



Rasgos de semillas, germinación y dormancia de *Juniperus barbadensis* subsp. *lucayana* (Cupressaceae), árbol endémico del Caribe

Seed traits, germination and seed dormancy of *Juniperus barbadensis* subsp. *lucayana* (Cupressaceae), endemic tree of Caribbean

¹Yilian Dupuig González, ²Mayté Pernús Álvarez, ³Jorge A. Sánchez Rendón*

Instituto de Ecología y Sistemática, Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA), La Habana, Cuba.

*Correspondencia: jasanchez@ecologia.cu

Recibido: 16 de julio de 2022

Aceptado: 19 de noviembre de 2022

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES: YDG y JAS: conceptualización. YDG y MPA: validación, análisis formal, investigación y redacción del borrador original. Todos los autores participaron en la revisión y edición final del documento. **Conflicto de intereses:** Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.



Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una licencia Creative Commons



<https://cu-id.com/2402/v221e08>

RESUMEN

Juniperus barbadensis es una conífera endémica del Caribe y una de las dos especies del género que habita en Cuba. Constituye una especie de alto valor maderable, medicinal y ornamental. En la actualidad se encuentra en Peligro Crítico, debido fundamentalmente a la pérdida de hábitat y la sobrexplotación. La regeneración natural de las poblaciones silvestres es baja, y poco se conoce sobre la biología de sus semillas. Con el objetivo de contribuir a su propagación y conservación se estudiaron características morfofisiológicas de las semillas, requerimientos germinativos y clases de dormancia seminal. La germinación se evaluó en condiciones de laboratorio bajo luz y oscuridad constante a temperatura fija de 25°C y alternas de 25/30°C y 25/35°C. Los frutos presentaron tres semillas cada uno, pequeñas, con 21% de humedad promedio, embrión lineal desarrollado, permeables al agua y tolerantes a la desecación conforme a datos biométricos. Una pequeña fracción del lote se consideró no dormante, pero la mayor parte de las semillas presentó dormancia fisiológica. La germinación se vio favorecida a la luz y los mayores porcentajes se alcanzaron en 25°C. Se sugieren investigaciones futuras que pudieran completar los resultados obtenidos y se brindan recomendaciones para la siembra en vivero.

Palabras clave: conservación, dormancia fisiológica, *Juniperus lucayana*, sabina de costa

ABSTRACT

Juniperus barbadensis is a conifer endemic to the Caribbean and one of the two species of the genus that inhabits Cuba. It constitutes a species of high timber, medicinal and ornamental value. At present, it is in Critically Endangered, mainly due to habitat loss and overexploitation. Natural regeneration of wild populations is low, and little is known about its seed biology. In order to contribute to its propagation and conservation, morphophysiological characteristics of the seeds, germination requirements and seed dormancy classes were studied. Germination was evaluated in laboratory conditions under constant light and darkness at a fixed temperature of 25°C and alternating temperatures of 25/30°C and 25/35°C. The fruits presented three seeds each, small, with 21% average humidity, linear embryo developed, permeable to water and tolerant to desiccation according to biometric data. A small fraction of the lot was considered non-dormant, but most of the seeds showed physiological dormancy. Germination was favored in light and the highest percentages were reached at 25°C. Future research is suggested that could complete the results obtained and recommendations for planting in nurseries are provided.

Keywords: conservation, *Juniperus lucayana*, physiological dormancy, sabina coast

INTRODUCCIÓN

El género *Juniperus*, perteneciente a la familia Cupressaceae, es el segundo género más diverso de coníferas en el mundo (Adams, 2014). Ampliamente distribuidos por todo el hemisferio norte, desde desiertos hasta pantanos, son árboles de gran importancia ecológica y económica (Adams, 2014). *Juniperus barbadensis* subsp. *lucayana* (Britton) Greuter & R. Rankin (\equiv *Juniperus lucayana* Britton) es una de las dos especies de este género que habita en Cuba. La especie es endémica del Caribe, y además de Cuba se distribuye de forma natural por La Española, Jamaica y Bahamas (Greuter y Rankin, 2022). Dentro del archipiélago cubano habita en bosque siempreverde micrófilo y bosque pluvial montano esclerófilo; y en el pasado en bosque de ciénaga, bosque de pinos sobre caliza y matorral xeromorfo espinoso sobre serpentina (González-Oliva *et al.*, 2015), aunque González-Torres *et al.* (2016) también refieren bosque semideciduo micrófilo.

En Cuba se conoce como sabina o sabina de costa, ya que habitaba las costas de toda la isla. Actualmente solo se encuentran individuos en Cayo Sabinal (Camagüey); Sierra de Nipe (Holguín) y Baracoa (Guantánamo) (González-Oliva *et al.*, 2015). La madera de este árbol es preciosa y perfumada, por lo que se emplea en ebanistería. Sus hojas y frutos son medicinales y por su porte es una especie con valor ornamental (González-Torres *et al.*, 2013). También se estudia la actividad fungicida de los extractos de las partes aéreas de esta planta con el fin de obtener plaguicidas para la agricultura (Ortiz *et al.*, 2008; Nogueiras *et al.*, 2010).

La especie se encuentra en Peligro Crítico (González-Torres *et al.*, 2016) y es considerada una de las 50 plantas más amenazadas de Cuba (González-Torres *et al.*, 2013). La pérdida de hábitat por la tala de los bosques donde crece y de la calidad de los mismos por la invasión de plantas exóticas constituyen las principales amenazas, unido a la sobreexplotación de este árbol por su valor maderable y medicinal. Además, la regeneración natural de las poblaciones silvestres es pobre (González-Torres *et al.*, 2013). A nivel mundial, varias especies del género se encuentran en una situación similar y lamentablemente las estrategias de conservación basadas en la propagación por semillas no han sido satisfactorias en muchos casos (Hazubska-Przybyl, 2019). Esto ha llevado a la búsqueda de métodos alternativos de propagación como el cultivo *in vitro* (Hazubska-Przybyl, 2019; Salih *et al.*, 2021). Sin embargo, la propa-

gación por semilla no solo es el método más económico y simple, sino que asegura la diversidad genética y con esto la supervivencia y reproducción de las especies bajo continuos cambios del ambiente y en posibles escenarios inducidos por el cambio climático (Fenner y Thompson 2005; Sánchez *et al.*, 2011).

Entre los factores que limitan la propagación sexual en el género *Juniperus* se encuentran la baja producción de semillas viables en algunos táxones, la presencia de dormancia fisiológica en las semillas y las bajas tasas de germinación (Baskin y Baskin, 2014; Hazubska-Przybyl, 2019). La baja calidad de las semillas de juníperos igualmente puede deberse a una polinización insuficiente y a infecciones de los frutos por plagas (García, 1998; Ortiz, 1998). También se ha informado fotodormancia en el género (Teketay y Granstrom, 1997; Yirdaw y Leinonen, 2002) y varios son los tratamientos pregerminativos que han sido explorados para eliminar la dormancia fisiológica y mejorar la germinación de estos árboles (Tilki, 2007; Tylkowski, 2009; Mohammadi Zade *et al.*, 2018; Yucedag *et al.*, 2021).

Como gran parte de la flora de Cuba, *J. barbadensis* está carente de estudios sobre biología de sus semillas, y además son muchos los factores ambientales (bióticos y abióticos) que influyen en la germinación y establecimiento de las plántulas (Bewley *et al.*, 2013; Baskin y Baskin, 2014). En este sentido, la caracterización de los rasgos funcionales de las semillas no solo permite comprender las estrategias reproductivas de las especies vegetales, sino también elaborar adecuados proyectos de conservación y de restauración ecológica (Jiménez-Alfaro *et al.*, 2016; Barak *et al.*, 2018; Sánchez *et al.*, 2019; Kildisheva *et al.*, 2020). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar características morfofisiológicas de las semillas, así como requerimientos germinativos y clases de dormancia seminal en *J. barbadensis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

SITIO DE RECOLECTA Y MATERIAL VEGETAL

La recolecta se realizó el 24 de septiembre de 2018 en el Instituto de Ecología y Sistemática, Boyeros, La Habana (23°01' N, 82°21' O). El sitio tiene un clima subtropical húmedo, con una época lluviosa que se extiende de mayo a octubre y un período seco de noviembre a abril, este último se corresponde con las temperaturas más bajas para Cuba (Borhidi, 1996). La temperatura promedio en verano es de 27°C, en invierno de 23°C y las precipitaciones anuales de 1 300 mm (Montejo *et al.*,

Dupuig *et al.*: Características regenerativas de *Juniperus barbadensis*

2005). De seis ejemplares adultos (Fig 1A) que crecen en vegetación secundaria se recolectaron frutos maduros (púrpuras) para la obtención de semillas frescas (Fig 1B). Para ello, los frutos se combinaron en un lote único y fueron lavados en agua corriente. Posteriormente, las semillas limpias se colocaron sobre papel de filtro en bandejas plásticas a temperatura ambiente por 48 horas, antes de comenzar los ensayos de laboratorio.

CARACTERIZACIÓN MORFOFISIOLÓGICA DE LAS SEMILLAS

Se determinó el número de semillas por fruto en 25 frutos. Se tomaron 25 semillas al azar a las cuales se les determinó, de manera individual: masa fresca (g), masa seca (g), contenido de humedad inicial (%), largo (mm), ancho (mm) y grosor (mm), así como la varianza de estas dimensiones. La masa fresca y seca de las semillas se determinó en una balanza Sartorius con precisión 0.001 g y las dimensiones con un pie de rey Mitutoyo con error de 0.02 mm. La varianza de las dimensiones se calculó según el método descrito por Thompson *et al.* (1993). Pevio al cálculo de la varianza, cada valor de dimensión seminal se dividió entre el valor de la longitud, así la longitud es igual a la unidad. De esta forma, una semilla esférica presentará un valor de varianza de 0, mientras que en una alargada o achatada, su varianza puede ser hasta 0.33. El contenido de humedad inicial se obtuvo al secar las semillas durante 17 horas en una estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$, según ISTA (2007).

A partir de otra muestra de 25 semillas se identificó el tipo de embrión y se determinó la relación entre el largo del embrión con respecto al largo interno de la semilla (E/S). Tal como propusieron Baskin y Baskin (2007), la descripción del tipo de embrión se realizó en base a la morfología (forma) y al grado de desarrollo del mismo (tamaño) con relación a la semilla (E/S). Se considera que la semilla presenta embrión poco desarrollado cuando este es pequeño, pero tiene órganos diferenciados (i.e., radícula y cotiledones), y la relación E/S solo abarca una fracción (≤ 0.5). Por su parte, se considera que un embrión es totalmente desarrollado cuando ocupa más del 50% de la cavidad seminal (E/S > 0.5), o la totalidad de la semilla. Para la determinación de dichas variables, a las semillas se les realizaron cortes longitudinales con ayuda del estereoscopio y un bisturí.

También se calculó el índice de sensibilidad a la desecación [P (D-S)] con base a datos biométricos mediante la fórmula: $P (D-S) = (e^{3.269-9.974a}+2.156b) / (1+e^{3.269-9.974a}+2.156b)$ (Daws *et al.*, 2006). La variable *a* representa la fracción de la masa seca destinada a las

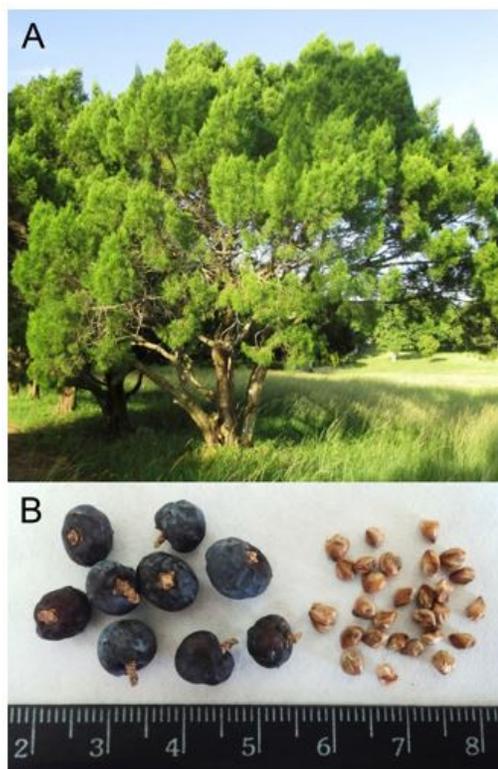


Figura 1. Árbol de *Juniperus barbadensis* (A) y frutos maduros y semillas (B). Escala en cm.

Figure 1. Tree of *Juniperus barbadensis* (B) and ripe fruits and seeds (B). Scale in cm.

cubiertas seminales y *b* es el \log_{10} de la masa seca total de la semilla (g). Si los valores de P (D-S) son mayores a 0.5 es probable que las semillas sean sensibles a la desecación, y cuando son menores a 0.5 es probable que las semillas sean tolerantes a la desecación. Por tanto, una especie con una $P (D-S) = 0.5$ tiene la misma probabilidad de ser sensible a la desecación que tolerante (Daws *et al.*, 2006). Para obtener la masa seca destinada a cubiertas (g) se diseccionaron 10 semillas con ayuda del estereoscopio y un bisturí. De manera independiente se separaron las cubiertas de las reservas (embrión + endospermo). Posteriormente se tomaron las cubiertas de cada semilla y se les midió la masa seca (g) mediante el método descrito anteriormente para la masa seca total. El porcentaje de masa seca en cubiertas se determinó a partir de los valores promedio de masa seca destinada a cubiertas y masa seca total.

VIABILIDAD INICIAL Y PRUEBA DE IMBIBICIÓN

La determinación de la viabilidad inicial de las semillas se realizó por una prueba de corte. Para ello, se seleccionaron 50 semillas a las que se les realizaron cortes longitudinales para verificar si contenían un embrión

Dupuig *et al.*: Características regenerativas de *Juniperus barbadensis*

blanco y firme (semillas vivas), o bien un embrión suave o gris, indicativo de no viabilidad (semillas muertas) (Baskin y Baskin, 2014). Para probar la permeabilidad al agua de las cubiertas seminales se midió el incremento en masa cada 24 horas durante siete días, utilizando cinco réplicas de 15 semillas cada una. Las semillas se colocaron en viales con agua destilada estéril, a temperatura ambiente y expuestas a la luz. El porcentaje de incremento en masa (PIM) se calculó mediante la fórmula propuesta por Baskin *et al.* (2004): $PIM = [(masa\ húmeda - masa\ fresca) / masa\ fresca] \times 100$. Antes de tomar la masa húmeda, se eliminó el agua superficial de las semillas en una bomba de vacío. Un incremento significativo del PIM indicó que las cubiertas seminales fueron permeables al agua (Baskin *et al.*, 2004).

REQUERIMIENTOS GERMINATIVOS Y DORMANCIA

Las pruebas de germinación se realizaron en cámaras de crecimiento (FRIOCEL 111L, Alemania) bajo un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial de los tratamientos (temperatura \times luz). Las semillas, previamente esterilizadas con hipoclorito de sodio al 1%, fueron colocadas en placas de Petri de 9 cm de diámetro sobre dos capas de papel de filtro humedecido con agua destilada estéril. Se incubaron en condiciones de luz y oscuridad a temperatura constante de 25°C y alternas de 25/30°C y 25/35°C (12 horas a 25°C, 8 horas en la temperatura más elevada y una transición entre ellas de 4 horas). La iluminación coincidió con el período de mayor temperatura para cada tratamiento, con exposición a la luz de 8 horas de aproximadamente $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y longitud de 400-700 nm que se logró con cinco lámparas blancas fluorescentes (20 w). La condición de oscuridad se consiguió envolviendo las placas en dos capas de papel de aluminio. La localización de las placas en las incubadoras se cambió regularmente.

Se utilizaron cinco réplicas por tratamiento de 25 semillas cada una. Se consideraron germinadas aquellas semillas con emergencia radicular. El conteo de la germinación fue diario para las semillas expuestas a la luz y para las semillas en la oscuridad se realizó al finalizar el experimento que duró 60 días. Al final del experimento, en ambas condiciones de iluminación y para cada rango de temperatura se determinó el porcentaje de germinación final y el porcentaje de semillas vivas no germinadas. El porcentaje de germinación final por réplica se determinó por la relación cantidad de semillas germinadas con relación al número de semillas sembradas y la viabilidad de las semillas no germinadas se estableció mediante la prueba de corte. También para las semillas

germinadas en condiciones de luz se determinó el tiempo para germinar, el porcentaje de germinación antes del mes y el porcentaje de germinación después del mes.

Para expresar los requerimientos de luz en la germinación se calculó el índice de germinación relativa a la luz (GRL) (Milberg *et al.*, 2000), mediante la fórmula $GRL = GL / (GO + GL)$, donde GL es el porcentaje de germinación a la luz, y GO el porcentaje de germinación en oscuridad. Para ello, se tomaron los valores promedio de la germinación a la luz y a la oscuridad en el rango de temperatura óptimo para la germinación. El índice de GRL varía entre 0 (germinación solo en oscuridad) y 1 (germinación solo a la luz). Si el índice GRL es superior a 0.75 se considera que la especie es dependiente de la luz (fotoblástica positiva); si es menor a 0.25 se considera repelente de la luz (fotoblástica negativa); y si el valor está entre 0.25 y 0.75 se establece como indiferente a la luz (Funes *et al.*, 2009). Se empleó el sistema de clasificación y la clave dicotómica propuestos por Baskin y Baskin (2014) para la identificación de clases de dormancia seminal.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó la media y el error estándar para cada variable. Los rasgos de germinación evaluados no cumplieron las premisas paramétricas; por tanto, para detectar posibles interacciones entre los factores (temperatura y luz), se aplicó un análisis de varianza multivariado (PERMANOVA) sobre la base de permutaciones. Se utilizó, además, análisis desimilitud (ANOSIM) de una vía, para evaluar la hipótesis H_0 de no diferencias estadísticamente significativas entre rasgos de germinativos por temperatura del sustrato. Cada PERMANOVA y ANOSIM se realizaron por una matriz de distancia euclidiana, después de 9 999 iteraciones. Las pruebas estadísticas se realizaron en el programa PAST versión 3.11 (Hammer, 2015).

RESULTADOS**CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS DE LAS SEMILLAS**

Los frutos de *J. barbadensis* presentaron tres semillas cada uno. Los valores promedio de masa fresca y seca de las semillas fueron 0.0076 ± 0.0005 g y 0.006 ± 0.0004 g respectivamente; y el contenido de humedad $21.1 \pm 1.1\%$. El largo promedio de las semillas fue 3.21 ± 0.05 mm, el ancho 2.33 ± 0.07 mm y el grosor 1.81 ± 0.06 mm. La varianza de las dimensiones seminales (0.054 ± 0.003) indicó que las semillas tienden a ser redondeadas. El embrión resultó más largo que

Dupuig *et al.*: Características regenerativas de *Juniperus barbadensis*

ancho y recto, con cotiledones no expandidos y la relación E/S fue de 0.73 ± 0.005 , por lo que se clasifica como lineal desarrollado. La masa seca promedio de las cubiertas fue 0.0045 ± 0.0001 g y el porcentaje de masa destinado a cubiertas $71.67 \pm 4.57\%$. Por último, el índice de sensibilidad a la desecación fue 0.000123, correspondiente a semillas tolerantes a la desecación.

VIABILIDAD INICIAL Y PRUEBA DE IMBIBICIÓN

Las semillas presentaron una viabilidad de un 100%. Por su parte, las cubiertas seminales fueron permeables, con un incremento en masa seminal de más de un 15% en las primeras 24 horas de contacto con el agua (Fig. 2).

REQUERIMIENTOS GERMINATIVOS Y DORMANCIA

La interacción entre los factores temperatura e iluminación ($F = 15.28$; $P = 0.0005$) afectó el porcentaje de germinación final de las semillas de *J. barbadensis*. Esta variable también se afectó significativamente por la temperatura ($F = 29.60$; $P = 0.0000$) y la iluminación del sustrato ($F = 67.22$; $P = 0.0000$) de manera individual. Entre estos últimos, el factor más importante fue la iluminación. Sin embargo, los valores obtenidos al calcular el índice de germinación relativa a la luz a 25°C fue 0.63, lo que permitió clasificar a las semillas como fotoblásticas indiferentes. El mayor porcentaje de germinación se obtuvo en 25°C (Tabla 1), y esta temperatura también ocurrió germinación en la oscuridad. El incremento de la temperatura provocó una disminución en el porcentaje de germinación final tanto a la luz como en oscuridad. Por su parte, el porcentaje de semillas muertas no tuvo diferencias significativas entre los tratamientos ensayados (luz, temperatura y su interacción ($F = 0.90$; $P > 0.05$), aunque el mayor valor se obtuvo a la oscuridad a 25/35°C (Tabla 1).

En el caso de las semillas sembradas a 25°C, la germinación comenzó a los 22 días y se obtuvo más de 28% de semillas vivas no germinadas al final del experimento (Tabla 2). Estas variables aumentaron significativamente

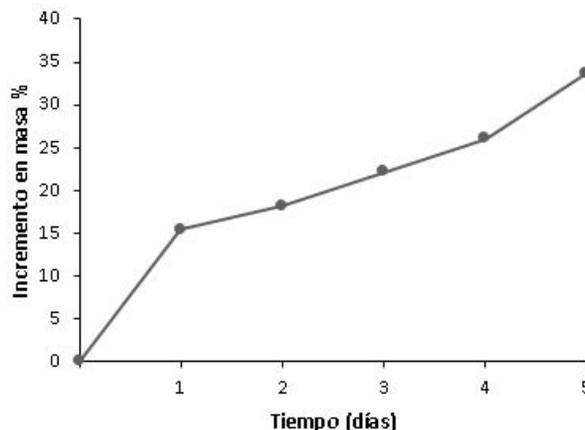


Figura 2. Patrón de hidratación en agua de semillas frescas de *Juniperus barbadensis*.

Figure 2. Hydration pattern in water of fresh seeds of *Juniperus barbadensis*.

al incrementarse la temperatura del sustrato ($P = 0.01$), siendo superior a 25/35°C. También a 25°C solo se obtuvo un 5% de germinación antes del mes y más 40% germinaron después del mes. Lo que evidenció que, en esta temperatura de germinación, hubo más de un 70% de semillas dormantes cuando se sumaron los porcentajes de semillas vivas no germinadas y de semillas germinadas después del mes. No obstante, para las semillas sembradas a temperaturas alternas de 25/30°C y 25/35°C también se obtuvieron resultados similares de semillas dormantes a los obtenidos a 25°C (Tabla 2).

DISCUSIÓN

El pequeño tamaño de las semillas de *J. barbadensis*, así como el número de semillas por fruto se corresponde con el rango reportado para la especie y el género (González-Torres *et al.*, 2013; Adams, 2014). Rasgos como el tamaño o masa seminal y el contenido de humedad han sido empleados para predecir la conducta de almacenamiento de las semillas y entender el funcionamiento ecológico de las especies (Hong y Ellis, 1996; Sánchez *et al.*, 2018; Wyse y Dickie, 2018). En

Tabla 1. Efecto de la temperatura y la iluminación sobre el porcentaje de germinación final y porcentaje de semillas muertas de *Juniperus barbadensis*.

Table 1. Effect of temperature and lighting on the percentage of final germination and percentage of dead seeds of *Juniperus barbadensis*.

| Temperatura/Iluminación | Germinación final | | Semillas muertas | |
|-------------------------|-------------------|-----------|------------------|------------|
| | Luz | Oscuridad | Luz | Oscuridad |
| 25°C | 48.0 ± 4.1 | 6.6 ± 1.3 | 26.6 ± 5.7 | 25.3 ± 4.3 |
| 25/30°C | 33.3 ± 3.2 | 0.0 ± 0.0 | 25.3 ± 5.2 | 29.3 ± 4.9 |
| 25/35°C | 1.3 ± 0.4 | 0.0 ± 0.0 | 22.6 ± 3.8 | 36.0 ± 6.2 |

Dupuig *et al.*: Características regenerativas de *Juniperus barbadensis***Tabla 2.** Efecto de la temperatura sobre rasgos de germinación de *Juniperus barbadensis* bajo condiciones de luz.**Table 2.** Effect of temperature on germination traits of *Juniperus barbadensis* under light conditions.

| Rasgos/Temperatura | 25°C | 25/30°C | 25/35°C |
|----------------------------------|------------|-------------|------------|
| Tiempo para germinar (días) | 22.3 ± 1.3 | 29.3 ± 5.6 | 56.0 ± 4.0 |
| Semillas vivas no germinadas (%) | 28.6 ± 2.1 | 41.3 ± 3.5 | 73.3 ± 1.3 |
| Germinación antes del mes (%) | 5.3 ± 1.3 | 2.6 ± 1.3 | 0.0 ± 0.0 |
| Germinación después del mes (%) | 42.6 ± 3.5 | 21.3 ± 11.6 | 1.3 ± 0.8 |

este sentido, semillas pequeñas (peso de mil semillas < 25 g) con bajos contenidos de humedad (< 20%) son potencialmente ortodoxas o tolerantes a la deshidratación (Hong y Ellis, 1996). Según nuestros resultados, el peso de 1 000 semillas de *J. barbadensis* es 7.6 g, pero el contenido de humedad obtenido (21%) supera el rango informado por Hong y Ellis (1996) para semillas ortodoxas. Este contenido de humedad podría ubicar a las semillas de la especie en la categoría de intermedias o recalcitrantes (Hong y Ellis, 1996).

Sin embargo, el índice de tolerancia a la desecación obtenido a partir de los datos de biomasa sugiere que las semillas de *J. barbadensis* son tolerantes a la deshidratación. Las semillas de esta especie destinaron mayor biomasa a las estructuras de cubierta (71.67%), relación que se ha encontrado en semillas ortodoxas de árboles tropicales (Sánchez *et al.*, 2018). En otras especies del género también se ha informado comportamiento ortodoxo, como es el caso de *J. deppeana* Steud., cuyas semillas pueden permanecer viables hasta por nueve años almacenadas en contenedores herméticos a temperatura ambiente (Niembro, 2010). Según Mamo *et al.* (2011), semillas de *J. procera* Hochst. *ex* Endl. pueden ser almacenadas exitosamente hasta por cuatro años a 5°C. Por otra parte, en el género existen estudios de bancos de semillas en condiciones naturales (Tunnell *et al.*, 2004) y en bolsas enterradas en el suelo (Wassie *et al.*, 2009). Estos últimos autores informaron que semillas de *J. procera* enterradas por un año y medio en bolsas en el campo mostraron un 91% de viabilidad.

El hábitat es también un buen predictor de la conducta de almacenamiento de las semillas. Usualmente coincide que especies de hábitats secos o estacionales poseen semillas tolerantes a la deshidratación (Hong y Ellis, 1996; Sánchez *et al.*, 2018; Wyse y Dickie, 2018). Muchas de las especies del género *Juniperus* se distribuyen naturalmente en ambientes secos o áridos (Adams, 2014). De hecho, en Cuba existen registros de herbarios de *J. barbadensis* en bosques de pinos sobre caliza y

matorrales xeromorfos espinosos sobre serpentina; pero también de ambientes húmedos como son los bosques de ciénagas y actualmente solo se encuentra en bosque siempreverde micrófilo y bosque pluvial montano esclerófilo (González-Oliva *et al.*, 2015). Lo anterior sugiere que este pudiera ser un rasgo variable en la especie o que las semillas pudieran tener un comportamiento intermedio.

Se conoce que el contenido de humedad de las semillas, así como otros rasgos, pueden variar en una misma especie dentro y entre poblaciones (Guterman, 2000; Jaganathan *et al.*, 2019). Las variaciones pueden ser de origen genético o ambiental y permiten a las especies adaptarse a los cambios del ambiente (Guterman, 2000; Gratini, 2014; Cochrane *et al.*, 2015). En *J. procera*, por ejemplo, Mamo *et al.* (2006) encontraron variaciones en características seminales y germinativas entre nueve de sus poblaciones. Según dichos autores el promedio anual de precipitaciones del sitio de recolecta mostró una correlación significativa con el número de semillas por cono, el tamaño de las semillas y la velocidad de la germinación. De cualquier manera, el contenido de humedad de las semillas de *J. barbadensis* y su conducta de almacenamiento deberán comprobarse en el futuro por protocolos internacionales, dado las implicaciones que tienen estos rasgos para el desarrollo de estrategias de conservación con la especie. Con los resultados obtenidos, lo recomendable es no almacenar las semillas por mucho tiempo para evitar pérdida de viabilidad.

Las semillas de *J. barbadensis* presentaron un embrión lineal desarrollado y cubiertas permeables al agua, lo que descarta la existencia de dormancia morfológica, física o combinación de dormancia física más fisiológica en la especie (Baskin y Baskin, 2014). Este mismo tipo de embrión fue descrito en *J. virginiana* L. (Barton, 1951). La pequeña fracción de semillas de *J. barbadensis* que germinó entre los días 22 y 28 del experimento se consideró no dormante. El resto, que representa la mayor parte del lote, se consideró con dormancia fisiológica.

Dupuig *et al.*: Características regenerativas de *Juniperus barbadensis*

Lo anterior coincide con la clase de dormancia que ha sido informada en el género (Baskin y Baskin, 2014). La presencia de dormancia constituye una estrategia adaptativa para las especies en su medio natural (Willis *et al.*, 2014; Sánchez *et al.*, 2019; Baskin y Baskin, 2021); sin embargo, también puede representar un impedimento para la reproducción en vivero.

Quizás el tratamiento pregerminativo más empleado para eliminar la dormancia fisiológica en especies del género ha sido la estratificación cálida (o en caliente) seguida de estratificación fría (Scianna, 2001; Mandel y Alberts, 2005; Tilki, 2007; Tylkowski, 2009). Igualmente se ha empleado escarificación ácida (Martínez-Pérez *et al.*, 2006), hormonas y una combinación de tratamientos (Yavuz y Yilmaz, 2017; Yucedag *et al.*, 2021); pero la estratificación parece ser el mejor tratamiento. Por ejemplo, semillas de *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa* (Sm.) Ball escurificadas con ácido y luego estratificadas en frío mostraron mayores porcentajes de germinación que semillas escurificadas, pero no estratificadas (Juan *et al.*, 2006). Por su parte, Yavuz y Yilmaz (2017) informaron que la aplicación de ácido giberélico sin un pretratamiento de estratificación cálida/fría no tuvo ningún efecto significativo sobre la germinación de *J. drupacea* Labill.

Mohammadi Zade *et al.* (2018) recomiendan además de la estratificación una colecta temprana de los frutos de *J. polycarpus* K. Koch (antes de la maduración) para obtener mayor velocidad y capacidad germinativa, refiriendo que en ese momento los niveles de ácido abscísico en los conos o frutos deben ser menores. De igual modo, Juan *et al.* (2006) obtuvieron mayores porcentajes de germinación con semillas inmaduras de *J. oxycedrus* que con semillas maduras. Entonces, queda pendiente explorar posibles tratamientos pregerminativos para eliminar dormancia, acelerar y sincronizar la germinación en *J. barbadensis*.

La ocurrencia de germinación a la luz y a la oscuridad, unido al valor obtenido para el Índice de Germinación Relativa a Luz, sugiere que esta especie es fotoblástica indiferente (Milberg *et al.*, 2000). Sin embargo, la germinación se vio favorecida en la luz y este constituyó el factor más importante. La luz también afecta significativamente la germinación de semillas de *J. procera* (Mamo *et al.*, 2006), especie para la cual se ha informado fotodormancia (Teketay y Granstrom, 1997; Yirdaw y Leinonen, 2002). El estudio realizado por Mamo *et al.* (2006) con semillas de nueve poblaciones de *J. procera*

reveló que la germinación de las semillas incubadas bajo luz continua fue significativamente mayor que la de semillas incubadas en la oscuridad. Sin embargo, semillas de algunas poblaciones germinaron igual bajo luz y oscuridad, sugiriendo que la fotodormancia en las semillas varía entre poblaciones.

El mayor porcentaje de germinación en *J. barbadensis* (48%) se obtuvo a 25°C y solo en esta temperatura ocurrió germinación en la oscuridad, por lo que consideramos que fue la temperatura óptima para la especie, al menos en este experimento. El incremento de la temperatura afectó el porcentaje de germinación final y la viabilidad de las semillas, pero ninguna de las condiciones probadas fue letal. No existen estudios previos sobre el efecto de la temperatura en la germinación de *J. barbadensis* y mucho menos sobre la posibilidad de termodormancia. Poco se conoce también para el género, por lo que en el futuro debería profundizarse en este aspecto.

Cada especie, variedad, o lote de semillas en particular, tiene un rango característico de temperatura (mínima, óptima y máxima) que desencadena la emergencia de la radícula (Bewley *et al.*, 2013). Estas temperaturas están generalmente relacionadas con el rango ambiental de adaptación de las especies y sirven para ajustar el tiempo de germinación a condiciones favorables para el crecimiento y desarrollo de las plántulas (Bewley *et al.*, 2013; Baskin y Baskin, 2014). Por consiguiente, tanto las temperaturas constantes como la existencia de un termoperíodo determinado pueden intervenir en la dormancia y la germinación (Probert, 2000). Por ejemplo, semillas no dormantes de *J. virginiana* (luego de una estratificación en frío) fueron inducidas a una dormancia cuando se incubaron a temperaturas superiores a 15°C (Pack, 1921). Por su parte, Ahani *et al.*, (2013) informaron que cambios diurnos de temperatura incrementaron la germinación de *J. polycarpus* con relación a temperaturas constantes.

Otras investigaciones podrían ir dirigidas a conocer la fenología, depredadores y dispersores de las semillas de *J. barbadensis*. Con relación a esto último, Chambers *et al.* (1999) plantean que el paso de las semillas de juníferos por el tracto digestivo de sus dispersores (aves y mamíferos) puede afectar la germinación; aunque en el caso de *J. communis* L. fueron los factores abióticos (el microhábitat) los que determinaron el patrón final de reclutamiento en una montaña mediterránea (García, 2001). No obstante, información de este tipo también

Dupuig *et al.*: Características regenerativas de *Juniperus barbadensis*

podría ayudarnos a entender los factores que limitan la regeneración natural de las poblaciones silvestres de *J. barbadensis*, independientemente de las amenazas que sufre la especie, y desarrollar adecuadas estrategias para su conservación.

CONCLUSIONES

El valor obtenido para el índice de tolerancia a la desecación en las semillas de *J. barbadensis* sugiere un comportamiento ortodoxo. Sin embargo, el contenido de humedad y hábitat sugieren un comportamiento intermedio o recalcitrante. Aunque una pequeña fracción del lote de semillas se consideró no dormante, la mayor parte presentó dormancia fisiológica. La luz resultó ser el factor más importante en el control de la germinación y la temperatura óptima fue 25°C. Ya que la germinación se favorece a la luz, se recomienda no enterrar demasiado las semillas durante su reproducción en vivero, elegir un ambiente fresco y mantener el sustrato húmedo. En el futuro se deberá profundizar en estudios sobre conducta de almacenamiento y germinación bajo diferentes rangos de temperatura. También deberán evaluarse posibles tratamientos pregerminativos que permitan eliminar la dormancia fisiológica identificada en la especie y por consiguiente acelerar la germinación y el establecimiento de las plántulas. Esta investigación constituye solo un punto de partida en la comprensión de la biología de la semilla de *Juniperus barbadensis*.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el proyecto “Diversidad biológica asociada a ecosistemas montañosos de la región occidente y centro de Cuba”, del Programa Nacional Uso Sostenible de los Componentes de la Diversidad Biológica en Cuba. A dos revisores anónimos por sus sugerencias.

LITERATURA CITADA

- Adams RP. 2014. *Junipers of the World: The Genus Juniperus*. Trafford Publishing, Bloomington.
- Ahani H, Jalilvand H, Nasr SMH, Kouhbanani HS, Ghazi MR, Mohammadzadeh H. 2013. Reproduction of juniper (*Juniperus polycarpos*) in Khorasan Razavi, Iran. *Forest Science and Practice*. 15: 231-7.
- Barak RS, Lichtenberger T, Wellman-Houde A, Kramer AT, Larkin DJ. 2018. Cracking the case: Seed traits and phylogeny predict time to germination in prairie restoration species. *Ecology and Evolution*. 8: 5551-5562.
- Barton LV. 1951. Germination of seeds of *Juniperus virginiana* L. *Contributions from Boyce Thompson Institute*. 16: 387-393.
- Baskin CC, Baskin JM. 2007. A revision of Martin's seed classification system, with particular reference to his dwarf-seed type. *Seed Science Research*. 17: 11-20.
- Baskin CC, Baskin JM. 2014. *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. Elsevier/Academic Press, San Diego.
- Baskin JM, Baskin CC. 2021. The great diversity in kinds of seed dormancy: a revision of the Nikolaeva-Baskin classification system for primary seed dormancy. *Seed Science Research*. 31: 249-277.
- Baskin JM, Davis BH, Baskin CC, Gleason SM, Cordell S. 2004. Physical dormancy in seed of *Dodonea viscosa* (Sapindales, Sapindace) from Hawaii. *Seed Science Research*. 14: 81-90.
- Bewley JD, Bradford KJ, Hilhorst HWM, Nonogaki H. 2013. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*. Springer, New York.
- Borhidi A. 1996. *Phytogeography and vegetation ecology of Cuba*. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Chambers JC, Vander Wall SB, Schupp EW. 1999. Seed and seedling ecology of pinon and juniper species in the pygmy woodlands of western North America. *Botanical Review*. 65: 1-38.
- Cochrane A, Colin JY, Gemma LH, Nicotra AB. 2015. Will among-population variation in seed traits improve the chance of species persistence under climate change? *Global Ecological Biogeography*. 24: 12-24.
- Daws MI, Garwood NC, Pritchard HW. 2006. Prediction of desiccation sensitivity in seeds of woody species: a probabilistic model based on two seed traits in 104 species. *Annals of Botany*. 97: 667-674.
- Fenner M, Thompson K. 2005. *The ecology of seeds*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Funes G, Díaz S, Venier P. 2009. La temperatura como principal determinante de la germinación en especies del Chaco seco de Argentina. *Ecología Austral*. 19: 129-138.
- García D. 1998. Interaction between juniper *Juniperus communis* L. and its fruit insects: Pest abundance, fruit characteristics and seed viability. *Acta Oecologica*. 19: 517-525.
- García D. 2001. Effects of seed dispersal on *Juniperus communis* recruitment on a Mediterranean mountain. *Journal of Vegetation Science*. 12: 839-848.

- González-Oliva L, González-Torres LR, Palmarola A, Barrios D, Testé E. 2015. Categorización de táxones de la flora de Cuba - 2015. *Bissea*. 9 (NE 4): 262.
- González-Torres LR, Palmarola A, Barrios D y González-Oliva L. 2013. Top 50. Las 50 plantas más amenazadas de Cuba. *Bissea*. 7 (NE 1): 62-63.
- González-Torres LR, Palmarola A, González-Oliva L, Bécquer ER, Testé E, Barrios D. 2016. *Lista Roja de la Flora de Cuba*. Editorial AMA, La Habana.
- Gratini L. 2014. Plant phenotypic plasticity in response to environmental factors. *Advances in Botany*. <https://doi.org/10.1155/2014/208747>.
- Greuter W, Rankin R. 2022. Vascular Plants of Cuba A Checklist. Third, updated edition of The Spermatophyta of Cuba. Botanischer Garten und Botanisches Museum Berlin. <https://doi.org/10.3372/cubalist.2022.1>.
- Gutterman Y. 2000. Maternal effects on seeds during development. En: Fenner, M. (ed.), *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, 59-84, CAB International, Wallingford.
- Hammer Ø. 2015. PAST. Paleontological statistics. Version 3.11. Reference Manual. Natural History Museum. University of Oslo.
- Hazubska-Przybył T. 2019. Propagation of Juniper species by plant tissue culture: A Mini-Review. *Forest*. 10. <https://doi.org/10.3390/f10111028>.
- Hong TD, Ellis RH. 1996. *A protocol to determine seed storage behaviour*. IPGRI Technical Bulletin No.1. International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2007. *International rules for seed testing*. Bassersdorf, Suiza.
- Jaganathan GK, Boenisch G, Kattge J, Dalrymple SE. 2019. Physically, physiologically and conceptually hidden: Improving the description and communication of seed persistence. *Flora*. 257. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.05.012>.
- Jiménez-Alfaro B, Silveira FAO, Fildelis A, Poschlod P, Commander LE. 2016. Seed germination traits can contribute better to plant community ecology. *Journal of Vegetation Science*. 27: 637-645.
- Juan R, Pastor J, Fernandez I, Diosdado JC. 2006. Seedling emergence in the endangered *Juniperus oxycedrus* subsp. *macrocarpa* (Sm.) Ball in southwest Spain. *Acta Biologica Cracoviensia, series Botanica*. 48: 49-58.
- Kildisheva OA, Dixon KW, Silveira FAO, Chapman T, Sacco AD, Mondoni A, *et al.* 2020. Dormancy and germination: making every seed count in restoration. *Restoration Ecology*. 28: S256-S265.
- Mamo N, Mihretu M, Fekadu M, Tigabu M, Teketay D. 2006. Variation in seed and germination characteristics among *Juniperus procera* populations in Ethiopia. *Forest Ecology and Management*. 225: 320-327.
- Mamo N, Nigusie D, Tigabu M, Teketay D, Fekadu M. 2011. Longevity of *Juniperus procera* seed lots under different storage conditions: implications for *ex situ* conservation in seed banks. *Journal of Forest Research*. 22: 453-9.
- Mandel R, Alberts D. 2005. Propagation protocol for oneseed and Utah junipers (*Juniperus monosperma* and *Juniperus osteosperma*). *Native Plants Journal*. 6: 263-266.
- Martínez-Pérez G, Orozco-Segovia A, Martorell C. 2006. Efectividad de algunos tratamientos pre-germinativos para ocho especies leñosas de la Mixteca Alta oaxaqueña con características relevantes para la restauración. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 79: 9-20.
- Milberg P, Andersson L, Thompson K. 2000. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research*. 10: 99-104.
- Mohammadi Zade M, Kiadaliri H, Etemad V, Mehregan I, Azizinezhad R. 2018. Seed viability changes during fruit ripening of *Juniperus polycarpus*: implications for seed collection. *Egyptian Journal of Botany*. 58: 437-444.
- Montejo LA, Sánchez JA, Muñoz B. 2005. Dormancy and germination in *Talipariti elatum* seeds. *Botanica Complutensis*. 29: 57-62.
- Niembro A, Vázquez M, Sánchez O. 2010. *Árboles de Veracruz: 100 especies para la reforestación ecológica*. Universidad Veracruzana- CITRO, Veracruz.
- Nogueiras C, Spengler I, Guerra JO, Ortiz Y, Torres S, García TH, Romeu CR, Regalado EL, González TA, Perera WH, Lacret R. 2010. Contribution to the phytochemical study and biological activity of plants of Cuban flora. *Bioteología Aplicada*. 27: 314-318.
- Ortiz PL, Arista M, Talavera, S. 1998. Low reproductive success in two subspecies of *Juniperus oxycedrus* L. *International Journal of Plant Science*. 159: 843-847.
- Ortiz Y, Spengler I, González I, Hernández R. 2008. Screening study of potential lead compounds for natural product bases fungicides from *Juniperus lucayana*. *Natural Product Communications*. 3: 469-73.
- Probert RJ. 2000. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. En: Fenner M. (ed.), *Seed: The ecology of regeneration in plant communities*, 261-292, CABI Publishing, Wallingford.
- Salih AM, Al-Qurainy F, Khan S, Tarroum M, Nadeem M, Shaikhaldein HO, *et al.* 2021. Mass propagation

Dupuig *et al.*: Características regenerativas de *Juniperus barbadensis*

- of *Juniperus procera* Hochst. ex Endl. from seedling and screening of bioactive compounds in shoot and callus extract. *BMC Plant Biology*. 21: 192. <https://doi.org/10.1186/s12870-021-02946-2>.
- Sánchez JA, Pernús M, Torres-Arias Y, Barrios D, Dupuig Y. 2019. Dormancia y germinación en semillas de árboles y arbustos de Cuba: implicaciones para la restauración ecológica. *Acta Botánica Cubana*. 218: 77-108.
- Sánchez JA, Pernús M, Torres-Arias Y, Furrázola E, Oviedo R, Álvarez JC. 2018. Características regenerativas de árboles tropicales para la restauración ecológica de ecosistemas limítrofes al manglar. *Acta Botánica Cubana*. 2: 170-188.
- Sánchez JA, Suárez AG, Montejo LA, Muñoz CB. 2011. El cambio climático y las semillas de las plantas nativas cubanas. *Acta Botánica Cubana*. 214: 38-50.
- Scianna JD. 2001. Rocky Mountain juniper seed: collecting, processing, and germinating. *Native Plants Journal*. 2: 73-78.
- Teketay D, Granstrom A. 1997. Germination ecology of forest species from the highlands of Ethiopia. *Journal of Tropical Ecology*. 14: 793-803.
- Thompson K, Band SR, Hodgson JG. 1993. Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology*. 7: 236-241.
- Tilki F. 2007. Preliminary results on the effects of various pre-treatments on seed germination of *Juniperus oxycedrus* L. *Seed Science and Technology*. 35: 765-770.
- Tunnell SJ, Stubbendieck J, Huddle, Broiler J. 2004. Seed dynamics of eastern redcedar in the mixed-grass prairie. *Great Plains Research*. 14: 129-142.
- Tylkowski T. 2009. Improving seed germination and seedling emergence in the *Juniperus communis*. *Dendrobiology*. 61: 47-53.
- Wassie A, Teketay D. 2006. Soil seed banks in church forests of northern Ethiopia: implications for the conservation of woody plants. *Flora*. 210: 32-43.
- Willis CG, Baskin CC, Baskin JM, Auld JR, Venable DL, Cavender-Bares J, *et al.* 2014. The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytology*. 203: 300-309.
- Wyse SV, Dickie JB. 2018. Taxonomic affinity, habitat and seed mass strongly predict seed desiccation response: a boosted regression trees analysis based on 17539 species. *Annals of Botany*. 121: 71-83.
- Yavuz Z, Yilmaz M. 2017. Seed dormancy and cone and seed morphology of syrian juniper (*Juniperus drupacea* Labill.) In the eastern mediterranean region of turkey. *Şumarski list*. 5-6: 257-262.
- Yirdaw E, Leinonen K. 2002. Seed germination responses of four afro-montane tree species to red/far-red ratio and temperature. *Forest Ecology and Management*. 168: 53-61.
- Yucedag C, Cetin M, Ozel HB, Aisha A, Muragaa Alrabiti OB, Aljama A. 2021. The impacts of altitude and seed pretreatments on seedling emergence of Syrian juniper (*Juniperus drupacea* (Labill.) Ant. et Kotschy). *Ecological Processes*. 10: 7. <https://doi.org/10.1186/s13717-020-00276-z>.