

MÉTODO DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA PARA LA ESTIMACIÓN DEL PORCIENTO DE GERMINACIÓN Y LAS CLASES DE CALIDAD DE LAS SEMILLAS DE *PINUS CARIBAEA* VAR. *CARIBAEA*

METHOD FOR THE ELECTRICAL CONDUCTIVITY FOR THE ESTIMATION OF THE GERMINATION PERCENTAGE AND THE QUALITY CLASSES OF *PINUS CARIBAEA* VAR. *CARIBAEA* SEEDS

M. Sc. YENIA MOLINA-PELEGRÍN,¹ DR. C. JUAN C. CASTRO-PALACIOS,² DR. C. JOSÉ A. BRAVO-IGLESIAS,³
M. Sc. ADONIS SOSA-LÓPEZ¹ Y M. Sc. LIZEYDA PAREDES-MOREJÓN³

¹Instituto de Investigaciones Agro-Forestales. Estación Experimental Agro-Forestal Guisa. Carretera a Victorino Km 1^{1/2}, La Soledad, Guisa, Granma, Cuba, guisa@forestales.co.cu

²Universidad de Pinar del Río Hermanos Saíz Montes de Oca. Martí Final 270, Pinar del Río, Cuba.

³Instituto de Investigaciones Agro-Forestales. Calle 174 no. 1723 e/ 17B y 17C, Siboney, Playa, La Habana, Cuba.

RESUMEN

La investigación tiene como objetivo estimar el porcentaje de germinación y las clases de calidad de las semillas de *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* Barret y Golfari. Para ello se realizó un estudio de viabilidad empleando la prueba del tetrazolio siguiendo las normas del ISTA (1985), y para la estimación del porcentaje de germinación y las clases de calidad de las semillas se hizo mediante el método de la conductividad eléctrica, utilizando la metodología propuesta por Bonner (1992). Se realizó la modelación matemática del porcentaje de germinación.

Palabras claves: conductividad eléctrica, clases de calidad, germinación.

INTRODUCCIÓN

La comunidad científica, en su incesante desempeño, trata de buscar diferentes métodos que permitan conocer la calidad intrínseca de las semillas en un corto lapso de tiempo.

Los métodos para determinar la viabilidad, aspecto este que constituye el núcleo fundamental

ABSTRACT

The research aims to estimate the percentage of germination and the kinds of quality seeds of *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* Barrett and Golfari. It conducted a feasibility study using the tetrazolium test following ISTA rules (1985), and to estimate the percentage of germination and the kinds of quality of seeds was performed by Electrical Conductivity Method, using the methodology proposed by Bonner (1992). Mathematical modeling was performed on percent germination.

Key words: electrical conductivity, quality classes, germination.

en la calidad de las semillas, se dividen en tres grandes grupos: los físicos, los bioquímicos y los fisiológicos [Fors, 1967].

Existen otros métodos utilizados para este fin: el examen por rayos X, el de respirometría por el método de Warburg y el de la conductividad eléctrica.

El método de la conductividad eléctrica resulta uno de los más ventajosos, dado que permite realizar una estimación del porcentaje de germinación en solo 24 h. Los valores del porcentaje de germinación, conjuntamente con los obtenidos por las mediciones de la conductividad eléctrica, ayudan a clasificar las semillas por clases de calidad, y el hecho de ser no destructivo del material biológico, que es otra ventaja que ofrece este método, permite corroborar la veracidad de esta predicción.

El término *deterioro* se refiere a cualquier alteración degenerativa que ocurre con las cualidades de la semilla en función del tiempo y el manejo de ellas. El deterioro es irreversible. Este proceso varía entre las especies y entre grupos de semillas de un mismo lote [Popinigis, 1977, citado por Carnerio y Aguiar, 1993].

Si se determina experimentalmente la máxima conductibilidad admisible para semillas vivas de una especie determinada, se puede calcular el porcentaje de germinación y establecer los rangos de conductibilidad [Besnier, 1989].

El grado de deterioro también representa un elemento para evaluar la calidad de la semilla, pues muchas veces los daños mecánicos y ataques de insectos convierten en material inerte buena parte de ellas, y esto reduce notablemente su calidad [Besnier, 1989].

Para determinar el grado de deterioro de las semillas se emplea el método de la medición de conductancia de electrolitos. El método se basa en el principio de que el contenido de las células dañadas escapa a través de su fluido. Bonner y Bozo (1986) han reportado que las mediciones de la conductibilidad por lixiviación son válidas para estimar la calidad de las semillas en *Pinus taeda*, *P. ellioti*. Los exudados pueden ser usados como una estimación confiable de la viabilidad de las semillas. Bradbeer (1988) señala que la viabilidad está muy correlacionada con el deterioro de la membrana, el contenido de azúcares y otros compuestos que son exudados durante el lavado o procesos de imbibición de las semillas.

Otra posible aplicación de este método puede ser la evaluación de la calidad de los lotes de semillas almacenadas. Si las mediciones básicas son tomadas con semillas frescas, un aumento subsecuente de los valores de conductividad

eléctrica podría alertar a los compradores que hubo actividades mal realizadas.

En Cuba, el análisis de la calidad de las semillas se realiza según la Norma Cubana 71-4:87, basada en las Normas ISTA, en la cual se disponen las diferentes pruebas para determinar la pureza y el porcentaje de germinación de las semillas forestales, basadas en las Normas ISTA.

La principal desventaja que presenta esta norma es que su realización completa demora un lapso de más de treinta días, dada fundamentalmente por la prueba de germinación.

El objetivo de la investigación es estimar el porcentaje de germinación y las clases de calidad de las semillas de *Pinus caribaea* var. *caribaea* mediante el método de la conductividad eléctrica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características generales de las semillas utilizadas

Se utilizaron semillas de dos procedencias de la especie *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* Barret y Golfari.

Procedencia 1: Marbajita (La Palma). Lote 1, Masa semillera. EFI La Palma.

Procedencia 2: Malas Aguas. Huerto clonal. EFI Minas.

Fecha de recolección: julio de 2004.

Almacenamiento hasta el momento de los experimentos: Se almacenaron a temperatura ambiente desde julio de 2004 hasta enero de 2005. La temperatura de almacenamiento estuvo entre 19 y 27 °C, con una humedad relativa del 70 %.

Para la determinación de la viabilidad de las semillas se empleó la prueba del tetrazolio siguiendo las normas del ISTA (1985).

Para la realización de esta prueba se tomaron 100 semillas de cada procedencia, se les retiró la testa a cada una y luego se embebieron en 20 mL de tetrazolio durante 24 h a temperatura ambiente.

Experimentos desarrollados para la aplicación del método de la conductividad eléctrica

Se utilizó la metodología propuesta por Bonner (1992).

El trabajo experimental se dividió en dos partes para su realización. La primera parte relacionada con las mediciones de conductividad eléctrica del agua de lixiviado, y la segunda con la prueba de germinación. A continuación se explican cada uno de los protocolos seguidos.

Experimento 1. Determinación de la conductividad eléctrica

Para determinar la conductividad eléctrica de cada muestra se procedió según los siguientes pasos:

- Se tomaron 50 muestras de 100 semillas por cada procedencia, y se colocaron en placas Petri de 9,6 cm de diámetro.
- Se eliminaron las alitas a las semillas.
- Se procedió a enjuagar las semillas bajo una llave con agua corriente durante 15 s en un colador, y después con agua desionizada, para de esta forma eliminar todo tipo de impurezas.
- Se embebió cada muestra de 100 semillas en 75 mL de agua desionizada ($4 \mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$) durante 24 h a temperatura ambiente ($19\text{-}24 \text{ }^\circ\text{C}$).
- Posteriormente se midió la conductividad eléctrica expresándose en valores $\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$. Para la realización de estas mediciones se utilizó un conductímetro del tipo EC215 de Hanna Instruments, con una precisión de $0,1 \mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Experimento 2. Prueba de germinación

Condiciones climáticas del laboratorio: El experimento se realizó en un local con condiciones naturales de iluminación y ventilación, la humedad relativa fue del 70 % y la temperatura osciló entre $19\text{-}24 \text{ }^\circ\text{C}$.

Selección de las muestras: Se tomaron las muestras del experimento anterior y se ubicaron en placas Petri de 9,6 cm de diámetro sobre el sustrato, a razón de 50 semillas por placa.

Sustrato utilizado: Se utilizó arena sílice esterilizada, vertiendo 55 g para cada placa.

Riego de las semillas

Se aplicaron por placa 15 mL de agua corriente cada dos o tres días en dependencia de las necesidades de las semillas. Todo lo anterior fue realizado para cada procedencia objeto de análisis.

Se relacionó la conductividad eléctrica y la prueba de germinación para la determinación de la calase de calidad de las semillas.

Análisis estadísticos

Se realizó un análisis de correlación entre las variables conductividad eléctrica y porcentaje de germinación y la modelación matemática, seleccionándose tres modelos:

Modelo	Expresión matemática del modelo
Lineal	$y = a + bx$
Polinomio de segundo grado	$y = a + bx + cx^2$
Polinomio de tercer grado	$y = a + bx + cx^2 + dx^3$

donde:

a : Constante

b, c, d : Coeficientes de regresión

Variable dependiente: Porcentaje de germinación

Variable independiente: Conductividad eléctrica

Para el estudio de la bondad de ajuste de estos modelos se utilizaron los criterios estadísticos reportados por Alder (1980), Podran *et al.* (1997), Kiviste *et al.* (2002), Guerra *et al.* (2003), Torres y Ortiz (2005):

1. *Coefficiente de determinación (R^2):* declara qué porcentaje de la variación de la variable dependiente es explicada por las variables predictoras.
2. *Sesgo o diferencia agregada (DA):* evalúa la desviación del modelo con respecto a los valores observados.
3. *Error medio cuadrático (CME):* informa sobre la precisión de las estimaciones.
4. *Error medio en valor absoluto (EMA):* da una idea de la magnitud media de los errores independientemente de su signo.
5. *Significación estadística del modelo:* expresa el error α para el modelo.
6. *Significación estadística de los parámetros de los modelos:* expresa el error α para cada parámetro del modelo.
7. *Error estándar del modelo (EEE):* permite determinar los intervalos de confianza para el modelo.
8. *Error estándar de los estimadores de los parámetros del modelo:* permite determinar los intervalos de confianza para los parámetros.
9. *Estadístico Durbin-Watson (D-W):* revisa los residuos para determinar si hay correlación significativa.

Para el ajuste de los modelos y validación se utilizaron 100 muestras. Se empleó un nivel

de significación del 5 % para el análisis de varianza de las regresiones, utilizándose los programas estadísticos Statgraphics Plus versión 5.1 (1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba del tetrazolio

Esta prueba mostró un valor del 82 % de viabilidad para la procedencia de Marbajita, lo cual denota una buena capacidad germinativa por parte del embrión para que ocurra el proceso de germinación, ocurriendo lo contrario en la procedencia de Malas Aguas, donde su viabilidad fue de un 22 %. Estos resultados corroboran que la viabilidad puede servir *grosso modo* como estimador del porcentaje de germinación. Para el caso de Marbajita se obtuvo para esta última variable un 70 %, y para Malas Aguas un 20,3 %.

Experimentos desarrollados para la aplicación del método de la conductividad eléctrica

En la *Fig. 1* se reflejan los resultados de las mediciones de la conductividad eléctrica en $\mu s \cdot cm^{-1}$ y del porcentaje de germinación por muestra y por procedencia. Los valores de conductividad eléctrica para la procedencia de Marbajita se ubicaron en el rango entre 55,6 y 114,3 $\mu s \cdot cm^{-1}$ y para Malas Aguas entre 181 y 256 $\mu s \cdot cm^{-1}$, lo que indica que las semillas de la segunda procedencia presentan, por lo general, un mayor deterioro de sus membranas con relación a la primera (*Fig. 1*). Algunos autores han utilizado la conductividad eléctrica medida al agua de lixiviado para la determinación del

deterioro de las semillas, y de ahí para la estimación del porcentaje de germinación [Bonilla, 2001 y Villar, 2000]. Por otro lado, los valores del porcentaje de germinación se ubicaron entre el 55 y el 90 %, con un promedio del 70 % para Marbajita, y entre el 13 y el 34 %, para un promedio del 20,3 %, para Malas Aguas.

Es conocido que el deterioro aumenta con la edad de las semillas. En este caso las semillas de ambas procedencias fueron recolectadas en 2004, por lo que las diferencias en las conductividades eléctricas pueden ser debido a características específicas de las semillas, el manejo y el contenido de humedad. Esta última es importante, ya que puede variar entre procedencias de la misma especie, influyendo en sus actividades metabólicas como la respiración y su poder germinativo.

En estudios sobre el deterioro, Villar (2000) obtuvo valores de 128-190 $\mu s \cdot cm^{-1}$ en semillas de *Pinus caribaea* con menos de un año de almacenamiento, y con tres meses de cosechadas presentaron un valor de 100,7 $\mu s \cdot cm^{-1}$ [Villar, 2000]. Por otro lado, Bonilla (2001) obtuvo un valor de 195 $\mu s \cdot cm^{-1}$ en semillas de *Pinus tropicalis* con nueve meses de almacenamiento a temperatura ambiente.

Los valores de conductividad eléctrica varían de una especie a otra. También influyen las características de la cubierta y el tiempo de duración del remojo. Una vez establecidos los rangos propios de la especie, se puede determinar si la semilla es factible de utilizar o no para la siembra en vivero [Bonilla, 2001].

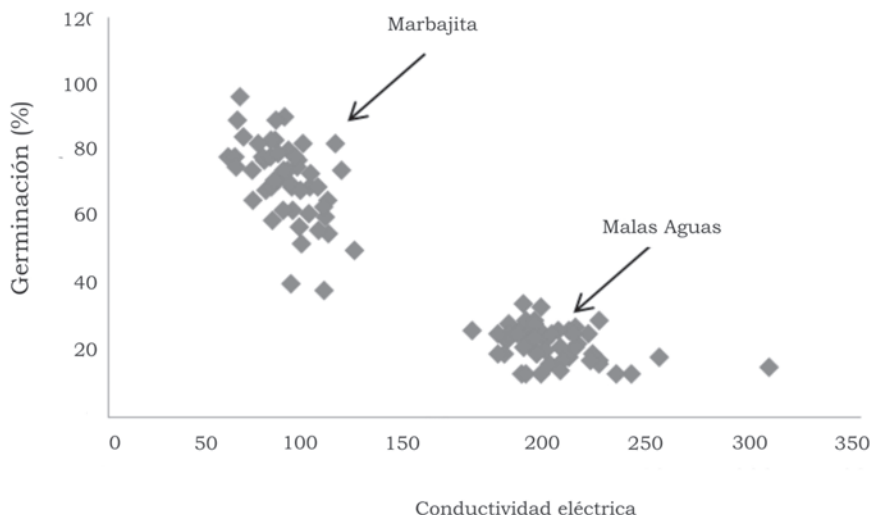


Figura 1. Porcentaje de germinación vs. conductividad eléctrica.

Entre la conductividad eléctrica y el porcentaje de germinación existe una fuerte relación inversa, determinada por un coeficiente de correlación de $-0,93$. Estos resultados se corroboran con lo planteado por Landis *et al.* (1999), que el incremento de la conductibilidad se produce por la pérdida de la sustancia celular por lixiviación, así como por el deterioro de las paredes celulares. Resultados similares a este trabajo fueron cosechados por Bonner (1991), donde obtuvo una relación funcional inversa entre la conductividad eléctrica del agua de lixiviado y el porcentaje de germinación en algunas especies de pinos americanos.

En la *Tabla 1* se muestran las clases de calidad de las semillas de *Pinus caribaea* var. *caribaea*. La germinación de las semillas de la procedencia Marbajita presenta una germinación que la ubica en las clases de calidad media y baja, en cambio Malas Aguas se sitúa en la categoría de mala. Esto puede derivarse de la incidencia de factores ambientales, mal manejo de las semillas en la recolección, proceso de secado y almacenamiento. Este hecho presupone además que las diferencias entre los valores de porcentaje de germinación entre las procedencias se deben fundamentalmente a diferencias en su deterioro [Bonner *et al.*, 1992].

TABLA 1
Clases de calidad de las semillas de *Pinus caribaea* var. *caribaea*

Localidad	Clase de calidad	Rango del porcentaje Germinación (%)	Conductividad eléctrica ($\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$)
Marbajita	Media	65-85	55-100
	Baja	40-65	101-180
Malas Aguas	Mala	< 40	> 180

Es importante señalar que los análisis realizados parten del supuesto de que la relación funcional entre la conductividad eléctrica y el porcentaje de germinación debe ser una característica de la especie, y los resultados para las procedencias estudiadas deben encontrarse sobre la misma curva.

En la *Tabla 2* se observan los modelos lineal y polinomio de segundo grado, muestran todos sus parámetros significativos y valores muy

similares respecto al error estándar de estimación del modelo y error medio absoluto. A pesar de que el modelo lineal presenta una mayor varianza, muestra un menor desvío respecto a los valores observados. Se seleccionó el modelo lineal porcentaje de germinación = $101,48 (\pm 2,32) - 0,38 (\pm 0,01) \times$ conductividad eléctrica por presentar mejor ajuste (*Fig. 2*) que el modelo polinomio de segundo grado (*Fig. 3*).

TABLA 2
Estadísticos de ajuste y estimaciones de los parámetros de los modelos para el diámetro normal

Modelo	Lineal	Polinomio segundo grado	Polinomio tercer grado	
R ²	87,3	90,1	90,1	
DA	-0,09	11,53	3,63	
E E E	$\pm 9,45$	$\pm 8,40$	$\pm 8,42$	
EMA	7,11	6,18	6,21	
CME	89,252	70,63	70,90	
D-W	1,83 NS	1,79 NS	1,80 NS	
P-valor	***	***	***	
Parámetros	a	$101,48 \pm 2,32$ ***	$128,46 \pm 5,63$ ***	$117,45 \pm 15,00$ ***
	b	$-0,38 \pm 0,01$ ***	$-0,82 \pm 0,09$ ***	$-0,58 \pm 0,32$ NS
	c	-	$0,001 \pm 0,0003$ ***	$-0,00002 \pm 0,002$ NS
	d	-	-	$0,000002 \pm 0,000004$ NS
*** P < 0,001		** P < 0,01	* P < 0,05	NS-P > 0,05

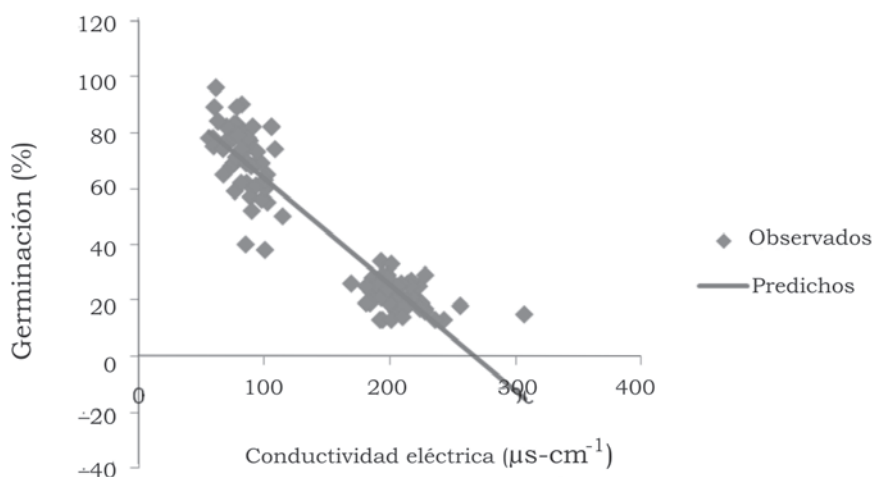


Figura 2. Modelo lineal ajustado al porcentaje de germinación.

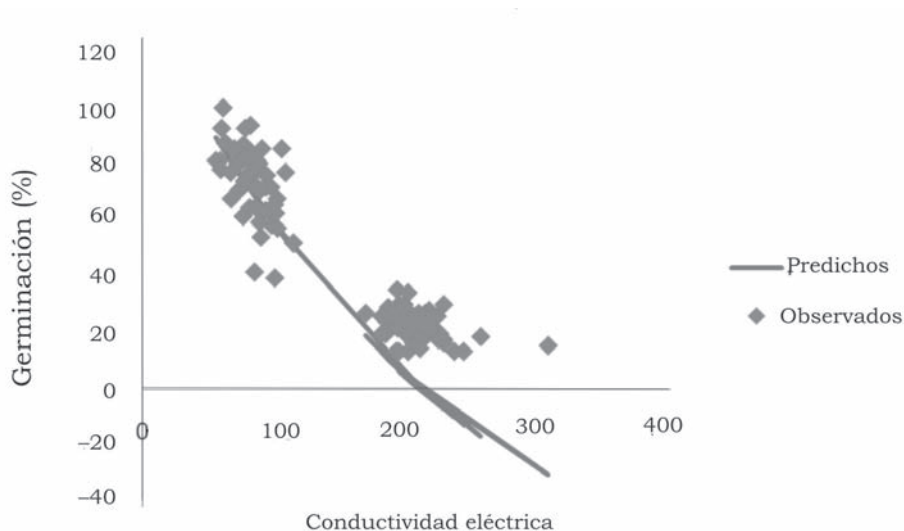


Figura 3. Modelo polinomio de segundo grado ajustado al porcentaje de germinación.

Este resultado se corrobora con los obtenidos por Bonner (1991a, 1991b, 1992) en la Estación Experimental Forestal del sur en Nueva Orleans para la determinación de las clases de calidad en especies de pinos americanos, donde obtuvo que la conductividad eléctrica del agua de lixiviado se correlaciona aproximadamente lineal con el porcentaje de germinación, lo que reafirma que a través del modelo lineal se obtiene una buena estimación de la variable en estudio.

CONCLUSIONES

- La viabilidad de las semillas de acuerdo con la prueba del tetrazolio para la procedencia de Marbajita fue del 82 %, y para Malas Aguas un 22 %, mientras que el porcentaje de germinación resultó de un 70 y 20,3 %, respectivamente.
- Las semillas de la procedencia Marbajita se ubica en las clases de calidad media y baja, y Malas Aguas se sitúa en la clase de calidad mala.

- El modelo de mejor ajuste en la modelación del porcentaje de germinación resultó: porcentaje de germinación = $101,48 (\pm 2,32) - 0,38 (\pm 0,01) \times$ conductividad eléctrica.

RECOMENDACIONES

1. Continuar estudios con semillas de otras procedencias y diferentes tiempos de almacenamiento.
2. Realizar nuevas pruebas variando el volumen de agua para la imbibición de las semillas durante 24 h, así como variando también la cantidad de semillas.
3. Utilizar este método como un instrumento importante en futuras investigaciones forestales relacionadas fundamentalmente con estudios precisos de fechas de recolección.

BIBLIOGRAFÍA

- ALDER, D. 1980. Estimación del volumen forestal y predicción del rendimiento con referencia especial a los trópicos. Estudios FAO Montes 22/2. Roma, Italia. 118 pp.
- BESNIER, F. 1989. *Semillas, biología y tecnología*. España. Ediciones Mundi. Prensa S.A Madrid. 636 pp.
- BONILLA, M. 2001. Evaluación del comportamiento de *Pinus tropicalis* Morelet en la fase de vivero con tubetes. 42 h. Tesis (en opción al grado de Doctor en Ciencias Forestales). Universidad de Pinar del Río.
- BONNER, F. T. 1991a. Estimating seed quality of southern pines by leachate conductivity. Resp. Pap. SO-263. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 4 pp.
- BONNER, F. T. 1991b. Leachate Conductivity: A Rapid Nondestructive Test for Pine Seed Quality. Resp. Pap. SO-263. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 4 pp.
- BONNER, F. T. AND BOZO, J. A. 1986. «Evaluation of Tree Seed by electrical conductivity of their leachate». *Journal of Seed Technology* (EU) 10: 142-150.

BONNER, F. T.; AGMATA-PALIWAL, A. 1992. Rapid Tests of Seed Quality in *Picea* species by the leachate conductivity method. In. DeHayes, Donald H.; Hawley, Gary J., eds. Proceedings of the 1st Northern Forest Genetics Association Conference; Conference theme: "Genetics in forest biology", 1991 July 23-25; Burlington, VT. Berea, KY: Northern Forest Genetics Association: 69-75.

BRADBEEER, J. W. 1988. Seed, Dormancy and Germination. Blackie Glasgow and London. First Published. 220 pp.

CARNEIRO, J.; AGUIAR, I. 1993. Armazenamento de semente em Sementes Florestais Tropicais. Boletim Comitê Técnico de Sementes Florestais. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes. Brasília DF. 350 pp.

FORS, J. 1967. *Manual de Silvicultura*. La Habana. Instituto Nacional de Desarrollo y Aprovechamiento Forestal. 354 p.

GUERRA, C. W.; CABRERA, A.; FERNÁNDEZ, L. 2003. «Criterios para la selección de modelos estadísticos en la investigación científica». *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* (CU) 37(1): 3-10.

ISTA 1985. Normas Internacionales para ensayos de semillas. Madrid. Ministerio de la Agricultura. 134 p.

KIVISTE, A. ET AL. 2002. Funciones de crecimiento de aplicación en el ámbito forestal. Ministerio de Ciencia y Tecnología. Madrid. Instituto de Investigaciones y Tecnología Agraria y Alimentaria, 190 pp.

LANDIS, T. D. ET AL. 1999. The Container Tree Nursery Manual. Volume Six. Seedling Propagation USDA Forest Service. Handbook 674 Washington DC. 167 pp.

MINAG. 1971. Norma cubana 71:8:47 para la determinación de la calidad de semillas forestales.

MINAG. 1996. Programa de Desarrollo Económico Forestal 1997-2015. La Habana. pp. 1-6.

PRODAN, M. ET AL. 1997. Mensura Forestal. Serie de investigación y educación en desarrollo sostenible. San José. Costa Rica. 586 pp.

Software estadístico Statgraphics *Plus* version 5.1 sobre Windows, 1995.

TORRES, V.; ORTIZ, J. 2005. «Aplicaciones de la modelación y simulación en la producción y alimentación de animales de granja». *Revista Cubana Ciencia Agrícola* (CU) 39:397.

VILLAR, P. 2000. Comunicación Personal.

RESEÑA CURRICULAR

Autora principal: Yenia Molina Pelegrín

Ingeniera Forestal, máster en Agroecología y Agricultura Sostenible, investigadora Aspirante de la Estación Experimental Agro-Forestal Guisa, profesora instructora adjunta de la Universidad de Granma, Sede Universitaria Municipal Guisa, su labor investigativa ha estado dirigida en las temáticas de conservación de especies amenazadas de la Sierra Maestra, productos forestales no maderables y silvicultura urbana. Ha participado activamente en eventos nacionales e internacionales con resultados relevantes.