

## **DETERMINACIÓN DE LA EXISTENCIA DE LATENCIA O DORMANCIA EN LAS SEMILLAS DE *PINUS CARIBAEA* MORELET VAR. *CARIBAEA* BARRETT Y GOLFARI (*P. CARIBAEA*) Y DE *PINUS TROPICALIS* MORELET(*P. TROPICALIS*) EN DIFERENTES FUENTES SEMILLERAS**

## **DETERMINATION OF THE EXISTENCE OF LATENCY OR DORMANCE IN *PINUS CARIBAEA* MORELET VAR SEEDS. *BARRETT* AND *GOLFARI* *CARIBAEA* (*P. CARIBAEA*) AND *PINUS TROPICALIS* MORELET (*P. TROPICALIS*) IN DIFFERENT SEED SOURCES**

ING. TAIMY JIMÉNEZ-ENRIQUEZ

Instituto de Investigaciones Agro-Forestales. UCTB de Investigación e Innovación Tecnológica. Calle 174 no. 1723 e/ 17B y 17C, Siboney, Playa, La Habana, Cuba, taimy@forestales.co.cu

### **RESUMEN**

Con el objetivo de conocer la existencia de algún tipo de latencia que inhiba la germinación en las semillas de las especies *Pinus caribaea* Morelet var. *Caribaea Barrett* y *Golfari* (*P. caribaea*) y *Pinus tropicalis* Morelet (*P. tropicalis*) procedente de dos fuentes semilleras (*Macurije* y *Malbajita*, *La Palma*), se realizaron varios tratamientos según los tipos de latencia que existen: exógena, endógena y mixta, dentro de los que figuran escarificación, estratificación y aplicación de hormonas. Para esto fueron muestreadas semillas de la cosecha 2016. Ninguna de las dos especies presentaron letargo exógeno, en cambio expresaron una buena respuesta ante el tratamiento del endógeno. Sin embargo, la aplicación de hormonas (giberelinas) no influye significativamente en la capacidad germinativa de las especies tratadas.

Palabras claves: *Pinus caribaea*, *Pinus tropicalis*, latencia, semillas, tratamiento.

### **ABSTRACT**

With the aim of knowing the existence of some type of latency, which inhibits germination in the seeds of the species *Pinus caribaea* Morelet var. *Caribaea Barrett* and *Golfari* (*P. caribaea*) and *Pinus tropicalis* Morelet (*P. tropicalis*) from two seed sources (*Macurije* and *Malbajita*, *La Palma*), several treatments were carried out according to the types of latency that exist: exogenous, endogenous and mixed, within the listed: scarification, stratification and application of hormones. For this, seeds of the 2016 harvest were sampled. Neither of the two species exhibited exogenous lethargy, but expressed a good response to the endogenous treatment. However, the application of hormones (gibberellins) does not significantly influence the germinative capacity of the treated species.

Key words: *Pinus caribaea*, *Pinus tropicalis*, latency, seeds, treatment.

### **INTRODUCCIÓN**

Las semillas de muchas especies arbóreas germinan cuando se someten a condiciones de temperatura y humedad favorables. Muchas otras especies poseen un determinado grado de latencia de la semilla. Cuando esta es fuerte, la regeneración artificial exige de manera esencial

alguna forma de tratamiento previo a la semilla, a fin de obtener una mayor germinación en poco tiempo (Willan, 1991; Sierra-Villagrana, 2005). La calidad de las semillas está relacionada con cuatro factores: la madurez de la semilla en la recogida, el manejo del cono o fruto, el proceso

de extracción y el almacenamiento (Moreno Álvarez, 2001). Comúnmente estos aspectos aparecen evaluados a través de normas o protocolos para la certificación de semillas como la Norma Cubana 71-04/1987, los cuales consideran en las evaluaciones de la calidad de un lote de semilla las pruebas de germinación. Sin embargo, los tests de germinación presentan dificultades a la hora de aplicarlos en semillas de especies que presentan fuerte letargo, como son las de ámbito forestal.

Las técnicas y tratamientos más empleados son prerrefrigeración, distintas combinaciones de temperaturas, solución de nitrato de potasio al 0,2 %, ácido giberélico, prelavado y presecado, ácido sulfúrico, entre otros (Flores, 2010).

Para cada tipo de latencia existe un tratamiento pregerminativo adecuado, y para cada caso es necesario conocer previamente la especie en la que se va a aplicar el proceso de activación de las semillas a fin de evitar daños en las mismas, ya que no todas son iguales ni asimilan o actúan de la misma forma ante el estímulo externo; los procesos pregerminativos se hacen de forma particular para cada especie, y para muchas son de carácter obligatorio.

Las especies *Pinus caribaea* Morelet var. *Caribaea* Barrett y Golfari (*P. caribaea*) y *Pinus tropicalis* Morelet (*P. tropicalis*) están dentro de las cinco especies prioritarias en los planes de desarrollo forestal hasta 2020 (SEF, 2012), de ahí la importancia de contar con fuentes semilleras de calidad para la planificación de las futuras plantaciones, siendo el objetivo de esta investigación determinar si existe algún tipo de latencia o letargo en las semillas de estas especies que inhiben la germinación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los tratamientos para la determinación del tipo de latencia se realizaron en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Forestales y Agropecuarias en la Universidad de Pinar del Río.

Para ello se emplearon semillas de *P. caribaea* procedentes de las masas semilleras de Macurije y Malbajita (La Palma), y de *P. tropicalis* de Macurije correspondiente a la cosecha 2016. Las técnicas aplicadas se tomaron del Manual

de Prácticas de Laboratorio de Fisiología Vegetal (CUPR).

**Letargo exógeno:** El letargo exógeno o por la cubierta de las semillas es la latencia que se presenta específicamente en el pericarpio o parte externa de la semilla, generada por varios factores y que se clasifica a su vez en latencia física, aquella en la que la testa de la semilla es dura e impermeable al agua; latencia química, que se propicia por la presencia o acumulación de inhibidores o sustancias químicas en la cubierta; y latencia mecánica, que se da cuando la testa es extremadamente dura y no permite el crecimiento del embrión.

Para demostrar la existencia de un letargo exógeno se utilizaron muestras de 50 semillas por cada fuente semillera de *P. caribaea* (Macurije y Malbajita, La Palma) y de *P. tropicalis* (Macurije) que se sometieron a los siguientes tratamientos:

*Tratamiento 1:* Las semillas se colocaron en agua hirviendo, posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente. *Tratamiento 2:* Las semillas se trataron durante 15 minutos con ácido sulfúrico concentrado, lavándose posteriormente con agua destilada varias veces hasta llegar a un pH neutro. *Tratamiento 3:* Las semillas se escarificaron con papel de lija hasta romper la testa sin dañar los tejidos en el interior. *Tratamiento 4:* Muestra de control o testigo. Tras los respectivos tratamientos cada lote de semilla fue colocado en una placa Petri sobre papel de filtro debidamente humedecido y se dejaron germinar por un período de 45 días.

**Letargo endógeno:** Este se presenta en aquellas familias de plantas, cuyas semillas, de manera característica en el embrión no se han desarrollado por completo en la época de maduración (Varela-Arana, 2011), por lo que este ensayo se realizó fundamentalmente para analizar la posible existencia de un proceso de posmaduración en las semillas de *P. caribaea* en sus dos fuentes semilleras (Macurije y Malbajita, La Palma) y de *P. tropicalis* en la fuente semillera de Macurije.

Para evidenciar la existencia de un letargo endógeno se utilizaron cuatro muestras (50 semillas por muestra), una por cada fuente semillera de *P. caribaea* (Macurije y Malbajita, La Palma) y de *P. tropicalis* (Macurije), y una como testigo. Cada una de las muestras se estratificó con

arena húmeda a 4 °C durante dos semanas, tras las cuales se sembraron en condiciones normales y se pusieron a germinar a temperatura ambiente 45 días.

**Letargo mixto:** Se denomina así a las diversas combinaciones de latencia de la cubierta o el pericarpio con latencia fisiológica endógena (Varela-Arana, 2011). La prueba se aplicó con el objetivo de analizar la eficiencia del ácido giberélico y de la escarificación mecánica en su conjunto para el vencimiento de este tipo de letargo.

Para demostrar la existencia de un letargo mixto se colocaron 50 semillas por cada fuente semillera de *P. caribaea* (Macurije y Malbajita, La Palma) y de *P. tropicalis* (Macurije) en placas Petri sobre

agar estéril, con y sin ácido giberélico, a temperatura ambiente según el siguiente protocolo:

*Tratamiento 1:* Semillas con testa sobre agar sin ácido giberélico. *Tratamiento 2:* Semillas con testa sobre agar con ácido giberélico. *Tratamiento 3:* Semillas sin testa sobre agar sin ácido giberélico. *Tratamiento 4:* Semillas sin testa sobre agar con ácido giberélico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Letargo exógeno:** Este ensayo mostró para las semillas de *P. caribaea* y *P. tropicalis* que no se necesita ningún tratamiento para lograr más del 50 % de germinación; aunque este valor fue más bajo para *P. tropicalis*, por tanto no existe letargo exógeno para estas especies (Fig. 1).

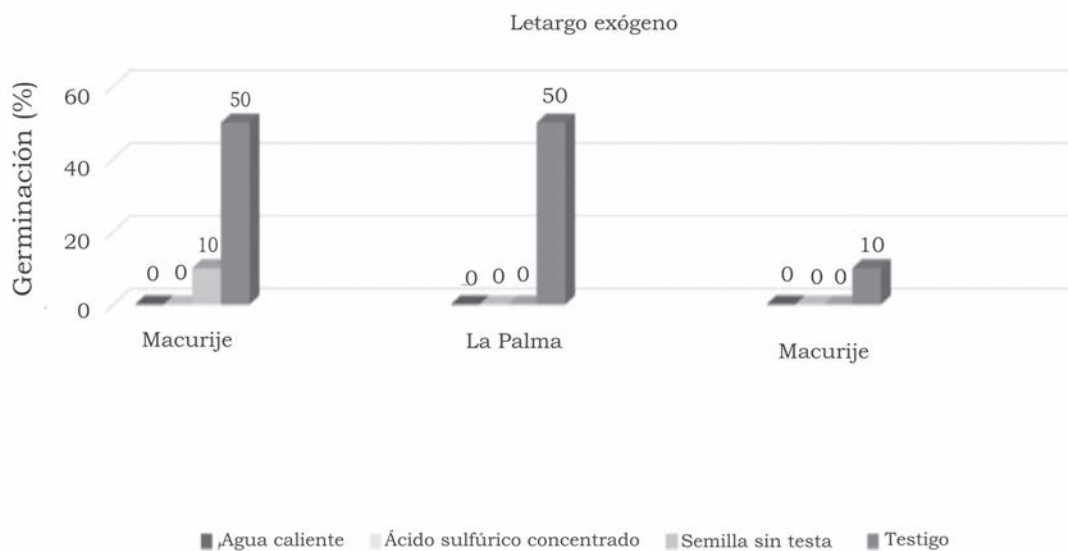


Figura 1. Porcentajes de germinación de las semillas de *P. caribaea* (Macurije y Malbajita, La Palma) y de *P. tropicalis* (Macurije), en el ensayo de letargo exógeno.

Los resultados son similares a Meraz *et al.* (2000), donde el mayor porcentaje de germinación acumulado en semillas de *Pinus durangensis* fue del 85,5 % en el testigo, siguiéndole el tratamiento de escarificación mecánica con el 83,25 %.

Sin embargo, el tratamiento con agua caliente ha sido probado satisfactoriamente en especies forestales tropicales como *Celtis africana*, *Cordia sinensis* (semillas almacenadas) y *Melia volkensii*, cuyas testas duras requieren ser

remojadas en agua caliente a 40 °C y luego enfriarla a temperatura ambiente. Para *Acacia nilotica* y *Tamarindus indica* se encontró que las semillas de estas especies remojadas por 24 horas a 80 °C resulta ser un tratamiento eficaz para romper la latencia (Smith, 2010). En contraste, una imbibición breve en agua a 90 °C por 1 minuto mostró una buena germinación en semillas de *Acacia mearnsii* y *Acacia melanoxylon*, mientras que 30 segundos de remojo en agua hirviendo venció la latencia impuesta por

la testa de semillas de *Acacia mangium* (Smith, 2010). Este tratamiento es el método más rápido, barato y simple para liberar la latencia impuesta por la testa de muchas especies tropicales en reproducciones masivas. Asimismo, el autor señala que el tratamiento con ácido sulfúrico concentrado es eficaz y práctico para romper la latencia, pero no se usa comúnmente debido a su costo, el riesgo y precauciones de seguridad implicadas.

Para una aplicación correcta de la escarificación con ácido, el contenido de humedad de la semilla debe ser menor al 10 %, dado que un contenido de humedad más alto hace la acción del ácido sulfúrico más violenta, con posible daño a la semilla, hecho que comúnmente no se tiene en cuenta. Esta puede ser la razón por

la que dicho tratamiento no fuera efectivo para romper el letargo exógeno de las semillas en cuestión, pues el porcentaje de humedad de las mismas superan el valor óptimo para la aplicación del mismo (semillas de *P. caribaea* en sus dos fuentes semilleras Macurije y Malbajita, La Palma: 10 y 13 % y de *P. tropicalis* de la fuente semillera de Macurije con 24 %).

**Letargo endógeno:** Este tratamiento resultó ser efectivo tanto para *P. caribaea* en sus dos fuentes semilleras (Macurije y Malbajita, La Palma) como para *P. tropicalis* en la fuente semillera de Macurije, ya que los porcentajes de germinación de las semillas luego de su aplicación sobrepasaron el 40 % (Fig. 2). Esto parece ser muy efectivo en coníferas como *Picea glauca*, *P. mariana* (Caron *et al.*, 1990; Sierra-Villagrana, 2005).

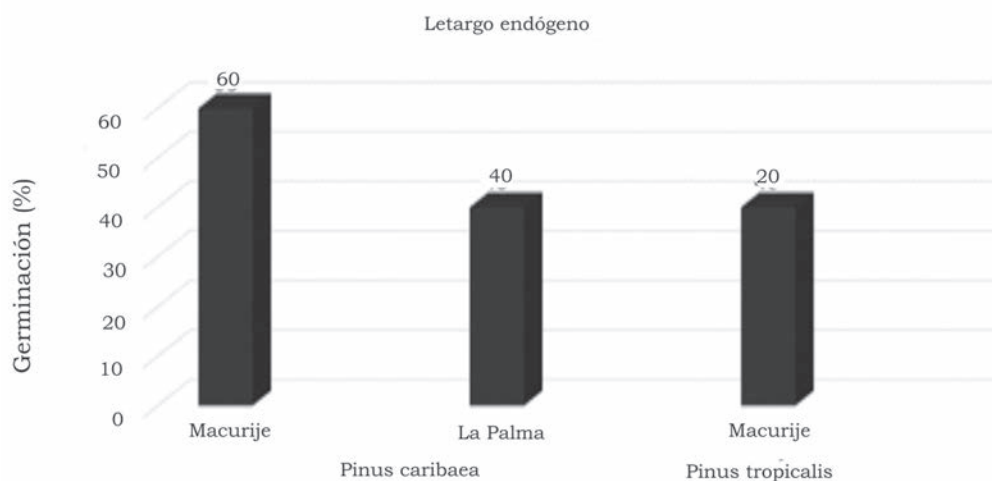


Figura 2. Porcentaje de germinación de las semillas de *P. caribaea* (Macurije y Malbajita, La Palma) y de *P. tropicalis* (Macurije) después de la aplicación de la estratificación fría.

De acuerdo con Varela *et al.* (2011), el letargo o latencia endógena puede darse de dos formas: endógena morfológica, cuando hay un subdesarrollo del embrión y se genera específicamente por la presencia de embriones rudimentarios llamados también proembriones, o por la presencia de embriones poco desarrollados que solo ocupan la mitad de la cavidad de las semillas. En ninguno de los dos casos las semillas están listas para la germinación. Y finalmente, en la latencia endógena fisiológica el período se presenta en el interior de los tejidos por dos fenó-

menos, principalmente el primero, ocasionado por la semipermeabilidad en las cubiertas de las semillas, y el segundo por la dormancia del embrión. Específicamente este grupo se divide en cuatro categorías: latencia fisiológica, superficial, intermedia y profunda, dependiendo de la debilidad o fuerza del mecanismo inhibitor (Azcon-Bieto y Talón, 2013).

En especies del género *Nothofagus* se han obtenido buenos resultados con tratamientos de estratificaciones en arena húmeda con temperaturas de 3 a 5 °C durante períodos que fluc-

túan entre 30, 60 y 90 días y generan tasas de germinación de 48, 64 y 96 %, respectivamente (Varela *et al.*, 2011).

Sin embargo, muchas especies subtropicales ortodoxas y recalcitrantes muestran latencia profunda y requieren estratificación fría para aumentar la germinación de las semillas: *Phellodendron wilsonii*, *Sassafras randaiense*, *Castanopsis carlesii*, *Quercus gilva*, *Q. glauca*, *Q. spinosa*, *Elaeocarpus japonica*, *Neolitsea ariabilima* y *N. parvigemma* (Smith, 2010).

**Letargo mixto:** En el ensayo se combinaron dos tratamientos: la escarificación mecánica

y la aplicación de ácido giberélico ( $GA_3$ ). Las semillas de *P. caribaea* de la fuente semillera de Macurije, que fueron tratadas con  $GA_3$  y que no se escarificaron (Fig. 3), mostraron un 70 % de germinación, lo que demuestra la buena respuesta de estas al tratamiento. Sin embargo, las semillas *P. caribaea* de la fuente semillera de Malbajita, La Palma y de *P. tropicalis* de la fuente semillera de Macurije solo germinaron el 40 %. De las semillas que se escarificaron y se les aplicaron  $GA_3$  no germinó ninguna, lo que indica que esta combinación de tratamientos no es efectiva para romper el letargo mixto en las semillas de las especies tratadas.

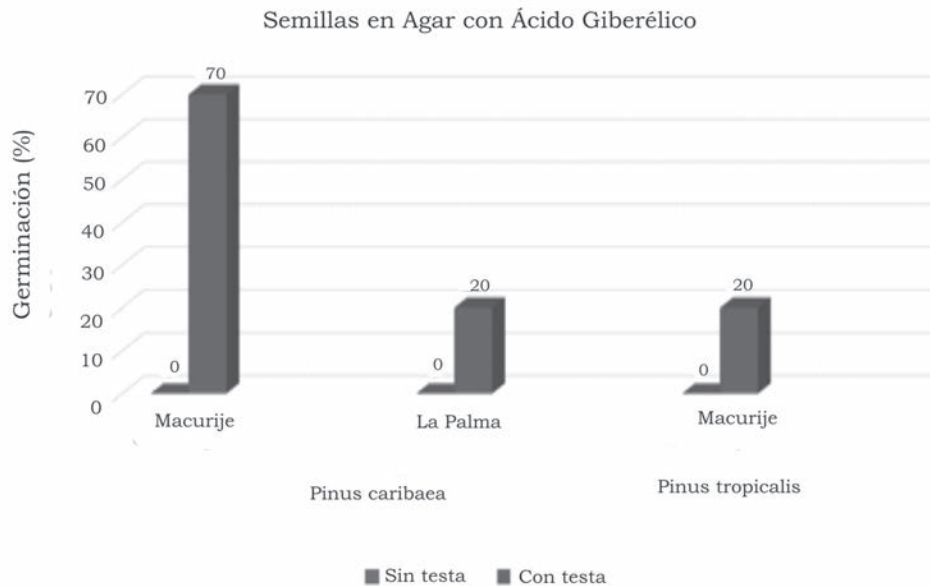


Figura 3. Porcentaje de germinación de las semillas de *P. caribaea* (Macurije y Malbajita, La Palma) y de *P. tropicalis* (Macurije) con respecto a la aplicación de  $GA_3$  con y sin escarificación.

Por otra parte, las semillas a las que no se les aplicaron  $GA_3$  y que no se escarificaron (Fig. 4), mostraron un mejor comportamiento ante la germinación. Las semillas de *P. caribaea* de la fuente semillera de Macurije se mantuvieron con el 70 % de germinación, mientras que las de *P. caribaea* de la fuente semillera de Malbajita, La Palma y de *P. tropicalis* de la fuente semillera de Macurije mostraron un 40 % de germinación en ambos casos. También las semillas que se escarificaron de *P. caribaea* y de *P. tropicalis* de la fuente semillera de Macu-

rije reflejaron el 20 y el 10 % de germinación, respectivamente; sin embargo, las semillas de *P. caribaea* de la fuente semillera de La Palma no germinaron.

Los resultados indican que la aplicación de  $GA_3$  en las semillas de las especies tratadas no influyeron en la capacidad germinativa de las mismas, lo que puede estar dado por la no presencia de un letargo mixto o combinado, o porque el nivel de ácido abscísico (ABA) en estas semillas no sea tan alto como para inhibir la germinación de las mismas.

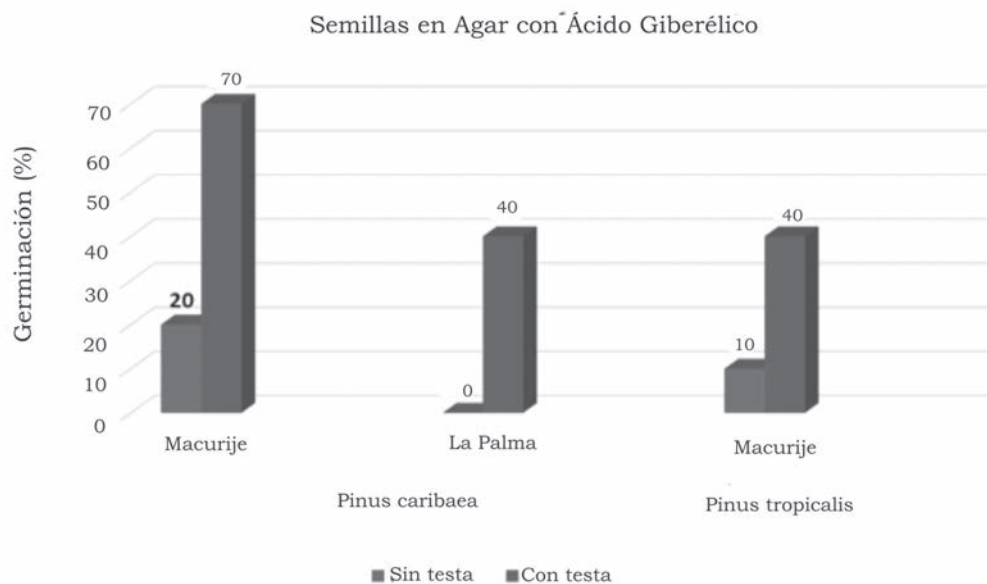


Figura 4. Porcentaje de germinación de las semillas de *P. caribaea* (Macurije y Malbajita, La Palma) y de *P. tropicalis* (Macurije) con respecto a la no aplicación de  $\text{GA}_3$  con y sin escarificación.

En concordancia con ello, Sierra Villagrana (2005) en *Picea sitchensis* obtuvo que la aplicación de  $\text{GA}_3$  no presentó diferencias significativas en la velocidad, ni la capacidad germinativa de la especie. Tampoco en otras. De igual manera, este comportamiento se refleja en varias especies de coníferas con el ácido giberélico y BAP (n-6-benzylaminopurine), aplicado individualmente o combinado, no aumentaron la capacidad ni energía de germinación en *Pinus edulis* en sitios de Arizona Central (Gottfried y Heidmann, 1992).

Las hormonas vegetales tienen una función crítica en el desarrollo de las plantas, ya que según su presencia en el sitio y momento adecuado pueden estimular o inhibir procesos fisiológicos específicos para tener un cierto crecimiento, diferenciación, metabolismo que se refleja en la fenología (Mérola y Díaz, 2012).

El ácido abscísico ABA induce la dormancia durante la maduración de la semilla, mientras que las Gas ejercen un papel relacionado con la eliminación del estado durmiente y promotor de la germinación; resultados recientes apuntan a que la relación ABA:Gas es alta durante la DFNP, mientras que para desencadenar la germinación se necesita que esa relación sea baja (Azcón Bieto-Talón, 2013), de ahí la frecuente utilización del ácido giberélico ( $\text{GA}_3$ )

como tratamiento pregerminativo para romper la dormancia de las semillas.

Este tratamiento suele dar buenos resultados cuando la dormición es causada por la presencia en la semilla de sustancias inhibitoras de la germinación. Así se ha comprobado que en numerosas semillas el  $\text{GA}_3$  contrarresta el efecto inhibitor de ácido abscísico (ABA) (Mérola y Díaz, 2012).

## CONCLUSIONES

- La especie *Pinus tropicalis*, según los tratamientos aplicados, presenta fundamentalmente letargo endógeno.
- La aplicación de giberelinas (ácido giberélico) no influye en la capacidad germinativa de las semillas de *Pinus caribaea* y *Pinus tropicalis*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Azcón Bieto, J., Talón, M. 2013. Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2da Edición. 650 p.
- Caron, G. E., B. S. P. Wang, Schooley, H. O. 1990. Effect of tree spacing, cone storage, and prechilling on germination of *Picea glauca* seed. The Forestry Chronicle (US) 66 (4): 388-392.
- Flores, H. 2010. Métodos de escarificación y prueba de envejecimiento acelerado en semillas de *Brachiaria abriantha*. Texoco, Edo. de México.
- Gottfried, G. J., Heidmann, L. J. 1992. Effects of gibberellic acid, N-6-benzylaminopurine, and acetone on pinyon (*Pinus*)

- nusedulis) germination. Res. Note RM-514. Fort Collins, CO: USDA. Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. USA. 5 p.
- Manual de Prácticas de Laboratorio de Fisiología Vegetal (CUPR).
- Meraz, G., R. Bonilla, B. 2000. Análisis y tratamientos pregerminativos en semillas de *Pinus arizonica* Engelm. y *Pinus durangensis* Mart. Revista Chapingo (MX) 6(1): 15-20.
- Mérola, R., Díaz, S. 2012. Métodos, técnicas y tratamientos para inhibir dormancia en semillas de plantas forrajeras. Trabajo final. Curso de post-grado: Producción de semillas de plantas forrajeras.
- Moreno Álvarez, T., et al. 2001. Estudio de nuevos métodos de determinación de la viabilidad de las semillas forestales: test de electroconductividad e índigo carmín. Comparación con el test del tetrazolio y su aplicación a *Pinus pinaster* y *Pinus halepensis*. 7 p.
- Norma cubana para la Certificación de las Semillas 71-04:87. Servicio Estatal Forestal. 2012.
- Sierra-Villagrana, A. E. 2005. Viabilidad de semillas de *Picea mexicana martínez* y su relación con indicadores reproductivos. Tesis profesional. 61 p.
- Smith, M. 2010. Dormancia y Germinación. Capítulo 5. Manual de Semillas de Árboles Tropicales. Vozzo, I.A. 887 p.
- Varela, S. A., Arana, V. 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. p. 4-5.
- Willan, R. L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales con especial referencia a los trópicos. Estudio FAO Montes 20/2. DANIDA, FAO. Roma. 502 p.

## RESEÑA CURRICULAR

Autora principal: Taimy Jiménez Enríquez

Ingeniera Forestal, perteneciente al Grupo de Investigación sobre Tecnología de la Madera, en el que desarrolla actividades investigativas relacionadas con la Anatomía de la Madera, tema con el cual ha participado en diferentes eventos tanto nacionales como internacionales, obteniendo resultados relevantes.