

# Análisis de semillas forestales

Dante Arturo Rodríguez Trejo, Gerardo Mendoza Ángeles

## Qué es el análisis de semillas forestales

Los análisis de semillas forestales son una serie de pruebas que se hacen a un lote para determinar su calidad. Mediante este análisis se establece la medida en que el lote germinará (prueba de germinación), qué tan limpio viene (pureza), cuánta humedad contiene la semilla (contenido de humedad), cuántas semillas por unidad de peso caracterizan al lote (peso), qué tan vigoroso es para germinar el lote (prueba de vigor) y qué proporción de la semilla está viva (prueba de viabilidad).

Conforme a las normas internacionales de ISTA (*International Seed Testing Association*, Asociación Internacional de Análisis de Semillas) (Bonner *et al.*, 1994), las pruebas de análisis de semillas forestales incluyen: pureza, peso, contenido de humedad, germinación potencial, vigor y viabilidad. A continuación son descritas estas pruebas con algunos comentarios procedentes de experiencias del autor de este capítulo.

## Cuándo se hace

El análisis de semillas forestales se debe realizar cuando las semillas van a ser utilizadas en el vivero forestal, ya sea que hayan sido recién extraídas de los frutos o sacadas del frigorífico o del cuarto de almacenamiento, o bien

cuando van a ser almacenadas. También es recomendable llevarlo a cabo como parte de cualquier investigación sobre semillas forestales. Otra consideración es que los análisis se deben hacer cuando la semilla está madura. Sin embargo, para algunas investigaciones puede ser de interés conducir estos análisis en algunas etapas de desarrollo del fruto y semillas previas a la maduración.

## Dónde es desarrollado

Para la realización de estas pruebas se requiere de un laboratorio. Aunque algunas pruebas se pueden hacer fuera de aquél, lo recomendable es que se cuente con el mínimo de equipo para poder desarrollarlas. Si una prueba de germinación se practica en una cámara de ambiente controlado, con determinado régimen de temperatura y lumínico día/noche, con frecuencia los resultados de germinación serán diferentes si parte de la misma muestra de semilla es germinada al aire libre, en un invernadero o en un cuarto del vivero. Uno de los objetivos de las agrupaciones internacionales que norman los análisis de semillas, es el de estandarizar. De modo que si una misma muestra de trabajo es utilizada en diferentes laboratorios de semillas forestales y puesta a germinar en las mismas condiciones, los resultados serán muy similares.

En el país existen diversas instituciones y dependencias que cuentan con laboratorios para el análisis de semillas forestales. Algunos ejemplos son: el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, el Banco Nacional de Germoplasma, la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo, el Programa Forestal del Colegio de Postgraduados, el Vivero San Luis Tlaxialtemalco del Gobierno de la Ciudad de México, la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, la Universidad Veracruzana, la Universidad Nacional Autónoma de México, la Protectora de Bosques del Gobierno del Estado de México, entre otras.

### **Quién lo lleva a cabo**

En México, los análisis de semillas forestales son conducidos por técnicos de laboratorio, investigadores, profesores, profesores-investigadores encargados de laboratorios de semillas forestales, pero también por estudiantes de licenciatura y posgrado bajo supervisión de técnicos, profesores o investigadores. En el país todavía está por desarrollarse un esquema de certificación de laboratorios para el análisis de semillas forestales y de su personal.

### **Por qué y para qué se hace**

Estos análisis son realizados para conocer la calidad de lotes de semilla, con diversos propósitos, como sacar el máximo partido de tales características en el vivero forestal, información para ayudar a poner un precio a la semilla,

conocer la evolución de algunas de las características del lote a través del tiempo de almacenamiento o con el propósito de realizar investigación.

La capacidad germinativa de un lote de semilla, su peso y pureza, son parte de los datos requeridos para calcular la cantidad de semilla a utilizar en una siembra en semillero. Asimismo, un lote con semilla más pura y con mayor germinación tendrá mejor precio que otro con semilla menos pura y menor germinación de la misma especie y procedencia. Por otra parte, las semillas requieren de un nivel óptimo en su contenido de humedad para ser almacenadas y mantenidas viables durante más tiempo. La capacidad germinativa decrece gradualmente, ya sea con lentitud o rapidez, dependiendo de la especie y otros factores, conforme pasa el tiempo de almacenamiento. Para el investigador, más allá de sus objetivos, generalmente será de interés conocer la información que ofrece el análisis de semillas forestales, en particular cuando se trabaja con una especie sobre la que hay muy poca o nula información acerca de sus semillas.

### **Con qué medios se ejecuta**

Para hacer las diferentes pruebas se necesita equipo diverso, que es detallado en los siguientes subtítulos. Se debe señalar que, para algunas pruebas, el equipo o producto es único (aunque obviamente hay diferentes modelos y marcas), pero para otras es posible seguir distintas técnicas y por ende utilizar diferentes equipos y materiales. El principal equipo, productos y materiales, incluye: mesas

de trabajo, mesas de limpiado, pinzas, punzones, pinceles, balanza, horno de secado, cámara de ambiente controlado, refrigerador, agua destilada, cloruro de 2-3-5 trifenil tetrazolio (sales de tetrazolio), fungicidas (como clorotalonil, captán, cupravit u otros), cajas para germinación, tela fieltro, cajas de Petri, papel filtro, sustrato inerte como agrolita, vasos de precipitado, agitadores, separador de semillas, contador de semillas. Algunos laboratorios están dotados con cuarto para la obtención de placas de rayos X de alto contraste.

### **Cómo se desarrolla**

#### ***Muestras para el análisis***

Generalmente la semilla es recolectada en lotes. Un **lote** es un conjunto de semillas de la misma especie obtenida de un rodal o masa forestal. El lote contiene semillas de la misma especie, de un grupo de poblaciones vecinas, con información genética semejante. La porción del lote que es enviada al laboratorio para su análisis, se denomina **muestra remitida**. Dicha muestra debe ser obtenida de diferentes puntos de los contenedores que contienen la semilla del lote. Los contenedores de los cuales se obtendrá la muestra a remitir pueden ser seleccionados al azar o sistemáticamente, pero se deberá tomar un poco de semilla de cada uno, obteniéndola de la parte superior, en medio, parte inferior y de los lados. Con este fin se puede utilizar un muestreador de semillas. Los hay de varios tamaños, desde aproximadamente 1 m de longitud,

hasta de unos pocos centímetros (Figura 60.1.A). Este aparato consta de dos largos cilindros metálicos, uno embebido y giratorio dentro del otro. Ambos cilindros tienen ventanas a todo lo largo. Con las ventanas del cilindro externo cerradas el instrumento se inserta en el contenedor con semillas; se abren las ventanas en la zona donde se desea hacer el muestreo, se mueve y aquéllas entrarán así en el muestreador. Antes de extraerlo se gira para cerrar las ventanas exteriores y atrapar así a la semilla dentro del cilindro interior. Se extrae el muestreador y se abre, empinando las ventanas nuevamente, para liberar la semilla.

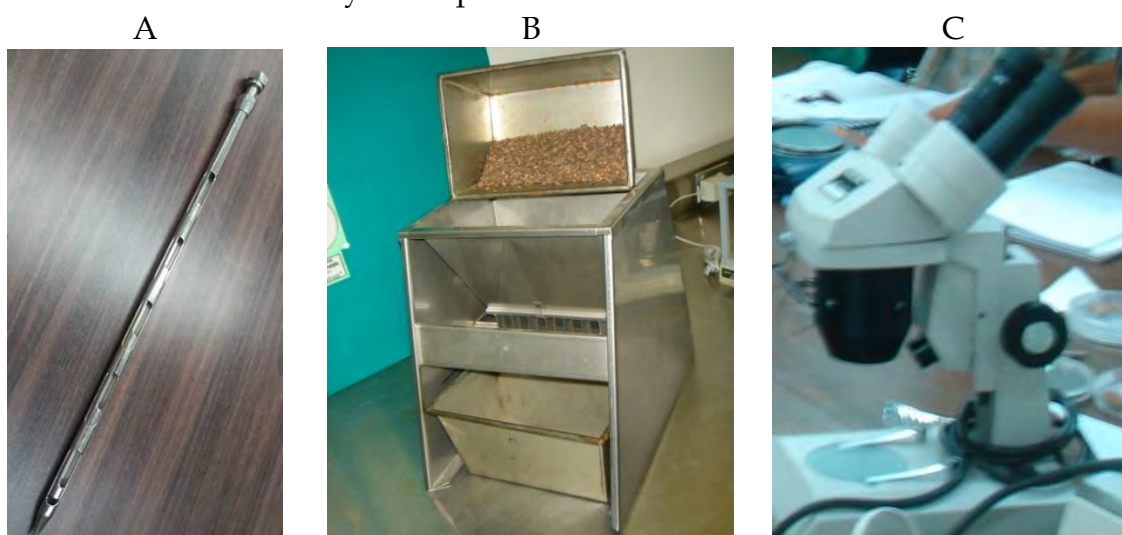
Una muestra remitida debe contener por lo menos 2500 semillas (excepto si son muy grandes) (Bonner *et al.*, 1994). De la muestra remitida, en el laboratorio se obtienen submuestras para realizar las diferentes pruebas, las cuales son parte de la **muestra de trabajo**. El tamaño mínimo como muestra de trabajo para realizar el análisis se muestra en el Cuadro 60.1. A efecto de dividir las muestras, sucesivamente en partes iguales, puede utilizarse un separador (Figura 60.1.B).

#### ***Autenticidad***

Aunque no es una prueba que forme parte de los análisis de semilla, siempre es necesario verificar que la especie que se trabaja sea, en efecto, la que se piensa o en la que se tiene interés. Por ello es conveniente recolectar una muestra botánica o identificar en campo formalmente la especie mediante claves de

identificación o, de ser necesario, con el apoyo de colegas dendrólogos. Es obvia la relevancia de las guías de semillas del país y de países con los que se comparten fronteras, con el propósito de realizar tal identificación. Cuando se recibe la semilla, es idóneo que venga con una muestra botánica para comprobar la especie. También existen guías para la identificación de semillas forestales. Ejemplos pioneros y destacados de obras muy útiles para

este propósito en México, son las del Maestro Aníbal Niembro Rocas (1986, 1988, 1989, por referir algunas), y diversas obras por región ecológica, como las de Ochoa *et al.* (2008) e Ibarra *et al.* (2015), entre otras. Para la inspección de la semilla se requerirá de una lupa estereoscópica (Figura 60.1C).



**Figura 60.1.** A) Muestreador de semillas. B) Separador de muestras de semillas. C) Lupa estereoscópica. Fotos: DART, 2016. A) y C) Laboratorio de Semillas Forestales de la DICIFO. B) Laboratorio de Semillas Forestales del Vivero San Luis Tlaxialtemalco, Corena, Gob. de la Cd. de México.

**Cuadro 60.1.** Información para establecer el tamaño mínimo de muestra de trabajo, cuando se van a incluir en pruebas pureza y germinación (Bonner *et al.*, 1994), a partir de la cantidad de semillas por gramo de la especie de que se trate.

Ng	MMT (g)	Ng	MMT (g)	Ng	MMT (g)	Ng	MMT (g)
<5	500	30-35	60-90	90-100	22-32	300-350	6.5-10
5-7	300-400	35-40	54-75	100-125	17-28	350-400	5.5-8.5
7-10	200-300	40-50	42-65	125-150	15-23	400-500	4.5-7.5
10-15	140-240	50-60	36-54	150-175	13-20	500-750	3-6
15-20	100-170	60-70	30-46	175-200	11-17	>750	3
20-25	85-125	70-80	27-40	200-250	9-15		
25-30	70-100	80-90	24-35	250-300	8-12		

Ng=número de semillas por gramo, MMT=muestra mínima de trabajo.

## Pureza

La prueba de pureza busca determinar en qué medida la muestra está libre de materiales que no son semilla, es decir, de impurezas. Tales impurezas pueden ser restos de frutos, como escamas o pericarpios de frutos secos, o incluso de materiales carnosos secos. Pero también puede incluir materiales de la propia semilla, como las alas, después de que ésta ha sido desalada y limpiada. También se pueden hallar polvos y pequeñas piedras.

En general, en la medida que lotes y muestras están constituidos por semilla más grande, son limpiados con más facilidad y su pureza tiende a ser mayor, en comparación con lotes y muestras de semilla más pequeña, porque estos últimos son más difíciles de limpiar y se invierte más tiempo en dicha actividad.

De acuerdo con Bonner *et al.* (1994), ISTA establece que esta prueba se hace con toda la muestra de trabajo y debe ser la primera prueba en realizarse. Semillas rotas pero que preserven más de la mitad de su cuerpo y semillas infértiles evidentes (como las semillas amarillas de los agaves), se incluyen como parte del componente de semilla (pero también se debe particionar el porcentaje de semilla potencialmente viable -la semilla negra de los agaves, por ejemplo-). La pureza (P) se calcula básicamente dividiendo el peso de la semilla limpia ( $p_l$ ) entre el peso de la semilla sin limpiar ( $p_i$ ), cociente que se multiplica por 100 para expresar porcentualmente, según el siguiente modelo:

$$P = (p_l / p_i) (100)$$

Ejemplo. Obtener la pureza de una submuestra de semilla cuyos pesos de semilla sin limpiar y limpiada son, respectivamente, 11.1 y 10.3 g.

$$P = (10.3 \text{ g} / 11.1 \text{ g}) (100) = 92.8 \%$$

En el laboratorio, para limpiar la semilla se usan las mesas de limpieza y pinzas o punzones, pinceles e incluso los cantos de pequeñas tiras de papel aluminio (Figura 60.2).

La pureza nos dice qué tanto del peso que estamos comprando o manejando corresponde realmente a semilla. Si se compran 10 kg de semilla con una pureza de 95 %, quiere decir que en realidad contaremos con 9.5 kg de semilla. Esta información también es de utilidad como parte de los cálculos en siembras directas en campo o en semilleros de viveros forestales.

Para determinar la pureza, el equipo que se utiliza es una mesa para limpiado (opcional), pinzas o punzones para separar la semilla de las impurezas, y una balanza (a centésimas de gramo) para pesar los componentes. Si la semilla es minúscula, como la del tabaquillo, *Nicotiana glauca*, el tepozán, *Buddleia cordata*, el guarumbo, *Cecropia obtusifolia* o los eucaliptos, *Eucalyptus* spp., que tienen de cientos de miles a millones de semillas  $\text{kg}^{-1}$ , entonces se requerirá una balanza a milésimas de gramo.

## Peso

La finalidad de esta prueba es establecer cuánta semilla por unidad

de peso (kg) se tiene. A nivel internacional también se expresa como el peso de 1000 semillas. ISTA establece que esta prueba se hace con 8 repeticiones de 100 semillas cada una (o con 10 repeticiones de 100 semillas). Si el total del peso de 800 semillas es igual a 40.24 g, el peso de mil semillas (P) será:

$$P = 40.24 / 0.8 = 50.3 \text{ g}$$

El peso por kilogramo se calcula mediante regla de tres, ya sea usando los datos de las submuestras o el peso directo de 1000 semillas. Por ejemplo, del ejemplo anterior, 1000 semillas pesan 50.3 g. El número de semillas por kilogramo se calcula así:

$$1000 \text{ ----- } 50.3 \text{ g}$$

$$X \text{ ----- } 1000 \text{ g}$$

$$X = 1\,000\,000 / 50.3 = 19\,880.7 \text{ semillas kg}^{-1}$$

A la inversa, otra regla de tres también se puede usar para establecer el peso de mil semillas:

$$19\,880.7 \text{ ----- } 1000 \text{ g}$$

$$1000 \text{ ----- } X \text{ g}$$

$$X = 1\,000\,000 / 19\,880.7 = 50.3 \text{ g}$$

La figura 60.3. muestra el pesaje de una muestra de semillas.



**Figura 60.2.** Mesa hechiza para limpiar la semilla. Cuenta con un foco interior que proyecta luz sobre la superficie translúcida de la base. Foto: DART, Laboratorio de Semillas Forestales, DICIFO, 2016.

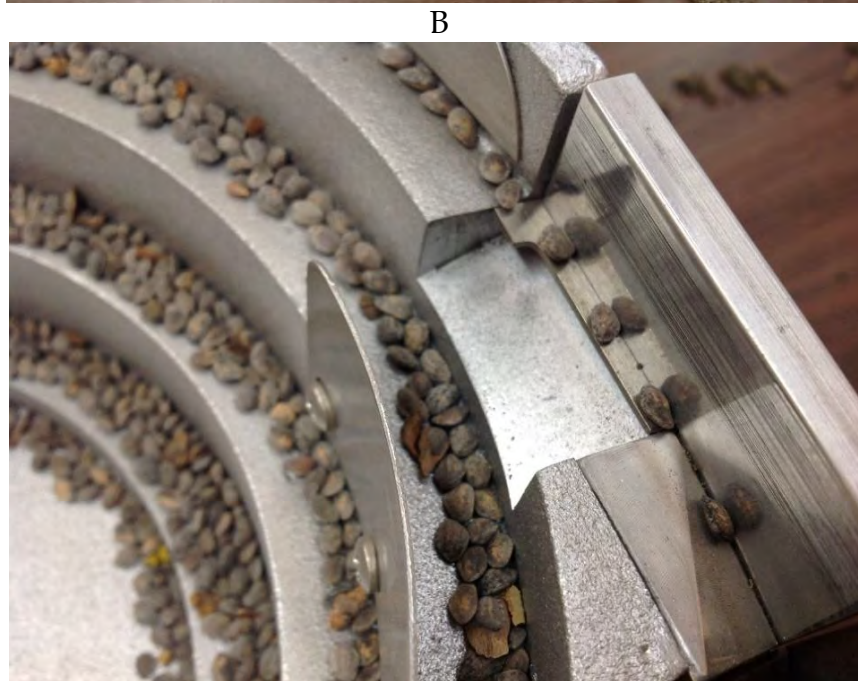
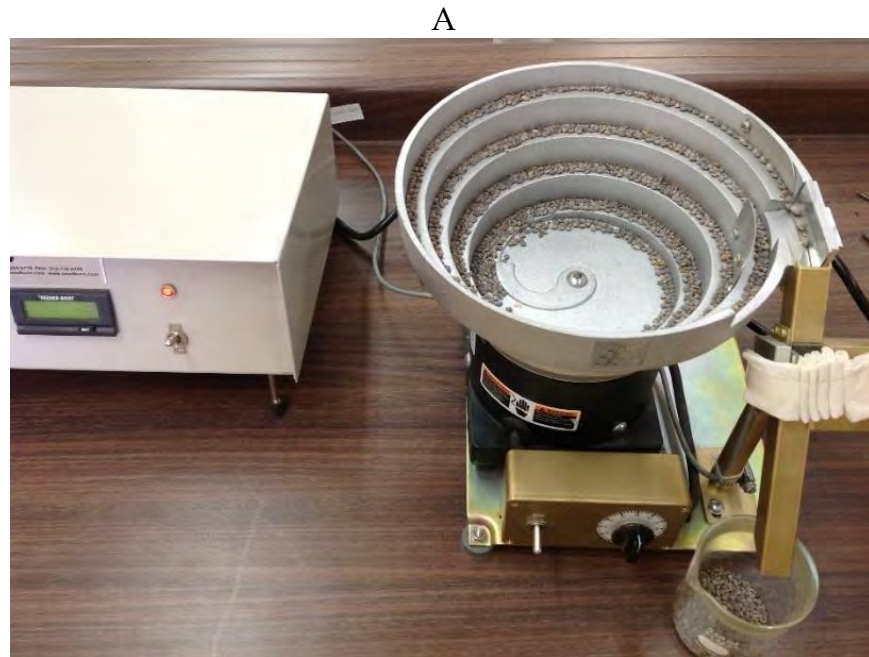


**Figura 60.3.** Determinación del peso de la semilla en *Chamaedorea elegans*. Laboratorio de Semillas Forestales, DICIFO, UACH. Foto: DART.

El conteo de semillas de tamaño mediano se puede realizar con un contador automático (Figura 60.4). Se trata de un dispositivo eléctrico que básicamente consta de un recipiente donde se deposita la semilla y que cuenta con un trayecto en espiral en toda su periferia. Al encenderse vibra y esto hace que la semilla vaya tomando su camino por el trayecto y poco a poco asciende por la espiral. Al final del trayecto hay un puente (cuya anchura se debe graduar conforme a la de la semilla) por el que pasan, una a una, las semillas y atraviesan una cámara donde un haz de luz que realiza el conteo cada vez que es interrumpido. La cantidad de semillas aparece en una pantalla del módulo de lectura.

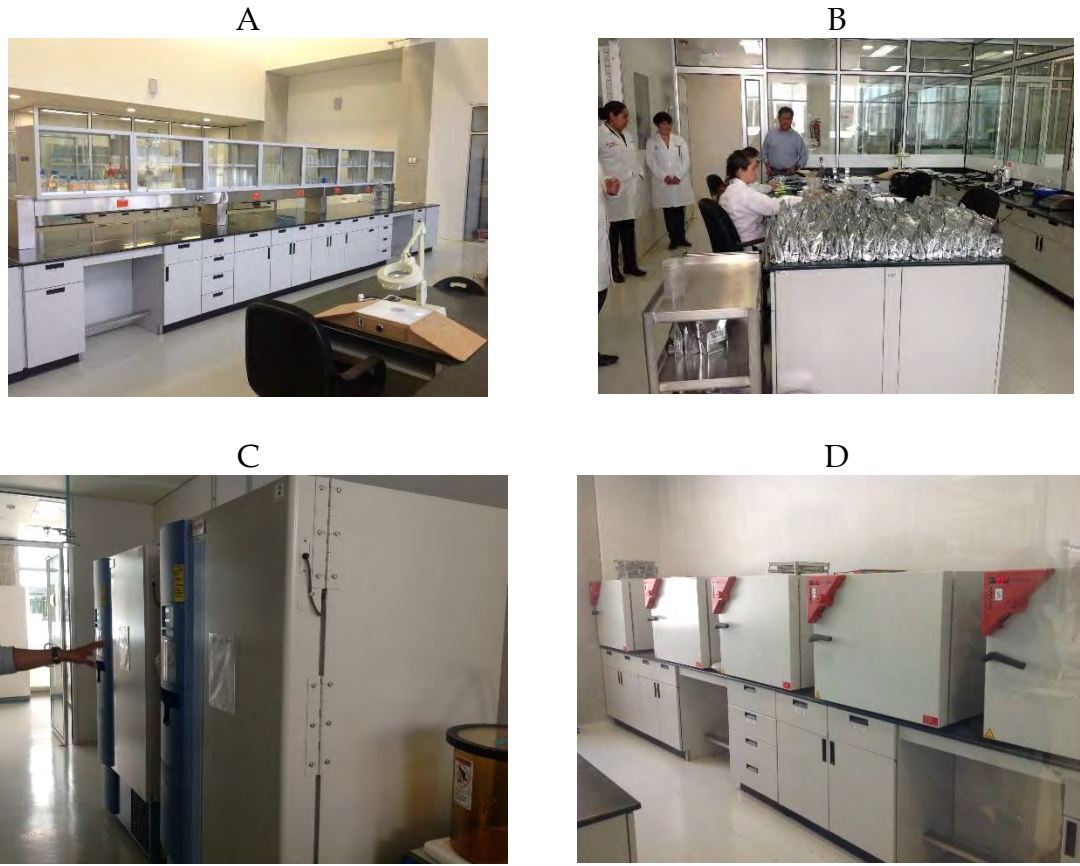
Mientras más intensa se programe la vibración, más rápido ascenderá la

semilla, pero en general no son recomendables vibraciones y velocidades muy grandes. Este aparato es útil para semillas medianas. Las semillas muy pequeñas, como las de especies mencionadas en el subtítulo de pureza, pueden no ascender en su totalidad y peor, pueden no ser registradas por el dispositivo óptico, lo que se traduce en errores en el conteo. Semillas grandes, como las de encinos, *Quercus* spp., sencillamente no caben en la espiral ni en la cámara. El aparato tampoco es conveniente para semillas de regular tamaño pero con forma alargada, como las del flamboyán, *Delonix regia*. Este equipo es conveniente para semillas como las de *Pinus* spp., varias leguminosas cuya semilla no es grande, nolinás (*Nolina* spp.), entre muchas otras. Para proceder con el conteo automatizado, la semilla debe ser desalada previamente.



**Figura 60.4.** Contador automático de semillas. Laboratorio de Semillas Forestales, DICIFO, UACH. A) A la izquierda en la foto, el módulo de lectura. A la derecha el contenedor donde se deposita la semilla y por vibración va formando una línea sobre la trayectoria en espiral del contenedor. B) Detalle del trayecto. A la derecha, el puente permite el paso de una fila de semillas con anchura de sólo una de ellas. Con la vibración las semillas siguen avanzando y después del paso por el puente caen en un conducto donde interrumpen un haz de luz que hace el conteo automático, el cual se despliega numéricamente en la pantalla del módulo, según se aprecia en A.





**Figura 60.5.** Vistas de algunas de las instalaciones del Centro Nacional de Recursos Genéticos del INIFAP, en Jalisco. Fotos: DART.

Uno de los usos del peso de la semilla es para relacionarlo con el de los frutos durante la recolección de semilla, y así saber cuánto hay que recolectar de frutos para conseguir determinada cantidad de semilla limpia. Asimismo, para cualquier manejo que se hace de la semilla o cuando se compra o vende, es indispensable conocer su peso para poder establecer con facilidad cuántas semillas hay en determinada unidad de peso (1 kg por ejemplo) de la misma. El peso de la semilla es otra de las variables necesarias para calcular la cantidad de esta a utilizar durante siembras directas en campo o bien siembras directas en camas de crecimiento cuando se producirá a raíz

desnuda en el vivero forestal. Igualmente, en el caso de la semilla pequeña que se empleará para sembrar semilleros en el vivero, el peso es una de las variables necesarias para calcular la cantidad de semilla a sembrar por unidad de superficie de semillero.

La semilla minúscula como la del tabaquillo, *Nicotiana glauca*, con millones de semillas por kilogramo, hay que limpiarla y contarla lentamente y con paciencia, con la ayuda de lupa y en una mesa de limpia alumbrada. Una respiración fuerte, la voz, un movimiento brusco con el pincel o las pinzas finas o un trocito de

papel aluminio doblado que se estén utilizando, así como la electricidad estática, puede hacer saltar muchas semillas y revolverlas, teniendo que reiniciarse el conteo. Aparte del cuidado con que hay que separar las semillas unos pocos centímetros, es conveniente ir haciendo grupos de 100 de ellas; de modo que, si acontece una distracción y se pierde la cuenta, no se tendrá que comenzar de nuevo el conteo.

Solamente se necesita de una báscula para pesar la semilla y cajas de Petri o cualquier contenedor de tamaño apropiado para colocar la semilla durante el pesaje. Hay que poner primero el recipiente vacío, sin olvidar tarar la balanza con la caja de Petri o el contenedor donde colocará la semilla, para que automáticamente quede descontado una vez que contenga semilla que pesar.

### **Contenido de humedad**

Esta es la primera prueba que se debe realizar. Se hace con la muestra remitida, utilizando la cantidad de semillas recomendada en el Cuadro 60.2 (Bonner *et al.*, 1994). Las semillas forestales típicamente son divididas, con base en su longevidad y en su contenido de humedad, en dos grupos: ortodoxas y recalcitrantes. Las **semillas ortodoxas** son aquellas que de manera natural tienen un bajo contenido de humedad, y para que se mantengan viables durante el almacenamiento, deben mantenerse así. Normalmente duran varios o muchos años viables, incluso aunque no sean almacenadas a bajas temperaturas. Las **semillas**

**recalcitrantes** son las que tienen contenidos de humedad elevados y que no van a durar mucho tiempo viables, así sean almacenadas a bajas temperaturas. También deben ser almacenadas a más elevados contenidos de humedad que las semillas ortodoxas. Cabe destacar que las bajas temperaturas a las que se hace mención están en torno a 0 °C, pues con temperaturas de -20 °C, o menos (supercongelación), que se pueden conseguir en instalaciones con técnica criogénica, se ha probado que semillas recalcitrantes pueden ser almacenadas y mantenidas viables por varios años.

El contenido de humedad (CH) se mide pesando primeramente las muestras de semillas en fresco ( $P_f$ ). Acto seguido se ponen en un contenedor de vidrio, como una caja de Petri o un vaso de precipitado, y se colocan en un horno de secado a 107 °C durante 18 h. En otras opciones la semilla se deja secar a temperaturas de 70 °C o más hasta que adquiera peso constante, el cual denota peso anhidro (seco) ( $P_o$ ). La semilla seca también es pesada apenas se extrae del horno. Esto debe ser así porque, al salir del horno, las semillas comenzarán a ganar humedad (Figura 60.6).

Internacionalmente, la norma es dividir el peso del agua contenida en la muestra entre el peso fresco de esta última. Es decir, el contenido de humedad en semillas se calcula con respecto al peso fresco de las mismas ( $CH_f$ ). De esta forma, conociendo el contenido de humedad de cierta cantidad de semilla, el contenido de humedad base en fresco, se sabe la

proporción (en peso) de agua contenida en la cantidad de semilla de la muestra, tal y como la tenemos. El modelo que se utiliza es:

$$CH_f = ((P_f - P_o) / P_f) (100)$$

Ejemplo. Una submuestra tiene un peso fresco de 21.4 g y se obtiene de ella un peso anhidro igual a 17.3 g. Determinar el contenido de humedad, base en fresco:

$$CH_f = ((21.4 \text{ g} - 17.3 \text{ g}) / 21.4 \text{ g}) (100) \\ = 19.2 \%$$

Es decir, de cada 100 g de la semilla al momento de determinar el contenido de humedad, 19.2 g son agua.

La principal utilidad del contenido de humedad, es para establecer si ese valor es apropiado para almacenar la semilla a bajas temperaturas. Pero también nos ayuda cuando analizamos una especie que se ha trabajado poco o que no ha sido estudiada, para conocerla y como un elemento más con el propósito de predecir si la semilla de una especie que se está investigando es ortodoxa o recalcitrante.

De forma complementaria, pues no es alternativa oficial, también se puede determinar el contenido de humedad de la semilla con base en el peso seco ( $CH_o$ ):

$$CH_o = ((P_f - P_o) / P_o) (100)$$

**Cuadro 60.2.** Muestra y procedimientos para determinar el contenido de humedad de semillas forestales, con base en su tamaño (sintetizado de Bonner *et al.*, 1994).

Clase de tamaño de la semilla	Tamaño de muestra y procedimiento oficiales de ISTA	Prueba rápida
Semilla pequeña, con poco (ej.: <i>Platanus</i> , <i>Robinia</i> ) o alto (ej. <i>Abies</i> , <i>Pinus</i> , <i>Tsuga</i> ) contenido de aceites.	4 a 5 g Secado en horno a $103 \pm 2$ °C, por $17 \pm 1$ h	80 a 200 g de semilla, según el tipo. Medidor eléctrico
Semilla grande, bajo contenido de aceites y contenido de humedad <20% (ej. <i>Nyssa</i> ).	4 a 5 g o bien 5 semillas 1) Moler (o similar) 2) Secado en horno a $103 \pm 2$ °C, por $17 \pm 1$ h	4 a 5 g o bien cinco semillas. Secar en horno microondas.
Semilla grande, bajo contenido de aceites, contenido de humedad >20% (ej. <i>Quercus</i> , <i>Aesculus</i> ).	Cinco semillas. 1) Presecado, a <20% de contenido de humedad, en horno (130 °C, por 5 a 10 min) 2) Moler (o equivalente) 3) Secado en horno a $103 \pm 2$ °C, por $17 \pm 1$ h	Cinco semillas. Secar en horno microondas.
Semilla grande, alto contenido de aceites (ej. <i>Fagus</i> , <i>Juglans</i> , <i>Carya</i> ).	Cinco semillas. 1) Moler (o equivalente) 2) Secado en horno a $103 \pm 2$ °C, por $17 \pm 1$ h	Cinco semillas. Secar en horno microondas.

Nota: Aunque el cuadro original recomienda la prueba de tolueno con semillas de alto contenido de aceites, la misma fuente lo refiere como discontinuado.



**Figura 60.6.** A) pesaje y B) secado en hornos para la determinación de contenido de humedad. Laboratorio de Semillas Forestales de la DICIFO. Foto: DART, 2016.

Para el ejemplo próximo pasado, dicho contenido de humedad, base en seco, es igual a:

$$CH_0 = ((21.4 \text{ g} - 17.3 \text{ g}) / 17.3 \text{ g}) (100) = 23.7 \%$$

Mientras que el contenido de humedad base en fresco nos da la proporción del lote que es agua, el contenido de humedad base en seco expresa la proporción que hay de agua con respecto al peso seco de la semilla, de manera similar a como se hace con la madera.

Para determinar el contenido de humedad de la semilla se requiere de balanza, horno de secado y cajas de Petri de vidrio o vasos de precipitado.

### ***Germinación (capacidad germinativa)***

La principal prueba en el análisis de semillas forestales, es la de germinación, donde se establece la capacidad germinativa de la semilla. Esta última, es el porcentaje de germinación alcanzado durante un

ensayo. Las germinaciones deben ser normales (Bonner, 1985).

Las normas de ISTA establecen cuatro repeticiones de 100 semillas cada una, para ejecutar esta prueba. Esto es sencillo cuando solamente se está realizando el análisis de semillas.

Un paréntesis. Si se está conduciendo investigación y paralelamente se hace el análisis, caso en el que se complica utilizar la cantidad de semillas aludida. Simplemente si se usan tres tratamientos con tres niveles cada uno más un control (por ejemplo, escarificación química con ácido sulfúrico durante 5, 10 y 15 min; alta temperatura en horno durante 0.5, 1 y 1.5 min; y escarificación -con lija y con navaja-), además de un control no tratado, se tendrían nueve niveles de tratamientos, que por las cuatro repeticiones arrojarían 36 unidades experimentales. Si se están utilizando cajas germinadoras tal vez no quepan en una sola cámara de ambiente controlado. Por ello, al realizar

investigación, dicha unidad de 100 semillas se reduce, pero hay que

asegurarse que el experimento resulte robusto estadísticamente.



**Figura 60.7.** Germinación, como parte de los murales de la capilla Riverina, pintados por Diego Rivera y propiedad de la Universidad Autónoma Chapingo.

En el caso de investigación, conviene asegurarse que haya un mínimo de cuatro repeticiones, aunque lo ideal es que, de haber espacio en la(s) cámara(s), se cuente con tantas repeticiones como combinaciones del producto resultante de multiplicar el número de factores por el de niveles. Si se manejan dos factores (por ejemplo, temperatura y luz), con dos niveles (30 °C y 25 °C; y con y sin, respectivamente), más el testigo, es conveniente utilizar  $(2 \times 2) + 1 = 5$  repeticiones. Hasta aquí el comentario sobre investigación. También resulta

impráctico utilizar más de 6 repeticiones. Se recomienda utilizar un mínimo de 4 cuando se tienen abundantes combinaciones de niveles de factores.

Dos ejemplos de recipientes en los cuales establecer una prueba de germinación son las cajas germinadoras y las cajas de Petri. Las cajas germinadoras están diseñadas para realizar estas pruebas, pero algunos especialistas utilizan cajas de plástico para verdura, siempre que cuenten con tapa sellable y con un

fondo de retícula de plástico con patas. Para hacer la siembra se coloca una porción de tela fieltro a la medida de la caja y de la retícula, pero un poco más larga (unos 6-10 cm) del lado más largo de la caja. La tela es colocada empatando un extremo de la caja, pero el otro quedará sobrado. Ese excedente debe ser doblado, debajo de la retícula, haciendo contacto con la base de la caja de plástico. Esto permitirá que cuando se aplique el agua para riego (250 ml para una caja de aproximadamente 30 X 20 X 10 cm) y se acumule en el fondo, el líquido subirá por el extremo de la tela y la mantendrá húmeda en su totalidad a lo largo del experimento, sin tener que regar periódicamente. Es recomendable preparar la caja con la tela y regar antes de hacer la siembra, para que el chorro de agua no desacomode o incluso revuelva las semillas que pueden estar ordenadas por tratamientos en la caja, en particular si se trata de semillas pequeñas (Figura 60.8).

La siembra debe hacerse en una sola jornada preferentemente, sin caer en prisas, pero con celeridad para que todas las semillas en la prueba queden sembradas la misma mañana o la misma tarde. Si se debe instalar un experimento con muchas semillas y cajas, se deberá sembrar una parte un día y la otra parte un segundo día, y habrá que tomar en cuenta este desfase de un día para los registros de germinación y cálculos de vigor en parte de las cajas.

Durante la siembra las semillas deben ser colocadas en hileras o columnas,

con pinzas o con la mano usando guantes, según el tamaño de la semilla. Se invierte algo de tiempo al acomodarlas, pero gracias a este orden el registro de la germinación se agilizará. En el caso de semillas minúsculas es tardado hacer este acomodo.

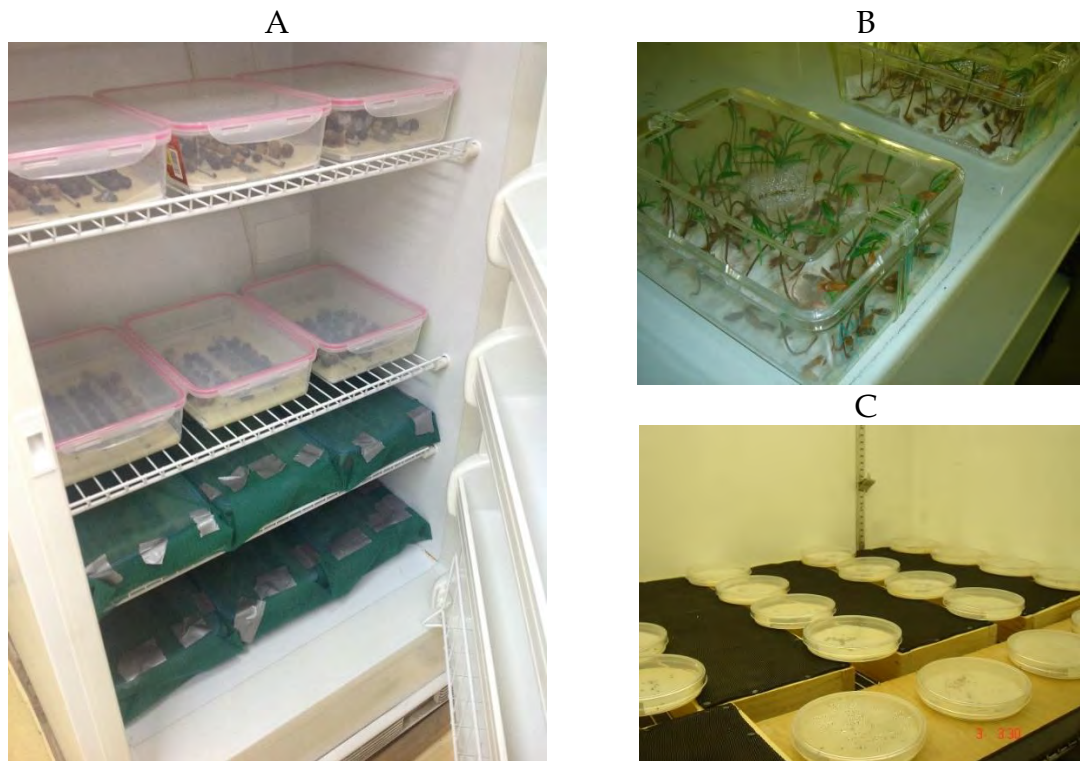
Una vez realizada la siembra, hay que observar diariamente todas las cajas sembradas, incluso los fines de semana, para comenzar a registrar apenas se inicie la germinación. Debe tenerse claro que algunas especies pueden iniciar su germinación en horas (por ejemplo, el sauce *Salix oxylepis*), mientras que otras pueden dilatar poco más de un par de meses para comenzarla (como la aguacatera, *Garrya laurifolia*).

En el laboratorio una semilla será considerada como germinada cuando su radícula iguale la longitud de la semilla. La duración de la prueba dependerá de la especie y de que se esté proporcionando el régimen día/noche adecuado. Especies como *Salix oxylepis* habrán germinado del todo al cabo de uno o pocos días, en tanto que semillas como *Garrya laurifolia* pueden requerir dos o tres meses o poco más, incluso después de aplicarles tratamientos para eliminar latencia. Ejemplos de otras semillas que tardan unos pocos meses en germinar son de los géneros *Dioon* y *Chamaedorea* (Figura 60.9).

El **régimen día/noche** consiste de las temperaturas diurna y nocturna, y de la duración del periodo con luz, con los cuales será programada la cámara

de ambiente controlado para llevar a cabo la prueba de germinación. La elección del régimen día/noche a que se someterá la semilla para que

germine, debe hacerse con cuidado. Ese régimen emula en alguna medida el día y la noche en el área de distribución natural de la especie.



**Figura 60.8.** A) Caja de plástico para verduras utilizada para germinación en experimento. Se usa tela fieltro como sustrato. B) Caja germinadora, con papel Kimpak como sustrato. C) caja de Petri con papel filtro como sustrato. A) y C) Laboratorio de Semillas Forestales, DICIFO, UACH. B) Laboratorio de Semillas Forestales, Corena, Gob. Cd. de México. Fotos: DART.



**Figura 60.9.** Registro de germinación. Foto: DART, Laboratorio de Semillas Forestales, DICIFO, 2016.

Las cámaras de ambiente controlado son equipos que cuentan con controles para regular temperatura, tipo de luz y duración del fotoperiodo, además de espacio para acomodar las semillas, plántulas o plantas con las que se vaya a experimentar. Hay modelos que también controlan la humedad relativa. Tales características simulan de manera gruesa el día y la noche. Existen cámaras que cada hora pueden cambiar su temperatura un poco y son las que mejor simulan el día y la noche, pero son muy caras.

La mayoría de las semillas germina bien a temperaturas constantes entre 20 y 30 °C. Sin embargo, varias semillas de pinos, por ejemplo, germinan mejor con temperaturas alternas, como 25 °C de día y 20 °C de noche. Diversas especies forestales norteamericanas están referidas en las listas de ISTA, con los regímenes día/noche recomendados para las pruebas de germinación. Pero casi no incluye especies mexicanas.

Para el caso de México en este libro se ha recopilado información disponible sobre regímenes térmicos apropiados para la germinación de diversas especies forestales. Esta información se halla en los capítulos de cada especie o género. En cualquier caso, ya sea con temperatura constante o alterna, la cámara es programada para que de forma sincronizada se encienda la luz cuando estará la temperatura alta (si la hay) durante un determinado periodo de tiempo, el fotoperiodo, que será del orden de 8 a 12 h, normalmente.

Cuando se trabaja una especie para la cual no hay información, se recomienda buscar las temperaturas medias y extremas de la estación meteorológica más cercana al sitio donde fue recolectada la semilla y usarlos como base para establecer la o las temperaturas del régimen día/noche. Por ejemplo, si la temperatura media es igual a 25 °C, utilizar la misma temperatura en la cámara, si se trabajará con ésta de manera constante. Si se van a emplear temperaturas alternas, para día y noche, la cámara podría programarse con 30 y 20 °C, respectivamente, por ejemplo. El de los regímenes día/noche óptimos para la germinación de las especies forestales nacionales, es uno de los temas de investigación que necesita ser abordado más extensivamente. Si bien la guía dada es útil, en realidad las temperaturas que prevalecen entre detritos y plantas herbáceas y arbustivas son menos extremas que las que registran las estaciones meteorológicas. Adicionalmente, la diferencia de altitud entre la estación meteorológica más cercana al sitio de recolección de germoplasma, donde se registran los datos de temperatura, puede implicar la realización de otro ajuste, debido al gradiente adiabático (las zonas altas son más frías que las bajas). No obstante, el intervalo de temperaturas recomendado o el uso de la temperatura media, resultan útiles.

Es crucial mantener la asepsia en las cámaras, material utilizado y en nuestras manos. Para ello puede limpiarse el interior de la cámara y la cerradura de la puerta con una



solución de cloro al 10% y una jerga nueva o lavada antes de establecer cualquier experimento. Las cajas germinadoras deben ser nuevas o ser lavadas y desinfectadas en todos sus componentes previo a su utilización. La misma semilla puede ser enjuagada durante unos pocos minutos (15 a 30, por ejemplo) en una solución de cloro al 5 a 10% e inmediatamente después enjuagar con agua destilada. Todo el material que se vaya a emplear deberá haber sido lavado y/o desinfectado. Limpiar cajas y material con alcohol ayuda contra bacterias. Incluso quien(es) establece(n) el experimento se habrán de lavar las manos y preferentemente utilizar cubrebocas y guantes de látex para sembrar en laboratorio.

Cada caja germinadora debe ser etiquetada con un mínimo de datos que permita su perfecta identificación (especie, procedencia o población, tratamiento(s) y repetición). La etiqueta debe colocarse en el cuerpo de la caja y no en la tapa, pues de ser pegada en esta última, si se trabaja con dos o más cajas al mismo tiempo puede haber confusión y colocarse la tapa, con todo y su etiqueta, en la caja que no corresponde, lo que puede llevar a errores graves o a tener que repetir el experimento.

El porcentaje de germinación (G) se expresa dividiendo el número de semillas germinadas (Sg), entre el número total de semillas sembradas (Ss) y este cociente es multiplicado por cien, conforme al siguiente modelo:

$$G = (Sg/Ss) (100)$$

Si de un total de 400 semillas germinaron 375, el porcentaje de germinación final o capacidad germinativa en las condiciones probadas, será:

$$G = (375/400) (100) = 93.8 \%$$

La germinación en vivero puede ser un poco menor que la obtenida en cámara de ambiente controlado, bajo condiciones idóneas. Cuando esto es así, debe ser considerado al utilizar la semilla en el vivero o en siembras directas.

Las semillas con germinación anómala (como la no emisión de radícula o el estancamiento del desarrollo de la plántula) deben ser consideradas con un porcentaje aparte de germinación anormal o como parte de la semilla no germinada. En algunos pinos, puede haber la germinación de dos plántulas, procedentes de dos embriones en una misma semilla. En este caso, si por lo menos una de las plántulas es vigorosa, se debe registrar una sola germinación. También hay frutos muy pequeños, donde quedan dos semillas, pero no es práctico tratar de separarlas. Tal es el caso de *Lippia myriocephala*.

Si la semilla no germina o casi no germina durante una prueba, aunque sea viable, es muy posible que esté latente. Cuando se trabajan especies nuevas en las cuales no es evidente la latencia, esto puede suceder. Con frecuencia las semillas de leguminosas tienen algún nivel de latencia física y de antemano pueden tratarse para eliminar esta condición. Evidentemente, cuando se tiene

información de la especie que será trabajada y se sabe que cuenta con latencia, antes de conducir la prueba de germinación habrá que proporcionar el tratamiento indicado a las semillas para que puedan germinar. No se debe olvidar que en una misma especie la intensidad de la latencia puede ser diferente entre procedencias. Por ello no siempre los tratamientos referidos en algunas publicaciones tributan el mayor porcentaje de germinación final al aplicarse en otras procedencias.

El equipo recomendable para realizar esta prueba son cámaras de ambiente controlado, digitales o analógicas (Figura 60.10), cajas para realizar la germinación, tela fieltro o papel Kimpak, agua destilada, fungicida, pinzas, etiquetas. Si la prueba se llevará a cabo en cajas de Petri, de vidrio o de plástico, además de éstas se puede usar papel Kimpak, papel filtro, incluso agrolita. Las cajas de Petri tienen la desventaja de que, por su tamaño pequeño, aunque se manejen con tapa, se deshidratan más rápido y es necesario regar periódicamente, para mantener saturado el sustrato, lo cual no es lo más recomendable por la mayor probabilidad de contaminación y el mayor tiempo a invertir, que podría dedicarse en otra actividad.

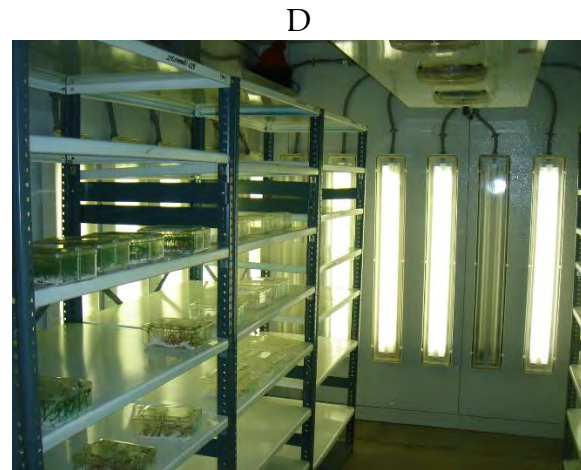
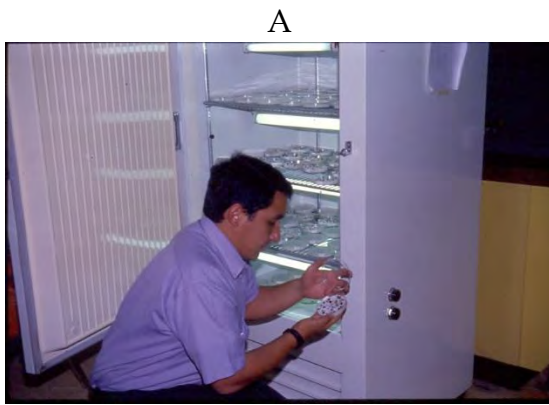
### ***Viabilidad***

La viabilidad es la proporción de semillas de un lote que está viva y que potencialmente producirá una plántula. Este valor normalmente es

algo mayor al de la capacidad germinativa debido a que no todas las semillas que inician la germinación la completan. Ello obedece a que alguna o algunas de sus partes pudieron no haberse desarrollado del todo o terminaron desarrollándose de manera anómala. O bien porque el tratamiento para eliminar la latencia no fue suficiente para esas pocas semillas, dada la variación que puede haber en la intensidad de la latencia dentro de una misma muestra de trabajo, cuando ese carácter tiene alta variabilidad.

La mayor utilidad de la prueba de viabilidad es su rapidez, ya que permite contar con una estimación gruesa de la capacidad germinativa que se podría tener cuando la información urge y no hay tiempo para conducir la prueba de germinación, o en lo que ésta se desarrolla.

La viabilidad puede ser determinada de diferentes maneras. La más sencilla es la prueba de flotación, en la cual cierta cantidad de semilla es puesta en un recipiente con agua, como una cubeta o vasos de precipitado y se deja ahí durante 12 a 24 h. Normalmente la semilla vana o está vacía o tiene muy poco contenido, razón por la cual flotará. La semilla viable se irá al fondo. Aun así, es conveniente abrir la semilla que flotó para verificar que esté vana. Al terminar la prueba, la semilla puede ser secada y almacenada o utilizada en el vivero.



**Figura 60.10.** A) y B) Diferentes modelos de cámaras de ambiente controlado. Laboratorio de Semillas Forestales, Dicifo. C) y D) Vistas externa e interna del cuarto para germinación, Laboratorio de Semillas Forestales, Vivero San Luis Tlaxialtemalco, Corena, Gob. Cd. de México. Fotos: A) Sr. Eliseo Monsalvo. B) a D) DART.

Otra prueba, la de corte e inspección, obviamente es destructiva. Requiere del corte longitudinal de semilla por

semilla, por lo que es lenta; en particular si hay latencia física. De cada semilla se inspecciona si el

embrión está completo, al igual que el tejido de reserva, así como la coloración que con frecuencia es blancuzca, pero hay especies con el embrión o el tejido de reserva que son amarillentos o de otras tonalidades, como el rosa en *Pinus cembroides*. No debe haber pudriciones ni deformaciones.

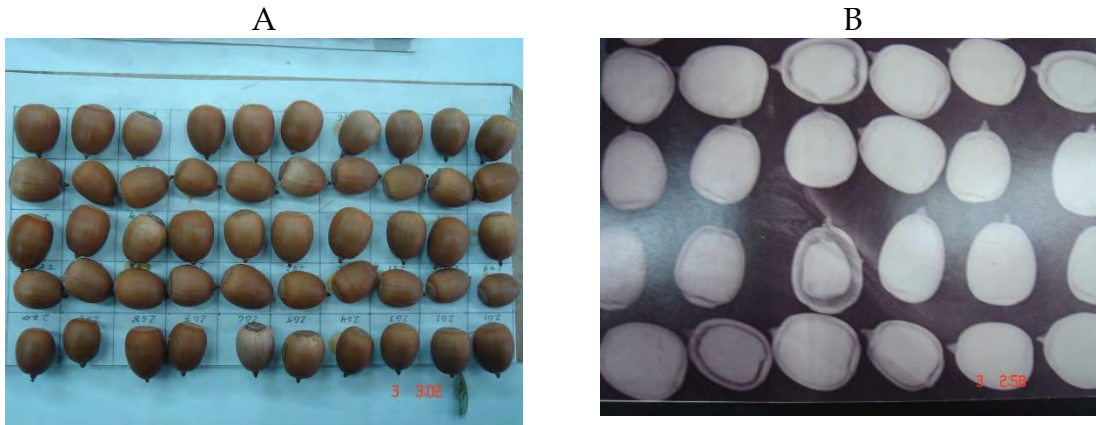
Quizá la prueba de viabilidad más tradicional es la de las sales de tetrazolio (cloruro de 2, 3, 5-trifenil tetrazolio). Este producto químico debe mantenerse almacenado en su frasco en el frigorífico. Se prepara una solución al 1 % con estas sales, en un frasco ámbar, pues la luz lo degrada. La solución se vierte en un vaso de precipitado cubierto con papel aluminio y ahí se colocan semillas cortadas longitudinalmente por la mitad o completas (dependiendo si no está o sí expuesto el eje embrionario) y sin la cubierta seminal. En el primer caso, hay que cuidar que se use sólo una de las mitades de cada semilla, de

lo contrario la prueba será sesgada. Este producto reacciona con el oxígeno liberado por los tejidos vivos y se produce fenil formazán, de color rojo, con el cual el tejido vivo queda teñido (Figura 60.11).

En especies agrícolas hay un gran nivel de desarrollo en la aplicación de esta prueba, pues los patrones e intensidad de coloración en el embrión permiten hacer una mejor precisión de si germinarán o no e incluso de su energía germinativa. Sin embargo, en especies forestales basta con que el embrión se tiña, o idealmente todo el tejido de la superficie del corte. Si el tejido no se tiñe es porque está no viable. No es sencillo relacionar patrones e intensidad de teñido en semillas, como parte de muestras destructivas, con la germinación que tendrían; hay oportunidad de investigación en este campo.



**Figura 60.11.** Prueba de tetrazolio en *Lupinus montanus*. A) 100 semillas cortadas a la mitad, B) detalle de una de ellas. Fotos: Anna Jessica Moreno Rupit.



**Figura 60.12.** A) Lámina preparada con nueces de *Quercus crassipes*, para obtener una placa radiográfica (B). Aunque la semilla tiene diferentes tamaños dentro de las nueces, todas las de la imagen están viables. Foto A: DART. B) Radiografía: Unidad Médica, UACH.

Una opción más son los rayos X de alto contraste. Si no es de alto contraste, la radiografía no será tan clara y resultará más difícil discernir si la semilla está viable o no. Si en la placa la semilla está hueca, el embrión muy poco desarrollado (sin que se trate de una especie con latencia morfológica), o reducida la semilla, dañada por alguna plaga, debe ser considerada no viable (Figura 60.12).

Es interesante destacar que en *Quercus rugosa* hemos observado que muchas semillas plagadas con una larva del coleóptero del género *Curculio*, que se aloja en y alimenta de los cotiledones, son capaces de germinar y producir una planta normal cuando la larva no afecta el eje del embrión (Huerta y Rodríguez-Trejo, 2011).

No es sencillo determinar viabilidad en semillas minúsculas y pequeñas. Todas flotan en agua, viables o no. La prueba de corte e inspección se puede hacer con microscopio, lo mismo que el corte para teñido con sales de tetrazolio, pero se invertirá tiempo en ambos casos. El análisis con radiografía en semillas pequeñas es útil.

La viabilidad (V) se calcula de manera semejante a la capacidad germinativa, con base en la cantidad de semillas viables ( $S_v$ ) y el total utilizado ( $S_t$ ) en la prueba, conforme al modelo que sigue:

$$V = (S_v / S_t) (100).$$

Ejemplo. En un ensayo con 400 semillas, 390 resultan viables. La viabilidad será igual a:

$$V = (390/400) (100) = 97.5 \%$$



**Figura 60.13.** Frigorífico para dar tratamientos de estratificación y para almacenar semillas a pequeña escala, con fines de investigación. Laboratorio Semillas Forestales, Dicifo, UACH. Foto: DART, 2016.

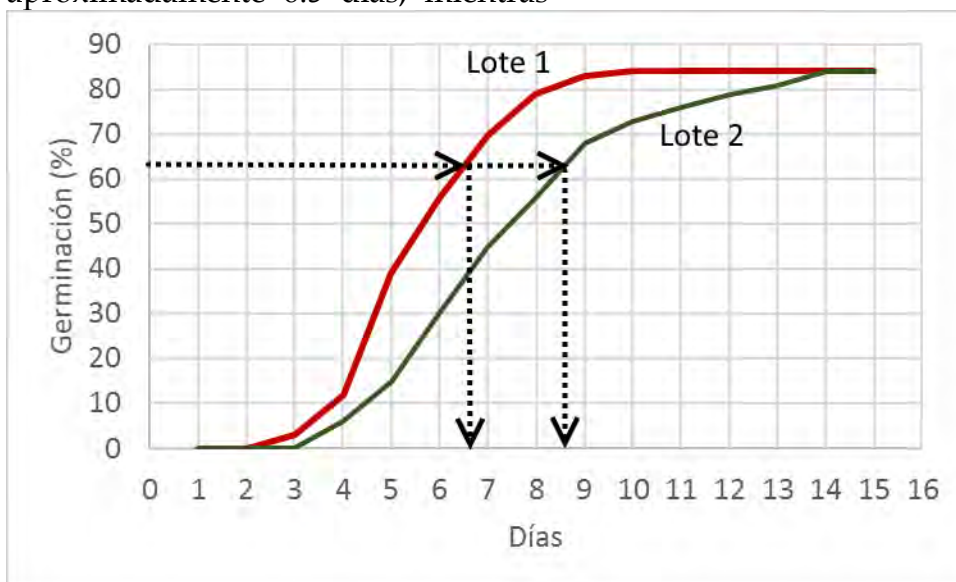
### ***Vigor***

Existen diferentes estimadores de vigor, el cual involucra características como la rapidez de la germinación y la germinación bajo condiciones adversas (Bonner, 1993). De acuerdo con Bonner (1985), el **vigor** son las propiedades de las semillas que determinan su potencial para una emergencia rápida y uniforme, así como el desarrollo de plántulas normales en un amplio grado de condiciones de suelo, donde fueron sembradas.

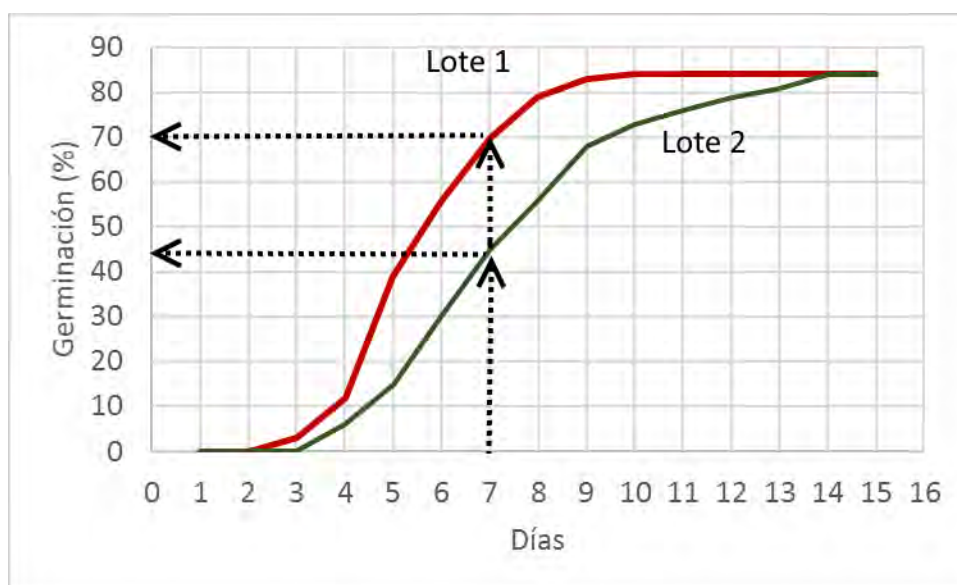
La forma en que tradicionalmente se ha medido la velocidad de germinación, es la **energía germinativa** (o energía de germinación), la cual se define como la rapidez con que ocurre un porcentaje dado de la capacidad germinativa. En otras palabras, es el tiempo para que ocurra un porcentaje dado de la germinación final. Este porcentaje suele ser el 50, 75 o 90% de la capacidad germinativa. Si emplea el 75% y se tuvo un 84% de capacidad germinativa, el porcentaje a obtener

sería:  $0.75 (84\%) = 63\%$ . La energía germinativa sería el número de días para alcanzar el 63% de germinación. En la figura 60.14, dicho 63% es alcanzado por el lote 1 en aproximadamente 6.5 días, mientras

que el tiempo es 8.5 días para el lote 2. Ambos lotes tuvieron la misma capacidad germinativa (84%), pero el lote 1 tiene mayor energía germinativa (germina más rápido) que el lote 2.



**Figura 60.14.** Comparación de la energía germinativa entre dos lotes con la misma capacidad germinativa. Aquí se expresa como el tiempo para alcanzar 75% de la capacidad germinativa (84%), igual a 63% y que resulta en 6.5 días para el lote 1 y en 8.5 días para el lote 2.



**Figura 60.15.** Energía germinativa, ahora medida como la germinación luego de siete días de iniciada la prueba. El lote 1 alcanzó 70%, mientras que el lote 2, igualó 44%.

La energía germinativa, también puede expresarse como el porcentaje de germinación dentro de un periodo de tiempo dado, que suele ser siete o 14 días. Evidentemente, para especies con germinación lenta se van a requerir más de 2 semanas. En la

figura 60.15 se aprecia el mismo ejemplo anterior. Ahora el lote 1 tiene 70% de germinación luego de siete días, mientras que la germinación para el lote 2 fue sólo 44% en el mismo plazo de tiempo.

**Cuadro 60.3.** Datos de germinación para calcular valor de germinación de Czabator (lote 1).

Días desde la siembra	Germinación diaria (%)	Germinación acumulada (%)	Germinación media
3	3	3	$3/3 = 1.0$
4	9	12	$12/4 = 3.0$
5	<b>MGD = 27</b>	39	$39/5 = 7.8$
6	17	56	$56/6 = 9.3$
7	14	70	<b>VGDM = <math>70/7 = 10.0</math></b>
8	9	79	$79/8 = 9.9$
9	4	83	$83/9 = 9.2$
10	1	84	<b>VGDF = <math>84/10 = 8.4</math></b>
11	0	84	---

MGD = Máxima germinación en un día, VGDM = valor de germinación diario máximo, VGDF = valor de germinación diaria final.

**Cuadro 60.4.** Datos para calcular el valor de germinación de Czabator para el lote 2.

Días desde la siembra	Germinación diaria (%)	Germinación acumulada (%)	Germinación media
3	6	6	$6/3 = 2.0$
4	9	15	$15/4 = 3.8$
5	<b>MGD = 15</b>	30	$30/5 = 6.0$
6	<b>MGD = 15</b>	45	$45/6 = 7.5$
7	11	56	$56/7 = 8.0$
8	12	68	<b>VGDM = <math>68/8 = 8.5</math></b>
9	5	73	$73/9 = 8.1$
10	3	76	$76/10 = 7.6$
11	3	79	$79/11 = 7.2$
12	2	81	$81/12 = 6.8$
13	3	84	<b>VGDF = <math>84/13 = 6.5</math></b>
14	0	84	--



Otra forma más de expresar la energía germinativa es como la máxima germinación que se tenga en 24 h, a lo largo del experimento. A partir de los datos con los que se construyeron las gráficas de germinación acumulada de las Figuras 60.14 y 60.15, la máxima germinación en 24 h para el lote 1 fue 27% (del 4º al 5º día), mientras que para el lote 2 tal valor fue igual a 15% (del 5º al 6º día, o bien del 6º al 7º día) (Cuadro 60.3).

Un concepto más es el de valor de germinación Czabator, el cual integra la capacidad germinativa con la velocidad de germinación. En el cuadro 60.3, 3ª columna, está plasmada la germinación acumulada del lote 1 que hemos estado utilizando. La germinación media, en la 4ª columna (=velocidad de germinación diaria), se calcula dividiendo para

cada día la germinación acumulada entre los días desde la siembra.

A partir de los datos del cuadro 60.3, el valor de germinación de Czabator ( $VG_C$ ) (Willan 1991) se calcula como sigue, para el lote 1:

$$VG_C = (VGDF) (VGdM) = (8.4) (10.0) = 84.0$$

En el caso del lote 2 (Cuadro 60.4), el valor de germinación de Czabator es igual a:

$$VG_C = (6.5) (8.5) = 55.3$$

Como se puede apreciar, el valor de germinación calculado es mayor para el lote 1 que para el lote 2, remarcando la mayor calidad del primero.

Otro valor de germinación es el de Djavanish y Pourbeik (Willan, 1991). Su cálculo parte de los datos del Cuadro 60.5.

**Cuadro 60.5.** Datos de germinación para calcular valor de germinación de Djavanshir y Pourbeik, lote 1.

Días desde la siembra	Germinación diaria (%)	Germinación acumulada (%)	Germinación media	Germinación media acumulada	No. de conteos	Germinación media acumulada/conteos
3	3	3	3/3 = 1.0	1.0	1	1/1 = 1.0
4	9	12	12/4 = 3.0	4.0	2	4/2 = 2.0
5	27	39	39/5 = 7.8	11.8	3	11.8/3 = 3.9
6	17	56	56/6 = 9.3	21.1	4	21.1/4 = 5.4
7	14	70	70/7 = 10.0	31.1	5	31.1/5 = 6.2
8	9	79	79/8 = 9.9	41.0	6	41/6 = 6.8
9	4	83	83/9 = 9.2	50.2	7	50.2/7 = 7.2
10	1	<b>GAF=84</b>	84/10 = 8.4	58.6	8	<b>G DFA = 58.6/8 = 7.3</b>
11	0	84	--	--	--	--

GAF = germinación acumulada final, G DFA = germinación diaria final acumulada.

**Cuadro 60.6.** Datos de germinación para calcular valor de germinación de Djavanshir y Pourbeik, lote 2.

Días desde la siembra	Germinación diaria (%)	Germinación acumulada (%)	Germinación media	Germinación media acumulada	No. de conteos	Germinación media acumulada/conteos
3	6	6	6/3 = 2.0	2.0	1	2/1 = 2.0
4	9	15	15/4 = 3.8	5.8	2	5.8/2 = 2.9
5	15	30	30/5 = 6.0	11.8	3	11.8/3 = 3.9
6	15	45	45/6 = 7.5	19.3	4	19.3/4 = 4.8
7	11	56	56/7 = 8.0	27.3	5	27.3/5 = 5.5
8	12	68	68/8 = 8.5	35.8	6	35.8/6 = 6.0
9	5	73	73/9 = 8.1	43.9	7	43.9/7 = 6.3
10	3	76	76/10 = 7.6	51.5	8	51.5/8 = 6.4
11	3	79	79/11 = 7.2	58.7	9	58.7/9 = 6.5
12	2	81	81/12 = 6.8	65.5	10	65.5/10 = 6.6
13	3	<b>GAF = 84</b>	84/13 = 6.5	72.0	11	<b>G DFA = 72/11 = 6.5</b>
14	0	84	--	--	--	--

Este índice se calcula con el siguiente modelo, aplicado al lote 1 (Cuadro 60.5) y luego al lote 2 (Cuadro 60.6) de nuestro ejemplo:

$$\text{Lote 1: } VG_{DP} = (GAF/10) (G DFA) = (84/10) (7.3) = 61.3$$

$$\text{Lote 2: } VG_{DP} = (84/10) (6.5) = 54.6$$

De modo que también con este indicador de vigor el del lote 1 es superior al del lote 2.

### **Aplicaciones de la información generada en el análisis de semillas forestales**

#### **Siembra directa en campo**

A efecto de calcular la cantidad de semilla (C), en peso, para hacer una siembra directa en campo, se utiliza casi toda la información obtenida del análisis de semillas, además de la densidad deseada (D) y de la

superficie a sembrar (S), como: pureza (Pu), peso (P), y capacidad germinativa (G), así como un factor esperado de supervivencia inicial (Si) en campo, opcional, de acuerdo con el siguiente modelo:

$$C = (D S) / (Pu P G Si)$$

Si se desea hacer una siembra de esta naturaleza en 3 ha, y obtener una densidad de 10 000 brinzales/ha, con un lote de semilla que tiene una pureza de 94%, un peso de 27 000 semillas/kg, una capacidad germinativa de 90% y una supervivencia inicial de 85%, entonces:

$$C = (10\ 000/\text{ha}) (3\ \text{ha}) / (0.94) (27\ 000/\text{kg}) (0.90) (0.85) = 1.55\ \text{kg de semilla.}$$

Como puede apreciarse, todos los valores que se obtienen como

porcentaje se deben expresar en tanto por uno en el modelo anterior.

### ***Siembra con garapiñados en campo***

Los garapiñados son terrones de sustrato con semillas de varias especies forestales. Pueden contener también gel hidratado y fertilizante. Se emplean como una de las medidas de restauración, colocándolos en áreas degradadas. Ayudan a generar núcleos de vegetación leñosa. Supongamos que se usan dos especies (A y B) en el garapiñado y que sus capacidades germinativas en laboratorio fueron, respectivamente, 80% y 30%. Si se busca garantizar que por lo menos germine y se establezca un individuo de cada una de las dos especies, habría que colocar dos y tres o cuatro semillas de cada especie, por garapiñado, respectivamente.

### ***Siembra de semilleros en el vivero***

Los cálculos para este caso son los mismos que para siembra en campo, sólo que las densidades a obtener son mayores, del orden de una plántula cada 2 cm<sup>2</sup>. Ejemplo: Determinar la cantidad de semilla (C) necesaria para sembrar un semillero de 3 m<sup>2</sup> (S), si se desea obtener 5000 plántulas/m<sup>2</sup>, con semilla que tiene una pureza de 85%, un peso de 75 000 semillas/kg y un porcentaje de germinación igual a 70%. Se decide no considerar mermas de plántulas, por ser insignificantes en este caso.

$$C = (D S) / (P_u P G) =$$
$$= (5000/m^2) (3 m^2) / (0.85)(75\ 000/kg)$$
$$(0.70) =$$

$$= 0.34 \text{ kg.}$$

### ***Siembra en bolsa o charola en vivero***

El porcentaje de germinación obtenido permite definir si se utilizará la semilla en semilleros o en siembra directa en bolsa o contenedor. Si dicho valor es muy bajo, por ejemplo de 15 %, convendrá hacer la siembra en semillero y de ahí trasplantar a bolsa. De lo contrario habría que poner siete semillas en cada contenedor o bolsa ( $1/0.15 = 6.7$ ). Esto es cierto para cualquier tamaño de semilla, si bien la que es muy pequeña o pequeña es más práctico y eficiente sembrarla en semillero y luego hacer trasplante a bolsa o a charola.

Si la germinación es del orden de 50 % o mayor, habrá que poner dos semillas por bolsa o tubete y luego realizar trasplantes a las bolsas o tubetes donde no se haya tenido germinación alguna. Capacidades germinativas en torno a 30 % implican la siembra de tres semillas por bolsa o tubete.

### ***Almacenamiento***

No sólo es relevante el conocimiento del contenido de humedad de los lotes para saber si tienen el valor apropiado y ser correctamente almacenados en el frigorífico, según se trate de especies ortodoxas o recalcitrantes. El estudio de la evolución del contenido de humedad, capacidad germinativa, vigor y viabilidad a través del tiempo de almacenamiento, permite un mejor conocimiento de cuánto tiempo puede ser almacenada la semilla en tales condiciones, o hacer pruebas

buscando alargar el tiempo de almacenamiento.

### ***Necesidad de limpieza de la semilla***

La prueba de pureza indica qué tan contaminado con diversos materiales está el lote de semilla. Por ello refleja si debe perfeccionarse esta tarea o volver a hacerse. Realizada después del desalado, permite mejorar dicha práctica si se encuentran cantidades relevantes de alas o fragmentos de ellas.

### ***Certificación de semillas forestales***

En esencia, la certificación consiste en que una instancia autorizada y/o capacitada para realizar análisis conforme normas internacionales, confirme o determine los diferentes parámetros del análisis de semillas forestales en un lote, en particular la capacidad germinativa y el vigor. También tiene que determinarse que el lote esté libre de insectos plaga o de agentes fitopatógenos. De esta manera la instancia lo certifica por escrito y quien comercia la semilla ostenta dicha certificación como una garantía de la calidad del lote durante determinado periodo de tiempo.

### ***Comercio de semillas***

Los precios de la semilla entre diferentes especies forestales varían debido a distintos factores. Los resultados de los análisis de semillas forestales influyen en el precio. Factores que tienden a incrementar la calidad del lote y el precio de la semilla, son: pureza elevada, número elevado de semillas por kilogramo,

elevada capacidad germinativa, alto vigor y buena viabilidad.

### ***Investigación y conocimiento de especies no estudiadas***

La obtención de las variables en las diferentes pruebas del análisis de semillas forestales también es de interés para conocer esas características en especies que no han sido estudiadas previamente. La profundización en regímenes día noche, la necesidad de sombra, la presencia de algún tipo de latencia y cómo eliminarla, entre otros factores y otros aspectos, se hace mediante investigación. Por otra parte, investigadores de todo el orbe y organizaciones como ISTA y AOSA, continuamente buscan mejoras, estándares y se desechan pruebas que ya no se consideran eficaces, para mantener modernos y eficientes este tipo de análisis.

### ***Docencia y capacitación***

Dada su relevancia, los análisis de semillas deben ser parte teórica, pero sobre todo práctica, de cualquier curso de capacitación, técnico, universitario o de posgrado de semillas forestales o de viveros forestales. Su relevancia para la capacitación de personal que inicia labores en laboratorios de semillas o viveros que cuentan con ellos, es evidente.

### ***Detección de latencia***

En especies conocidas o estudiadas, se sabe si tienen algún tipo de latencia. De no ser así, la inspección de la semilla puede darnos indicios de algún tipo de latencia. La presencia de

una cubierta seminal dura puede indicar latencia física, como es común en leguminosas. Si el fruto es una drupa, el endocarpo leñoso puede tener latencia mecánica. Si el embrión es muy pequeño, es posible que haya latencia morfológica. La latencia química y la latencia fisiológica no son detectables visualmente. Si al realizar las pruebas de germinación no la hay en absoluto o casi no la hay, lo más probable es que tenga algún tipo de latencia. La aplicación de tratamientos, según el tipo de latencia del cual se sospeche, y el éxito en la germinación, establecerán que sí había tal tipo de latencia.

### **Consideraciones sobre la capacidad germinativa en laboratorio, vivero y campo**

Al comparar la capacidad germinativa de un lote entre laboratorio, vivero y campo, generalmente en el primer sitio se obtendrán los mayores valores, pues con las cámaras de ambiente controlado se consiguen temperaturas óptimas o cercanas a ellas y la semilla

tiene abasto continuo de agua. Después estaría el vivero, donde el control de temperatura es parcial y al final quedaría el campo, con alta variabilidad en todos los factores que inciden en la germinación.

En la medida que en el vivero se consiga una capacidad germinativa más cercana a la obtenida en cámaras de ambiente controlado, querrá decir que el manejo de las diferentes condiciones ambientales está siendo más eficiente. En campo poco se puede hacer para mejorar las condiciones, salvo colocar las semillas en sitios o microsítios protegidos o relativamente protegidos. En sitios con mucha exposición a la radiación solar, aunque la semilla germine la plántula puede morir por desecación.

No obstante, en ocasiones la capacidad germinativa obtenida en laboratorio es menor que la que se registra en el vivero. Esto puede relacionarse con el uso de temperaturas o regímenes día/noche, entre otros factores, que no sean los óptimos para la germinación.

### **Literatura citada**

- Bonner, F. T. 1985. Glosario de términos sobre germinación de semillas para especialistas en árboles semilleros. USDA Forest Service, Southern Forest Experiment Station, New Orleans, Louisiana. General Technical Report SO-55. 5 p.
- Bonner, F. T., J. A. Vozzo, W. W. Elam, and S. B. Land Jr. 1994. Tree Seed Technology Training Course. Instructor's Manual. General Technical Report SO-106. USDA Forest Service, South Forest Experiment Station. New Orleans, LA. 160 p.
- Huerta P., R., y D. A. Rodríguez T. 2011. Efecto del tamaño de semilla y la temperatura en la germinación de *Quercus rugosa* Née. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 17(2): 179-187.
- Ibarra M., G., M. Martínez M., y G. Tenorio C. 2015. Frutos y Semillas del Bosque Tropical Perennifolio. Región Los Tuxtlas, Veracruz. Conabio. México. 348 p.
- Niembro R., A. 1986. Mecanismos de Reproducción Sexual en Pinos. Limusa. México. 130 p.

Niembro R., A. 1988. Semillas de Árboles y Arbustos. Ontogenia y Estructura. Limusa. México. 285 p.

Niembro R., A. 1989. Semillas de Plantas Leñosas. Morfología Comparada. Limusa/Noriega. México. 224 p.

Ochoa G., S., G. Villanueva L., I. Hernández M., e I. Pérez H. 2008. Manual de Semillas de Especies Forestales de las Montañas de Tenosique, Tabasco. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Chis. 98 p.

Willan, R. L. (Comp.). 1991. Guía para la Manipulación de Semillas Forestales. Con Especial Referencia a los Trópicos. Estudio FAP Montes 20/2. FAO, ONU. Roma. 502 p.