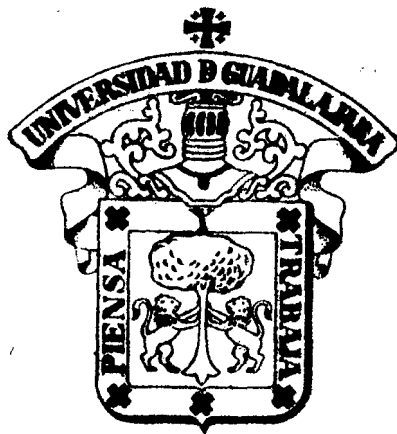


UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS
BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS AGRONOMICAS



PRUEBAS DE GERMINACION EN SEMILLA ALMACENADA DE PINO

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO
P R E S E N T A N
RITA MARIA DE LA ROSA SOBERANO
JOSE DE JESUS PEREZ GONZALEZ
CONSTANTINO HERNANDEZ CASILLAS
LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL. JUNIO 1995



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISION DE CIENCIAS AGRONOMICAS

OFI84057/95
OSU80057/95
OEA86057/95

COMITE DE TITULACION CLAVE:

SOLICITUD Y DICTAMEN

SOLICITUD

M.C. SALVADOR MENA MUNGUÍA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACION
PRESENTE.

Conforme lo indica la Ley Orgánica de la Universidad de Guadalajara y su Reglamento, así como lo establece el Reglamento Interno de la División de Ciencias Agronómicas, he reunido los requisitos necesarios para iniciar los trámites de Titulación, por lo cual solicito su autorización para realizar mi TRABAJO DE TITULACION, con el tema:

PRUEBAS DE GERMINACION EN SEMILLA ALMACENADA DE PINO

ANEXO ORIGINAL Y DOS COPIAS DEL PROYECTO DE TITULACION:

MODALIDAD: Colectiva.

NOMBRE DEL SOLICITANTE	CODIGO	GENERACION	ORIENTACION O CARRERA	FIRMA
RITA MA. DE LA ROSA SOBERANO	079163082	79-84	FITOTECNIA	
JOSE DE JESUS PEREZ GONZALEZ	075049668	75-80	SUELOS	
CONSTANTINO HERNANDEZ CASTILLAS	078076437	81-86	EXT. AGRIC.	

Fecha de Solicitud: 4 DE ABRIL DE 1995

DICTAMEN

APROBADO (X) NO APROBADO ()

DIRECTOR: M.C. JUAN FCO. CASAS SALAS

ASESOR: M.C. HUGO MORENO GARCIA

ASESOR: ING. AURELIO PEREZ GONZALEZ

M.C. SALVADOR MENA MUNGUÍA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACION

AUTORIZACION DE IMPRESION

M.C. JUAN FCO. CASAS SALAS
DIRECTOR

M.C. HUGO MORENO GARCIA
ASESOR

ING. AURELIO PEREZ GONZALEZ
ASESOR

M.C. SALVADOR MENA MUNGUÍA
Vo.Bo. Pdte. del Comité.

FECHA: 16 DE JUNIO DE 1995

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

A LA FACULTAD DE AGRONOMIA

A NUESTROS MAESTROS

A NUESTRO DIRECTOR DE TESIS Y A NUESTROS ASESORES

DEDICATORIAS

A DIOS

A NUESTROS PADRES

A NUESTRAS PAREJAS

A NUESTROS HIJOS

INDICE

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.

RESUMEN.

1. INTRODUCCION.	1
1.1. Objetivos e hipótesis.	2
2. REVISION DE LITERATURA.	3
2.1. Conservación de germoplasma.	3
2.2. Almacenamiento y conservación de semilla.	5
2.2.1. Tipos de almacén.	9
2.2.2. Temperatura y humedad relativa.	10
2.3. Tipos de semillas en relación a su conservación.	13
2.3.1. Contenido de humedad en la semilla.	15
2.3.2. Destrucción, deterioro y envejecimiento.	18
2.4. Evaluación de germoplasma.	21
2.4.1. Estructura de la semilla.	22
2.4.2. Viabilidad de la semilla.	24
2.4.3. Condiciones para la germinación.	26
2.4.4. Germinación de la semilla.	27
3. MATERIALES Y METODOS.	30
3.1. Material genético.	30
3.2. Origen de la semilla.	30
3.3. Manejo de semilla.	30
3.4. Conservación.	31
3.5. Evaluación.	31
3.5.1. Pruebas de germinación.	31
3.5.2. Determinación de humedad.	33
3.6. Diseño experimental.	34
3.7. Materiales físicos.	35
3.7. Sitio experimental.	35
4. RESULTADOS Y DISCUSION.	37
4.1. Contenido de humedad.	37
4.2. Germinación de semilla.	39
4.3. Contenido de humedad vs Poder germinativo.	41
4.4. Período de almacenamiento vs germinación de semilla.	42
5. CONCLUSIONES.	44
6. BIBLIOGRAFIA.	46



LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1. Sitios de recolección de semilla de pino en el Bosque la Primavera.
- Cuadro 2. Fechas de recolección de semilla de pino. 1990-91.
- Cuadro 3. Contenido de humedad en semilla de pino.
- Cuadro 4. Porcentaje de germinación de semilla de pino.
- Cuadro 5. Valor de correlación y significancia entre el contenido de humedad y el porcentaje de germinación en semilla de pino.
- Cuadro 6. Promedios de germinación en cuatro fechas de evaluación.

RESUMEN

Los estudios relacionados con la conservación de la viabilidad de la semilla en diferentes condiciones, fundamentalmente de temperatura y humedad, han demostrado de una manera general, que la mayor parte de las semillas conservan su viabilidad más tiempo cuando su contenido de humedad es muy bajo (de 4 a 7 por ciento).

Sin embargo, es necesario hacer pruebas de germinación para viabilidad, tiempo después de que la semilla ha sido almacenada, para establecer un porcentaje de germinación que nos permita determinar la frecuencia de las pruebas, sobre todo cuando la muestra de germoplasma es pequeña. Estas pruebas subsecuentes de germinación nos ayudarán a establecer una curva que pueda ser extrapolada para estimar cuando deberá ser conducida la siguiente prueba.

La semilla no mantiene permanentemente su contenido de humedad, la cual establece un equilibrio con la humedad relativa del medio ambiente en que se encuentre, por lo que según cambió ésta, la semilla perdió o ganó humedad. Las semillas de pino responden de manera diferente en su poder germinativo al contenido de humedad, no existiendo un grado de asociación significativo entre los dos factores estudiados.

El porcentaje de germinación fue superior al 80 %, lo cual indica que la semilla de pino puede ser almacenada por un tiempo mayor sin que haya un detrimento en su poder germinativo. Estos resultados permiten también determinar que las pruebas de germinación se pueden conducir cada dos años sin problemas, con lo cual se reduciría el gasto y tiempo dedicado a estas pruebas.

1. INTRODUCCION.

Los estudios relacionados con la conservación de la viabilidad de la semilla en diferentes condiciones, fundamentalmente de temperatura y humedad, han demostrado de una manera general, que la mayor parte de las semillas conservan su viabilidad más tiempo cuando su contenido de humedad es muy bajo (de 4 a 7 por ciento).

Sin embargo, es necesario hacer pruebas de germinación para viabilidad, tiempo después de que la semilla ha sido almacenada, para establecer un porcentaje de germinación que nos permita determinar la frecuencia de las pruebas, sobre todo cuando la muestra de germoplasma es pequeña. Estas pruebas subsecuentes de germinación nos ayudarán a establecer una curva que pueda ser extrapolada para estimar cuando deberá ser conducida la siguiente prueba.

Las condiciones de almacenamiento utilizadas para colecciones de germoplasma involucran bajo contenido de humedad en la semilla (5-6 %) y temperaturas bajas (-20 °C), las cuales extienden grandemente la vida de la semilla en el banco de germoplasma, lo cual reduce la necesidad de un frecuente rejuvenecimiento. El contenido de humedad final para un almacenaje seguro de semilla, oscila entre 4 y 14 %, dependiendo de la clase de semilla, del tipo de almacenamiento y del periodo de almacenaje previsto.

Cada vez que una colección pierde su viabilidad eleva el costo de mantenimiento, por lo que se debe tener cuidado de conservarlas en un local adecuado y manejar muy cuidadosamente para evitar mezclas mecánicas, errores en los registros o pérdidas por plagas y enfermedades.

Es importante por lo tanto, hacer estudios relacionados con la conservación de la

viabilidad de la semilla en diferentes condiciones, fundamentalmente de temperatura y humedad, que permitan demostrar de una manera general, en este caso, que las semillas de 5 especies de pino utilizadas en el experimento, conservan su viabilidad más tiempo cuando su contenido de humedad es muy bajo.

1.1. Objetivos e hipótesis.

Los principales objetivos del presente trabajo son:

1. Determinar si el contenido de humedad en la semilla de pino almacenada es un factor crítico cuando las muestras son secadas y refrigeradas.
2. Encontrar el punto de germinación en el cual la pérdida de la viabilidad es incrementada.
3. Conocer el tiempo que puede permanecer la semilla de pino almacenada sin que disminuya su capacidad de germinación, para así determinar la frecuencia de las pruebas.

La hipótesis que se plantea en el presente trabajo es la siguiente:

El tiempo de almacenamiento y el contenido de humedad de la semilla de pino, afectan el potencial de su germinación.

2. REVISION DE LITERATURA.

2.1. Conservación de germoplasma.

Hasta hace relativamente poco tiempo, la recolección y conservación de germoplasma se realizaba con tres fines principales: establecimiento de colecciones botánicas, introducción de nuevas plantas cultivadas y obtención de nuevas variedades.

Recientemente se ha agravado dos fenómenos ya iniciados desde hace tiempo: la desaparición de especies silvestres y la disminución del cultivo de especies y variedades tradicionales. Todo esto, unido al desarrollo de las técnicas de refrigeración y de los cultivos de tejidos en laboratorio ha impulsado la necesidad y ha favorecido la posibilidad de conservar germoplasma de todo tipo con fines diversos (Besnier, 1989).

Cuando se habla de la conservación de recursos genéticos es indispensable tener siempre en la mente que lo que trata es de preservar con la mayor integridad posible la variabilidad genética de la población objeto de conservación. Esta puede tener un primer objetivo que es la introducción de material genético a una determinada región. Este es el caso del que se colecta en otras zonas, para después ser llevado a una región en particular. El segundo objetivo es el de la investigación, en este caso se encuentran los estudios que se hacen en taxonomía, relaciones filogenéticas, evolución, citogenética, fisiología, etc. El tercer objetivo es fitomejoramiento. Por ser esta la última parte de la conservación que ha aportado mas resultados de tipo práctico, es en la que generalmente se piensa, olvidando los otros objetivos, cuyos beneficios quizás se ven más en el largo que en corto plazo (Montes, 1978).

Lo anterior implica la formación de centros de recursos genéticos, cuyas funciones principales son conservación, exploración, documentación e intercambio. En ciertos casos se les ha llamado "bancos de germoplasma" y esta expresión da una idea de su carácter: acumular, incrementar e intercambiar germoplasma, como en la operación de cualquier banco, depositando y extrayendo materiales (León, 1978).

Todos los ejemplares depositados en los bancos de germoplasma debieran estar bien documentados, pre evaluados y descritos en un sinúmero de caracteres y ambientes. Ya que con frecuencia las descripciones minuciosas son poco utilizadas en los programas de investigación, por lo que no es fácil prever con suficiente anticipación cuales caracteres tendrán relevancia para aumentar la producción y la calidad, o ambas, a los problemas fitosanitarios que se presentaran en el futuro (Ortega, 1978).

Debido a lo anterior parece deseable que la descripción preliminar consista en la toma de datos de algunos caracteres, generalmente de tipo taxonómicos simples, que permitan tener una idea de las características generales de la muestra, pero que a la vez hayan sido escogidas de tal manera que su obtención resulte relativamente fácil.

Los recursos genéticos, como parte del patrimonio natural de un país o región, deben recibir atención en su conservación, mejoramiento y uso, para hacer de ellos un elemento activo en el avance de los países; no se pueden circunscribir a su área autóctona, ni por principios científicos, ya que sería limitar el intercambio cultural, ni por leyes, que siempre son fáciles de burlar. Lo sensato es que los países de alta riqueza genética, organicen sus propios medios de preservarla, principalmente para su propio uso y para intercambio con otros (Sneep & Hendriksen, 1979).

Un paso importante en la conservación, es la definición del estado actual que guardan los recursos genéticos. Este estudio permite identificar aquellas especies cuyo peligro de extinción sean inminentes, de tal manera que se le da solución al problema en el menor tiempo posible. El mismo estudio será básico para delimitar las zonas cuya riqueza genética se halla mas amenazada, de tal forma que se pueda elaborar una secuencia priorizada para la explotación y colecta de especies nativas.

La conservación de los vegetales se hace basada en su reproducción sexual o asexual (vegetativa), en forma natural o inducida. Para ello es necesario contar con gametos masculinos (polen), gametos femeninos, semilla y material vegetativo, según el caso.

Cuando la reproducción es en forma natural, todos los elementos se encuentran en el lugar, por lo tanto el problema se concreta a protección y conservación del área. Sin embargo para estar seguro de contar con germoplasma de una población en el caso de que esta quedara exterminada por algun desastre, se recurre a la colección y preservación de polen, semilla y material vegetativo (Villarreal y Jasso, 1978).

2.2. Almacenamiento y conservación de semilla.

El objetivo principal del almacenamiento de las semillas es su adecuada distribución temporal o espacial. Las semillas han de almacenarse, como mínimo, desde que termina su limpieza hasta que comienza la próxima temporada de siembra pero, en general, su período de almacenamiento dura más tiempo. Ello permite la regulación del suministro de semillas ante posibles variaciones, en cantidad y calidad, de las cosechas de los distintos años y facilita la producción de semilla de algunas especies y variedades de escaso volumen de ventas que pueden

así cultivarse en superficies y en cantidades suficientes para asegurar su obtención en condiciones económicas y técnicas convenientes.

Las muestras que se reciben para las colecciones varietales y para los bancos de germoplasma han de ser tratadas con estrictas precauciones, especialmente si provienen de países de clima tropical en los que se desconoce exactamente que plagas pueden atacar a las semillas recibidas y si dichas plagas pueden o no reproducirse en almacén. Si tales semillas no vienen acompañadas de certificado fitosanitario que asegure la realización de una adecuada fumigación previa al envío, tales muestras deben fumigarse tras su recepción.

En los bancos de germoplasma, donde las semillas se guardan en frascos cerrados y a baja temperatura, los riesgos de infestación pueden no ser muy grandes pero cuando se trata de muestras recibidas en los almacenes de colecciones varietales en los que se conservan a temperaturas ambiente hasta el momento de la siembra, deben extremarse las precauciones.

El período de almacenamiento puede ser relativamente corto, quizás de sólo algunas semanas, pero también puede suceder que una partida de semilla tenga que ser almacenada durante varios años. El período de almacenamiento de las semillas debería venir definido por el tiempo total comprendido entre su maduración y el final de las operaciones de siembra, aunque un lote de semilla sufra varias operaciones como las de limpieza y envasado o el período de espera en que es conservado, pero es importante que el período total desde la maduración hasta la siembra sea considerado como período de almacenamiento, porque es durante este tiempo cuando la semilla está sujeta a las adversas influencias del medio que pueden producirse en el almacén (Mateo y Casallo, 1989).

Por otra parte, el almacenamiento hace posible una más eficaz utilización de las



instalaciones de limpieza y acondicionamiento, así como la localización de partidas en las diversas zonas de utilización y conservación de material genético, básico, de generaciones anteriores y de germoplasma.

El almacenamiento ha de hacerse en condiciones tales que la capacidad germinativa de las semillas se conserva en un buen nivel durante el mayor tiempo posible. Ha de tenerse en cuenta, sin embargo, que la valoración técnica del límite útil de esta capacidad germinativa es muy distinta según se trate de semillas comerciales o de semillas que no lo son.

Los problemas de almacenamiento de semillas están muy directamente relacionados con el clima y con la organización y nivel de las actividades de producción y comercio. En países subtropicales y tropicales, donde las condiciones climáticas son desfavorables (alta humedad ambiental y elevada temperatura) las dificultades de almacenamiento provienen muy frecuentemente de la falta de recursos para la instalación de una red adecuada de almacenes.

En climas templados, muchos problemas se ocasionan o tienen su origen en los almacenes de los agricultores en cuyas fincas se han establecido los cultivos para semilla o en los almacenes de los minoristas encargados de su distribución y venta. Estos almacenes están fuera del control directo de las empresas productoras de semillas, pero su importancia no debe olvidarse.

Cuando el mercado lo aconseje y económicamente lo permita, para la venta en zonas húmedas y cálidas las semillas pueden envasarse en sacos con materiales impermeables al agua o en envases herméticos.

También se utilizan las cámaras de conservación para el almacenamiento de semillas comerciales de alto precio, que han de conservarse durante varios años, como sucede con las semillas de hortalizas y sobre todo, para la conservación a muy largo plazo de material genético,

semilla de base y de generaciones anteriores y de colecciones de germoplasma en los bancos de genes.

En bancos de germoplasma con colecciones activas que se renuevan periódicamente y en los cuales se reciben y envían muestras constantemente, el almacenamiento a medio plazo se hace secando las semillas hasta un 5% de contenido de humedad y colocándolas en envases herméticos a 0-10 °C. Si los envases no son herméticos deben intentarse rebajar la humedad relativa de la cámara hasta en 15%.

Las normas del IBPGR para el almacenamiento a largo plazo en bancos de germoplasma consisten en la desecación de las semillas al 5% de contenido de humedad, envasado hermético y mantenimiento a temperaturas de 18-20 °C bajo cero.

Recientemente se ha iniciado la experimentación a largo plazo sobre los efectos de la conservación de semillas en envases herméticos en nitrógeno líquido (160 °C bajo cero). La mayoría de las semillas ortodoxas pueden secarse suficientemente para resistir sin daños la congelación a tal temperatura aunque en algunos casos se han observado daños si el contenido de humedad es excesivamente bajo. Este sistema ofrece, indudablemente, muchas más complicaciones de todo tipo que la conservación a 18-20 °C bajo cero, pero se espera que aumente la vida útil de las muestras y que a largo plazo (10 años) resulte más económico. De momento se desconoce el tiempo durante el cual las semillas pueden conservar su viabilidad.

La conservación en estratificación en frío es posible, sin más, para todas aquellas especies o variedades en las que las mismas condiciones de la estratificación (humedad, temperatura, oscuridad) permiten el mantenimiento del letargo a largo plazo. Cuando esto no sucede, como puede ser el caso de las semillas de cereales, las semillas terminan por germinar;

para evitarlo pueden usarse inhibidores de germinación u otros procedimientos.

Este método de conservación sólo está experimentado en algunas semillas y a un plazo medio y por otra parte, el espacio que se necesitaría en los almacenes sería tan grande que por ahora sólo parece factible de utilizar en algunas situaciones especiales en las que exista un gran interés en mantener un alto nivel de capacidad germinativa y en reducir al mínimo las anomalías cromosómicas causadas por el envejecimiento (Besnier, 1989).

2.2.1. Tipos de almacenes.

Almacenes abiertos. Son aquéllos que no están sometidos a más acondicionamiento, en lo que respecta a la humedad ambiental y a la temperatura, que el que pueda proporcionar la ventilación. Salvo casos especiales, estos almacenes constan de un solo piso, ya que es el tipo de construcción más barato; tienen amplias luces que facilitan la distribución y localización de lotes y partidas así como la instalación y funcionamiento de los equipos de transporte.

Almacenes acondicionados. Son almacenes cerrados, con ventilación controlada y donde se regulan la humedad ambiental y la temperatura o ambos factores. El tipo de acondicionamiento depende mucho del clima de la región donde esté localizado el almacén, del plazo de almacenamiento y del valor de la semilla almacenada.

Dado que el acondicionamiento es caro, tanto en los aspectos constructivos como en los de funcionamiento, no es frecuente el acondicionamiento completo (humedad y temperatura) durante todo el año, salvo en zonas tropicales y para programas especiales de producción de semillas; en tales casos, las condiciones de conservación de la semilla comercial, bien seca,

suelen ser de 20 °C y 50% de humedad relativa ó 10 °C y 60% de humedad relativa para un período de almacenamiento de 18 meses.

En regiones húmedas, pero frescas o frías, donde las temperaturas no son altas en verano, puede ser rentable e interesante la regulación de la humedad ambiental del almacén, manteniéndola en los límites del 65% e introduciendo la semilla con un contenido de equilibrio con tal humedad inferior en un 1-2% al contenido de equilibrio con tal humedad relativa ambiental; en algunas situaciones el almacén debe tener también un aislamiento térmico suficiente para los meses de verano (Besnier, 1989).

2.2.2. Temperatura y humedad relativa.

Poco se puede hacer acerca de la temperatura cuando la semilla es secada con aire ordinario o a la temperatura ambiente. Por tanto, la humedad relativa del aire llega a ser un punto clave. El secamiento más económico con aire a la temperatura ambiente se logra cuando la humedad relativa atmosférica es inferior a 70%.

Un ejemplo de la importancia de la humedad relativa: si el aire para secar alcanza el ciento por ciento de saturación durante su paso a través de la semilla, a 80 °C y 40% de humedad relativa tendrá cerca del doble del potencial del secamiento que a 80 °C y 70% de humedad relativa.

Aunque la temperatura no es controlada, también puede influir en el aire natural de secamiento, porque el máximo de humedad que el aire puede contener depende de su temperatura.

Cuando se emplea aire calentado para secar semillas, la temperatura de secamiento comúnmente no debe exceder 110 °C.

La inyección de aire solamente en una dirección, a través de la masa de semilla, se practica en casi todos los secamientos con aire a la temperatura ambiente y en la mayoría de los secamientos con aire calentado.

El secamiento en doble sentido, o de corriente de aire inversa, se practica invirtiendo la dirección del movimiento de aire a través de la masa de semilla durante la operación de secado. Con esto se logra un movimiento más uniforme de la masa de semilla y no se necesitan fuertes intensidades de corriente de aire. El tiempo de secado y los costos de operación se reducen ligeramente (Besnier, 1989).

Los contenidos máximos de humedad que han de tener las semillas de diversas plantas para ser admitidas a certificación aseguran, en condiciones normales de almacenamiento, una conservación satisfactoria de tales semillas sin sufrir deterioros fúngicos durante los años que habitualmente suele durar su almacenamiento.

Una vez sacadas, las semillas no mantienen permanentemente el contenido de humedad con que han salido del secadero sino que, al almacenarse, se establece un equilibrio con la humedad atmosférica relativa del almacén por lo que, según sea esta, pueden perder o ganar humedad.

La atmósfera que rodea a las semillas es distinta, según los casos. Las semillas colocadas en un sobre de papel de pocos gramos de peso están prácticamente en contacto con la atmósfera del local donde tales sobres están colocados y estas semillas alcanzan rápidamente el equilibrio con la humedad ambiente. Sin embargo, si las semillas están almacenadas a granel, en silos o

en grandes montones o si están envasadas en sacos y éstos están apilados en grandes volúmenes, el equilibrio con la atmósfera ambiental sólo se produce en el exterior de los montones o pilas y ello a largo plazo.

De esto resulta que en las condiciones normales de envasado y almacenamiento, la atmósfera que rodea a las semillas está constituida por el aire atrapado entre las semillas individuales (especies intersticiales) en el momento del envasado y los equilibrios se establecen entre las humedades de esta atmósfera y la de las semillas influyendo poco, a corto plazo, la humedad ambiental del almacén.

De aquí la extrema importancia de envasar las semillas bien secas pues de lo contrario, la atmósfera de los espacios intersticiales adquirirá pronto una humedad relativa elevada lo que dará lugar al desarrollo de hongos.

También ha de tenerse en cuenta que la atmósfera del almacén que, a largo plazo ejerce cierta influencia sobre la humedad de, al menos, una parte de las semillas, puede tener una humedad relativa distinta de la del aire exterior, especialmente en almacenes de un solo piso que no están aislados de la humedad del suelo sobre el que están contruidos.

En el desarrollo de los hongos de almacén tiene también importancia la temperatura de la masa de semillas; en general el desarrollo es muy rápido a temperaturas de 30 - 33 °C y muy lento por debajo de los 10 °C, incluso con humedades relativas del 85 por ciento.

De manera general se admite que si la humedad relativa de la atmósfera que rodea a las semillas no es superior al 64% no es probable que se desarrollen hongos de almacén.

La necesidad de multiplicación y la frecuencia de regeneración está en función del tamaño de la muestra inicial, la demanda de uso y la longevidad de la semilla bajo las condiciones de

almacenamiento. La multiplicación y la regeneración de las entradas de semillas son requeridas para (a) rejuvenecimiento de muestras almacenadas, (b) evaluación y (c) disponibilidad para los usuarios (mejoradores e investigadores).

Las condiciones de almacenamiento utilizadas para colecciones de germoplasma involucran bajo contenido de humedad en la semilla (5-6 %) y temperaturas bajas (-20 °C) extienden grandemente la vida de la semilla en el banco de germoplasma, lo cual reduce la necesidad de un frecuente rejuvenecimiento. Colecciones más activas son mantenidas a una frecuencia más alta (0-5 °C) para evaluación y distribución. Donde la demanda es más alta, puede ser permitido incrementar el tamaño de la muestra almacenada, lo cual puede reducir la frecuencia de la regeneración (Breese L, 1989).

En general la semilla colectada es secada a 6-8 % de humedad, envasada y conservada a -20 °C que mantiene inalterable la viabilidad para muchas muestras durante periodos extensos de tiempo. De aquí que la humedad no sea un factor crítico en la semilla almacenada cuyas muestras son secadas y refrigeradas.

En cambio, semillas de algunas especies no pueden ser refrigeradas y son almacenadas aproximadamente a 5 °C y 40 % de humedad relativa, una combinación que ha demostrado dar una larga preservación de muchos tipos de semillas. Las muestras son regeneradas cuando alcanzan un cierto nivel bajo. Los conservadores tienen diferentes métodos de indicación de ese nivel; peso, número de semillas, etc. (Chapman, 1989).

2.3. Tipos de semilla en relación a su conservación.

La mayoría de las semillas de plantas cultivadas y silvestres mantienen mejor su

viabilidad cuando se conservan con bajo contenido de humedad y baja temperatura. Esto se refiere incluso a semillas de plantas leñosas de clima templado que entran en letargo profundo cuando se secan y que, a corto o medio plazo, se suelen conservar estratificadas entre capas de arena o turba húmeda. Estas semillas se denominan "ortodoxas" y con ellas es posible controlar las condiciones ambientales de conservación para prolongar su tiempo de vida útil.

Existen, sin embargo, diversas especies cuyas semillas no pueden ser almacenadas, sin pérdida de su viabilidad, más que durante breves períodos de tiempo (semanas o meses, cuando más) pues resultan dañadas cuando se desecan o se someten a temperaturas inferiores a los 10 grados C.

Estas especies suelen ser plantas leñosas de clima tropical pero incluyen también algunos árboles forestales de clima templado. Sus semillas reciben la denominación de "recalcitrantes"; ejemplo, *Quercus* spp.

Actualmente estas semillas recalcitrantes se suelen conservar en sacos de polietileno delgado, con libree acceso al oxígeno del aire, mezcladas con serrín húmedo después de haberlas tratado con un fungicida.

Las semillas comerciales sometidas a control han de cumplir unos requisitos mínimos en lo que afecta a su capacidad germinativa. Estas semillas pierden su valor de siembra cuando su germinación es inferior al mínimo exigido. Por otra parte, dentro de estas semillas hay que distinguir entre las plantas de gran cultivo cuyo producto agrícola normal es el grano y las restantes.

En las primeras, la producción de semilla es relativamente fácil y de gran volumen, por lo que habitualmente se utiliza semilla de la última cosecha complementada con algunas partidas

de la penúltima cosecha dada la necesidad de contar con algunas reservas, especialmente en regiones de clima árido y dada las inevitables discrepancias entre las previsiones de siembra y los resultados de producción y venta. Estas semillas se almacenan, en general, durante un plazo máximo de unos 18 meses y salvo grandes fallos en la última cosecha, los sobrantes se retiran de la venta incluso si conservan una capacidad germinativa superior a la mínima. En estas condiciones, los gastos de almacenamiento han de ser bajos y lo normal consiste en almacenar estas semillas en almacenes abiertos, no acondicionados.

En las restantes especies, la producción de semilla no es tan fácil, las diferencias entre previsiones y resultados de cosechas suelen ser grandes y frecuentemente las cantidades vendidas anualmente de muchas variedades son pequeñas; esto hace que sea prácticamente imposible producir todos los años semillas de todas las variedades. Estas semillas han de conservarse en almacén durante más años que las anteriores, hasta que su capacidad germinativa descienda al nivel mínimo admitido. En semillas hortícolas, su gran valor y su volumen relativamente pequeño hacen posible la conservación en almacenes acondicionados (Besnier, 1989).

2.3.1. Contenido de humedad en la semilla.

El alto contenido de humedad en las semillas durante el almacenamiento es una de las razones principales por las que pierden su capacidad de germinar.

La humedad afecta el grado de respiración de las semillas y los microorganismos, a grados de humedad superiores al 20% pueden producir calor con la rapidez suficiente para destruir la semilla o empezar incendios en una masa de semilla. Algunas semillas sufren daño mecánico en el manejo y el tratamiento, si su contenido de humedad es alto.

El moho tiende a desarrollarse en los lotes húmedos de semilla, sobre todo cuando la semilla tiene rajaduras o está dañada y los mohos pueden entrar y desarrollarse más fácilmente. El daño de insectos también se relaciona con la humedad de la semilla, pero la mayoría de los gorgojos e insectos no pueden multiplicarse propiamente a grados de humedad inferiores, cercanos al 8% y tienden a morir. Cuando se usa fumigación para controlar los insectos, aumenta el peligro de daños a la semilla, debido a los altos grados de humedad en la misma. Finalmente, las semillas húmedas tienden a adherirse unas a otras y dificultan un buen manejo y operación del equipo de su tratamiento.

Por tanto, las semillas deben ser secadas a fin de que su tratamiento y almacenaje sean satisfactorios.

La gente siempre ha secado las semillas por medio del calor solar y actualmente tanto por medios artificiales como por medio del calor del sol. Básicamente, el secado es simplemente la evaporación de la humedad.

Cualquier líquido, a una temperatura dada, tiene una presión de vapor determinada, la cual tiende a producir vaporización. La humedad en la semilla ejerce tal presión. El vapor de agua en la atmósfera ejerce una presión similar.

El secado de la semilla pueden lograrse solamente cuando la presión del vapor de la humedad de la semilla es mayor que la resistencia de la presión del vapor que rodea al aire. El grado de secamiento baja a medida que el diferencial de presión del vapor disminuye. El secamiento cesará cuando se alcance un equilibrio entre las presiones de vapor. En este punto, la humedad se llama contenido de humedad de equilibrio de la semilla, a las condiciones de la atmósfera.

La humedad que ha de eliminarse por medio del secamiento se encuentra en la semilla en dos formas principales: (1) la humedad que se encuentra en la superficie externa, que absorbe el aire rápidamente bajo condiciones y apropiadas y (2) la humedad interna, la cual se encuentra distribuida a través de las partes internas de la semilla. La eliminación de esta humedad implica acción capilar o difusión hacia la superficie, donde la evaporación puede realizarse.

Los muchos medios de secado de semillas pueden clasificarse en naturales o artificiales: El secado natural se lleva a cabo con movimiento natural peculiar del aire atmosférico, alrededor de la semilla húmeda esparcida en bandejas, lonas, pisos o campos.

El secado artificial puede ser hecho con aire calentado o aire a la temperatura ambiente, con aire humedecido o con vacío parcial. En cualquier caso, las condiciones peculiares del aire facilitan el secamiento, cuando se usan juntamente con un movimiento de aire impelido a través de la semilla. El calentamiento del aire eleva su punto de saturación y crea un medio sediento que absorbe la humedad rápidamente.

El secamiento al vacío es otra manera de eliminar la humedad de la semilla. Al igual que en la del aire deshumedecido, esta forma generalmente es usada en situaciones especiales, cuando la semilla debe ser secada a un contenido muy bajo de humedad.

El tiempo total de secamiento de cualquier semilla está relacionado con el contenido inicial y final de humedad y la velocidad de secado de la semilla, la intensidad de la corriente del aire y la temperatura del aire para secar.

Mientras mayor sea el grado de humedad, mayor será el tiempo que se necesita para lograr las condiciones de sequedad deseada. La velocidad de secado de la semilla también influye en la duración del secamiento. La mayoría de las semillas tienen una rápida velocidad de

secamiento a altos contenidos de humedad, pero también decrece fuertemente a medida que se aproxima al contenido final del grado de humedad deseado. Se puede necesitar un tiempo considerable para eliminar el último porcentaje de humedad.

El contenido de humedad final para un almacenaje seguro de semilla, oscila entre 4 y 14 %, dependiendo de la clase de semilla, del tipo de almacenamiento y del periodo de almacenaje previsto. Generalmente son deseables menores contenidos de humedad para períodos más largos de almacenaje y tomando también en cuenta las condiciones de confinamiento del almacén.

Hay muchas formas de secar las semillas cosechadas, pero todas tienen una finalidad: Ayudar a proporcionar semilla que crezca vigorosamente cuando se siembre. El secamiento, ya sea con aire artificial o natural, debe reducir el contenido de humedad de las semillas, de tal manera que, con almacenaje eficiente, haya disponibles buenas semillas para su importante función en la agricultura (Besnier, 1989).

2.3.2. Destrucción, deterioro y envejecimiento.

Prescindiendo de accidentes tales como inundaciones e incendios, los cuales han de prevenirse por los medios usuales comunes a todo tipo de almacén, las semillas pueden perder su valor de siembra en varias circunstancias como son; mezcla, destrucción, deterioro y envejecimiento.

La pérdida del valor de siembra no implica siempre la pérdida de la viabilidad o el descenso de ésta bajo el mínimo exigido; la rotura de envases y la subsiguiente mezcla e impurificación de las semillas las inutiliza en muchas circunstancias para la siembra; lo mismo sucede con la eventual pérdida accidental de etiquetas, especialmente en lo que respecta al

material genético.

Las pérdidas por destrucción son causadas por roedores y plagas de almacén, si bien en el caso de los primeros hay también muchas roturas de envases con impurificaciones con sus excrementos. Esta destrucción es en cierta manera, independiente de las condiciones ambientales de conservación; aunque la actividad de muchas plagas de almacén aumenta con la temperatura, el ámbito de temperaturas en el que estas plagas pueden actuar en almacenes sin refrigeración artificial es muy grande.

Cuando las semillas se encuentran a salvo de roedores y plagas, las pérdidas de viabilidad se producen por deterioro, normalmente ocasionado por hongos y por envejecimiento; todo ello depende de las condiciones ambientales de conservación sobre las que es posible ejercer, habitualmente, un control conveniente.

El deterioro de las semillas es causado por la actividad de determinados hongos de almacén, que son distintos de los hongos que atacan a las semillas en el campo; se ha visto que sus daños se producen antes o durante la maduración de las semillas y que no suelen agravarse en el almacén. Esto sucede, en parte, por que las condiciones de la semilla en reposo y el ambiente del almacén son poco apropiados para un ulterior desarrollo de estos hongos y, en parte, por que las partidas muy infestadas son desechadas en el campo y por que los granos atacados son eliminados, en gran proporción, en las operaciones de limpieza de semilla.

El envejecimiento de un lote de semillas de una determinada especie depende, en bastante medida, de su calidad extrínseca inicial. Si se supone que los efectos de los procesos sufridos por las semillas en su desarrollo, maduración, limpieza y secado se sintetizan en los valores representativos de su capacidad germinativa, su vigor y su contenido de humedad, no cabe duda

de que los lotes de semilla con alto poder germinativo, elevado vigor, buena sanidad, sin daños mecánicos y con bajo contenido de humedad envejecen menos rápidamente que los lotes que no reúnen todas o alguna de las condiciones mencionadas; todo ello, a igualdad de condiciones ambientales de conservación.

En las semillas comerciales, las exigencias de certificación limitan, en cierta medida, estas diferencias iniciales entre los lotes; en el material genético y en el germoplasma almacenado en los bancos de genes las diferencias entre los lotes pueden ser muy grandes. En ambos casos, los lotes con baja aunque con suficiente calidad inicial no deben almacenarse más que a corto plazo.

Una variabilidad inicial semejante a la existente entre los lotes se encuentra entre las semillas individuales de un mismo lote. Esto aparece bien claramente en la semilla recién cosechada que raramente alcanza el 100% de germinación y explica la pérdida gradual de la capacidad germinativa de un determinado lote aunque ciertamente, en condiciones muy favorables de conservación o en lotes de deficiente calidad inicial se produce frecuentemente, a partir de cierto tiempo de almacenamiento, una pérdida muy rápida de la capacidad germinativa.

El envejecimiento de las semillas secas se ha intentado explicar de diversas maneras tras detectar diferencias significativas en el metabolismo de semillas muertas hidratadas y de semillas vivas en germinación en lotes de alta y baja viabilidad de las muestras utilizadas en las investigaciones y otras circunstancias han producido frecuentemente resultados contradictorios.

Por otra parte, muchas de estas investigaciones se llevan a cabo sobre semillas envejecidas rápida y artificialmente (mantenidas a 95-100% de humedad relativa y 25-40 °C

durante varios días o semanas) y existen razonables dudas de que los fenómenos que se producen en estas condiciones sean análogos a los que aparecen en el envejecimiento a largo plazo de las semillas secas mantenidas a temperaturas y humedades inferiores.

El envejecimiento se produce a causa de los daños que sufren las membranas (celulares y de orgánulos: mitocondrias, plastidios, etc.), las enzimas y la cromatina (ADN y ARN mensajero). Estos daños son, muy posiblemente causados por la acción de radicales libres y productos derivados originados por la peroxidación de los lípidos de las membranas y de las sustancias de reserva, los cuales actúan directamente durante el envejecimiento en seco o interfieren en reacciones producidas en los primeros momentos de la imbibición (por ejemplo, en la respiración).

Durante el envejecimiento en seco estos daños no pueden ser separados; esta separación tiene lugar después de la imbibición, lo que produce un retraso de la germinación que se manifiesta por la pérdida de vigor. Si el daño es muy grande o las enzimas que intervienen en las acciones de reparación han resultado dañadas a su vez, la germinación no tiene lugar o la plántula muere (Besnier, 1989).

2.4. Evaluación de germoplasma.

Evaluación en el sentido amplio y en el contexto del trabajo de recursos genéticos, es la descripción del material en una colección. La información obtenida es aplicada en un número de áreas, incluyendo manejo de la colección y estudios generales.

Frankel (1970) señaló que la evaluación para la producción potencial es difícil de especificar en el estado presente de nuestro conocimiento. La interacción genotipo-ambiental es

otro fenómeno que dificulta enormemente la extrapolación de la magnitud e incluso con frecuencia inhibe la manifestación de muchas características.

Kato (1978) mencionó que paralelamente a lo anterior y aprovechando los materiales colectados, deberán llevarse a cabo otra serie de investigaciones con el fin de conocer el sistema o los sistemas genéticos que se encuentran involucrados en dichos materiales. Esto se refiere a los mecanismos de reproducción, tales como la distribución de sexos, la polinización y la incompatibilidad. Este conocimiento es de la mayor importancia, ya que de ello depende la metodología específica a seguir en el manejo del material.

Existen innumerables tipos de estudio que se podrán realizar en nuestro material silvestre. En primer término, se tiene el problema de conocer con que materiales se cuenta para cada caso particular, es decir, cuantas especies existen, cual es su distribución geográfica, cuales son totalmente silvestres y cuales semicultivadas, etc.

Este primer paso es de por si bastante complejo debido a los problemas particulares relacionados con la sistemática, la fitogeografía, la etnobotánica, etc; sin embargo estos estudios son fundamentales para que las etapas posteriores del aprovechamiento del material puedan llevarse a cabo sobre bases solidas y amplias (Miranda, 1975).

2.4.1. Estructura de la semilla.

Las semillas de diferentes plantas varían mucho en tamaño, forma, color externo y dibujos, estructura interna, cantidad y naturaleza del almacenado, pero la mayoría de las semillas constan de las siguientes partes:

1. Envoltura de la semilla.

Las envolturas de la semilla se desarrollan del tegumento o tegumentos del óvulo. Cuando existen dos envolturas, la interior es generalmente delgada y la externa gruesa y resistente constituyendo una eficiente estructura protectora. Las principales características externas que pueden encontrarse en las semillas maduras son el hilio, el rafe, el micrópilo y la chalaza. El hilio es una cicatriz que marca el sitio en que la semilla se desprendió del pedúnculo (funículo). Siempre existe, pero a veces es pequeño y poco aparente. En las plantas cuyos óvulos se encorvan al desarrollarse, de tal manera que el micrópilo quede cerca del hilio, puede haber compuesto principalmente de un haz de elementos vasculares. Este borde, formado por el pedúnculo del óvulo y que sólo existe en los óvulos en los que el funículo está fuertemente encorvado en la base, se denomina rafe. En tales óvulos, el término chalaza se aplica a la región en el extremo superior del rafe, donde el funículo se extiende y viene a unirse con la base del óvulo.

2. Endospermo.

En las semillas maduras que carecen de endospermo, éste ha sido consumido por el embrión en desarrollo, antes que la semilla alcance su máximo desarrollo. En las semillas de este tipo, como el frijol común, el chícharo, la alfalfa, el trébol, etc., el alimento almacenado está en el propio embrión, principalmente en los cotiledones. Ejemplos notables de semillas con endospermo son la higuera, el maíz, el trigo y otros cereales.

3. Embrión.

La planta rudimentaria o embrión varía mucho en su aspecto en las distintas semillas, generalmente en la forma y desarrollo relativo de las partes del embrión porque todos los



BIBLIOTECA CENTRAL

embriones están formados de los mismos órganos, los cuales en la mayoría de las semillas son:

- A. La plúmula -un tallo rudimentario.
- B. Los cotiledones -hojas de la semilla(a veces sólo uno).
- C. El hipocotilo -parte del embrión entre la unión de los cotiledones y el extremo superior de la raíz rudimentaria; muy corta en algunas semillas.
- D. La radícula -raíz rudimentaria.

2.4.2. Viabilidad de la semilla.

La obtención de colecciones implica la conservación de las mismas semillas vivas. Cada vez que una colección pierde su viabilidad eleva el costo de mantenimiento, por lo que se debe tener cuidado de conservarlas en un local adecuado y manejar muy cuidadosamente para evitar mezclas mecánicas, errores en los registros o pérdidas por plagas y enfermedades. Los estudios relacionados con la conservación de la viabilidad de la semilla en diferentes condiciones, fundamentalmente de temperatura y humedad, han demostrado de una manera general, que la mayor parte de las semillas conservan su viabilidad más tiempo cuando su contenido de humedad es muy bajo, de 4 a 7 por ciento (Jímenez, 1978).

El período durante el cual las semillas retienen su viabilidad varía grandemente entre especies. Las semillas de ciertas especies permanecen viables solamente por períodos cortos si son conservadas en condiciones normales de temperatura y humedad atmosférica. La semilla de la mayoría de las especies, sin embargo, permanecen viables por períodos considerables, generalmente por lo menos un año y frecuentemente por más tiempo (Wareing & Phillips, 1981).

La longevidad de la semilla depende principalmente de sus características intrínsecas, que

varían con la especie. Los antecedentes sobre el prealmacenamiento de un lote de semillas tienen también una influencia muy importante sobre su posterior calidad. Entre los factores que afectan al almacenamiento se incluyen el medio ambiente que ha soportado la planta madre durante su cultivo y el desarrollo de la semilla, así como las condiciones anteriores a la recolección, especialmente las climáticas durante el ciclo de producción.

Los daños mecánicos producidos en las semillas durante las operaciones de recolección, procesamiento y desecación pueden mermar la vitalidad de una partida, porque las semillas afectadas pierden vigor en relación con las no dañadas. Además las semillas perjudicadas son más vulnerables a las plagas y enfermedades de almacén. Varias formas de daños mecánicos sobre las semillas pueden producirse antes del almacenamiento. También se pueden producir daños durante el procesamiento si la semilla tiene excesiva humedad, especialmente cuando aquella está aún inmadura; por el contrario, la excesiva deshidratación produce semillas quebradizas predispuestas a romperse.

La viabilidad de las semillas puede ser afectada adversamente por los movimientos que se tengan de un lugar a otro y sembradas a destiempo si no son adecuadamente almacenadas. También es muy importante asegurar que la semilla almacenada esté protegida de riesgos como la incidencia de insectos, hongos, fuego y robo. Todo stock de semillas es costoso y su valor está relacionado con su nivel de pureza genética y su coeficiente de multiplicación. Las semillas son almacenadas normalmente bajo las condiciones más perfectas posibles con el fin de reducir la frecuencia de su producción; con ello se consigue el máximo de utilización de cada stock y se mantiene al mínimo su multiplicación (Mateo y Casallo, 1989).

2.4.3. Condiciones para la germinación.

Para la reanudación del crecimiento y desarrollo, se requieren las siguientes condiciones externas: 1) suficiente provisión de agua; 2) temperatura favorable, y 3) provisión de oxígeno. Si falta alguna, la semilla no germina.

Agua. El agua juega un papel muy importante en la germinación de las semillas. Siendo conveniente considerar especialmente las funciones que lleva a cabo el agua en la germinación de la semilla:

1.- El agua ablanda las envolturas de la semilla, permitiendo que el embrión las rompa más fácilmente.

2.- El agua absorbida por el embrión y el endospermo hace que la semilla se hinche, rompiéndose sus envolturas.

3.- El agua facilita la entrada del oxígeno a la semilla. Las paredes celulares secas son casi impermeables a los gases, pero si han embebido suficiente agua, los gases pueden difundirse fácilmente a través de ellas. Según las paredes de las células de la envoltura de la semilla y del embrión absorben agua, la provisión de oxígeno para las células vivientes aumenta, lo que hace posible una respiración más activa. Por la misma razón, el bióxido de carbono producido por la respiración puede difundirse hacia afuera.

4.- El agua diluye el protoplasma y permite que sus diversas funciones se realicen activamente. Como el protoplasma de las células del embrión y otras partes vivientes de la semilla pierden la mayor parte de su agua antes de que éstas se desprendan, sus actividades quedan casi completamente suspendidas hasta la germinación. Las células vivientes no pueden

llevar a cabo activamente ninguno de sus procesos normales (digestión, respiración, asimilación o crecimiento), a menos que su protoplasma contenga mucha agua.

5.- El agua hace posible el transporte del alimento soluble del endospermo o cotiledones a los puntos de crecimiento del embrión, donde son necesarios para formar nuevo protoplasma.

Temperatura favorable. Por cada clase de semilla hay una temperatura, llamada mínima, más abajo de la cual las semillas no germinan, y una temperatura a la cual la germinación se verifica más rápidamente, ésta es la temperatura óptima.

Oxígeno. El oxígeno es esencial para la germinación, porque sin él la respiración no puede verificarse en la semilla. La respiración es muy activa en las semillas en germinación, como en todos los tejidos donde el crecimiento y otras actividades celulares se estén realizando con gran intensidad. Por tal razón, la semilla debe disponer de grandes cantidades de oxígeno para que la germinación proceda normalmente.

2.4.4. Germinación de la semilla.

Después que la semilla ha madurado, hay un período durante el cual el crecimiento y desarrollo del embrión se detienen. La reanudación de estas actividades se llama germinación. Las células del embrión joven son muy semejantes y no existe, o sólo existe una muy ligera indicación, de los diferentes órganos que componen la planta madura. Estas células se dividen repetidas veces, aumentan de tamaño y después de algún tiempo aparecen órganos rudimentarios, como raíces, tallos y hojas. En otras palabras, existe crecimiento, que incluye aumento en el número y tamaño de las células y diferenciación. Todos los complejos tejidos y órganos que componen la plántula, y después la planta adulta, provienen de la célula germinativa fertilizada.

Los principales procesos que se verifican en la semilla durante la germinación son:

Absorción de agua. El proceso inicial en la germinación de la semilla es la absorción de agua y el consecuente ablandamiento de las envolturas e hinchamiento de la semilla. Las envolturas de la semilla están hechas en gran parte de material que toma fácilmente agua por imbibición, lo que causa una disminución de la resistencia mecánica del material embebido que, en este caso, es el de las paredes celulares de las envolturas de la semilla. La imbibición de agua de agua por el embrión y el endospermo origina un hinchamiento de estas estructuras y, como resultado de ello, la ruptura de las envolturas ablandadas de la semilla.

Digestión. Los principales alimentos almacenados en las semillas son almidón, hemicelulosa, grasas y proteínas, las cuales son sustancias insolubles o coloidales. En la semilla, estos alimentos no pueden ser transportados de célula a célula y utilizados en la construcción de protoplasma y paredes celulares hasta que se hayan cambiado a una forma soluble y difusible. El proceso de hacer a los alimentos solubles y difusibles se denomina digestión.

Transporte de alimento. La absorción de agua, la secreción de enzimas y la digestión son sólo preliminares del transporte del alimento de las células en que se almacena a las partes de crecimiento de la semilla; en consecuencia, el transporte de material debe hacerse casi enteramente por difusión de una célula viviente a otra.

Asimilación. Es la etapa final de la utilización del alimento almacenado. En la transformación de los alimentos digeridos en sustancia viviente (protoplasma) y de ciertos de esos alimentos por acción del protoplasma, en paredes celulares. Conocemos muy poco acerca de este proceso, porque para entenderlo necesitaríamos aprender antes mucho más de lo que en

la actualidad conocemos, con respecto a la naturaleza del protoplasma.

Respiración. La respiración se lleva a cabo más activamente en las semillas en germinación que en casi cualquier otro órgano o tejido de las plantas con flores. Debe recordarse que la respiración es un proceso liberador de energía, en que parte del alimento es demolido en compuestos mucho más simples, como bióxido de carbono y agua, mientras que la energía almacenada en el alimento es liberada. Esta energía es en parte usada por la plántula en la construcción de los compuestos más complejos de que está formada la planta; gran parte, sin embargo, se disipa en calor.

Crecimiento. El hinchamiento de la semilla, debido a la imbibición de agua y al crecimiento, es seguido por la ruptura de las envolturas de la semilla. Libre de ellas, provisto de agua y alimentos disueltos, y de oxígeno para la respiración, el embrión crece activamente. Su crecimiento se debe: 1) al aumento de las células ya formadas (principalmente por absorción de agua en las vacuolas y estiramiento de las paredes), y 2) a la producción de nuevas células en el punto de crecimiento de la radícula y la plúmula. El crecimiento de la radícula y la plúmula no difieren mucho del desarrollo y diferenciación de tejido de los puntos de crecimiento de la raíz y la yema terminal.

La radícula es la primera estructura del embrión que sale de la semilla. Crece hacia abajo, forma ramificaciones, desarrolla pelos radiculares y aumenta así su superficie de absorción fijando la plántula al suelo. En los encinos, chícharo y el frijol, los cotiledones permanecen bajo la superficie. Después de que la planta joven alcanza la luz y desarrolla tejido con clorofila, no depende ya del almacenamiento de alimentos de reserva dentro de la semilla, sino que es capaz de llevar a cabo la fotosíntesis (Holman y Robbins, 1982).

3. MATERIALES Y METODOS.

3.1. Material genético.

El germoplasma utilizado en el experimento incluye las especies siguientes:

1. *Pinus oocarpa*.
2. *P. douglasiana*.
3. *P. michoacana*.
4. *P. oocarpa var. trifoliata*.
5. *P. lumholtzi*.

3.2. Origen de la semilla.

La semilla de pino de las especies utilizadas en este trabajo provienen del Bosque La Primavera, cuyos sitios donde se hicieron las colectas se presentan en el cuadro 1.

Las fechas de recolección de la semilla fueron del mes de Enero al mes de Marzo de 1991, como se muestran en el cuadro 2.

3.3. Manejo de semilla.

En lo que se refiere al manejo del germoplasma, los conos de pino recolectados se sometieron a un proceso de secado, exponiéndolos al sol en cajas de madera elaboradas para tal fin, donde se liberaron las semillas una vez que abrieron las escamas. Posteriormente el material se trató con una mezcla de Captan-50 y Actellic 50 para evitar ataques de plagas y enfermedades durante el almacenamiento.

3.4. Conservación.

La semilla de pino se colocó en frascos de plástico, para su conservación en el banco de germoplasma bajo refrigeración a una temperatura de 5 °C y un rango de humedad relativa del 40 % en el mes de Marzo de 1991.

3.5. Evaluación.

La evaluación del germoplasma de pino consistió en hacer pruebas de germinación y determinación del contenido de humedad de la semilla en cuatro fechas posteriores a su almacenamiento:

1. A los 6 meses (Septiembre 1991).
2. A los 12 meses (Marzo 1992).
3. A los 18 meses (Septiembre 1992).
3. A los 24 meses (Marzo 1993).

3.5.1. Pruebas de germinación.

Para las pruebas de germinación se tomaron 400 semillas de cada especie de pino, para hacer cuatro repeticiones de 100 semillas cada una, distribuidas aleatoriamente en las tres fechas de evaluación señaladas.

La semilla se colocó en papel germinador húmedo dentro de cajas petri, las cuales se pusieron en la germinadora a una temperatura de 25 °C. La toma de datos se hizo diariamente, transformando a porcentaje y graficando los resultados obtenidos de los conteos.

Cuadro 1. Sitios de recolección de semilla de pino en el Bosque la Primavera.

ESPECIES	PROCEDENCIA
<i>Pinus oocarpa</i>	Mesa del León
<i>P. douglasiana</i>	Cerro las Planillas
<i>P. michoacana</i>	Mesa del León
<i>P. oocarpa var. trifoliata</i>	Pozos geotérmicos
<i>P. lumholtzii</i>	Cerro las Planillas

Cuadro 2. Fechas de recolección de semilla de pino. 1990-91.

Especie	Fecha
<i>P. oocarpa</i>	Diciembre - Marzo
<i>P. douglasiana</i>	Noviembre - Enero
<i>P. michoacana</i>	Noviembre - Febrero
<i>P. oocarpa var. trifoliata</i>	Diciembre - Marzo
<i>P. lumholtzii</i>	Diciembre - Marzo

3.5.2. Determinación de humedad.

Para la determinación de la humedad, se tomó también una muestra de 400 semillas en las cuatro especies de pino, formando cuatro repeticiones de 100 semillas distribuidas en forma aleatoria en cada una de las fechas de evaluación ya mencionadas anteriormente, utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{\text{PSH} - \text{PSS}}{\text{PSH}} * 100$$

Donde:

A = Peso de la semilla con humedad (PSH).

B = Peso del frasco.

C = Peso de la semilla + Peso del frasco.

D = C - B = Peso de la semilla seca (PSS).

Para el secado de la semilla, las muestras se colocaron en una estufa a una temperatura de 100 °C hasta que alcanzaran un peso constante.

3.6. Diseño experimental.

Los datos de la germinación y el contenido de humedad en la semilla se evaluaron en un diseño completamente aleatorio con 5 tratamientos y 4 repeticiones en cada prueba y una evaluación general con los datos de las cuatro fechas de evaluación.

Para probar estadísticamente la hipótesis de que las especies de pino evaluadas son iguales en su poder germinativo se hizo el siguiente planteamiento:

$$H_0 : T1 = T2 = T3 = T4 = T5$$

$$H_a : \text{Por lo menos un } T =$$

T = Tratamiento (especie de pino).

Comprobándose la misma mediante la prueba de F en cada uno de los análisis de varianza realizados para cada prueba.

Para probar la hipótesis de que el tiempo de almacenamiento afecta el potencial de germinación de las especies de pino utilizadas en el experimento, ésta se planteó de la siguiente manera:

$$H_0 : F1 = F2 = F3 = F4 = F5$$

$$H_a : \text{Por lo menos una } F =$$

F = Fecha de evaluación.

La cual se comprobó mediante la prueba de T con una probabilidad de error del 0.05 %.



Se realizó un análisis de correlación entre el contenido de humedad y el poder germinativo de la semilla de pino, para determinar el efecto que tiene el primer factor sobre el

porcentaje de germinación.

3.7. Materiales físicos.

Los materiales físicos utilizados en la evaluación de germoplasma son los siguientes:

Cajas de madera para secado de conos.

Frascos de plástico.

Fungicida Captan-50.

Insecticida Actellic-50

Refrigerador con temperatura controlada.

Estufa secadora.

Frascos de vidrio.

Germinadora.

Charolas de plástico.

Cajas petri.

Papel germinador.

Agua destilada.

Termómetro.

Balanza granataria.

3.7. Sitio experimental.

La evaluación de la semilla de pino se llevó a cabo en el banco de germoplasma del Laboratorio Bosque La Primavera, que se encuentra en el predio denominado Las agujas en el

municipio de Zapopan, Jalisco. Localizado a una latitud Norte de 20° 43' y 103° 04' de longitud Oeste.

El lugar presenta una temperatura media anual de 23.5 °C y una precipitación pluvial de 942 mm, siendo los meses más lluviosos Julio, Agosto y Septiembre. Según la clasificación de Koppen modificado por García (1981), el clima es del tipo AwO(w)(e)g que se interpreta como caliente subhúmedo con oscilación térmica invernal bien definida.

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1. Contenido de humedad.

En el análisis de varianza del contenido de humedad en la primera evaluación, se encontró mediante la prueba de F, que no existió diferencia entre los tratamientos evaluados. Por lo que se acepta la hipótesis (H_0) de que todos los tratamientos son iguales. *Pinus oocarpa* y *P. oocarpa* var. trifoliata, tuvieron un contenido de humedad del orden del diez por ciento (Cuadro 3). El coeficiente de variación fue de 8.65 % considerándose aceptable.

Para la segunda prueba, se encontró en el análisis de varianza que hubo diferencias significativas entre tratamientos, aceptándose la hipótesis (H_a) de que por lo menos un tratamiento es diferente a los demás. En esta evaluación todos los materiales elevaron desde 0.5 hasta en 1 % su contenido de humedad. El coeficiente de variación fue de 6.45 %, valor igualmente aceptable al de la primera prueba.

En la tercera prueba se encontraron resultados similares a los de la primera. Aceptando la hipótesis (H_0) de que todos los tratamientos son iguales. Manteniéndose *P. michoacana* y *P. oocarpa* var. trifoliata con los contenidos de humedad más altos (11 %). Aquí el coeficiente de variación fue de 7.45 %.

Para la última prueba el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre tratamientos, aceptándose la hipótesis (H_a) de que por lo menos un tratamiento es diferente a los demás. *P. michoacana* y *P. oocarpa* var. trifoliata disminuyeron su contenido de humedad aunque, continuaron siendo los más altos. El coeficiente de variación en este análisis de varianza

Cuadro 3. Contenido de humedad en semilla de pino.

Especie	6 meses	12 meses	18 meses	24 meses
<i>Pinus oocarpa</i>	10.25	10.00	9.50	7.75
<i>P. douglasiana</i>	9.25	10.00	9.50	9.75
<i>P. michoacana</i>	9.75	10.50	11.00	9.75
<i>P. oocarpa var. trifoliata</i>	10.00	11.00	11.00	10.00
<i>P. lumholtzii</i>	8.75	9.25	10.25	9.50

Cuadro 4. Porcentaje de germinación de semilla de pino.

Especie	6 meses	12 meses	18 meses	24 meses
<i>Pinus oocarpa</i>	81.50	92.00	83.50	85.75
<i>P. douglasiana</i>	85.75	83.00	87.25	87.50
<i>P. michoacana</i>	86.00	82.00	84.75	87.00
<i>P. oocarpa var. trifoliata</i>	85.25	88.75	89.25	86.75
<i>P. lumholtzii</i>	77.50	74.75	75.75	76.25

fue de 7.43 %.

El análisis de varianza combinado nos muestra de manera general, que si existen diferencias estadísticamente significativas entre las especies de pino evaluadas en el experimento, presentando *P. michoacana* y *P. oocarpa* var. *trifoliata* los mayores niveles de contenido de humedad (más del 10 %). Esto permite rechazar la hipótesis (H_0) de que todos los tratamientos son iguales en su contenido de humedad después de cierto período de almacenamiento.

Al momento de almacenar la semilla de pino, esta guardaba un 10 % de humedad, valor que en condiciones normales de almacenamiento aseguraría su conservación en forma satisfactoria de acuerdo con lo señalado por Besnier en 1989. Por otro lado, el contenido de humedad atmosférica de la cámara de refrigeración fue del 40 % en primavera-verano hasta 70 % en otoño-invierno.

Tomando en cuenta estas condiciones de almacenamiento, los resultados del estudio nos dicen que la semilla no mantiene permanentemente su contenido de humedad, la cual establece un equilibrio con la humedad relativa del medio ambiente en que se encuentre, por lo que según cambió ésta, la semilla perdió o ganó humedad.

4.2. Germinación de semilla.

En el análisis de varianza para germinación en la primera prueba, no se encontró diferencia entre los materiales evaluados. Por lo que se acepta la hipótesis (H_0) de que todos los tratamientos son iguales aunque, *P. lumholtzii* presentó un porcentaje de germinación inferior al 80 % (Cuadro 4). El coeficiente de variación fue de 8.45 %, considerado como aceptable para el experimento.

En el análisis de varianza de la segunda evaluación, la prueba de F mostró diferencias altamente significativas entre tratamientos, rechazando la (H_0) de que todos los tratamientos son iguales. *P. lumholtzii* mostró igual que en la primera prueba un porcentaje de germinación inferior al 80 %. El coeficiente de variación aquí fue de 5.16 %, el cual es bastante aceptable.

Para la tercera prueba no se encontraron en el análisis de varianza diferencias significativas estadísticamente, por lo que se acepta la (H_0) de que todos los tratamientos son iguales, presentando *P. lumholtzii* una germinación menor del 80 %. El coeficiente de variación fue de 8.15 %.

En la cuarta prueba, el análisis de varianza no presentó diferencias entre tratamientos al igual que en la primera y tercera prueba, siendo igualmente *P. lumholtzii* el de más baja germinación. El coeficiente de variación fue de 7.14 %.

En el análisis de varianza combinado se encontró mediante la prueba de F que hubo diferencias significativas en el porcentaje de germinación entre los materiales estudiados, por lo que se rechaza la (H_0) de que todos los tratamientos son iguales. Aquí el coeficiente de variación fue de 7.13 %. Estos resultados nos indican que las especies de pino, utilizadas en el experimento respondieron de forma diferente en su poder germinativo después de cierto período de almacenamiento.

La temperatura de la cámara de refrigeración donde fue almacenada la semilla de pino, era de 5 °C en otoño-invierno y de 8 °C en primavera-verano. Temperatura que no permitió el desarrollo de plagas y hongos, por lo que no se tuvo semilla deteriorada, considerando que las variaciones encontradas entre los tratamientos para las diferentes fechas de evaluación, se debieron al fenómeno conocido como envejecimiento, en términos de la disminución del poder

germinativo.

4.3. Contenido de humedad vs Poder germinativo.

El análisis de correlación entre el contenido de humedad y el porcentaje de germinación en las diferentes especies evaluadas (Cuadro 5), mostró que para el tratamiento 1, se tuvo un valor negativo muy bajo, lo que demuestra que no existió correlación significativa entre estos dos factores y en un caso dado si el contenido de humedad se incrementara, habría una menor germinación.

Para *P. douglasiana* se tuvo un mayor coeficiente de correlación entre el contenido de humedad y el porcentaje de germinación que el tratamiento anterior, siendo igualmente negativo, y no significativo.

En *P. michoacana* se tuvo una correlación positiva entre el contenido de humedad y el porcentaje de germinación, pero no fue significativa.

En el caso de *P. oocarpa* var. *trifoliata*, la correlación entre el contenido de humedad y el porcentaje de germinación fue significativo y positivo, ya que a medida que se incrementó el contenido de humedad en la semilla se tuvo una mayor germinación.

P. lumholtzii presentó resultados similares a los del tratamiento 4, pero su coeficiente de correlación no fue significativo.

La relación negativa en *P. oocarpa* y *P. douglasiana* y positiva en *P. michoacana*, *P. oocarpa* var. *trifoliata* y *P. lumholtzii*, indicó que las semillas de las especies de pino evaluadas, responden de manera diferente en su poder germinativo al contenido de humedad que presentaron en cada fecha de evaluación. No existiendo por lo tanto, un grado de asociación



significativo entre los dos factores estudiados.

4.4. Período de almacenamiento vs germinación de semilla.

Al comparar los valores medios del porcentaje de germinación obtenido en las diferentes fechas de evaluación encontramos que no hubo diferencias significativas entre ellas (Cuadro 6).

Estos resultados nos conducen a la determinación de que la semilla de pino no sufre efectos negativos en su poder germinativo por lo menos en un período de dos años, bajo condiciones de almacenamiento en refrigeración a temperaturas entre 5 y 8 °C y secada a un contenido de humedad del 10 %.

El porcentaje de germinación en las especies evaluadas fue superior al 80 %, lo cual indica que la semilla de pino puede ser almacenada por un tiempo mayor sin que haya un detrimento en su poder germinativo. Estos resultados permiten también determinar que las pruebas de germinación se pueden conducir cada dos años sin problemas, con lo cual se reduciría el gasto y tiempo dedicado a estas pruebas.

Por otro lado si en dos años de almacenamiento, no se tuvo una baja significativa en el poder germinativo de la semilla (84 % como promedio). Se puede decir entonces que el trabajo de regeneración de semilla que se guarda en un banco de germoplasma puede realizarse en un período mayor de dos años, si se quiere que el poder germinativo no baje más del 84 % o bien si se toma como base un nivel límite del 80 %, entonces los incrementos y regeneración, probablemente se pueden hacer con un intervalo de hasta 5 años.

Cuadro 5. Valor de correlación y significancia entre el contenido de humedad y el porcentaje de germinación en semilla de pino.

TRATAMIENTOS	R ²	t	p=0.05
<i>Pinus oocarpa</i>	0.03	-0.67	0.51
<i>Pinus douglasiana</i>	0.15	-1.57	0.14
<i>Pinus michoacana</i>	0.22	0.56	0.59
<i>Pinus oocarpa var. trifoliata</i>	0.27*	2.28	0.04
<i>Pinus lumholtzii</i>	0.08	1.13	0.28

Cuadro 6. Promedios de germinación en cuatro fechas de evaluación.

Fechas de evaluación	Promedios	Valor de T
Evaluación 1 vs Evaluación 2	83.20 - 84.10	-0.26
Evaluación 1 vs Evaluación 3	83.20 - 84.10	-0.32
Evaluación 1 vs Evaluación 4	83.20 - 84.65	-0.54

5. CONCLUSIONES

1. La semilla de pino no mantiene permanentemente su contenido de humedad, la cual establece un equilibrio con la humedad relativa del medio ambiente en que se encuentre.
2. La semilla de las especies de pino evaluadas responde de manera diferente en su poder germinativo después de cierto período de almacenamiento.
3. El poder de germinación de la semilla de pino de las especies de pino evaluadas no tiene un grado de asociación significativo con el contenido de humedad.
4. La semilla de pino no disminuye su poder germinativo por lo menos en un período de dos años, bajo condiciones de refrigeración a temperaturas entre 5 y 8 °C y secada a un contenido de humedad del 10 por ciento. Por lo que la semilla puede ser almacenada por mayor tiempo.
5. Las pruebas de germinación se pueden conducir cada dos años, con lo que se reduciría el tiempo y gasto dedicado a estas pruebas.

6. El trabajo de regeneración de semilla de pino se puede realizar con un período mayor a los dos años, con un nivel de germinación del 84 % aproximadamente. Si se toma como base un nivel límite del 80 %, entonces los incrementos y regeneración, se pueden hacer con un intervalo de hasta 5 años.

6. BIBLIOGRAFIA.

1. Besnier Romero, F. 1989. Semillas. Biología y tecnología. Ediciones Mundi-prensa. España. p. 241-247, 419-432.
2. Breese L. 1989. Multiplication and regeneration of germplasm. IBPGR TRAINING COURSES. Lecture series 2. North Carolina State university. U.S.A. p. 17-21.
3. Bruce Zobel & John Talbert. 1988. Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales. Limusa. 1ª Ed. México. p. 95-192.
4. Chapman C. 1989. Principles of germplasm evaluation. IBPGR TRAINING COURSES. Lecture series 2. North Carolina State university. U.S.A. p. 55-60.
5. Frankel O. H. 1970. Evaluation and utilization. In Frankel O. H. And Bennett E. "Genetics resources in plant". Oxford, Inglaterra. p. 240-245.
6. Holman y Robbins. 1982. Botánica general. Edit. UTEHA. México. pag. 271-294.
7. Jiménez G. C. 1978. Avena. In Recursos genéticos disponibles a México. SOMEFI. p. 103-109.
8. Jasso M. J. Et al. 1978. Recursos genéticos forestales de México. In Recursos genéticos disponibles a México. SOMEFI. p. 423-439.
9. Kato Y, T. A. 1978. La investigacion básica en el plasma germinal. In Recursos genéticos disponibles a México SOMEFI. p. 49-55.
10. León J. 1978. Información sobre bancos de germoplasma existentes en el mundo. In Recursos genéticos disponibles a México. SOMEFI. p. 69-72.

11. Mateo Box, J.M. y Casallo Gomez, A. 1989. Producción de semillas de plantas hortícolas. Ediciones Mundi-Prensa. 1a. Edición en español. Madrid. pag. 93-106.
12. Miranda C. S. 1975. Evolucion de cultivares nativos de México. En avances de la enseñanza y la investigación, 1974-1975. Colegio de postgraduados, Chapingo. p. 35-39.
13. Montes M. J. 1978. Estrategia para la conservación de los recursos genéticos. In Recursos genéticos disponibles a México. SOMEFI. p. 29-35.
14. Ortega P. R. 1978. Evaluación de los recursos genéticos. In Recursos genéticos disponibles a México. SOMEFI. p. 37-48.
15. Reyna O. F. 1989. Estudio de la vegetación de la reserva forestal la primavera, Jalisco México. Tesis profesional. Fac. de Agricultura de la Universidad de Guadalajara. 75 p.
16. Shands, H.L. & Sisson V.A. 1989. Plant Germplasm Maintance. An example of a national program. IBPGR TRAINING COURSES. Lecture series 2. North Carolina State university. U.S.A. p.7-15.
17. Sneep J. And hendriksen A. J. T. 1979. Plant breeding perspectives. Ed. Pudoc. Wagenigen the Netherlands. p. 83-103.
18. Villarreal C. R. Y Jasso M. J. 1978. Necesidad de la investigacion sobre mejoramiento genético para las plantaciones forestales en México. Primera reunión nacional sobre plantaciones forestales. DGICF-INIF. 24 pags.
19. Vovides A. P. 1981. Lista preliminar de plantas mexicanas en peligro de extinción. *Biótica* 6(2). p. 219-228.

20. Wareing, P.F. & Phillips, I.D.J. 1981. Growth & diferentition in plants. Pergamon Press. Third edition. Great Britain. Pags. 276-280.

