

DESEMPEÑO FISIOLÓGICO DE LAS SEMILLAS DE ÁRBOLES LEGUMINOSOS DE USO MÚLTIPLE EN EL TRÓPICO

Marlen Navarro

Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"
Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba
E-mail: boulandier@indio.atenas.inf.cu

En los últimos años la Agroforestería ha atraído la atención de un gran número de agrónomos, ecologistas, economistas y otros especialistas que han descubierto el potencial, antes insospechado, de los sistemas agroforestales como alternativa ecológicamente sostenible y económicamente viable en las regiones agrícolas del mundo tropical (Haan, Steinfeld y Blackburn, 1997); además, dichos sistemas aparecen como una opción para la reconversión social y ambiental de la ganadería en estas zonas donde las plantas superiores ofrecen una gran diversidad biológica. Por ello, una propagación eficaz y eficiente potenciará al máximo sus beneficios y la semilla es el material más barato y práctico empleado para tal fin en el caso de estas especies.

Aunque la Asociación Internacional de Análisis de Semilla (ISTA) publica los métodos de germinación estandarizados para muchas especies agrícolas, ornamentales y forestales, estos no consideran a la mayoría de los árboles tropicales, por lo que es necesario desarrollar metodologías de germinación para estas plantas que faciliten su propagación.

En el presente artículo se abordarán algunos de los aspectos referidos al desempeño fisiológico de las semillas de especies de árboles leguminosos que son empleados en los sistemas agroforestales; a los aspectos esbozados aquí se les debe prestar mayor atención en las instituciones científicas, pues constituyen puntos neurálgicos a la hora de desarrollar la tecnología de producción, procesamiento y conservación

para cada especie en dependencia de las características biológicas y genéticas, así como las del ambiente en que se desarrollan y la interacción entre ambas.

ALMACENAMIENTO DE LAS SEMILLAS

El almacenamiento de las semillas ha interesado a la humanidad desde que el hombre comenzó a domesticar plantas, hace alrededor de 10 000 años. Sin embargo, no es hasta mediados del siglo XX que se inicia, de forma sistemática, esta actividad con fines científicos o de conservación (Iriondo, 2001).

↳ Factores que afectan la longevidad de las semillas

La longevidad de las semillas, es decir, el período en que las semillas se mantienen viables durante su permanencia en el almacén, está determinado por el potencial de almacenamiento genético y fisiológico de la especie en cuestión y por el daño ocurrido antes o durante el almacenamiento, así como por la interacción entre los factores individuales, los cuales se explican a continuación.

1) Factores genéticos

El potencial de almacenamiento es hereditario; las especies, y algunos géneros, muestran normalmente un comportamiento en el almacenaje ligado a la herencia, el cual puede ser tanto ortodoxo como recalcitrante o intermedio (tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los tipos de semillas sobre la base de su tolerancia al almacenamiento.

Tipo semilla	Definición	Autor
Ortodoxas	Pueden almacenarse durante varios años a bajas temperaturas con un contenido de humedad residual de hasta 5% sin provocar daños en la estructura seminal.	Roberts (1973)
Recalcitrantes	El almacenamiento no puede ser prolongado y la desecación provoca daños irreparables en la estructura seminal.	
Intermedias	Pueden deshidratarse hasta una cierta magnitud sin perjudicarse, pero que a la vez tienen una longevidad reducida. La desecación con almacenamiento a bajas temperaturas provoca daños severos en la estructura seminal.	Ellis, Hong y Roberts (1990)

2) Factores del desarrollo

Las semillas inmaduras generalmente tienen una almacenabilidad más corta que aquellas que alcanzan una madurez completa. Sin embargo, las simientes colectadas tempranamente pueden ser capaces de alcanzar la madurez completa, incluyendo una almacenabilidad normal, si se les propician tratamientos de posmaduración (Hilhorst y Bradford, 2000), por lo que se puede afirmar que la reducción del potencial de almacenamiento depende del estado de desarrollo en el momento de la colecta, además de la correcta selección del tratamiento poscosecha y la acción de este en la maduración de las semillas.

La causa fisiológica de la almacenabilidad reducida puede estar sujeta a fallos de complejidad inherentes a los procesos que se derivan de la maduración tardía; ejemplo de esto es un desarrollo embrionario incompleto, una protección inadecuada a la desecación o la formación inadecuada de proteínas u otros compuestos químicos almacenados innecesariamente, según plantean Vertucci, Crane y Vance (1996); estos mismos autores encontraron que en *Taxus brevifolia* el embrión crece en tamaño hasta el estado de maduración completa y solo la semilla completamente madura tolera la desecación hasta el nivel necesario para el almacenamiento.

3) Factores ambientales

Los factores ambientales pueden ser agrupados en aquellos que actúan antes o durante el almacenamiento. El deterioro prealmacenamiento es de importancia capital para la longevidad de la semilla, debido a su influencia en la viabilidad inicial; mientras que la longevidad poscosecha depende de las propiedades intrínsecas de la especie y de los factores externos, tales como la temperatura, el contenido de humedad y la composición de la atmósfera gaseosa durante el almacenaje (Priestley, 1986; Hong y Ellis, 1992), aunque se conoce que en condiciones óptimas de almacenamiento sólo se puede mantener la viabilidad, nunca mejorarla (Delouche y Baskin, 1973).

De acuerdo con las reglas de Harrington (1972), existe una relación exponencial entre la longevidad de las semillas, la temperatura y el contenido de humedad de almacenamiento, de manera que la longevidad de una semilla se duplica por cada reducción de 5°C en la temperatura y por cada reducción de 1% en el contenido de humedad. Siguiendo este modelo se podría afirmar que las simientes conservadas a muy bajas temperaturas y con muy bajos contenidos de humedad deben mantenerse viables durante milenios.

En especies arbóreas de la familia *Leguminosae* el almacenamiento en condiciones ambientales no limita la viabilidad de sus semillas. Así, Timyan (1996) afirmó que las semillas de *Acacia farnesiana* (L.) Willd. pueden permanecer viables por 30 años o más a temperatura ambiental, y González, Hernández y Mendoza (1998) aseveran que las simientes de *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham pueden conservarse por más de 12 años con una viabilidad aceptable; mientras que *Mimosa scabrella* Benth. y *Prosopis tamarugo* F. Phil. pueden hacerlo por períodos de 3 y 2 años, respectivamente (CATIE, 2000a), *Calliandra calothyrsus* Meisn. sólo por 12 meses (Powell, 1997), similar a *Bauhinia purpurea* (Navarro, Marlen, inédito), y las simientes de *Gliricidia sepium* aceleran su deterioro a partir de los 7 meses hasta alcanzar la muerte fisiológica a los 11 meses de permanencia en el almacén (Navarro y González, 2000).

La pérdida de la viabilidad durante el almacenamiento puede estar causada, al mismo tiempo, por ataques de insectos u hongos o por el natural y progresivo deterioro (envejecimiento).

4) Factores relacionados con la viabilidad inicial

Según Sanhewe y Ellis (1996), en la longevidad poscosecha incide positiva o negativamente el grado de deterioro prealmacenamiento, debido a su influencia directa en la viabilidad inicial y en el envejecimiento, el cual tiene enormes implicaciones para la industria semillera, pues define en gran medida los cambios que ocurren en la calidad de la semilla desde que esta es cosechada hasta que se convierte en plántula (Walters, 1998).

Generalmente los lotes de semillas que inician su vida en el almacén con una alta viabilidad, muestran una mayor longevidad en el almacenamiento que las semillas con bajos porcentajes de este indicador; el progresivo envejecimiento natural, que trae consigo la disminución del porcentaje de semillas viables, no es lineal en el tiempo, sino que normalmente sigue un patrón sigmoideo. La pérdida de la viabilidad es

inicialmente lenta, seguida por un período de rápido declive (Bruggink, Ooms y Toorn, 1999).

🔗 Cambios fisiológicos durante el envejecimiento

La actividad metabólica requiere de agua disponible y en las semillas ortodoxas ésta se pierde, ya que se secan durante la madurez y el procesamiento, la que queda en las semillas se limita a las macromoléculas, es decir, permanece inmóvil y no se incorpora a las reacciones químicas (Hilhorst y Bradford, 2000).

Aun cuando el contenido de humedad haya declinado por debajo del nivel donde cesa la actividad metabólica, tanto la temperatura como la humedad continúan influyendo en la longevidad de la semilla a través de los procesos de envejecimiento. Las semillas respiran y metabolizan activamente cuando su contenido de humedad se encuentra por encima del 18-20%; sin embargo, la respiración cesa cuando dicho contenido disminuye por debajo de este rango (Bewley y Black, 1994).

Según Roberts (1972), las causas del envejecimiento fisiológico se agrupan en factores extrínsecos, los cuales son factores externos influyentes en la viabilidad, y factores intrínsecos, donde el envejecimiento es el resultado de eventos dentro de la propia semilla (fig. 1).

El deterioro de las semillas comienza inmediatamente después de la madurez, pero sólo influye en la viabilidad cuando ha pasado a un estadio avanzado, debido a que las semillas son capaces de reparar el daño sólo cuando este no ha alcanzado un punto crítico (Johnston, Olivares, Henríquez y Fernández, 1997).

Durante el almacenamiento, ya sea en el banco del suelo, en los almacenes convencionales o en nitrógeno líquido, todas las semillas sucumben con el tiempo y mueren. El proceso mediante el cual las semillas almacenadas mueren ha recibido considerable atención en la literatura y dos excelentes revisiones realizadas por Priestley (1986) y Smith y Berjak (1995) describen las aberraciones celulares y fisiológicas que son

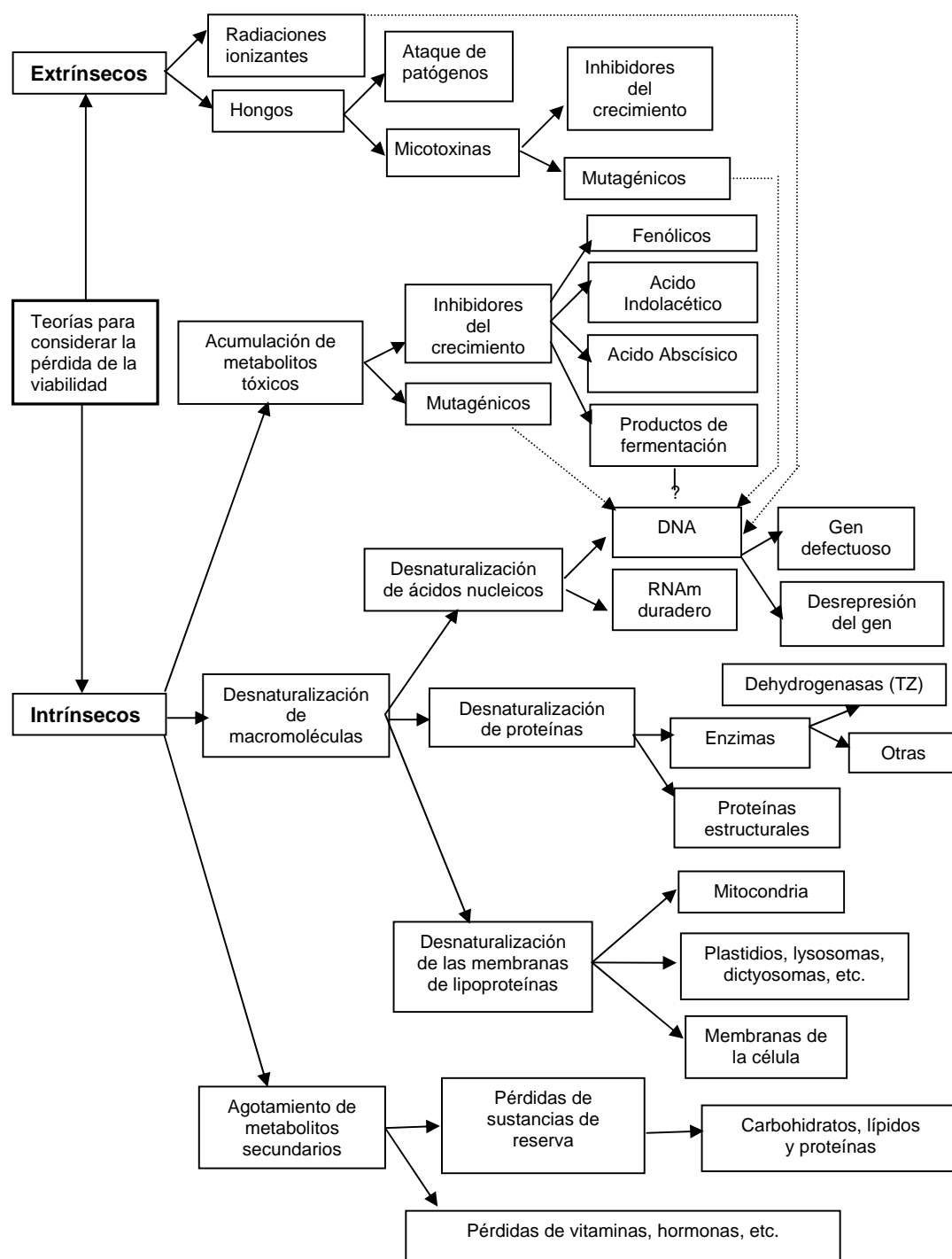


Fig. 1. Factores relacionados con el envejecimiento de la semilla y su relación con el deterioro (adaptado de Roberts, 1972).

tanto la causa como la consecuencia del envejecimiento. Investigaciones recientes han demostrado que algunas enzimas críticas se inactivan con el tiempo y varios estudios sugieren también que las proteínas, en general, son susceptibles a la degradación, aunque no debido a los cambios en la estructura secundaria. Incluso, se están acumulando evidencias de que las membranas celulares son un sitio de daño durante el envejecimiento debido a la degradación de los lípidos y que algunas regiones de la célula parecen ser más susceptibles al deterioro que otras (Walters, 1998).

El contenido de humedad y la temperatura son los dos principales factores determinantes del ritmo de envejecimiento; además, la presión de oxígeno y la luz pueden tener alguna influencia en ciertas circunstancias; su relación es como a continuación se describe.

a) Temperatura

Cuando las temperaturas son bajas, los procesos bioquímicos ocurren más lentamente; esto también incluye los procesos que conducen al deterioro. Es por ello que se recomienda, para almacenar semillas por largos períodos, una temperatura de -20°C o inferior y para conservar el germoplasma por períodos más largos utilizar el nitrógeno líquido (-150°C).

b) Contenido de humedad

El mayor deterioro bioquímico y citológico tiende a manifestarse cuando el contenido de humedad es elevado. Las temperaturas bajas son menos dañinas en las semillas ortodoxas con un bajo contenido de humedad, pero si este se encuentra por encima de 6-8 %, están propensas a daños fatales por la formación de hielo cuando son expuestas a temperaturas por debajo de 0°C (Egli y Tekrony, 1997).

c) Presión de oxígeno

Según Harada (1997), la desnaturalización de los constituyentes de la célula, tales como las membranas, las enzimas y el ADN, sólo ocurre en condiciones aeróbicas; la estimulación o depresión de estos procesos degenerativos está determinada por las altas y bajas presiones de oxígeno.

d) Luz

Las radiaciones ionizantes han sido mencionadas por Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia (1996) como un factor influyente en el envejecimiento de las semillas en la naturaleza; sin embargo, en el caso de las semillas ortodoxas secas existen pocas evidencias de que las condiciones de luz desempeñen un papel en su longevidad. En las especies con fotodormancia (donde la luz es imprescindible para la germinación) el almacenamiento a oscuras puede inhibir la germinación, incluso en semillas con alto contenido de humedad.

GERMINACIÓN Y EMERGENCIA DE PLÁNTULAS

La germinación marca la transición de la semilla desde un estado donde es dependiente de la fuente de nutrimentos (planta madre) hacia un germen independiente, capaz de tomar las sustancias minerales y crecer por sí solo; es por ello que este proceso biológico también conforma el último eslabón del proceso de manipulación de la semilla.

La germinación puede ser definida como aquellos eventos que comienzan con la captación de agua por la semilla y finalizan con la elongación de los ejes embrionarios y la penetración de la radícula por las estructuras que rodean el embrión (Bewley, 1997). Según Bewley y Black (1994), el clásico curso trifásico de la imbibición de las semillas muestra la rápida absorción inicial del agua por estas cuando están secas (fase 1), seguido por un período de elongación asociado a la actividad enzimática y al incremento de las tasas de respiración y

asimilación, lo cual se manifiesta en la utilización del alimento almacenado y su transportación a las zonas en crecimiento (fase 2), hasta ocurrir sucesivas divisiones celulares que traen como consecuencia la aparición de la radícula y la plúmula (fase 3).

Puesto que el embrión debe crecer para que ocurra la emergencia, se requiere turgor y de una extensión de la pared celular para la realización exitosa de la germinación; además, los embriones de muchas semillas están rodeados por tejidos que deben ser penetrados por la radícula. Una vez que la semilla se ha embebido totalmente, la longitud de la fase 2 de la germinación se relaciona, probablemente, con la generación adicional de turgor del embrión y el paso del embrión a través de la pared celular, o con el debilitamiento de los tejidos que se encuentran adjuntos al embrión (Welbaum, Bradford, Yim, Booth y Oluoch, 1998).

La emergencia de las plántulas es, probablemente, el evento fenológico más importante que influye en el éxito de una plantación; la emergencia representa el momento en el cual una plántula se hace independiente de las reservas seminales no renovables, originalmente producidas por sus progenitores, y cuando comienza el autotrofismo fotosintético.

Una vez que ha ocurrido la emergencia de la radícula y se ha iniciado el crecimiento de la plántula, esta última utiliza las reservas de nutrientes almacenadas en la semilla durante la fase de desarrollo con vistas a apoyar su crecimiento. La eficiencia con que ocurre este proceso probablemente esté relacionada con el vigor y la tasa de crecimiento de la plántula, que a su vez influye en la probabilidad de una exitosa emergencia en campo y en el establecimiento de la planta (Hilhorst y Bradford, 2000).

El tiempo de emergencia muchas veces determina si una planta compite exitosamente con sus vecinos, si es consumida por los herbívoros, infestada por las enfermedades y si florece, se reproduce y madura

apropiadamente al final de su etapa de crecimiento (Forcella, Benezek, Sánchez y Ghera, 2000).

➤ **Condiciones ambientales durante la germinación y la emergencia de las plántulas**

Las semillas germinantes son vulnerables, especialmente durante las últimas fases de la germinación; debido a que la imbibición es un proceso físico, estas pueden imbibirse y deshidratarse sin daños. Cuando las semillas entran en la segunda y la tercera fase con cambios estructurales, así como elongación y división celular, el proceso de germinación se convierte en irreversible: una vez que ha sido iniciado, deberá ser completado.

El nivel óptimo de tolerancia a las condiciones ambientales difiere entre las especies y algunos de los factores del medio interactúan durante la germinación (Carvalho y Nakagawa, 2000). Los factores ambientales pueden tener efectos significativos en el potencial fisiológico de las semillas y en la expresión fenotípica de la germinación (Foley y Fennimore, 1998); además, se ha señalado que todas las semillas poseen sensores que detectan los cambios ambientales y así aseguran la germinación en condiciones favorables (Johnston et al., 1997).

La regulación ambiental de la germinación está determinada básicamente por la acción de factores como la temperatura, la luz y el potencial hídrico; estos a su vez tienen una marcada connotación en la inducción de la dormancia, ya sea primaria o secundaria, e independientemente de las causas que la provoquen. Estos factores se abordarán sucintamente a continuación.

Temperatura

Las semillas desarrollan mecanismos enzimáticos reguladores de la germinación que se disparan sólo cuando ocurren cambios térmicos en el ambiente que las rodea; dichos mecanismos aparecen como

respuesta al ambiente al que están adaptadas (Fenner, 1985; Baskin y Baskin, 1998).

En ausencia de la dormancia, la respuesta germinativa puede estar caracterizada por lo que se conoce como "temperaturas cardinales": temperatura mínima, máxima y óptima; las dos primeras representan las más bajas y altas temperaturas (respectivamente) a las que germinará un porcentaje específico de semillas; los valores registrados entre estos extremos afectan especialmente la velocidad de germinación, así como el tiempo requerido para que ocurra la emergencia de la radícula; además la temperatura óptima se define como la temperatura a la que la germinación es más rápida (Hilhorst y Bradford, 2000).

Si no se conocen las condiciones óptimas para una determinada especie, entonces una selección lógica es seguir el ciclo diurno experimentado por esta en su área de distribución (Poulsen, 2000a).

Jara y López (1996) demostraron que la temperatura desempeñó un importante papel en la germinación de las especies arbóreas *L. leucocephala*, *G. sepium*, *Albizia guachapele* y *Enterolobium cyclocarpum*, a la vez que observaron una tendencia al aumento del porcentaje de semillas germinadas cuando se elevó la temperatura.

Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia (1984) afirmaron que la dormancia de las semillas en algunas especies de árboles tropicales es capaz de romperse como consecuencia de la aparente sensibilidad a los cambios de luz, mientras que en otras influyen los cambios de temperatura. Se plantea que entre la luz y la temperatura se establece una relación sinérgica, que según Bewley y Black (1994) es de vital importancia en la detección de las condiciones favorables para la germinación.

Luz

La germinación de las semillas como respuesta a la luz está regulada por el

fitocromo, pigmento fotorreceptor constituido por una proteína soluble en agua, con una forma activa para la germinación -Pfr- de arreglo circular cuando la luz que incide es roja y otra forma inactiva -Pr- de arreglo lineal en presencia de luz roja lejana (Borthwick, Hendricks, Parker, Toole y Toole, 1952).

Según Côme (1970), de acuerdo con la respuesta a la luz, las semillas se clasifican como: a) fotoblásticas positivas, que no germinan en la oscuridad; b) fotoblásticas negativas, cuya germinación se ve inhibida por la luz blanca; y c) fotoblásticas indiferentes, especies que llevan a cabo su germinación en cualquier condición de iluminación.

La respuesta fotoblástica de las semillas no sólo está determinada por la calidad de la luz que incide sobre ellas, sino por el umbral de Pfr que contengan y por la última longitud de onda que reciban y su duración (Orozco-Segovia y Vázquez-Yanes, 1992). No obstante, en las semillas envejecidas esta respuesta pueden ser modificada y manifestarse a través de la disminución en la relación entre la longitud de onda roja -R- y el rojo lejano -RL- de la luz blanca requerida para germinar, o por un incremento de la germinación en la oscuridad (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1987). De la misma forma el fitocromo controla el consecuente desarrollo fisiológico y morfológico de las semillas germinadas (plántulas) que incluye la elongación del hipocótilo y el tallo (Kendrick y Kronenberg, 1994).

En los últimos años se han adquirido conocimientos acerca de la biología molecular y la bioquímica del fitocromo y han sido clonadas y caracterizadas al menos cinco familias de genes (phA, phB, phC, phD y phE) que están codificados por los componentes de las *apoproteins* presentes en el fitocromo (Quail, Boylan, Parks, Short, Xu y Wagner, 1995).

Potencial hídrico

Las células vegetales no crecen si no existe el agua suficiente para generar el turgor que se requiere para la expansión celular; por lo tanto, la absorción de

cantidades adecuadas de agua por las semillas es esencial para que ocurra la germinación (Bewley, 1997). El papel del agua como detonador y modulador de los procesos bioquímicos y fisiológicos de la germinación fue planteado por Nikolaeva y Antípova (1986).

Existen antecedentes de la interacción entre la temperatura y el agua disponible, ya que la temperatura afecta la viscosidad y energía cinética del agua, e incide, por lo tanto, en la tasa de imbibición de las semillas (Egley y Duke, 1987).

DORMANCIA

El término 'semilla dormante' se refiere al estado en el cual las semillas maduras intactas no germinan cuando se les brindan las condiciones que normalmente favorecen el proceso germinativo; estas pueden ser: humedad adecuada, régimen apropiado de temperaturas, una atmósfera normal y, en algunos casos, la luz (Hilhorst y Toorop, 1997). La dormancia es una característica cuantitativa controlada por factores nucleares, y algunas veces maternos dependientes de la especie y el genotipo; además, los factores ambientales pueden tener efectos significativos en la expresión fenotípica de la germinación y se conoce que estos interactúan con el genotipo (Foley y Fennimore, 1998).

Según Li y Foley (1997), la dormancia en las semillas actúa como modulador en la regeneración de las especies vegetales, al perfeccionarse la distribución de la germinación en el tiempo, además de haberse convertido durante la evolución de las plantas en una estrategia para evitar la germinación en las condiciones donde es probable que la supervivencia de la plántula sea baja.

Se ha determinado que las semillas colectadas frescas que manifiestan poseer dormancia, se encuentran en un estado de dormancia primaria; según Bewley (1997), la imposición de tal estado está determinada

por la incapacidad para germinar causada por: 1) la dureza de la corteza seminal; 2) los procesos de inactividad residentes dentro del propio embrión. De acuerdo con Hilhorst, Derkx y Karssen (1996), a menudo puede ocurrir una inducción hacia estados de dormancia secundaria, principalmente en las semillas que luego de diferentes tratamientos se encuentran parcialmente maduras y que se sitúan en condiciones desventajosas para la germinación.

La dormancia física y sus métodos de ruptura

Hasta la fecha la dormancia física es la forma más común entre las especies arbóreas del trópico seco (Willan, 2000) y según CATIE (2000a) esta ocurre más frecuentemente en las especies adaptadas a estaciones secas y húmedas en forma alternativa, incluyendo diversos géneros de la familia *Leguminosae* como *Acacia*, *Prosopis*, *Ceratonia*, *Robinia*, *Albizia* y *Cassia*. Las cubiertas seminales de estas especies son duras y cutinizadas e impiden completamente la imbibición de agua y a veces el intercambio de gases (Allen y Meyer, 1998), y sin estos dos últimos procesos la renovación del crecimiento del embrión y la germinación son imposibles.

La impermeabilidad de la corteza de las semillas de los árboles leguminosos es relativa en el sentido de la especie, el estado de madurez y los individuos dentro de un lote de semillas aparentemente homogéneo, ya que en dependencia de estos factores se exhibirá determinado grado de resistencia a la imbibición. En la estructura de dicha corteza (fig. 2a) se pueden observar cuatro elementos bien diferenciados: 1) la cutícula, capa más externa que tiene un carácter repelente al agua y una apariencia cerosa; 2) una capa *macroesclereide* o *palisade*, la cual consiste en células verticales largas, estrechas y herméticamente condensadas; 3) *osteoesclereide*, capas de células más ligeramente condensadas; y 4) una capa de parénquima constituida a su vez por una capa de células poco diferenciadas (Schmidt, 2000).

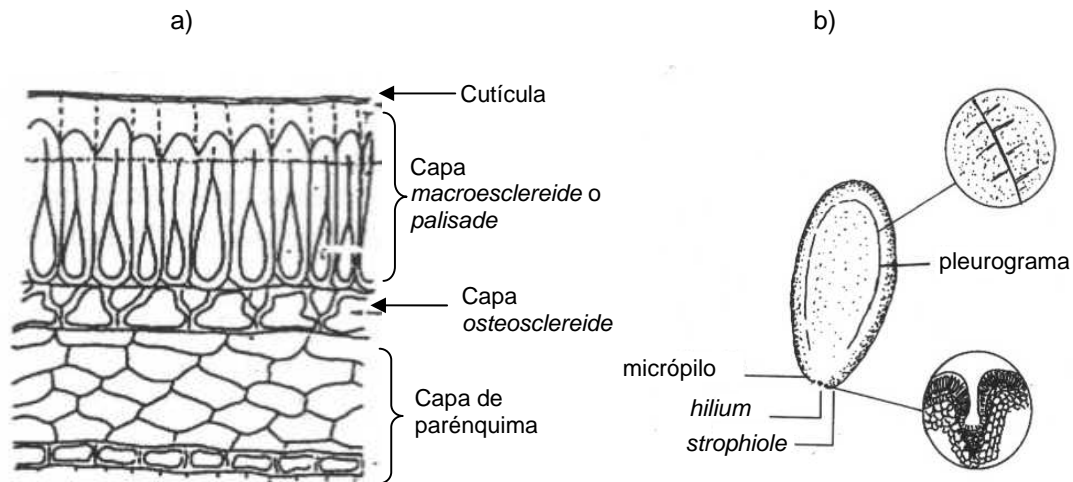


Fig. 2. Corteza seminal de la familia *Leguminosae*. a) disposición de las estructuras celulares; y b) estructuras externas (adaptado de Schmidt, 2000).

La impermeabilidad puede deberse a las dos capas exteriores, puesto que ha sido demostrado que una vez que estas capas son penetradas las semillas absorben el agua rápidamente; el grosor de la corteza seminal, así como el grosor relativo de las capas individuales, varía con la especie. Algunas especies de *Cassia* tienen cutículas espesas, mientras que la capa *palisade* es relativamente fina; sin embargo, la relación entre la estructura morfológica y el pretratamiento no está bien documentada. Para que la corteza de la semilla se convierta en permeable, la capa *palisade* debe ser penetrada, al menos, a una profundidad aproximadamente similar al 25 % de su grosor total (Schmidt, 2000).

La estructura de la cubierta de la semilla es uniforme, excepto en algunas zonas; uno de estos lugares es la región hiliar, sitio donde se une el funículo y que contiene el *micrópilo*, el *hilum* y el *strophiole*; las células de esta región tienen una estructura corchosa sin cutícula. Otra zona es el *pleurograma*, línea en forma de herradura normalmente verde localizada a lo largo de la corteza seminal y que en las semillas de *Acacia* y *Albizia* es ligeramente diferente. La región hiliar, y en un grado menor el *pleurograma* (fig. 2b), son puntos relativamente débiles de la cubierta seminal y a la vez son los más tendientes a convertirse

en permeables durante los pretratamientos (Kannan, Sudhakara, Augustine y Ashokan, 1996).

Como las semillas pierden agua durante el proceso de maduración, las células *palisades* se convierten en una capa mucho más herméticamente condensada, por lo que la cubierta seminal es más impermeable (Schmidt, 2000).

Dentro de cualquier especie la dormancia puede variar desde muy superficial hasta muy profunda entre los diferentes lotes y entre semillas individuales dentro del lote. Un ejemplo lo constituyen las semillas recién colectadas de *Albizia gummifera* de la procedencia Kakamega, que según Schmidt (1988) germinaron rápidamente en el bosque húmedo, lo cual indica que en estas condiciones las semillas no exhibieron la dormancia física que normalmente presentan cuando se secan artificialmente.

Se conoce que el grado de dormancia física difiere entre las especies, el estado de madurez y el grado de desecación (Hilhorst, H., comunicación personal), por lo que es aconsejable que la elección del pretratamiento se ajuste apropiadamente para cada planta.

Como el contenido de humedad de las semillas se relaciona con la dormancia física, en condiciones naturales las simientes jóvenes (recién colectadas) tienden a mostrar

una dormancia inferior que las viejas. La impermeabilidad completa en *Leguminosae* se desarrolla alrededor de un contenido de humedad entre el 12-14 %; sin embargo, la dormancia continúa su desarrollo aun con un contenido menor de humedad. Una gran diferencia en la dormancia física entre las distintas especies de árboles leguminosos puede encontrarse dentro de una misma área (Poulsen, Parrat y Gosling, 1998).

El pretratamiento para romper la dormancia física está diseñado para desgastar o perforar suavemente la corteza seminal y convertirla en permeable, sin dañar el embrión ni el endospermo. La destrucción de la impermeabilidad en un punto único de la cubierta seminal es normalmente suficiente para permitir la imbibición y el intercambio de gases (CATIE, 2000b).

Los tratamientos que destruyen o reducen la impermeabilidad de la corteza de la semilla se conocen comúnmente como escarificación y pueden ser divididos en: escarificación seca, escarificación húmeda y métodos biológicos.

El corte o la eliminación de una pequeña porción de la corteza con un instrumento filoso puede ser altamente eficaz cuando esta tarea se realiza cuidadosamente, ya que la semilla manipulada manualmente permite realizar el corte individual de acuerdo con el espesor de la cubierta seminal; este método es frecuentemente usado, ya que virtualmente todas las semillas pueden convertirse en permeables y el riesgo de sobretratamiento (daño) es pequeño, dado que se evita manipular en las cercanías de la región radicular (Poulsen y Stubsgaard, 2000). No obstante, debe destacarse que un tratamiento apropiado para una semilla de corteza gruesa puede ser excesivo para una de corteza delgada, ya que puede penetrar el delicado embrión y destruirlo.

En las semillas de árboles leguminosos las células de la capa *palisade* de la cubierta seminal extraen agua, y el proceso de reblandecimiento, luego de un delicado corte, pasará del lugar inicial de la imbibición a la cubierta seminal completa dentro de pocas horas, una vez que se sitúa en un sustrato humedecido (Schmidt, 2000).

Según CATIE (2000b), en *Stryphnodendron microstachyum* Poepp. & Endl. y *L.*

leucocephala (Lam.) de Wit. resulta beneficioso hacer un pequeño corte en la cubierta, con vistas a potenciar la germinación de sus semillas en un 94 y 97%, respectivamente. Similares resultados fueron observados por Bush, Jara y Franco (1997) para las especies *Caesalpinia velutina* (B. & R.) Standl. y *E. cyclocarpum* (J.) Griseb. También el corte de cubierta se considera apropiado para las semillas grandes de leguminosas arbóreas de los géneros *Afzelia*, *Albizia*, *Intsia* y *Sindora*, y para *Acacia*, *Prosopis*, *Enterolobium* y otras leguminosas (Willan, 1991).

Además, Schmidt (1988) y Masamba (1994) informaron que en ensayos con ocho especies de *Acacia* spp. en Australia y Tailandia, el corte de cubierta fue uno de los mejores tratamientos, con una germinación que sobrepasó el 90 % en un estudio donde los testigos sólo alcanzaron valores del 10 %. Con este método también se reportaron altos valores de germinación en experimentos con dos especies de corteza dura endémicas de Kenya, *Acacia xanthophloea* y *Trachylobium verrucosum*; mientras que en Zimbabwe este método provocó que más del 90 % de las semillas de *Acacia albida* germinaran.

De igual forma Navarro, Mesa y González (2002), al analizar los resultados de la emergencia de plántulas de *A. lebbeck* después de la aplicación de diferentes tratamientos para la ruptura de la dormancia, afirmaron que el corte de cubierta es el método más apropiado para estas semillas.

Aunque se han probado varios líquidos como un medio para romper la dormancia por cubierta dura, sólo dos han sido ampliamente adoptados debido a la combinación de su eficiencia y bajo costo; estos son el agua y el ácido.

El ácido utilizado para los pretratamientos es el sulfúrico concentrado (H_2SO_4); este causa algún tipo de combustión húmeda en la corteza seminal y es efectivo en *Leguminosae* y otras familias; sin embargo, el método no es aplicable a las semillas que fácilmente se convierten en permeables, debido a que el ácido penetra y daña el embrión. La duración de este pretratamiento debe tener como objetivo el alcance de un balance en el cual la corteza de la semilla (o pericarpio) sea suficientemente rota para

permitir la imbibición, pero sin que el ácido alcance el embrión (Teketay, 1996).

Brant, McKee y Cleveland (1971) afirmaron que el agua caliente causa la ruptura de la capa *macroscleide* mediante el incremento de la presión, lo cual por consiguiente elimina la dormancia física en *Leguminosae*, a lo que Dell (1980) agregó que este tratamiento también actúa positivamente en la permeabilidad del *strophiole*, ya que provoca la destrucción del tapón *strophiolear*. El método es más efectivo cuando las semillas son sumergidas en agua caliente (no calentadas junto al agua) y cuando la inmersión es rápida, ya que evita los daños por calor en el embrión (Kannan *et al.*, 1996).

En ocasiones el remojo en agua a temperatura ambiente incrementa la velocidad de germinación en semillas sin dormancia o con ligeros niveles de esta; también se utiliza conjuntamente con un tratamiento más fuerte o seguido de este (CATIE, 2000b). En ambos casos parece ser que el efecto es simplemente una imbibición más rápida a partir del agua que rodea a la semilla si se compara con la que se puede lograr en una cápsula Petri con un sustrato humedecido (prueba estándar de germinación).

Schmidt (2000) planteó que cuando la dormancia física es relativamente débil, como en las semillas frescas de leguminosas, el remojo en agua a temperatura ambiente es muchas veces suficiente para permitir la permeabilidad de la corteza seminal; mientras que el efecto de este mismo tratamiento en semillas duras varía con la especie. Esto indica que en algunas especies las semillas se convierten en gradualmente permeables y en otras existe un pobre efecto del remojo continuo.

Soto Pinto (1996), al estudiar diferentes métodos de escarificación para las simientes de *Cassia tormentosa* y *C. xiphoidea*, encontró que el remojo en agua a temperatura ambiente y a 60°C para las dos especies, así como los tratamientos a altas temperaturas (90°C y ebullición) para *C. tormentosa*, mostraron bajos porcentajes de germinación; de esto se deduce que la aplicación de un tratamiento único de esta naturaleza es ineficaz cuando se pretende

romper la dormancia física fuerte de una semilla, lo cual fue informado por CATIE (2000c) y comprobado por Navarro (2002) en la especie *A. lebbbeck*.

Autores como Nikolaeva (1980) y Nikolaeva y Antípova (1986) afirmaron que la aplicación de temperaturas extremas, tanto altas como bajas, permite la germinación en las semillas que presentan dormancia exógena y su modo de acción se relaciona con la cinética enzimática; de acuerdo con lo planteado por Vazquez-Yanes y Orozco-Segovia (1996), a partir de un valor de temperatura se inicia la ruptura de la dormancia hasta obtener el máximo porcentaje de germinación. El incremento de este factor puede debilitar las capas celulares que constituyen la cubierta de las semillas, lo que permite la entrada de agua, pero es preciso destacar que las temperaturas elevadas provocan efectos letales en las semillas.

Por otra parte, la temperatura del sustrato incide significativamente en la tasa de germinación y dicho efecto se magnifica en aquellas semillas que han recibido previamente un tratamiento de escarificación mecánica o con ácido; los reportes de Hernández, Caro y Lauric (1996) ejemplifican este comportamiento en *Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz.

Debido a que la temperatura de la superficie del suelo en las regiones tropicales puede tener una fluctuación diaria de 20-60°C en primavera y de 30-70°C en el verano, muchas especies de leguminosas arbustivas poseen la habilidad de superar los tenores de dormancia de sus simientes en estos períodos. Los estudios realizados por McDonald (2000) demuestran que, para eliminar la dureza de la cubierta, *Stylosanthes spp.* requiere de temperaturas superficiales del suelo por encima de los 50°C, y que en semillas de *L. leucocephala* cv. Cunningham plantadas en surcos, la ruptura rápida de las cortezas seminales a altas temperaturas puede afectarse cuando se coloca una capa de suelo gruesa sobre estas. Además, es conocido que en algunos géneros pertenecientes a las subfamilias *Caesalpinioideae* y *Mimosoideae*, el *strophiole* entra en erupción como respuesta a los cambios súbitos de temperatura, y que a

mayor temperatura más rápidamente ocurrirá el ritmo de ruptura.

Si los resultados anteriormente citados se aplican en el campo, entonces para mantener estas altas temperaturas por períodos prolongados se requiere un manejo específico que podría ser la siembra en viveros a pleno sol en algunas especies y en otras la reducción de la cobertura del suelo (pasto base) si es muy alta.

VIGOR

El concepto 'calidad de la semilla', además de estar relacionado con la respuesta germinativa, también implica aspectos genéticos y fisiológicos de esta, por lo que el porcentaje de germinación no es suficiente para expresar el grado de calidad que poseen las simientes de determinada especie; además, se plantea que este indicador tiene como principal limitante la incapacidad para detectar las diferencias en la calidad entre los lotes de semillas con altos porcentajes (Poulsen, 2000b); los análisis del vigor son los que muestran una mayor sensibilidad para detectar tales diferencias (Marcos Filho, 1998).

La evolución del examen de vigor en las semillas ha sido un proceso lento, arduo y todavía incompleto, pues ha resultado difícil llegar a un acuerdo sobre una definición de 'vigor de la semilla' y qué exámenes son adecuados para cada especie (Marcos Filho, 1999).

La AOSA (Association of Official Seed Analysts) y el ISTA, dos de las organizaciones internacionales más prestigiosas en el ámbito de los análisis de semillas, han trabajado durante años por resolver la problemática anteriormente citada; tales esfuerzos han sido reportados por AOSA (1983) y por una publicación similar del ISTA (Perry, 1981), que posteriormente fue revisada y actualizada por Hampton y Tekrony (1995); ambas publicaciones ofrecen su propio concepto de 'vigor':

i) aquellas propiedades de las semillas, las cuales determinan una rápida y uniforme emergencia para el desarrollo de plántulas normales en un amplio rango de condiciones de campo o de vivero (AOSA, 1983).

ii) la suma de las propiedades que determinan el nivel potencial de actividad y comportamiento de la semilla o del lote durante la germinación y emergencia de las plántulas; las simientes de mejor comportamiento se denominan de alto vigor (Hampton y Tekrony, 1995).

Los efectos del vigor pueden persistir e influir en el crecimiento de la planta adulta, la uniformidad de la cosecha y el rendimiento de la especie (Venter, 2000); sin embargo, no puede ser calculado como una simple propiedad medible (como la germinación), sino que es un concepto que describe varias características asociadas con diversos aspectos del desempeño de las semillas en el campo, por lo que se ha utilizado un amplio orden de métodos para caracterizar el vigor; de esas pruebas, las que han sido evaluadas para las semillas de los árboles se agrupan en cuatro tipos.

1) Pruebas de crecimiento de las plántulas

Esta prueba de vigor implica la germinación en condiciones estándares e incluye mediciones del tamaño de las plántulas y/o peso, o la clasificación de plántulas en clases de vigor (Krzyzanowski, Vieira y França Neto, 1999). Resulta oportuno añadir que se han reportado muy pocos trabajos de investigación con este tipo de prueba en semillas de árboles.

2) Pruebas de estrés

La evaluación del vigor mediante pruebas de estrés requiere que las muestras de semillas se pongan a germinar en condiciones estresantes o mediante la prueba estándar de germinación seguida de un tratamiento de estrés.

Según Bonner (1998) la única prueba de estrés que se ha realizado extensivamente entre las semillas de árboles es la de envejecimiento acelerado (EA), que fue desarrollada para evaluar el potencial de almacenamiento de los lotes de semillas y en la actualidad se ha convertido en un indicador del vigor para muchos cultivos agrícolas (Marcos Filho, Novembre y Chamma, 2001).

Las diferencias entre la germinación antes y después del envejecimiento proporcionan una medida relativa del vigor de la semilla, pero las simples diferencias de porcentaje carecen de la precisión requerida para una prueba cuantitativamente real (Marcos Filho, 1999).

Por esta razón Wang, Downie, Wetzel, Palamarek y Hamilton (1992) propusieron el uso de un índice de envejecimiento (IE), que se define como la diferencia entre el porcentaje inicial de germinación y el porcentaje de germinación después del envejecimiento, dividido entre la germinación inicial. La necesidad del control preciso del ambiente y los procedimientos hacen que la prueba de EA aparente ser más difícil de lo que es en realidad (Hampton y Tekrony, 1995).

Los resultados de los estudios bioquímicos en las simientes arbóreas durante los tratamientos de envejecimiento, confirmaron claramente que la utilización rápida de las reservas de energía durante el tiempo de la prueba estuvo acompañada por una declinación de la germinación y el vigor de las semillas. Esto apoya el concepto de que las semillas agrícolas y los árboles reaccionan de manera similar cuando se les somete a las condiciones del EA (Bonner, 1998).

3) Pruebas bioquímicas

La prueba bioquímica más conocida es el Ensayo Topográfico con Tetrazolium (TZ) y se usa frecuentemente como una prueba rápida para estimar la viabilidad de las semillas dormantes en los árboles (Yu y Wang, 1996), pues se conoce que a menudo la pérdida de la viabilidad está acompañada por la pérdida en: la capacidad de respiración, los ácidos grasos no saturados y los lípidos en la membrana, así como las reducciones en la carga de energía de adenilato, la actividad enzimática y el contenido de ARN mensajero (Poulsen, 2000b). No obstante, esta prueba ha sido propuesta en una escala limitada como una prueba de vigor en algunas especies arbóreas del trópico (Bonner, 1998).

4) Tasa de germinación

Se conoce desde hace tiempo que la tasa de germinación se relaciona positivamente con una rápida emergencia en el campo y con el desarrollo de las plántulas de muchas especies, incluyendo las simientes de los árboles. El método más utilizado para las semillas arbóreas fue desarrollado por Czabator (1962), quien propuso combinar la tasa de germinación y la integridad de la germinación en un solo índice numérico al que llamó valor de germinación (VG) y se determina mediante el cálculo del valor pico (VP) y la germinación media diaria (GMD); numerosos estudios han evaluado VG y VP como indicadores del vigor en las semillas de las arbóreas (Poulsen *et al.*, 1998).

Djavanshir y Pourbeik (1976) y Thomson y El-Kassaby (1993) propusieron otras interpretaciones de la tasa de germinación, pero según Bonner (1998) estos procedimientos no han sido ampliamente probados, aunque no hay razón para creer que no tendrán éxito.

La función de Weibull, $F(t) = M\{1 - \exp[-(k(t-Z))^c]\}$, fue propuesta como un modelo de procesamiento de datos para las comparaciones de vigor basadas en la frecuencia de la germinación acumulada (Brown y Mayer, 1988); tres de los cinco parámetros que componen la ecuación son los que definen las principales características del proceso germinativo (Scott, Jones y Williams, 1984). En este sentido, Navarro y González (2001) utilizaron la ecuación de Weibull modificada para determinar la influencia de las condiciones de siembra y la edad fisiológica de las semillas de *A. lebbeck* en el vigor de estas; dichos autores concluyeron que las semillas de albizia (almacenadas al ambiente) expresaron un vigor más alto cuando fueron sembradas a las 19 semanas posteriores a la cosecha en viveros a pleno sol, ya que en esta evaluación se registraron los valores mínimos de Z y los máximos de k y M.

5) Velocidad de germinación

El porcentaje de germinación sólo se refiere a las semillas que han germinado durante el período de la prueba, sin tener en

cuenta si la germinación ocurrió durante la primera o la última parte del examen; en condiciones de campo (vivero) la germinación rápida es, obviamente, una ventaja para el establecimiento de las plántulas; la velocidad de germinación es, por lo tanto, una expresión del vigor y se conoce que las semillas de alto vigor germinan más rápido que las de bajo vigor en cualquier condición (Venter, 2000).

La velocidad germinativa, denominada 'energía de germinación', puede ser expresada de varias formas a partir de los registros de germinación diaria (Willan, 1991): a) el porcentaje de semillas analizadas que germinan dentro de un período determinado (que se denomina período de energía); b) el porcentaje de las semillas de una muestra que germinan hasta llegar al momento de germinación máxima; c) el número de días requerido para alcanzar el porcentaje de germinación final; y d) el promedio de la velocidad de germinación en el período total de la prueba.

CONCLUSIONES

- ✎ El almacenamiento de las semillas de los árboles leguminosos en condiciones ambientales en las áreas tropicales no limita su viabilidad, con excepción de aquellas especies con cubierta seminal blanda como es el caso de *B. purpurea* y *G. sepium*, que alcanzan la muerte fisiológica a edades fisiológicas tempranas. Los diferentes ritmos de pérdida de la viabilidad durante el almacenamiento enfatizan la importancia de almacenar en las mejores condiciones posibles después de la colecta.
- ✎ La dormancia en la familia *Leguminosae* debe ser objeto de profundos estudios en cada especie, ya que se conoce que los cambios en la fisiología de las semillas (internos o forzados por el hombre) pueden provocar tanto el inicio de la germinación como la inducción hacia estados dormantes fuertes (dormancia secundaria), y que la adquisición de estos requiere un alto nivel de coordinación y regulación a nivel celular, en el que las hormonas y otros compuestos orgánicos,

además del ambiente, tienen un papel preponderante.

- ✎ El vigor es un concepto estrechamente asociado con el envejecimiento y el deterioro de las semillas, además de estar relacionado con el potencial genético de un lote y la habilidad de la semilla para completar exitosamente todos los pasos metabólicos que llevan indudablemente a la germinación, el crecimiento y la movilización de las reservas en función del desarrollo vegetativo en las plántulas. Por tanto, los exámenes de vigor proporcionan una información más fidedigna en cuanto al desempeño fisiológico de una especie una vez sembrada en las condiciones reales del campo y su posterior comportamiento.

CONCLUSIONS

- ✎ The storage of seeds from legume trees under environmental conditions in tropical areas does not limit their viability, excepting those species with a soft seed coat as in the case of *B. purpurea* and *G. sepium*, which reached physiological death at early physiological ages. The different rates of viability loss during storage stress the importance of storing under the best possible conditions after collection.
- ✎ Dormancy of the family Leguminosae must be object of through studies in each species, because it is known that the (internal or man-induced) changes in seed physiology may result in the start of germination as well as the induction towards strong dormant stages (secondary dormancy), and that their acquisition requires high coordination and regulation at cellular level, in which hormones and other organic compounds, besides the environment, have a prevailing role.
- ✎ Vigor is a concept closely related to aging and deterioration of seeds, besides being related to the genetic potential of a lot and the ability of the seed to successfully complete all the metabolic steps that lead undoubtedly to germination, growth and mobilization of the reserves for the vegetative development of seedlings. So,

vigor tests provide more reliable information regarding the physiological performance of a species once it is sown under real field conditions and its subsequent performance.

REFERENCIAS

- Allen, P.S. & Meyer, S.E. 1998. Ecological aspects of seed dormancy loss. **Seed Science Research**. 8:183
- AOSA. 1983. Seed vigor testing handbook. Contribution No. 32 to handbook on seed testing. Association of Official Seed Analysts. 93 p.
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M. 1998. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press, New York. 666 p.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. **Plant Cell**. 9:1055
- Bewley, J.D. & Black, M. 1994. Seeds. Physiology of development and germination. Second edition. Plenum Press, New York-London. 445 p.
- Bonner, F.T. 1998. Testing tree seeds for vigor: A Review. **Seed Technology**. 20:5
- Borthwick, H.A.; Hendricks, S.B.; Parker, M.W.; Toole, E.H. & Toole, V.K. 1952. A reversible photoreaction controlling seed germination. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 38:662
- Brant, R.E.; McKee, Y.W. & Cleveland, R.W. 1971. Effect of chemical treatment on hard seed on Pengrift crownvetch. **Crop Science**. 11:1
- Brown, R.F. & Mayer, D.G. 1988. Representing cumulative germination. 2. The use of the Weibull function and other empirically derived curves. **Annals of Botany**. 61:127
- Bruggink, G.T.; Ooms, J.J.J. & van der Toorn, P. 1999. Induction of longevity in primed seeds. **Seed Science Research**. 9:49
- Bush, M.S.; Jara, L.F. & Franco, E. 1997. Viabilidad de las semillas pretratadas de *Caesalpinia cyclocarpum* (J.) Griseb y *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Boletín Mejoramiento Genético y Semillas Forestales**. 16:8
- Carvalho, N.M. & Nakagawa, J. 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. FUNEP. Jaboticabal, Sao Paulo. 588 p.
- CATIE. 2000a. Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina. Volumen 1. Serie Técnica. Manual Técnico No. 41. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica. 204 p.
- CATIE. 2000b. Técnicas para la germinación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico No. 39. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica. 54 p.
- CATIE. 2000c. Técnicas para la escarificación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico No. 36. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica. 57 p.
- Côme, D. 1970. Les obstacles à la germination. Masson et Cie editeurs, Paris. 162 p.
- Czabator, F.J. 1962. Germination value: An index combining speed and completeness of pine seed germination. **Forest Science**. 8:386
- Dell, B. 1980. Structure and function of the strophilar plug in seeds of *Albizia lophanta*. **American Journal of Botany**. 67:556
- Delouche, J.C. & Baskin, C.C. 1973. Accelerating aging technique for predicting the relative storability of seeds lot. **Seed Science and Technology**. 1:427
- Djavanshir, K. & Pourbeik, H. 1976. Germination value –a new formula. **Silvae Genetica**. 25:79
- Egley, G.H. & Duke, S. 1987. Weed physiology. Vol. I. Reproduction and ecophysiology. Amsterdam Press, The Netherlands. 245 p.
- Egli, D.B. & Tekrony, D.M. 1997. Species differences in seed water status during seed maturation and germination. **Seed Science Research**. 7:3
- Ellis, R.T.; Hong, T.D. & Roberts, E. 1990. An intermediate category of seed storage behavior?. I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**. 41:1167
- Fenner, M. 1985. Seed ecology. Chapman & Hall, London. 151 p.
- Foley, M.E. & Fennimore, S.A. 1998. Genetic basis for seed dormancy. **Seed Science Research**. 8:173
- Forcella, K.; Benech, R.L.; Sánchez, R. & Ghersa, C.M. 2000. Modeling seedling

- emergence. **Field Crops Research**. 67:123
- González, Yolanda; Hernández, A. & Mendoza, F. 1998. Comportamiento de la germinación y la viabilidad de las semillas de leguminosas arbustivas. I. *Leucaena leucocephala* cv. Cunningham. Memorias III Taller Internacional Silvopastoril "Los árboles y arbustos en la ganadería". EEPF "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. p. 107
- Haan, C. de; Steinfeld, H. & Blackburn, H. 1997. Livestock and the environment. European Commission Directorate-General for Development. Development Policy, Sustainable Development and Natural Resources. 115 p.
- Hampton, J.G. & Tekrony, D.M. 1995. Handbook of vigour test methods. 3rd edition. International Seed Testing Association. Zürich, Switzerland. 117 p.
- Harada, J.J. 1997. Seed maturation and control of germination. In: Cellular and molecular biology of plant seed development. (B.A. Larkins & I.K. Vasil, Eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. p.545
- Harrington, J.K. 1972. Seed storage and longevity. In: Seed biology. (T.T. Kozlowski, Ed.). Academic Press. New York. Vol. III, p. 145
- Hernández, L.F.; Caro, L.A. & Lauric, V. 1996. Germinación de semillas de *Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz. Combinación de métodos de escarificación y temperatura. **Boletín Mejoramiento Genético y Semillas Forestales**. 15:3
- Hilhorst, H.W.M. & Bradford, K.J. 2000. Seed physiology. International Course on seed production and seed technology. IAC. Wageningen, The Netherlands. 74 p.
- Hilhorst, H.W.M.; Derkx, M.P.M. & Karssen, C.M. 1996. An integrating model for seed dormancy cycling: characterization of reversible sensitivity. In: Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology. (G.A. Lang, Ed.). CAB International. Wallingford, UK. p. 341
- Hilhorst, H.W.M. & Toorop, P.E. 1997. Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. **Advances in Agronomy**. 61:111
- Hong, T.D. & Ellis, R.H. 1992. Development of desiccation tolerance in Norway maple (*Acer platanoides* L.) seeds during maturation drying. **Seed Science Research**. 2:169
- Iriondo, J.M. 2001. Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas (Revisión). **Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.** 16:5
- Jara, L.F. & López, J. 1996. Optimización de condiciones de laboratorio para la germinación de semillas forestales. **Boletín Mejoramiento Genético y Semillas Forestales**. 15:15
- Johnston, M.; Olivares, A.; Henríquez, C. & Fernández, G. 1997. Factores abióticos en la germinación de terófitas de interés forrajero. **pyton**. 60:63
- Kannan, C.S.; Sudhakara, K.; Augustine, A. & Ashokan, P.K. 1996. Seed dormancy and pre-treatments to enhance germination in select *Albizia* species. **Journal of Tropical Forest Science**. 8:369
- Kendrick, R.E. & Kronenberg, G.H.M. 1994. Photomorphogenesis in plants. Second edition. Kluwer. Dordrecht, Netherlands
- Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D. & França Neto, J.B. 1999. Vigor de sementes: conceitos e testes. ABRATES. Londrina, Brasil. 218 p.
- Li, B. & Foley, M.E. 1997. Genetic and molecular control of seed dormancy. **Trends in Plant Science**. 2:384
- Marcos Filho, J. 1998. New approaches to seed vigor testing. **Scientia Agricola**. 55:27
- Marcos Filho, J. 1999. Testes de vigor: importância e utilização. In: Vigor de sementes: conceitos e testes. (Krzyzanowski, F.C.; Vieira, R.D. & França Neto, J.B., Eds). ABRATES. Londrina, Brasil. p. 131
- Marcos Filho, J.; Novembre, A.D.C. & Chamma, H.M.C.P. 2001. Testes de envelhecimento acelerado e de deterioração controlada para avaliação do vigor de sementes de soja. **Scientia Agricola**. 58:421
- Masamba, C. 1994. Presowing treatments on four African *Acacia* species: appropriate technology for use in forestry for rural development. **Forest Ecology and Management**. 64:105

- McDonald, C.K. 2000. Variation in the rate of hard seed breakdown of twelve tropical legumes in response to two temperature regimes in the laboratory. **Aust. J. Exp. Agric.** 40:387
- Navarro, Marlen. 2002. Evaluación del vigor de las semillas de *Albizia lebbbeck* (L.) Benth durante la emergencia de plántulas. Tesis en opción al título de Master en Pastos y Forrajes. Universidad de Matanzas, Cuba. 77 p.
- Navarro, Marlen & González, Yolanda. 2000. Almacenamiento de las semillas de *Gliricidia sepium* bajo condiciones ambientales en Cuba. **Boletín Mejoramiento Genético y Semillas Forestales**. 24:6
- Navarro, Marlen & González, Yolanda. 2001. Capacidad germinativa de las semillas de *Albizia lebbbeck* (L.) Benth. I. Dinámica y variabilidad. **Pastos y Forrajes**. 24:217
- Navarro, Marlen; Mesa, A. & González, Yolanda. 2002. Capacidad germinativa de las semillas de *Albizia lebbbeck* (L.) Benth. II. Ruptura de dormancia y emergencia de plántulas. **Pastos y Forrajes**. 25:263
- Nikolaeva, M.G. 1980. Factors controlling the seed dormancy pattern. In: The Physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. (Ed. A.A. Khan). Elsevier Biomedical, Amsterdam. p. 51
- Nikolaeva, A. & Antípova, O.V. 1986. Water-controlled processes preparing for radicle profusion during seed germination of *Vicia faba* minor. Proceedings of XXI International Congress of Seed Testing Association. Brisbane, Australia. p. 45
- Orozco-Segovia, Alma & Vázquez-Yanes, C. 1992. Los sentidos de las plantas. La sensibilidad de las semillas a la luz. **Ciencia**. 43:399
- Perry, D.A. 1981. Handbook of vigour test methods. International Seed Testing Association. Zürich, Switzerland. 72 p.
- Poulsen, K. 2000a. Análisis de semillas. En: Técnicas para la escarificación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico No. 36. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica. p.1
- Poulsen, K. 2000b. Calidad de la semilla: Concepto, medición y métodos para incrementar la calidad. En: Técnicas para la germinación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico No. 39. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica. p. 1
- Poulsen, K.; Parrat, M. & Gosling, P. 1998. Tropical and subtropical tree and shrub seed handbook. 1st edition. International Seed Testing Association. Zürich, Switzerland. 204 p.
- Poulsen, K. & Stubsgaard, F. 2000. Tres métodos de esarificación mecánica de semillas de testa dura. En: Técnicas para la escarificación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico No. 36. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica. p.35
- Powell, H. 1997. *Calliandra calothyrsus* production and use. A field manual. Winrock International Institute for Agricultural Deve-lopment. Arkansas, USA. 62 p.
- Priestley, D.A. 1986. Seed aging. Comstock Publishing Associates. Ithaca, NY–London. 129 p.
- Quail, P.H.; Boylan, M.T.; Parks, B.M.; Short, T.W.; Xu, Y. & Wagner, D. 1995. Phytochrome: photosensory preception and signal transduction. **Science**. 268:675
- Roberts, E.H. 1972. Cytological, genetical and metabolic changes associated with loss of viability. In: Viability of seeds. (E.H. Roberts, Ed.). Syracuse Univ. Press. South Africa. p. 253
- Roberts, E.H. 1973. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology** 1:499
- Sanhewe, A.J. & Ellis, R.H. 1996. Seed development and maturation in *Phaseolus vulgaris*. II. Post-harvest longevity in air-dry storage. **Journal of Experimental Botany**. 47:959
- Schmidt, L. 1988. A study of natural regeneration of transitional lowland rain forest and dry bushland in Kenya. MSc. Thesis. University of Aarhus. Copenhagen, Denmark. 93 p.
- Schmidt, L. 2000. Handling of tropical and subtropical forest tree seed. DFSC. Hummleback, Denmark. 511 p.
- Scott, S.T.; Jones, R.A. & Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. **Crop Science**. 24:1192

- Smith, M.T. & Berjak, P. 1995. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored dessication-tolerant and dessication-sensitive seeds. In: Seed development and germination. (J. Kigel & G. Galili, Eds). Marcel Dekker, Inc. New York. p. 701
- Soto Pinto, Ma. Lorena. 1996. Escarificación de semillas de leguminosas arbustivas *Cassia tormentosa* y *C. xiphoidea*. **Boletín Mejora-miento Genético y Semillas Forestales**. 14:5
- Teketay, D. 1996. The effect of different pre-sowing treatments, temperature and light on the germination of five *Senna* species from Ethiopia. **New Forest**. 11:155
- Thomson, A.J. & El-Kassaby, Y.A. 1993. Interpretation of seed-germination parameters. **New Forest**. 7:123
- Timyan, J. 1996. Bwa yo: Important tree of Haiti. South-East Consortium for International Development. Washington, USA. 418 p.
- Vázquez-Yanes, C. & Orozco-Segovia, Alma. 1984. Ecophysiology of seed germination in the tropical humid forest of the world: a review. In: Physiological ecology of plants of the wet tropics. (E. Medina, H. Mooney & C. Vázquez-Yanes, Eds.) Dr. W. Junk Publishers. The Hague, The Netherlands. p. 37
- Vázquez-Yanes, C. & Orozco-Segovia, Alma. 1987. Fisiología ecológica de semillas en la estación de biología tropical "Los Tuxtlas", Veracruz, Mexico. **Rev. Biol. Trop.** 35:85
- Vázquez-Yanes, C. & Orozco-Segovia, Alma. 1996. Comparative longevity of seeds of five tropical rain forest woody species stored under different moisture conditions. **Canadian Journal of Botany**. 74:1635
- Venter, A. van de. 2000. What is seed vigour?. **ISTA News Bulletin**. 121:13
- Vertucci, C.W.; Crane, J. & Vance, N.C. 1996. Physiological aspects of *Taxus brevifolia* seeds in relation to seed storage characteristics. **Physiologia Plantarum**. 98:1
- Walters, Christina. 1998. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. **Seed Science Research**. 8:223
- Wang, B.S.P.; Downie, B.; Wetzell, S.; Palamarek, D. & Hamilton, R. 1992. Effects of cone scorching on germinability, and vigour of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. *latifolia*) seeds in Alberta. **Seed Science and Technology**. 20:409
- Welbaum, G.E.; Bradford, K.J.; Yim, Kyu-Ock; Booth, D.T. & Oluoch, M.O. 1998. Biophysical, physiological and biochemical processes regulating seed germination. **Seed Science Research**. 8:161
- Willan, R.L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales con especial referencia a los trópicos. FAO-DANIDA. Roma, Italia. Estudio FAO Montes 20/2. 502 p.
- Willan, R.L. 2000. Pre-tratamiento de semillas. En: Técnicas para la germinación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico No. 39. CATIE-PROSEFOR-DFSC. Turrialba, Costa Rica. p.15
- Yu, S.L. & Wang, B.S.P. 1996. Tetrazolium testing for viability of tree seed. In: Rapid viability testing of tropical tree seed. (Bhodthipuks, J. et al., Eds.). Training Course Proceedings No. 4. ASEAN Forest Tree Seed Centre Project. Muak Lek, Thailand. p. 33

Recibido el 19 de noviembre del 2002

Aceptado el 19 de febrero del 2003