

Microcycas calocoma: Caracteres de la semilla y su germinación.

Esperanza Peña García, Lourdes Díaz Canals, Emma Grillo Mensa
Laboratorio de Fisiología Vegetal, Jardín Botánico Nacional, Universidad
de La Habana

RESUMEN

El conocimiento de los caracteres generales de las semillas así como sus posibilidades de germinación en condiciones naturales y controladas resultan importantes para la aplicación de medidas que influyan en la conservación de *Microcycas calocoma*. Se ofrecen datos del momento de maduración de las semillas y sus caracteres externos e internos, características del proceso de germinación y resultados de la germinación de semillas en condiciones naturales y controladas. Los resultados demuestran que la semilla y su germinación no son causa de la extinción paulatina de esta valiosa especie. Se discuten los resultados.

ABSTRACT

Knowledge of general features of the seeds and possibilities of their germination in natural and controlled conditions are important for applying concrete methods for the conservation of *Microcycas calocoma*. Data of maturation moment of the seeds and their external and internal features, characteristics of the germination process and results of germinating seeds under natural and controlled conditions are offered. The results demonstrate that the seed and its germination are not to be considered as causes of the progressive extinction of this valuable species. Results are discussed.

INTRODUCCIÓN

Actualmente la conservación de especies endémicas de valor botánico constituye un motivo de preocupación permanente para los especialistas cubanos, quienes encaminan su trabajo hacia la reproducción acelerada de especies en peligro de extinción y al establecimiento de las causas que determinan el proceso, con el objetivo de lograr su desarrollo bajo la protección del hombre en áreas destinadas al efecto.

Microcycas calocoma (Miq.) A. DC, especie endémica que habita en el extremo occidental de Cuba reviste interés especial desde este punto de vista.

Desde principios de siglo se comenzaron a reportar sus caracteres morfológicos (Coulter y Chamberlain, 1901; Caldwell y Baker, 1907; Caldwell, 1907; Dorety, 1909; Reynolds, 1924; Chrysler, 1926; Downie, 1923; Chamberlain, 1931; Cendrero, 1940; Foster y Rodríguez San Pedro, 1942; Mercado, 1977), variados aspectos de sus estructuras vegetativas y reproductoras (Caldwell, 1907; Dorety, 1909; Reynolds, 1924; Chrysler, 1926; Downie, 1928; Sax y Beal, 1934; Foster, 1943; Greguss, 1963; Suess y Mueller-Stoll, 1970; Mercado, 1977; Stevenson, 1980), restricciones naturales en el proceso de polinización natural y método para lograrla exitosamente (Cendrero, 1940) así como un elevado número de datos relacionados con observaciones diversas en el campo, entre las que se describen condiciones ecológicas, número de ejemplares y estado de las poblaciones (Caldwell, 1907; Cendrero, 1940; Foster y Rodríguez San Pedro, 1942; Mercado, 1977; Del Risco, 1984).

Aunque variadas son las hipótesis que tratan de explicar la reducción del número de las poblaciones y de los individuos por población, no existe la demostración de las mismas sobre la base de trabajos científicos programados al efecto. Es por ello que la investigación encaminada a profundizar en todo el proceso de reproducción de *Microcycas*, contribuirá a determinar causas reales que están influyendo en su extinción paulativa y las posibilidades de su conservación.

El estudio de los caracteres de la semilla así como su germinación como parte del proceso de reproducción constituyen aspectos que, aunque referidos por algunos autores (Caldwell, 1907); Dorety, 1909; Cendredo, 1940) resultan incompletos para su aplicación con el fin de la conservación de la especie. Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo incrementar el conocimiento existente en el tema y determinar si la semilla madura, por su estructura o por su viabilidad, está involucrada en la extinción natural de la especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

I. Caracterización de las semillas

Para realizar la caracterización de las semillas maduras se utilizaron dos lotes de semillas: uno procedente de una localidad del área protegida de "Mil Cumbres" (1) y el otro de Santo Tomás en Viñales (2).

Las semillas del lote 1 se colectaron a principios del mes de agosto; antes de su abscisión del estróbilo. Después de la recolección, las 85 semillas se almacenaron durante 3,5 meses dejando incidencia de la luz natural y humedad ambiental.

Se evaluaron los siguientes caracteres:

1. Peso de cada semilla
2. Forma
3. Color de los estratos tegumentarios
4. Textura de los estratos tegumentarios
5. Grosor de los estratos tegumentarios
6. Partes del embrión
7. Localización y número de embriones
8. Longitud del embrión
9. Caracteres cualitativos de las partes del embrión
10. Estado de la nucela
11. Caracteres cualitativos de la coleorriza
12. Caracteres cualitativos del suspensor.

Las semillas del lote 2 se colectaron a mediados de septiembre, después de ocurrida su separación natural del estróbilo.

En una muestra aleatoria de 30 semillas se examinaron los mismos caracteres que para el lote 1. La morfología externa y parámetros físicos fueron evaluados en las 100 semillas colectadas, y la variación del peso de las "semillas" mantenidas en condiciones de germinación fue evaluada entre septiembre y diciembre cada 36 días.

La gran homogeneidad de los valores resultantes para los distintos caracteres cualitativos y cuantitativos evaluados no hizo necesario un procesamiento biométrico. Los caracteres variables están asociados a la fisiología del desarrollo, por lo que los resultados se ofrecen en su rango de variación o en los máximos alcanzados, teniendo en cuenta los objetivos concretos del presente estudio.

II. Características de la germinación de semillas

Para la caracterización del proceso de germinación de las semillas se utilizaron 100 semillas procedentes de Santo Tomás en Viñales, las cuales fueron colectadas a mediados de septiembre y puestas a germinar de inme-

diato en cajas de propagación de madera que contenían una capa de mezcla de suelo del área de colecta. Las semillas se colectaron sobre el sustrato humedecido regularmente, con su eje mayor paralelo a la superficie, tal y como ocurre en condiciones naturales. Las cajas de propagación permanecieron en el interior del laboratorio pero expuestas a la luz natural directa que incidía sobre las mismas en horas de la mañana. Se realizó una evaluación sistemática para determinar:

1. Momento de iniciación del proceso.
2. Región por donde comienza la ruptura del tegumento.
3. Caracterización de los cambios que ocurren en las fases iniciales de la germinación.
4. Dimensión que alcanza la proyección de los cotiledones.
5. Momento en que se desarrolla el hipocotilo y sus características.
6. Momento en que se origina la radícula y caracteres iniciales.

Los aspectos generales del proceso se evaluaron en semillas caídas del mismo estróbilo que se dejaron en sus condiciones naturales originales. A finales de octubre se realizó una evaluación detallada a una muestra de 100 semillas con el objetivo de comparar las distintas fases del proceso contenido en la muestra con el estudio de laboratorio y establecer posibles diferencias.

III. Posibilidades de germinación de las semillas.

Para determinar el momento en que se inicia el proceso de germinación, su extensión, el por ciento de semillas que germina y el efecto de un período de reposo impuesto se utilizaron distintos lotes de semillas.

1. 200 semillas a germinar en condiciones naturales después de su desprendimiento del estróbilo.
2. 100 semillas a germinar en las condiciones de laboratorio referidas en II colectadas del suelo y sembradas de inmediato.
3. 70 semillas a germinar en las condiciones de laboratorio referidas en II, colectadas antes de su caída al suelo y almacenadas como se refiere en I para el lote 1, lo cual conlleva un reposo impuesto. Además, estas semillas fueron desprovistas de su tegumento externo inmediatamente antes de su utilización para este estudio.

IV. Desarrollo de embriones maduros a plántulas "in vitro"

Semillas colectadas de una localidad de "Mil Cumbres" a principios de agosto, antes de su caída al suelo fueron utilizadas como fuente de embriones maduros para su crecimiento "in vitro". Se sembraron embriones con tiempos de almacenaje diferentes (3,5, 4, 4,5 y 7 meses).

El material se sembró completo y fragmentado. En el caso de los embriones fragmentados, se realizó un corte transversal al mismo, dejando sólo

los 5 mm de la región fusionada de los cotiledones (de color blanco) próximos a la región basal (rosada) de los mismos.

La separación de los embriones, su esterilización en legía comercial y siembra en el medio mineral de Murashige y Skoog (1962) se realizó en condiciones estériles bajo flujo laminar.

La siembra se realizó siempre colocando el embrión perpendicular a la superficie del medio con los cotiledones inmersos hasta su región basal, donde comenzaba la ranura, y que coincidía con un cambio de coloración (de blanco en la parte inmersa y rosada en el resto).

El crecimiento de los embriones fue estudiado en condiciones controladas de luz y temperatura. Períodos de 15 horas de oscuridad alternando con nueve horas de luz y una temperatura oscilante entre 23 y 27°C caracterizaron sus condiciones de crecimiento.

RESULTADOS

I. Caracteres de las semillas

Los caracteres cuantitativos y cualitativos analizados muestran una constancia dentro de cada lote, relacionándose las diferencias entre estos a estadios fisiológicos diferentes (naturales o impuestos).

Las semillas procedentes del lote 1 tienen un peso promedio de 4,39 gr. su forma es irregular y las variaciones en ésta se originan durante el desarrollo del macrogametofito, en que el aumento de tamaño de cada unidad en el estróbilo se traduce en el desarrollo de presiones entre los óvulos contiguos.

La consistencia carnosa del estrato tegumentario externo permite las deformaciones. Después de formada la semilla, durante la etapa de maduración, su aspecto irregular se relaciona además a la deshidratación gradual de este tegumento que de color rosado inicialmente, se torna pardo-amari-llento en esta fase. Los cortes practicados a la semilla en distintos planos evidencian la variabilidad en el espesor del estrato tegumentario carnoso, que llega a alcanzar 4 mm de espesor.

En contacto con la superficie interna del estrato externo existe una segunda capa tegumentaria definida, dura, lisa, de color pardo y espesor homogéneo de 1 mm. Su superficie externa es opaca mientras que la interna es bien brillante (figura 1).

A nivel de esta cubierta se distingue externamente la huella del micropilo en un extremo, que consiste en un punto algo hundido limitado por una región parda oscura prominente (figura 2).

En el extremo opuesto, como un punto más claro prominente y limitado por una región ligeramente más oscura que el resto de la superficie, se localiza la zona de unión de la semilla al esporofilo (figura 3).



Figura 1. Caracteres de las cubiertas de la semilla madura de *Microcyacas calocoma*. Se observa una semilla cortada longitudinalmente desprovista del endospermo primario y embrión. Se evidencian el espesor variable del tegumento externo carnoso y el espesor constante del tegumento interno cuya superficie interna es brillante. Se destaca la huella de los restos de nucela en la zona de íntima adhesión.

Figura 2. Vista superficial de una semilla de *Microcyacas calocoma* desprovista del tegumento externo en que se observan la huella del micropilo como punto undado y los caracteres de la superficie externa del tegumento interno.

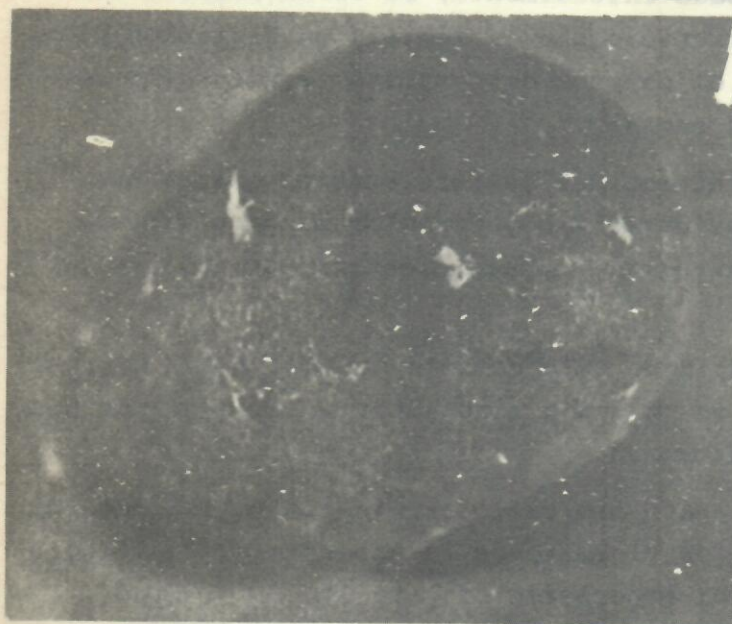
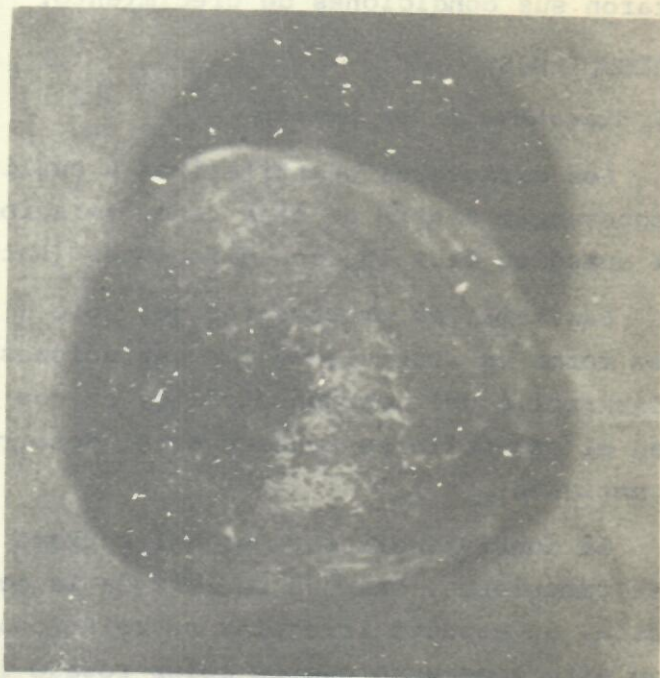


Figura 3. Vista superficial de una semilla de *Microcyacas calocoma* desprovista del tegumento externo en que se observan las características de la superficie externa del tegumento interno y de la región de unión de la semilla al esporofilo.

Limitado exteriormente por los tegumentos y separado de estos en mayor o menor grado, se observa el endospermo de la semilla, cuya sección longitudinal media puede ser ovalada, elíptica o aovada, en concordancia con la forma del tegumento interno que lo limita externamente. Su superficie es lisa o rugosa, lo cual se relaciona con el grado de hidratación, y el color varía entre blanco hueso y blanco amarillento. El tercio micropilar del endospermo está revestido por una fina capa de color pardo que representa los restos de la nucela. En posición axial y en el mismo extremo se observan los restos de coleorriza a manera de disco pardo negruzco, papiráceo, de 4 mm de diámetro unido al largo y fino suspensor que se mantiene arrollado en espiral (figura 4).

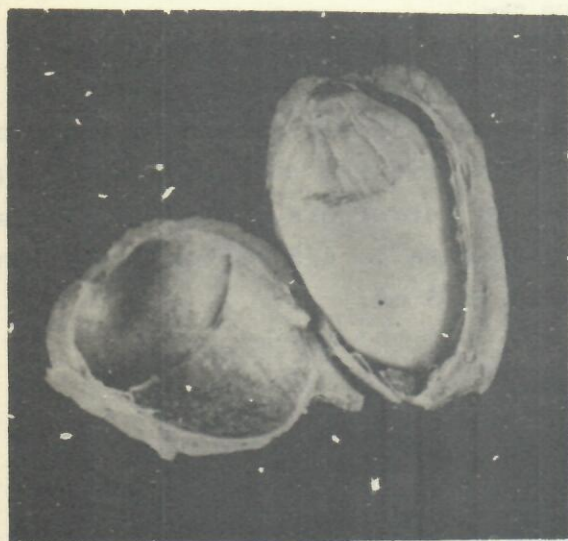


Figura 4. Semilla madura de *Microcycas calocoma* cortada longitudinalmente a nivel de los tegumentos. Se distinguen los restos de coleorriza, el endospermo de la semilla ligeramente deshidratado y los restos de nucela hacia el tercio micropilar.

Con variaciones grandes en su desarrollo y débilmente unido a los restos de coleorriza existe un sólo embrión dispuesto según el eje de la semilla (figura 5). En el extremo próximo a la región micropilar, se distingue una región más o menos cilindrocónica, de color rosado, que varía entre 3 y 6 mm de longitud y cuya sección transversal tiene diámetro entre 2,5 y 3,5 mm. Esta región está constituida por la base fusionada de ambos cotiledones; que envuelven completamente al ápice caulinar muy poco desarrollado. El resto de los cotiledones, rectos o en espiral, forman una estructura compacta de color blanco, en la que no se distinguen los límites de cada cotiledón en el plano de fusión (figura 6). El cuerpo de los cotiledones representa aproximadamente el 80 % de la longitud del embrión. En ocasiones, en la región que forma la base de los cotiledones, se observa una línea tenue que representa el plano de unión entre estos y que se distingue más, mientras mayor es el desarrollo del embrión.

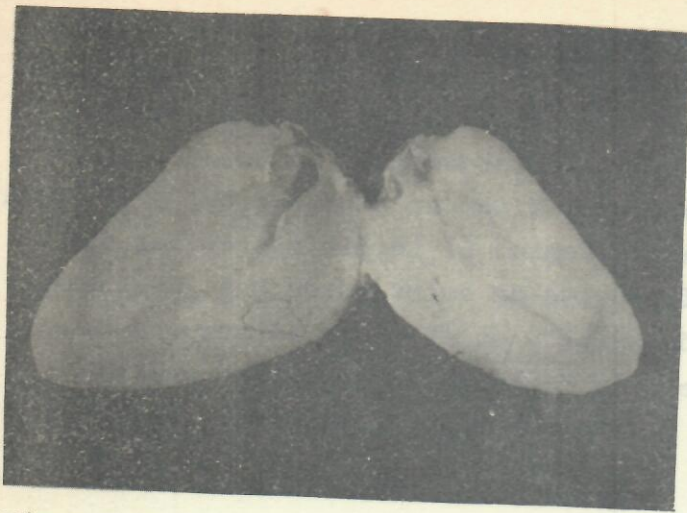


Figura 5. Endospermo primerio de una semilla madura de *Microcycas calocoma* cortado longitudinalmente. Se observan los caracteres generales del embrión localizado en posición axial.



Figura 6. Embrión de *Microcycas calocoma* aislado a partir de una semilla madura.

Las semillas colectadas después de caer al suelo tienen la misma estructura básica, sólo que el tegumento carnoso externo no está presente (figura 7). Los embriones también mantienen su estructura, sólo que el desarrollo final alcanzado es homogéneo y representa la 4/5 partes de la longitud de la semilla, con un diámetro promedio de 5 mm.

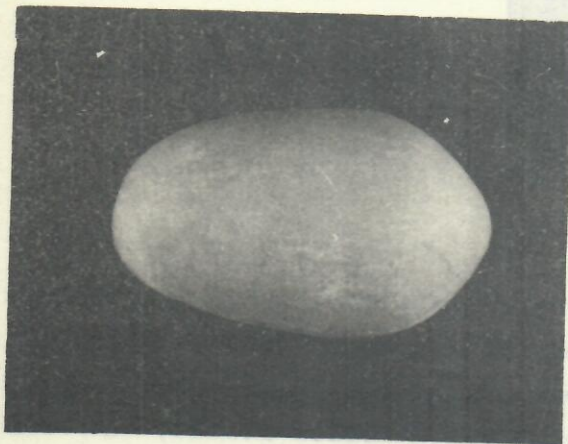


Figura 7. Vista superficial de una semilla de *Microcycas calocoma* colectada del suelo después de perder su tegumento externo.

El peso de estas "semillas" (lote 2) se registró durante el tiempo en que se evaluó el proceso de germinación tanto en las semillas mantenidas en la localidad natural como las que se germinaron en condiciones de laboratorio. Las semillas no germinadas se pesaron cada 36 días desde el 16 de septiembre y los resultados de las tres evaluaciones realizadas se presentan en la tabla I.

El hecho de que la evaluación al comenzar la experiencia (1) el peso promedio del total de "semillas" (\bar{x} total) coincidiera en las muestras de laboratorio y de campo, así como el de verdaderas semillas (\bar{x} (TOTAL-n)) refleja una homogeneidad en las muestras utilizadas, teniendo en cuenta la

misma variación en el peso de las semillas dentro de cada muestra.

A los 36 días se observa un ligero incremento en el peso promedio de las semillas que aún no habían germinado, tanto en las semillas estudiadas en el laboratorio como en condiciones de campo. Sin embargo, en la última evaluación realizada se manifiesta un decremento grande en los pesos promedios, que resultan significativamente reducidos en las condiciones de campo y que representan el 5,3 % de su peso calculado para octubre en las semillas de laboratorio y una de un 16,4 % en las de campo.

Los valores de peso que se ofrecen como "semillas" (\bar{X} TOTAL) incluyen uno o dos valores inferiores a la mitad del peso promedio de las semillas y que al culminar las evaluaciones, el análisis de su estructura desde el punto de vista morfológico, no se correspondía con una semilla sino con un óvulo en el cual no había ocurrido la formación y/o desarrollo total del embrión y que atravesaba por un proceso de degeneración.

No. de la evaluación	Peso de las semillas (en gr.)	LABORATORIO		CAMPO	
		\bar{X} TOTAL	\bar{X} (TOTAL-n)	X TOTAL	X (TOTAL-n)
1		2,75	2,81	2,74	2,81
2		2,80	2,86	2,85	2,88
3		2.62	2,71	2,13	2,41

Tabla I: Variación del peso de las semillas del lote 1 durante cuatro meses en condiciones de germinación en el laboratorio y en su habitat natural. \bar{X} TOTAL, pero promedio del total de semillas sin comprobar su estructura interna: \bar{X} (TOTAL-n), pero promedio del total de semillas con embriones: 1, 2 y 3, evaluaciones cada 36 días comenzando el 16 de septiembre.

II. Germinación de las semillas

A. Germinación en condiciones naturales

El proceso de germinación de las semillas de *Microcycas* en condiciones naturales ocurrió desde mediados de septiembre hasta finales del mes de octubre. Ya bien sobre hojarasca, entre esta o en las oquedades de las rocas, y siempre en posición horizontal, la germinación comienza por la proyección de la base de los cotiledones a través del extremo micropilar. La región proyectada está limitada en su extremo libre por los restos de coleoriza, que se distingue como un disco pardo-negruzco, que junto al suspensor se desprende fácilmente durante el proceso.

La región basal del embrión, constituida por la base fusionada de los cotiledones es de color rosado cuando rebasa los límites de los estratos tegumentarios. Cuando esta proyección, que crece según el eje de la semilla, alcanza entre 5 y 8 mm de longitud, comienza a currarse hacia

el sustrato. A medida que continúa el crecimiento a pocos milímetros del extremo libre y en posición dorsiventral se observa una ranura que se extiende hasta la región micropilar. Paralelamente comienza el desarrollo de un hipocotilo, de color rosado en sus primeras etapas, aunque con rapidez se torna rosa-pardo hasta pardo-amarillento. La longitud que alcanza el hipocotilo es variable y su forma es cilíndrico-cónica. A partir de su extremo distal, tardíamente se origina la radícula que se distingue fácilmente por su coloración, que oscila entre beige y blanco hueso, así como por su forma cilíndrica (figura 8).

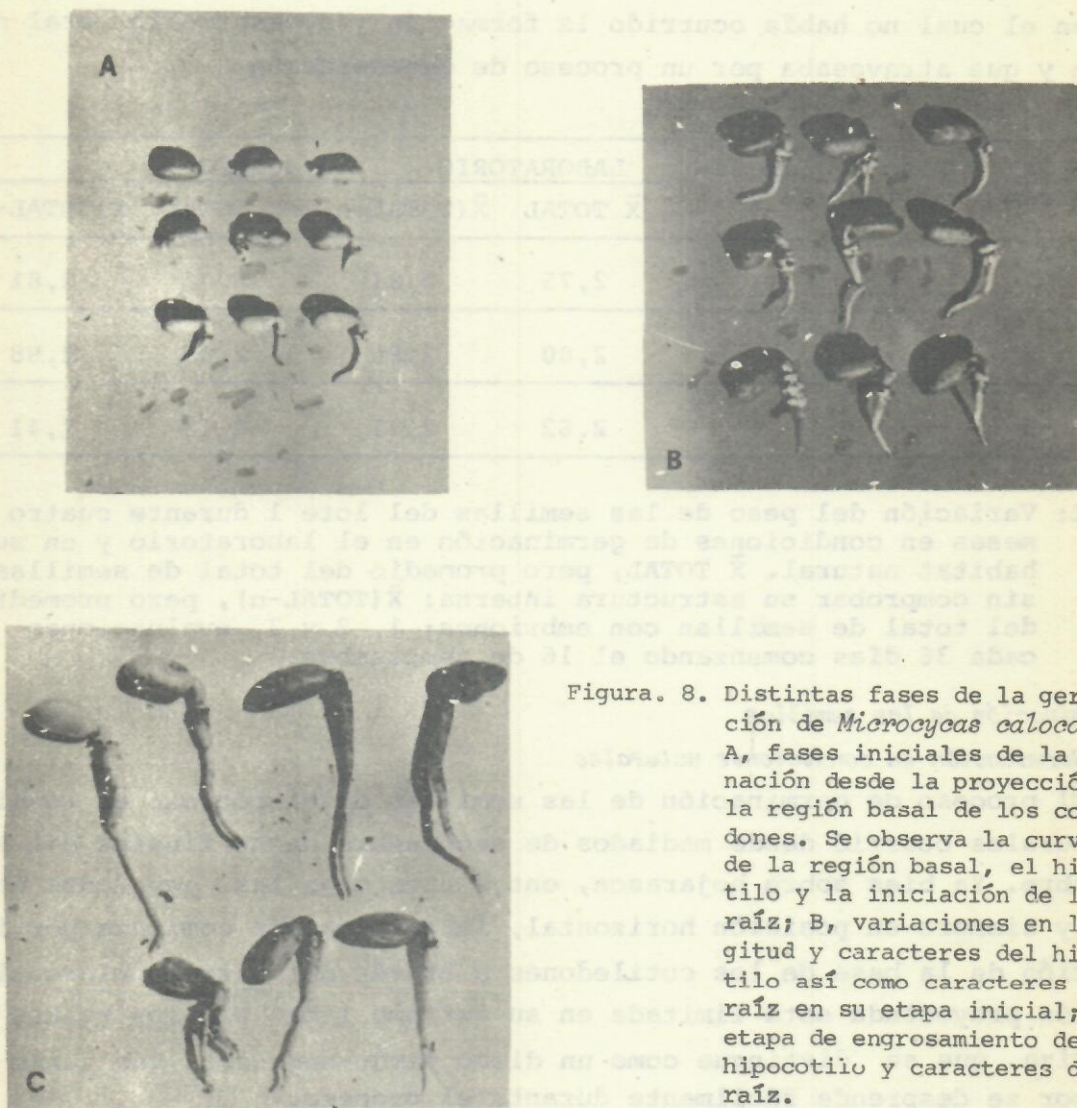


Figura. 8. Distintas fases de la germinación de *Microcycas calocoma*. A, fases iniciales de la germinación desde la proyección de la región basal de los cotiledones. Se observa la curvatura de la región basal, el hipocotilo y la iniciación de la raíz; B, variaciones en la longitud y caracteres del hipocotilo así como caracteres de la raíz en su etapa inicial; C, etapa de engrosamiento del hipocotilo y caracteres de la raíz.

Un mes después de ocurrida la germinación comienza a observarse la desecación y muerte de las jóvenes plántulas, que en su mayoría no tiene condiciones de sustrato adecuadas que permitan la penetración de las raíces y la consecuente implantación de las plántulas. Generalmente esto ocurre antes de que se haga visible el desarrollo del primer primordio foliar.

Las semillas germinaron en un 75 % del material estudiado.

B. Germinación en condiciones de laboratorio.

El comportamiento de la germinación de semillas de *Microcycas* resultó diferente en relación con el momento y forma de colecta así como por condiciones de reposo impuestas o no.

Las semillas colectadas del suelo en septiembre (Lote 2), a pesar de su recogida, transportación y siembra después de 48 horas sin ningún tipo de cuidado especial germinaron en el mismo rango de tiempo, con iguales características y en igual porcentaje que en sus condiciones naturales.

Sin embargo, las semillas colectadas de la planta (Lote 1) y almacenadas durante 3,5 meses se mantuvieron, después de separarles el tegumento externo, en las condiciones de germinación referidas en II por un período de cuatro meses sin que se lograra la germinación de ninguna. Al cabo de este tiempo se analizó su estructura interna. Además de una evidente y muy variable pérdida en peso, se pudo comprobar, que sólo el 50 % de estas contenía el embrión, con grado de desarrollo variable, vivo. En un reducido grupo de semillas el embrión se encontraba muy reducido y totalmente deshidratado al igual que el tejido del macrogametofito. Se evidenció la ocurrencia de un desarrollo inicial por el tamaño alcanzado por la cavidad en que se distinguió el embrión. Además, resultó de particular interés el número elevado de óvulos no fecundados o en los que el embrión degeneró en los primeros estadios de su desarrollo. La estructura del gametofito en este caso presentaba las regiones correspondientes a los arquegonios huecos y todo el gametofito deshidratado, endurecido y de color gris claro.

Los resultados obtenidos a partir de semillas almacenadas reflejan la imposibilidad de estas de inhibirse, condición indispensable para que se logre una germinación a partir de semillas cuyos embriones hayan alcanzado el desarrollo adecuado.

III. Desarrollo de embriones maduros a plántulas "in vitro"

La posibilidad de desarrollar embriones maduros "in vitro" fue estudiada en semillas procedentes del lote 1 almacenadas por tiempos entre 3,5 y 7 meses..

Se extirparon embriones completos y su desarrollo continuó de manera acelerada en el medio de cultivo en el 100 % de los casos, independientemente del tiempo de almacenamiento. Se incluyeron en la última siembra

todos aquellos embriones vivos procedentes del estudio de la germinación de semillas. A pesar de que la posición de los mismos con respecto al sustrato se desvió 90°, quedando los cotiledones inmersos en el medio de cultivo a excepción de la parte correspondiente a su región basal los resultados fueron óptimos (figura 9).

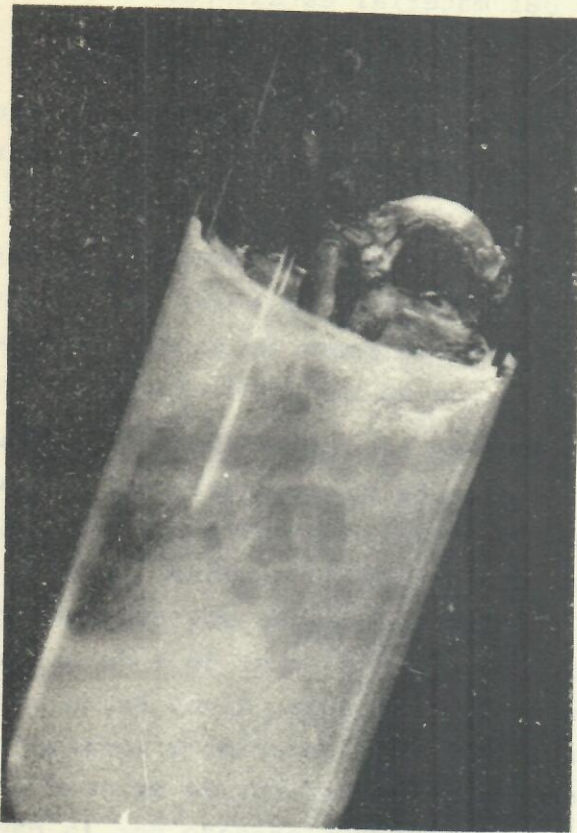


Figura 9. Desarrollo "in vitro a plántula de un embrión de *Microcybas calocoma* procedente de semilla madura. Se observa la fase inicial del desarrollo de una plántula caracterizada por la formación de un hypocotilo que se curva hacia el medio de cultivo y en cuyo extremo comienza la formación de la raíz tardíamente. Los cotiledones fusionados, a excepción de su región basal, se observan inmersos en el medio de cultivo como un cuerpo macizo y se evidencia la existencia de dos de ellos en la superficie, donde en la parte basal se ven separados.

Los embriones sembrados con la región basal de los cotiledones y 5 mm de la parte fusionada de los mismos no desarrollaron favorablemente. En la figura puede verse también cómo la iniciación del desarrollo de la radícula comienza mucho antes de que el hypocotilo haga contacto con el sustrato. Resulta de interés que en estas condiciones la longitud del hypocotilo coincida con las dimensiones que este alcanza durante el proceso de germinación de semillas. Sin embargo, el desarrollo del brote se favorece sensiblemente en condiciones de cultivo, donde se origina paralelamente a la radícula (figura 10).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La propagación de especies de *Cycadaceae* se hace cada día de mayor interés por las características de este antiguo grupo de plantas y por incrementar el número de algunas que han sido explotadas de manera irracional. Hay trabajos en que se reporta la devastación de su habitat natural y la utilización de plantas con distintos fines, así como la importancia de trazar una estrategia para su conservación (Wedberg, 1979; Tang, 1983; Dehgan, 1983). *Microcycas calocoma*, por lo reducido de su areal y por otros factores que han sido relacionados antes (Peña y Grillo, 1982) no está exenta de ser incluida en un programa que contribuya a su conservación.

La obtención de semillas fértiles para lograr una propagación masiva exitosa constituye una posibilidad real aunque sin la participación del hombre resulta casi imposible. Es por ello que los resultados obtenidos acerca de algunos aspectos del desarrollo de semillas, su morfología y su germinación resultan de utilidad práctica para lograr esos objetivos.

El estudio realizado acerca de la morfología de la semilla de esta especie corrobora los resultados obtenidos por otros autores (Caldwell, 1907; Dorety, 1909; Cendrero, 1940) y los completan, permitiendo su utilización práctica. Resultan de particular interés las semejanzas entre los óvulos no fecundados y las semillas en cuanto al tamaño y sus caracteres morfológicos externos.

Esto hace del momento de colecta, que comprende desde principios de agosto hasta finales de octubre, un aspecto importante independientemente de que el material se toma del suelo o directamente del estróbilo. Posiblemente estas semejanzas indujeran a algunos autores (Foster y Rodríguez San Pedro, 1942) a relacionar el aumento en volumen de los óvulos con fases del desarrollo de la semilla después de ocurrida la polinización, sin tener en cuenta que a diferencia de lo que ocurra en las angiospermas, existe un período de varios meses entre la polinización y la fecundación, que se corresponde con el desarrollo de los macro y microgametofitos.

Existe además una homogeneidad en el peso de las semillas que varía durante el proceso de imbibición, y una diferencia de este con el de los óvulos en que hubo un desarrollo del gametofito.

Por otra parte se ha reportado la existencia de hasta 12 embriones en semillas inmaduras de *Microcycas* y el desarrollo de sólo uno (Caldwell, 1907) lo cual fue corroborado, pero en las múltiples semillas evaluadas observamos un número constante de cotiledones igual a dos, a diferencia de la variabilidad reportada en que pueden diferenciarse hasta seis.

El proceso de germinación fue descrito en detalle y se corroboró lo planteado antes (Dorety, 1909) acerca de que no existe un período de latencia. Sin embargo, el hecho de que las semillas almacenadas durante

distintos períodos de tiempo después de su colecta, lo que implica una latencia impuesta, no conlleva a la muerte del embrión se opone a lo referido antes (Dorety, 1909).

Probablemente las investigaciones realizadas antes se limitaron a observar la germinación natural de semillas almacenadas en campo o en laboratorio sin realizar pruebas que demostraran la vitalidad de los embriones. En el presente trabajo, en que se logra el desarrollo de las primeras fases de plántulas a partir de embriones aislados de semillas almacenadas demuestra sin lugar a dudas que los mismos se mantienen vivos por un período relativamente largo. La causa de la no germinación de las semillas está asociada indiscutiblemente a otros factores entre los que pudiera considerarse la imposibilidad de imbibición y la presencia de inhibidores que no puedan ser inactivados, entre otras.

Desde el punto de vista práctico el desarrollo de plántulas in vitro a partir de embriones procedentes de semillas almacenadas posibilita el intercambio de este valioso material, así como quizás el de otras Cycada-ceas con la garantía de que los materiales intercambiados puedan continuar su desarrollo.

Finalmente, el hecho de haber logrado la germinación de semillas en un alto % en condiciones de laboratorio o de campo demuestran que ni sus caracteres morfológicos, ni su estado fisiológico, ni las condiciones habituales en que el proceso ocurre pueden asociarse a la extinción paulatina de la especie. Ahora bien las diferencias observadas en las pérdidas de peso de las semillas en condiciones de campo y de laboratorio durante el período de germinación deben ser tomadas en consideración si se tiene en cuenta que la deshidratación puede conllevar a la imposibilidad de germinación de las semillas en etapas posteriores. En este sentido se evidenció que las semillas que permanecen en el campo (en condiciones naturales) pierden el 16,4 % de su peso de octubre a diciembre y no germinan posteriormente. Sin embargo existe la posibilidad de que este material colectado pueda tratarse de la misma forma que se hace con la semilla almacenada y lograr un mayor número de plántulas. Este fenómeno pudiera ocurrir de manera natural durante el período de germinación en un año en que las lluvias fueran escasas en este período.

El estudio detallado del desarrollo de plántulas así como los métodos idóneos de colecta, conservación y polinización resultan inminentes para arribar a las causas que pudieran asociarse a la falta de plantas jóvenes en condiciones naturales, lo cual se encuentra en estudio actualmente.

BIBLIOGRAFÍA

Caldwell, O. (1907)

Microcycas calocoma. Bot. Gazette, Vol. 44. p.118-141.

- Caldwell, O. and C.F. Baker (1907)
The identity of *Microcycas calocoma*. Bot. Gazette, Vol. 43, p.330-335.
- Cendrero, O. (1940)
El *Microcycas calocoma*, Palma Corcho, Palma de Corcho o Corcho. Memorias de la Sociedad Cubana de Historia, Vol. 14, No. 3, p. 175-182.
- Coulter, J.M. and C.J. Chamberlain (1901)
Morphology of Spermatophytes. Appleton and Co., New York, p. 1-34.
- Chamberlain, C.J. (1931)
The Living Cycads. The University of Chicago Press, 2da. ed., Chicago, p. 9-11.
- Chrysler, M.A. (1926)
Vascular tissues of *Microcycas calocoma*. Bot. Gazette, Vol. 82, p. 233-252.
- Dehgan, B. (1983)
Propagation and growth of Cycads- A conservation strategy. Proc. Fla. State Hort. Soc. Vol. 96, p. 137-139.
- Del Risco, E.; J. Morell y V. Samek (1984)
Algunos apuntes sobre *Microcycas calocoma* (Miq.) A.D.C. Rev. Jardín Botánico Nacional, Vol. V, No. 1, p. 111-131.
- Dorety, H.A. (1909)
Vascular anatomy of the seedling of *Microcycas*. Bot. Gazette, Vol. 47, p. 139-147.
- Downie, D.G. (1928)
Male gametophyte of *Microcycas calocoma*. Bot. Gazette, Vol. 85, p. 437-450.
- Foster, A.S. (1943)
Zonal structure and growth of the shoot apex in *Microcycas calocoma* (Miq.) A.D.C. Am. Journal of Botany Vol. 30 No. 1, p. 56-73.
- Foster, A.S. and M. Rodríguez San Pedro (1942)
Field studies on *Microcycas calocoma*. Memorias de la Sociedad Cubana de Historia Natural, Vol. 16, No. 2, p. 105-121.
- Greguss, P. (1968)
Xylotomy of the Living Cycads. Akadémiai Kiadó, Budapest.
- Hedberg, I. (1979)
Possibilities and needs for conservation of plant species and vegetation in Africa. p. 83-104. En. Hedberg I (Ed.) Systematic Botany, Plant Utilization and Biosphere Conservation. Almqvist and Wiksell International, Stockholm, Sweden.
- Mercado, A. (1977)

- Raíces coraloides de *Microcycas calocoma*: estructura, desarrollo y endófitos presentes. *Ciencias Biológicas*, Vol. 1, p. 3-40.
- Murashige, T. and F. Skoog (1962)
A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, Vol. 15, p. 473-497.
- Peña, E. y E. Grillo (1982)
Proliferación de *Microcycas calocoma* (Miq.) A.DC. "in vitro". *Rev. Jardín Botánico Nacional*, Vol. III, No. 2, p. 177-196.
- Reynolds, L.G. (1924)
Female gametophyte of *Microcycas* *Bot. Gazette*, Vol. 77 p. 391-403.
- Sax, K. and J. M. Beal (1934)
Chromosomes of the Cycadales. *J. Arnold Arb.*, Vol. 15, p. 255-258.
- Stevenson, D.W. (1980)
Form follows function in cycads. *Fairchild Trop. Gard. Bull.*, Vol. 35, No. 1, p. 20-24.
- Suess, H. and W.R. Mueller Stoll (1970)
On the Anatomy of the wood of *Microcycas calocoma* (Miq.) A.DC. with special emphasis on the fiber elements. *Osterr Bot* 2 118 (5): 499-516.
- Tang, W. (1983)
Letters to the editor. *The Cycad Newsletter*. Vol. 6, p. 5-6.
- Webb, D.T. (1983)
Developmental anatomy of light-induced root nodulation by *Zamia pumila* L. seedlings in sterile culture. *Amer. J. Bot.* Vol. 70, p. 1109-1117.

Recibido: 5 de julio de 1986.