GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS DE DOS ESPECIES DE PLANTAS SECUNDARIAS TROPICALES: *HELIOCARPUS* DONNELL-SMITHII ROSE Y PIPER AURITUM H, B. K.

BEATRIZ GÓMEZ LEPE *
EPIFANIO JIMÉNEZ ÁVILA *

RESUMEN

Estudios fisiológicos sobre germinación y latencia de semillas de plantas secundarias han dado frecuentemente información sobre procesos biológicos fundamentales tales como la sucesión ecológica del ecosistema tropical. Este trabajo se enfoca a estudiar requerimientos de germinación relacionados con temperatura, luz, cubierta de la semilla y almacenamiento de dos especies muy abundantes de la región de los Tuxtlas en la selva tropical de Veracruz, México; Heliocarpus donnell-smithii y Piper auritum. Al mismo tiempo se trata de elucidar si las semillas de estas dos especies están o no presentes en los suelos, cuando éstos son perturbados. Se obtuvieron los siguientes resultados: Heliocarpus: a) la temperatura óptima de germinación es aproximadamente 25°C; b) la Juz produce una ligera pero significativa inhibición de la germinación; c) se presenta una respuesta diferencial a tratamientos térmicos y lumínicos en semillas recién colectadas y almacenadas; d) la latencia es impuesta por la cubierta de la semilla; el método más efectivo para romperla es la escarificación al nivel micrópilo: e) semillas almacenadas a temperatura de laboratorio durante un año permanecen viables; f) las semillas no se encontraron ni germinaron en muestras de suelo de selva primaria y secundaria. Piper: a) la temperatura óptima de germinación es de alrededor de 25°C; b) la máxima germinación se obtuvo cuando las semillas se colocaron en el invernadero con fotoperiodo y termoperiodo naturales del mes de junio; c) se presenta una respuesta diferencial a tratamientos lumínicos y térmicos en semillas recién colectadas y almacenadas; d) la latencia de la semilla es debida al embrión fisiológicamente inmaduro; e) las semillas no se localizarou pero sí germinaron en suelos de selvas primaria y secundaria.

ABSTRACT

Physiological studies on seed germination and dormancy of secondary plant species have frequently been given information on biological processes such as secondary succession of the tropical ecosystem. This paper deals with germination requirements related to temperature, light, seed cover and storage of two very abundant species of the "Tuxtlas region" in the tropical forest of Veracruz, Mexico: Heliocarpus donnell'smithii and Piper auritum. At the same time, it is intented to elucidate if these species were present or not when the soils were disturbed. The following conclusions were obtained: Heliocarpus: a) optimal germination temperature is around 25°C; b) light produces slight significant inhibition of germination; c) freshly harvested and storaged seeds respond differently to light and temperature treatments; d) seed dormancy is due to their impermeable seed coat; scarification at the micropile is the most effective method to break it; e) storaged seeds at room temperature during one year, remain viable; f) no seeds or seedlings were identified in primary and secondary soil samples. Piper: a) optimal germination temperature is around 25°C; b) maximum germination was obtained when seeds were placed

^{*} Laboratorio de Fisiología Vegetal. Instituto de Biología, UNAM.

at the greenhouse with natural photoperiod and thermoperiod of the month of june; c) freshly harvested and storaged seeds respond differently to light and temperature treatments; d) seed dormancy is due to the physiological inmature embryo; c) seeds were not found in primary and secondary soil samples however, seedlings were identified in both vegetation types.

INTRODUCCIÓN

La vegetación secundaria tropical presenta uno de los campos de investigación biológica más importante no sólo por la extensión que ocupa, sino por su importancia en el entendimiento de procesos biológicos fundamentales como son la sucesión ecológica, la especiación y la dinámica de la productividad del sistema tropical. El estudio de la iniciación de la vegetación secundaria puede darnos la clave para entender el desarrollo futuro de la sucesión.

Las investigaciones efectuadas sobre el mecanismo de la sucesión secundaria en las regiones cálido húmedas de México, son muy pocas; sin embargo, los estudios emprendidos en Tuxtepec, Oax., por la Comisión de Dioscoreas (Gómez-Pompa y col., 1964 y Sarukhán, 1964), son trabajos básicos para entender el establecimiento y desarrollo de la sucesión. Actualmente se están realizando estudios en la Estación Biológica de los Tuxtlas, Ver., a través de la UNAM, que forman parte de un amplio programa enfocado hacia diferentes aspectos de la sucesión tropical (Gómez-Pompa, 1971; Vázquez-Yanes y Gómez-Pompa, 1971; Rico-Bernal, 1972; Guevara y Gómez-Pompa, 1972).

Cuando se altera la selva primaria por los diversos tipos de perturbación que normalmente ocurren en estas regiones, se desarrollan en esta zona una serie de especies que en su mayoría no se encontraban (aparentemente) en la selva tropical original. Algunas preguntas importantes surgen de inmediato ¿las semillas de estas especies se encuentran

presentes en la selva primaria en el momento de la perturbación? o llegan después de ella. Bajo cualquiera de las dos alternativas mencionadas, ¿porqué las semilas no germinan en abundancia o no germinan del todo en el suelo de la selva primaria?, ¿cuáles son los factores que inician o detienen la germinación? Existen diversas formas para resolver estas preguntas. Estudios fisiológicos sobre la germinación y latencia de semillas, llevadas a cabo en el laboratorio bajo condiciones controladas, han dado cierta información acerca de la naturaleza y modo de acción de los factores ambientales, y a pesar de que dicha información fisiológica no es en muchos casos extrapolable a condiciones de campo, se piensa que es indispensable conocer los mecanismos de germinación a nivel fisiológico, lo cual constituye al mismo tiempo un buen principio para entender el comportamiento de las semillas a la respuesta de un medio ambiente tan complejo como el tropical.

Este trabajo se enfoca a estudiar bajo condiciones controladas, requerimientos de germinación, principalmente los relacionados con temperatura, luz, cubierta de la semilla y almacenamiento de dos especies de plantas secundarias tropicales muy abundantes de la región de los Tuxtlas: Heliocarpus donnell-smithii Rose y Piper auritum H. B. K. Al mismo tiempo, se trata de elucidar si las semillas de estas especies están o no presentes en los suelos, cuando éstos son perturbados.

MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS

Experimentos con semillas

Recolección de semillas y pruebas estandar de germinación

Los frutos de Heliocarpus y Piper se colectaron en la región de los Tuxtlas, Veracruz, en marzo de 1969, se secaron al aire, se extrajeron las semillas, se almacenaron en frascos y se conservaron en el laboratorio con temperatura de 25° C ± 3. Una parte de las semillas de Heliocarpus se almacenaron bajo fluctuaciones más grandes de temperatura (mín. 14° C y máx. 34° C). En ambos casos, las semillas estuvieron expuestas ocasionalmente a la luz. No se controló la humedad durante el almacenamiento. Para las pruebas de germinación se colocaron de 150 a 200 semillas en cajas de Petri de 9 cm de diámetro con papel de germinación humedecido con agua destilada, evitando en todo momento que dicho papel se secara. Se emplearon germinadoras con una variabilidad de ± 0.5° C colocadas en un cuarto oscuro. La germinación es definida como la emergencia de la radícula de aproximadamente 1 mm a través de la cubierta de la semilla.

Se llevó a cabo periódicamente la prueba de viabilidad después de la colecta. El procedimiento consistió en cortar las semillas a la mitad y colocarlas en la solución de tetrazolio al 0.25% a una temperatura de 30° C a la oscuridad durante 30 minutos.

Heliocarpus

a) Temperatura

Se estudió el efecto de diferentes temperaturas constantes en el rango de 5 a 35° C en la germinación. Sin embargo en el campo, las semillas están sujetas a fluctuaciones grandes de temperatura y estas variaciones pueden ser importantes ecológicamente ya que se ha reportado un efecto estimulatorio en una gran variedad de semillas (Popay y Roberts, 1970). Se experimentó en este trabajo con dos termoperiodos, 20-80 y 20-40; la primera temperatura corresponde a un periodo de 16 horas y la segunda a uno de 8 horas, administradas en ciclos de 24 horas. Estos termoperiodos se seleccionaron con base a temperaturas registradas en la zona de los Tuxtlas (Guevara y Gómez-Pompa, 1972).

b) Luz

El trabajo experimental sobre latencia de semillas ha mostrado desde hace tiempo que la luz promueve la germinación, y una variedad de observaciones se ha acumulado en este campo. El descubrimiento de que el espectro de acción corresponde al de otras respuestas ecológicas incluyendo la fotoperiodicidad, ha estimulado la investigación de este fenómeno. Gran parte del trabajo experimental ha sido revisado por Evenari, 1956; Toole y col., 1956; Hendrick y Borthwick, 1963. Sin embargo, los experimentos se han restringido a unas cuantas especies y los parámetros ambientales se han escogido muy arbitrariamente. El modo de utilización del mecanismo metabólico de los pigmentos responsables se ha diversificado en diferentes líneas de adaptación, dependiendo de la historia natural de los diferentes grupos taxonómicos.

Se ha encontrado muy frecuentemente que la estimulación por tratamiento luminoso depende de una imbibición en agua y de una determinada temperatura durante el periodo de incubación en la oscuridad, lo que sugiere un mecanismo de adaptación, que mantiene la latencia hasta que las condiciones para el crecimiento sean favorables. Para estudiar los requerimientos de luz en la germinación, las semillas de *Heliocarpus* se sujetaron por un periodo de 30 minutos a 40 cm de una fuente luminosa consistente en dos lámparas fluorescentes de 40 watts y una incandescente de 100 watts, y posteriormente se colocaron en las germinadoras a temperatura de 25° C, ya que por experimentos previos con temperatura, se observó que esta favorecía la germinación. Previamente al tratamiento de luz, las semillas se imbibieron en agua destilada durante 12 horas a la oscuridad y a la temperatura del laboratorio.

Calidad de la luz

Se ha reportado la operación del sistema fitocromo en una gran variedad de semillas en el cual se obtiene una máxima germinación con luz roja de 630-680 mµ o un poco menor y una máxima inhibición por el rojo lejano de 730-750 mµ o un poco mayor.

Con el objeto de lograr en el laboratorio estas longitudes de onda, las semillas en las cajas de Petri se cubrieron con 2 capas de papel celofán comercial de color rojo para el rojo y con 2 capas de color rojo y 3 de azul para el rojo lejano. Se utilizó un espectofotómetro Hitachi Perkin Elmer Coleman E PS-31 para verificar las transmisiones. La fuente y el tiempo de iluminación, así como el tratamiento de imbibición fue semejante al descrito anteriormente.

c) Cubierta de la semilla

El papel de las cubiertas impermeables de las semillas es restringir el intercambio gaseoso y prevenir la absorción del agua y por lo tanto, limitar la germinación. Desde el punto de vista de la continuidad de las especies esto es muy favorable. Muchas semillas permanecen viables por largos periodos de tiempo y en condiciones naturales, las semillas individuales se vuelven permeables en diferentes periodos después de la cosecha, de tal forma, que cualquier lote de semillas es capaz de producir plántulas durante varios años. Esto último, sin embargo, ha hecho difícil obtener pruebas confiables de la capacidad de germinación.

Entre los diversos métodos que se han empleado para permeabilizar la cubierta se encuentran la escarificación mecánica y el tratamiento con ácido sulfúrico.

Las semillas extraídas del fruto de Heliocarpus se escarificaron por varios métodos: frotando a mano las semillas entre dos superficies rugosas de hule y perforando con aguja de disección a nivel del micrópilo y a nivel del hilio. Las semillas con los diferentes tratamientos de escarificación se denominaron M, por frotamiento entre las superficies rugosas (al azar), M₂ a nivel del micrópilo, M₃ a nivel del hilio y M a las semillas sin tratamiento es decir, extraídas directamente del fruto. Se llevaron a cabo diferentes pruebas con temperatura, luz, etcétera, con las semillas sujetas a estos tratamientos.

Se estudió el efecto del tiempo de imbibición en H₂SO₄ en la germinación de las semillas. Para esto, se imbibieron las semillas en ácido sulfúrico concentrado durante 10 y 20 segundos, posteriormente, se lavaron con agua destilada y se pusieron a germinar a 25° C y a la oscuridad.

El primer proceso que se presenta durante la germinación es sin duda la toma de agua por la semilla. Esta toma es debida al proceso de imbibición que puede ser considerada como un caso especial del fenómeno de osmosis. Algunas semillas son totalmente impermeables al agua y en otras ocasiones presentan pequeñas aberturas en la cubierta de la semilla, las cuales están tapadas por substancias como la suberina, y el agua solamente entra si este pequeño tapón se remueve.

Las semillas de *Heliocarpus* con diferentes tipos de escarificación se imbibieron en agua destilada durante 9 horas a la oscuridad, y a temperatura de 25° C y se tomaron los pesos de las semillas en intervalos de 30 minutos.

Germinación de embriones y presencia de inhibidores

Se aisló el embrión de *Heliocarpus*, se efectuó la prueba de la viabilidad con cloruro de terazolio y se estudió su germinación bajo diferentes condiciones de luz y temperatura.

Amen (1968) propone que durante la fase de mantenimiento de la latencia existe un paro parcial del metabolismo debido a bloques metabólicos, los cuales son inhibidores endógenos específicos. Se han reportado una gran variedad de substancias inhibidoras naturales de la germinación y se sabe que se encuentran ampliamente distribuidas en las diferentes cubiertas de las semillas (Evenari, 1956).

Un primer paso para el estudio de la presencia de posibles inhibidores en la germinación de *Heliocarpus*, fue la aplicación a embriones aislados de molido de tejidos de testa y de endospermo.

d) Germinación y almacenamiento

Las semillas pueden presentar diferentes respuestas a la temperatura dependiendo de las condiciones de almacenamiento. En algunas ocasiones el rango de temperatura se amplía y en otras se acorta. Vegis (1963) discute éste fenómeno en detalle.

Se estudió el efecto de las dos condiciones de almacenamiento ya mencionadas (temperatura de 25°C ± 3 y mínima de 14°C y máxima de 34°C), en la germinación de semillas de *Heliocarpus* a 25°C.

Los requerimientos de luz y temperatura también pueden variar para semillas con diferentes tiempos de almacenamiento, por lo que se efectuaron diversos experimentos para estudiar la respuesta a estos parámetros de semillas recien colectadas y semillas con diferentes tiempos de almacenamiento.

Piper

Debido al tamaño tan pequeño de las semillas de Piper (0.78 mm de largo por 0.45 mm de ancho), lo cual conduce a una dificultad en su manejo, fue muy difícil efectuar una diversidad de pruebas de germinación, por lo que se restringió su estudio a los parámetros temperatura y luz, así como a las diferencias en respuesta relacionadas al tiempo de almacenamiento. La metodología es similar a la descrita para Heliocarpus. Se probaron temperaturas en el rango de 20 a 35°C y termoperiodos de 25-30, 25-35 y 25-40. Se estudió el efecto de la luz en la germinación, para lo cual, se colocaron las semillas en el invernadero con fotoperiodo y termoperiodo naturales del mes de junio. Se efectuaron pruebas de viabilidad y de germinación simultáneas, sujetando las semillas a 30° C y periódicamente tomando unos lotes de semillas para contar el número de semillas germinadas y otros para efectuar la prueba de tetrazolio; dichos lotes se descartaban posteriormente. Se efecturon cortes longitudinales de las semillas a las cuales se les había aplicado la solución de tetrazolio.

Experimentos con suelos

El 22 de mayo de 1969 en la región de los Tuxtlas, Veracruz, se colectaron 4 muestras de un perfil de 60 cm de suelo de selva primaria y 4 de selva secundaria provenientes de 2 cuadros de vegetación de 10 × 10 metros divididos en 4 partes iguales. Los cuadros de selva

primaria y secundaria estaban separados por 2 metros de distancia. Las muestras se colocaron en bolsas de plástico para transportarlas al Jardín Botánico de la Universidad y allí se pusieron a incubar en cristalizadores. Se identificaron las plantas germinadas en julio de 1969. Una parte de las muestras de los suelos se pasaron por diferentes cribas y se analizaron al microscopio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Heliocarpus

En la Tabla (1) se presentan los resultados de la prueba de viabilidad en semillas sin tratamiento de escarificación (M). Se puede observar también que las semillas recién colectadas presentan un alto porcentaje de viabilidad (89%) y que éste se conserva durante todo un año de almacenamiento bajo condiciones de oscuridad y a la temperatura de laboratorio.

TABLA I

VIABILIDAD EN SEMILLAS DE HELIOCARPUS ALMACENADAS
A LA TEMPERATURA DEL LABORATORIO

	Año)	19	69			19	70
		Мат	Мау	Jul	Sep	Nov	En	Mar
% de semillas con prueba positiva de tetrazolio		98	98	98	90	96	96	96

Semilla recién colectada

Las semillas extraídas de los frutos no respondieron a ninguno de los tratamientos térmicos y lumínicos a los que fueron sujetas. Se procedió entonces a trabajar con semillas escarificadas al azar. La Figura (1) muestra que en estas semillas, la germinación es más rápida a 25° C y que ésta temperatura favorece la germinación durante los 9 primeros días; posteriormente, se obtienen mayores porcentajes a 20° C, por lo que se puede decir que la temperatura óptima de germinación o sea la temperatura a la cual se obtuvo la máxima germinación de alrededor de 35% fue de 20 a 25° C. Las semillas no germinaron ni a 5º ni a 35° C. En contra de lo que original-

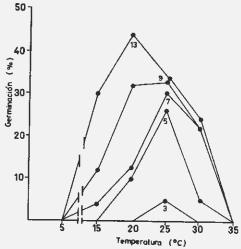


Fig. 1. Patrón de germinación en 5 diferentes días de semillas recién colectadas de Heliocarpus sujetas a diferentes temperaturas (semillas escarificadas al azar, M₁).

mente se había pensado, los termoperíodos no favorecieron la germinación (Tabla 2). Con termoperíodo de 20-30, se obtuvo una respuesta más baja que con temperatura constante de 25° C los días 5 y 9 y con termoperíodo de 20-40 no se presentó ninguna respuesta.

El efecto de la luz en la germinación

TABLA 2

EFECTO DE TEMPERATURA CONSTANTE Y TERMOPERÍODOS
EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS RECIÉN COLECTADAS
Y ESCARIFICADAS AL AZAR, M. DE HELIOCARPUS

Temperatura ° C	Germir 70 die	
	5	9
25	26	33
20-30	18	21
20-40	0	0

se presenta en la Figura (2). En condiciones de oscuridad, los valores de la germinación son ligeramente mayores que los que se obtuvieron con luz. No se obtuvieron en ningún caso porcentajes mayores de 60% de germinación.

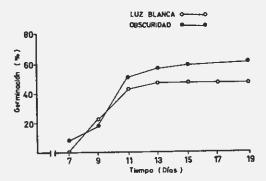


Fig. 2. Efecto de la luz en la germinación de semillas recién colectadas de Heliocarpus (semillas escarificadas al azar, M_1).

Semillas almacenadas a la temperatura del laboratorio

La respuesta a la temperatura de 25° C de semillas con diferentes tratamientos de escarificación se observa en la Figura (3). La germinación se inicia al tercer

día en todos los tratamientos pero con diferentes porcentajes: 2, 5, 44 y 61 para semillas M, M₁, M₂ y M₃ respectivamente y entre los días 5 y 9, se obtiene el máximo de germinación, diferente en cada caso, de 8, 48, 78 y 85%. En general se puede decir que la respuesta a éste tratamiento térmico fue más baja en semillas sin tratamiento de escarificación. más alta en las escarificadas al nivel del micrópilo y que el patrón de germinación en semillas escarificadas a nivel de hilio y micrópilo fue muy semejante. Se seleccionaron únicamente semillas M1 y M₂ para estudiar el efecto de 3 diferentes temperaturas: 25, 30 y 35°C y los resultados se presentan en la Figura (4). La germinación para M2 en los tres casos se inicia al tercer día, y a partir del quinto, las curvas se aplanan. La germinación de las semillas M1 es significativamente menor a temperaturas de 25° y 30° C pero se inicia el mismo día. A 35° C no se obtuvo ninguna respuesta. Tanto para semillas M₁ como para M₂, la temperatura que favoreció la germinación fue la de 25º C con un máximo de germinación de 48 y 85% respectivamente.

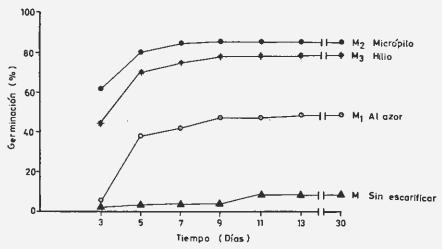


Fig. 3. Germinación de semillas de *Heliocarpus* a 25°C con diferentes tratamientos de escarificación (tiempo de almacenamiento 5 meses). El día 3, t.₀₁ significativa entre las medias independientes M-M₂, M-M₃, M₁-M₂ y M₁-M₃, y t.₀₅ para M₂-M₃. El día 5, t.₀₁ significativa para M-M₁, M-M₂, M-M₃, M₁-M₂ y M₁-M₃.

La germinación de semillas M₁ y M₂ al tratamiento luminoso se presenta en la Figura (5). La respuesta es mayor en semillas escarificadas al nivel del micrópilo. Al tercer día se inicia la respuesta

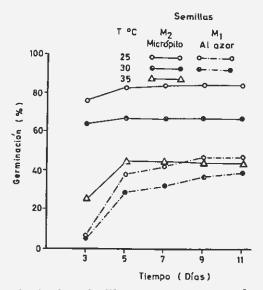


Fig. 4. Efecto de diferentes temperaturas en la germinación de semillas de Heliocarpus escarificadas al nivel del micrópilo, M_2 y al azar, M_1 (tiempo de almacenamiento 6 meses).

en los dos tipos de semillas, siendo más baja en presencia de la luz blanca que con luz roja. Las semillas con tratamiento de rojo lejano y mantenidas a la oscuridad presentan una respuesta similar e intermedia entre la luz roja y la luz blanca. Los porcentajes iniciales son para luz blanca de 2% para semillas M_1 y de 38% para M_2 , y para luz roja, de 17 a 70% respectivamente. La diferencia en respuesta a la luz para los dos tipos de semillas disminuye con el tiempo, y al décimo primer día, fecha de germinación máxima, se observan porcentajes para M_2 de 77 a 88% para M_1 de 41 a 47%.

Cuando se inicia la germinación (al 3er. día) en los dos tipos de semilla, la luz blanca presenta un efecto significativo inhibitorio de la germinación, y la luz roja un efecto estimulatorio significativo. Estos resultados sugieren que el sistema del fitocromo como se ha reportado no está implicado en semillas de Heliocarpus bajo las condiciones estudiadas, pero el hecho de que exista una respuesta diferencial a los tratamientos lumínicos, indica que otro sistema u

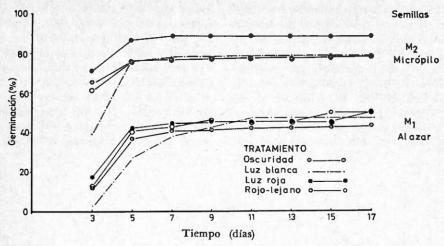


Fig. 5. Efecto de la luz en la germinación de semillas de *Heliocarpus* con diferentes tratamientos de escarificación (tiempo de almacenamiento, 6 meses. Semillas M₁: el día 3, t.₀₁ significativa entre las medias independientes luz roja—luz blanca y t.₀₅ para oscuridad—luz blanca y luz roja—luz blanca. Semillas M₂: el día 3, t.₀₁ significativa para oscuridad—luz blanca y luz roja—luz blanca.

otro funcionamiento del fitocromo pudiera actuar en estas semillas. Se requiere por lo tanto de futuras investigaciones en este campo.

El tratamiento de semillas M, con H₂SO₄ concentrado aumenta ligeramente la germinación (Tabla 3), observándose el día 11 porcentajes de 16, 20 y

26, con 0, 10 y 20 segundos de inhibición en el ácido respectivamente. Este tratamiento, a pesar de que en algunas ocasiones eleva considerablemente la germinación, no resultó efectivo bajo las condiciones estudiadas para las semillas de *Heliocarpus*.

Resultados sobre la imbibición de las

TABLA 3

EFECTO DEL TIEMPO DE IMBIBICIÓN EN ÁCIDO SULFÚRICO CONCENTRADO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS SIN ESCARIFICAR, M, DE HELIOCARPUS *

Germinación		Germinación % Tiempo de imbibición	
dias		seg.	
	0	10	20
3	4	10	6
5	9	14	20
7	12	14	20
9	12	20	24
11	16	20	26

^{*} Semillas con 7 meses de almacenamiento.

semillas en agua destilada durante diferentes periodos de tiempo en semillas extraídas directamente del fruto, M, en semillas M₁ y en M₂ se presentan en la Figura (6). El incremento en peso fresco expresado en % es mayor en semillas M₂ que en semillas M₁ y M, con un 48, 29 y 10% de incremento respectivamente a los 30 minutos de imbibición, y de un 85, 50 y 27% a los 270 minutos. Esto

indica que la cubierta está limitando la entrada de agua, condición indispensable para la germinación y que esta barrera se elimina de una forma más efectiva escarificando la semilla al nivel del micrópilo que escarificándola al azar.

Los embriones aislados germinaron a las 48 horas y con un alto porcentaje (mayor de 90%) bajo diferentes condiciones térmicas y lumínicas (Tabla 4).

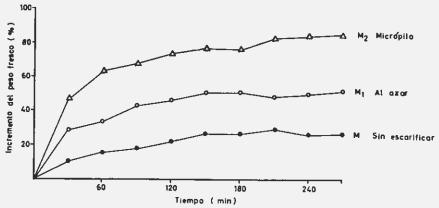


Fig. 6. Imbibición en agua destilada de semillas de Heliocarpus con diferentes tratamientos de escarificación y con 6 meses de almacenamiento.

TABLA 4

GERMINACIÓN DE EMBRIONES DE HELIOCARPUS CON
DIFERENTES TRATAMIENTOS DE LUZ

Tratamientos	Germinación a las 48 horas • %
Irradiados con luz roja **	92
No irradiados (control)	91
Luz •••	90
Oscuridad (control)	90

^{* 30} embriones por experimento provenientes de semillas con 5 meses de almacenamiento.

Irradiación por 30 minutos y posteriormente sujetos a 25°C y a la oscuridad.

^{***} Germinados en invernadero con fotoperiodo y termoperiodo correspondientes al mes de junio (min. 14° C y máx, 37° C).

A 25°C, los embriones germinan en la oscuridad y con la luz roja; colocados en el invernadero, con variaciones de temperatura, germinan con luz y en ausencia de ella, es decir, los requerimientos de germinación para embriones y semillas son diferentes. Se obtuvo de 90 a 96% de embriones con prueba positiva de viabilidad y de un lote de 900 semillas estudiadas, se encontró que únicamente un 3.1% no poseían em-

brión. La influencia de la adición de diferentes tejidos de semillas en la germinación del embrión se presenta en la Tabla (5). Tejidos de testa, endospermo y la combinación de ambos disminuyen la germinación a las 48 horas; a las 72, este efecto desaparece. A pesar de ésta disminución de la germinación, no se puede pensar en la presencia de posibles inhibidores de la germinación en las cubiertas del embrión.

TABLA 5

GERMINACIÓN DE EMBRIONES DE HELIOCARPUS
CON DIFERENTES TIPOS DE TEJIDOS

Tiempo de Germinación ** horas		Germin % tejid		
	testa	endospermo	endospermo + testa	control
48	80	80	80	96
72	96	96	100	96

- 30 embriones por experimento provenientes de semillas con 5 meses de almacenamiento.
- ** Germinación a 25° C y a la oscuridad.

Condiciones y tiempos de almacenamiento

La Figura (7) muestra que en las semillas M₁ almacenadas durante 7 meses bajo fluctuaciones grandes de temperatura la germinación a 25°C se inicia más tardíamente y con un porcentaje menor que en el caso de semillas almacenadas con cambios menores de temperatura. El porcentaje máximo obtenido el día 13 es de 23 para el primer caso y de 48 para el segundo.

El patrón de la germinación a 25° y 30°C de semillas M₁ con 2 y 8 meses de almacenamiento a la temperatura del laboratorio se inicia el mismo día y con el

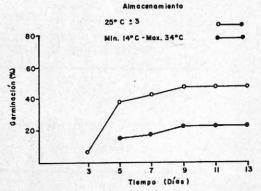


Fig. 7. Efecto de diferentes condiciones de almacenamiento durante un período de 7 meses en la germinación de semillas de *Heliocarpus* escarificadas al azar, M₁.

mismo porcentaje (Figura 8). El patrón de germinación en días subsecuentes varía, semillas con 8 meses de almacenamiento presentan mayor porcentaje de germinación que semillas con solo 2 meses de almacenamiento. Porcentajes de 48 y 34 presentan el día 30 semillas con 8 y 2 meses de almacenamiento respectivamente, por lo que a mayor tiempo de almacenamiento corresponde una respuesta más efectiva a los tratamientos térmicos.

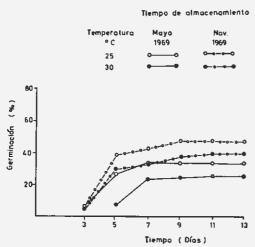


Fig. 8. Efecto de diferentes tiempos de almacenamiento en la germinación a dos diferentes temperaturas de semillas de Heliocarpus escarificadas al azar, M_1 .

La respuesta a la luz es también diferencial en semillas M₁, recién colectadas y almacenadas a la temperatura del laboratorio. En las primeras, la germinación se inicia hasta el 7º día con porcentajes por abajo del 10% (Figura 2). En semillas almacenadas, se inicia el tercer día con porcentajes similares (Figura 3). El patrón de germinación en días subsecuentes es semejante.

Piper

El efecto de la temperatura en la germinación de semillas recién colectadas se presenta en la Tabla (6). Las semillas respondieron únicamente a la temperatura de 25°C, iniciándose la germinación el día 14 con un 17% y finalizando el día 19 con 43%. Al colocar las semillas en el invernadero con fotoperiodo y termoperiodo naturales del mes de junio, la germinación aumentó hasta 53%, acortándose el tiempo de su iniciación por 9 días (Tabla 7). El control (oscuridad) germinó hasta el día 7 y solo con un 28% de germinación. No se obtuvieron resultados positivos de viabilidad con solución de tetrazolio.

Las semillas almacenadas por seis meses a la temperatura del laboratorio respondieron a los tratamientos térmicos

TABLA 6

EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA GERMINACIÓN
DE SEMILLAS DE *PIPER* RECIÉN COLECTADAS

Temperatura ° С			Germinación % dias		
	14	16	19	21	25
20	0	0	0	0	0
25	17	26	43	43	43
30	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0
25-30	0	0	0	0	0
25-35	0	0	0	0	0
25-40	0	0	0	0	0

TABLA 7

EFECTO DE LA LUZ Y DE LA OSCURIDAD EN LA GERMINACIÓN,
EN CONDICIONES DE INVERNADERO, DE SEMILLAS DE PIPER
RECIÉN COLECTADAS

Tratamiento		Gei	minación % días	
	5	7	9	25
Luz	53	54	54	54
Oscuridad	0	28	28	28

de 30°C constante y a los termoperiodos 25-30 y 25-35; el resto de las temperaturas no fue efectivo (Tabla 8). Las pruebas se continuaron en esta ocasión hasta el día 39 después de inicado el tratamiento. A pesar de que el patrón de germinación de temperatura en semilla recién colectada y en almacenada es diferente, el tiempo de su iniciación es más o menos constante con porcentajes de germinación más bajos en el caso de semillas almacenadas. Los resultados obtenidos para semillas mantenidas en el invernadero son similares a los de las semillas recién colectadas es decir, se eleva la germinación con fotoperiodo y termo-

TABLA 8

EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE PIPER ALMACENADAS DURANTE 6 MESES A LA TEMPERATURA DEL LABORATORIO

empera ° C	tura				Germin % dia			
	13	15	19	23	27	31	35	. 39
20	0	0	0	0	0	0	.0	0
25	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	2	9	15	17	19	21	24
35	0	0	0	0	0	0	0	0
25-30	5	7	11	14	14	16	16	16
25-35	2	5	16	18	21	22	22	22
25-40	0	0	0	0	0	0	0	0

periodo naturales a las que se sujetaron sin embargo, el tiempo de iniciación se alargó en 2 días y la germinación disminuyó de 53 a 45% (Tabla 9). Resultados de las pruebas de viabilidad y germinación en semillas almacenadas se presentan en la Tabla (10). Las semillas no germinan durante los 14

TABLA 9

EFECTO DE LA LUZ Y DE LA OSCURIDAD EN LA GERMINACIÓN, EN CONDICIONES DE INVERNADERO, DE SEMILLAS DE PIPER CON 6 MESES DE ALMACENAMIENTO A LA TEMPERATURA DE LABORATORIO

Tratamiento		Germir % dia		
	7	9	11	25
Luz	45	46	46	46
Oscuridad	0	0	20	21

días del tratamiento a 30°C, sin embargo, al tercer día si se obtienen resultados positivos en la solución del tetrazolio, con un 60% de semillas teñidas a las 24 horas. En días subsecuentes, el tiem-

po para dar la prueba positiva de viabilidad se acorta, desde las 24 horas mencionadas hasta 2 horas, incrementándose hasta 100 el porcentaje de viabilidad.

TABLA 10

GERMINACIÓN Y VIABILIDAD EN SEMILLAS DE PIPER *

Semillas sujetas a 30°C **	Germinación	Tiempo para dar prueba positiva de viabilidad	Viabilidad ***
dias	%	horas	%
1	0		
2	0		
3	0	24	60
4	0	24	60
5	0	24	70
6	0	24	70
7	0	_	-
8	0	8	80
9	0	8	70
10	0	8	70
11	0	4	70
12	0		
13	0	2	100
14	0	2 2 2	100
15	4	2	100

^{*} Semillas con 7 meses de almacenamiento.

^{**} Se emplearon 3 lotes de 150 semillas.

^{***} Se tomaron 10 semillas cada 24 horas de los lotes puestos a germinar.

Durante los dos primeros días del tratamiento térmico, al observar los cortes longitudinales de las semillas, no se identificaron los embriones de Piper. Al tercer día, el embrión se tiñó con el cloruro de tetrazolio y se identificó por su colocación dentro de la semilla. Como se mencionó anteriormente, no se obtuvo respuesta de germinación durante los 14 días del tratamiento y únicamente cuando el tiempo para que se tiñeran los embriones se acortó hasta aproximadamente dos horas, la germinación se inició. La semilla entonces requiere de un periodo de incubación para germinar. Con tratamiento de 30°C el tiempo fue de 14 días. Probablemente con la combinación de tratamientos térmicos y lumínicos apropiados se acorta el tiempo para tener un embrión fisiológicamente activo así como para poner en marcha todas las reacciones necesarias en las cubiertas de las semillas para la germinación de las mismas.

Incubación de suelos

Las semillas de Helicarpus no se identificaron ni en suelo de selva primaria ni en acahual (Tabla 11). Esto lleva a

pensar que las semillas no estaban presentes en el suelo, no existiendo por lo tanto la posibilidad de germinación o bien, que las semillas sí estaban presentes pero las condiciones de incubación no fueron efectivas. Esto último es menos probable, ya que al analizar el suelo al microscopio no se encontraron semillas de Heliocarpus. La estructura del fruto, rodeado de vellosidades invita a pensar que es facilmente transportado por el viento. Piper se presenta tanto en suelos de selva primaria como en secundaria (Tabla 11), por lo que las semillas sí estaban presentes en ambos suelos y las condiciones bajo las cuales se colectaron e incubaron favorecieron la germinación y desarrollo de esta planta. La identificación de semillas de Piper al microscopio no fue posible debido en parte al tamaño tan pequeño de las mismas.

La Tabla (11) también muestra que fue muy común encontrar en los suelos de acahual, ejemplares de las familias Palmae y Compositae, familias típicas de vegetación secundaria cuyas semillas son generalmente muy pequeñas, así como ejemplares de helechos secundarios de la familia Polipodiaceae.

CONCLUSIONES

Las semillas almacenadas durante un año a la temperatura de laboratorio conservan su alto porcentaje de viabilidad inicial. La temperatura óptima de germinación para semillas recién colectadas de *Heliocarpus* es de 25°C. La luz inhibe ligeramente su germinación. Se presenta una respuesta diferencial a las temperaturas estudiadas en semillas recién colectadas y almacenadas bajo diferentes condiciones y tiempos; sin embargo, la temperatura óptima de germinación continúa siendo de 25°C. Los tratamientos lumínicos en semillas almacenadas a la temperatura del laboratorio

indican que la luz blanca inhibe ligeramente la germinación y la luz roja la promueve, sin embargo, por los resultados obtenidos no se puede afirmar que el sistema del fitocromo funcione de forma similar a como se ha reportado para otras semillas. La latencia de la semilla es impuesta principalmente por la cubierta impermeable al agua. Los métodos más efectivos para romperla consistieron en escarificar las semillas al nivel del hilio y del micrópilo. Con ambos tratamientos se elevó el porcentaje de germinación inicial así como el máximo, pero no se acortó el tiempo inicial de

TABLA 11

INCUBACIÓN DE MUESTRAS DE SUELO EN INVERNADERO,
COLECTADAS EL 22 DE MAYO DE 1969 EN LA REGIÓN
DE LOS TUXTLAS, VER.

Vegetación	Nº de cuadτο	Nº de plantas germinadas por 500 gr de tierra (abril, 1969)	Plantas germinadas identificadas (julio, 1969) Familias	
	1	10	Amaranthaceae Compositae Piperaceae (Piper auritum) Urticaceae Polipodiaceae	(2) * (4) (1) (2)
			(Pteris sp) Piperaceae (Piper	(12)
			auritum) Solanaceae	(1)
	2	4	Solanum sp) Urticacea Polipodiaceae	(1) (2)
Sclva primaria	3	40	(Pteris sp) Polipodiaceae (Pteris sp)	(5) (4)
	4	27	Amaranthaceae Piperaceae (Piper auritum) Polipodiaceae (Pteris sp)	(1)
	1	20	Polipodiaccae (Pteris sp)	(26)
	2	28	Piperaceae (Piper auritum) Polipodiaceae	(1)
			(Pteris sp)	(5)
Selva	3	11	Compositae	(1)
secundaria			Compositae Palmae	(1)
	4	18	Piperaceae (Piper auritum)	(1)
			Polipodiaceae (Pteris sp)	(2)

[•] No de plantas por familia.

3 días para germinar. Resultados obtenidos sobre la imbibición de las semillas en agua destilada corroboran lo anterior es decir, escarificando las semillas principalmente al nivel del micrópilo se obtiene una máxima imbibición. El método químico de escarificación con H₂SO₄ no resultó efectivo para romper la latencia. Los embriones tienen un alto porcentaje de germinación y sus requerimientos en cuanto a temperatura y luz son diferentes a los de las semillas. Los embriones presentan un alto porcentaje de viabilidad, de 90 a 98%, pero la máxima germinación obtenida es de 88% con semillas escarificadas al nivel del micrópilo, sujetas a 25°C y a la oscuridad, por lo que quedaría por explicar la causa por la cual de un 2 a un 10% de semillas no germinan con esta combinación de tratamientos. Se sabe por los datos obtenidos que existe un 3.1% de semillas vanas es decir, sin embrión, por lo que esta cifra daría cuenta de la falta de germinación con los tratamientos mencionados. De acuerdo a los resultados obtenidos no se puede pensar en posibles inhibidores de la germinación en la cubierta de la semilla.

Las temperaturas óptimas de germinación para semillas de *Piper* recién colectadas y almacenadas es de 25 y 30°C respectivamente. La germinación se favoreció colocando las semillas en el in-

vernadero con fotoperiodo y termoperiodo del mes de junio. El máximo de germinación obtenido con los tratamientos aplicados fue únicamente de 40% y el tiempo de iniciación fue entre los días 9 y 13. Los resultados de las pruebas de viabilidad y germinación indican que el embrión presenta su máxima viabilidad cuando se le sujeta a oscuridad y a temperatura de 30°C, entre los días 13 y 14 después de iniciado el tratamiento, tiempo en que se inicia la germinación. Las semillas de *Piper* por lo tanto, presentan latencia en el embrión la cual se puede ir acortando con tratamientos combinados de termoperiodo y fotope-

Los resultados obtenidos de la incubación de suelos muestran que las semillas de *Heliocarpus*, no estaban presentes en el momento de la recolección de los suelos. Las semillas de *Piper* sí lo estaban, tanto en suelo de selva primaria como en secundaria y las condiciones de recolección y de incubación favorecieron su germinación y desarrollo subsecuente.

Las interacciones de los factores de germinación estudiadas aquí en Heliocarpus y Piper, pueden ser muy importantes para predecir su germinación en el campo, por lo que sería de gran interés relacionarlas en investigaciones futuras al mecanismo de la sucesión tropical.

LITERATURA

AMEN, R. D., 1968. A model of seed dormancy. Bot. Rev. 34 (1): 1-31.

EVENARI, M., 1956. Seed germination. En: Hollaender (ed.), Radiation biology, 3 McGraw Hill Book Co. N. Y.; pp. 319-549.

GÓMEZ-POMPA y col., 1964. Estudios ecológicos en las zonas tropicales cálido húmedas de México. Pub. Esp. Inst. Nac. Investi. Forest. 3: 1-36.

GÓMEZ-POMPA, A., 1967. Some problems of tro-

pical plant ecology. Jour. Arnold Arb. 48: 105-121.

GÓMEZ-POMPA, A., 1971. Posible papel de la vegetación secundaria en la evolución de la flora tropical. Biotropica 3: 125-135.

GÓMEZ-POMPA, A., C. VÁZQUEZ-YANES y S. GUE-VARA, 1972. The tropical rain forest: A nonrenewable resource. Science 177: 762-765.

GUEVARA, S. S. y A. GÓMEZ-POMPA, 1972. Seeds

- from surface soils in a tropical region of Veracruz, México. J. Arnold Arb. 53: 312-335.
- HENDRICKS, S. B. y H. A. BORTHWICK, 1963. Control of plant growth by light. En: Evans (ed.), Environmental control of plant growth Academic Press, N. Y.; pp. 233-265.
- POPAY, A. J. y E. H. ROBERTS, 1970. Factors involved in the dormancy and germination of Capsella bursa-pastoris (L.) Medik. and Senecio vulgaris L. J. Ecol. 58: 103-122.
- Rico, B. M., 1972. Estudio de la sucesión secundaria en la Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias UNAM, México.

- SARUKHÁN, K. J., 1964. Estudio sucesional de una área talada en Tuxtepec, Oax. Pub. Inst. Nac. Invest. Forest. 3: 107-172.
- TOOLE, E. H. y col., 1956. Physiology of seed germination. Ann. Rev. Plant. Physiol. 7: 299-324.
- VÁZQUEZ-YANES, C. y A. GÓMEZ-POMPA, 1971. En: Simp. Latinoam. Fisiol. Vegetal. Qua. Lima, Perú, 20 to 26 Sep.; pp. 79-80.
- VEGIS, A, 1963. Climatic control of germination, bud break, and dormancy. En: Evans (ed.), Environmental control of plant growth. Academic Press, N. Y.; pp. 265-287.