con ácido indol butírico (IBA) 0,05 mg·L<sup>-1</sup>, ácido giberélico ( $GA_3$ ) 0,025 mg·L<sup>-1</sup>, bencil amino purina (BAP) 0,5 mg·L<sup>-1</sup>, sacarosa 20 g·L<sup>-1</sup>, phytigel® 1,8 g·L<sup>-1</sup> y Myositol 100 mg·L<sup>-1</sup>. Las concentraciones de hormonas fueron definidas a partir de estudios previos realizados en el Laboratorio de



**Figura 1.** Infrutescencia de (*Carludovica palmata*). **a.** Infrutescencia madura tipo E2, **b.** Infrutescencia madura tipo E1, **c.** Bayas de infrutescencia madura, **d.** Semillas.

Biología Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. El pH del medio fue ajustado con NaOH 2 mol/L antes de la esterilización por autoclave. En cada frasco se colocaron diez semillas y por cada estado de madurez, se usaron seis frascos. Las semillas fueron germinadas con un fotoperiodo 16/8 de luz/oscuridad, temperatura de 25 °C, durante 21 días. De cada frasco, se contaron las semillas que germinaron y a partir de estos datos, se calculó el porcentaje de germinación.

#### **Evaluación del porcentaje de contaminación usando NaClO como desinfectante.**

Parte de las semillas desinfectadas obtenidas de infrutescencias E2 se colocaron en una cámara de flujo laminar, en donde se separaron aleatoriamente en cuatro grupos de 80 semillas cada uno, Gr1, Gr2, Gr3 y Gr4, para luego sumergirlas durante 20 minutos en frascos con hipoclorito de sodio (NaClO) en concentraciones de 0, 1, 2 y 3 % p/v; respectivamente. Después del tratamiento de desinfección se realizó un triple lavado con agua destilada estéril. Una vez desinfectadas, se tomaron 80 semillas del grupo Gr1 y con una aguja hipodérmica desinfectada, se sembraron en ocho frascos para el tratamiento correspondiente, con un total de diez semillas por frasco. Cada frasco contenía

15 ml de medio de cultivo semisólido MS preparado como se describió anteriormente. Los cultivos se mantuvieron en fotoperiodo de 16/8 de luz/oscuridad a una temperatura de 25 °C durante 21 días, observando su desarrollo cada siete días. Se repitió el mismo procedimiento para los grupos Gr2, Gr3 y Gr4 en sus respectivas concentraciones de NaClO, con ocho frascos por tratamiento y diez semillas para cada frasco. El porcentaje de contaminación se determinó a partir del conteo de frascos con evidencia de crecimiento de hongos o bacterias frente al número total de frascos evaluados por cada grupo.

#### **Determinación del porcentaje de germinación bajo condiciones *in vitro* y *ex vitro*.**

Para determinar el porcentaje de germinación de las semillas, se utilizaron cuatro sustratos, de los cuales tres fueron *ex vitro*: tierra, turba y mezcla tierra-turba en relación 1:1, y uno *in vitro* con medio de cultivo MS semisólido. Para los tratamientos *ex vitro*, se emplearon vasos plásticos de cinco onzas, los cuales se llenaron 3/4 partes de su capacidad con cada sustrato previamente esterilizado por autoclave. Cada vaso fue perforado en la parte inferior, para liberar el exceso de agua. Para evitar el daño de las semillas por ataque de hongos, estas se fumigaron con una solución de

Propamocarb® a una concentración de 5,0 mL·L<sup>-1</sup>. En cada vaso se sembraron diez semillas obtenidas de infrutescencias tipo E2 y fueron empleados seis vasos por cada sustrato, para un total de 60 semillas por cada grupo *ex vitro*. Las semillas fueron sembradas y colocadas en un vivero con temperatura 16 – 26°C y humedad relativa 82 – 88 % durante 21 días de cultivo; pasado este tiempo se realizó el conteo de las semillas que germinaron por cada vaso. Para el tratamiento *in vitro*, se utilizaron seis frascos de vidrio de boca ancha con 15 ml de medio MS cada uno, los cuales fueron preparados como se describió anteriormente. En cada frasco se colocaron diez semillas obtenidas de infrutescencias E2, las cuales se cultivaron en una condición de fotoperiodo de 16/8 de luz/oscuridad y temperatura de 25 °C durante 21 días (Figs. 2a y 2b). De cada vaso o frasco se contaron las semillas que germinaron y a partir de estos datos se calculó el porcentaje de germinación con respecto al total de semillas usadas.

#### Efecto del ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) sobre el porcentaje de germinación

Para la evaluación del porcentaje de germinación con respecto a los eventos fisiológicos asociados a la dormancia en semillas, se tuvo en cuenta el efecto que tiene el ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) mediante un ensayo *ex vitro* en condiciones de vivero, usando turba como sustrato, y otro *in vitro*.

Para los experimentos *in vitro* las semillas extraídas de infrutescencias tipo E2, se sembraron en frascos de vidrio que tenían 15 ml de medio de cultivo MS semisólido de los cuales, ocho frascos fueron suplementados con GA<sub>3</sub> a una concentración de 0,025 mg·L<sup>-1</sup>, y ocho frascos sin GA<sub>3</sub>. En cada frasco se sembraron diez semillas, para un total de 80 semillas expuestas al GA<sub>3</sub> y 80 semillas no expuestas a dicha hormona. El porcentaje de germinación se evaluó una vez las semillas presentaron clara evidencia de germinación como es la emergencia de las hojas cotiledonares, proceso que sucedió a los 21 días después de sembradas (Fig. 2a). Una vez pasado este tiempo, se contabilizó el número de semillas germinadas, sobre el número total de semillas sembradas para cada frasco.

Para evaluar el porcentaje de germinación bajo condiciones *ex vitro*, las semillas se dividieron en tres grupos (G1, G2 y G3), cada grupo fue embebido durante doce horas en agua esterilizada suplementada con tres concentraciones de GA<sub>3</sub>: 0; 50 y 100 mg·L<sup>-1</sup> respectivamente. Luego las semillas fueron sembradas en vasos de plástico desechables de una onza que contenían turba previamente esterilizada

por autoclave, con cinco repeticiones para concentración de GA<sub>3</sub>. En cada vaso se sembraron diez semillas obtenidas de infrutescencias tipo E2 y fueron cultivadas durante 60 días a las mismas condiciones descritas anteriormente (Fig. 2c), pero el conteo de semillas germinadas se realizó a los 21 días y con los valores obtenidos se calculó el porcentaje de germinación.

#### Análisis estadístico

Para determinar el efecto del estado de madurez de las infrutescencias, el efecto de las condiciones de germinación *in vitro* y *ex vitro*, el efecto del GA<sub>3</sub> tanto para condiciones *in vitro* como *ex vitro*, y el efecto del NaClO sobre el porcentaje de germinación como variable dependiente, se usó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis, con un nivel de significancia del 0,05. Para evaluar el efecto del NaClO sobre el porcentaje de contaminación, se realizó la misma prueba. La comparación de las medias entre los diferentes niveles dentro de cada tratamiento fue realizada emplean-

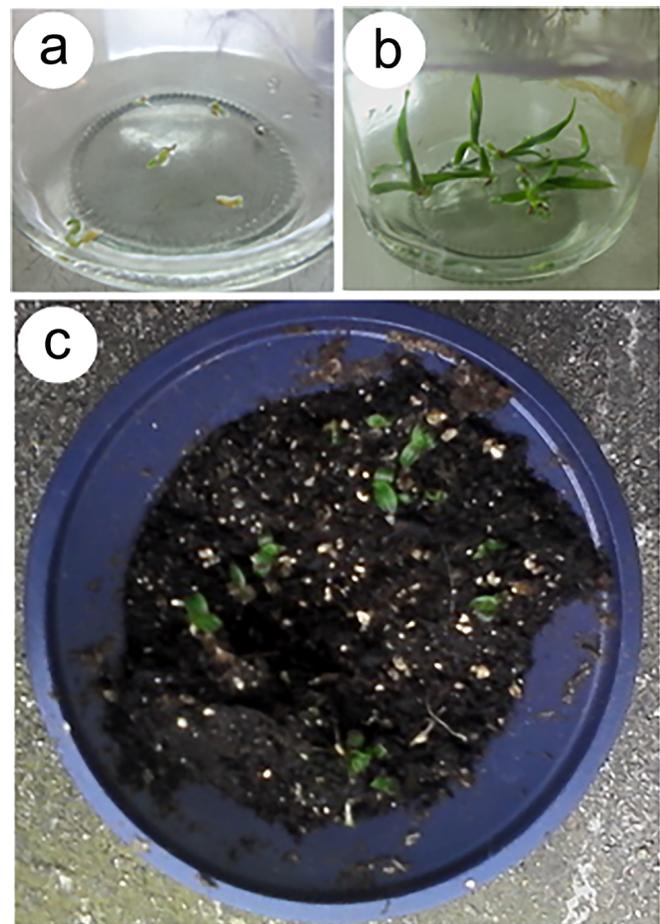


Figura 2. Germinación de semillas de palma de iraca (*Carludovica palmata*). a. En medio semisólido MS a los 21 días. b. En medio semisólido MS a los 60 días. c. En turba a los 60 días.

do la prueba de comparación múltiple de Bonferroni. Las pruebas estadísticas fueron ejecutadas usando el programa estadístico R versión 3.3.1 (R Core Team 2016).

## RESULTADOS

### Influencia del estado de madurez de la infrutescencia sobre la germinación de semillas cultivadas *in vitro*

El porcentaje de germinación de las semillas provenientes de las infrutescencias E1 en condiciones *in vitro*, fue significativamente menor ( $KW = 25,37$ ,  $gl = 1$ ,  $P < 0,05$ ) ( $17,95 \pm 5,17$  %), con respecto a las semillas de infrutescencias tipo E2, ( $86,84 \pm 5,27$  %). A partir de este resultado, se realizaron los demás experimentos usando semillas obtenidas de infrutescencias tipo E2.

### Determinación del porcentaje de contaminación

A pesar de que no hubo diferencias significativas del efecto del NaClO sobre el porcentaje de contaminación ( $P > 0,05$ ), los valores más bajos en el porcentaje de germinación se dieron en el tratamiento Gr4, cuando se usó la concentración de NaClO de 3,0 % p/v y los valores más altos se dieron cuando no se usó NaClO ( $P < 0,05$ ) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Efecto de la concentración de hipoclorito de sodio en la germinación y contaminación de semillas de palma de iraca (*Carludovica palmata*).

Grupo	Hipoclorito de Sodio (%p/v)	Porcentaje de germinación (%)	Porcentaje de contaminación (%)
Gr1	0,0	63,75 ± 7,1a	62,5±17a
Gr2	1,0	56,25 ± 8,0a	12,5±12a
Gr3	2,0	62,50 ± 6,2a	0±0,00a
Gr4	3,0	31,25 ± 7,4b	0±0,00a

Medias con distinta letra dentro de columnas son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) Incluir según la prueba de Bonferroni. Los datos están representados como la media ± error estándar. N= 320 semillas.

### Evaluación del porcentaje de germinación en condiciones *in vitro* y *ex vitro*

De los sustratos *ex vitro* la turba presentó el mayor porcentaje de germinación ( $25 \pm 6,24$  %), comparado con los sustratos tierra y la mezcla tierra-turba ( $5,56 \pm 6,10$  % y  $8,33 \pm 6,20$  % respectivamente). Al comparar estos resultados con los obtenidos en condiciones de cultivo *in vitro* en medio semisólido MS, se incrementó significativamente el porcentaje de germinación con un valor de  $88,2 \pm 4,5$  % ( $P < 0,05$ ) (Fig. 3).

### Efecto de la concentración de GA<sub>3</sub> sobre el porcentaje de germinación

No se encontraron diferencias significativas del efecto de GA<sub>3</sub> en el porcentaje germinación entre los tratamientos realizados en condiciones *in vitro*, ni tampoco en condiciones *ex vitro* ( $P > 0,05$ ) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Efecto de GA<sub>3</sub> sobre el porcentaje de germinación de semillas de palma de iraca (*Carludovica palmata*).

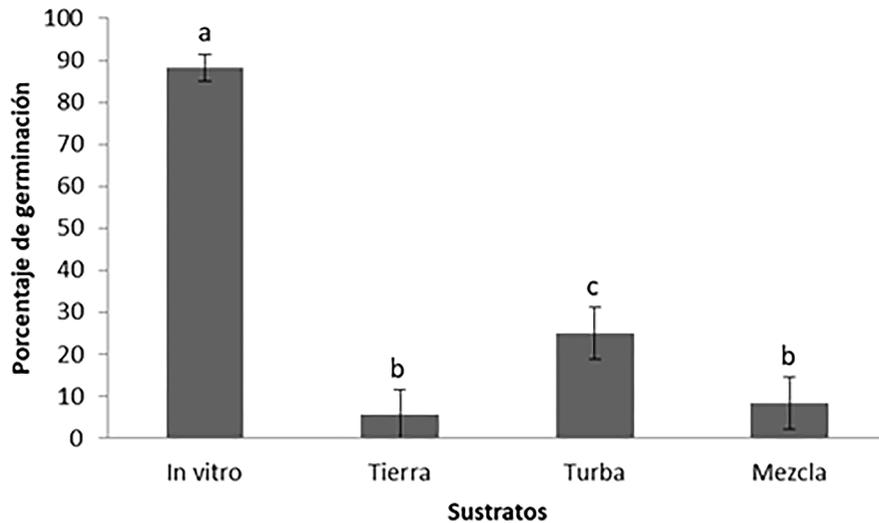
Grupo	Condiciones <i>ex vitro</i>		Condiciones <i>in vitro</i>	
	Concentración GA <sub>3</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	Porcentaje de germinación (media ± EE)	Concentración GA <sub>3</sub> (mg·L <sup>-1</sup> )	Porcentaje de germinación (media ± EE)
G1	0,0	26,66±4,08 <sup>a</sup>	0,00	57,5±5,6a
G2	50,0	13,33±6,23 <sup>a</sup>	0,025	49,4±6,2a
G3	100,0	13,33±6,23 <sup>a</sup>		

Medias con distinta letra dentro de columnas son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ) según la prueba de Bonferroni. Los datos están representados como la media ± error estándar (EE). N = 150 semillas en condiciones *ex vitro* y 160 semillas en condiciones *in vitro*.

## DISCUSIÓN

### Estados de madurez de la infrutescencia en la germinación de semillas cultivadas *in vitro*

El porcentaje de germinación de las semillas obtenidas del estado E1 fue significativamente menor con respecto a las infrutescencias en estado de desarrollo tipo E2. Esta diferencia podría estar asociada al grado de crecimiento y desarrollo tanto de las infrutescencias, como de las semillas, resultados que, aunque son importantes, sugieren realizar estudios más detallados de este proceso fisiológico. Según Criollo y Upegui-E (2005), la madurez fisiológica de la semilla coincide con el máximo contenido de materia seca, época que concuerda con el máximo valor germinativo como en el caso de las infrutescencias tipo E2 evaluadas en la presente investigación. Si bien, en las infrutescencias tipo E1, solo una parte de las semillas germinaron, lo que sugiere que, para este momento de recolección, como se describió anteriormente, no todas las semillas alcanzaron la madurez adecuada. Esto implicaría que se requiere un periodo más prolongado, en el cual completan la acumulación de reservas, principalmente de almidones, que les permitan alcanzar altos potenciales germinativos y, por esta razón, las semillas completamente maduras presentan un desarrollo físico y fisiológico que les garantiza la máxima expresión del vigor (Criollo et al. 1999). Además,



**Figura 3.** Porcentajes de germinación de semillas de palma de iraca (*Carludovica palmata*) cultivadas en medio semisólido MS y en sustratos convencionales. Medias con diferentes letras tienen diferencias significativas con ( $P < 0,05$ ), según la prueba de Bonferroni.  $N = 240$  semillas.

se ha reportado que cuando se alcanza la madurez completa, ésta se asocia al rompimiento de dormancia, determinado por el equilibrio entre los factores de crecimiento giberelinas/ácido abscísico (Baskin y Baskin 2014).

#### Determinación del porcentaje de contaminación.

A pesar de que en la presente investigación no se encontraron diferencias significativas del tratamiento de NaClO sobre el porcentaje de contaminación, si se observó que afecta el porcentaje de germinación de las semillas de palma de iraca negativamente ( $P < 0,05$ ), es decir que, a mayor concentración de NaClO, menor es el porcentaje de germinación y esto es evidente, debido principalmente a la citotoxicidad del hipoclorito sobre los tejidos de las semillas. Hasta el momento de escribir este artículo, no se encontraron reportes acerca de la desinfección de semillas para la palma de iraca o de especies relacionados con NaClO o con otras sustancias, por lo que se revisaron publicaciones sobre otras especies, en las cuales se usaron tratamientos similares. Así por ejemplo, para *Dendrocalamus strictus* (Roxb). Nees, se utilizó un protocolo de desinfección similar al del presente trabajo, aunque con concentraciones de NaClO superiores del 3,0 % y un tiempo de exposición de 30 minutos, encontrándose que, a mayor concentración del desinfectante, el porcentaje de germinación es menor (García-Ramírez et al. 2007), siendo resultados coherentes con los de la presente investigación; Así mismo, en estudios con semillas de bambú se encontró que con concentraciones de 1,5 % de NaClO durante 20 minutos, los porcentajes de germinación fueron de 96 % (Mukunthakumar y Mathur 1992) y 80 % (Madhulika et

al. 2000), mostrando mejores porcentajes de germinación a bajas concentraciones de NaClO.

Estudios en orquídeas han mostrado que el uso de NaClO en protocolos de desinfección es una técnica simple y económica para la desinfección de semillas, pero sugieren que se deben usar concentraciones entre 1,0 y 2,0 %, para permitir la germinación (Rodríguez et al. 2007). Sin embargo, en la especie *Nolina parviflora* (Kunth) Hemsl, a concentraciones de NaClO al 3,0 % y a tiempos de exposición de cinco y diez minutos, no mostró ser eficiente en la desinfección de semillas, con porcentajes de contaminación del 33 y 11 % para cada tiempo respectivamente, evidenciando que el tiempo puede mejorar la germinación y disminuir la contaminación para valores superiores a diez minutos de exposición (Flores-Escobar et al. 2008). Naturalmente que, tanto el efecto de la concentración, así como el tiempo de exposición sobre los tejidos de las semillas está altamente ligado a la especie que se trate, conllevando así, a una posible toxicidad, dada la textura y composición de los tejidos que componen la semilla (Causil et al. 2017).

#### Evaluación del porcentaje de germinación bajo condiciones *in vitro* y *ex vitro*

El mayor porcentaje de germinación *ex vitro* se registró en el sustrato turba comparado con los sustratos tierra y la mezcla tierra-turba, probablemente debido a que la turba es un material inerte con una capacidad alta de retención de agua, en tanto que los sustratos tierra y mezcla tierra-turba podrían ser más susceptibles a estar contaminados (Franco et al. 2007, Gómez et al. 2011, Azcón-Bieto y Talón 2013). Por otra parte, en condiciones *in vitro* el porcentaje de ger-

minación fue significativamente mayor comparado con los sustratos *ex vitro*, dado que las condiciones *in vitro* son completamente asépticas y cuentan no solamente con ambientes controlados de temperatura y humedad, sino también de macro y micronutrientes disponibles a la semilla, que podrían favorecer el proceso de germinación. Se aprecia una marcada influencia del tipo de sustrato y las condiciones de germinación en la capacidad germinativa de las semillas (Fig. 3). Según Doria (2010), muchos tipos de semillas no germinan porque las condiciones no son las más apropiadas (latencia impuesta), o no germinan, incluso aunque se encuentren en ambientes favorables, ya que ciertas condiciones propias de la semilla lo impiden (latencia innata o latencia de semillas); así, la salida del estado de latencia requiere estímulos ambientales tales como luz, bajas temperaturas o niveles de oxígeno adecuados.

Las condiciones *in vitro* usadas en la presente investigación, son excelentes para la germinación de las semillas de palma de iraca, rompiendo fácilmente la latencia impuesta y la latencia innata. En contraste con las condiciones *ex vitro*, el porcentaje de germinación de las semillas fue muy bajo. Esto podría justificarse considerando que en condiciones *ex vitro* es más difícil de controlar variables como luz, temperatura e incluso niveles de oxígeno, que de alguna u otra manera podrían afectar los procesos germinativos de las semillas de la palma de iraca.

#### Efecto de la concentración de GA<sub>3</sub> sobre el porcentaje de germinación

No se encontraron diferencias significativas del efecto del GA<sub>3</sub> sobre la germinación de semillas entre los tratamientos en condiciones *in vitro*, ni en condiciones *ex vitro*, descartando que la baja germinación de las semillas se deba a eventos asociados con la dormancia fisiológica (Baskin y Baskin 1998). Las giberelinas están implicadas directamente en el control y promoción de la germinación de las semillas; específicamente el GA<sub>3</sub> es capaz de romper la latencia y reemplazar la necesidad de estímulos ambientales, tales como luz y temperatura (Araya *et al.* 2000). Por lo tanto, se recomienda que, en posteriores investigaciones sobre germinación de semillas de palma de iraca, se evalúen otras concentraciones de GA<sub>3</sub>, al igual que variables fisiológicas y morfológicas relacionadas a la germinación. Saldívar-Iglesias *et al.* (2010), determinaron que al aumentar las concentraciones de GA<sub>3</sub> en un intervalo de 0 hasta 250 mg/L, el porcentaje de germinación de semillas de *Jaltomata procumbens* (Cav.) J. L. Gentry, aumentó

significativamente; de esta manera, cuando la concentración de GA<sub>3</sub> fue de 250 mg/L, el porcentaje de germinación fue mayor, con un valor de 87,0 % y la velocidad de germinación igualmente aumentó, obteniendo un valor de 1,71 plántulas/día.

En conclusión, en esta investigación se encontró que las semillas de infrutescencias con madurez tipo E2 y sembradas en medio de cultivo MS *in vitro*, presentaron los mayores porcentajes de germinación, evidenciando que este método es eficiente para la multiplicación de plántulas de palma de iraca en comparación con protocolos convencionales. De esta manera, es posible conocer detalles que los agricultores puedan usar en el momento de seleccionar las infrutescencias para la extracción de semillas de buena calidad, para producir plántulas a gran escala. Esto permitirá la conservación y siembra de la palma de iraca de una manera más eficiente, en aras de mantener una producción constante de materia prima que conserve viva la actividad artesanal.

#### PARTICIPACIÓN DE AUTORES:

JCZA: Diseño, análisis de datos y escritura del documento.  
RAHS: Concepción, diseño, escritura del documento. DCF: Toma de datos, análisis y escritura del documento.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación por la financiación del proyecto 64686 a partir del cual se obtuvieron los resultados de la presente investigación. A Aida María Hurtado Mosquera laboratorista encargada del Laboratorio de Biotecnología Vegetal, por su apoyo en el desarrollo de los experimentos *in vitro*.

#### CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existen conflicto de interés.

#### LITERATURA CITADA

- Álvarez Salas L. 2015. Plantas promisorias de uso alimenticio del Darién, Caribe colombiano. *Bol. Antropol. Am.* 29(48):43–65. doi: <https://doi.org/10.17533/udea.boan.v29n48a02>
- Anchundia-Rodríguez JC, Andino-Chancay TS, Bailón-Cevallos MH. 2016. Producción y Comercialización de sombreros de paja

- toquilla en Montecristi, Ecuador. *Dom. Cien.* 2(3):252-263. doi: <https://dx.doi.org/10.23857/dc.v2i3.134>
- Araya E, Gómez L, Hidalgo N, Valverde R. 2000. Efecto de la luz y del ácido giberélico sobre la germinación *in vitro* de Jaul (*Alnus acuminata*). *Rev. Agron. Costarr.* 24(1):75-80.
- Azcón-Bieto J, Talón M. 2013. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Segunda edición. Barcelona, España: Mc Graw Hill.
- Baskin CC, Baskin JM. 1998. Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego: Academic Press. Chapter 3. Types of Seed Dormancy; p. 27-47.
- Baskin CC, Baskin JM. 2014. Seeds. Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination. San Diego: Elsevier. Chapter 3. Types of Seed and Kinds of Seeds Dormancy; p. 37-77.
- Bennett BC, Alarcón R, Cerón C. 1992. The ethnobotany of *Carludovica palmata* Ruiz y Pavón (Cyclanthaceae) in Amazonian Ecuador. *Econ. Bot.* 46(3):233-240. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02866622>
- Bourmaud A, Beaugrand J, Shah DU, Placet V, Baley C. 2018. Towards the design of high-performance plant fiber composites. *Prog. Mater. Sci.* 97:347-408. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2018.05.005>
- Causil LA, Coronado JL, Verbel LF, Vega MF, Donado KA, Pacheco C. 2017. Efecto citotóxico del hipoclorito de sodio (NaClO) en células apicales de raíces de cebolla (*Allium cepa* L.). *Rev. Colomb. Cienc. Hortic.* 11(1):97-104. doi: <http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2017v11i1.5662>
- Córdoba FJ, Portilla JC. 2005. Orientaciones para el manejo técnico del cultivo de la palma de iraca. Primera edición. Bogotá, Colombia: Artesanías de Colombia.
- Criollo EH, Cardozo CC, Guevara C. 1999. Determinación de la madurez fisiológica y potencial de almacenamiento de semillas de zapallo (*Cucurbita moschata*) (Duch. ex Lam) (Duch. ex Poir), variedad Bolo verde. *Act. Agron.* 49(3):24-30.
- Criollo EH, Upegui-E PA. 2005. Determinación de la madurez fisiológica de semillas de uvilla (*Physalis peruviana* L.) *Rev. Cienc. Agr.* 22(1-2).
- Doria J. 2010. Generalidades sobre las semillas: Su producción, conservación y almacenamiento Revisión bibliográfica. *Cult. Trop.* 31(1):74-85.
- Fadiman M. 2001. Hat Weavin with jipi, *Carludovica palmata* (Cyclanthaceae) in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Econ. Bot.* 55(4):539-554. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02871716>
- Franco M, Guevara G, Mesa N, Urueña G. 2007. Hardening of the national flower of Colombia, the threatened *Cattleya trianae* (Orchidaceae), from *in vitro* culture with previous invigoration phase. *Rev. Biol. Trop.* 55(2):681-691. doi: <https://doi.org/10.15517/rbt.v55i2.6045>
- Flores-Escobar G, Legaria-Solano JP, Gil-Vásquez I, Colinas-León MT. 2008. Propagación *in vitro* de *Oncidium stramineum* Lindl. Una Orquídea amenazada y endémica de México. *Rev. Chapingo. Ser. Hortic.* 14(3):347-353. doi: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2007.02.009>
- Galviz-Quezada A, Ochoa-Aristizábal AM, Arias-Zabala ME, Ochoa S, Osorio-Tobón JP. 2019. Valorization of iraca (*Carludovica palmata* Ruiz & Pav.) infructescence by ultrasound-assisted extraction: An economic evaluation. *Food. Bioprod. Process.* 118:91-102. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.08.016>
- García-Ramírez Y, Freire-Seijo M, Tejeda M, Reyes M. 2007. Germinación *in vitro* de semillas de *Dentocalamus strictus* (Rosb.) Nees. *Biot. Veg.* 7(1):41-44.
- Gómez TJ, Sánchez MA, Rivera LR. 2011. El manejo de semilla de *Carludovica palmata* Ruiz & Pav. (Palma jipi) para la producción de plantas. México: VI Reunión Nacional de Innovación Forestal. León.
- Harling G, Wilder GJ, Eriksson R. 1998. Cyclanthaceae. En: Kubitzki K, editor. *The Families and Genera of Vascular Plants. Flowering Plants Monocotyledons. Vol 3.* Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 202-215.
- Hoyos Sánchez RA, Chicaiza Finley D, Zambrano Arteaga JC. 2020. In vitro multiplication of iraca palm (*Carludovica palmata* Ruiz & Pavón). *Rev. Fac. Nac. Agron.* 73(1):9039-9046. doi: <https://doi.org/10.15446/rfnam.v73n1.80139>
- Madhulika S, Jaiswal U, Jaiswal VS. 2000. Thidiazuron-induced *in vitro* flowering in *Dendrocalamus strictus* Nees. *Curr. Sci.* 79(11):1529-1530.
- Moussa H, Margolis AH, Dubé P-A, Odongo J. 1998. Factors affecting the germination of doum palm (*Hyphaene thebaica* Mart.) seeds from the semiarid zone of Niger, West Africa. *Forest Ecol Manag.* 104(1-3):27-41. doi: [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(97\)00230-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(97)00230-2)
- Mukunthakumar S, Mathur J. 1992. Artificial seed production in the male bamboo *Dendrocalamus strictus* L. *Plant. Sci.* 87(1):109-113. doi: [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(92\)90198-U](https://doi.org/10.1016/0168-9452(92)90198-U)
- Muñoz-R M, Tuberquia-M D. 1999. Estudio preliminar para el manejo sostenible de *Carludovica palmata* como materia prima en la producción de papel artesanal en Cabo corrientes Choco, Colombia. *Actual. Biol.* 21(71):87-96.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant.* 15(3):473-497. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Orozco-Segovia A, Batis AI, Rojas-Aréchiga M, Mendoza A. 2003. Seed Biology of Palms: A Review. *Palms* 47(2):79-94.
- Rodríguez L, González R, Alvarado K, Telles E. 2007. Germinación asimbiótica *in vitro* de semillas de orquídeas silvestres. *Biot. Veg.* 7(3):139-142.
- Rubio Neto A, Guimarães Silva FG, Sales JF, Reis ED, Silva MV, Lorraine Souza A. 2012. Effect of drying and soaking fruits and seeds on germination of macaw palm (*Acrocomia aculeata* [Jacq.] Loddiges ex Mart). *Acta Scientiarum.* 34(2):179-185. doi: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v34i2.11752>

- R Core Team. c2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [Revisada en: 05 Ago 2016]. <https://www.R-project.org/>
- Saldívar-Iglesias P, Laguna-Cerda A, Gutiérrez-Rodríguez F, Domínguez-Galindo M. 2010. Ácido giberélico en la germinación de semillas de *Jaltomata procumbens* (Cav.) J. L. Gentry. *Agron. Mesoam.* 21(2):327-331. doi: <https://doi.org/10.15517/am.v21i2.4895>
- te Velde DW, Rushton J, Schreckenber K, Marshall E, Edouard F, Newton A, Arancibia E. 2006. Entrepreneurship in value chains of non-timber forest products. *Forest Policy Econ.* 8(7):725-741. doi: <https://doi.org/10.1016/j.forpol.2005.06.010>
- Tzec-Simá MA, Orellana R, Robert ML. 2006. *In vitro* rescue of isolated embryos of *Bactris major* jacq. and *Desmoncus orthacanthos* mart., potentially useful native palms from the Yucatan peninsula (Mexico). *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 42:54-58. doi: <https://doi.org/10.1079/IVP2005715>
- Yang Q-H, Ye H-W, Yin X-J. 2007. Dormancy and germination of *Areca triandra* seeds. *Sci. Hort.* 113(1):107-111. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.01.028>