

ACTA BOTANICA CUBANA



No. 118

20 de diciembre de 1998



INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y SISTEMÁTICA

Inducción de tolerancia al déficit hídrico en *Trichospermum grewiiifolium* *

Jorge A. SANCHEZ **, Tatiana M BLANCO***, Bárbara C. MUÑOZ**

ABSTRACT: The object of the present paper was to determinate the effects that had the combination of pregerminative hydration-dehydration and heat shock treatment's on *Trichospermum grewiiifolium* seeds, pioneer shrub species. The combination of two cycle of partial hydration with heat shock to 40°C for 1hr was the best treatment. This procedure increased seeds germination and emergence under water deficit. The possible factors that limited this species only to humid climates were discussed.

KEY WORDS: *Trichospermum grewiiifolium*, seeds, germination, pregerminative hydration-dehydration treatment, heat shock, pioneer shrub species.

INTRODUCCIÓN

Trichospermum grewiiifolium (A. Rich) Kosterm; es una planta endémica del occidente del país de la familia *Tiliaceae*, que mide hasta 15m de altura. Se conoce vulgarmente como "Majagüilla macho", "Majagua macho" y "Guasimilía" y se considera una especie pionera tardía típica de la vegetación secundaria de los bosques semidecíduos y siempreverdes (Alain, 1974; Herrera *et al*, 1997). Gómez de la Maza y Roig (1916) además, señalaron que la madera de éste taxón, es flexible, de color ceniciento, muy empleada en la fabricación de barras y carruajes.

Las especies arbóreas pioneras tienen como función fundamental, invadir los claros ó zonas descubiertas, preparando las condiciones ambientales adecuadas para la implantación del ecosistema forestal primario y la sucesión vegetal (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1984; Whitmore, 1989). Sin embargo, en la época de seca, la germinación y la emergencia de las plántulas en general, se afecta considerablemente y ésto puede continuar en la época lluviosa, debido a la irregularidad de las lluvias y la fuerte irradiación solar a la que se encuentran sometidos los sitios abiertos.

Una vía fisiológica para incrementar la germinación bajo condiciones de sequía, es la aplicación de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas, que consiste en la preimbibición de las mismas en soluciones de un osmótico bioquímicamente inerte o en agua durante cierto período, con ó sin deshidratación previa a la siembra. Estos tratamientos, se conocen en la literatura científica como acondicionadores de semillas ó "seed priming" (Heydecker y Coolbear, 1977), revigorizadores de semillas ó "seed reinvigoration" (Heydecker *et al*, 1975) y robustecedores de semillas ó "seed hardening" (Henckel, 1982).

Otros investigadores, han propuesto métodos de robustecimiento consistentes en, someter a las semillas recién germinadas a altas temperaturas (Henckel, 1975; Altschuler y Mascarenhas, 1982; Cardemil, 1985). Se plantea que una breve exposición a temperatura supraóptima (choque térmico), inducen tolerancia al calor en una variada gama de plantas.

*Manuscrito aprobado en marzo de 1998

**Instituto de Ecología y Sistemática, A.P. 8029, C.P. 10800, La Habana, Cuba.

***Estudiante de la Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba.

Este tipo de tratamiento puede inducir también, tolerancia a la sequía; pero el efecto que sobre las plantas podría tener la combinación de choque térmico con los tratamientos de hidratación-deshidratación ha sido muy poco estudiado hasta donde conocemos (Calvo *et al.*, 1997).

Por otro lado, en nuestro país, existe una base teórico-práctica sobre la ecología de los bosques siempreverdes de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario (Herrera *et al.*, 1988). Esta novedosa ecotecnología, tiene en cuenta la dinámica de las condiciones ecológicas que se establecen en la sucesión vegetal y se denomina por ello Reforestación Sucesional.

A pesar de esto, existen relativamente pocos conocimientos sobre un factor vital para éste paquete ecotecnológico: los mecanismos ecofisiológicos de regeneración de las especies arbóreas pioneras en condiciones de estrés ambiental y por consiguiente, durante los cambios climáticos que están sucediendo.

El objetivo del presente trabajo consiste en determinar los efectos que podrían tener los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación en combinación con los de choque térmico sobre la germinación y la emergencia de las plántulas de *Trichospermum grewiiifolium*, bajo déficit hídrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Montaje y aplicación de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación y de choque térmico: El presente trabajo, se realizó con semillas frescas de *T. grewiiifolium* colectados de frutos maduros en los árboles, en junio de 1996, en tres parcelas de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario, en el área conocida como El Salón. Las semillas presentaron una viabilidad potencial inicial de 92% determinado mediante la prueba del Tetrazolium (TZ) según las normas del ISTA, 1985. Se hidrataron de acuerdo al modelo de hidratación parcial propuesto por Orta *et al.* (1993).

Las semillas, fueron embebidas en agua destilada a 35°C, temperatura adecuada para la germinación, según Muñoz *et al.* (1996) y pesadas en diferentes tiempos de imbibición durante cuatro días, para determinar la dinámica de absorción de agua, bajo condiciones de anoxia parcial. Para tal propósito, se tomaron 5 réplicas de 25 semillas cada una para cada punto de imbibición analizado.

La curva de absorción, se expresó como porcentaje de agua absorbida con relación al peso fresco inicial de las semillas. El contenido inicial de agua, se determinó mediante el secado de las semillas durante 17 hr en una estufa mantenida a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ (ISTA, 1985).

Paralelo a éste experimento, las semillas se osmoacondicionaron por el método tradicional (Heydecker *et al.*, 1973). Se utilizó, diferentes soluciones de polietilenglicol (PEG)-4000 en las siguientes concentraciones: 12.5, 17.0, 20.5, 30.0 y 41g/100 ml de agua establecidas por Lawlor (1970), para lograr diferentes potenciales de agua: -0.40, -0.60, -0.81, -1.21 y -1.72 MPa, respectivamente. El tratamiento osmoacondicionador consistió en la imbibición de las semillas en las soluciones respectivas durante 72 hr a 35°C y desecadas posteriormente durante 48 hr antes de la siembra.

Los mejores resultados para incrementar y acelerar la germinación, se logró con la solución -0,4 MPa (Tabla 1). Bajo éste potencial osmótico, las semillas alcanzaron un nivel de humedad de 76% con respecto al peso fresco inicial. Este valor se adoptó, como el nivel de hidratación óptimo y se alcanzó al cabo de 44 hr de imbibición en agua a 35°C (Fig. 1).

Por lo tanto, la hidratación se realizó en agua a 35°C en condiciones de anoxia parcial, durante 44 hr y la deshidratación se efectuó al aire durante 48 hr a 25°C. La imbibición se llevo a cabo en las condiciones descritas para facilitar su introducción en la práctica agrícola.

Los tratamientos utilizados fueron:

T1: semillas no tratadas ó control.

T2: un ciclo de hidratación-deshidratación.

T3: dos ciclos de hidratación-deshidratación.

T4: un ciclo de hidratación-deshidratación y después un ciclo de hidratación aerobia a 35°C durante 27 hr - tiempo en que se alcanzó la completa imbibición de las semillas - dos horas antes del inicio de la germinación, y deshidratadas durante 48 hr previo a la siembra.

T5: un ciclo de hidratación-deshidratación y después un ciclo de hidratación aeróbica a 35°C durante 26 hr y transferidas a 40° C - choque térmico - durante 1 hr y desecadas durante 48 hr ,previo a la siembra.

T6: Un ciclo de hidratación-deshidratación y después un ciclo de hidratación aerobia a 35°C durante 26 hr y transferidas a 45° C - choque térmico - durante 1 hr y desecadas durante 48 hr, previo a la siembra.

El segundo ciclo de hidratación parcial en los tratamientos T4, T5 y T6 se llevo a cabo en condiciones aeróbicas, debido a que experimentalmente se determinó que dos ciclos imbibición en anoxia parcial, hasta el nivel de hidratación que alcanza las semillas con los referidos procedimientos, afectó considerablemente la viabilidad de las mismas.

Por el nivel de hidratación que alcanzaron las semillas con los tratamientos T2 y T3 pueden considerarse como acondicionadas y en el caso de los tratamientos T4, T5 y T6 como robustecidas; por lo tanto, se llamarán indistintamente.

Pruebas de germinación y emergencia de las plántulas bajo déficit hídrico: Se diseñó un experimento trifactorial para conocer los efectos de los tratamientos pregerminativos descritos en el epígrafe anterior sobre el comportamiento germinativo y de emergencia de las semillas de *T. grevilleifolium* bajo estrés hídrico y calórico. Los distintos niveles de humedad del sustrato, se lograron con la preparación de soluciones de PEG-4000 en las cantidades establecidas por Lawlor (1970) para obtener los siguientes potenciales osmóticos: 0 (control), -0.2, -0.4, -0.6 Mpa, respectivamente. Se utilizaron temperaturas alternas de 25-35°C y 25-40°C con un termoperíodo de 12 hr para un total de 48 tratamientos.

Cada tratamiento, contó con cinco réplicas de 25 semillas cada una y se sembraron en placas de Petri de 9 cm de diámetro sin papel de filtro, embebidas en las soluciones correspondientes o en agua destilada estéril.

La solución osmótica, se cambió en días alternos para evitar cambios de potencial osmótico por evaporación. Por lo tanto, las posibles modificaciones que podrían ocurrir en la osmolaridad de las soluciones, se debieron al termoperíodo ensayado, lo cual refleja la variabilidad a que está sometido el potencial hídrico del sustrato en los climas tropicales (El-Sharkwi y Springel, 1977).

El conteo de la germinación, se realizó diariamente durante 15 días, considerando cómo germinadas, aquellas en las que emerge la radícula. Se determinó, el índice T20 - velocidad de germinación dada por el tiempo en que se alcanza, el 20% del fenómeno en la muestra -, así como el porcentaje de semillas vivas no germinadas y de semillas muertas mediante la prueba de TZ.

Se determinaron además, el porcentaje de emergencia final - primera señal visible de los cotiledones - y el peso seco de las plántulas (g) - $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por 17 hr-, 15 días después de la siembra.

Procesamiento de los datos: Los datos expresados en porcentaje se transformaron en $\arcsen \sqrt{x}$ y los demás parámetros que no cumplieron homogeneidad de varianza, se transformaron en \sqrt{x} o $\log_2(x)$ según el caso. Se desarrollo un análisis de componentes principales (ACP) para determinar las correlaciones que se establecen entre las variables y su contribución en nuestro ensayo. Los parámetros germinativos y de emergencia seleccionados se procesaron mediante análisis de varianza de clasificación simple, que contiene un arreglo factorial de los tratamientos (2 x 4 x 6). Se aplicaron pruebas de regresión lineal entre el porcentaje de germinación final y el potencial del agua. Finalmente, se procesaron los datos por medio de ACP para determinar como se interrelacionan y agrupan las plantas procedentes de semillas tratadas o no tratadas en función de su comportamiento germinativo y de emergencia bajo déficit hídrico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Correlación y contribución de los parámetros germinativos y de emergencia en el experimento: Todas las variables germinativa y de emergencia analizadas jugaron un papel significativo ($P < 0.05$), según el círculo de correlación propuesto por Fariñas (1996), en el espacio bidimensional definido por los dos primeros componentes principales (Fig.2) que explican entre los dos más de 70% de la variación total de los datos (Tabla2). Además, se puede apreciar que el porcentaje de germinación final (%GF), el porcentaje de emergencia final (%EF), el peso seco de las plántulas (PSP) y la velocidad de germinación (VG) están correlacionados positivamente entre si y con el primer eje (F1). El porcentaje de semillas muertas (%SM) está correlacionado negativamente con el primer eje y con la velocidad de emergencia (VE), el % EF, el %GF, la VG y el PSP. Por último, el porcentaje de semillas vivas no germinadas (%SVNG) está correlacionado positivamente con el segundo eje (F2) y es independiente al resto de las variables mencionadas, salvo a la VE, con la que está correlacionada positivamente.

Al mismo tiempo puede observarse en la Tabla 2 y Fig.2, que las variables que más contribuyeron a la formación del primer componente fueron el %GF, el %EF y el %SM y en el segundo componente el %SVNG. Esto demuestra, que dichos parámetros son los que mayor variabilidad o plasticidad genética presentaron al ser tratadas las semillas y someterlas a déficit hídrico. Por consiguiente, serán estos los que se analizarán en las pruebas de germinación y de emergencia que se discuten a continuación.

Pruebas de germinación y de emergencia bajo déficit hídrico: El análisis de varianza aplicado a nuestro experimento factoria demostró que todos los parámetros germinativos y de emergencia medidos en las semillas de *T. grevilleifolium* son el resultado de la interacción altamente significativa ($P < 0.001$) que se establece entre los tratamientos pregerminativos y los diferentes niveles de humedad y de temperatura ensayados (Tabla 3). Además, las interacciones de primer orden - tratamiento pregerminativo x niveles de humedad, tratamiento pregerminativo x temperatura y nivel de humedad x temperatura - y los efectos principales también jugaron un papel significativo en el ensayo. Resultados similares se han obtenidos por El-Sharkwi y Springuel (1977), Orta *et al.* (1983) y Priso *et al.* (1992) en semillas de diversos cultivos sometidas a diferentes tratamientos de humedecimiento-deshidratación y condiciones físicas extremas del medio durante la emergencia de la radícula y plúmula.

El porcentaje de germinación final, independiente del tratamiento utilizado, depende significativamente (Tabla 4) del potencial del agua. Al incrementarse el estrés hídrico del medio disminuyó significativamente ($P < 0.001$) la capacidad germinativa de *T. grevilleifolium*, y este efecto es aún mayor al aumentar la temperatura del sustrato. Al parecer, este último factor influyó de manera decisiva (Tabla 3 y 4) en todos los parámetros medidos.

La disminución del porcentaje de germinación final, en todos los tratamientos, se inició bajo condiciones de estrés hídrico moderado (-0.2 MPa). Sin embargo, el grado de dependencia de esta variable con respecto al potencial del agua es mayor en las semillas no tratadas o control (T1), que en las semillas tratadas (T2, T3, T4, T5, y T6). El coeficiente de regresión o de estimación disminuyó al ser tratadas las semillas (Tabla 4). Obteniéndose los mejores resultados en este sentido con los tratamientos T4, T5 y T6 - semillas robustecidas con dos ciclos de hidratación-deshidratación con, o sin choque térmico-, que lograron estabilizar de cierta manera el comportamiento germinativo de la especie ante el déficit hídrico.

Al mismo tiempo, con los tratamientos T4, T5 y T6 se alcanzaron los mayores porcentajes de germinación final dentro de un mismo nivel de humedad, siendo generalmente superiores con el tratamiento T5; el choque térmico a 40°C con dos ciclos de hidratación-deshidratación parece ser la combinación más adecuada para incrementar la germinación. Por último, los tratamientos T2 y T3 - semillas acondicionadas por medio de dos ciclos de hidratación - deshidratación - también resultaron adecuados para incrementar la germinación con relación al control.

Sin embargo, se apreció que sólo cuando las condiciones del sustrato en cuanto a humedad y temperatura se hacen más críticas, son mayores las diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el control (T1) y el resto de los tratamientos (Tabla 4). Este es un resultado sumamente interesante, debido a que las pruebas de efectividad en que se comparan los tratamientos acondicionadores y robustecedores con un control - semillas no tratadas - se realizan en condiciones de humedad y temperatura del sustrato óptimas para la especie, como metodología universal aceptada (Heydecker, 1982). De seguir este criterio, sólo hubiésemos probado la germinación de los distintos tratamientos en nuestras condiciones idóneas (T:25-35°C y =0 Mpa) y en correspondencia con los resultados obtenidos no se hubiesen detectados las diferencias significativas anteriormente mencionadas entre los tratamientos y el control.

En general, este comportamiento fue muy similar a los que se obtuvieron con el resto de los parámetros germinativos y de emergencia analizados; por lo tanto, no se abordará su discusión al presentar los resultados obtenidos en cada parámetro.

El porcentaje de semillas vivas no germinadas en 25-35°C siguió un comportamiento lineal negativo; al disminuir el potencial del agua se incrementó significativamente ($P < 0.001$) esta variable. Con el aumento de la concentración de PEG-4000 en la solución se logró preservar la viabilidad de las semillas más vigorosas del lote, que no alcanzaron germinar. Estos resultados corroboran los obtenidos por Orta *et al.* (1983) y Calvo *et al.* (1996), los cuales plantearon que tal efecto podría deberse a la baja disponibilidad de agua que ofrece la solución en combinación con un régimen de temperatura adecuado para la viabilidad y germinación de la especie.

En cambio, cuando el estrés calórico aumento el efecto del régimen hídrico sobre la viabilidad de las semillas no germinadas varió. Al disminuir el potencial del agua disminuyó considerablemente el parámetro medido y solamente aparecieron semillas vivas no germinadas con los tratamientos T4, T5 y T6. Esto demuestra que los referidos tratamientos inducen cambios metabólicos que le permiten incrementar la supervivencia de las semillas aún bajo condiciones ambientales extremas.

Por otra parte, se observó que el porcentaje de semillas muertas aumentó significativamente cuando las condiciones de humedad y temperatura se hacen más críticas. Obteniéndose los máximos valores de mortalidad con los tratamientos T1, T2 y T3. Al parecer, el prolongado tiempo de imbibición, a que están sometidas las semillas durante las pruebas de germinación, y los ciclos de humedecimiento-deseccación agotan las pocas reservas nutricionales de que disponen las semillas de esta especie (Muñoz *et al.*, 1996), sin alcanzar la germinación.

El porcentaje de emergencia final siguió un comportamiento muy similar al porcentaje de emergencia final, disminuyó considerablemente al incrementarse el estrés hídrico y calórico (Tabla 4). Sin embargo, este parámetro fue más sensible a la reducción del potencial del agua que el porcentaje de germinación (Fig. 3). Las semillas no tratadas (T1), o control sólo emergieron, en general, en condiciones humedad y de temperatura adecuada. Además, con los tratamientos T2 y T3 nunca se alcanzó la emergencia, independientemente de la temperatura, cuando el estrés hídrico se hizo más severo (- 0.6 MPa).

Bewley y Black (1978) plantearon, que la emergencia de la plántula se debe fundamentalmente al alargamiento celular, proceso que requiere gran cantidad de agua. El-Sharkawi y Springuel (1977) además señalaron, que bajo condiciones de sequía la emergencia de la plúmula, resulta la fase más crítica e importante para el establecimiento, debido a que le permite a la nueva planta utilizar la energía luminosa y con esto asegurar su establecimiento.

En el caso de las especies arbóreas pioneras la necesidad de un rápido despliegue de los cotiledones, se debe a las pocas reservas cotiledonales que portan, que hacen que esta primera fase del establecimiento sea sumamente dependiente del nivel hídrico (Duke, 1969; Ng, 1978).

Por otro lado, los tratamientos T4, T5, T6 resultaron ser los más adecuado para incrementar el porcentaje de emergencia final a través del gradiente ambiental establecido. Con estos tratamientos se obtuvieron resultados similares en el porcentaje de germinación final como anteriormente se expresó.

Lo que demuestra, la efectividad de los referidos tratamientos para mejorar el comportamiento germinativo y de emergencia de *T. grewiiifolium* bajo déficit hídrico.

Diversos autores (El-Sharkwi y Springuel, 1977; Prisco *et al.*, 1978; Kaster *et al.*, 1981; Hetckel, 1982; Prisco *et al.*, 1992) han logrado incrementar la germinación y la emergencia de semillas de diferentes cultivos bajo condiciones ecológicas adversas al osmoacondicionarlas y robustecerlas previamente. Concluyeron que tales efectos se deben a la activación que producen los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación en el aparato metabólico relacionado con la germinación y en los numerosos mecanismos bioquímicos-fisiológicas de resistencia o tolerancia al estrés, que permanecen latentes bajo condiciones ambientales idóneas.

Al mismo tiempo se conoce que los tratamientos de choque térmico inducen la tolerancia al calor en una gran cantidad de organismos, incluidos entre ellos las plantas (Bewley *et al.*, 1983; Czarnecka *et al.*, 1984; Cardemil, 1985). Cooper *et al.* (1984) además plantearon, que la adquisición de la termotolerancia se correlaciona con una mayor síntesis de proteínas de alto peso molecular o de estrés calórico, que al parecer, evitan la desnaturalización de las proteínas de membranas al ser sometidas las plantas a altas temperaturas. Vierling (1991) planteó, que no está definido aún cómo las proteínas de choque térmico contribuyen a la capacidad de los organismos de sobrevivir al estrés calórico.

Por otro lado, Bewley *et al.* (1983) comprobaron los cambios que ocurren en el patrón de síntesis de proteínas de plántulas recién germinadas de maíz (*Zea mays* L.) cuando son sometidas a estrés hídrico y térmico. Demostraron, que el déficit de agua, provoca cambios cuantitativos en el patrón de proteínas sintetizadas; disminuye la síntesis de unas, pero intensifican las de otras que bajo condiciones ambientales adecuadas se expresan a muy bajo nivel. En cambio, el choque térmico induce tanto cambios cuantitativos como cualitativos en la síntesis de proteínas.

Cooper y Ho (1983) además determinaron, que existe una temperatura óptima de síntesis de proteínas de estrés calórico, que en nuestro experimento parece que se alcanzó a 40°C. Esto explicaría los resultados altamente satisfactorios obtenidos en la germinación y la emergencia de *T. grewiiifolium*, fundamentalmente cuando la temperatura del sustrato se incrementa.

Resultados de los análisis multivariado: Los análisis de los componentes principales se realizaron con todos los parámetros que se midieron y las abreviaturas de éstos se corresponde con la descrita en este epígrafe.

Las figura 4 muestran la trayectoria germinativa y de emergencia de las plantas de *T. grewiiifolium* en el espacio de ordenamiento bidimensional que está definido por los primeros componentes principales que explican, entre los dos, más de 70% de la variación total de los datos.

En general, se apreció que %GF, el %EF, el PSP, la VG y la VE de las plantas disminuyó considerablemente, independiente del tratamiento pregerminativo aplicado y del estrés calórico, al disminuir el potencial del agua. Sin embargo, se observó que la magnitud de la trayectoria depende, significativamente de los tratamientos y del nivel de temperatura utilizado.

Cuando la temperatura del sustrato fue de 25-35°C y el estrés hídrico se hizo más severo (Fig. 4A) las plantas procedentes de los tratamientos T1, T2, y T3 tienden a ocupar regiones del espacio muy cercanas donde se alcanza los valores máximos para el %SM y mínimos para el %GF, el %EF, el PSP y la VG.

En cambio, las plantas procedentes de los tratamientos T4, T5 y T6 se agrupan en el sentido en que disminuye el %SM y aumenta el resto de las variables estudiadas. Lo cual sugiere, que los tratamientos pregerminativos aplicados inducen comportamiento germinativos y de emergencias diferentes en las plantas.

Al incrementarse la temperatura del sustrato (Fig. 4B), se observa en general, un ordenamiento muy similar al anterior. Sólo cambia, en que el efecto del déficit hídrico es aún mayor sobre el %GF, el %EF y el vigor de las plántulas.

La inducción a la tolerancia a la sequía que promueven los tratamientos robustecedores -T4, T5 y T6- se puede observar mejor cuando se realiza un análisis similar al anterior, en el cual sólo se tiene en cuenta las condiciones más críticas probadas -temperatura 25-40°C y H₂O -6MPa.

Se apreció (Fig.5) claramente, que los individuos procedentes de los tratamientos T4, T5 y T6 se ubican en regiones opuestas del espacio de ordenamiento que ocupan los individuos procedentes de las semillas no tratadas (T1) o control y los individuos resultantes de los tratamientos T2 y T3 - semillas acondicionadas. Esto se debe fundamentalmente a que, con los tratamientos T4, T5 y T6 las plantas obtuvieron los máximos valores para el %GF, el %EF, %SVNG, el PSP y la VG en contraposición a lo que sucede con las plantas procedentes de los tratamientos T1, T2 y T3, que se ubican en las regiones del espacio en que aumenta y se obtienen los valores máximos para el %SM y mínimos para el resto de los parámetros analizados.

En conclusión, los resultados obtenidos con los tratamientos pregerminativos - en particular con los robustecedores - bajo condiciones de déficit hídrico pueden considerarse muy satisfactorios si tenemos en cuenta que *T. grewiiifolium* sólo habita en lugares húmedos, y que los procesos de germinación y de emergencia se consideran como los más críticos dentro del ciclo de vida de las plantas; debido a la alta sensibilidad que presentan estas fases a los factores externos (Harper y White, 1974; Angevine y Chabot, 1979; Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1984). Además, con los referidos tratamientos también se obtuvieron las plántulas más vigorosas, lo cual podría incrementar la supervivencia de la especie cuando esté sujeta a la competencia con las malzas.

Paralelo a esto quedo demostrado que, *T. grewiiifolium* presenta plasticidad genética para germinar y emerger bajo condiciones de déficit hídrico. Al parecer, la restricción a la que se encuentra sometido su hábitat - lugares húmedos y sólo en el occidente del país - podría deberse entre otros factores, a la barrera física que ejerce la vegetación circundante y la topografía del terreno a la dispersión de las semillas de esta especie - dispersión por aire. Por otra parte, la poca utilización que hace de este taxón la población rural podría contribuir a lo anteriormente planteado.

REFERENCIAS

- Alain, H. 1974. *Flora de Cuba. Suplemento*. Editorial Organismos, La Habana, 150 pp.
- Altschuler, M., y J. M. Mascarenhas. 1982. Heat shock proteins and effects of heat shock in plants: *Plant Mol. Biol.* 1:103-115
- Bewley, J. D., y M. Black. 1978. *Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination*. Vol. 1: development, germination and growth. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg, New York, 306 pp.
- Bewley, J. D., K. Larsen, y J. E. T. Papp. 1983. Water-stress-induced changes in the pattern of protein synthesis in maize seedling mesocotyls: A comparison with the effects of heat shock. *J. Exp. Bot.* 146: 1126-1133.
- Celvo, E., J. A. Sánchez, y B. Muñoz. 1996. "Efecto de los tratamientos robustecedores sobre la germinación y las plántulas del pepino, bajo potencial de agua reducido " inédito.
- 1997. "Cambios en el patrón de síntesis de proteínas inducido por los tratamientos robustecedores de semillas " inédito.
- Cardemil, L. 1985. Inducción de termotolerancia en plantas. *Medio Ambiente*. 7 (2):3-14.
- Copper, P., y T. H. D. Ho. 1983. Heat shock proteins in maize. *Plant Physiol.* 71: 215-222.
- Copper, P., A. Wang, y H. D. Ho. 1984. Membrane associated maize heat shock proteins and the effects of heat shock in ion transport in roots. *Plant Physiol.* 75: 56-69.
- Czarnecka, E., L. Edelman, F. Schoffl, y J. L. Key. 1984. Comparative analysis of physical stress response in soybean seedling used cloned heat shock cDNAs. *Plant Mol. Biol.*, 3:45-58.
- Duke, J. A. 1969. On tropical tree seedling. I. Seed, seedling and systematics. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 5:677-688.

- El-Sharkawi, H. M., y I. Springuel. 1977. Germination of some crop plant seed under reduce water potential. *Seed Sci. Technol.*, 5:677-688.
- Fariñas, M. R. 1996. *Análisis de la vegetación y sus relaciones con el ambiente mediante métodos de ordenamiento*. Centro de Investigación Ecológicas de los Andes, Venezuela. inédito.
- Gomez de la Maza, M., y J. T. Roig. 1916. *Flora de Cuba*. Imprenta de Rambla, 2da edn. 182 pp.
- Henckel, P. A. 1975. Physiological ways of plant adaptation against drought. *Agrochemical*, 5: 431-436.
- 1982. *Fisiología de la resistencia de las plantas al calor y a la sequía* en ruso. *Nauka*, Moscú, 280pp.
- Herrera, R. A., L. Menéndez, M. E. Rodríguez, y E. E. García. 1988. Ecología de los bosques siempreverdes de la Sierra del Rosario, Cuba. Proyecto MAB No 1. 1974-1987. UNESCO. ROSTLAC, Montevideo, Uruguay, 760 pp.
- Herrera, R. A., D. R. Ulloa, O. Valdés-Lafont, A. G. Priego, y A. R. Valdés. 1997. Ecotechnologies for the sustainable management of tropical diversity. *Nature & Resources*. 33:2-7.
- Heydecker, W. 1982. Estrés y germinación de semillas. Cap. 2. En: (A. A. Khan de.) *Fisiología y Bioquímica de la latencia y germinación de las semillas*. en ruso. *Kolos*, Moscú.
- Heydecker, W., J. Higgins, y R. L. Gulliver. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature*, 246: 42-44.
- Heydecker, W., J. Higgins, y Y. J. Tuner. 1975. Invigoration of seeds. *Seed Sci. Technol.*, 29: 881-888.
- International Seed Testing Association. 1985. International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.*, 13: 327-328.
- Kaster, Jr. W. W., C. J. Goebel, y J. D. Maguire. 1981. Effects of wet-dry seed treatment on the germination and root elongation of "whinmar" beardless wheatgrass under various water potentials. *J. Range Manage.* 34:305-307.
- Lawlor, D.W. 1970. Absorption of polyethylene glycols by plants and their effects on plant growth. *New Phytologist*. 69: 501-513.
- Muñoz, B., J. A. Sánchez, y E. Calvo. 1996. "Patrones morfológicos y germinativos de *Trichospermum grewiiifolium*" [inédito].
- Ng, F. 1978. Strategies of establishment in Malasy forest trees. En: (P. B. Tomlinson and M. H. Zimmermann eds.) *Tropical trees as living systems*. Cambridge University Press. Cambridge. 129-162 pp.
- Orta, R., L. Pozo, E. Pérez, e I. Espinosa. 1983. Aplicación de tratamientos pregerminativos a semillas de Siratro (*Macroptillium atropurpureum* (Moc & Sessé) Urb.) En *Memorias del I Simposio de Botánica*, La Habana. Tomo V: 251-264.
- Orta, R., J. A. Sánchez, B. Muñoz, y E. Calvo. 1993. "Modelo de hidratación parcial en agua para tratamientos revigorizadores, acondicionadores y robustecedores de semillas" inédito.
- Prisco, J. T., G. F. Souto, y L. G. R. Ferreira. 1978. Overcoming salinity inhibition of sorghum seed germination by hydration-dehydration treatment. *Plant and Soil*, 49: 199-206.
- Prisco, J. T., C. R. Haddad, y J. L. Bastos. 1992. Hydration-dehydration seed pre-treatment and its effects on seed germination under water stress conditions. *Revta. Brasil. Bot.*, 15(1): 31-35.
- V azquez-Y anes, C., y A. Orozco-Segovia. 1984. Fisiología ecológica de las semillas de árboles de la *Vegetación del ambiente*. *Ciencia*. 35:191-201.
- Vierling, E. 1991. The roles of heat shock proteins in plants. *Annu Rev. Plant Physiology Plant Mol. Biol.* 42: 579-620.
- Whitmore, J. C. 1989. Canopy gaps and the two major groups forest trees. *Ecology*. 70 (3): 536- 38.

Tabla 1. Valores promedios de porcentaje de humedad (%H), del porcentaje de germinación final (%GF) y de la velocidad de germinación (T20) en semillas de *Trichospermum grewiifolium* embebidas previamente en soluciones de polietilenglicol -4000 de diferentes potenciales de agua. El ANOVA indicó que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

Potencial de agua (Mpa)	% H	%GF	T20
-0.40	76.8	85.3	4.78
-0.60	66.9	64.0	5.37
-0.81	59.9	64.0	6.96
-1.21	55.1	62.3	7.27
-1.72	44.3	59.3	8.33
SE (\pm)	5.48	4.65	0.64

SE (error estándar de las medias).

Tabla 2. Valores y vectores propios de los tres primeros componentes para los diferentes parámetros germinativos y de emergencia analizados en *Trichospermum grewiifolium*.

Componentes principales			
	C1	C2	C3
Valor propio	3.85	1.29	0.86
Varianza explicada (%)	55.1	18.5	12.3
Varianza acumulada (%)	55.1	73.6	85.9
Germinación final	0.474	-0.114	-0.003
Velocidad de germinación	0.358	-0.256	0.154
Semillas vivas no germinadas	0.142	<u>0.805</u>	-0.383
Semillas muertas	<u>-0.444</u>	-0.160	0.301
Emergencia final	<u>0.453</u>	-0.146	-0.033
Velocidad de emergencia	0.170	0.460	0.856
Peso seco plántula	0.439	-0.118	0.059

Los valores subrayados representan los autovectores o variables más significativas dentro del componente 1 y 2.

Tabla 3. Resultados de los análisis de varianza para los parámetros germinativos y de emergencia de *Trichospermum grewifolium*.

Variable dependiente	Fuente de variación	F
Germinación final (%)	Tratamiento pregerminativo (A)	41.3 ***
	Nivel de humedad (B)	182.1 ***
	Temperatura (C)	286.3 ***
	(A x B)	6.9 ***
	(A x C)	13.1 ***
	(B x C)	2.1 **
	(A x B x C)	4.2 ***
Semillas vivas no germinadas (%)	Tratamiento pregerminativo (A)	28.0 ***
	Nivel de humedad (B)	44.3 ***
	Temperatura (C)	79.8 ***
	(A x B)	4.9 ***
	(A x C)	51.7 ***
	(B x C)	11.2 ***
	(A x B x C)	6.3 ***
Semillas muertas (%)	Tratamiento pregerminativo (A)	36.4 ***
	Nivel de humedad (B)	38.6 ***
	Temperatura (C)	327.2 ***
	(A x B)	5.9 ***
	(A x C)	14.2 ***
	(B x C)	5.3 ***
	(A x B x C)	3.5 ***
Emergencia final (%)	Tratamiento pregerminativo (A)	80.7 ***
	Nivel de humedad (B)	169.3 ***
	Temperatura (C)	225.4 ***
	(A x B)	8.3 ***
	(A x C)	7.2 ***
	(B x C)	29.3 ***
	(A x B x C)	3.3 ***

** = Significativo para $p < 0.01$

*** = Significativo para $p < 0.001$

Tabla 4. Parámetros germinativos y de emergencia en *Trichospermum grewii*folium, según los tratamientos pregerminativos (T1-T6) y los diferentes niveles de temperatura y de humedad del sustrato. Valores de la F del ANOVA de regresión y coeficiente de regresión (b)

Variables/Temperaturas	Tratamientos pregerminativos	Potencial del agua (Mpa)				F	b	
		0	-0.2	-0.4	-0.6			
Germinación final (%) 25-35°C	T1	75.9a	38.6b	35.9b	18.0c	***	57.5	
	T2	88.0a	57.3a	52.0a	29.3b	***	45.5	
	T3	72.6a	47.3ab	35.0b	22.6b	***	32.1	
	T4	81.3a	62.3a	57.3a	54.6a	**	20.4	
	T5	84.0a	60.0a	56.0a	56.0a	**	29.0	
	T6	74.0a	65.0a	37.3b	34.3ab	***	34.4	
	25-40°C	T1	46.6b	25.3b	20.0b	0.3c	***	65.1
		T2	64.0a	33.3b	21.3b	4.0b	***	75.2
		T3	52.0ab	33.3b	25.3b	12.0b	***	42.2
		T4	53.3ab	28.0b	25.3b	17.3b	***	35.7
		T5	65.3a	51.3a	51.0a	37.3a	***	26.9
		T6	45.3b	35.0b	37.3b	25.3b	***	22.5
Semillas vivas no germinadas (%) 25-35°C	T1	6.1a	18.6a	23.3ab	22.6bc	***	-22.1	
	T2	5.9a	20.0a	22.0b	43.9a	***	-44.4	
	T3	3.2a	11.3a	25.3ab	29.3ab	***	-40.2	
	T4	6.4a	11.0a	13.0b	14.6b	***	-13.1	
	T5	1.7a	17.3a	20.3b	20.6b	***	-19.7	
	T6	6.9a	15.3a	36.0a	38.3a	***	-49.0	
	25-40°C	T1	---	---	---	---	---	---
		T2	---	---	---	---	---	---
		T3	---	---	---	---	---	---
		T4	22.7a	20.0a	22.0a	11.3a	**	13.0
		T5	16.7a	12.6a	10.6b	7.3a	***	24.5
		T6	22.0a	10.6a	13.3b	4.6a	***	29.3

Medias, con letras diferentes dentro del mismo potencial del agua, difieren significativamente a $P < 0.05$ por medio de una prueba de Duncan.

** = Significativo a $p < 0,01$

*** = Significativo a $p < 0,001$

Tabla 4. Continuación.

Variables/Ti	Tratamientos pregerminativos	Potencial del agua (Mpa)				F	b	
		0	-0.2	-0.4	-0.6			
Semillas muertas (%) 25-35° C	T1	18.0a	42.6a	41.3a	59.4a	***	-26.4	
	T2	6.2b	21.7b	25.9bc	26.6b	***	-23.2	
	T3	24.1a	41.3a	39.6ab	48.2a	***	- 7.8	
	T4	13.0b	26.6b	30.2b	30.8b	***	- 6.3	
	T5	14.6ab	22.7b	23.6c	23.3b	***	- 5.2	
	T6	19.1a	20.0b	26.6bc	27.9b	***	-10.3	
	25-40° C	T1	53.4a	74.7a	80.0a	99.7a	***	-57.0
		T2	36.0bc	66.7ab	78.7a	96.0a	***	74.5
		T3	48.3a	66.7b	75.9a	88.0ab	***	-43.2
		T4	24.0bc	52.0bc	52.7b	71.3b	***	- 3.4
		T5	18.0c	37.0c	38.4c	55.4c	***	-15.8
		T6	32.0b	53.9bc	49.4b	70.0b	***	- 2.6
Emergencia final (%) 25-35° C	T1	39.0b	10.6c	---	---	---	---	
	T2	60.0a	16.0bc	14.6b	---	---	---	
	T3	43.0b	17.3bc	17.3b	---	---	---	
	T4	62.3a	34.6a	25.3b	21.3a	***	24.6	
	T5	66.6a	32.0a	30.0a	28.0a	**	17.5	
	T6	42.6b	24.0ab	24.0ab	22.0a	**	14.3	
	25-40° C	T1	---	---	---	---	---	---
		T2	20.0a	16.0a	10.6a	---	---	---
		T3	21.3a	12.0a	10.2a	---	---	---
		T4	28.0a	17.0a	11.6a	6.5a	***	58.2
		T5	27.6a	16.0a	10.6a	9.7a	**	38.0
		T6	---	---	---	---	---	---

Medias, con letras diferentes dentro del mismo potencial del agua, difieren significativamente a $P < 0.05$ or medio de una prueba de Duncan.

** = Significativo a $p < 0,01$

*** = Significativo a $p < 0,001$

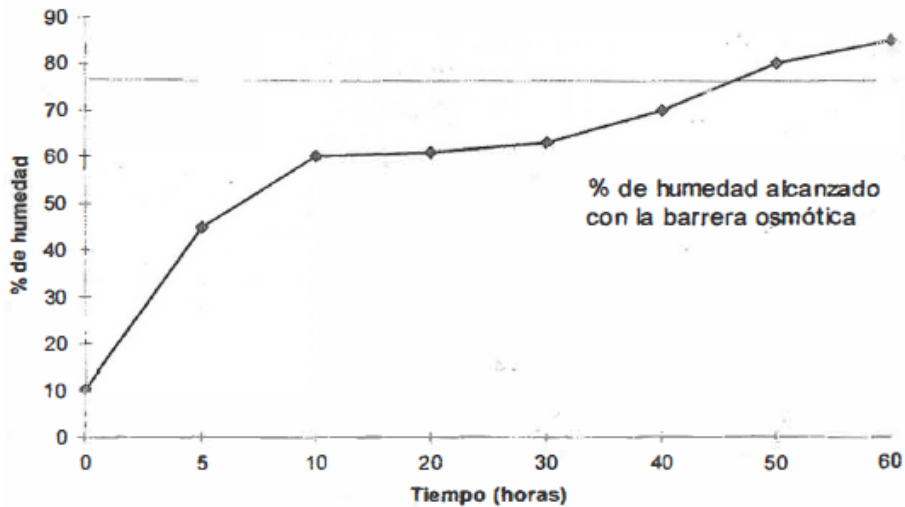


Fig. 1. Curva de imbibición en semillas de *T. grevilleifolium*, utilizando sólo agua como medio de hidratación.

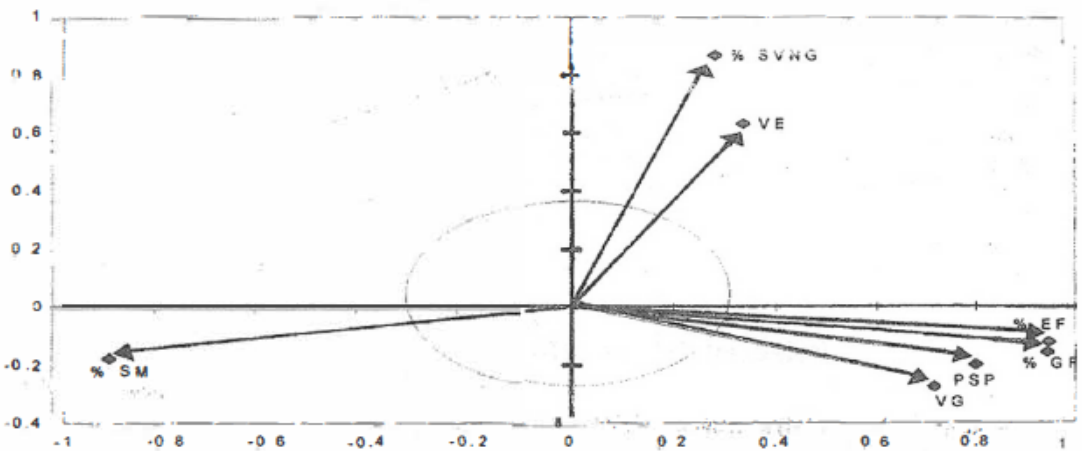


Fig. 2. Disposición de las variables en el plano bidimensional. El vector correspondiente a cada variable indica la dirección en que éstas aumentan y el círculo de correlación el valor a partir del cual son significativas ($P < 0.05$). El significado de cada parámetro aparece en el texto.

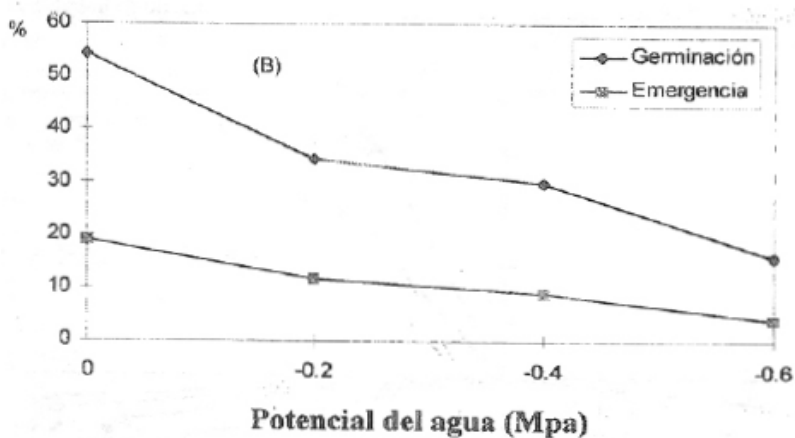
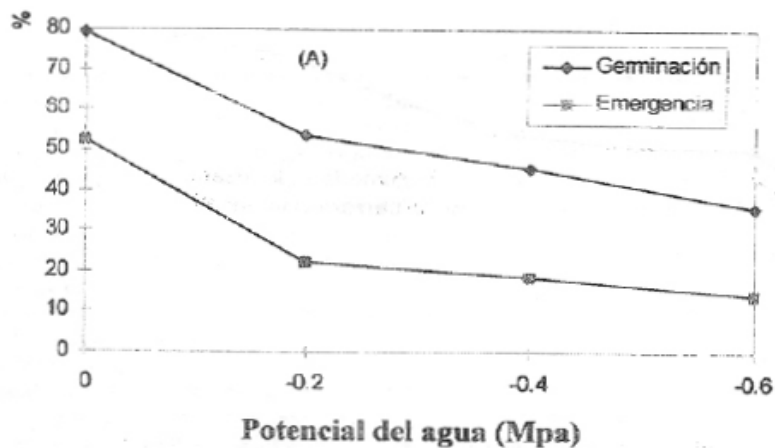


Fig.3. Porcentaje de germinación y de emergencia en semillas de *T. grewiifolium*, según el potencial del agua. (A) sembradas a 25-35°C y (B) sembradas a 25-40°C.

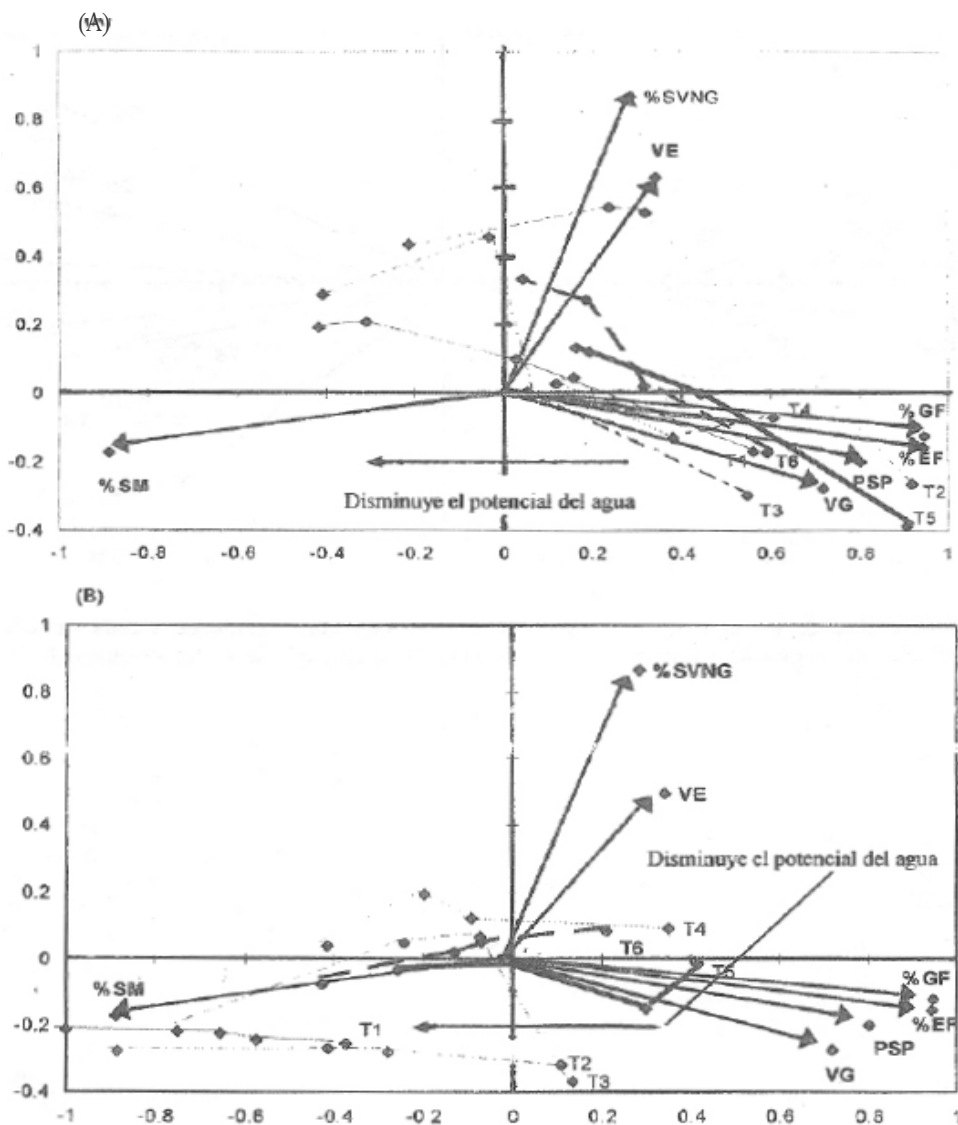


Fig.4. Trayectoria del comportamiento germinativo y de emergencia de las plántulas de *Trichospermum grewiiifolium*, en función de los tratamientos pregerminativos (T1, T6) y del gradiente hídrico del sustrato. (A) sembradas a 25-35°C y (B) sembradas a 25-40°C. El significado de las variables aparece en el texto.

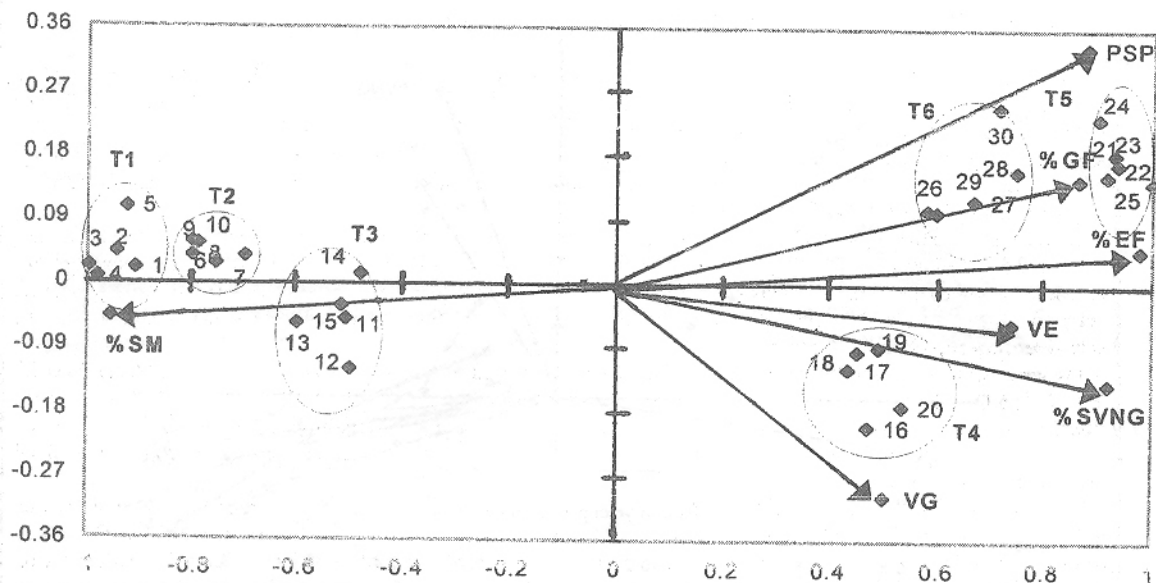


Fig.5. Gráfico dual de los individuos y las variables. El vector correspondiente a cada variable indica la dirección en que éstas aumentan. El número corresponde con la procedencia de los tratamientos (T1, T6).