

Rasgos de semillas y germinación de *Spirotecoma holguinensis* (Bignoniaceae), árbol endémico de las serpentininas del este de Cuba

Seed traits and germination of *Spirotecoma holguinensis* (Bignoniaceae), an endemic tree of serpentine eastern Cuba

Dariel López Hernández^{1,*}, José Luis Gómez², Jorge A. Sánchez³ y Justo L. González³

RESUMEN

Spirotecoma holguinensis es una especie pionera endémica que crece en los matorrales xeromorfos espinosos sobre serpentina de la provincia Holguín, Cuba. Con el objetivo de contribuir a la conservación de *S. holguinensis* se caracterizaron rasgos morfológicos de sus semillas, requerimientos germinativos, tolerancia a la desecación y tipo funcional de plántula. La germinación se evaluó a una temperatura fija y cuatro termoperiodos (25°C, 25°C/30°C, 25°C/35°C, 25°C/40°C y 25°C/45°C), con dos condiciones de iluminación (luz y oscuridad). La especie posee frutos secos, de tipo silicua dehiscente, con semillas aladas, 97 por fruto como promedio. Las semillas son pequeñas con masa fresca y seca de 3,4 y 3,1 mg, respectivamente, y un contenido de humedad inicial de 9,28%. El embrión es desarrollado, de tipo axial invertido y la relación embrión/semilla alcanzó un valor de 0,95. Además, las semillas destinaron 67,7% de su masa a la formación de estructuras de reserva. La especie no presentó dormancia seminal y las semillas son fotoblásticas indiferentes, aunque la mejor respuesta germinativa se obtuvo a la luz a 25°C/30°C. Al aumentar la temperatura del sustrato la velocidad de germinación disminuyó. Las semillas se comportaron como tolerantes a la desecación y las plántulas se clasificaron como fanerocotilar epigea con cotiledones foliáceos. Se discute el papel ecológico de los rasgos de historia de vida identificados en *S. holguinensis* y su relación con otros árboles tropicales pioneros.

Palabras claves: planta tropical pionera, ecología de semilla, temperatura, fotoblastismo

ABSTRACT

Spirotecoma holguinensis is a endemic pioneer species that grow in serpentine xeromorphic thorny scrub of Holguín, Cuba. In order to contribute to the conservation of *S. holguinensis*, morphological features of its seeds, germination requirements, desiccation tolerance and seedling functional type were characterized. Germination was assessed in a constant temperature and four thermoperiods (25°C, 25°C/30°C, 25°C/35°C, 25°C/40°C and 25°C/45°C) with two light conditions (light and dark) experiments. The fruits were a dry dehiscent silique, with winged seeds and an average of 97 seeds per fruit. The seeds were small, with fresh and dry weight of 3.4 and 3.1 mg, respectively, and with an initial moisture content of 9.28%. The embryo was developed, axial inverted type and ratio embryo: seed was higher than 0.95, so that embryo occupied 95% of the seed cavity. The seeds allocated 67.7% of its mass to the formation of reserve structures. The species did not present dormancy and seeds were photoblastic indifferent, although the best germination was obtained to light on 25°C/30°C. By increasing the substrate temperature, germination rate decreased. The seeds were desiccation tolerant and seedlings were classified as phanerocotylar epigeal with foliaceous cotyledons. We discussed the ecological role of the life history traits identified in *S. holguinensis* and its relationship with other pioneers tropical trees.

Keywords: pioneer tropical plant, seed ecology, temperature, photoblastism

Recibido: enero 2016 **Aceptado:** abril 2016

Publicado online 2 de noviembre de 2016 y será incluido en el volumen 37. ISSN 2410-5546 RNPS 2372 (DIGITAL) - ISSN 0253-5696 RNPS 0060 (IMPRESA)

INTRODUCCIÓN

El género *Spirotecoma* (Baillon ex Dalla) Torre & Harms pertenece a la familia Bignoniaceae, Tribu Tecomeae y es endémico de Cuba y La Española (Gentry 1992). En el tratamiento taxonómico más reciente se reconocen cuatro especies, tres endémicas de Cuba: *S. apiculata* (Britton) Alain, *S. holguinensis* (Britton) Alain, *S. spiralis* (C. Wright ex Griseb.) Pichon; y una presente en Cuba y La Española: *S. rubriflora* (Leonard) Alain (*op. cit.*). Las dos primeras crecen en vegetación serpentínica y las restantes sobre carso (Alain 1957, Gentry 1992).

Spirotecoma holguinensis es una especie arbórea endémica de los afloramientos de serpentinitas de Holguín y Sierra de Nipe (Gentry 1992). Crece en matorrales xeromorfos espinosos y subespinosos sobre serpentinitas, bosques de galerías, bosques de pinos (*sensu* Capote & Berazaín 1984), sabanas semiantrópicas (*sensu* Borhidi & Herrera 1977) y ocasionalmente en complejo de vegetación de mogotes y matorrales xeromorfos costeros sobre calizas (González & *al.* 2001). Por su alta densidad poblacional en áreas perturbadas podría considerarse como especie pionera en los suelos serpentínicos ricos en metales pesados (Gómez 2010).

Las especies arbóreas pioneras tienden a invadir los claros o zonas descubiertas, mejorando las condiciones ambientales para la implantación del ecosistema forestal primario e inicio de la sucesión vegetal (Vázquez-Yanes

¹Centro de Bioplasmas, Universidad de Ciego de Ávila, MES, Cuba. Carretera a Morón, km 9½, Ciego de Ávila, Cuba. ²Jardín Botánico de Holguín, CITMA, Cuba. Carretera al Valle de Mayabe, km 5½, Holguín, Cuba. ³Instituto de Ecología y Sistemática, CITMA, Cuba. Carretera de Varona 11835, Calabazar, Boyeros, La Habana, Cuba.

*Autor para correspondencia (e-mail: daniel@bioplasmas.cu).

& Orozco-Segovia 1994). Para ello, dichas plantas tienen caracteres seminales y de crecimiento que les permiten germinar y establecerse en ambientes de alta iluminación y fluctuaciones diurnas de temperatura (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia 1994, Muñoz & al. 2012), aunque la disminución del potencial de agua del suelo puede afectar la germinación de este grupo funcional (Sánchez & al. 2003, Daws & al. 2008). Por otra parte, diversos estudios han demostrado que la profundidad de las capas de hojarasca, la acidez del suelo y la actividad microbiana también pueden determinar un comportamiento diferencial en la germinación de algunos árboles tropicales (Sánchez & al. 2003, Zalamea & al. 2015).

La información existente sobre los mecanismos (o estrategias) de regeneración de las plantas nativas cubanas es muy escasa (Sánchez & al. 2011). El conocimiento de la ecofisiología de la germinación y del crecimiento de las plántulas no solo es vital para entender los procesos de reclutamiento de las plantas y la sucesión vegetal, sino también permite desarrollar estrategias para la conservación de la biodiversidad (Sánchez & al. 2015). En general, la poca información existente limita el manejo de la flora autóctona en los ecosistemas naturales cubanos, dado que no existe una valoración cuantitativa sobre su capacidad de regeneración diferencial frente al estrés ambiental y al cambio climático.

En el caso de *Spirotecma holguinensis*, no se conocen sus requerimientos germinativos y clases de dormancia. Tampoco se ha informado dormancia seminal para el género *Spirotecma* (Baskin & Baskin 2014); aunque, en la familia *Bignoniaceae* existen especies sin dormancia, con dormancia fisiológica o dormancia física (Baskin & Baskin 2014, Willis & al. 2014). Por consiguiente, algunas de estas clases de dormancia podrían ocurrir en *S. holguinensis*. Este mecanismo pudiera ser un elemento esencial en la estrategia regenerativa de la especie debido a su función en el aplazamiento de la germinación de aquellas especies cuyas semillas alcanzan sitios desfavorables para el establecimiento de las plántulas (Jurado & Flores 2005). Esta predicción se basa en que el hábitat natural de *S. holguinensis* es muy extremo debido a la fuerte sequía edáfica y pobreza de nutrientes esenciales que prevalece en los suelos serpentínicos (Scott 2014) y la irregularidad de las lluvias que ocurren aún dentro del período lluvioso.

Por otra parte, para *Spirotecma holguinensis*, tampoco se conocen las características de las semillas (ej.: tipo de embrión, tamaño seminal, contenido de humedad inicial), aspectos directamente relacionados con la estrategia regenerativa y de gran importancia para la conservación de semillas y su utilización en proyectos de restauración ecológica (Sánchez & al. 2011). La utilización de este

árbol en la restauración de ecosistemas serpentínicos degradados podría ser beneficioso debido a su posible función como planta nodriza (Gómez & al. 2013); sin embargo, su uso está limitado por el desconocimiento de sus requerimientos germinativos.

Con el objetivo de contribuir a la conservación de *Spirotecma holguinensis*, en el presente trabajo se caracterizan sus semillas, requerimientos germinativos (en cuanto a luz y temperatura del sustrato) y posibles mecanismos de dormancia seminal. También se identifica el índice de tolerancia a la desecación y el tipo funcional de plántula. Se predice que los rasgos de semillas y plántulas de *S. holguinensis* la identifican como planta tropical pionera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio y recolección de semillas

Las semillas se recolectaron de 30 árboles en octubre de 2014, al final de la época de maduración de los frutos y dispersión de las semillas en San Andrés (20°59'N; 76°26'W). Esta localidad está ubicada en un cinturón discontinuo de rocas ultrabásicas de la provincia Holguín. La temperatura media anual oscila entre 24,7°C y 26,7°C, mientras que las precipitaciones en el año 2014 fueron de 1099,8 mm; con la temporada de mayor probabilidad de precipitaciones en los meses comprendidos entre mayo y octubre (ONEI 2015). Las características de la vegetación de las serpentinitas de San Andrés resultan de la interacción de factores antrópicos y edáficos. La vegetación ha sido muy degradada por tala selectiva, pastoreo e incendios. Actualmente quedan restos de matorrales xeromorfos espinosos sobre serpentinitas en una matriz de sabanas semiantrópicas (Gómez & Cuéllar 2012).

Caracterización de frutos y semillas

La definición del tipo de fruto se realizó según Judd & al. (2016) y el número de semillas por fruto se determinó por conteo directo en una muestra de 50 frutos. Las dimensiones seminales (longitud, ancho y grosor) se midieron con un pie de rey de 0,01 mm de precisión. Seguidamente se calculó la varianza de cada dimensión seminal según el método de Thompson & al. (1993), dividiendo la suma de las desviaciones cuadráticas de los valores individuales con relación a la media por el número de dimensiones: $n = 3$; $S^2 = (X - X_i)^2 / n$. Previo 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 manera, una semilla esférica presentará un valor de varianza igual cero; mientras que una alargada o achatada su varianza puede ser hasta 0,33.

A las semillas también se les determinó su masa fresca y seca total, el contenido de humedad inicial, la masa

seminal de las reservas (embrión y endospermo) y de las cubiertas. La masa fresca (mg) de las semillas se determinó mediante el pesaje individual de las semillas en una balanza Sartorius con precisión 10^{-4} g. La masa seca de las semillas y su contenido de humedad inicial se establecieron por el método de secado a alta temperatura constante ($103 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 17 horas), a partir de las normas del ISTA (2007). Estas variables se calcularon individualmente para cada semilla en una muestra de 100 semillas. Para calcular la asignación de la masa a las estructuras de cubiertas, o bien a los tejidos de reservas (embrión/endospermo) se dividió cada valor o componente seminal entre la masa seca total de la semilla (Sánchez & *al.* 2009a). Los valores de ambas fracciones se multiplicaron por 100 para facilitar la interpretación de los datos.

La descripción del tipo de embrión se realizó en base a la morfología (forma) y al grado de desarrollo del mismo (tamaño) mediante la relación longitud del embrión (E): longitud de la semilla (S), tal como proponen Baskin & Baskin (2007). Para este propósito se utilizó una muestra de 30 semillas a las que se les extirparon los embriones utilizando un bisturí quirúrgico. Posteriormente, fueron examinados a un microscopio estereoscópico equipado con micrómetro para medir la longitud del embrión. Se consideró que la semilla presentó embrión no desarrollado (en términos de tamaño) cuando este es pequeño, pero tiene órganos diferenciados, y la relación entre el tamaño del embrión con respecto a la semilla (E/S) fue $\leq 0,5$. Los embriones no desarrollados, según su forma, pueden ser rudimentarios, lineales o espatulados (Baskin & Baskin 2007). Por su parte, se consideró una semilla con embrión totalmente desarrollado, cuando ocupó más del 50% de la cavidad seminal ($E/S > 0,5$) o la totalidad de esta. Según su morfología, los embriones desarrollados pueden ser lineales, espatulados, invertidos, doblados o plegados. Finalmente, se comparó el embrión de *Spirotecoma holguinensis* con los referidos para la familia *Bignoniaceae* (Baskin & Baskin 2007).

Requerimientos germinativos

Se diseñó un experimento bifactorial cuyos tratamientos simulaban las variaciones de luz y de temperatura que sufre el suelo del área de distribución natural. Se ensayaron cinco condiciones de temperatura y dos de iluminación, para un total de diez tratamientos. La respuesta germinativa se evaluó a temperatura constante de 25°C y en régimen de temperatura alterna de $25^\circ\text{C}/30^\circ\text{C}$, $25^\circ\text{C}/35^\circ\text{C}$, $25^\circ\text{C}/40^\circ\text{C}$ y $25^\circ\text{C}/45^\circ\text{C}$ (8 horas para la temperatura más alta del termoperíodo y 12 horas a 25°C , con transición entre éstas de 4 horas). Los tratamientos de iluminación recibieron 8 horas de exposición a la luz (aproximadamente $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, longitud de onda 400-700 nm) coinci-

dente con el periodo de mayor temperatura dentro de cada tratamiento. En los tratamientos de oscuridad constante, esta se logró envolviendo las placas con las semillas en dos capas de papel de aluminio. La localización de las placas en la incubadora se cambió regularmente. Todos los experimentos se realizaron en incubadoras con luz y temperatura controlada en el Laboratorio del Departamento de Ecología Funcional del Instituto de Ecología y Sistemática.

Las semillas se colocaron a germinar sobre papel de filtro humedecido con agua destilada, en placas Petri de 9,0 cm de diámetro. Se utilizaron cinco réplicas de 25 semillas por tratamiento. En el caso de las semillas bajo tratamiento de iluminación, la evaluación de germinación se efectuó diariamente hasta 30 días. La evaluación de la germinación de las semillas expuestas a condiciones continuas de oscuridad total se realizó tres días después de haber concluido la germinación a la luz. El criterio para la germinación fue la protrusión de la radícula.

Los porcentajes de germinación final y de semillas muertas se calcularon para las condiciones de luz y oscuridad. El resto de las variables que a continuación se describen solo se determinaron para los tratamientos de iluminación. El tiempo medio de germinación (t_m , días) se estimó como el promedio del tiempo transcurrido entre el inicio del experimento y la germinación de cada semilla. Las siguientes variables solo se determinaron para los tratamientos de iluminación: tiempo medio de germinación (t_m , días), coeficiente de variación del tiempo medio de germinación (CV_{t_m} , %), incertidumbre del proceso de germinación (U , bits) y sincronización del proceso de germinación (Z) (Ranal & Santana 2006), las cuales se calcularon con la planilla electrónica propuesta por Ranal & *al.* (2009). Altos valores del tiempo medio de germinación (t_m) indican que se requiere mayor tiempo para alcanzar el 50% de las semillas germinadas. Los valores de la velocidad de germinación (v) se estimaron como el recíproco del t_m , por tanto, al aumentar el t_m disminuyen los valores de v . Los valores se encuentran entre 0 (no germinación) y 1 (rápida velocidad de germinación). Por su parte, bajos valores de la incertidumbre de la germinación (U) indican que la germinación está más concentrada en el tiempo, mientras que los valores de sincronía (Z) miden el grado de superposición de la germinación (Ranal & Santana 2006). Esta última variable puede alcanzar valores entre 1 (la germinación de todas las semillas ocurre en el mismo tiempo) y 0 (cuando al menos dos semillas germinan en tiempos diferentes).

Finalmente, para expresar los requerimientos de luz para la germinación se utilizó el índice de Germinación

Relativa a la Luz (GRL) (Milberg & al. 2000), donde $GRL = GL/(GO+GL)$, siendo GL porcentaje de germinación a la luz, y GO porcentaje de germinación en la oscuridad. Para ello, se tomaron los valores promedio de la germinación a la luz y a la oscuridad en la temperatura óptima (aquella donde la especie mostró el mayor porcentaje de germinación a la luz, o bien a la oscuridad). El índice de GRL varía entre 0 (germinación solo en oscuridad) y 1 (germinación solo a la luz). Si el índice GRL fue superior a 0,75 se consideró que la especie es dependiente de la luz (fotoblásticas positivas), si fue menor a 0,25 se consideró repelente de la luz (fotoblásticas negativas), y si el valor estuvo entre 0,25 y 0,75 se estableció como indiferente a la luz (Funes & al. 2009).

Al concluir las pruebas de germinación, a todas las semillas que no germinaron se les determinó su viabilidad presionándolas con una aguja para determinar si contenían un embrión blanco y firme (semillas vivas), o bien un embrión suave o gris, indicativo de no viabilidad seminal (semillas muertas) (Baskin & Baskin 2014).

Clases de dormancia, sensibilidad a la desecación e identificación del tipo de plántula

Se consideró que la especie poseía semillas dormantes si su germinación comenzó después de 28 días en condiciones óptimas de germinación (Baskin & Baskin 2014), si no se hidrataron, o bien al menos el 20% de las semillas permanecieron vivas y sin germinar al final del experimento de germinación (Sánchez & al. 2015). El índice de sensibilidad a la desecación [P(D-S)] con base a datos biométricos de las semillas se determinó de acuerdo a la fórmula propuesta por Daws & al. (2006): $P(D-S) = (e^{3,269-9,974a+2,156b}) / (1 + e^{3,269-9,974a+2,156b})$ donde a representa la masa seca que la semilla destinada a las cubiertas seminales o estructuras de defensas y b es el \log_{10} de la masa seca total de la semilla (g). Cuando los valores de P(D-S) son menores a 0,5, es probable que las semillas sean sensibles a la desecación, y cuando son mayores a 0,5, es probable que las semillas sean tolerantes a la desecación. Consecuentemente, en principio una especie con una P(D-S) = 0,5 tiene la misma probabilidad de ser sensible a la desecación que tolerante (Daws & al. 2006).

Se sembraron individualmente semillas recién germinadas en envases plásticos de color blanco (capacidad: 0,85 dm³), que contenían arena gruesa de río (diámetro máximo del grano: 3,5 mm). Los experimentos se realizaron en condiciones de vivero en áreas del Instituto de Ecología y Sistemática, La Habana, Cuba. Las condiciones ambientales fueron similares a las que se presentan en los viveros comerciales en Cuba, a temperatura ambiente (entre 23°C y 30°C) y bajo luz natural (aproximadamente entre 30 y 40% de la radia-

ción fotosintéticamente activa). El riego fue diario y se utilizaron 25 réplicas. El tipo funcional de plántula se identificó según las categorías propuesta por Garwood (1996).

Análisis estadístico

Para cada variable se determinó la media y la desviación estándar (\pm DE). Antes del análisis estadístico se verificó la normalidad de las variables estudiadas mediante la prueba de bondad de ajuste de Shapiro-Wilks, y la homogeneidad de varianza a través de la prueba de Levene. Para los datos de porcentajes de germinación final se utilizó la transformación arcoseno de la raíz cuadrada previo a su procesamiento estadístico. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) bifactorial para determinar el efecto de los factores temperatura y luz sobre el porcentaje de germinación final. El resto de las variables se analizaron mediante un ANOVA de clasificación simple. No se aplicaron pruebas de comparaciones múltiples de medias a posteriori, debido a que las variables independientes representaron combinaciones de tratamientos cuantitativos (luz y temperatura) (Blanco 2001).

RESULTADOS

Caracterización de frutos y semillas

Spirotecoma holguinensis tiene frutos secos en silicua con forma espiral y apertura 2-valvar. Según observaciones de campo, las silicuas experimentan una maduración diferencial, pues la porción distal generalmente se seca y abre primero que el extremo proximal. Como promedio los frutos tuvieron 97 ± 17 semillas aladas (Fig.1 A). El ancho medio de la semilla con su ala fue de $12,5 \pm 0,33$ mm y sin ala de $3,5 \pm 0,06$ mm. La longitud seminal fue de $2,3 \pm 0,09$ mm y el grosor de $0,8 \pm 0,01$ mm. La varianza de las dimensiones seminales fue de $0,33 \pm 0,02$. Las semillas presentaron una masa fresca y seca de $3,4 \pm 0,08$ mg y $3,1 \pm 0,08$ mg respectivamente y un contenido de humedad inicial de $9,28 \pm 0,48\%$. La masa seca de las reservas y las cubiertas seminales fueron de $2,1 \pm 0,06$ mg y $1,0 \pm 0,04$ mg, respectivamente. Finalmente, el porcentaje de la masa seminal destinado a las reservas fue $67,7 \pm 0,81\%$ y para las cubiertas seminales de $32,2 \pm 0,80\%$.

El embrión es de tipo invertido con cotiledones desarrollados en forma de mariposa, que prácticamente cubren la radícula (Figura 1B). El endospermo forma una capa fina de coloración pardo claro que cubre por completo al embrión. Es posible observar una clara diferenciación del eje embrionario, con una longitud y anchura promedio de $1,72 \pm 0,08$ mm y $3,46 \pm 0,03$ mm respectivamente. Por su parte, la relación longitud embrión: longitud semilla (E:S) fue de $0,95 \pm 0,005$.

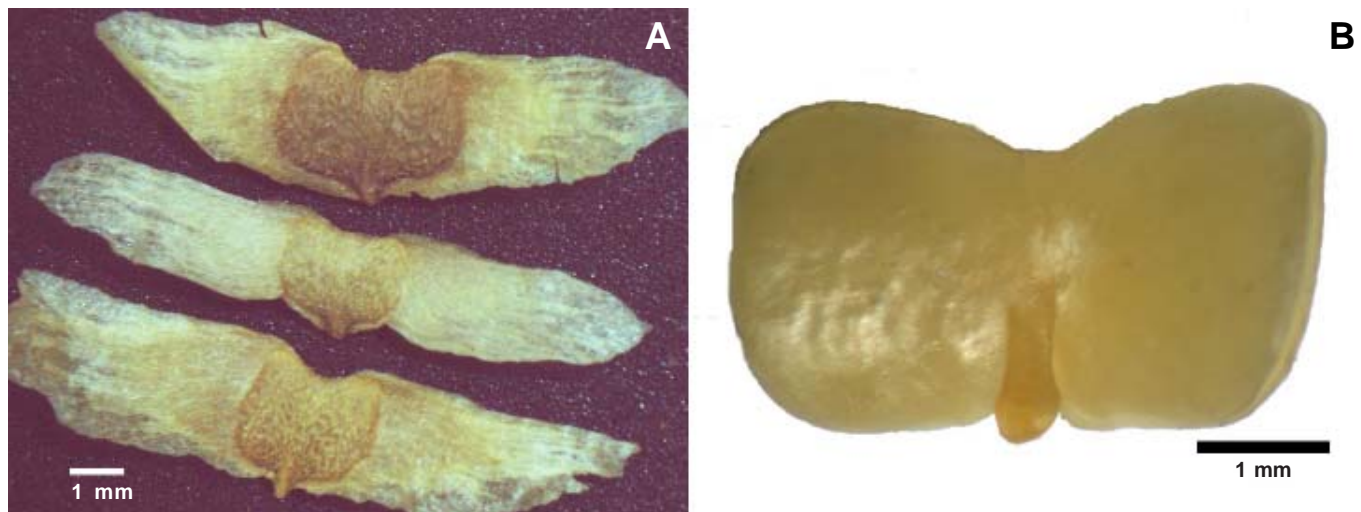


Fig. 1. Vista frontal de las semillas (A) y del embrión axial invertido (B) de *Spirotecoma holguensis*.

Fig. 1. Seeds front view (A) and inverted axial embryo (B) of *Spirotecoma holguensis*.

Requerimientos germinativos

La temperatura ($F=39,87$; $P=0,001$) y la iluminación ($F=33,07$; $P=0,001$) por separado afectaron significativamente el porcentaje de germinación final de las semillas frescas de *Spirotecoma holguensis* (Figura 2A). Sin embargo, la interacción entre la iluminación y la temperatura del sustrato ($F=2,65$; $P=0,065$) no afectó significativamente la germinación. El mayor porcentaje de germinación se obtuvo en el rango de temperatura de 25°C/35°C bajo condiciones de iluminación. En dichas condiciones de siembra se alcanzó un 50,3% de germinación final, lo cual representó el 94,5% del porcentaje de germinación posible dada la viabilidad inicial del lote empleado (53,5%). Los resultados obtenidos a 25°C/35°C bajo condiciones de luz no mostraron diferencias significativas respecto a los alcanzados a 25°C/30°C bajo iluminación, pero sí con relación a los obtenidos a 25°C y 25°C/40°C (Fig. 2 A). A 25°C/45°C no hubo germinación bajo ninguna condición de iluminación. Por su parte, en condiciones de oscuridad permanente las semillas alcanzaron porcentajes de germinación final muy similares (31% como promedio) en las temperaturas de 25°C, 25°C/30°C y 25°C/35°C, pero solo se logró un 10% a 25°C/40°C (Figura 2A). Los porcentajes de semillas muertas en los tratamientos con iluminación a 25°C, 25/30°C y 25/35°C fueron similares al obtenido en la prueba de viabilidad inicial del lote; pero este aumentó significativamente ($F= 49,12$; $P < 0,0001$) a 25/40°C y 25/45°C (Figura 2B).

El tiempo medio de la germinación fue afectado significativamente ($F=15,08$; $P=0,001$) por la temperatura del sustrato (Figura 2C). El menor tiempo de germinación se alcanzó a las temperaturas de 25°C y 25°C/30°C, y no difirió significativamente entre estos tratamientos; pero sí con relación a los resultados

obtenidos a 25°C/35°C y 25°C/40°C. Los resultados obtenidos a estas temperaturas mostraron diferencias significativas ($F=13,2$; $P=0,001$) con relación a los registrados a 25°C/35°C y 25°C/40°C.

El rango de temperatura entre 25°C y 25°C/30°C puede considerarse óptimo para la germinación de la especie; pues se logró un alto porcentaje de germinación, en tiempos medio de germinación menores (Figura 2A y C). El coeficiente de variación del tiempo medio de la germinación, la incertidumbre del proceso germinativo y la sincronización de la germinación no mostraron diferencias significativas ($P=0,25$; $P=0,09$; $P= 0,85$, respectivamente) entre las temperaturas (Figura 2D, E y F).

La curva de germinación diaria para cada temperatura demostró que la germinación comenzó a los tres días a 25°C y 25°C/30°C (Figura 3A y B), pero al aumentar la temperatura del sustrato se inició a los cinco y seis días a 25°C/35°C y 25°C/40°C (Figura 3C y D), respectivamente. También se evidenció que este proceso tuvo una marcada distribución bimodal a 25°C, con dos picos germinativos, mientras que en el resto de las temperaturas ensayadas la distribución fue unimodal, siendo más rápida la aparición del único pico en el rango de 25°C/30°C.

El índice de germinación relativa a la luz a 25°C/30°C fue 0,57 y como promedio en todas las temperaturas ensayadas fue de 0,59. Por tanto, la especie se comportó como fotoblástica indiferente.

Clases de dormancia, sensibilidad a la desecación e identificación del tipo de plántula

Las semillas no presentaron dormancia seminal, pues en la temperatura óptima de germinación se hidrataron y el proceso germinativo comenzó a los tres días, alcanzando

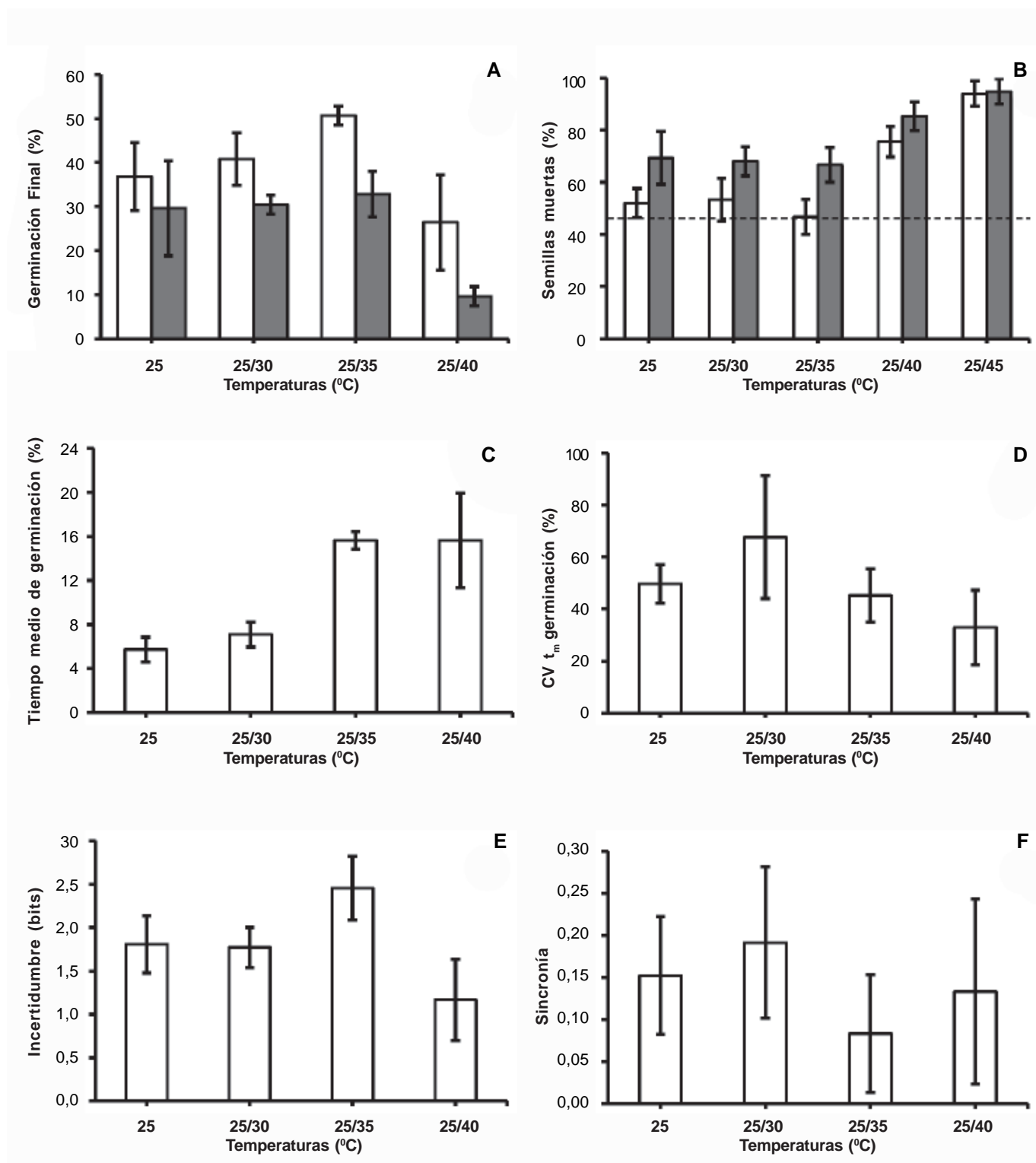


Fig. 2. Medias de los principales descriptores de la germinación de las semillas de *Spirotecoma holguinensis* en las temperaturas ensayadas. Las líneas verticales representan la desviación estándar de la media. Barras blancas: tratamientos con iluminación. Barras grises: tratamientos en oscuridad total. Línea discontinua: porcentaje de semillas no viables para el lote.

Fig. 2. Means of main descriptors of the germination of the seeds of *Spirotecoma holguinensis* at tested temperatures. The vertical lines represent standard deviation of the mean. White bars: lighting treatment. Gray bars: total dark treatment. Dashed line: percentage of non-viable seeds for this lot.

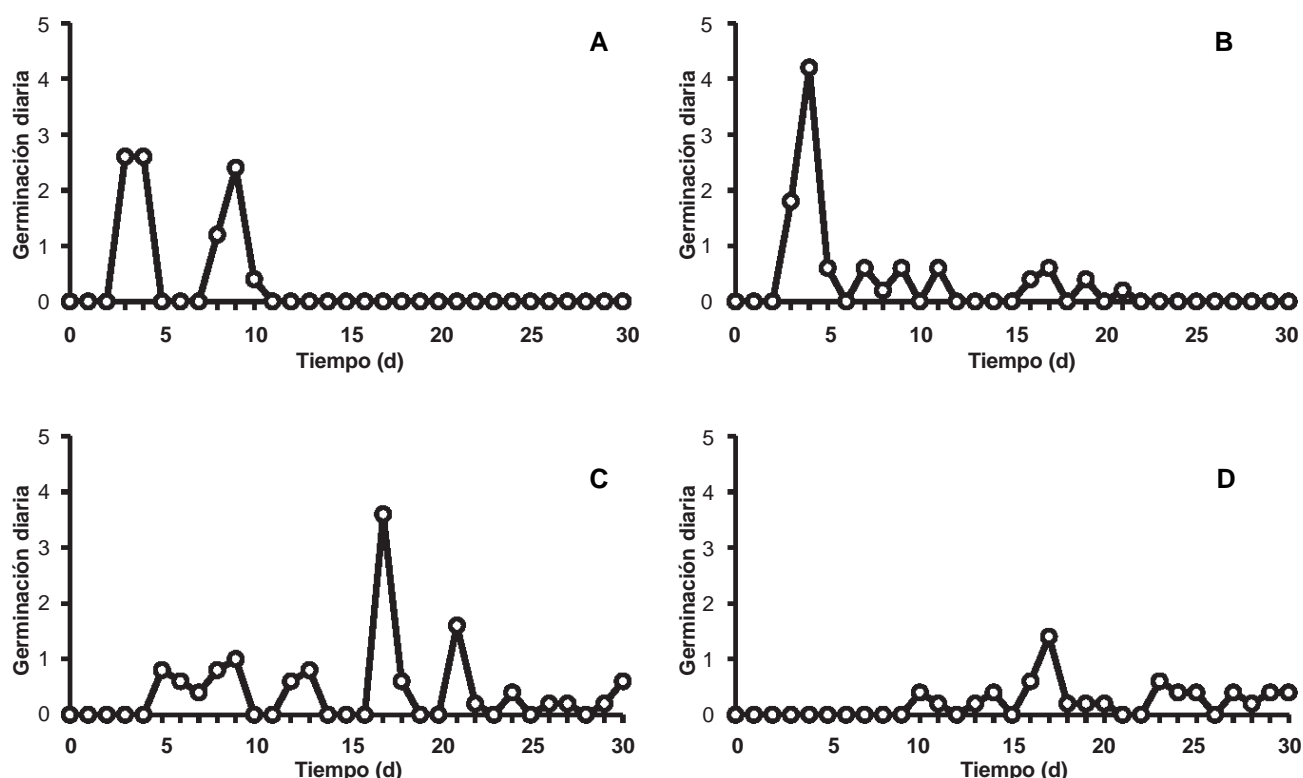


Fig. 3. Medias de la germinación diaria de las semillas de *Spirotecoma holguinensis* en los tratamientos con iluminación. A: Tratamiento de temperatura constante 25°C. B: Tratamiento con rango de temperatura variable 25°C/30°C. C: Tratamiento con rango de temperatura variable 25°C/35°C. Tratamiento con rango de temperatura variable 25°C/40°C.

Fig. 3. Daily germination means of the seeds of *Spirotecoma holguinensis* in lighting treatments. A: Constant temperature 25°C treatment. B: Variable temperature range 25°C/30°C treatment. C: Variable temperature range 25°C/35°C treatment. D: Variable temperature range 25°C/40°C treatment.

más de un 90% de germinación final de acuerdo a la viabilidad inicial. El índice de sensibilidad a la desecación alcanzó un valor de 0,004. Las plántulas de la especie se corresponden con el tipo fanerocotilar epigea con cotiledones foliáceos.

DISCUSIÓN

Los frutos de *Spirotecoma holguinensis* coinciden con los registrados para la familia *Bignoniaceae* (Flores 2002). La forma achatada de semillas y la presencia de alas se corresponden con un síndrome de dispersión por el viento. Se ha comprobado que existe una fuerte asociación entre la forma de la semilla, el tipo de indumento y el mecanismo de dispersión seminal, que evidencian la adaptación de la especie a su hábitat (Montejo & al. 2014).

La longitud de la semilla sin ala (*i.e.*, menor de 5 mm) ubica a la especie en la menor categoría de tamaño seminal propuesta por Hladik & Miquel (1990) para especies arbóreas. Las semillas de esta especie presentaron valores bajos de masa seminal, contenido de humedad e índice de sensibilidad a la desecación, lo que es característico de especies con semillas ortodoxas o tolerantes a la

dsecación durante el almacenamiento, y que viven fundamentalmente de hábitats secos (Pritchard 2004). Estos rasgos también se han identificado en semillas de especies pioneras de Cuba, Panamá y México, que crecen en bosques tropicales siempreverdes y semideciduos (Daws & al. 2006, Sautu & al. 2007, Sánchez & al. 2009a, Soriano & al. 2011, Montejo & al. 2015). Por su parte, la asignación de masa seminal a las cubiertas seminales fue relativamente baja (32,2%) comparado a los resultados obtenidos en árboles y arbustos pioneros estudiados en Cuba (Sánchez & al. 2009b). Esto no implica que la especie no tolere la deshidratación, pues posee otras características seminales ya mencionadas que posiblemente le permitan permanecer viables en el suelo hasta la llegada de las lluvias si no son atacadas por depredadores y patógenos.

Por otra parte, las semillas presentaron un embrión desarrollado invertido típico de la familia *Bignoniaceae* (Finch-Savage & Leubner-Metzger 2006), que ocupó el 95% de la semilla y no presentó dormancia seminal, pues con adecuada disponibilidad hídrica del sustrato la germinación fue rápida y elevada a temperatura

constante de 25°C y alternas de 25°C/30°C y 25°C/35°C. La ausencia de dormancia seminal en *Spirotecoma holguinensis* pudiera explicarse al menos en parte por su fenología. Según observaciones de campo preliminares, esta especie se reproduce anualmente y dispersa sus semillas a inicios de la etapa lluviosa, por lo que las semillas no necesitan atravesar períodos desfavorables antes de germinar. Por otra parte, el tipo de plántula fanerocotilar epigea foliácea que se registró en *S. holguinensis* podría favorecer una emergencia rápida y uniforme, tal como se ha informado para árboles y arbustos pioneros con semillas pequeñas (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993; Garwood 1996; Sánchez 2012, Martínez-Garza & al. 2013); ya que permite a las plántulas desarrollarse bajo condiciones ambientales favorables para su crecimiento. Este tipo de plántula aparece también en *S. apiculata* (Torres-Arias 2003), un congénere de la especie estudiada, que es endémico de los pinares y charrascales del oriente de Cuba.

En *Spirotecoma holguinensis*, la masa asignada a la reservas seminales (embrión/endospermo) fue alta (67,7%), por tanto, las plántulas pueden contar con cierta cantidad de recursos para crecer durante los primeras etapas de su desarrollo, fenómeno también registrado en semillas de *Talipariti elatum* (Sw.) Fryxell y *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. (*Malvaceae*) (Sánchez & al. 2009b). Una alta cantidad de recursos destinada a las reservas es una ventaja en el inicio del crecimiento en suelos pobres en nutrientes (Sánchez & al. 2012), como es el caso de los suelos serpentiniticos (Scott & al. 2014). Sin embargo, en la mayoría de los arbustos y árboles pioneros, que se han estudiado en Cuba, el comportamiento de asignación de biomasa es inverso (Sánchez & al. 2009a, Montejo & al. 2015), posiblemente como vía para permanecer viables en el suelo.

En las condiciones experimentales ensayadas se demostró que las semillas frescas de *Spirotecoma holguinensis* pueden germinar tanto a temperatura constante como alternas, y también bajo condiciones de luz y oscuridad. Ello permite a la especie tener un amplio nicho de germinación, aspecto que debe tener valor adaptativo en el escenario ambiental extremo que ocupa (matorrales xeromorfos espinosos sobre serpentinas). Sin embargo, cabe señalar que los mayores porcentajes germinación final siempre se obtuvieron con los tratamientos que recibieron iluminación, aunque de acuerdo a los resultados obtenidos para el índice de germinación relativa a la luz (0,57) la especie se considera fotoblástica indiferente (Milberg & al. 2000). Este comportamiento germinativo bajo condiciones de iluminación, coincide con el observado en otras especies de la misma familia que parecen ser indiferentes a la luz (Socolowski & Takaki 2004, Santos & al. 2005, Socolowski & al. 2008).

El mayor porcentaje de germinación se obtuvo con el rango de temperatura 25°C/35°C, pero según Robert (1988) y Bradford (1986, 1990) la temperatura óptima para la germinación de las semillas es aquella donde se obtiene la máxima germinación en el menor tiempo posible. Teniendo en cuenta el criterio anterior, se consideró como mejor resultado, el obtenido a la temperatura alterna de 25°C/30°C. Socolowski & Takaki (2004) obtuvieron los mayores porcentajes de germinación final en semillas de *Jacaranda mimosifolia* D. Don (*Bignoniaceae*) a temperatura constante de 25°C. Otros autores, con diferentes especies de *Tabebuia* (*Bignoniaceae*), han obtenido los mejores resultados a temperaturas de 25°C y 30°C (Silva & al. 2004, Santos & al. 2005, Socolowski & al. 2008). Es importante destacar que los autores referidos usaron solo temperaturas constantes y no rangos variables que simulen la variación térmica entre noche y día, que por lo general ocurre en los claros del bosque o ecosistemas abiertos como el sitio de colecta. Por otra parte, el tiempo medio de germinación aumentó significativamente en los termoperíodos superiores a 25°C/30°C. Este retraso puede deberse a la relación termodormancia/termoinhibición que producen en las semillas condiciones desfavorables para el proceso de germinación. Sánchez & al. (2003) registraron este fenómeno en semillas frescas de *Talipariti elatus* y *Cecropia peltata* L. (*Urticaceae*) cuando fueron sembradas a temperaturas subóptimas.

Por su parte, el rango de temperatura de 25°C/40°C fue subletal para la germinación de esta especie, debido a que afectaron considerablemente la viabilidad de las semillas no germinadas (Figura 2B). Es probable que este hecho se deba al agotamiento de las reservas nutricionales destinadas para la germinación (Roberts 1988, Bonner 1998), o a la termoinhibición de eventos bioquímico-fisiológicos relacionados con la fase pregerminativa (ej.: síntesis de proteínas, elongación y división celular), que otros autores han encontrado en condiciones de estrés calórico para semillas de hortalizas (Bray 1995, Sánchez & al. 2003). La respuesta germinativa de las semillas de *Spirotecoma holguinensis* obtenida en los rangos de temperatura de 25°C/40°C y 25°C/45°C evidenciaron que la especie estudiada es muy sensible al incremento de la temperatura del suelo y del aire. Tales incrementos se estiman para los escenarios futuros del Cambio Climático (Core Writing Team & al. 2014). Para Cuba se prevén aumentos entre 1,6°C y 2,5°C de la temperatura media para el 2100 (Planos & al. 2013). De hecho, ya se ha documentado temperaturas de hasta 52°C en los grandes claros de los bosques tropicales de Cuba y de Panamá (Daws & al. 2002, Sánchez 2012). De cumplirse las predicciones de incremento de temperatura para 2100, la regeneración natural de *S. holguinensis* podría verse seriamente comprometida, lo que alteraría además la dinámica de la vegetación debido al papel de esta especie como planta nodriza (Gómez & al. 2013).

CONCLUSIONES

Las semillas frescas de *Spirotecoma holguinensis* no presentan dormancia seminal y germinan mejor bajo condiciones de iluminación (sin llegar a ser fotoblásticas positivas) tanto a temperatura fija como alternas. Por su parte, todos los rasgos de semillas estudiados, excepto la distribución de la biomasa seca a las cubiertas seminales, y el tipo de plántula se corresponden con los registrados para los árboles y arbustos pioneros del Neotrópico. Este grupo funcional, se caracteriza por presentar semillas pequeñas, con bajo contenido de humedad, rápida respuesta germinativa a la alternancia de temperatura del sustrato y a la luz; así como, plántulas con cotiledones fotosintéticos, de rápido crecimiento en lugares abiertos o semiabiertos.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar experimentos que comparen tasa de crecimiento y distribución de biomasa en plántulas de *Spirotecoma holguinensis* que crezcan en claros y bajo el dosel del matorral para tener mayor certeza en su clasificación funcional. Sería factible además, realizar experimentos bajo condiciones de estrés hídrico, que es posiblemente la principal causa de mortalidad en su hábitat, también se debe investigar su conducta germinativa bajo condiciones de salinidad y determinar los efectos de los ciclos de hidratación-deshidratación de las semillas sobre la germinación y establecimiento de la especie.

AGRADECIMIENTOS

Los estudios se realizaron en el marco del proyecto "Componentes de la diversidad biológica empleados por las familias cubanas en la medicina natural y tradicional" del Programa Nacional: "Determinantes de salud, riesgos y prevención de enfermedades en grupos vulnerables". El tercer autor agradece al programa Idea Wild por la ayuda concedida para la realización de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alain. 1957. Flora de Cuba 4. Dicotiledóneas: *Melastomataceae* a *Plantaginaceae*. *Contr. Ocas. Mus. Hist. Nat. Col. "De La Salle"* 16.

Baskin, C.C. & Baskin, J.M. 2014. Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination. Academic/Elsevier. San Diego, CA. Estados Unidos de América.

Baskin, J.M. & Baskin, C.C. 2007. A revision of Martin's seed classification system, with particular reference to his dwarf-seed type. *Seed Sci. Res.* 17: 11-20.

Blanco, F.A. 2001. Métodos apropiados de análisis estadísticos subsiguientes al análisis de varianza (ANDEVA). *Agro. Costa*. 25: 53-60.

Bonner, F.T. 1998. Testing tree seeds for vigor: A review. *Seed Technol.* 20: 5-17.

Borhidi, A. & Herrera. R.A. 1977. Génesis, clasificación y características de los ecosistemas de sabana de Cuba. *Serie Ci. Biol.* 1: 115-130.

Bradford, K.J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *Hort. Sci.* 21: 1105-1112.

Bradford, K.J. 1990. A water relations analysis of seed germination rates. *Plant Physiol.* 94: 840-849.

Bray, C.M. 1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds. pp. 767-789. En: Kigel, J. & Galili, G. (ed.). *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker Inc. New York, Estados Unidos de América.

Core Writing Team, Pachauri, R.K. & Meyer, L.A. 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. IPCC, Geneva, Switzerland.

Capote, R. & R. Berazaín, 1984. Clasificación de las formaciones vegetales de Cuba. *Rev. Jard. Bot. Nac. Univ. Hab.* 5(2): 27-75.

Daws, M.I., Burslem, D.F.R.P., Crabtree, L.M., Kirkman, P., Mullins, C.E. & Dalling, J.W. 2002. Differences in seed germination responses may promote coexistence of four sympatric Piper species. *Funct. Ecol.* 16: 258-267.

Daws M.I., Garwood, N.C. & Pritchard, H.W. 2006. Prediction of Desiccation Sensitivity in Seeds of Woody Species: A Probabilistic Model Based on Two Seed traits and 104 Species. *Ann. Bot.* 97: 667-674.

Daws, M.I., Crabtree L.M., Dalling, J.W., Mullins C.E. & Burslem D.F.R.P. 2008. Germination responses to water potential in neotropical pioneers suggest large-seeded species take more risks. *Ann. Bot.* 102: 945-951.

Finch-Savage, W.E. & Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.* 171: 501-523.

Flores, E. 2002. Seed biology. Chapter I. pp. 13-105. En: Vozzo, J.A. (ed.). *Tropical Tree Seed Manual*. Agriculture Handbook. no. 721. US Department of Agriculture Forest Service. Washington DC, Estados Unidos de América.

Funes, G., Díaz, S. & Venier, P. 2009. La temperatura como principal determinante de la germinación en especies del Chaco seco de Argentina. *Ecol. Aust.* 19: 129-138.

Garwood, N.C. 1996. Functional morphology of tropical tree seedlings. pp. 59-130. En: Swaine, M.D. (ed.). *The ecology of tropical tree seedling*. Parthenon. New York, Estados Unidos.

Gentry, A. H. 1992. *Bignoniaceae* Part 2 (Tribe *Tecomae*). *Fl. Neotrop. Monogr.* 25(2): 1-370.

Gómez, J.L. 2010. Estructura y composición florística de la vegetación derivada de la degradación de los cuabales de San Andrés, Holguín. Santiago de Cuba. Tesis de licenciatura. Universidad de Oriente.

Gómez, J.L. & Cuellar, N. 2012. Flora de las serpentinitas de San Andrés, Holguín, Cuba. *Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana* 32-33: 111-124.

- Gómez, J.L., Leyva, O., Hernández Y., Reynaldo E. & González-Torres L.R. 2013. *Spirotecoma holguinensis*, una especie importante en la conservación de los cuabales de Holguín. *Bissea* 7(4): 1-1
- González, P.A., La'O, J.A. & Sigarreta, S. 2001. Vegetación del Parque Monumento Nacional Bariay, Cuba. *Brenesia* 55-56: 81-100.
- Hladik, A. & Miquel, S. 1990. Seedling types and plant establishments in an African rain forest. Cp. 19. pp. 261-276. En: Bawa, K.S. & Hardley, M. (ed.). Reproductive ecology of tropical forest plants Vol.7 MAB. Parthenon Publishing Group, Paris, France.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2007. International rules for seed testing. Bassersdorf, Switzerland.
- Judd, W.S., C.S. Campbell, E.A. Kellogg, P.F. Stevens & M.J. Donoghue. 2016. Plant systematics: a phylogenetic approach. 4th Ed. Sinauer Associates. Massachusetts, Estados Unidos de América.
- Jurado, E. & Flores, J. 2005. Is seed dormancy under environmental control or bound to plant traits. *J. Veg. Sci.* 16: 559-564.
- Martínez-Garza, C., Bongers, F. & Poorter L. 2013. Are functional traits good predictors of species performance in restoration plantings in tropical abandoned pastures? *For. Ecol. Manage.* 303: 35-45.
- Milberg, P., Anderson, L. & Thompson, K. 2000. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Sci. Res.* 10: 99-104.
- Montejo, L., Muñoz, B.C., Sánchez, J.A. & Gamboa, A. 2014. Variabilidad seminal entre las especies de un bosque siempreverde tropical de la Sierra del Rosario, Cuba. *Bosque* 31: 37-47.
- Montejo, L., Sánchez, J.A., Muñoz, B.C. & Gamboa, A. 2015. Caracterización de semillas de un bosque siempreverde tropical del oeste de Cuba. Correlaciones ecológicas entre rasgos. *Bosque* 36: 211-222.
- Muñoz, B.C., Sánchez, J.A., Montejo, L., Herrera, P. & Gamboa, A. 2012. Guía técnica para la reproducción de especies arbóreas pioneras. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, Instituto de Ecología y Sistemática. La Habana, Cuba.
- ONEI (Oficina Nacional de Estadísticas e Información). 2015. Anuario Estadístico Provincia Holguín 2014. Oficina Nacional de Estadística e Información Provincia Holguín. Holguín. Cuba.
- Planos, E., Rivero, R. & Guevara, V. 2013. Impacto del cambio climático y medidas de adaptación en Cuba. 1ra ed. Instituto de Meteorología, Agencia de Medio Ambiente, CITMA. La Habana. Cuba.
- Pritchard, H.W. 2004. Classification of seed storage 'types' for ex situ conservation in relation to temperature and moisture. pp. 139-161. En: Guerrant, E.O., Havens, K., Maunder, M., (ed.). Ex situ plant conservation: supporting species survival in the wild. Island Press. Washington, DC, Estados Unidos de América.
- Ranal, M.A. & Santana D.G. 2006. How and why to measure the germination process? *Braz. J. Bot.* 29:1-11.
- Ranal, M., Santana, D.G., Ferreira, W.R. & Mendes-Rodrigues, C. 2009. Calculating germination measurements and organizing spread sheets. *Braz. J. Bot.* 32: 849-855.
- Roberts, E.H. 1988. Temperature and seed germination. pp. 109-132. En: Long, S.P. & Woodward, F.I. (ed.). Plants and temperature. Society for Experimental Biology, Cambridge, London. Reino Unido.
- Sánchez, J.A., Muñoz, B. & Montejo, L. 2003. Efectos de tratamientos robustecedores de semillas sobre la germinación y establecimiento de árboles pioneros bajo condiciones de estrés. *Ecotropicos* 16: 91-112.
- Sánchez, J.A., Muñoz, B.C. & Montejo, L. 2009a. Rasgos de semillas de árboles en un bosque siempreverde tropical de la Sierra del Rosario. *Pastos Forraj.* 32: 141-164.
- Sánchez, J.A., Muñoz, B.C., Montejo, L. & Herrera, R. 2009b. Ecological grouping of tropical trees in an evergreen forest of the Sierra del Rosario, Cuba. *Acta Bot. Cub.* 204: 14-23.
- Sánchez, J.A., Suárez, A.G., Montejo, L. & Muñoz, B.C. 2011. El cambio climático y las semillas de las plantas nativas cubanas. *Acta Bot. Cub.* 214: 38-50.
- Sánchez, J.A., Muñoz, B.C., Montejo, L., Lescaille, M. & Herrera, R. 2011-2012. Tamaño y nutrientes de semillas en 32 especies arbóreas de un bosque tropical siempreverde de Cuba y su relación con el establecimiento de las plántulas. *Rev. Jard. Bot. Nac. Univ. Habana.* 32-33: 181-204.
- Sánchez, J.A. 2012. Ecofisiología de semillas y plántulas de árboles y arbustos de la Sierra del Rosario. Informe Final de Proyecto, Programa Diversidad Biológica (DB-032). Instituto de Ecología y Sistemática, Agencia de Medio Ambiente. La Habana. Cuba.
- Sánchez, J.A., Montejo, L., Gamboa, A., Albert-Puentes, D. & Hernández, F. 2015. Germinación y dormancia de arbustos y trepadoras del bosque siempreverde de la Sierra del Rosario, Cuba. *Pastos Forraj.* 38: 11-28.
- Santos, D.L., Sugahara, V.Y. & Takaki, M. 2005. Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich, *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. e *Tabebuia roseo-alba* (Ridl) Sand - *Bignoniaceae*. *Cienc. Flor.* 15(1): 87-92.
- Sautu, A.E., Baskin, J.M., Baskin, C.C., Deago, J. & Condit, R. 2007. Classification and ecological relationships of seed dormancy in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America. *Seed Sci. Res.* 17: 127-140.
- Scott, W. 2014. Multiple origins of serpentine-soil endemism explained by preexisting tolerance of open habitats. *PNAS*. 111(42): 14968-14969.
- Silva, E.A.A., Davide, A.C., Rocha, J.M., Bandeira, D.L. & Barbosa, G. 2004. Germination studies on *Tabebuia impetiginosa* Mart. seeds. *Cerne*. 10(1): 1-9.
- Socolowski, F. & Takaki, M. 2004. Germination of *Jacaranda mimosifolia* (D. Don - *Bignoniaceae*) Seeds: Effects of Light, Temperature and Water Stress. *Brazil. Arch. Biol. Technol.* 47(5): 785-792.
- Socolowski, F., Vieira, D.C.M. & Takaki, M. 2008. Interaction of Temperature and Light on Seed Germination in *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (*Bignoniaceae*). *Brazil. Arch. Biol. Technol.* 51(4): 723-730.
- Soriano, D., Orozco-Segovia, A., Márquez-Guzmán, J., Kitajima, K., Gamboa-de Buen, A. & Huante, P. 2011. Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Ann. Bot.* 107: 939-951.
- Thompson, K.; Band, S.R. & Hodgson, J.G. 1993. Seed size and shape predict persistence in soil. *Funct. Ecol.* 7: 236-241.

Torres-Arias, Y. 2003. Grupos funcionales de especies forestales en base a las características de sus semillas y plántulas, Holguín. La Habana. Tesis de maestría. Instituto de Ecología y Sistemática.

Vázquez-Yanes, C. & Orozco-Segovia, A. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 24: 69-87.

Vázquez-Yanes, C. & Orozco-Segovia, A. 1994. Signals for seeds to sense and respond to gaps. pp. 209-235. En: Caldwell, A., Marlyn, M. & Pearcy, R.W. (ed.). *Exploitation of environmental heterogeneity by plants*. Academic Press: Londres, Reino Unido.

Zalamea, P.C., Sarmiento, C., Arnold, A.E., Davis, A. S. & Dalling J.W. 2015. Do soil microbes and abrasion by soil particles influence persistent and loss of physical dormancy in seeds of tropical pioneers? *Plant Sci.* DOI:10.3389/fpls.2014.00799.

Willis, C.G., Baskin, C.C., Baskin, J.M., Auld, R., Venable, D.L., Cavender-Bares, J., Donohue, K., Casas, R., & The NESCent Germination Working Group. 2014. The evolution of seed dormancy: environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytol.* 203: 300-309.