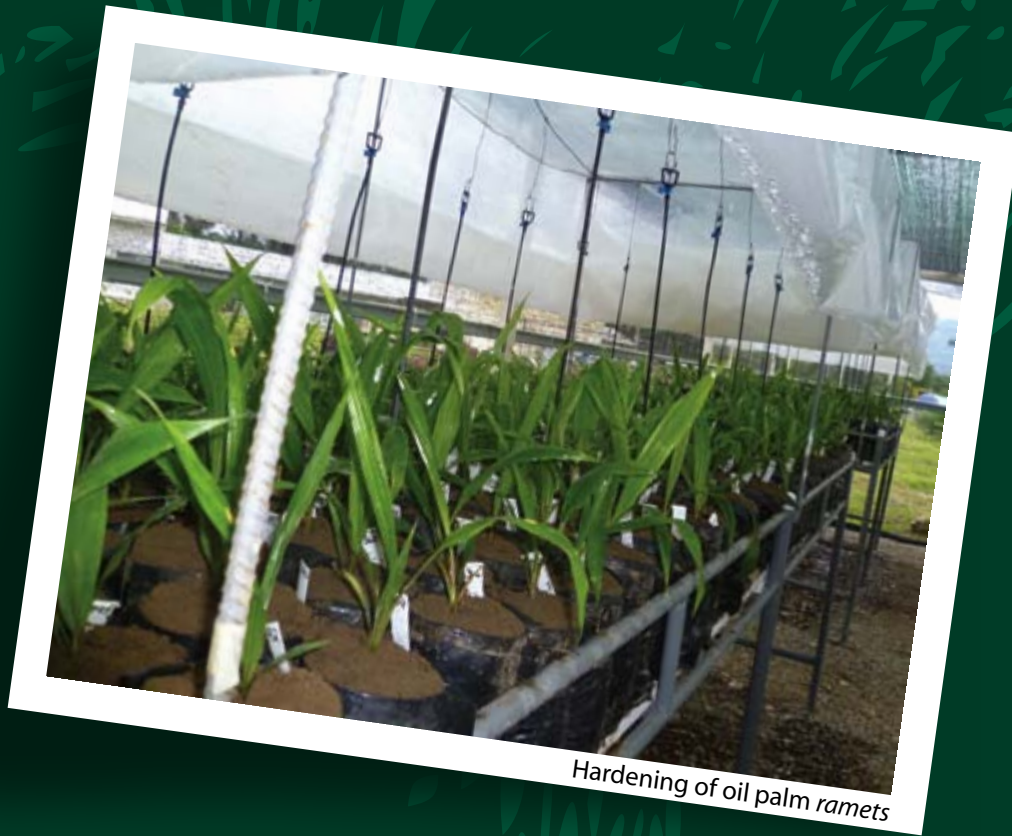




ISSN
1019-1100

NUMBER 37, 2012

ASD OIL PALM PAPERS



Hardening of oil palm ramets



“ASD OIL PALM PAPERS”
IS A BIENNIAL PUBLICATION OF
ASD COSTA RICA
(Agricultural Services and Development)

Number 37

2012

EDITOR: Carlos Chinchilla
EDITORIAL BOARD: Amancio Alvarado, Emmanuel Araya,
Francisco Peralta, Ricardo Escobar.

MAILING ADDRESS

ASD OIL PALM PAPERS
ASD Costa Rica
P.O. Box 30-1000 San José, Costa Rica
Ph.(506) 2284-1120, Fax (506) 2257-2667
E-mail: sales@asd-cr.com
Web site: <http://www.asd-cr.com>

CONTENT

1. *Oil Palm Compact Clones: A preliminary study on some physiological and anatomical changes during acclimatization of ramets.*
Clones Compactos de palma aceitera: un estudio preliminar sobre cambios anatómicos y fisiológicos durante la aclimatización de *ramets*.
Paula Gadea, Carlos Chinchilla, Wegner Rodríguez.
19. *Germination of oil palm (*Elaeis guineensis*) seeds: varietal effect, bunch load of the mother palm and conditions (temperature and oxygen availability) during dormancy breaking.*
Germinación de semillas de palma aceitera: estudios del efecto de la carga de racimos de la palma madre, la variedad y las condiciones (temperatura y oxígeno) durante el proceso de ruptura del reposo.
Jorge Herrera y Amancio Alvarado.

Cover page

Hardening of oil palm *ramets*.
Endurecimiento de *ramets* de palma aceitera.

Oil palm compact clones: A preliminary study on some physiological and anatomical changes during acclimatization of *ramets*

Paula Gadea¹, Carlos Chinchilla², Wagner Rodríguez³

Abstract

Some physiological parameters (relative water content, photosynthetic and transpiration rates) and growth (leaf area, leaf fresh weight, epicuticular waxes, chlorophyll *a* and number of stomata) were measured during the acclimatization phase in two compact oil palm clones (*Elaeis guineensis*) differing in their ability to acclimatize, and compared with those obtained from a commercial seed variety at the prenursery stage.

Morphological variables, in clones, were evaluated in the youngest fully developed leaf coming from the laboratory at 0, 22 and 30 days after planting, as well as in the first and second new leaves formed *ex vitro* in a pre nursery (clones and seedlings). Physiological variables were evaluated on the first fully open laboratory leaf (0 days after planting) and on the first two new leaves at 45 and 60 days after planting (*ex vitro*).

The Tornado clone (easy acclimatization) showed a high rate of transpiration associated with a fast increase in leaf area and fresh weight after transplanting to *ex vitro* conditions (acclimatization chamber). The Emerald clone (proved to be difficult to acclimatize) showed the lowest transpiration rate, the highest concentration of chlorophyll *a* and more waxes on the leaves. There were not significant differences in the relative water content between the clones and the seed variety. The number of stomata on both sides of the leaf was higher in Deli x Nigeria (seed variety) and Tornado.

Photosynthetic rate was higher in the seed variety (first new leave: 7.99 $\mu\text{moles CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and was similar in the two clones. In the second new leaf formed after transplanting, there were no differences in photosynthetic rate between clones and the sexual crossing.

On average, the highest photosynthetic active radiation found in a tray with oil palm *ramets* in the laboratory was 80 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Once transferred to the chambers of acclimatization, the light received by the *ramets* was 198.86 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. After removing one shading layer, PAR increased to 208 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, and at the end of the acclimatization period, incident radiation was 659 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. After removing all shade, radiation was an average of 1583 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Keywords: oil palm *ramet*, acclimatization, hardening clones.

¹ M.Sc. student; Programa de maestría de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias de la Universidad de Costa Rica

² ASD Costa Rica consultant, cmlchinchilla@gmail.com, c.chinchilla@asd-cr.com

³ Profesor, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica

Introduction

Vitro plants (named as *ramets* in oil palm) are developed under controlled conditions in a tissue culture laboratory and they must go through an acclimatization (hardening) period to be able to endure the harsh external (ex vitro) environment. The acclimatization is a process where the vitro plants gradually adapt to external conditions under human supervision (Tambussi 2004). This is a critical process, since the *ramets* come from an environment where transpiration is low to another where water can be easily lost. Additionally, nutrient, water, light and relative humidity change drastically between the laboratory and the acclimatization environment. Finally, the *ramets* are taken from an aseptic environment (laboratory) to another where many microorganisms may act as potential pathogens (Salas 2002). All these changes cause a severe stress on the *ramets*, which have to readapt their physiological and anatomical processes to go from a heterotrophic to an autotrophic condition (Pospíšilová et al. 1999, Serret and Trillas 2000).

To start the acclimatization process, the ramets are normally placed under shade within a plastic chamber with high relative humidity (90-100%). The plastic of the acclimatization chamber and the

shade are gradually removed to expose the plants to lower relative humidity and to increase the light intensity that reaches the plants. During this period, temperature, nutrition and the substrate (aeration) are carefully monitored to maintain them within defined ranges. The water deficit that results when the vitro plants are removed from the laboratory causes important structural changes aimed at reducing water loss. Some of these changes are increments in the activity, the number and the structure of stomata, and a build-up of epicuticular waxes. Other anatomical changes affect the mesophyll, sclerenchyma and chlorenchyma, and the amount of chloroplasts (Preece and Sutter 1990).

A better understanding of the morphological and physiological changes of oil palm *ramets* during acclimatization may help to reduce losses during this process, and obtain a higher proportion of plants (clones) suitable to be planted in the main nursery and then in the field. This work was done to compare two compact clones that differed in their ability to overcome successfully the acclimatization process. Some parameters were compared with those from seedlings of a commercial variety during the initial stages.

Materials and Methods

The work was carried out in Coto, Puntarenas, Costa Rica, during the first semester of the year 2007. Two compact (Alvarado et al. 2006) clones contrasting in their ability to overcome the acclimatization phase were used. Some data were compared with those obtained from a seed variety (Deli x Nigeria) during the pre-nursery stage.

The ramets coming from the tissue culture laboratory were planted in polyethylene plastic bags with a sandy loam soil and initially kept within a plastic humid chamber under a structure with a saran shade (70%).

Both the shade and the plastic chamber were gradually removed to expose the ramets to

external environmental conditions, where they were kept in an ordinary prenursery (same conditions as for seedlings). The last two measures taken (45 and 60 days after planting) were done under prenursery conditions.

Several morphological (leaf area, fresh leaf weight, cuticle waxes and number of stomata) and physiological (relative water content, chlorophyll *a*, photosynthesis, transpiration) parameters were measured at the moment the ramets left the laboratory, during the acclimatization period and soon after.

A destructive method was used to determine leaf area. Leaves were photographed and the area was determined with CID Inc. version 2.0 (Copyright© 1987-1995 Jandel Scientific). Fresh weight was determined in a scale with three digits. Relative water content (RWC) was determined following Taiz and Zeiger (2002), by comparing water content from a fresh leaf sample (50- 0.5 cm diameter discs) with that of the sample after total hydration and posterior desiccation.

$$\text{RWC} = (\text{TW} - \text{FW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \times 100$$

Where, TW = turgid weight; FW = fresh weight;

DW = dry weight

To determine cuticle waxes, fresh leaf sections (100-250 mg of tissue) were first washed with distilled water and put in Petri dishes, where they were submerged in chloroform during 60 seconds. After the chloroform was gone, the residue (waxes) was weighted (Jetters et al. 2000). Chlorophyll *a* content was measured by spectrum-photometry at two wave lengths (645 and 663 nm).

Pigment extraction was done by using at least one gram of macerated tissue in acetone 80% using vacuum filtration (Fernández and Johnston (1986).

$$\text{Chlorophyll } a = 12.7 (D_{663}) - 2.69 (D_{645}) \times \frac{V}{1\,000 \times \text{Fw}}$$

D= optic density of the extract; V = final volume of the extract, acetone 80%; Fw = tissue fresh weight (g).

The number of stomata was determined by smearing transparent nail enameling on both leaf surfaces (abaxial and adaxial: 100-250 mg of tissue), and later peeling off the film and observing it under a microscope at 40X (Fernández and Johnston 1986).

Photosynthesis and transpiration were determined with a Leaf Chamber Analyzer (Model LCA4, Advanced Development Company, England), to measure photosynthetic rate ($\mu\text{mols of CO}_2 \text{ fixed m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and transpiration ($\mu\text{mols of water m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). In all cases, the cuvette (6.25 cm) was placed on the middle part of the youngest completely open leaves. Appropriate corrections were done for leaves that did not fit the cuvette. Every measure was taken twice, after one minute stabilization wait. For clones, measures were taken within the acclimatization chamber.

Destructive sampling was done at 0, 22, 30, 45 and 60 days after planting, and non destructive measures (photosynthesis and transpiration) were taken at 0, 45 and 60 days after planting. Evaluations at 0, 22 and 30 days were done on the youngest leaf produced in the laboratory.

From here (45 and 60 days) measures were taken on the first and second leaves produced in the acclimatization chamber (clones) or the prenursery (seed variety). Every leaf sample was homogenized by dividing the leaflets in four portions, which were then mixed to take a sub-sample.

Experimental design and statistical analysis

Each *ramet* or seedling was considered an experimental unit within a completely randomized design with five replications for destructive measures and ten for photosynthesis and transpiration. Data taken at 45 and 60 days were dependent variables since they were taken on the same plant.

Results

Changes of incident light during acclimatization

The maximum value for photosynthetic active radiation (PAR) found in trays holding the *ramets* in the laboratory was $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, and this changed to an average of $199 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ within the hardening chambers. After removing one shading layer, PAR increased to $208 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and at the end of the acclimatization period, incident radiation was $659 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. After removing all shade, radiation was an average of $1583 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. All these are highly dramatic changes in incident radiation, that are part of the reason for the severe transplanting shock that suffer the *ramets* going from the laboratory conditions to the ex vitro environment. The other drastic change is in transpiration rate.

Anatomical variables

Changes in tissue fresh weight and other variables measured are shown in Table 1. The Tornado clone (easy to acclimatize) grew (fresh weight accumulation) faster than Emerald (hard to acclimatize). Interestingly, Emerald accumulated more waxes on the cuticle than Tornado (and even than the Deli x Nigeria seedlings).

However, in general, the amount of waxes on the leaves increased as new leaves formed in all materials, but particularly on the seedlings. The difference between leaves one and two formed ex vitro was 1.42, 2.36 and 2.9 mg g^{-1} fresh tissue in Tornado, Emerald and the Deli x Nigeria seedlings respectively. A similar tendency was observed by Sandoval et al (n.d) in banana vitro plants.

There was a tendency in the clone Emerald to accumulate more waxes on the cuticle (even more than on the seedlings' leaves), which is an indication that lack of wax formation is not what limits the ability of this clone to acclimatize, nor rapid desiccation (relative water content was initially similar in all materials), or stomata density (similar or even sometimes higher in Emerald). However, according to Tambussi 2004, the relative water content is only a reliable indicator of water status under conditions of extreme water deficit, and the clones were inside a humid chamber.

The oil palm has stomata on both sides of the leaves (Zobel and Valiant 1980). The number of stomata on the adaxial surface was higher on the seedlings (up to 99 stomata mm^{-2}), than on clones (16-54 mm^{-2}) (Table 1).

In general, stomata density was higher on the abaxial surface in Tornado, and there were statistical differences between clones at 22 and 45 days after planting. Tornado and the seedlings with more stomata on both surfaces of the leaves showed higher transpiration rates than Emerald, which had less stomata, but more waxes on the cuticle (both in vitro and ex vitro).

The similarities in transpiration rates between Tornado and the seedlings can be taken as an indicator of the ability of this clone to successfully adapt to ex vitro conditions, which probably is the result of the formation of an efficient vascular connection between the aerial part and a functional root system. Such successful connection may fail in some ramets of Emerald and this deserves further studies.

Table 1. Mean values for some anatomical variables in two clones (Tornado and Emerald) and seedling of a commercial variety (Deli x Nigeria)

Variable	dap	Tornado	Emerald	Deli x Nigeria
Leaf area (cm ²)	0	10,93 ± 0,63 a	7,82 ± 0,63 b	
	22	19,18 ± 1,76	15,95 ± 1,76	
	30	25,31 ± 1,62	24,92 ± 1,62	
	45	41,69 ± 2,57	41,11 ± 2,57	37,41 ± 2,87
	60	71,45 ± 4,21	63,16 ± 4,21	58,67 ± 4,21
Fresh weight (g)	0	0,52 ± 0,07 a	0,28 ± 0,07 b	
	22	0,35 ± 0,03	0,32 ± 0,03	
	30	0,41 ± 0,02	0,36 ± 0,02	
	45	0,78 ± 0,05	0,75 ± 0,05	0,83 ± 0,05
	60	1,71 ± 0,07 a	1,23 ± 0,07 b	1,63 ± 0,07 a
Waxes (mg of wax g ⁻¹ fresh tissue)	0*	7,68 ± 1,03	8,32 ± 1,03	
	22	3,96 ± 1,09 b	8,07 ± 1,09 a	
	30*	8,86 ± 1,93	7,59 ± 1,93	
	45	1,09 ± 0,28 ab	1,78 ± 0,28 a	0,64 ± 0,28 b
	60*	2,51 ± 0,53	4,14 ± 0,53	3,54 ± 0,53
Relative water content (%)	0*	8,03 ± 1,40	11,87 ± 1,40	
	22*	10,80 ± 1,92	12,70 ± 1,92	
	30*	19,39 ± 3,65	16,19 ± 4,07	
	45*	12,89 ± 2,08	12,41 ± 2,08	14,83 ± 2,08
	60*	12,22 ± 1,40	9,23 ± 1,40	9,58 ± 1,40
Stomata: adaxial per mm ²	0*	33,32 ± 7,24	25,40 ± 5,61	
	22*	22,79 ± 4,06	20,12 ± 3,63	
	30*	16,10 ± 2,82	16,60 ± 2,82	
	45	54,45 ± 16,67 ab	26,28 ± 16,67 b	99,85 ± 16,67 a
	60*	19,91 ± 5,58	28,92 ± 4,84	27,82 ± 4,84
Stomata: abaxial per mm ²	0*	81,39 ± 11,25	99,34 ± 9,74	
	22	127,64 ± 7,34 a	84,76 ± 7,34 b	
	30*	107,36 ± 14,02	94,44 ± 12,55	
	45	309,77 ± 47,04 a	102,80 ± 52,58 b	271,78 ± 52,58 a
	60*	106,26 ± 9,40	95,26 ± 8,14	96,08 ± 7,28
Chlorophyll a (mg m ⁻³)	0*	177,52 ± 52,13	248,52 ± 52,13	
	22	88,66 ± 11,40 b	145,40 ± 11,40 a	
	30	100,25 ± 34,90 b	317,86 ± 39,02 a	
	45	24,76 ± 13,65 b	192,94 ± 15,76 a	42,72 ± 12,21 b
	60	22,33 ± 18,00 b	165,65 ± 18,00 a	47,18 ± 18,00 b

The clones went through an acclimatization period in a humid chamber under shade. The seedlings grew up in a standard prenursery with shade.

dap= days after planting; 0 dap (leaf 1 produced at the tissue lab); 45 and 60 dap: first and second leaves produced after planting.

Figure 1 shows the information on variation of the morphological variables (compared with the maximum values observed) during acclimatization and after this period (prenursery conditions).

It is clear that no important differences were found, but wax weight, RWC and number of stomata on the abaxial plane of the first leaf formed were initially higher in Emerald. Later the situation changed in favor of Tornado, the plants of which eventually successfully overcame the acclimatization period, which did not happen for many individuals of the Emerald clone.

Photosynthesis and respiration

Photosynthetic rate was similar in both clones under laboratory conditions, but transpiration was higher in Tornado (Fig. 2), indicating early differences between these two clones. The first completely elongated leaf produced by the Deli x Nigeria seedlings had a higher CO₂ assimilation rate than either clone, but at this moment the clones were under the humid chamber undergoing the acclimatization phase and the seedlings were inside a normal prenursery with a saran shade (higher solar radiation).

Chlorophyll content decreased following transplanting ex vitro which is a consequence of higher temperatures and radiation (Havaux and Tardy 1999). Once the acclimatization period was over, the photosynthetic rate (second leaf produced after transplanting), was similar in all three materials. Nevertheless, the transpiration rate was consistently lower in Emerald, which may be part of the reason for the difficulty to acclimatize this clone in particular.

The physiological meaning of the low content of chlorophyll *a* in Emerald cannot be interpreted from data collected, so it cannot be said that this fact is associated with its problems during acclimatization. According to Wilson et al. 2006, a high chlorophyll content would lead to higher photosynthetic rates for this clone; however, that was not the case. The Tornado clone had a lower content of chlorophyll *a* on the second leaf formed ex vitro, but the photosynthetic rate was similar to that of Emerald and the seedlings.



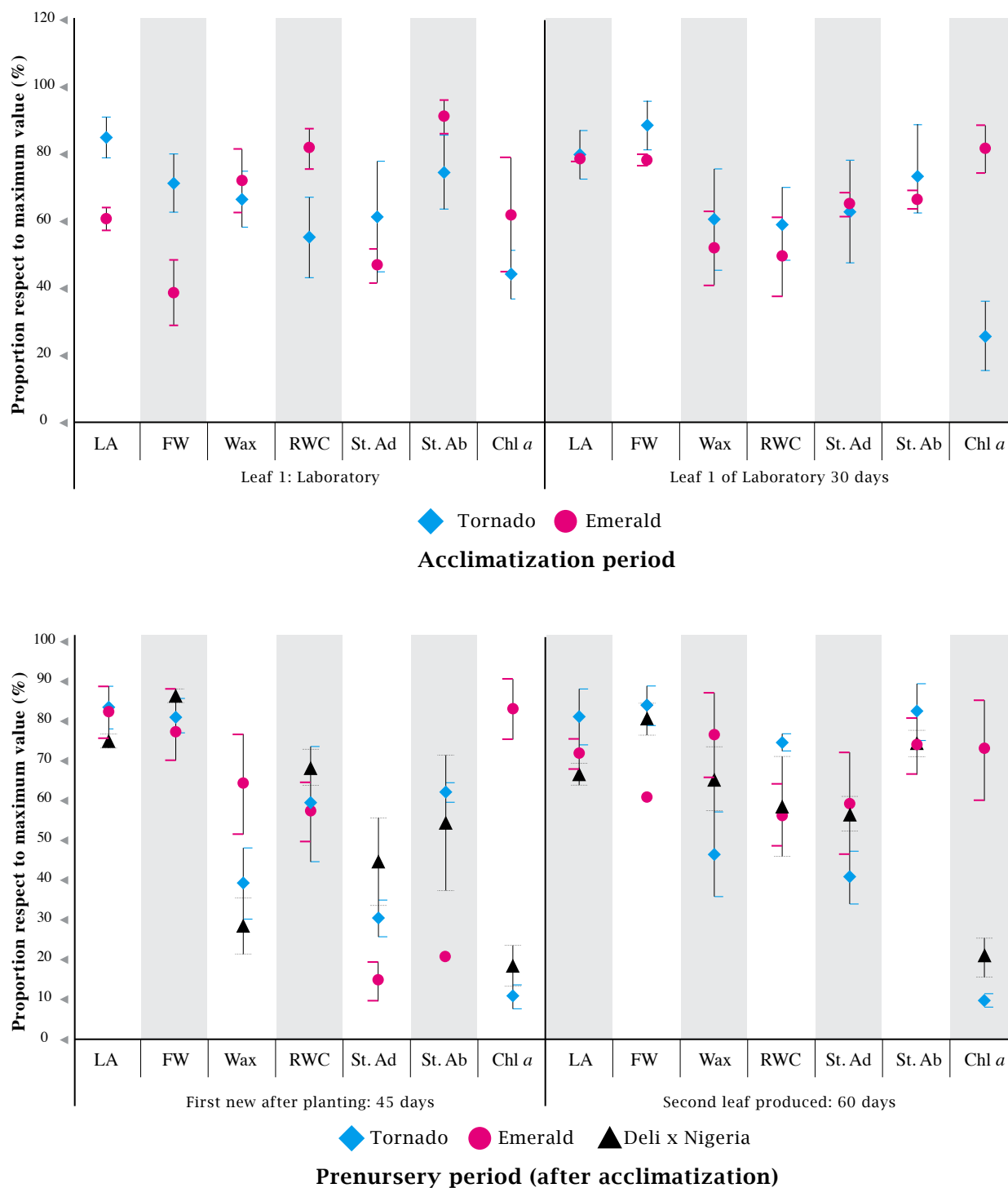


Fig. 1. Leaf area (LA), leaf fresh weight (FW), wax weight (Wax), relative water content (RWC), number of stomata, adaxial (St.ad.), abaxial (St.ab.) and chlorophyll *a* content (Chl *a*). All values referred to a maximum observed in two clones (Tornado and Emerald) and seedlings of the Deli x Nigeria variety

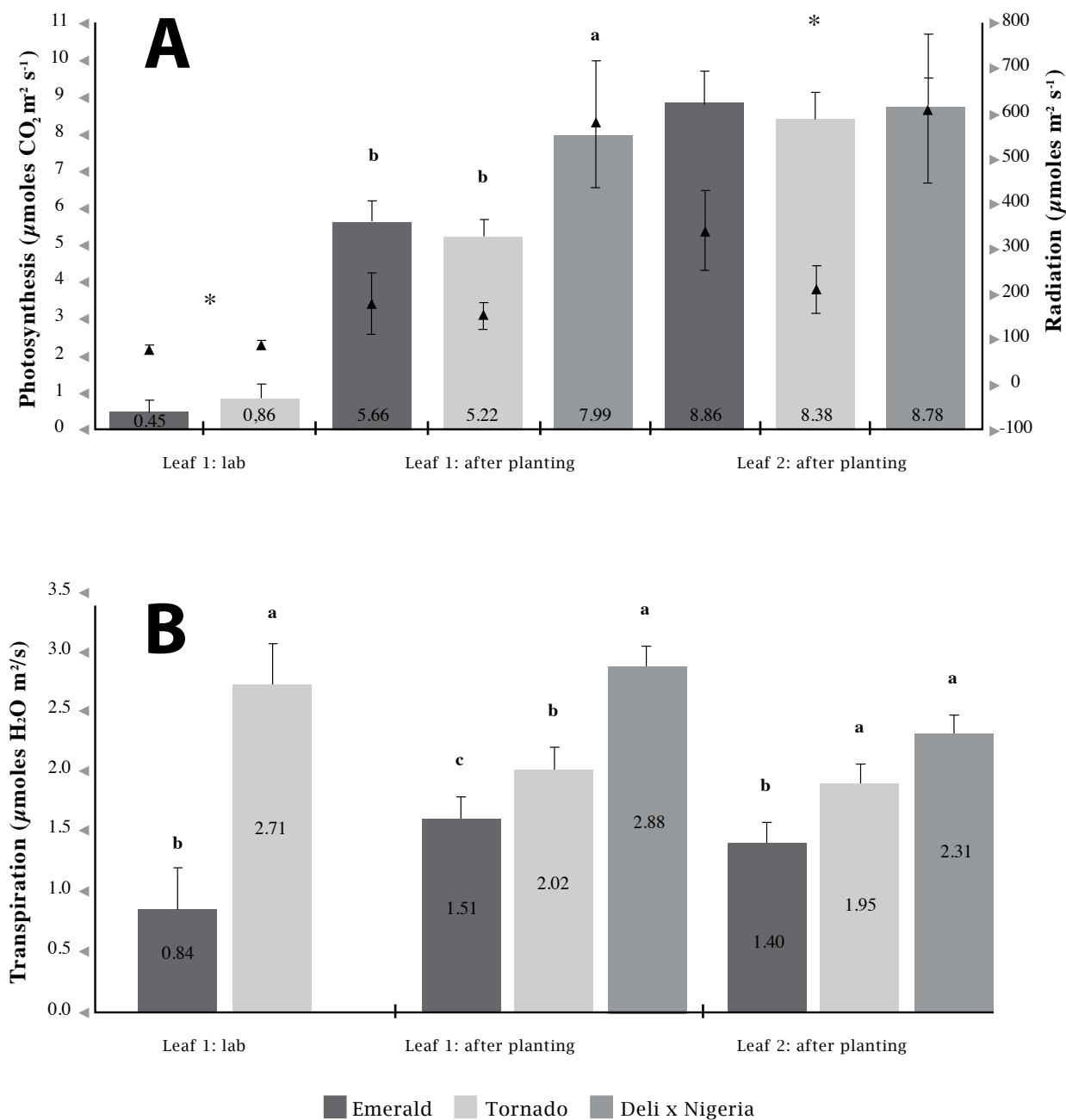


Fig.2. Photosynthetic rate (■) and incident photosynthetic active radiation (▲) (A) and transpiration rate (B) of the last leaf completely formed in the laboratory and the first and second leaves formed after planting the two clones (Tornado and Emerald) and seedlings of the Deli x Nigeria variety. Different letters indicate statistical differences $P \leq 0,05$). Vertical bars indicate the standard error.

Conclusions

We were able to identify some morphological and physiological characteristics that differentiated clones such as Tornado (easy to acclimatize) from Emerald (hard to acclimatize). Tornado seemed to overcome with certain ease the hardening period (fast increase in leaf area and dry weight), and it even grew faster than the Deli x Nigeria seedlings at some moments. The positive changes in the transpiration rate and photosynthetic efficiency clearly indicated that an efficient vascular connection was established between the aerial part and the root system in Tornado, which seemed did not occurred in some individuals

of the Emerald clone. Further (anatomical) studies may show this to be the reason between the performances of these clones once they are transferred to ex vitro conditions. If found true, this information can be used to change the cloning protocol for this difficult-to-acclimatize clones in order to achieve a more efficient connection of the vascular system. Other morphological characteristics, such as wax deposition on leaves and number of stomata may not be so important determining differences between these two clones in their ability to acclimatize.

Literature

- Alvarado A., Escobar R., Peralta F., Chinchilla C. 2006. Compact seeds and clones and their potential for high density planning. In. International seminar on yield potential in the oil palm. ISOPB, Thailand, November 2006.
- Havaux M., Tardy F. 1999. Loss of chlorophyll with limited reduction of photosynthesis as an adaptive response of Syrian barley landraces to high-light and heat stress. *Aust. J. Plant Physiol.* 26: 569- 578
- Jetters R., Shaffe R., Riederer M. 2000. Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: evidence from *Prunus laurocerasus* L. *Plant Cell. Environ.* 23: 619-628
- Fernández G., Johnston M. 1986. Fisiología vegetal experimental. San José, CR. IICA.
- Pospíšilová J., Tichá I., Kadleček P., Haisel D., Plzáková Š. 1999. Acclimatization of micropropagated plants to ex vitro conditions. *Biologia Plantarum* 42 (4): 481-497
- Preece J., Sutter E. 1990. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse. In: *Micropropagation technology and application*. Ed. By P. Debergh and R. Zimmerman. Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands, p.71-93
- Salas E. 2002. Potencial de las micorrizas arbusculares en la micropropagación de plantas agrícolas y forestales. In *Taller-Seminario: Especies forestales nativas (Instituto de Investigación y Servicios Forestales)*. Eds. INISEFOR. Heredia, CR, Universidad Nacional. p. 54-57
- Sandoval J., Müller L., Weberling F. s.f. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown in vitro and during hardening as compared to field- grown plants. *Fruits* 49(1): 37-46
- Serret M., Trillas M. 2000. Effect of light and sucrose levels on the anatomy, ultrastructure, and photosynthesis of *Gardenia jasminoides* Ellis leaflets cultured in vitro. *Int. J. Plant. Sci.* 161 (2): 281-289.
- Tambussi E. 2004. Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Tesis Ph.D. Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. España.
http://www.thesisenxarxa.net/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0620106111859//01.EAT_Part_1_2_Introducción_Objetivos.pdf
- Taiz L., Zeiger E. 2002. *Plant Physiology*. 3ed. Ed. Sunderland. USA. 690 pp.
- Wilson K., Ivanov A., Öquist G., Grodzinski B., Sarhan F. Huner N. 2006. Energy balance, organellar redox status, and acclimation to environmental stress. *Can. J. Bot.* 84:1355-1370
- Zobel D., Liu V. 1980. Leaf-conductance patterns of seven palms in a common environment. *Bot. Gaz.* 141 (3): 283- 289

Clones compactos de palma aceitera: un estudio preliminar sobre cambios anatómicos y fisiológicos durante la aclimatización de *ramets*

Paula Gadea¹, Carlos Chinchilla², Wagner Rodríguez³

Resumen

Se documentaron varios cambios morfológicos (área y peso foliar, ceras epicuticulares y número de estomas) y fisiológicos (contenido de clorofila *a*, contenido relativo de agua, fotosíntesis y transpiración) durante el proceso de aclimatización de dos clones compactos de palma aceitera que diferían en su habilidad para superar esta fase. La información fue comparada con la obtenida de plántulas (fase de previvero) de una variedad de semilla comercial.

Las variables morfológicas en los clones fueron medidas en la hoja más joven completamente desarrollada en el laboratorio a los 0, 22 y 30 días luego de la siembra, y en la primera y segunda hojas formadas luego del traslado a las cámaras de aclimatización.

Las variables fisiológicas fueron evaluadas sobre la primera hoja totalmente abierta en el laboratorio (0 días del trasplante) y sobre las dos primeras hojas formadas ex vitro (45 y 60 días después del trasplante).

El clon Tornado, de fácil endurecimiento, mostró una alta tasa de transpiración ex vitro, lo cual se asoció con un rápido aumento en el área foliar y el peso fresco del tejido producido. En contraste, el clon Emerald (conocido como difícil de endurecer), tuvo una menor tasa de transpiración, aunque mostró contenidos mayores de clorofila *a* y de ceras epicuticulares. No se observaron diferencias en el contenido relativo de agua entre los clones y las plántulas originadas de semilla sexual. El número de estomas en ambos lados de la hoja, fue mayor en la variedad de semilla y en Tornado. La tasa fotosintética fue mayor en la variedad de semilla (hoja más joven: $7.99 \mu \text{ moles CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y similar en los dos clones. En la segunda hoja formada ex vitro, ya no se detectaron diferencias en la tasa fotosintética entre clones y la variedad de semilla.

En promedio, los valores más altos de radiación fotosintéticamente activa observada en los cuartos donde crecían los ramets en el laboratorio fue de $80 \mu \text{ moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Una vez transferidos a las cámaras de aclimatización, los *ramets* recibieron $198.86 \mu \text{ moles m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Palabras clave: palma aceitera, *ramet*, clones, aclimatización, aclimatación, endurecimiento

¹ Estudiante del programa de maestría de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias de la Universidad de Costa Rica.

² Consultor para ASD de Costa Rica, cmlchinchilla@gmail.com.

³ Profesor Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica.

Introducción

Las vitro plantas (denominadas *ramets* en el caso de la palma aceitera) son desarrolladas en condiciones controladas de laboratorio y deben pasar por un periodo de aclimatación (endurecimiento) para adaptarse al ambiente externo (*ex vitro*).

Tambusi 2004) define el endurecimiento como un proceso guiado por el hombre, el cual es muy delicado pues las vitro plantas pueden desecarse al perder agua en forma rápida durante el mismo. Además de esto, la nutrición, la disponibilidad de agua, la luz y la humedad relativa cambian drásticamente al transferir los *ramets* del laboratorio a las estructuras de aclimatación. Finalmente, las plantas dejan el ambiente aséptico del laboratorio, a uno cargado de patógenos potenciales (Salas 2002). Todos estos cambios causan un estrés severo sobre las vitro plantas, las cuales tienen que realizar cambios en su fisiología y anatomía para pasar de una condición heterotrófica a una autotrófica (Pospíšilová et al 1999, Serret y Trillas 2000).

Durante el proceso de aclimatación, los *ramets* se colocan normalmente dentro de cámaras húmedas de plástico (para mantener una alta humedad relativa), las cuales son colocadas bajo sombra de sarán (para reducir el cambio brusco en la intensidad lumínica).

La sombra y la cámara húmeda son removidas gradualmente durante el endurecimiento. Durante este periodo, la luz, temperatura, la nutrición y la aeración del sustrato son monitoreadas de cerca para mantenerlas dentro de parámetros establecidos.

El déficit hídrico que se causa al pasar los *ramets* a condiciones *ex vitro* causa importantes cambios anatómicos como mecanismos de defensa para reducir la pérdida de agua. Algunos de estos cambios son el incremento en la actividad, el número y la estructura de los estomas y el aumento en la deposición de ceras epicuticulares. Otros cambios afectan el mesófilo, el esclerénquima y el colénquima, así como la cantidad de cloroplastos (Preece y Sutter 1990).

Una mejor comprensión de estos cambios en los *ramets* de palma aceitera durante su endurecimiento puede ayudar a reducir las pérdidas durante este proceso y aumentar la cantidad de plántulas de calidad aceptable para llevar al vivero principal y luego al campo. En este trabajo se compararon dos clones que diferían en su habilidad de superar la etapa de endurecimiento y los datos se compararon con los obtenidos de plántulas de previvero de una variedad de semilla comercial.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en la localidad de Coto, en la provincia de Puntarenas, Costa Rica, durante el primer semestre del año 2007. Se utilizaron dos clones compactos desarrollados por ASD Costa Rica (Alvarado et al 2006) reconocidos por las diferencias en su habilidad de superar la etapa de endurecimiento. Como comparador se utilizaron plántulas de previvero de una variedad de semilla comercial (Deli x Nigeria).

Los *ramets*, provenientes del laboratorio de tejidos, fueron plantados en un sustrato de suelo franco arenoso en bolsas plásticas de polietileno negro. Las vitro plantas fueron mantenidas inicialmente en cámaras húmedas hechas con plástico transparente, sobre las cuales se mantuvo una capa de sarán (70% de sombra). La sombra y el plástico de la cámara húmeda fueron removidos paulatinamente para exponer los clones a las condiciones externas.

Las últimas dos mediciones (45 y 60 días después de la siembra) fueron realizadas en condiciones similares a las de un previvero para semilla, en donde la sombra ya había sido removida por completo.

Las mediciones morfológicas (área foliar, peso fresco, ceras epicuticulares y número de estomas) y fisiológicas (contenido relativo de agua, clorofila *a*, fotosíntesis y transpiración) fueron hechas al salir los ramets del laboratorio y durante el periodo de aclimatación. Las hojas fueron fotografiadas y su área determinada con el programa CID Inc. versión 2.0 (Copyright© 1987-1995 Jandel Scientific). El peso fresco se determinó hasta el tercer decimal. El contenido relativo de agua (CRA) se determinó según Taiz y Zeiger (2002), comparando el contenido de agua en la muestra fresca (50 discos de 0.5 cm de diámetro) con el de la muestra después de hidratarse y dejarse desecar.

$$\text{CRA} = (\text{PT} - \text{PF}) / (\text{PT} - \text{PS}) \times 100$$

Donde, PT = peso túrgido; PF = peso fresco; PS = peso seco

Para determinar el peso de las ceras epicuticulares, se tomaron secciones de hoja (100-250 mg de tejido fresco), se lavaron con agua destilada, y luego se pusieron en platos Petri, en donde se sumergieron en cloroformo durante 60 segundos. Luego que el cloroformo se había evaporado se pesó el residuo de ceras (Jetters et al 2000). El contenido de clorofila *a* se midió mediante espectrofotometría a dos longitudes de onda (645 y 663 nm). La extracción del pigmento se hizo usando al menos un gramo de tejido macerado en acetona utilizando filtración al vacío (Fernández y Johnston (1986).

$$\text{Clorofila } a = 12.7 (D_{663}) - 2.69 (D_{645}) \times \frac{V}{1000 \times \text{PF}}$$

D= densidad óptica del extracto; V = volumen final del extracto, acetona 80%; PF = peso fresco del tejido (g).

El número de estomas se determinó poniendo esmalte de uñas sobre ambas superficies de la hoja (100-250 mg de tejido) y posteriormente retirando la película para observarla a 40X en un microscopio (Fernández y Johnston 1986).

La tasa fotosintética ($\mu\text{mols de CO}_2$ fijados $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y la transpiración ($\mu\text{mols de agua m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se determinaron utilizando el "Leaf Chamber Analyzer" (Modelo LCA4, Advanced Development Company, Inglaterra). En cada caso, la cubeta (6,25 cm) se colocó sobre la parte media de la hoja y se hicieron las correcciones necesarias cuando las hojas no encajaban por su área en la cubeta. Cada medida fue tomada dos veces, luego de una espera de un minuto para obtener la estabilización del aparato. En el caso de los clones, las medidas fueron tomadas dentro de las cámaras de endurecimiento.

Los muestreos destructivos se hicieron a los 0, 22, 30, 45 y 60 días después de la siembra y los no destructivos a 0, 45 y 60 días. Las evaluaciones a los 0, 22 y 30 días se hicieron en la hoja más joven formada en condiciones de laboratorio, y a los 45 y 60 días se hicieron en las primeras dos hojas formadas en las cámaras de aclimatación (clones), o bien en el previvero (variedad de semilla). Cada hoja fue primero dividida en cuatro porciones que fueron mezcladas para tomar una submuestra.

Diseño experimental y análisis estadístico

Cada planta se consideró como una unidad experimental dentro de un diseño completamente al azar con cinco repeticiones para el muestreo destructivo

y diez para las mediciones de fotosíntesis y transpiración. Los datos tomados a los 45 y 60 días fueron tratados como variables dependientes, puesto que se tomaron sobre la misma planta.

Resultados

Cambios en la luz incidente durante la aclimatación

El valor máximo de radiación fotosintéticamente activa (RFA) medido en las bandejas con *ramets* dentro del laboratorio de tejidos fue $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, lo cual cambió a un promedio de $199 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ dentro de las cámaras de aclimatación. Luego de remover la sombra de sarán parcialmente, la luz incidente aumentó a $208 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, y al final del periodo de aclimatación se registraron $659 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Finalmente, cuando toda la sombra fue removida, el promedio aumentó a $1583 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, lo que claramente ilustra uno de los cambios más dramáticos (otro es la transpiración) a que son sometidos los *ramets* cuando abandonan el ambiente controlado del laboratorio.

Variables anatómicas

Los cambios en peso fresco del tejido y demás variables determinadas aparecen en el Cuadro 1. El clon Tornado (de fácil aclimatación) creció en forma más rápida que Emerald (de difícil aclimatación), a pesar de que las hojas de este último tenían más ceras sobre su cutícula que las del primero, y más que la variedad de semilla. No obstante, la cantidad de ceras se incrementó en cada nueva hoja formada, particularmente en las plántulas de semilla.

La diferencia entre la primera y segunda hoja formadas ex vitro fue de 1.42, 2.36 y 2.9 mg g^{-1} de tejido fresco en Tornado, Emerald y las plantas de la variedad Deli x Nigeria respectivamente. Una tendencia similar fue observada por Sandoval et al (n.d) in vitro plantas de banano.

Se observó una tendencia en el clon Emerald a acumular más ceras sobre la cutícula (incluso más que la variedad de semilla); lo cual indica que este factor no es el que limita la habilidad de este clon para aclimatarse en forma eficiente, como tampoco lo son una rápida desecación (el CRA fue similar en los tres materiales), ni la densidad estomática (similar en los tres materiales, e incluso mayor en Emerald). No obstante, según Tambussi 2004, el CRA solamente es un indicador confiable del estatus hídrico en condiciones de déficit hídrico extremo, y los clones se aclimataron dentro de una cámara húmeda.

La palma aceitera tiene estomas en ambos lados de la hoja (Zobel y Valiant 1980). El número de estomas en la superficie adaxial fue mayor en las plántulas de semilla (hasta 99 estomas mm^{-2}), que en los clones (16-54 mm^{-2}) (Cuadro 1). En general, la densidad estomática determinada a los 22 y 45 días después de la siembra fue mayor en la superficie abaxial del clon Tornado, y las diferencias con respecto a Emerald fueron estadísticamente significativas.

En resumen, los *ramets* del clon Tornado y las plántulas de semilla tenían más estomas en ambas superficies de la hoja; lo cual se asoció con mayores tasas de transpiración que las medidas en el clon Emerald (que presentó más ceras sobre la cutícula tanto in vitro como ex vitro).

Las similitud de los valores de transpiración de Tornado y la variedad de semilla se puede tomar

como indicación de la habilidad del clon de adaptarse en forma rápida a las condiciones ex vitro, lo cual es probablemente el resultado de la formación de una conexión vascular eficiente entre el sistema radical y la parte aérea. La falta de una conexión eficiente del sistema vascular podría ser la razón para que muchos de los *ramets* del clon Emerald no puedan adaptarse bien a las condiciones ex vitro.

Cuadro 1. Valores promedio de algunas variables anatómicas en dos clones (Tornado y Emerald) y plántulas originadas de semilla sexual de una variedad comercial (Deli x Nigeria)

Variable	dds	Tornado	Emerald	Deli x Nigeria
Área foliar (cm ²)	0	10,93 ± 0,63 a	7,82 ± 0,63 b	
	22	19,18 ± 1,76	15,95 ± 1,76	
	30	25,31 ± 1,62	24,92 ± 1,62	
	45	41,69 ± 2,57	41,11 ± 2,57	37,41 ± 2,87
	60	71,45 ± 4,21	63,16 ± 4,21	58,67 ± 4,21
Peso fresco (g)	0	0,52 ± 0,07 a	0,28 ± 0,07 b	
	22	0,35 ± 0,03	0,32 ± 0,03	
	30	0,41 ± 0,02	0,36 ± 0,02	
	45	0,78 ± 0,05	0,75 ± 0,05	0,83 ± 0,05
	60	1,71 ± 0,07 a	1,23 ± 0,07 b	1,63 ± 0,07 a
Ceras (mg de cera g ⁻¹ tejido fresco)	0*	7,68 ± 1,03	8,32 ± 1,03	
	22	3,96 ± 1,09 b	8,07 ± 1,09 a	
	30*	8,86 ± 1,93	7,59 ± 1,93	
	45	1,09 ± 0,28 ab	1,78 ± 0,28 a	0,64 ± 0,28 b
	60*	2,51 ± 0,53	4,14 ± 0,53	3,54 ± 0,53
Contenido relativo de agua (%)	0*	8,03 ± 1,40	11,87 ± 1,40	
	22*	10,80 ± 1,92	12,70 ± 1,92	
	30*	19,39 ± 3,65	16,19 ± 4,07	
	45*	12,89 ± 2,08	12,41 ± 2,08	14,83 ± 2,08
	60*	12,22 ± 1,40	9,23 ± 1,40	9,58 ± 1,40
Estomas: adaxial por mm ²	0*	33,32 ± 7,24	25,40 ± 5,61	
	22*	22,79 ± 4,06	20,12 ± 3,63	
	30*	16,10 ± 2,82	16,60 ± 2,82	
	45	54,45 ± 16,67 ab	26,28 ± 16,67 b	99,85 ± 16,67 a
	60*	19,91 ± 5,58	28,92 ± 4,84	27,82 ± 4,84
Estomas: abaxial por mm ²	0*	81,39 ± 11,25	99,34 ± 9,74	
	22	127,64 ± 7,34 a	84,76 ± 7,34 b	
	30*	107,36 ± 14,02	94,44 ± 12,55	
	45	309,77 ± 47,04 a	102,80 ± 52,58 b	271,78 ± 52,58 a
	60*	106,26 ± 9,40	95,26 ± 8,14	96,08 ± 7,28
Clorofila a (mg m ⁻³)	0*	177,52 ± 52,13	248,52 ± 52,13	
	22	88,66 ± 11,40 b	145,40 ± 11,40 a	
	30	100,25 ± 34,90 b	317,86 ± 39,02 a	
	45	24,76 ± 13,65 b	192,94 ± 15,76 a	42,72 ± 12,21 b
	60	22,33 ± 18,00 b	165,65 ± 18,00 a	47,18 ± 18,00 b

Los clones (*ramets*) fueron sembrados dentro de cámaras húmedas bajo sombra para su aclimatación. Las plántulas de semilla fueron sembradas en un previvero estándar con sombra dds = días después de la siembra: 0 dds (hoja 1 producida en el laboratorio de tejidos); 45 y 60 dds: primera y segunda hoja producidas luego de la siembra.

En la figura uno se muestra información sobre las variaciones en las variables morfológicas (comparadas con el valor máximo observado) durante la aclimatación (Fig. 1a) y después de este periodo en condiciones de previvero (Fig. 1b). Las diferencias no son muy grandes, pero el peso de las ceras, el contenido relativo de agua y el número de estomas sobre la cara abaxial en la primera hoja formada fueron inicialmente mayores en el clon Emerald, pero luego la situación cambió a favor del clon Tornado; en el cual se obtuvo un número significativamente mayor de plantas que se adaptaron a las condiciones ex vitro.

Fotosíntesis y respiración

La tasa fotosintética fue similar en los dos clones en las condiciones de laboratorio, pero la transpiración fue mayor en Tornado, lo que indica diferencias entre estos dos clones desde esta etapa temprana (Fig. 2). La primera hoja completamente formada en las plántulas de la variedad Deli x Nigeria tuvo una tasa de asimilación neta de CO_2 mayor que cualquiera de los dos clones. No obstante, en esta etapa (hoja desarrollada en el laboratorio) los clones estaban aún dentro de las cámaras de aclimatación y las plántulas de semilla estaban creciendo en un previvero estándar bajo sombra (donde la radiación solar era mayor).

En general, el contenido de clorofila decreció luego del trasplante a las condiciones ex vitro como consecuencia de mayores temperaturas y radiación (Havaux y Tardy 1999). No obstante, luego que el periodo de endurecimiento fue superado, la tasa fotosintética (segunda hoja producida luego del trasplante) fue similar en los tres materiales, pero la transpiración fue consistentemente menor en

Emerald; lo cual podría ser una de las razones principales que impide una fácil aclimatación de este clon.

El significado fisiológico de los bajos contenidos de clorofila *a* en Emerald no puede ser interpretado con los datos de estos experimentos, de manera que no se podría asociar con el problema para el endurecimiento, particularmente cuando según Wilson et al. 2006, un alto contenido de clorofila debería asociarse con mayores tasas fotosintéticas; lo cual no fue el caso en Emerald. En el caso del clon Tornado, que tenía un menor contenido de clorofila *a* en la segunda hoja formada ex vitro, mostró una tasa fotosintética similar a Emerald y las plántulas de semilla.



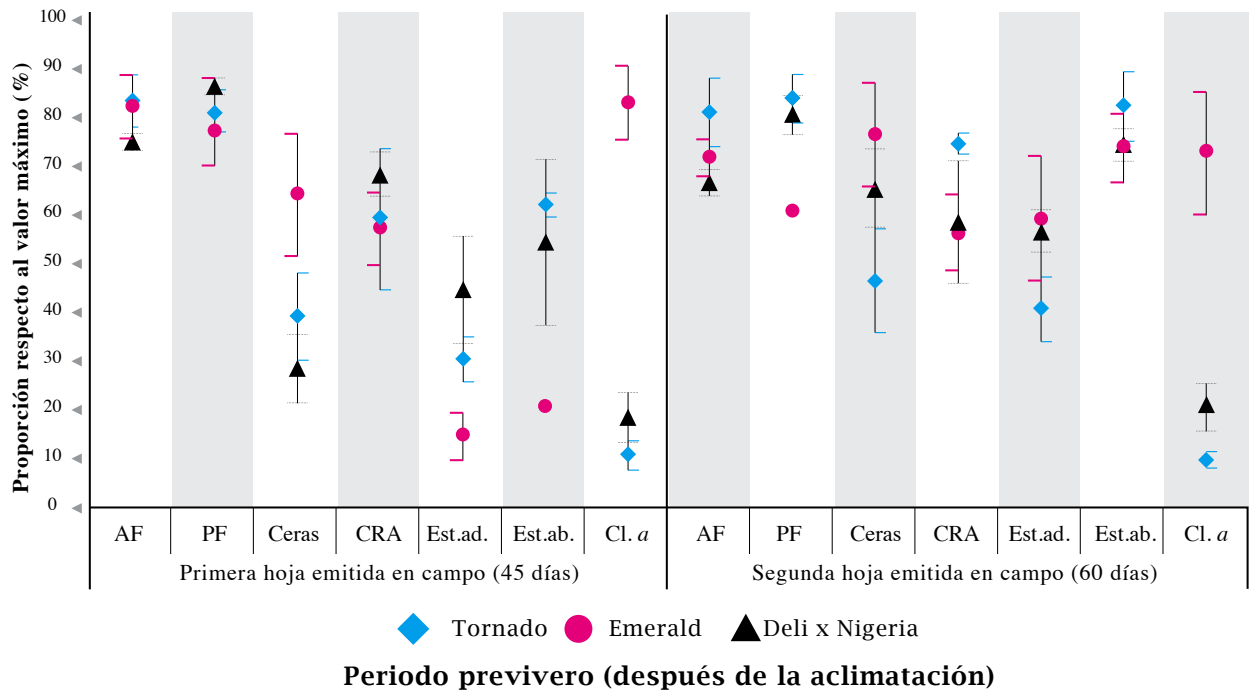
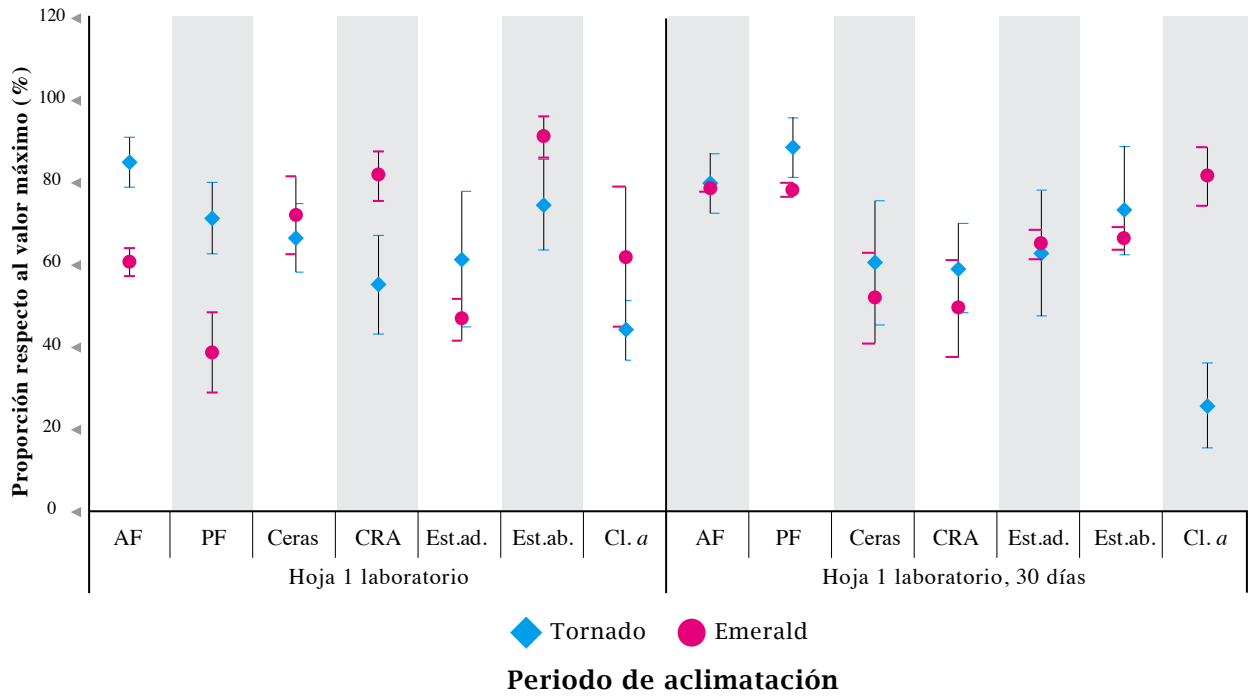


Fig. 1. Área foliar (AF), peso fresco de la hoja (PF), peso de las ceras (Ceras), contenido relativo de agua (CRA), número de estomas, adaxial (Est.ad.), abaxial (Est.ab.) y contenido de clorofila *a* (Cl. *a*). Todos los valores están referidos al máximo observado en dos clones (Tornado y Emerald) y las plántulas de una variedad de semilla (Deli x Nigeria)

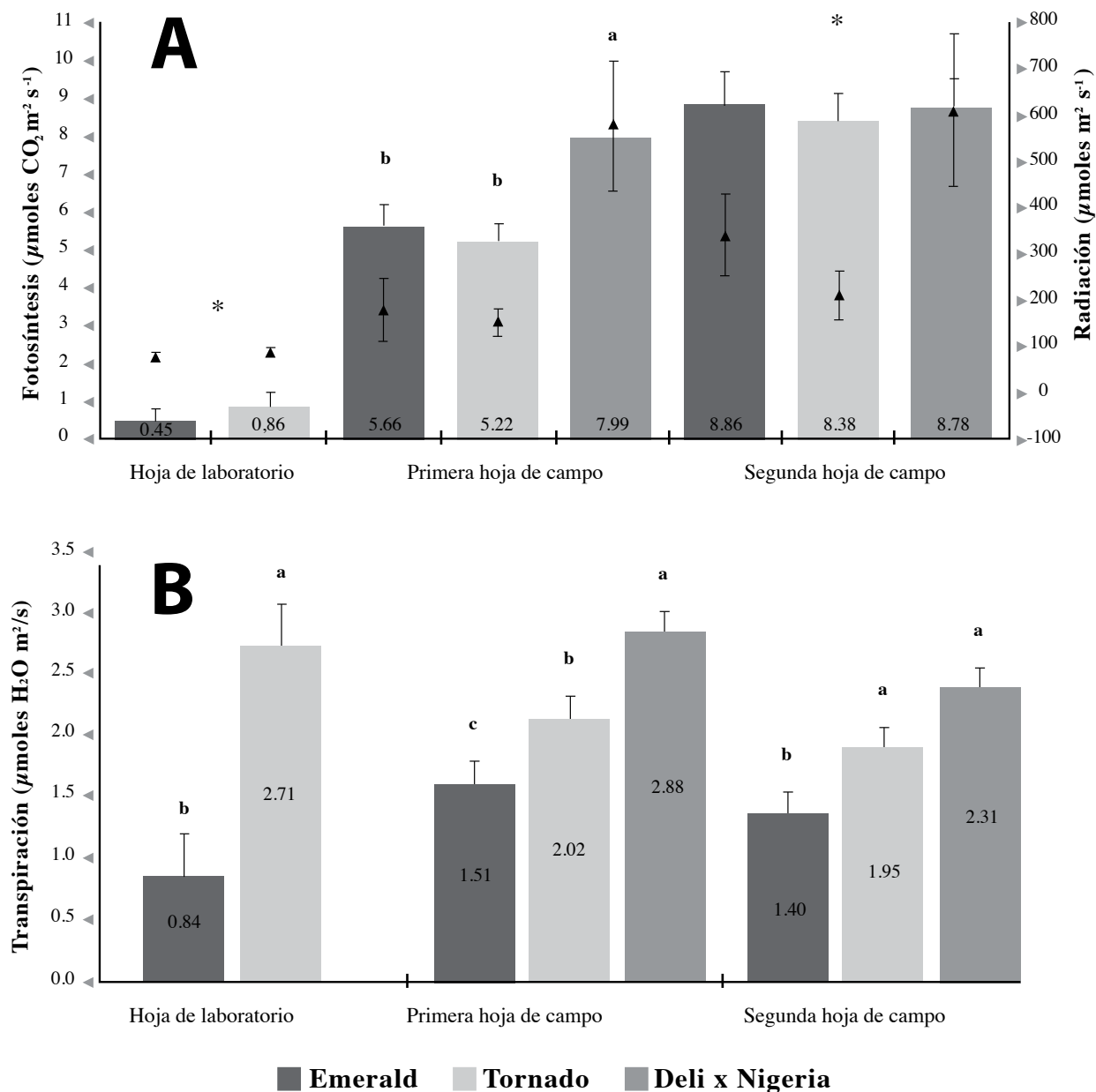


Fig.2 Tasa fotosintética (■) y radiación fotosintéticamente activa (▲) (A) y tasa de transpiración (B) en la última hoja formada en las condiciones del laboratorio de tejidos, y en la primera y segunda hojas formadas después de la siembra de dos clones (Tornado y Emerald) y en plántulas de semilla de la variedad Deli x Nigeria. Letras diferentes indican diferencias estadísticas, $P \leq 0,05$. Las barras verticales indican el error estándar.

Conclusiones

Se identificaron algunas características morfológicas y fisiológicas que diferencian a los clones Tornado (de fácil aclimatación) y Emerald (de difícil endurecimiento). Luego de la siembra de los *ramets* provenientes del laboratorio de tejidos en las cámaras de aclimatación, el clon Tornado incrementó rápidamente el área foliar y el peso fresco, y en algunos momentos superó incluso a las plántulas de la variedad de semilla sexual Deli x Nigeria.

Los cambios positivos en la tasa de transpiración y en la eficiencia fotosintética del clon Tornado, indican que se había establecido una conexión eficiente del sistema vascular entre la raíz y la parte aérea, lo cual no siempre fue evidente en los *ramets* de Emerald.

Estudios anatómicos de ambos clones durante la etapa de aclimatación podrían arrojar luz adicional para entender las razones por las cuales las tasas de sobrevivencia en algunos clones son bajas, y eventualmente hacer las correcciones necesarias en el protocolo de clonación para garantizar conexiones vasculares más eficientes durante el proceso de enraizamiento de los *ramets*.

Otras diferencias observadas entre los dos clones estudiados, tales como la deposición de ceras en la cutícula de las hojas y la densidad estomática no parecen ser tan importantes en determinar la facilidad de aclimatación de los *ramets*.

Literatura

- Alvarado A., Escobar R., Peralta F., Chinchilla C. 2006. Compact seeds and clones and their potential for high density planning. In. International seminar on yield potential in the oil palm. ISOPB, Thailand, November 2006.
- Havaux M., Tardy F. 1999. Loss of chlorophyll with limited reduction of photosynthesis as an adaptive response of Syrian barley landraces to high-light and heat stress. *Aust. J. Plant Physiol.* 26: 569- 578
- Jettens R., Shaffe R., Riederer M. 2000. Leaf cuticular waxes are arranged in chemically and mechanically distinct layers: evidence from *Prunus laurocerasus* L. *Plant Cell. Environ.* 23: 619-628
- Fernández G., Johnston M. 1986. Fisiología vegetal experimental. San José, CR. IICA.
- Pospíšilová J., Tichá I., Kadleček P., Haisel D., Plzáková Š. 1999. Acclimatization of micropropagated plants to ex vitro conditions. *Biologia Plantarum* 42 (4): 481-497
- Preece J., Sutter E. 1990. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse. In: *Micropropagation technology and application*. Ed. By P. Debergh and R. Zimmerman. Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands, p.71-93
- Salas E. 2002. Potencial de las micorrizas arbusculares en la micropropagación de plantas agrícolas y forestales. In *Taller-Seminario: Especies forestales nativas* (Instituto de Investigación y Servicios Forestales). Eds. INISEFOR. Heredia, CR, Universidad Nacional. p. 54-57
- Sandoval J., Müller L., Weberling F. s.f. Foliar morphology and anatomy of *Musa* cv. Grande Naine (AAA) plants grown in vitro and during hardening as compared to field-grown plants. *Fruits* 49(1): 37-46
- Serret M., Trillas M. 2000. Effect of light and sucrose levels on the anatomy, ultrastructure, and photosynthesis of *Gardenia jasminoides* Ellis leaflets cultured in vitro. *Int. J. Plant. Sci.* 161 (2): 281-289.
- Tambussi E. 2004. Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Tesis Ph.D. Facultad de Biología, Universidad de Barcelona. España.
http://www.tesisexarxa.net/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0620106111859//01.EAT_Part_1_2_Introducción_Objetivos.pdf
- Taiz L., Zeiger E. 2002. *Plant Physiology*. 3ed. Ed. Sunderland. USA. 690 pp.
- Wilson K., Ivanov A., Öquist G., Grodzinski B., Sarhan F. Huner N. 2006. Energy balance, organellar redox status, and acclimation to environmental stress. *Can. J. Bot.* 84:1355-1370
- Zobel D., Liu V. 1980. Leaf-conductance patterns of seven palms in a common environment. *Bot. Gaz.* 141 (3): 283- 289

Germination of oil palm (*Elaeis guineensis*) seeds: varietal effect, bunch load of the mother palm and conditions (temperature and oxygen availability) during dormancy breaking

Jorge Herrera Q¹ and Amancio Alvarado²

Abstract

Open pollinated seeds from two populations (Bamenda and Tanzania) obtained from palms with high or low bunch load were exposed to heat treatment (37 and 45 days) with or without an external source of oxygen to determine the response in germination and plantlet vigor. There were no differences in the response of the two populations but bunch load of the mother palm and the external supply of oxygen affected germination and plant vigor. In both origins, it was observed a significant interaction between bunch load and the heat treatment and between bunch load and external supply of oxygen.

Introduction

Germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seeds has been considered intermediate between recalcitrant and orthodox (Ellis et al. 1990), since, when properly stored (moisture: 19 - 21%, temperature: 15°C) viability can be conserved for one year or more. However, viability can be lost rapidly outside these ranges.

Seed dormancy is a mechanism that prevents germination of all seeds at once (Rees 1963), and can be due to several factors depending on plant species: immature embryos, gas or water impermeability or the presence of inhibitory substances (Bewley and Black, 1994; Beugré et al. 2009). Herrera et al. (1998) found that hydrogenated cyanamid and ethephon significantly increased germination in oil palm seeds of the Deli x AVROS variety. Jiménez et al. (2008) determined that abscisic acid concentration decreased toward the end of the dry-heat treatment given to the seeds to break dormancy. Gibberellins and cytokinins did not show any detectable changes in the embryo or the endosperm.

Seed dormancy represents a practical problem for breeding programs and the production of germinated commercial seeds (Murugesan et al. 2005), and several methods have been developed to reduce this period. Among these, the most common is the dry-heat method, where dormant seeds are heated up to 40 °C for a period that varies between 40 and 50 days (Hussey 1959, Rees 1963). After this heat treatment, the seeds are soaked in water to start germination (Addae-Kagyah et al. 1988, Mok and Hor 1977).

Fewerda (1956) and Hussey (1959) found that a higher oxygen concentration during the heat treatment favored germination. The effect was probably due to a higher diffusion of this element stimulating the embryo to develop (Hussey 1958). However, an opposite response was found by Takahashi (1985) in rice.

Heat treatment periods longer than 40 days to break oil-palm seed dormancy were studied by

¹ Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2060 San Pedro, Costa Rica, jorge.herrera@ucr.ac.cr

² ASD Costa Rica. Apdo.30-1000 San José, Costa Rica, a.alvarado@asd-cr.com

Addae-Kagyah et al. (1988), and Meugré Manéhonon et al. (2009). However, shorter periods could be equally effective in some varieties (Herrera et al. 2010).

We did not find literature references on the possible effect of palm bunch load or its historical productivity on seed germination. Nevertheless, ASD's field personnel had made the observation that such relationship did exist, and the highest yielding palms in terms of production of fresh fruit bunches

produced seeds with had a lower germination.

We conducted a series of experiments to test the effect of external supply of oxygen during the heat treatment to break dormancy, two periods of heat treatment and to compare germination rate of seeds obtained from palms with contrasting bunch load at the moment of harvesting. All experiments were done in two promising oil palm populations used as parents in ASD's breeding program.

Materials and Methods

Open pollinated seeds from two *dura* populations (Bamenda and Tanzania) were used in all experiments. These palms were originated from seeds brought from Camerum and Tanzania high lands (800-1200 mosl) and planted in 1970 in ASD's seed garden located in the region of Coto on the South Pacific coast of Costa Rica.

Seed moisture was set to 18% dry base and then they were placed into polyethylene plastic bags (0,17 mm thick) to preserve moisture content while transporting them to the "Centro para Investigaciones en Granos y Semillas de la Universidad de Costa Rica" (University of Costa Rica Seed and Grains Research Center: CIGRAS), where all experiments were done.

The experimental units (50 seeds in polyethylene bags, 35x 55 cm) were assigned to one of the following treatments: 1) two palm populations (Bamenda and Tanzania), 2) seeds from palms contrasting in bunch load (high and low), 3) use or not of an external supply of oxygen during the heat treatment to break dormancy, and 4) two heating periods: 37 and 45 days. Oxygen (from a

tank meant for medical purposes) was applied to bags containing the seeds on Monday and Thursday during the heat treatment period.

After the dry-heat treatment, the seeds were put within a metal tank with a continuous water flow to raise its moisture content to 22% dry base. From here, they were put again in plastic bags that were placed in a chamber (Incucell 404) set at 30°C. The anterior corresponds to the routinely used procedure to stimulate seed germination in oil palm.

Germination (%) was documented weekly. During the last measurement (fourth week), the plantlet's length and its dry weight (Imperial IV oven, Lab Line Instruments Inc.; 72 horas at 60°C) were determined.

Experimental units were arranged in a random design using a factorial arrangement: plant productivity (high and low), external (or not) oxygen supply during the heat treatment, two heating periods (37 and 40 days) and two *dura* populations (Bamenda and Tanzania). Four replications were used per treatment and means were separated using the Tukey test.

Results

Seeds obtained from palms with a higher bunch load had a significantly lower germination ($p < 0.01$) than those coming from bunches collected from palms with lower productivity (Fig. 1).

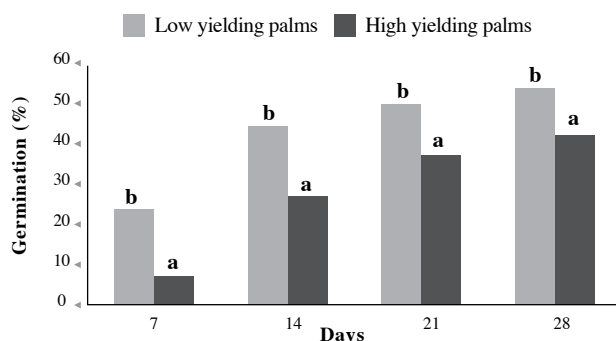


Fig. 1 Oil palm (*Elaeis guineensis*) seed germination as affected by the bunch load of the mother palm

There was no effect on germination with the external supply of oxygen during the first evaluation (seven days after the treatment), but later, germination was significantly increased ($p < 0.01$), (Fig. 2).

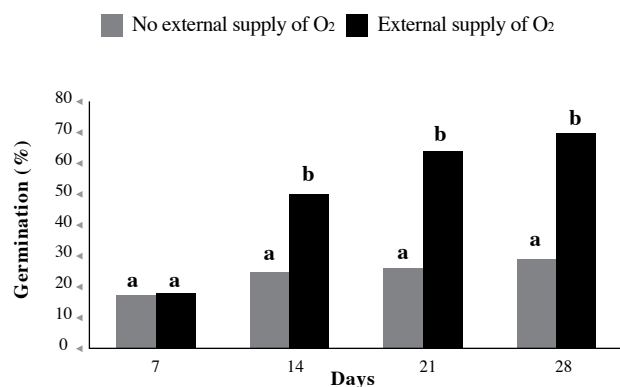


Fig. 2 Germination of oil palm (*Elaeis guineensis*) seeds as a response to the external supply of oxygen during the heating treatment to break dormancy

The percentage of seed germination and plantlet dry weight were similar in both palm population studied (Bamenda and Tanzania), and this happened independently of the duration of the heat treatment (37 or 45 days), but plantlet length was different.

A significant interaction ($p < 0.05$) was found between the two palm populations and plant productivity (Fig. 3). Seeds originated from bunches in the Tanzania

palms had a higher germination if coming from palms with a low bunch load. For the Bamenda palms, such inverse relationship was not observed.

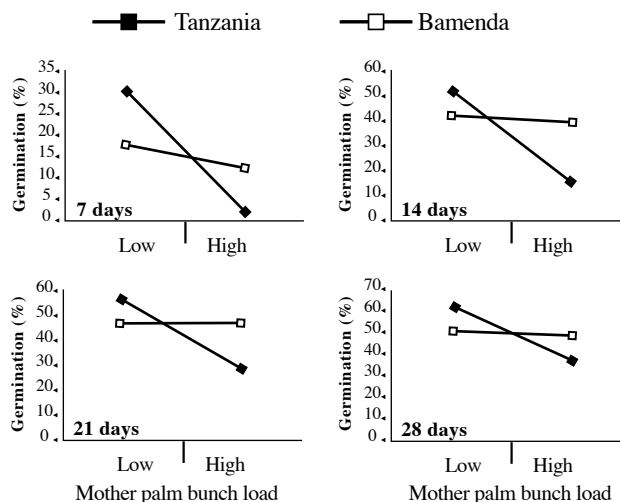


Fig. 3 Oil palm (*Elaeis guineensis*) seed germination according to to productivity of the mother palms in two populations (Bamenda and Tanzania)

The interaction between palm population and the length of the heating treatment to break dormancy was also significant ($p < 0.05$) (Fig. 4). The percentage of seed germination decreased in Bamenda when the heating treatment was increased from 37 to 45 days, but increased in Tanzania.

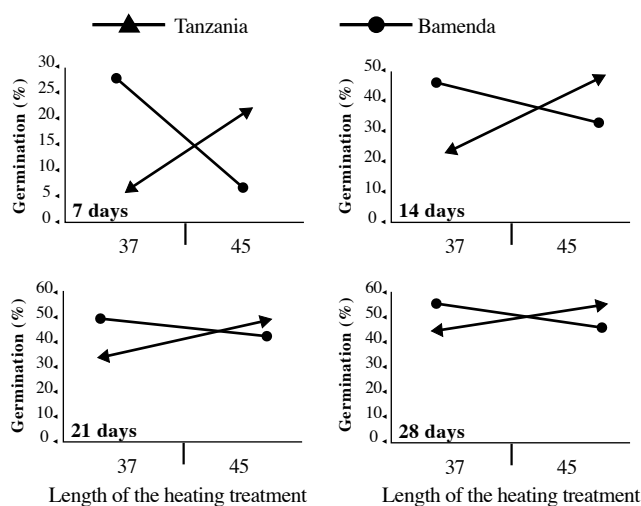


Fig. 4 Seed germination of oil palm (*Elaeis guineensis*) in two palm populations (Bamenda and Tanzania) according to the heat treatment length to break dormancy

The interaction between palm productivity and the application of oxygen to the seeds during the heating treatment was also significant (Fig. 5). During the first evaluation of germination done one week after water soaking (after the heat treatment to break dormancy), germination was higher in seeds coming from plants with a lower bunch load, and this response was independent of the external application of oxygen during the heat treatment. Later, the application of external oxygen was associated with a higher germination in both groups of plant productivity.

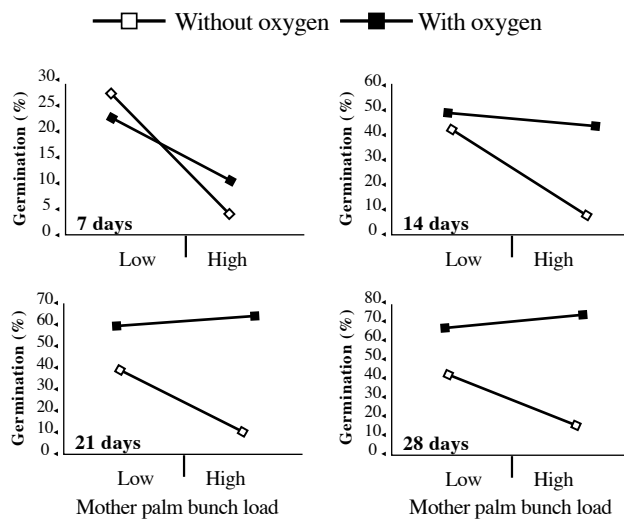


Fig. 5 Oil palm seed germination according to the productivity of the mother palm and the application of external oxygen during the heat treatment to break seed dormancy

Plantlet length was larger when seeds came from palms with a higher bunch load, received oxygen during the heat treatment and were exposed to 45 days during such treatment to break dormancy.

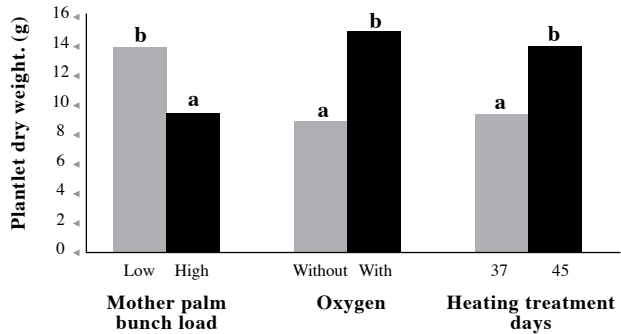


Fig. 6 Plantlet length of germinated oil palm seeds coming from palms with contrasting bunch load and that received (or not) external oxygen or were exposed to different periods (37 or 45 days) during the heating treatment to break seed dormancy

Those plantlets coming from seeds obtained from palms with a low bunch load or that received oxygen during the heat treatment had a significantly higher dry weight ($p < 0,01$) than those coming from seeds obtained from high yielding palms or from seeds that did not received external oxygen during the heating treatment to break dormancy (Fig. 7). There were no differences in dry weight of the plantlets according to the length of the heating period (37 and 45 days).

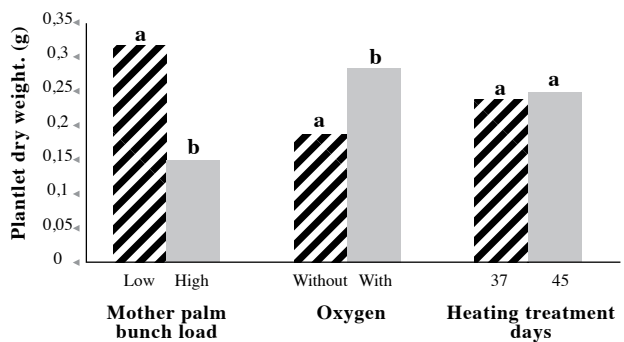


Fig. 7 Plantlet dry weight of germinated oil palm seeds coming from palms with contrasting yield productivity, that received (or not) external oxygen during the heat treatment, and that were exposed to two periods of heat treatment to break seed dormancy

Discussion

Seed germination (%), and plantlet length and dry weight in both oil palm *dura* populations studied (Bamenda and Tanzania) were similar in all treatments applied. However, this response could change under the influence of other treatments such as changing the storage period (Ellis et al. 1991, Ellis, 2004, Addae-Kagyah et al. 1988, Beugré Manéhonon et al. 2009).

The apparent relationship between bunch load of the mother palm and seed germination had not been documented before. However, it was already known that seed size was smaller in palms with a heavy load of bunches (Simmonds and Smart 1999), which is probably the result of a limited amount of available energy being distributed between a larger number of fruitlets. The fact that plantlet length and weight were reduced in seeds originated from bunches collected in palms with a high productivity seems to confirm this idea.

The previous behavior was observed despite the fact that on average, the Bamenda seeds were smaller than in Tanzania (ca. 20 % less), which may indicate that other factors, such as bunch load and interactions with conditions during the breaking of dormancy (external supply of oxygen and heating period) had a more important impact on the variables studied.

The relationships between seed size, germination potential and plantlet vigor seem to vary between plant species. Tekrony et al. (1987) found that seed size in soybean had no effect on viability or vigor,

but Lafond and Baker (1986) and Bretagnolle et al. (1995) found that in wheat and *Dactylis glomerata* that seed size had an effect on germination and that larger seeds generated more vigorous plants.

Seed germination in Tanzania was favored by longer heating periods, but the opposite was found for Bamenda. Allen and Meyer (2002) observed that dormancy intensity was related with the genotype and the origin of the plants.

It was apparent that the external supply of oxygen during the heating period somehow compensated the genotype effect, but when oxygen was not used, the germination of seeds from palms with a heavy load of bunches decreased, which could indicate that seed size had an effect on germination in some species (Winn 1985). Eventhough it was not documented, it was clearly apparent that seeds harvested from palms with a high load of bunches were smaller.

Bunch load of the mother palm and the external supply of oxygen during the heating treatment to break seed dormancy were clearly related with plantlet vigor measured in terms of size and dry weight. The heating period affected plantlet size, but not its dry weight. It is suggested that the next step for this research is to document the relationship between seed size (and bunch load of the mother palm at the moment of harvesting and its historical yield records) and germination and plantlet vigor, as seen in other species (Seshu et al, 1988).

Literature

- Addae-Kagyah K.A., Osafo D.M., Olympio N.S. and Atubra O.K. (1988). Effect of seed storage, heat pre-treatment and its duration on germination and growth of nursery stock of the idolatrica palm, *Elaeis guineensis* var idolatrica (Chevalier). *Tropical Agriculture (Trinidad)* 65, 77-83.
- Allen P.S., Meyer S.E. 2002. Ecology and ecological genetics of seed dormancy in downy brome. *Weed Science* 50:241-247.
- Beugré Manéhonon M., Kouakou Kouakou L., Bognonkpé J.P., Konan Kouakou E., Kouakou Tanoh H., Kouadio Yatty J. 2009. Effect of storage and heat treatment on the germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seed. *African Journal of Agricultural Research*. 4(10):931-937.
- Bewley J.D., Black M. 1994. Seeds, physiology of development and germination. 2 ed. Plenum Press, New York. 445 p.
- Bretagnolle J.J., Thompson J.D., Lumaret R. 1995. The Influence of Seed Size Variation on Seed Germination and Seedling Vigour in Diploid and Tetraploid *Dactylis glomerata* L. *Annals of Botany* 76:607-615.
- Ellis R. H. 2004. Seed and seedling vigour in relation to crop growth and yield. *Plant Growth Regulation* 11(3):249-255.
- Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H. 1990. An intermediate category of seed storage behaviour. *Annals of Botany* 41: 1167-1174.
- Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H., Soetisna U. 1991. Seed storage behaviour in *Elaeis guineensis*. *Seed Science Research* 1:33-104
- Ferwerda, J.D. 1956. Germination of Oil Palm Seeds. *Tropical Agriculture, Trinidad* 33(1):51-66.
- Herrera J., Alizaga R. Alvarado A. 2010. Effect of seed storage before and after two different heat treatments in two genotypes of oil palm (*Elaeis guineensis*). *Seed Science and Technology*. Enviado para su publicación.
- Herrera J., Alizaga R., Guevara E. 1998. Use of Chemical Treatments to Induce Seed Germination in Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *ASD Oil Palm Papers* 18:1-16.
- Hussey G. (1959). The Germination of Oil Palm Seed: Experiments with Tenera Nuts and Kernels. *Journal of the West African Institute for Oil Palm Research*, 2, 331-354.
- Jiménez V.M., Guevara E., Herrera J., Alizaga R. and Bangerth F. (2008). Changes in Hormone Concentrations during Dormancy Release of Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Seeds. *Seed Science and Technology*, 36(3): 575-587.
- Lafond G.P., Baker R.J. 1986. Effects of Genotype and Seed Size on Speed of Emergence and Seedling Vigor in Nine Spring Wheat Cultivars. *Crop Science* 26:341-346.
- Mok C.K. and Hor Y.L. (1977). The Storage of Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Seed after High Temperature Treatment. *Seed Science and Technology* 5, 499-508.
- Murugesan P., Mathur R.K., Pillai R.S.N. and Babu M.K. (2005). Effect of Accelerated Aging on Seed Germination of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. *dura* Becc.). *Seed Technology*, 27(1): 108-112.
- Rees A.R. 1963. Some factors affecting the germination of oil palm seeds under natural conditions. *Journal of the West African Institute for Oil Palm Research*. 4(14):201-207.
- Simmonds N.W., Smart J. 1999. Principles of Crop Improvement. 2 ed. London, Blackwell Science Ltd.412 p.
- Seshu D.V., Krishnasamy V., Siddique S.B. 1988. Seed vigor in rice. In *Rice Seed Health. Proceedings of the International Workshop on Rice Health*. International Rice Research Institute. Manila, Filipinas. 362p.
- Takahashi N. 1985. Inhibitory effects of Oxygen on the Germination of *Oryza sativa* L. seeds. *Annals of Botany* 55:597-600
- Tekrony D.M., Bustmam T., Egli D.B., Pfeiffer W. 1987. Effects of Soybean Seed Size, Vigor, and Maturity on Crop Performance in Row and Hill Plots. *Crop Science* 27:1040-1045.
- Winn A.A. Effects of Size and Microsite on Seedling Emergence of *Prunella vulgaris* in four habitats. 1985. *Journal of Ecology* 73:831-840.

Germinación de semillas de palma aceitera: estudios del efecto de la carga de racimos de la palma madre, la variedad y las condiciones (temperatura y oxígeno) durante el proceso de ruptura del reposo

Jorge Herrera Q¹ and Amancio Alvarado²

Resumen

Semillas de polinización abierta de dos poblaciones (Bamenda y Tanzania) provenientes de palmas con diferente carga de racimos, fueron sometidas a tratamientos de calor durante 37 y 45 días, con o sin un suministro externo de oxígeno para evaluar la respuesta en la germinación y el vigor de las plántulas. No se encontraron diferencias entre las dos poblaciones pero, la carga de racimos de la palma madre y el suministro de oxígeno afectaron la germinación y se asociaron también con el vigor de las plántulas. Se encontró una interacción significativa en las dos poblaciones de palmas aceiteras entre la carga de racimos y el periodo de aplicación de calor; y también, entre la carga de racimos y el suministro o no de oxígeno externo.

Introducción

La germinación de las semillas de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) ha sido considerada intermedia entre recalcitrante y ortodoxa (Ellis et al. 1990), ya que no pierden su viabilidad en un año o más, cuando se almacenan con contenidos de humedad entre 19 y 21% y 15°C de temperatura. No obstante pueden perder rápidamente la viabilidad fuera de estos ámbitos.

El reposo de las semillas, que previene la germinación por un tiempo Rees (1963), tiene diversos orígenes según la especie: la inmadurez del embrión, la impermeabilidad a gases o al agua, o la presencia de inhibidores de la germinación (Bewley y Black, 1994; Beugré et al. 2009). Herrera et al. (1998) encontraron en palma aceitera que la cianamida hidrogenada y el ácido giberélico aumentaron significativamente la germinación en semillas de la variedad Deli x AVROS. Jiménez et al. (2008) encontraron que hacia el final del periodo de calentamiento en seco dado a las semillas para romper su reposo, se producía una disminución en la concentración de ácido absícico, pero las giberelinas y citoquininas no

mostraron cambios, ni en los embriones, ni en el endospermo.

El reposo de las semillas de la palma aceitera es desventajoso en los programas de mejoramiento y de procesamiento de semilla comercial (Murugesan et al. 2005), por lo cual se recurre a métodos para interrumpirlo (Hussey 1959, Rees 1963). Estos últimos investigadores desarrollaron el método de calor seco para romper el reposo, en donde las semillas se calientan a 40°C por periodos que varían entre 40 y 50 días. Posteriormente, las semillas pueden germinar si se les da la humedad y temperaturas adecuadas (Addae-Kagyah et al. 1988, Mok and Hor 1977).

Fewerda (1956) y Hussey (1959) encontraron evidencia que la concentración de oxígeno durante el periodo de calentamiento favorecía la germinación. Aparentemente, una alta concentración de este elemento provocaba un incremento en su difusión hacia la semilla, estimulando el desarrollo del embrión (Hussey 1958). Contrariamente a esto,

¹ Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 2060 San Pedro, Costa Rica, jorge.herrera@ucr.ac.cr

² ASD Costa Rica. Apdo.30-1000 San José, Costa Rica, a.alvarado@asd-cr.com

Takahashi (1985) había encontrado que la presencia de oxígeno era inhibitoria de la germinación en arroz.

El efecto sobre la germinación de periodos iguales o mayores a 40 días del calentamiento en seco para interrumpir el reposo de la semilla de la palma aceitera fue evaluada por Addae-Kagyah et al. (1988) y por Meugré Manéhonon et al. (2009). No obstante, Herrera et al. (2010) encontraron que aún períodos inferiores podían ser igualmente eficientes.

No se encontraron referencias bibliográficas sobre el efecto de la carga actual de racimos (o el historial de

producción de una palma particular) y la germinación de las semillas obtenidas de ella. Sin embargo, observaciones del personal de campo de ASD de Costa Rica (Amancio Alvarado, comunicación personal, 2010) indican que la germinación es mayor en racimos tomados de palmas con menor productividad.

En esta serie de experimentos, comparamos la germinación de semillas obtenidas de palmas con diferente carga de racimos, el efecto de la concentración de oxígeno durante el período de calentamiento, y del número de días de calentamiento en dos poblaciones de palma aceitera.

Materiales y Métodos

Se utilizaron dos poblaciones (Bamenda y Tanzania) de palmas del tipo dura y de polinización abierta pertenecientes a las colecciones de ASD Costa Rica. Estas plantas habían sido introducidas a Costa Rica en 1970 (Coto, Pacífico sur de Costa Rica) desde las tierras altas (800-1200 msnm) de Camerún y Tanzania. Las semillas fueron cosechadas y el mesocarpio removido para secarlas a un contenido de humedad de 18% base seca (bs). Posteriormente se colocaron en bolsas de polietileno de 0,17 mm de espesor, para conservar el contenido de humedad y se llevaron al Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica, donde se realizó el resto del trabajo.

Las unidades experimentales (50 semillas en bolsas de polietileno de 35x 55 cm) fueron asignada a uno de los siguientes tratamientos: 1) las dos poblaciones (Bamenda y Tanzania), 2) palmas con baja y alta carga de racimos, 3) aplicación o no de oxígeno durante el calentamiento y 4) dos períodos de calentamiento en seco (37 y 45 días). Para suministrar el oxígeno se utilizó un tanque de uso médico normal, con el cual se aplicó el elemento los lunes y jueves de cada semana, mientras duró el calentamiento.

Luego del periodo de calentamiento en seco, las semillas se sumergieron en mallas de plástico en un tanque de metal con suministro constante de agua para elevar su humedad a 22% base seca, y luego fueron nuevamente colocadas en bolsas de polietileno, para colocarlas en una incubadora (Incucell 404), graduada a 30°C. El procedimiento anterior es rutinariamente utilizado para la estimular la germinación en lotes comerciales de semilla.

El porcentaje de germinación se determinó semanalmente durante cuatro semanas. Al final del experimento se midió la longitud de las plántulas y luego se determinó el peso seco después del secado en un horno de convección mecánica de aire Imperial IV de Lab Line Instruments Inc. por 72 horas a 60°C.

Las unidades experimentales se ordenaron como un diseño irrestricto al azar, en un arreglo factorial: productividad de la planta (alta y baja), dos condiciones de oxigenación de las semillas durante el período de calentamiento en seco, dos tiempos de calentamiento (37 y 45 días) y dos poblaciones (Bamenda y Tanzania), con cuatro repeticiones. La separación de medias se realizó por medio de la prueba de Tukey.

Resultados

Las semillas provenientes de racimos cosechados de palmas con una alta carga de racimos presentaron un porcentaje de germinación significativamente ($p < 0,01$) menor que aquellas cosechadas de palmas con baja productividad (Fig. 1).

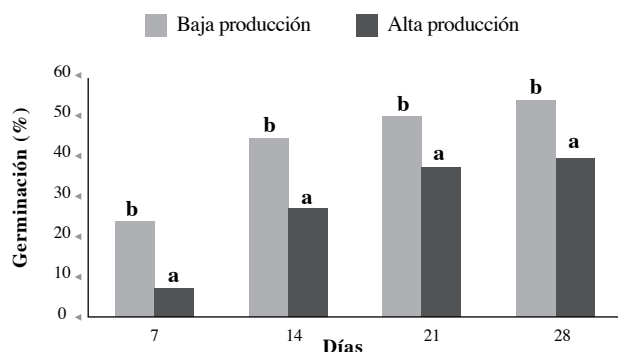


Fig. 1 Germinación de semillas de palma aceitera (*Elaeis guineensis*) según la carga de racimos de la madre

No se observó ningún efecto del suministro externo de oxígeno durante la primera evaluación del porcentaje de germinación realizado a los siete días de haberse puesto la semilla en remojo. No obstante, en las siguientes tres evaluaciones, el oxígeno aumentó significativamente ($p < 0,01$) el porcentaje de semilla germinadas (Fig. 2).

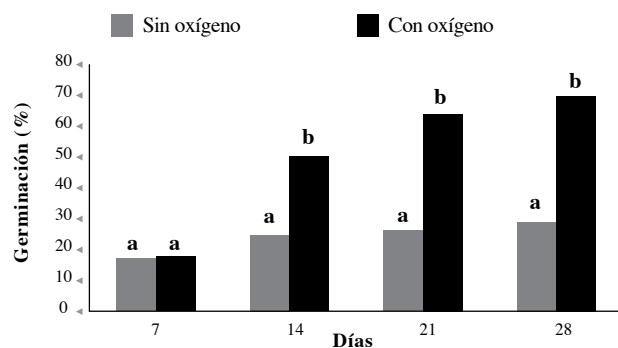


Fig. 2 Germinación de semillas de palma aceitera (*Elaeis guineensis*) en presencia de oxígeno suministrado externamente durante la fase de calentamiento

La germinación y el peso seco de las plántulas fueron similares en las dos poblaciones estudiadas (Bamenda y Tanzania) independientemente del periodo de calentamiento dado (37 y 45 días). No obstante, la longitud de las plántulas fue diferente.

Se encontró una interacción significativa ($P < 0.05$) entre poblaciones y productividad de la palma madre (Fig. 3). La germinación de los racimos de Bamenda se mantuvo

bastante uniforme en los dos grupos de productividad en las cuatro evaluaciones realizadas. En las palmas Tanzania, la germinación fue mayor en las semillas provenientes de palmas con menor carga de racimos.

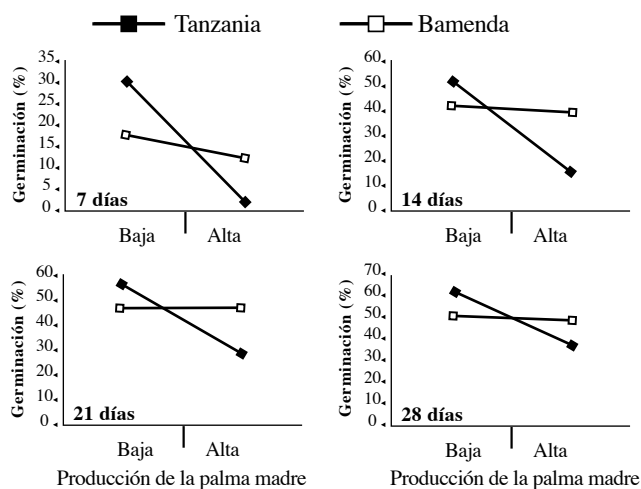


Fig. 3 Germinación de semillas de palma aceitera (*E. guineensis* Jacq.) según la interacción entre la carga de racimos de la planta madre y las poblaciones Bamenda and Tanzania.

La interacción entre poblaciones y los días de calentamiento fue significativa ($p < 0,05$) en las cuatro evaluaciones realizadas (Fig. 4). La germinación de la semilla Bamenda disminuyó al aumentar de 37 a 45 días el tiempo de calentamiento, mientras que en Tanzania la respuesta fue inversa.

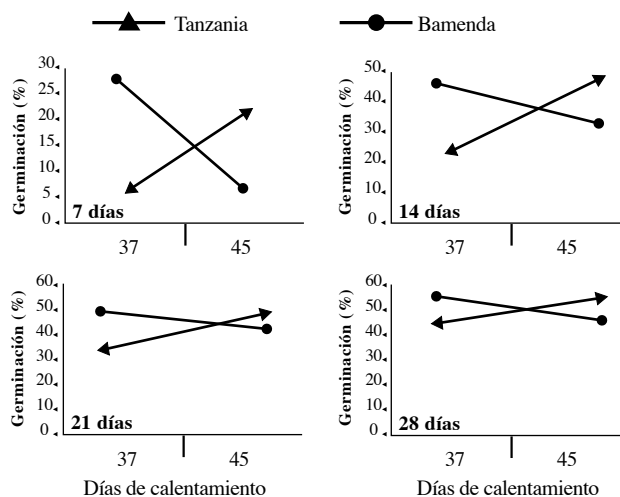


Fig. 4 Interacción entre dos periodos de calentamiento para promover la germinación de las semillas y dos poblaciones *dura* (Bamenda and Tanzania) de palma aceitera

La interacción entre el tratamiento de aplicación de oxígeno durante el periodo de calentamiento y la productividad de la palma fue significativo en las cuatro evaluaciones realizadas (Fig. 5). Durante la primera evaluación (una semana después del remojo), se obtuvo una mayor germinación en las semillas provenientes de plantas con baja producción, y esta respuesta fue independiente de la aplicación de oxígeno. Posteriormente, la aplicación externa de oxígeno se asoció con una germinación similar, independientemente de la capacidad productiva de las palmas madres. No obstante, las semillas que no recibieron oxígeno externo, mostraron menor germinación en ambos grupos de palmas según su productividad.

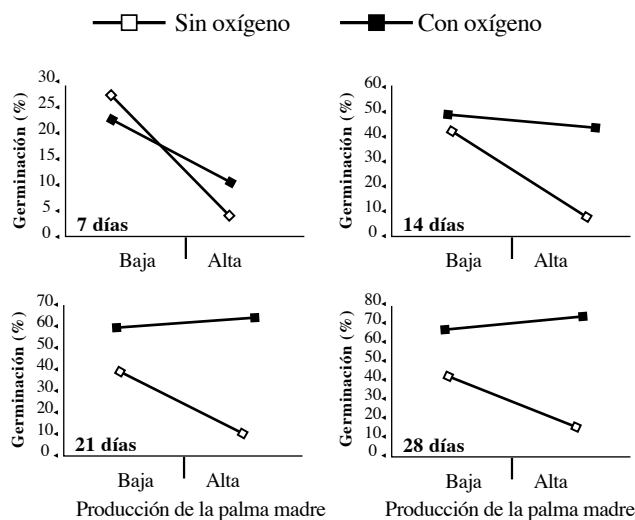


Fig. 5 Interacción entre la aplicación externa del oxígeno durante el calentamiento de la semilla y la carga de racimos de la planta madre sobre la germinación en palma aceitera (*E. guineensis*)

La longitud de las plántulas fue estadísticamente mayor ($p < 0,01$) en las semillas que provenían de palmas con mayor productividad, que recibieron oxígeno durante el tratamiento de calor y que tuvieron 45 días de calentamiento para romper el reposo.

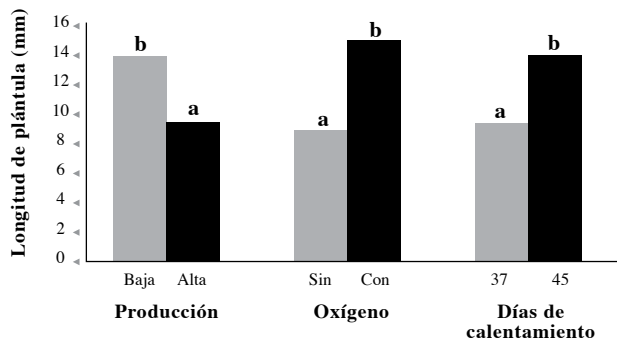


Fig. 6 Longitud de plántulas en semillas germinadas de palma aceitera provenientes de palmas con diferente producción, y que recibieron o no oxígeno externo durante el periodo de calentamiento, o bien fueron sometidas a periodos diferentes de calentamiento

Las plántulas provenientes de palmas con menor carga de racimos o de semillas que recibieron oxígeno externo durante el calentamiento, tuvieron un peso seco significativamente mayor ($p < 0,01$) que las provenientes de palmas con alta producción, o bien que no recibieron el tratamiento con oxígeno (Fig. 7). No se observaron diferencias en el peso de las plántulas según la duración del periodo de calentamiento (37 y 45 días).

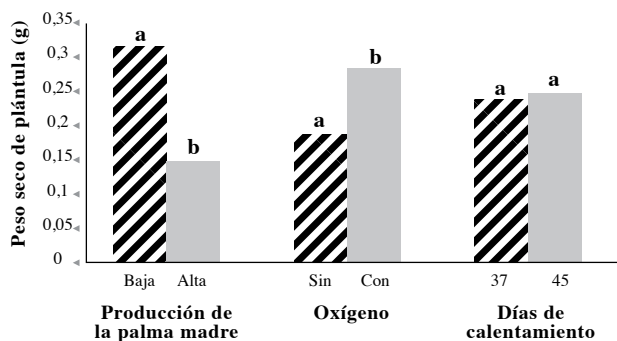


Fig. 7 Peso seco de plántulas en semillas generadas de palma aceitera provenientes de palmas con diferente carga de racimos, y que recibieron o no oxígeno externo durante el periodo de calentamiento, o bien fueron sometidas a periodos diferentes de calentamiento

Discusión

El porcentaje de germinación de las semillas, la longitud de las plántulas y el peso seco de las mismas en las dos poblaciones de palmas duras estudiadas (Bamenda y Tanzania) fue similar en los diferentes tratamientos aplicados. Este comportamiento podría, no obstante, cambiar bajo la influencia de otros tratamientos, tales como el periodo de almacenamiento (Ellis et al. 1991, Ellis, 2004, Addae-Kagyah et al. 1988, Beugré Manéhonon et al. 2009).

La aparente relación existente entre la carga de racimos de la palma madre y el potencial de germinación de las semillas no había sido documentada antes en la literatura. Sin embargo, es conocido que el tamaño de las semillas es menor en palmas con alta carga de frutas (Simmonds y Smart, 1999), ya que se asigna una menor cantidad de energía a cada fruto individual para ser utilizada como reserva durante la germinación. La menor longitud y peso seco de las plántulas obtenidas de semillas germinadas provenientes de palmas de alta producción parecen confirmar esta idea. El comportamiento anterior ocurrió a pesar de que en promedio, las semillas de Bamenda son más pequeñas que las de Tanzania (aproximadamente 20% menores), lo cual indica que otros factores, tales como el historial de producción de la planta y sus interacciones con el suministro externo de oxígeno y el tiempo de calentamiento tuvieron un mayor impacto en las variables estudiadas.

Las relaciones entre el tamaño de las semillas y el comportamiento de la germinación y el vigor de la plántula parecen variar entre especies. Tekrony et al. (1987) encontraron que el tamaño de la semilla de soya no tenía efecto sobre la viabilidad o el vigor, pero Lafond y Baker (1986) y Bretagnolle et al. (1995) habían encontrado en trigo y *Dactylis glomerata* respectivamente, que el tamaño de la semilla tuvo efecto sobre la germinación y las

semillas más grandes produjeron mayor número de plántulas y más vigorosas. Aún en semillas con diferentes grados de ploidía, cuando los tamaños de la semilla eran semejantes, su comportamiento en su velocidad y porcentaje de germinación era muy similar.

La germinación en Tanzania fue favorecida con el periodo mayor de calentamiento, pero el efecto fue inverso en Bamenda. Con respecto a esto, Allen y Meyer (2002) habían encontrado que la intensidad del reposo se relacionaba con el genotipo y el lugar de origen de las plantas.

Aparentemente, el suministro externo de oxígeno durante el calentamiento de la semilla compensó el efecto de la población (genética), pero cuando no se suministró oxígeno, se redujo fuertemente la germinación en la semilla proveniente de palmas con alta producción. Este comportamiento podría estar relacionado con el hecho de que el tamaño de la semilla influye en la germinación (Winn 1985) en algunas especies, lo cual parece ser el caso de la palma aceitera. Aunque no se documentó mediante mediciones era bastante claro que las semillas provenientes de palmas muy productivas eran de menor tamaño que las de palmas poco productivas.

La capacidad productiva de la palma madre y el suministro externo de oxígeno durante el calentamiento determinaron el vigor de la plántula, medido como su tamaño y peso seco. El periodo de calentamiento afectó la longitud de la plántula, pero no el peso seco.

El paso siguiente en esta investigación es documentar la relación entre el tamaño de la semilla de la palma aceitera (y la carga actual de racimos en una planta particular), la facilidad de germinación y el vigor de las plántulas obtenidas, tal como ocurre en otras especies (Seshu et al. 1988).

Literatura

- Addae-Kagyah K.A., Osafo D.M., Olympio N.S. and Atubra O.K. (1988). Effect of seed storage, heat pre-treatment and its duration on germination and growth of nursery stock of the idolatrica palm, *Elaeis guineensis* var idolatrica (Chevalier). *Tropical Agriculture (Trinidad)* 65, 77-83.
- Allen P.S., Meyer S.E. 2002. Ecology and ecological genetics of seed dormancy in downy brome. *Weed Science* 50:241-247.
- Beugré Manéhonon M., Kouakou Kouakou L., Bognonkpé J.P., Konan Kouakou E., Kouakou Tanoh H., Kouadio Yatty J. 2009. Effect of storage and heat treatment on the germination of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seed. *African Journal of Agricultural Research*. 4(10):931-937.
- Bewley J.D., Black M. 1994. Seeds, physiology of development and germination. 2 ed. Plenum Press, New York. 445 p.
- Bretagnolle J.J., Thompson J.D., Lumaret R. 1995. The Influence of Seed Size Variation on Seed Germination and Seedling Vigour in Diploid and Tetraploid *Dactylis glomerata* L. *Annals of Botany* 76:607-615.
- Ellis R. H. 2004. Seed and seedling vigour in relation to crop growth and yield. *Plant Growth Regulation* 11(3):249-255.
- Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H. 1990. An intermediate category of seed storage behaviour. *Annals of Botany* 41: 1167-1174.
- Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H., Soetisna U. 1991. Seed storage behaviour in *Elaeis guineensis*. *Seed Science Research* 1:33-104
- Ferwerda, J.D. 1956. Germination of Oil Palm Seeds. *Tropical Agriculture, Trinidad* 33(1):51-66.
- Herrera J., Alizaga R. Alvarado A. 2010. Effect of seed storage before and after two different heat treatments in two genotypes of oil palm (*Elaeis guineensis*). *Seed Science and Technology*. Enviado para su publicación.
- Herrera J., Alizaga R., Guevara E. 1998. Use of Chemical Treatments to Induce Seed Germination in Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *ASD Oil Palm Papers* 18:1-16.
- Hussey G. (1959). The Germination of Oil Palm Seed: Experiments with Tenera Nuts and Kernels. *Journal of the West African Institute for Oil Palm Research*, 2, 331-354.
- Jiménez V.M., Guevara E., Herrera J., Alizaga R. and Bangerth F. (2008). Changes in Hormone Concentrations during Dormancy Release of Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Seeds. *Seed Science and Technology*, 36(3): 575-587.
- Lafond G.P., Baker R.J. 1986. Effects of Genotype and Seed Size on Speed of Emergence and Seedling Vigor in Nine Spring Wheat Cultivars. *Crop Science* 26:341-346.
- Mok C.K. and Hor Y.L. (1977). The Storage of Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Seed after High Temperature Treatment. *Seed Science and Technology* 5, 499-508.
- Murugesan P., Mathur R.K., Pillai R.S.N. and Babu M.K. (2005). Effect of Accelerated Aging on Seed Germination of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq. var. *dura* Becc.). *Seed Technology*, 27(1): 108-112.
- Rees A.R. 1963. Some factors affecting the germination of oil palm seeds under natural conditions. *Journal of the West African Insitute for Oil Palm Research*. 4(14):201-207.
- Simmonds N.W., Smart J. 1999. Principles of Crop Improvement. 2 ed. London, Blackwell Science Ltd.412 p.
- Seshu D.V., Krishnasamy V., Siddique S.B. 1988. Seed vigor in rice. In *Rice Seed Health. Proceedings of the International Workshop on Rice Health*. International Rice Research Institute. Manila, Filipinas. 362p.
- Takahashi N. 1985. Inhibitory effects of Oxygen on the Germination of *Oryza sativa* L. seeds. *Annals of Botany* 55:597-600
- Tekrony D.M., Bustmam T., Egli D.B., Pfeiffer W. 1987. Effects of Soybean Seed Size, Vigor, and Maturity on Crop Performance in Row and Hill Plots. *Crop Science* 27:1040-1045.
- Winn A.A. Effects of Size and Microsite on Seedling Emergence of *Prunella vulgaris* in four habitats. 1985. *Journal of Ecology* 73:831-840.



Ph.(506) 2284-1120 / 2257-2666 · Fax (506) 2257-2667 · E-mail: sales@asd-cr.com
Web site: www.asd-cr.com · P.O. Box 30-1000 San José, Costa Rica