

## Variación en vigor de semillas de *Pinus cembroides* recolectadas en rodales en los estados de Nuevo León y Veracruz, México

Variation in seed vigor of *Pinus cembroides* collected in stands in Nuevo León and Veracruz states in Mexico

Norma Beatriz Mendoza-Hernández<sup>a</sup> , Carlos Ramírez-Herrera<sup>\*\*</sup> , Marcos Jiménez-Casas<sup>a</sup> , Gabino García-De-Los-Santos<sup>b</sup> , Víctor Manuel Cetina-Alcalá<sup>a</sup> , Florentino Víctor Conde-Martínez<sup>c</sup> 

\* Autor de correspondencia: <sup>a</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Ciencias Forestales, Texcoco, Estado de México, México, tel.: 525573786568, [kmcracolpos@gmail.com](mailto:kmcracolpos@gmail.com)

<sup>b</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad, Texcoco, Estado de México, México.

<sup>c</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Botánica, Texcoco, Estado de México, México.

### SUMMARY

Seeds of *Pinus cembroides* lose vigor and viability owing to the effects of high humidity and high temperature, which damage the cell membranes. The objective of this study is to evaluate the vigor of *Pinus cembroides* seeds using an aging test. Seeds were collected from the municipalities of Galeana, Nuevo León, and Jalacingo, Veracruz, Mexico. In the aging test, the seeds were exposed to temperatures of 19, 40, 42, and 45 °C for 24, 48, 72, and 96 h. In the control, the seeds were not subjected to any treatment. In the germination test, the seeds were placed in a randomized block design with a factorial arrangement. Significant differences ( $P < 0.05$ ) were found between provenances, temperatures, and periods for the percentage of germination and aging index. The percentage of germination varied between 0 % for seeds from Jalacingo exposed to 19 °C and 40 °C and 31 % for seeds in the control. The percentage of germination varied from 1 % to 84 % for Galeana seeds at 45 °C and the control, respectively. The aging index varied between 0 for seeds from both provenances in the control treatment and 1 for seeds from Jalacingo exposed to 19 °C and 40 °C. Deterioration of *Pinus cembroides* seeds might be due to damage to the cell membrane. The vigor of *Pinus cembroides* seeds was reduced because of high temperature and aging periods, which was reflected in low percentages of seed germination.

**Keywords:** aging test, germination, provenance, deterioration, electrolyte leakage.

### RESUMEN

Las semillas de *Pinus cembroides* pierden vigor y viabilidad por efecto de los altos contenidos de humedad y temperaturas altas que dañan las membranas celulares. En la presente investigación, el objetivo es evaluar el vigor de semillas de *Pinus cembroides* mediante una prueba de envejecimiento. Se recolectaron las semillas en los municipios de Galeana, Nuevo León y Jalacingo, Veracruz, México. En la prueba de envejecimiento, se expusieron las semillas a 19, 40, 42 y 45 °C y periodos de 24, 48, 72 y 96 horas. En el testigo, las semillas no se sometieron a algún tratamiento. En la prueba de germinación, se colocaron las semillas en un diseño en bloques al azar con arreglo factorial. Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre procedencias, temperaturas y periodos para porcentaje de germinación e índice de envejecimiento. El porcentaje de germinación varió entre 0 % para semillas de Jalacingo expuestas a 19 y 40 °C, y 31 % para semillas en el testigo. El porcentaje de germinación varió entre 1 y 84 % para semillas de Galeana en los 45 °C y testigo, respectivamente. El índice de envejecimiento varió entre 0 para semillas de ambas procedencias en el testigo y 1 para semillas de Jalacingo expuestas a 19 y 40 °C. El deterioro de las semillas de *Pinus cembroides* pudo ser por daños ocasionados en la membrana celular. Se disminuyó el vigor de las semillas de *Pinus cembroides* por efecto de las temperaturas altas y periodos de envejecimiento, y se reflejó en porcentajes bajos de germinación de las semillas.

**Palabras clave:** prueba de envejecimiento, germinación, procedencia, deterioro, fuga de electrolitos.

### INTRODUCCIÓN

El piñon (*Pinus cembroides* Zucc.) es una especie importante para la reforestación en áreas degradadas en las regiones semiáridas y en los programas de servicios ambientales ante el cambio climático (Pompa-García y

Yerena-Yamalliel 2014) debido a que presenta adaptación a condiciones de sequía, protege el suelo y favorece la infiltración de agua (Constante-García *et al.* 2009). Las semillas de *P. cembroides* son comestibles de amplio uso en repostería por el sabor agradable y alto contenido nutricional (Hernández-Moreno *et al.* 2011, Valero-Galván

*et al.* 2019). Sin embargo, un problema es que la disponibilidad de semillas de esta especie depende principalmente de la recolección en rodales naturales donde los años semilleros con producción abundante se presentan cada 4 años (Hernández-Moreno *et al.* 2011). Otro problema es que la producción de semilla de *P. cembroides* se presenta en periodos largos e irregulares para generar un número alto de conos por árbol maduro (Sánchez-Tamayo *et al.* 2005, Hernández-Moreno *et al.* 2011). Por lo que la recolección de semilla de calidad y almacenamiento son factores importantes para la disponibilidad de semillas en los programas de restauración y conservación de esta especie año con año. Además, las semillas de pinos piñoneros almacenadas a temperatura ambiente pueden perder la capacidad germinativa en menos de un año (García-Fayos *et al.* 2001), incluso en almacenamiento prolongado en condiciones ambientales controladas, se deterioran las semillas y se afectan el vigor y viabilidad de estas (Flores *et al.* 2019, Dadlani *et al.* 2023).

El vigor de semillas es una característica importante para producir plántulas bajo condiciones de estrés (ISTA 2010), debido a que semillas vigorosas son capaces de reparar en la germinación los daños al genoma ocasionados por la deshidratación durante el almacenamiento (Rajjou *et al.* 2012). Las condiciones de almacenamiento son determinantes para mantener la viabilidad y el vigor de las semillas y obtener plántulas con capacidad para un desempeño óptimo en campo (Dadlani *et al.* 2023). Sin embargo, la respuesta de las semillas ante el estrés puede ser diferente en relación con la procedencia, incluso bajo las mismas condiciones de almacenamiento (Fontana *et al.* 2016), debido que las semillas pueden presentar diferencias en características físicas y bioquímicas si estas se recolectan en poblaciones diferentes (Valero-Galván *et al.* 2019).

Las pruebas de vigor de semillas son importantes para evaluar la capacidad germinativa de diferentes lotes de semillas debido a que se consideran en estas las características químicas de las semillas que influyen en la emergencia de las plántulas (ISTA 2010). El envejecimiento acelerado es una prueba de estrés efectiva para evaluar el vigor y potencial germinativo de semillas en almacenamiento (Flores *et al.* 2019). Esta prueba es una simulación del almacenamiento de semillas a largo plazo, y consiste en exponer las semillas a temperaturas y humedad altas en diferentes periodos (Delouche y Baskin 1973). La temperatura alta y el contenido alto de humedad aceleran los procesos de deterioro en las semillas (ISTA 2010) por lo que la germinación disminuye por el nivel de daño en la integridad de la membrana, ácidos nucleicos y proteínas (Kim y Han 2018). Las semillas pueden tener diferente tolerancia genética a una temperatura alta y humedad por lo que a través de la prueba de envejecimiento se pueden diferenciar lotes de semilla con base en el vigor de estas, sin embargo, hay pocos estudios sobre las diferencias en tolerancia al deterioro entre lotes de semillas de especies *Pinus patula* Schl. et Cham, *P. contorta* Douglas y *P. koraiensis* Siebold

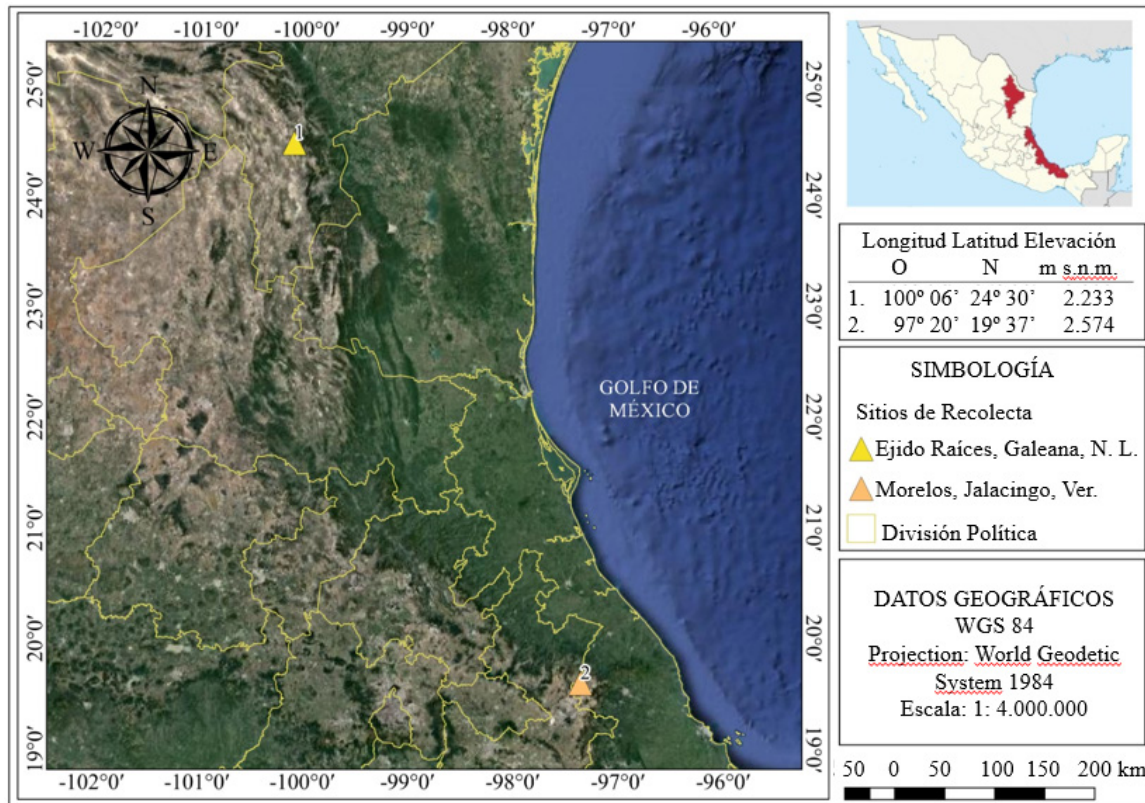
& Zucc. (Demelash *et al.* 2004, Han *et al.* 2006, Kim y Han 2018). Por lo que el objetivo de la presente investigación es evaluar la variación en el vigor de las semillas de *Pinus cembroides* de dos procedencias a través de una prueba de envejecimiento acelerado. Bajo la hipótesis: de que se espera que el vigor de las semillas evaluado a través de la germinación disminuya al ser sometidas a condiciones de temperatura alta y humedad.

## MÉTODOS

Se recolectaron 1.100 y 420 conos de *Pinus cembroides* a finales de septiembre de 2020 en Galeana y Ajalpan, respectivamente. Una procedencia se ubica en el ejido Raíces, municipio de Galeana, Nuevo León, entre las coordenadas 24° 30' 45" N y 100° 6' 42" O, a una elevación de 2.233 m s.n.m.; donde se presenta una temperatura media anual de 14,5 °C y precipitación media anual de 547 mm de acuerdo con el programa Spline Model (Rehfeldt 2006). La segunda procedencia se localiza en el ejido Morelos, municipio de Jalacingo, Veracruz, entre las coordenadas 19° 37' 19" N y 97° 20' 38" O, a una elevación de 2.574 m s.n.m., donde la temperatura media anual es 12,6 °C y precipitación media anual es 513 mm (Rehfeldt 2006) (figura 1).

Los conos recolectados se colocaron en bolsas de tela etiquetadas con el nombre de la procedencia. Se trasladaron las bolsas con los conos al laboratorio del Posgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México. Posteriormente, los conos se colocaron en un invernadero para que las escamas abrieran y liberaran las semillas. Las semillas llenas fueron separadas de las semillas vanas mediante observación tomando en cuenta las diferencias en coloración y peso. Las semillas llenas de *P. cembroides* tuvieron un color marrón y peso igual o mayor de 100 mg, mientras que semillas vanas presentaron una coloración blanquecina y peso menor de 100 mg. Las semillas llenas se almacenaron en un cuarto con refrigeración a 4 °C, hasta la implementación de los diferentes experimentos.

Se hizo una prueba de viabilidad con tetrazolio (2, 3, 5-trifenil cloruro de tetrazolio, Sigma-Aldrich®) con cuatro repeticiones de 100 semillas por cada procedencia (ISTA 2010) en mayo de 2021. Se desinfectaron las semillas previamente con hipoclorito de sodio al 4 a 6 % de ingrediente activo (cloralex) durante tres minutos, seguido de un enjuague con agua destilada. Posteriormente, se eliminó la cubierta seminal, y se colocaron los megagametofitos y los embriones en agua destilada a 20 °C por 24 h para que se iniciara el proceso de imbibición (ISTA 2010). Se realizó un corte longitudinal en el megagametofito con pinzas de disección y bisturí evitando dañar el embrión. Se colocó el embrión y las mitades del megagametofito en cajas petri donde se añadieron 5 mL de una solución al 1 % de 2, 3, 5-trifenil cloruro de tetrazolio (Sigma-Aldrich®). Se colocaron las cajas Petri con las muestras en oscuridad por 24 h en una estufa Riossa® a 30 °C (ISTA 2010). Se



**Figura 1.** Localización geográfica de dos procedencias (Galeana Nuevo, León y Jalacingo, Veracruz México) de semillas de *Pinus cembroides*.

Geographic location of two provenances (Galeana Nuevo, León y Jalacingo, Veracruz México) of *Pinus cembroides* seeds.

clasificaron las semillas como viables cuando el megagametofito y embrión se tiñeron homogéneamente en tono rojo intenso (Kolotelo *et al.* 2001).

Se hizo la prueba de envejecimiento acelerado (Delouche y Baskin 1973) en mayo de 2021 en el laboratorio de análisis de semillas del Colegio de Postgraduados, utilizando semilla previamente desinfectada con hipoclorito de sodio al 4-6 % de ingrediente activo (cloralex®) durante tres minutos, seguido de dos enjuagues con agua destilada. Se colocó una muestra de 25 semillas llenas de cada lote de *Pinus cembroides* distribuidas sobre mallas de acero inoxidable dentro de cajas plásticas de 14 x 14 x 7 cm, que contenían 150 mL de agua destilada. Se acomodaron las cajas con las semillas, etiquetadas y selladas herméticamente, en una estufa Thermo scientific® a 19, 40, 42 y 45 °C durante 24, 48, 72 y 96 h de exposición. Las muestras con las semillas testigo permanecieron almacenadas en un cuarto de refrigeración a 4 °C, hasta el establecimiento de la prueba de germinación por lo que estas no estuvieron expuestas a ninguna temperatura o periodo de envejecimiento acelerado. Transcurridos los periodos de exposición a envejecimiento acelerado, se desinfectaron las semillas con hipoclorito de sodio al 4 a 6 % de ingrediente activo (cloralex®) durante tres minutos, seguido de dos

enjuagues con agua destilada y colocadas sobre sanitas para retirar el exceso de humedad. Finalmente, se evaluó el efecto del envejecimiento acelerado en semillas de *P. cembroides* mediante una prueba de germinación estándar en condiciones controladas (ISTA 2010).

Se sometieron 25 semillas de cada tratamiento de envejecimiento acelerado y el testigo a una prueba de germinación en un diseño en bloques al azar con arreglo factorial 2 x 5 x 5 (2 procedencias x 5 temperaturas x 5 periodos) sobre tela absorbente en charolas de plástico de 28 x 28 x 7 cm. Los 50 tratamientos se colocaron al azar en cada bloque en una charola por lo que se incluyeron 25 repeticiones de cada tratamiento en el experimento. Se colocaron las 25 charolas en un cuarto de germinación a una temperatura de 25 °C y riego diario con agua destilada. Se realizó el primer conteo de la germinación de semillas de *Pinus cembroides* a los 7 días (ISTA 2010), y el último conteo a los 40 días. Las semillas se consideraron como germinadas cuando la radícula emergió, al menos, 2 mm de la cubierta seminal (ISTA 2010). Se calculó el porcentaje de germinación como el cociente entre el número de semillas germinadas y el número de semillas totales y el resultado multiplicado por 100. El porcentaje de germinación se ajustó al dividir este por el porcentaje de viabilidad

para contabilizar solo semillas viables. Se determinó el vigor de las semillas a través del valor pico obtenido mediante la división de la máxima sumatoria del porcentaje de germinación entre el número de días para alcanzar ese valor máximo (Kolotelo *et al.* 2001).

También, se estimó el vigor de semillas de *P. cembroides* expuestas a los diferentes tratamientos de envejecimiento acelerado con el índice de envejecimiento que varía entre 0 y 1, de acuerdo con la siguiente ecuación (Wang *et al.* 1992):

$$\text{Índice de envejecimiento (IE)} = \frac{PG - PGDE}{PG} \quad [1]$$

Donde PG es el porcentaje de germinación de las semillas del testigo las cuales no fueron expuestas a envejecimiento acelerado y PGDE es el porcentaje de germinación después de envejecimiento durante 24, 48, 72 y 96 horas.

También, se determinó el contenido de humedad inicial y final de semillas llenas de *Pinus cembroides* para cada tratamiento de envejecimiento acelerado. Se colocaron muestras de 10 semillas llenas por tratamiento en cajas de aluminio con tapa y se introdujeron en un horno de secado de circulación forzada marca Riossa® a 105 °C durante 17 h (ISTA 2010). Se pesaron las semillas en una balanza eléctrica analítica Chyo® JK-200, con aproximación a 0,1 mg. Se calculó el contenido de humedad en semillas con la fórmula siguiente (Kolotelo *et al.* 2001):

Contenido de humedad

$$(CH) = \frac{\text{Pesofrescodesemillas} - \text{Pesosecodesemillas}}{\text{Pesofrescodesemillas}} * 100 \quad [2]$$

Se realizó una prueba de conductividad eléctrica a una muestra de las semillas de *Pinus cembroides* en la prueba de envejecimiento acelerado para evaluar la fuga de electrolitos asociada al deterioro en las membranas celulares (Kim y Han 2018). Se colocaron cinco repeticiones de cinco semillas de cada tratamiento de envejecimiento acelerado en vasos de plástico y se agregaron 50 mL de agua destilada. Posteriormente, los vasos se cubrieron con

papel aluminio para evitar la entrada de partículas externas e inmediatamente se colocaron estos en una incubadora a 25 °C, donde permanecieron por 24 h. Se registró la lectura de conductividad eléctrica del lixiviado de semillas de *P. cembroides* ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  de semilla) con un medidor de conductividad Oakton®.

Se aplicaron las pruebas de Shapiro-Wilks y Bartlett para determinar si los datos cumplían con los supuestos de normalidad y homogeneidad, respectivamente. Debido a que los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad, estos se analizaron con la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y posteriormente, se aplicó la prueba de Conover de comparación múltiple con el software estadístico InfoStat versión 2020 (Di Rienzo *et al.* 2020).

## RESULTADOS

Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,0286$ ) entre procedencias de *P. cembroides* para el porcentaje de viabilidad en el presente estudio. El porcentaje de viabilidad para las semillas de *P. cembroides* de Galeana, Nuevo León fue 68,2 %, mientras que, para las semillas de Jalacingo, Veracruz este fue 77,5 %.

El porcentaje de germinación varió de manera significativa ( $P < 0,0001$ ) en los tratamientos de temperatura (19, 40, 42, 45 °C y testigo) en ambas procedencias (cuadro 1). Las semillas de Jalacingo, Veracruz tuvieron un porcentaje de germinación 180 % menor que el porcentaje de germinación promedio obtenido para semillas de Galeana, Nuevo León. Los porcentajes de germinación de semillas envejecidas fueron menores que el porcentaje de germinación de las semillas testigo. Todos los valores del porcentaje de germinación de semillas fueron muy bajos con excepción al de semillas testigo que se recolectaron en Galeana, Nuevo León (cuadro 1). Además, el porcentaje de germinación fue muy bajo para las semillas en el testigo de la procedencia de Jalacingo del estado de Veracruz (cuadro 1).

Se encontraron también diferencias significativas ( $P < 0,0001$ ) para porcentaje de germinación entre los pe-

**Cuadro 1.** Valores medios de porcentaje de germinación, valor pico e índice de envejecimiento entre temperaturas de envejecimiento sobre semillas de *Pinus cembroides* de Galeana, Nuevo León y Jalacingo, Veracruz, México.

Mean values of percentages of germination, pick value and aging index between temperature of aging on *Pinus cembroides* seeds from Galeana, Nuevo León y Jalacingo, Veracruz, Mexico.

Temperatura °C	Porcentaje de Germinación		Valor Pico		Índice de envejecimiento	
	Galeana	Jalacingo	Galeana	Jalacingo	Galeana	Jalacingo
Testigo	84,0 a	31,0 a	4,5 b	3,9 b	0,00 b	0,00 b
19	4,0 b	0,0	8,1 ab	0,0	0,95 a	1,00 a
40	3,0 b	0,0	8,7 a	0,0	0,97 a	1,00 a
42	6,0 b	1,0 b	9,1 a	9,1 a	0,93 a	0,96 a
45	1,0 b	3,0 b	5,9 ab	8,3 a	0,98 a	0,92 ab

Medias con letras iguales por columna no son estadísticamente diferentes ( $P > 0,05$ ) con base en la prueba de Conover.



riodos de exposición a envejecimiento acelerado (24, 48, 72 y 96 h). Una reducción de la germinación se observó en semillas procedentes de Galeana, desde las 24 horas de exposición a envejecimiento acelerado, disminuyendo hasta casi el 90 % de la germinación con relación a las semillas testigo y llegando a ser germinación nula cuando se expusieron a 72 horas de envejecimiento (cuadro 2). También se registró una germinación nula en semillas procedentes de Jalacingo expuestas por 24 horas a envejecimiento acelerado.

Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,0254$  y  $P < 0,0492$ ) entre temperaturas para valor pico en semillas de Galeana, Nuevo León y Jalacingo, Veracruz, respectivamente. Se encontró el menor valor pico en las semillas en el testigo, mientras que se registró el mayor valor pico en las semillas en la temperatura 42 °C (cuadro 1).

Se presentaron también diferencias significativas ( $P < 0,0117$  y  $P < 0,0444$ ) entre periodos de exposición para valor pico en semillas de Galeana y Jalacingo, respectivamente. Se obtuvo el mayor valor pico (8,8) en semillas procedentes de Galeana expuestas a envejecimiento acelerado por 24 h con respecto al testigo, mientras que se registró el mayor valor pico (12,5) con respecto al testigo

en semillas procedentes de Jalacingo, expuestas a envejecimiento por 48 h (cuadro 2).

Diferencias significativas ( $P < 0,0260$  y  $P < 0,0058$ ) fueron detectadas entre temperaturas para índice de envejecimiento para semillas de Nuevo León y Jalacingo, Veracruz, respectivamente (cuadro 1). Se registraron valores altos en el índice de envejecimiento a partir de los 19 °C en ambas procedencias (cuadro 1).

Se obtuvieron también diferencias significativas ( $P < 0,0042$  y  $P < 0,0101$ ) entre periodos de exposición a envejecimiento acelerado en semillas de Galeana y Jalacingo, respectivamente (cuadro 2). Se registraron los valores mayores del índice de envejecimiento a partir de las 48 y 24 horas de exposición en semillas procedentes de Galeana y Jalacingo, respectivamente (cuadro 2).

Se detectaron diferencias significativas ( $P < 0,0101$  y  $P < 0,0099$ ) en el contenido de humedad entre temperaturas para semillas de Galeana y Jalacingo, respectivamente. Se obtuvo un contenido de humedad inicial de 8,3 y 11,2 % para semillas procedentes de Galeana, Nuevo León y Jalacingo, Veracruz, respectivamente (cuadro 3). Se presentó el mayor incremento en el contenido de humedad cuando las semillas fueron expuestas a la mayor temperatura (45 °C) (cuadro 3).

**Cuadro 2.** Valores medios de porcentaje de germinación, valor pico e índice de envejecimiento entre periodos de envejecimiento sobre semillas de *Pinus cembroides* de Galeana, Nuevo León y Jalacingo, Veracruz, México.

Mean values of percentages of germination, pick value and aging index between periods of aging on *Pinus cembroides* seeds from Galeana, Nuevo León y Jalacingo, Veracruz, Mexico.

Periodo Horas	Porcentaje de Germinación		Valor Pico		Índice de envejecimiento	
	Galeana	Jalacingo	Galeana	Jalacingo	Galeana	Jalacingo
Testigo	84 a	31 a	4,5 b	3,9 b	0,00 b	0,00 b
24	10 b	0	8,8 a	0	0,88 ab	1,00 a
48	1 b	1 b	8,3 ab	12,5 a	0,98 a	0,96 a
72	0	1 b	0	9,1 a	1,00 a	0,96 a
96	3 b	1 b	7,2 ab	4,0 b	0,97 a	0,96 a

Medias con letras iguales por columna no son estadísticamente diferentes ( $P > 0,05$ ) con base en prueba de Conover.

**Cuadro 3.** Valores medios de contenido de humedad y conductividad eléctrica entre temperaturas de envejecimiento sobre semillas de *Pinus cembroides*.

Mean values of humidity content and electrical conductivity between temperature of aging on *Pinus cembroides* seeds.

Temperatura °C	Contenido de humedad (%)		Conductividad eléctrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	
	Galeana	Jalacingo	Galeana	Jalacingo
Testigo	8,3 b	11,2 b	96,59 b	123,63 c
19	16,2 ab	18,6 ab	101,41 b	160,33 b
40	22,7 a	25,6 a	119,56 a	204,71 a
42	24,1 a	27,4 a	140,19 a	194,66 ab
45	27,0 a	31,3 a	104,60 b	181,98 ab

Medias con letras iguales por columna no son estadísticamente diferentes ( $P > 0,05$ ) con base en prueba de Conover.

También, se obtuvieron diferencias significativas ( $P < 0,0069$  y  $P < 0,0064$ ) para el contenido de humedad entre periodos de exposición a envejecimiento acelerado para semillas de Galeana, Nuevo León y Jalacingo, Veracruz, respectivamente (cuadro 4). Se registró un aumento del 100 % con respecto del contenido inicial de humedad en semillas de Galeana después de 24 horas de exposición a envejecimiento acelerado, y se obtuvo también un aumento mayor al 100 % del contenido inicial de humedad en semillas de Jalacingo después de ser expuestas a envejecimiento acelerado por 48 horas (cuadro 4).

Se encontraron también diferencias significativas ( $P < 0,0003$  y  $P < 0,0001$ ) entre temperaturas de envejecimiento para conductividad eléctrica en semillas de Galeana y Jalacingo, respectivamente. Se presentó una menor fuga de electrolitos (35 % menor la conductividad eléctrica promedio) en semillas procedentes de Galeana, Nuevo León que, en semillas de Jalacingo, Veracruz (cuadro 3 y 4). Se observó un mayor incremento en la cantidad de micro-Siemens por gramo de semilla en semillas de Galeana cuando fueron envejecidas a 40 y 42 °C. Se registró, también, un mayor incremento en la cantidad de micro-Siemens por gramo de semilla en semillas de Jalacingo cuando fueron envejecidas arriba de los 40 °C (cuadro 3).

Se encontraron además diferencias significativas ( $P < 0,0001$ ) entre periodos de envejecimiento para semillas de Galeana y Jalacingo (cuadro 4). Se observó un mayor incremento en la conductividad eléctrica de semillas de Galeana cuando estas fueron expuestas a envejecimiento por 96 horas. Se registraron valores más altos en la conductividad eléctrica de semillas de Jalacingo a partir de 24 horas de envejecimiento (cuadro 4).

## DISCUSIÓN

La viabilidad reportada en semillas de *Pinus cembroides* y en el presente estudio es variable y puede ser muy transitoria (García-Fayos *et al.* 2001, Hernández-Anguiano *et al.* 2018) excepto en condiciones de madurez, sanidad, humedad, temperatura, manejo y almacenamiento favora-

bles (Álvarez-Cisneros *et al.* 2020). En años donde no se presenta una abundante producción de semilla puede verse favorecida la expresión de alelos deletéreos debido, a que la emisión de estróbilos masculinos, también, puede ser escasa por lo que la cantidad de polen disponible para la polinización es baja aumentando la probabilidad de autofecundación y cruzamiento entre individuos emparentados que favorece a los genotipos homocigóticos con alelos deletéreos por lo que se puede presentar una reducción en la capacidad reproductiva y viabilidad de semillas (Mosseler *et al.* 2000, White *et al.* 2007). Autores como Fuentes-Amaro *et al.*, 2019, afirman que existe escaso flujo génico y alta diferenciación genética entre poblaciones de *P. cembroides* lo que permite suponer variación en características reproductivas, viabilidad y calidad de semilla entre poblaciones en un mismo año de recolecta. Diferencias en la viabilidad de semillas también puede atribuirse a la falta de integridad de las membranas celulares por cambios en la concentración de ácidos grasos insaturados, carbohidratos y proteínas, lo que provoca que la estructura y funcionamiento de las semillas se vea modificada (Kong *et al.* 2014).

Los porcentajes de germinación entre procedencias en el presente estudio fueron menores que los porcentajes de germinación (48 y 88 %) que reportan en otros estudios de germinación de semillas de *P. cembroides* (Hernández-Anguiano *et al.* 2018, Sánchez-Tamayo *et al.* 2005). Los bajos porcentajes de germinación entre procedencias, tratamientos de temperatura y periodo de exposición a envejecimiento acelerado obtenidos en semillas de *Pinus cembroides* pudieron ser resultado del deterioro ocasionado por el envejecimiento acelerado. Las temperaturas altas y humedad aceleran el deterioro de las semillas (Álvarez-Cisneros *et al.* 2020). La latencia de semillas puede ser otra razón de las diferencias en los porcentajes de germinación de las procedencias en el presente estudio y en estudios diferentes (Bonner 1998). Además, los tamaños de la semilla pueden incidir en el porcentaje y velocidad de germinación de las semillas de *P. cembroides* (Parra-Gil *et al.* 2017). Otros factores como la luz, el sustrato, los nutrientes, los microorganismos y los inhibidores químicos

**Cuadro 4.** Valores medios para contenido de humedad y conductividad eléctrica entre periodos de exposición a envejecimiento acelerado sobre semillas de *Pinus cembroides*.

Mean values of humidity content and electrical conductivity between periods of aging on *Pinus cembroides* seeds.

Periodo	Contenido de humedad (%)		Conductividad eléctrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	
	Galeana	Jalacingo	Galeana	Jalacingo
Testigo	8,3 c	11,2 c	96,59 b	123,63 c
24 h	16,3 bc	18,4 bc	103,82 b	176,98 ab
48 h	20,3 ab	22,3 ab	107,16 b	162,04 b
72 h	24,4 ab	27,8 ab	104,26 b	189,91 ab
96 h	29,1 a	34,4 a	150,52 a	212,75 a

Medias con letras iguales por columna no son estadísticamente diferentes ( $P > 0,05$ ) con base en prueba de Conover.

juegan un papel importante en la germinación (Dadlani *et al.* 2023). Además, el tiempo y condiciones de almacenamiento pueden disminuir la capacidad de germinación de las semillas (Bower *et al.* 2011).

En un estudio similar, el envejecimiento acelerado inducido durante 5 días a 18 °C en semillas de *Pinus koraiensis* ocasionó una reducción severa del porcentaje de germinación (25 %) con respecto al porcentaje obtenido en semillas testigo (93,1 %) y una nula germinación cuando las semillas fueron expuestas a 45 °C por el mismo periodo (Kim y Han 2018). Mientras que en otro estudio con semillas de *P. patula* envejecidas a una temperatura de 41 °C no reportan diferencias significativas en el porcentaje de germinación transcurridas las primeras 48 h (Demelash *et al.* 2004). Algunos otros trabajos han reportado una pérdida de la capacidad germinativa en semillas de especies forestales luego de 120 h (Han *et al.* 2006) y 168 h (Flores *et al.* 2019) de exposición a envejecimiento acelerado. Lo anterior sugiere una importante interacción entre temperaturas y periodos de tiempo de envejecimiento acelerado con la especie de estudio. Por lo que sería adecuado probar varias temperaturas por incluso periodos más largos de tiempo para estandarizar una prueba de envejecimiento acelerado en una determinada especie forestal (Flores *et al.* 2019). En algunos casos duraciones cortas de envejecimiento acelerado pueden incrementar la germinación de especies que presentan latencia (Blanche *et al.* 1990) y resultados inesperados podrían inducir a desechar esta prueba. Semillas más vigorosas pueden presentar una mejor respuesta ante el envejecimiento acelerado por lo que esta prueba puede ser utilizada para evaluar la actividad de semillas almacenadas y proveer información acerca de las propiedades bioquímicas y de germinación (Han *et al.* 2006, Wang *et al.* 1992).

El valor pico es empleado en estudios como un parámetro para la estimación del vigor y la calidad de semilla en especies forestales (Capilla-Dinorin *et al.* 2021, Sánchez-Mendoza *et al.* 2023). El valor pico registrado en el presente trabajo en semillas testigo procedentes de Jalacingo fue 13 % menor que el de semillas de Galeana lo que sugiere que este lote de semillas provenientes de Galeana tiene una mejor calidad, lo cual pudo haber influido en una mejor respuesta ante las condiciones de envejecimiento acelerado. En la presente investigación, el valor pico de semillas testigo germinadas fueron cercanos al valor pico (5,02) anteriormente reportado para semillas de *Pinus cembroides* recolectadas en el centro del país (Hernández-Anguiano *et al.* 2018). En tanto que el valor pico de semillas germinadas de los tratamientos entre temperaturas y periodos están alejados del valor pico de semillas testigo de *P. cembroides* y de los valores pico (3,7 y 3,2) reportados en semillas de *Pinus chiapensis* (Martínez) Andresen y *Pinus hartwegii* Lindl., respectivamente, bajo condiciones normales de germinación (Capilla-Dinorin *et al.* 2021, Sánchez-Mendoza *et al.* 2023). De tal manera que es posible confirmar que el envejecimiento acelerado afecta

negativamente la viabilidad y velocidad de germinación e induce un deterioro en semillas donde sólo aquellas con mayor calidad y vigor son capaces de germinar pese a tales condiciones de estrés sometidas (Demelash *et al.* 2004).

En el presente estudio el índice de envejecimiento fue alto en todos los tratamientos de envejecimiento, superando incluso el índice de envejecimiento (0,55) reportado por Wang *et al.* (1992) para semillas de *Pinus contorta* envejecidas a 40 °C durante 17 días, pero fue muy similar al índice de envejecimiento (0,98) reportado por Han *et al.* (2006) para semillas de *P. rigida* Mill. envejecidas a 40 °C durante 15 días. El alto índice de envejecimiento registrado en el presente trabajo en ambas procedencias bajo los tratamientos de temperaturas y periodos aplicados en semillas de *P. cembroides* evidencia el efecto dañino provocado a la semilla como consecuencia de las temperaturas, la humedad y horas de exposición (Wang *et al.* 1992, Hong y Ellis 1996). Lo cual podría deberse a que éstas semillas poseen un alto contenido de grasas (Valero-Galván *et al.* 2019) por lo que presentan mayor susceptibilidad a la peroxidación lipídica (Kim y Han 2018).

Al igual que en semillas de *Pinus contorta* (Wang *et al.* 1992) y *P. patula* (Demelash *et al.* 2004) sometidas a envejecimiento acelerado, las semillas de *Pinus cembroides* en el presente estudio tuvieron un aumento en el contenido de humedad con respecto al contenido de humedad inicial conforme las temperaturas y periodos de exposición fueron mayores. Este aumento progresivo en el contenido de humedad de semillas de *Pinus cembroides* en ambas procedencias pudo provocar efectos adversos en las semillas tales como incremento de la actividad respiratoria, falta de oxigenación, consumo de reservas nutritivas, liberación de calor (Hong y Ellis 1996) y aparición de hongos después de la exposición a temperaturas altas durante diferentes periodos de tiempo. En consecuencia, se aceleró el envejecimiento de las semillas y la capacidad germinativa se vio afectada, lo que hace destacar al contenido de humedad como uno de los factores importantes que afectan la viabilidad en semillas (Hong y Ellis 1996, Demelash *et al.* 2004), ya que cuando las semillas absorben agua son expuestas a una alta presión lo cual puede provocar daño a la membrana celular (Han *et al.* 2006).

La menor fuga de electrolitos observada en semillas de Galeana en comparación con semillas de Jalacingo podría tener relación con los porcentajes de germinación obtenidos en ambos casos (menor porcentaje de germinación en semillas de Veracruz), ya que de acuerdo con Bonner (1998), la conductividad eléctrica tiene una relación negativa alta con la germinación; y un aumento en la conductividad eléctrica ha sido también relacionado con pérdida de vigor en semillas de pinos (Demelash *et al.* 2004) lo que sugiere que la pobre germinación y vigor de semillas envejecidas es resultado del daño a las membranas celulares (Han *et al.* 2006). Además, la calidad del lote de semillas puede influir, es decir, semillas de alta calidad pueden recuperarse rápidamente del daño, mientras que semillas

de baja calidad no lo hacen y los componentes celulares solubles en agua son lixiviados, lo que resulta en un incremento en la cantidad de solutos (Han *et al.* 2006).

A pesar de que la conductividad eléctrica en semillas testigo de Nuevo León y Veracruz fue menor que la registrada en otras temperaturas y periodos de exposición a envejecimiento, fluctuaciones en el valor de la conductividad eléctrica fueron obtenidas, posiblemente debido a que la amplia variación genética presente en lotes de semillas provenientes de poblaciones naturales puede complicar la medición de este parámetro (Bonner 1998). La baja conductividad eléctrica registrada en semillas testigo en el presente estudio pudo deberse a que estas semillas sufrieron menores cambios estructurales en la cubierta seminal a diferencia de las semillas envejecidas expuestas a temperaturas altas y humedad por diferentes periodos de tiempo, es decir, las semillas envejecidas fueron expuestas a un deterioro en la cubierta seminal que pudo incrementar los niveles de conductividad eléctrica como han reportado diversos autores para otras semillas de pinos (Han *et al.* 2006, Kim y Han 2018), debido al aumento en lixiviación de electrolitos; posibles trastornos en la regulación de iones y fluidos, producidos por la pérdida de ATP, pérdida de asimetría de la membrana celular y reorganización de fosfolípidos (Lang y Lang 2015). Lo anterior confirma que la medición de la conductividad eléctrica puede servir como indicador cuando se presume un daño en semillas inducido por calor (Wang *et al.* 1992).

## CONCLUSIONES

El envejecimiento acelerado influye negativamente en el porcentaje de germinación de las semillas de *Pinus cembroides*. El envejecimiento acelerado es una prueba útil para detectar diferencias en el vigor de semillas de *Pinus cembroides*. Un aumento en la fuga de electrolitos y el contenido de humedad y conductividad eléctrica disminuye el porcentaje de germinación de semillas de *P. cembroides*.

## CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

Norma Beatriz Mendoza-Hernández: planeación del proyecto, desarrollo de la investigación, captura de datos, análisis estadístico, escribió el primer borrador del manuscrito e hizo las correcciones que indicaron los demás autores a través de la revisión de este. Carlos Ramirez-Herrera: planeación del proyecto, asesoró en el diseño del experimento y análisis estadístico, hizo las primeras revisiones del manuscrito. Marcos Jiménez-Casas: análisis de resultados y revisión del manuscrito. Gabino García- De los Santos: planeación del experimento y revisión del manuscrito. Víctor Manuel Cetina-Alcalá: planeación del trabajo de laboratorio y revisión del manuscrito. Florentino Víctor Conde-Martínez: Aplicación de resultados y revisión del manuscrito. Todos los autores aportaron sugerencias para obtener la versión final del manuscrito.

## FINANCIAMIENTO

El Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) proporcionó la beca n° 758.334 a la primera autora. El Colegio de Postgraduados financió la investigación a través del Programa E01, Subprograma 58, Proyecto 02 (AAA).

## AGRADECIMIENTOS

La primera autora agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) la beca recibida con número 758.334 para realizar los estudios de Doctorado en Ciencias. También, se agradece al Colegio de Postgraduados por el financiamiento de la investigación a través del Programa E01, Subprograma 58, Proyecto 02 (AAA).

## REFERENCIAS

- Álvarez-Cisneros O, CM Pérez-Reyes, M Bonilla-Vichot. 2020. Evaluación de la viabilidad en semillas de *Pinus tropicales* Morelet con diferente tiempo de almacenamiento. *Avances* 22(1): 97-109.
- Blanche CA, WW Elam, JD Hodges. 1990. Accelerated aging of *Quercus nigra* seed: biochemical changes and applicability as a vigor test. *Canadian Journal of Forestry Research* 2(10):1611-1615. DOI: <https://doi.org/10.1139/x90-213>
- Bonner FT. 1998. Testing tree seeds for vigor: A Review. *Seed Technology* 20(1):5-17.
- Capilla-Dinorin E, J López-Upton, M Jiménez-Casas, V Rebolledo-Camacho. 2021. Características reproductivas y calidad de semilla en poblaciones fragmentadas de *Pinus chiapensis* (Martínez) Andresen. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44(2): 211-219. DOI: <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.2.211>
- Bower AD, D Kolotelo SN Aitken. 2011. Effects of length of storage, and stratification on germination of Whitebark pine seeds. *Western Journal of Applied Forestry* 26(1):24-29. DOI: <https://doi.org/10.1093/wjaf/26.1.24>
- Constante-García V, J Villanueva-Díaz, J Cerano-Paredes, EH Cornejo-Oviedo, S Valencia-Manzo. 2009. Dendrocronología de *Pinus cembroides* Zucc. y reconstrucción de precipitación estacional para el Sureste de Coahuila. *Ciencia Forestal en México* 34(106):17-39.
- Dadlani M, A Gupta, SN Sinha, R Kavali. 2023. Seed Storage and Packaging. In Dadlani, M and DK Yadava eds. Seed science and technology: Biology, production, quality. New Delhi, India. p. 239-266.
- Delouche JC, CC Baskin. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology* 1: 427-452.
- Demelash L, M Tigabu, PC Odén. 2004. Evaluating the relative storability of IDS-treated and untreated *Pinus patula* seeds by accelerated ageing. *Journal of Tropical Forest Science* 16(2):206-217.
- Di Rienzo JA, F Casanoves, MG Balzarini, L Gonzalez, M Tablada, CW Robledo. 2020. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de



- Córdoba, Argentina. Consultado el 30 ago. 2021. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>
- Flores P, D Poggi, N Gariglio, M Catraro. 2019. Accelerated aging test to assess vigor of *Juglans nigra* seeds. *International journal of fruit science* 20(2): 221-232. DOI: <https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1628685>
- Fontana AML, VR Perez, CV Luna. 2016. Pruebas de envejecimiento acelerado para determinar vigor de semillas de *Prosopis alba* de tres procedencias geográficas. *FAVE Sección Ciencias Agrarias*. 15 (1). Consultado el 10 oct. 2024 Disponible en: [https://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1666-77192016000100004&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1666-77192016000100004&script=sci_arttext)
- Fuentes-Amaro SL, JP Legaria-Solano, C. Ramírez-Herrera. 2019. Estructura genética de poblaciones de *Pinus cembroides* de la región central de México. *Revista fitotecnica Mexicana* 42(1):57-65.
- García-Fayos P, J Gulias, J Martínez, A Marzo, JP Melero, A. Traveset, P Veintimilla, M Verdú, V Cerdán, M Gasque, H Medrano. 2001. Bases ecológicas para la recolección, almacenamiento y germinación de semillas de especies de uso forestal de la Comunidad Valenciana. Banc de Llavors Forestals (CMA, Generalitat Valenciana). Valencia, España. 82 p.
- Han SH, YB Koo, CS Kim, CY Oh, JH Song. 2006. Viability determination of *Pinus rigida* seeds using artificially accelerated aging. *Korean journal of agricultural and forest meteorology* 8(1):10-14.
- Hernández-Anguiano LA, J López-Upton, C Ramírez-Herrera, A Romero-Manzanares. 2018. Variación en germinación y vigor de semillas de *Pinus cembroides* y *Pinus orizabensis*. *Agrociencia* 52(8): 1161-1178.
- Hernández-Moreno MM, J Islas-Gutiérrez, V Guerra-De la Cruz. 2011. Márgenes de comercialización del piñón (*Pinus cembroides* subsp. *orizabensis*) en Tlaxcala, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 2(2): 265-279.
- Hong TD, RH Ellis. 1996. A protocol to determine seed storage behaviour. IPGRI Technical Bulletin No. 1. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 62 p.
- ISTA (International Seed Testing Association, CH). 2010. International rules for seed testing. Zurich, Switzerland. 243 p.
- Kim DH, SH Han. 2018. Seed coat and aging conditions affect germination and physiological changes of aging Korean pine seeds. *Journal of Forest Research* 23(6): 372-379. DOI: <https://doi.org/10.1080/13416979.2018.1531478>
- Kong LQ, PS Mao, XD Yu, FS Xia. 2014. Physiological changes in oat seeds aged at different moisture contents. *Seed Science and Technology* 42(2): 190-201. DOI: <https://doi.org/10.15258/sst.2014.42.2.08>
- Kolotelo D, E van Steenis, M Peterson, R Bennett, D Trotter, J Dennis. 2001. Seed Handling Guidebook. Tree Improvement Branch, Ministry of Forests. British Columbia, Canada. 106 p.
- Lang E, F Lang. 2015. Mechanisms and pathophysiological significance of eryptosis, the suicidal erythrocyte death. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 39: 35-42. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.01.009>
- Mosseler A, JE Major, JD Simpson, B Daigle, K Lange, YS Park, KH Johnsen, OP Rajora. 2000. Indicators of populations viability in red spruce, *Picea rubens*. I. Reproductive traits and fecundity. *Canadian Journal of Botany* 78: 928-940. DOI: <https://doi.org/10.1139/b00-065>
- Parra-Gil PD, M Torres-Juanes, J González-Avalos, O Arce-Cervantes. 2017. Efecto del tamaño de la semilla de *Pinus cembroides* Zucc. (1832) en la germinación y establecimiento de plántulas. Memorias del Congreso Internacional de Investigación, Celaya, Guanajuato. *Academia Journals* 9(6): 4928-4932.
- Pompa-García M, JI Yerena-Yamalliel. 2014. Concentración de carbono en *Pinus cembroides* zucc: fuente potencial de mitigación del calentamiento global. *Revista Chapingo*, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 20(3): 169-175. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2014.04.014>
- Rehfeldt GE. 2006. A spline model of climate for the Western United States. General Technical Report RMRS-GTR-165. Rocky Mountain Research Station, USDA Forest Service, Fort Collins, Colorado, USA. 21 p. DOI: <https://doi.org/10.2737/RMRS-GTR-165>
- Rajjou L, MM Duval, KK Gallardo-Guerrero, JJ. Catusse, JJ. Bally, CC Job, DD Job. 2012. Seed germination and vigor. *Annual Review of Plant Biology* 63: 507-533. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105550>
- Sánchez-Mendoza JL, M Jiménez-Casas, C Ramírez-Herrera, H Viveros-Viveros. 2023. Calidad de semilla y crecimiento de planta en poblaciones y altitudes de *Pinus hartwegii* Lindl. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 14(75): 143-165. DOI: <https://doi.org/10.29298/rmcfv14i75.1297>
- Sánchez-Tamayo V, ML Nieto-Pérez, LC Mendizábal-Hernández. 2005. Producción de semillas de *Pinus cembroides* subsp. *orizabensis* d.k. Bailey de Alzayanca, Tlaxcala, México. *Foresta Veracruzana* 7(1):15-20.
- Valero-Galván J, M Reyna-González, PA Chico-Romero, NR Martínez-Ruiz, JA Núñez-Gastélum, A Monroy-Sosa, E Ruiz-May, R González-Fernández. 2019. Seed characteristics and nutritional composition of pine nut from five populations of *P. cembroides* from the states of Hidalgo and Chihuahua, Mexico. *Molecules* 24(11): 2057. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24112057>
- Wang BSP, B Downie, S Wetzel, D Palamarek, R Hamilton. 1992. Effects of cone scorching on germinability, and vigor of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. *latifolia*) seeds in Alberta. *Seed Science and Technology* 20: 409-419.
- White TL, WT Adams, DB Neale. 2007. Forest genetics. Oxfordshire, United Kingdom. 682 p.

Recibido: 05.05.24  
Aceptado: 23.11.24

