

Asociación del grado de manchado y deterioro de semilla en *Pinus douglasiana* Martínez

AVENDAÑO-LOPEZ, Adriana Natividad, QUINTANA-CAMARGO, Martín´ y ROMAN-MIRANDA, María Leonor y PADILLA-GARCIA José Miguel

Universidad de Guadalajara, CUCBA

´Centro Nacional de Recursos Genéticos-INIFAP

Recibido Enero 25, 2016; Aceptado Marzo 18, 2016

Resumen

Semilla de *Pinus douglasiana* Martínez, fue analizada con el objetivo de establecer las alteraciones producidas por el deterioro asociado a diferentes grados de manchado de testa. Se utilizaron 2 muestras de rodales semilleros de Atemajac de Brizuela, Jalisco. Se clasificó en 3 grados de manchado (manchado punteado leve, punteado severo y semilla ennegrecida). Se realizó un análisis con rayos X, evaluando la anatomía de estructuras internas. Posteriormente a semilla irradiada se determinó la calidad fisiológica con las pruebas de germinación estándar entre papel y la conductividad eléctrica (CE) del lixiviado de 24 h de imbibición, como prueba de vigor. Las semillas clasificadas con mayor grado de manchado, presentaron daño severo en la cubierta, y a nivel de endospermo o embrión. Se identificó la presencia de los hongos *Fusarium* spp. y *Trichothecium* sp. Principalmente en semilla ennegrecida. Los valores de CE fueron mayores en semilla con mayor grado de manchado, considerado como un mayor deterioro por presentar impermeabilidad de membrana celular. Se confirma la necesidad de realizar un análisis de sanidad que permitan establecer medidas preventivas para evitar pérdidas de semilla y de plántulas

Manchado de semilla, deterioro en semilla, *P. douglasiana*

Citación: AVENDAÑO-LOPEZ, Adriana Natividad, QUINTANA-CAMARGO, Martín´ y ROMAN-MIRANDA, María Leonor y PADILLA-GARCIA José Miguel. Asociación del grado de manchado y deterioro de semilla en *Pinus douglasiana* Martínez. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2016, 3-6: 6-10.

Abstract

Pinus douglasiana seed was analyzed in order to establish the changes caused by the deterioration associated with different degrees of stained cover; 2 samples of seed stands Atemajac de Brizuela, Jalisco were used. It was classified into 3 degrees of spotting (mild spotted dotted, dotted severe and blackened seed). Analysis of the anatomy structures by X-ray was carried. Seed analyzed with x-ray was evaluated whit standard germination test and the electrical conductivity (EC) of exudate 24 h seeds imbibition. This is a vigor test. The seeds classified more highly stained, showed severe damage on the deck, and at the level of endosperm or embryo. EC values were higher in seed greater degree of staining, considered to present further deterioration of cell membrane impermeability and loss of electrolytes. The presence of a *Fusarium* spp. and *Trichothecium* sp. was identified. The need for health analysis that allows initiating preventive measure loss of seed and seedling is confirmed.

Spotted seed, seed deterioration, *Pinus douglasiana*

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: aavedan@cucba.udg.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

El deterioro de la semilla se manifiesta con eventos nocivos en su metabolismo, como la generación de radicales libres y la peroxidación de lípidos, daño a la integridad física de las membranas, causando pérdida de compartimentación celular y el lixiviado de solutos (Bradford, 2004). Disminución de la capacidad de germinación, así como un significativo descenso de su tasa respiratoria (Delouche, 2002). Puede ser causado por la edad de la semilla, deficiencias de nutrientes minerales, daños provocados por factores climáticos, lesiones mecánicas y ataque de microorganismos patógenos. (Soldevilla, 1995).

El manchado es una alteración al color natural de la semilla, ocasionadas por factores bióticos y abióticos asociados con estrés. *Pinus douglasiana*, forma parte de vegetación de pinos y de pino-encino de montaña, en zonas moderadamente cálidas a templadas. Presenta una amplia distribución (1400-2700 msnm.) En los estados de: Jalisco, Michoacán, Estado de México y norte del estado de Morelos (Farjon *et al.*, 1997; Gernart y Pérez-de la Rosa, 2013).

Representa un recurso forestal, tanto en el aspecto ecológico por los servicios ambientales que proporciona (secuestro de carbono, conservación de la biodiversidad, filtración de agua, entre otros) y por su madera, que se utiliza en aserrío, ebanistería y en la industria de la construcción. Esta especie es ampliamente usada en los programas de reforestación en el estado de Jalisco. La semilla comercial, proveniente de rodales semilleros y presenta variabilidad de tonalidades de color.

El objetivo del trabajo consistió en caracterizar el manchado de semilla de *P. douglasiana* y la asociación con el grado de deterioro.

Métodos

Este trabajo fue desarrollado en el Laboratorio Agrícola Forestal sección semillas ortodoxas del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG) del INIFAP. La semilla fue proporcionada por el Banco de Germoplasma “El Centinela” de la CONAFOR, delegación Jalisco. Se utilizó semilla procedente de 2 rodales ubicados en Atemajac de Brizuela, Jalisco, cosechados en 2011 (lote1) y en 2015 (lote 2). Utilizando una muestra de 400 semillas distribuidas en 4 repeticiones de 100, por cada variable analizada.

Semilla de cada lote se clasificó por color y tipo de manchado. La determinación del color se realizó bajo luz natural, la clasificación se realizó basado en la carta de colores “Standard Soil Color Chart” Munsell, (2008). Se comparó con los diferentes colores del ala y la semilla. Se establecieron 4 tipos de manchado oscuro, que va de leve a ennegrecidas. (Figura 1)

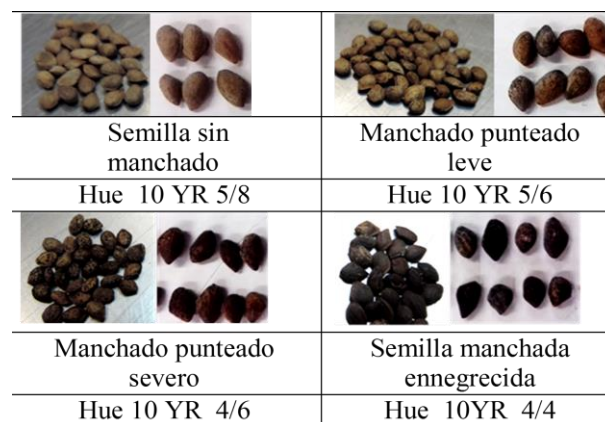


Figura 1 Tipos de manchado de semilla basado en la carta de colores de *Munsell*, (2008)

En un equipo de rayos X FAXITRON MX-20, Para cada clasificación de manchado se midió el largo, ancho y espesor de semilla.

Para establecer la asociación entre las variables morfológicas, tipo de manchado y el grado de deterioro, la semilla previamente irradiada fue sometida a una Prueba de Germinación Estándar entre papel (ISTA, 2004). Y se determinó la conductividad eléctrica de exudados de semilla embebida por 24h, como prueba de vigor.

Así mismo se analizó a través de la anatomía interna de la semilla, malformaciones en tejido y embrión.

Resultados

Características físicas de la semilla.

No hubo diferencia estadística entre las dimensiones de la semilla, pero si se encontró un 20 y 8 % de semillas con daño severo a nivel de embrión y endospermo y una asociación con el grado de manchado. (Gráfico 1)

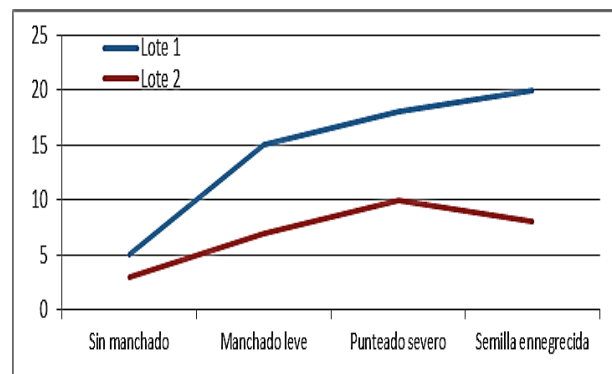


Gráfico 1 Semillas con daño severo de *P. douglasiana* encontradas por tipo de manchado

Características fisiológicas.

La semilla es un organismo vivo y como tal está sujeta a procesos degenerativos graduales, el lote 1 con mayor edad (5 años) presentó un comportamiento fisiológico deficiente respecto al de 1 año.

El porcentaje de germinación fue mucho menor, esta respuesta puede asociarse con la pérdida de vigor, durante el almacenamiento; así mismo se presentó un efecto similar en ambos lotes en el número de plántulas anormales y semillas muertas con mayor grado de manchado. Incrementándose además el número de semilla con presencia de micelio durante la prueba. El ANOVA fue altamente significativo entre lotes; donde se midieron las variables de: Plántulas normales, anormales y presencia de micelio en semilla (Tabla 1)

Grado manchado	Plántulas normales %		Plántulas Anormales %		Semillas Muertas %	
	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2	Lote 1	Lote 2
Sin manchado	65	91	18	4	17	5
Punteado leve	70	87	9	8	21	5
Punteado severo	51	78	34	12	15	8
Semilla ennegrecida	18	72	15	23	67	10

Tabla 1 Variables medidas en el ensayo de germinación estándar en laboratorio

La anatomía de la semilla en función del estado de sus estructuras esenciales: embrión, endospermo y testa o cubierta protectora, presentó diferencias por la presencia de manchado (principalmente tipo 3 y 4). Calificando como semilla sana, cuando se evidenció la integridad de sus estructuras; Daño leve: cuando a pesar de manifestar un deterioro en alguna estructura, la semilla germinó; Daño severo: cuando el deterioro fue evidente tanto en imagen como en comportamiento fisiológico (Figura 2).



Figura 2 Tipos de daño en semilla de *P. douglasiana* a través de imágenes de rayos X

Conductividad eléctrica. La pérdida de vigor se ha asociado con una permeabilidad creciente de las membranas celulares, por lo que la prueba de conductividad eléctrica es aceptada como una prueba de vigor, (Delouche 2002). Midiendo la cantidad de electrolitos liberados en el exudado de 24 h de remojo (ds/cm) (Gráfico 2). Se pudo establecer un mayor deterioro en semilla de mayor grado de manchado y mayor tiempo de almacenamiento.

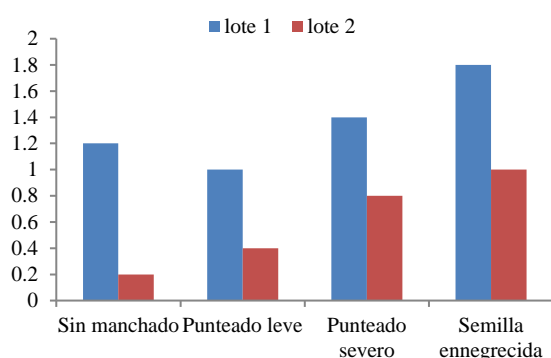


Gráfico 2 Conductividad eléctrica de lixiviado de semilla por grado de manchado (ds/cm) (20h)

Se identificaron: *Trichothecium* sp. A pesar de ser considerado como hongo saprofito se ha encontrado que bajo condiciones favorables, es capaz de invadir tejido de la semilla y matar las plántulas de algunas especies de pinos. Es uno de los hongos causantes de damping off en plántulas de *Pinus oocarpa*, se encontró además *Fusarium* spp. Estas especies son causantes de deterioro de semillas, debilitamiento y muerte de plántulas. La presencia de micelio de estos hongos puede contribuir a su dispersión; considerando que la semilla es el vector más eficiente de diseminación de patógenos, y éstos tienen la capacidad de hospedarse sobre las cubiertas, o en estructuras internas, es por ello que un análisis del estado sanitario, con el fin de establecer medidas de manejo preventivas. (Figura 4)

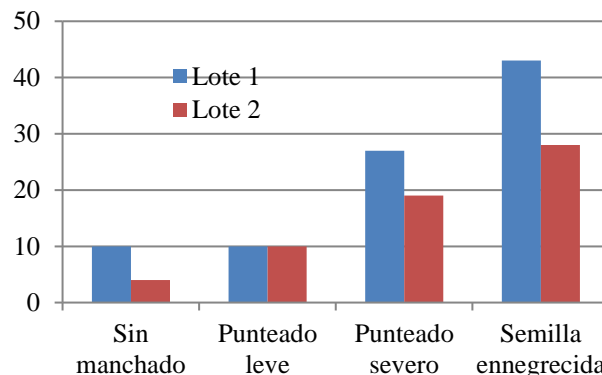


Gráfico 3 Número de semillas infestadas con micelio

La testa, al estar en contacto permanente con el ambiente, puede ser contaminada con hongos de diversos tipos que pueden consumir la cubierta protectora, penetrar en el embrión y pudrir los cotiledones, (Arango, 2008).

De acuerdo a los resultados obtenidos, es posible asociar el grado de manchado de semilla con el vigor medido a través de la pérdida de solutos celulares, su comportamiento fisiológico y la presencia de malformaciones o daño físico en estructuras esenciales de semilla. Es importante señalar que otro factor relacionado con coloración son algunos compuestos químicos que no se analizaron en el presente estudio.

Al respecto, Miniño *et al.*, (2014) señalan que la cantidad y distribución de flavonoides puede afectar el color de la cubierta de *Pinus occidentalis*. Así, las semillas negras pueden tener mayores concentraciones de estas sustancias, que ocasionan disminución en la germinación.

Agradecimiento

Al Banco de Germoplasma “El Centinela” por facilitar la semilla utilizada.

Conclusiones

El vaneó y la sanidad de semilla de *P. douglasiana* está vinculado al grado de manchado. Los hongos asociados al manchado de semilla en *Pinus douglasiana* fueron *Fusarium* spp. Y *Trichothecium* sp. Ambos relacionados con damping off. Se establece la necesidad de realizar análisis fitosanitarios en lotes de semilla, Esta medida permitirá establecer criterios de clasificación, así como la identificación de patógenos y poner en marcha medidas preventivas.

Referencias

- Bradford, K.J. 2004. Seed Production and Quality. University of California. Davis, USA.
- Delouche, J.C. 2002. Germinación, deterioro y vigor de semillas. Seed News. vol. 6 núm. 6. Extraída Mayo 26 2016 en: <http://www.seednews.inf.br/>.
- Farjon, A., Pérez-de la Rosa, J. y Styles, B. T. 1997. Guía de campo de los pinos de México y Centroamérica. Oxford Forestry Institute..
- Gernandt, David S.; Pérez-de la Rosa, Jorge A. Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México *Mexicana de Biodiversidad*, vol. 85, 2014, pp. 126-133.
- ISTA. 2004. Chapter 6: Tetrazolium test. In: International Rules for Seed testing. *Seed Science and Technology*. pp. 6-10.
- Miniño M, V. A.; Paño P. O.; Rodríguez de Francisco, L. E.; León, Y.; Paulino, L. 2014. Caracterización de la morfología de la semilla de *Pinus occidentalis* Swartz. *Ciencia y Sociedad* vol. 39, núm. 4, pp. 777-801.
- Munsell, C. 2008. Munsell soil color chart. United States Department of Agriculture, Kollmorgen, Maryland.