REVISTA CUBANA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
http://www.rccb.uh.cu

ARTÍCULO ORIGINAL

Estudio comparativo de germinación de semillas de totora provenientes de tres lagos norte-andinos de Ecuador

Comparative study of germination of totora seeds from three north-andean lakes of Ecuador

Galo Jacinto Pabon Garces[1*], Rosa Rodés[2], Leneidy Pérez[2], Lucía Del Rocío Vásquez Hernández[1], Eduardo Ortega[2]

[1]Universidad Técnica del Norte, Ecuador

[2]Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de La Habana

*Autor para correspondencia: *galopabon@yahoo.com*

RESUMEN

La "totora" (*Schoenoplectus californicus* - Cyperaceae) es una especie acuática que se distribuye desde el sur de los Estados Unidos de América hasta el norte de Argentina. Posee importancia ecológica, ya que elimina nutrientes y sirve como alimento y refugio de fauna silvestre asociada a los lagos. También tiene importancia económica porque a partir de sus tallos fibrosos se elaboran artesanías que son el sustento económico de numerosas familias. No existen informes de plantas obtenidas a partir de semillas, por lo que toda la producción de totora se basa en especímenes reproducidos de forma vegetativa. En este sentido, se informa que las poblaciones presentes en los lagos altoandinos del norte del Ecuador, son híbridas entre *S. californicus* var. *californicus* y *S. californicus* var. *totora*, que producen semillas no viables. En este estudio se realizaron ensayos de germinación y para ello se utilizaron semillas procedentes de tres lagos de la provincia de Imbabura (Yahuarcocha, Cuicocha e Imbacocha), distribuidas en seis tratamientos con tres repeticiones (100 semillas por unidad experimental). Las semillas se sometieron a procedimientos pregerminativos químicos, térmico y mecánico (escarificación con arena sílice). Las semillas fueron hidratadas con agua destilada o con agua procedente del respectivo lago. Se midió porcentaje de germinación, días a la germinación de la primera y última semilla, y duración del período germinativo. Sólo la escarificación con arena sílice provocó la germinación de las semillas. La germinación fue de 69%, 28% y 55% para las semillas provenientes de Yahuarcocha, Cuicocha e Imbacocha, respectivamente. Requirieron entre 26 y 53 días de hidratación para germinar. No se detectaron diferencias en las variables analizadas, en relación a las fuentes de agua usadas, pero sí se obtuvieron resultados diferentes al emplear semillas de diversas procedencias. Las pruebas de imbibición confirmaron que las semillas de totora presentan latencia física y latencia fisiológica. La latencia física se evidencia por la impermeabilidad de la testa. La latencia fisiológica, es observó en semillas escarificadas que, pese que el agua ingresó a la semilla, tuvieron baja tasa de germinación. Las semillas procedentes de los tres lagos son viables si se aplica la escarificación, por lo que es poco probable que se trate de poblaciones híbridas sin capacidad germinativa.

Palabras clave: *Schoenoplectus californicus*, imbibición, escarificación, latencia.

Recibido: 2018-11-13

Aceptado: 2018-12-29

ABSTRACT

The "totora" (*Schoenoplectus californicus* - Cyperaceae), aquatic species that is distributed from the south of the United States of America to the north of Argentina. These plants have ecological importance since they eliminate the nutrients of the lakes and serve as food and refuge for the wild fauna associated with the lakes, also they have economic importance since with their stems crafts are made. This constitutes economic sustenance of numerous families. There are no reports of plants obtained from seeds, so all totora production is based on specimens reproduced in a vegetative way. The literature considers that the populations present in the high Andean lakes of northern Ecuador, are hybrids between *S. californicus* var. *californicus* and *S. californicus* var. *totora*, which produce non-viable seeds. In the germination trials seeds from three lakes of the province of Imbabura (Yahuarcocha, Cuicocha and Imbacocha) were used, distributed in six treatments with three repetitions (100 seeds per experimental unit), which were subjected to pregerminative treatments chemical, thermal and mechanical (scarification with silica sand). The seeds were hydrated with distilled water or with water from the respective lake. Germination percentage was measured, days to the germination of the first and last seeds, duration of the germination period. Only the scarification with extra fine sand caused germination of the seeds. The percentages of germination were 69, 28 and 55 for the seeds from Yahuarcocha, Cuicocha and Imbacocha, respectively, and required between 26 and 53 days of hydration to germinate. No statistical differences were detected between the water sources in the evaluated characters, but different results were obtained when using seeds from different origins. The imbibition tests confirmed that the totora seeds present physical latency and physiological latency. The physical latency caused by the impermeability of the testa; the physiological latency is evidenced in scarified seeds that, despite the fact that the water entered the seed, had a low germination rate. It is concluded that the seeds from the three lakes are viable if the scarification is applied, so it is unlikely that they are hybrid populations without germinative capacity.

Keywords: Schoenoplectus californicus*, germination, imbibition test, dormancy*

INTRODUCCIÓN

La “totora” (*Schoenoplectus californicus* - Cyperaceae), es una especie que habita de forma natural ecosistemas acuáticos o palustres, desde el sur de los Estados Unidos de América hasta el norte de Argentina, principalmente en lagos y pantanos eutróficos. En Ecuador, se distribuye a lo largo de la cordillera de los andes (Mardorf 1985), en lagos de origen pluvial y glaciar, a altitudes comprendidas entre los 2000 y 3200 msnm, y alcanza su mayor abundancia en los lagos de Colta en el centro del país (provincia de Chimborazo), e Imbacocha y Yahuarcocha en el norte de los andes ecuatorianos.

Poblaciones silvestres de totora están presentes en los lagos Cuicocha, Imbacocha y Yahuarcocha de la provincia de Imbabura-Ecuador (la “provincia de los lagos”). El lago Cuicocha está ubicado en la caldera del volcán activo del mismo nombre a 3064 msnm, y pertenece al límite oriental de la Reserva Ecológica Cotacachi-Cayapas, se trata de un lago oligotrófico cuya temperatura promedio es de 11 °C, y su profundidad supera los 200 m (Kiersch *et al*., 2003). Imbacocha, llamado también como lago San Pablo, se encuentra junto a la cuidad de Otavalo, a 2650 msnm, y una temperatura promedio de 17 °C, tiene una profundidad máxima de 30 m y está catalogado como un lago eutrófico. El lago Yahuarcocha se encuentra junto a la ciudad de Ibarra (capital de Imbabura) a 2192 msnm, y 20 °C de temperatura promedio, su profundidad máxima es de 7 m y está catalogado como un lago eutrófico (Terneus, 2014).

La totora posee una gran importancia ecológica ya que brinda estabilidad a lagos y humedales disturbados o degradados (Hester *et al*., 2015). Se ha utilizado para la remoción de metales pesados y la eliminación de nutrientes en plantas de tratamiento. Además sirve como fuente de alimento y de refugio a la fauna silvestre asociada a los lagos. Se destaca también por su importancia socio-económica, ya que sus tallos constituyen una valiosa fibra natural, con la que se elaboran variadas artesanías, desde tipos de alfombras denominados esteras, hasta pequeños adornos como cestas, llaveros, entre otros (Simbaña y Pabón, 2006).

Debido al gran uso que tiene la totora como fibra natural, la mayoría de las investigaciones realizadas se han concentrado en los aspectos económicos de esta especie, y muy pocos trabajos se han enfocado en temas ecológicos y fisiológicos. En lo referente a aspectos reproductivos, Heiser (1979), mencionó que semillas procedentes de lagos de la provincia de Imbabura, no pudieron ser germinadas, por tratarse de poblaciones híbridas entre *S. californicus* var. *californicus* y S*. californicus* var. *totora*, que producen semillas no viables, por lo que las poblaciones de estos lagos se propagan de forma vegetativa. Varias pruebas de germinación demuestran el fenómeno de latencia en estas semillas, entendiéndose por latencia la función crucial de evitar la germinación cuando las condiciones son adecuadas para la germinación, pero la probabilidad de supervivencia y crecimiento de la plántula es baja (Fenner y Thompson, 2005), y está influenciado por factores ambientales y endógenos (Graeber *et al*., 2012).

La producción de semillas en las poblaciones naturales de totora, al menos en los lagos eutróficos de Imbabura, es abundante y constante durante todo el año, por lo que es muy importante determinar el método adecuado para inducir su germinación, ya que esto abriría nuevas posibilidades de realizar plantaciones en lugares donde la extracción excesiva de este recurso ha reducido la posibilidad de obtener fibras que se adecúen a las necesidades de los artesanos y del mercado. Procesos de discriminación posteriores permitirían seleccionar materiales resistentes que asegurarían que los comuneros, que dependen de este recurso, puedan seguir contando con esta materia prima, y que las funciones ecológicas inherentes a esta planta, garanticen el equilibrio de los sistemas lacustres asociados.

En este sentido, los objetivos de la presente investigación son: realizar un estudio comparativo de la germinación de semillas de totora provenientes de los lagos Yahuarcoha, Imbacocha y Cuicocha, y detectar los tipos de latencia y germinación de la totora. También tiene por objetivo establecer los métodos adecuados para la obtención de plántulas a partir de semillas, lo que puede representar una contribución a la conservación de esta especie. Los programas de revegetación y de mejoramiento de las fuentes productoras de esta fibra natural, podrán incorporar los resultados de esta investigación, a fin de garantizar que la especie siga cumpliendo su función ecológica y aportando materia prima a las economías locales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas maduras, características por su color marrón oscuro, fueron sometidas a tratamientos pre-germinativos químicos, térmicos y mecánicos (Nadjafi *et al*., 2006). Dentro de los tratamientos químicos, las semillas fueron tratadas con CH_3CH_2OH (alcohol etílico) al 96% por 24 horas; H_2SO_4 (ácido sulfúrico) al 75 % por 5 minutos; H_2SO_4 (ácido sulfúrico) al 75 % por 10 minutos; HCl (ácido clorhídrico) al 18 % por 5 minutos; y HCl (ácido clorhídrico) al 18 % por 10 minutos. En el tratamiento térmico, las semillas fueron expuestas a -10 °C por 24 horas e inmediatamente a 80 °C por 5 minutos. El tratamiento mecánico consistió en escarificar las semillas con arena extra fina (SiO_2), con la ayuda de mortero y pistilo por al menos 30 minutos, con la precaución de no ejercer demasiada presión para no romper las semillas y revisando frecuentemente con una lupa. La aparición de un color blanquecino en la superficie de la semilla fue el indicador usado para comprender que la testa se ha retirado parcialmente. Las semillas tratadas fueron colocadas en placas de Petri con agua destilada. El experimento se realizó con promedios de 29,6 °C de temperatura, 72 % de humedad relativa y 1014 hPa de presión atmosférica.

En una segunda etapa experimental, se realizaron pruebas de imbibición de semillas maduras escarificadas y sin escarificar, y pruebas de germinación en agua destilada en comparación con el agua de los respectivos lagos. Las variables analizadas fueron: porcentaje de germinación, días a la germinación de la primera y última semilla, y duración del proceso germinativo. Las semillas fueron hidratadas en placas de Petri, y los promedios de las condiciones ambientales del laboratorio fueron de: 19 °C de temperatura, 48 % de humedad relativa y 778 hPa de presión atmosférica.

Para analizar los resultados obtenidos en las variables: días a la germinación de la primera semilla, días a la germinación de la última semilla, días del período de germinación, y porcentaje de germinación, se realizaron Análisis de Varianza Bifactoriales, modelo de efectos fijos, en los cuales se consideraron como factores la fuente de agua empleada en la germinación y el lago de procedencia, seguidos de la prueba de Tukey de comparación múltiple de medias. Previamente se verificó el cumplimiento de las premisas de normalidad y homogeneidad de varianzas (pruebas de Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors, ShapiroWilk y Levene, respectivamente). Los valores de la variable: porcentaje de germinación, se transformaron con el empleo de raíz cuadrada de X, debido a que no cumplían con las premisas establecidas. En esta variable, el análisis estadístico se realizó con los valores transformados.

Para las pruebas de imbibición se utilizaron tres tratamientos (los tres lagos analizados), con cinco repeticiones para cada lago. La variable evaluada fue el peso (en gramos) de 100 semillas de cada unidad experimental, a lo largo de 72 h, en intervalos constantes de 2 h. Las diferencias significativas fueron establecidas mediante un análisis de varianza de clasificación simple. Los análisis estadísticos se realizaron con el empleo del programa Statistica 10.0.

RESULTADOS

Las semillas de "totora" procedentes de los lagos Yahuarcocha, Cuicocha e Imbacocha, hidratadas con agua destilada durante 50 días, no mostraron signos de germinación, al igual que las semillas sometidas a tratamientos de escarificación térmica y químicas. Sin embargo, las semillas sometidas a escarificación mecánica con arena extra fina (SiO_2), iniciaron el proceso de germinación a los 12 días de hidratación, en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de La Habana y a los 26 días en Laboratorio de Biología y Química de la Universidad Técnica del Note de Ibarra, Ecuador.

El peso promedio de 100 semillas no escarificadas, procedente de los lagos Cuicocha, Yahuarcocha e Imbacocha, fue de 109,6 mg (con desviación estándar de 3,7 mg), 103,6 mg (±2,5 mg) y 66,4 mg (±1,4 mg), respectivamente. Las pruebas de imbibición realizadas con semillas no escarificadas mostraron que el incremento de peso se produce solamente hasta las 30 h posteriores al inicio de la hidratación, luego de lo cual el peso permanece constante (Fig. 1). En las dos primeras horas se produjo el mayor incremento de peso: 32,9 % para las semillas de Cuicocha, 23,9 % para las de Yahuarcocha y de 21,3 % para las de Imbacocha (Fig. 2), mientras que, en el intervalo desde las dos horas hasta 30 h, el incremento de peso fue de tan solo 14,9 %, 10,9 % y 7,7 %, respectivamente para los lagos mencionados.

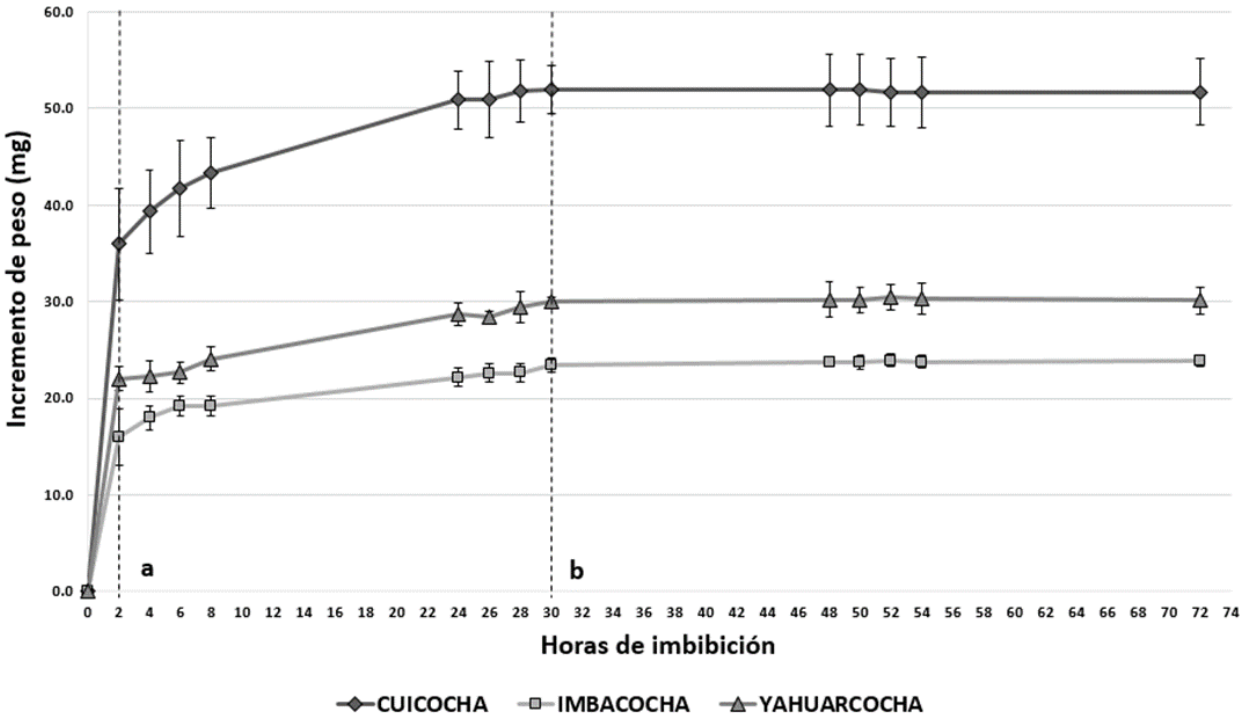

Figura 1. Prueba de imbibición de semillas de totora (*Schoenoplectus californicus*) no escarificadas. Cada uno de los datos corresponde al peso promedio de 100 semillas (cinco réplicas) ± desviación estándar. La línea (**a**) muestra las primeras dos horas en que se producen el mayor incremento de peso, y la línea (b) corresponde a las 30 horas de imbibición, a partir de las cuales el peso se mantiene constante.

***Figure 2**. Imbibition test of non-scarified totora seeds (*Schoenoplectus californicus*). Each of the data corresponds to the average weight of 100 seeds (five replicates) ± standard deviation. The dashed line (a) shows the first two hours in which the greatest weight increase occurs, and line (b) corresponds to 30 hours of imbibition.*

Al realizar la comparación de medias, no se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el peso inicial de las semillas provenientes de los lagos Cuicocha y Yahuarcocha. Sin embargo, el peso de las semillas de Imbacocha, fue significativamente menor que el de los otros orígenes. Luego de dos horas de imbibición, el peso de las semillas de los tres lagos presentó diferencias significativas, básicamente porque en las semillas de Cuicochase incrementó un 32,9 % de su peso inicial, respecto al menor incremento (23,9 %) de las semillas de Yahuarcocha.

A partir de las 30 horas, en que el peso se mantiene constante, se mantuvieron las diferencias significativas en el peso de las semillas de los tres lagos. El total del peso incrementado, hasta la finalización de la prueba (72 h), fue de 47,8 %, 34,8 % y 29 %, para las semillas de Cuicocha, Yahuarcocha e Imbacocha, respectivamente. Las semillas no escarificadas mecánicamente, usadas en esta prueba, no germinaron pese a que se mantuvieron en hidratación por 50 días.

Los resultados del ANOVA de clasificación simple, de las pruebas de imbibición con semillas escarificadas con arena sílice, mostraron que los pesos iniciales de las semillas de Cuicocha (110,5 mg ± 1,4 mg) y Yahuarcocha (103,2 mg ± 1,4 mg), no presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$), mientras que aquellas provenientes de Imbacocha (65,5 mg ± 3,3 mg), si se diferenciaron de las anteriores. Los datos del incremento de peso promedio de 100 semillas escarificadas, al inicio de la germinación (medido cuando emergió la radícula en la primera semilla de cada tratamiento), muestran que el mayor incremento se presentó en las semillas de Cuicocha (42 mg ± 1,7 mg) siendo significativamente distinto que los incrementos de peso de las semillas de Imbacocha (23,1 mg ± 1,6 mg) y Yahuarcocha (22,9 mg ± 3,2 mg), las semillas de estos dos últimos lagos no presentan diferencias significativas entre sí (Fig. 2). Respecto a la ganancia de peso en comparación con el peso inicial de las semillas, aquellas procedentes de Cuicocha tuvieron un 38 % de ganancia en peso a los 31 días, seguidas por las semillas de Yahuarcocha: 22,2 % de incremento a los 26 días, y por las de Imbacocha: 35,3 % de incremento a los 40 días.

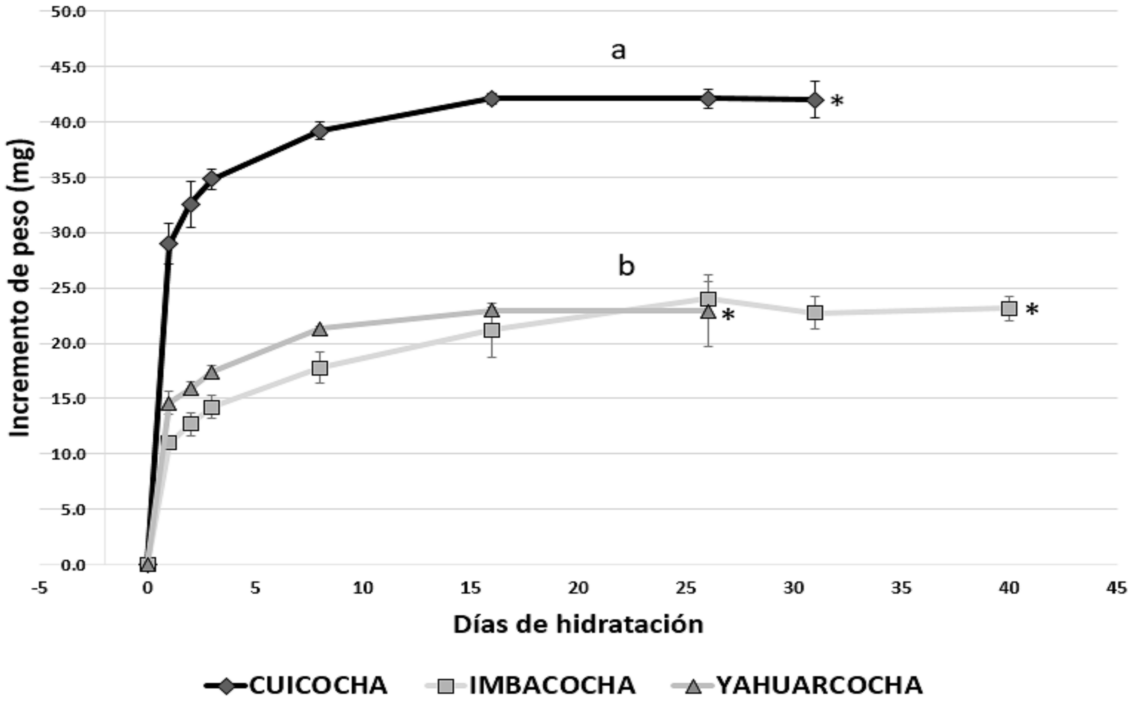

Figura 2. Incremento de peso en semillas de totora (*Schoenoplectus californicus*), escarificadas con SiO_2. Cada punto representa el promedio (n=5) del incremento de peso de 100 semillas, y las barras verticales corresponden a la desviación estándar. El asterisco (*) indica el inicio de la germinación: a los 26, 31 y 40 días, para Yahuarcocha, Cuicocha e Imbacocha, respectivamente. Letras distintas representan diferencias significativas ($p < 0,05$).

***Figure 2**. Weight increase in totora seeds (*Schoenoplectus californicus*), scarified with SiO_2. Each point represents the average (n = 5) of the weight increase of 100 seeds, and the vertical bars correspond to the standard deviation. The asterisk (*) indicates the beginning of germination: at 26, 31 and 40 days, for Yahuarcocha, Cuicocha and Imbacocha, respectively. Different letters represent significant differences (p <0.05).*

Los resultados de la prueba de imbibición, con semillas escarificadas provenientes de los tres lagos, permitieron establecer la cinética de germinación de estas semillas, que comprende tres fases sucesivas (Vásquez *et al*., 1997), que en la figura 3 están representadas por distintos tipos de líneas. La fase I comprende una rápida absorción de agua por imbibición, lo que causa su hinchamiento e incremento de peso (por el agua embebida), y la ruptura final de la testa. En las semillas de Cuicocha y Yahuarcocha, esta primera fase duró hasta los 16 días (en ambos casos la incorporación de agua terminó a los 16 días). Las semillas de Imbacocha presentaron un comportamiento distinto ya que esta primera fase de incorporación de agua duró 26 días.

La fase II, en que se desencadenan actividades metabólicas irreversibles y ocurre la activación de enzimas existentes en la semilla, duró 10 días para las semillas de Yahuarcocha (las que germinaron en el menor tiempo), 15 días para las de Cuicocha, y 14 días para las de Imbacocha. La fase III (comienzo de la emergencia de la radícula y movilización de las reservas) se inició a los 26, 31 y 40 días, para Yahuarcocha, Cuicocha e Imbacocha, respectivamente. No se pudo realizar la medición del incremento de peso en las semillas germinadas (fase III) ya que muchas plántulas murieron al no tolerar la manipulación requerida para realizar el pasaje, por lo que los datos que se obtuvieron fueron desechados. Plántulas que no fueron sometidas a ningún proceso de manipulación, se desarrollaron normalmente.

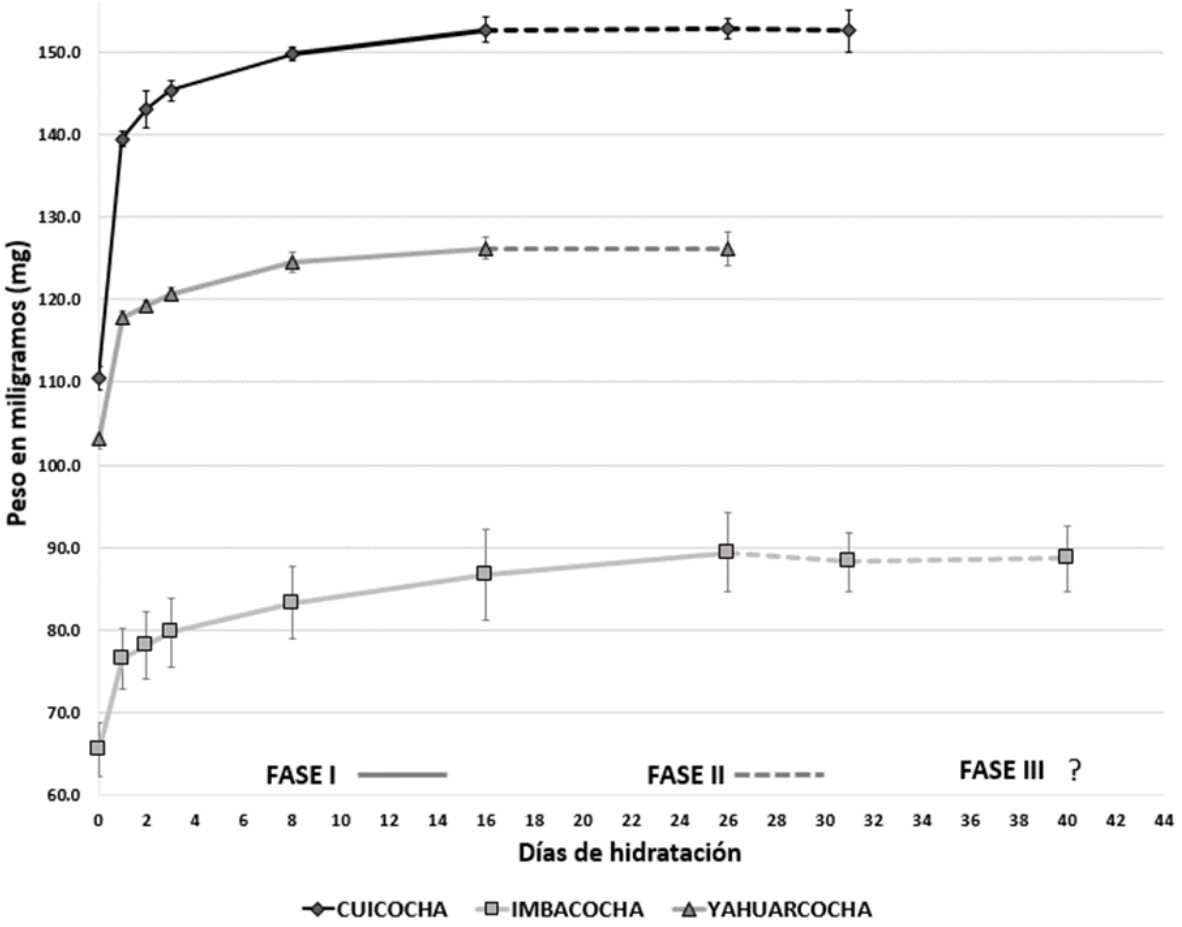

Figura 3. Cinética de germinación de semillas de totora (*Schoenoplectus californic*us) escarificadas con SiO_2 (la gráfica incluye en peso inicial de la semilla antes de la hidratación). Las tres fases se representan con distintos tipos de líneas. Los valores promedios (n=5) del peso de 100 semillas se representan con sus respectivas desviaciones estándar.

***Figure 3**. Seed germination kinetics (*Schoenoplectus californicus*) scarified with silica sand (the graph includes the initial weight of the seed before hydration). The three phases are represented with different types of lines. The mean values (n = 5) of the weight of 100 seeds are represented with their respective standard deviations.*

Con la realización de Análisis de Varianza Bifactoriales y prueba de Tukey de comparación de medias, se demostró la existencia de diferencias significativas, para todas las variables analizadas, en cuanto a la procedencia de las semillas (Yahuarcocha, Cuicocha e Imbacocha). Sin embargo, no se evidenciaron diferencias significativas para la fuente de agua usada en la hidratación (agua destilada versus agua del respectivo lago).

Tampoco una interacción significativa entre los niveles de los dos factores (lago de procedencia y fuente de agua). El porcentaje de germinación de las semillas de Yahuarcocha fue de 67 % en agua destilada (AD) y 71 % en agua del respectivo lago (AL), el de Imbacocha de 54,7 % con AD y 55,3 % con AL, y el de Cuicocha de 26,7 % con AD y 28,7 % con AL (Fig. 4), no existiendo diferencias significativas en ningún caso (ns).

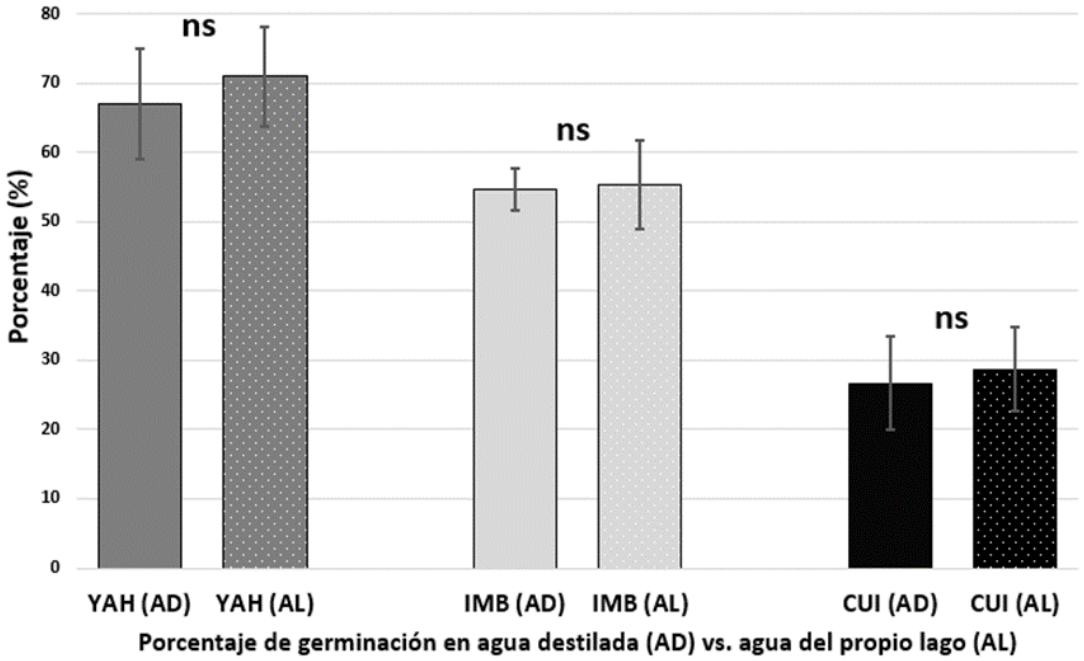

Figura 4. Comparación de los resultados de la germinación de semillas escarificadas de "totora", hidratadas en agua destilada (AD) y agua del respectivo lago (AL): YAH = Yahuarcocha; IMB = Imbacocha; CUI = Cuicocha. Las barras verticales muestran los valores de la desviación estándar. ns = diferencias no significativas (p<0,05). n= 18.

***Figure 4**. Comparison of the results of the germination of scarified seeds of "totora", using for hydration distilled water (AD) and water of the respective lake (AL): YAH = Yahuarcocha; IMB = Imbacocha; CUI = Cuicocha. The vertical bars show the values of the standard deviation. ns = non-significant differences (p<0.05). n= 18.*

Al considerar la procedencia de las semillas, el porcentaje de germinación presentó diferencias significativas entre los tres lagos. El mayor porcentaje de germinación se obtuvo en las semillas provenientes del lago Yahuarcocha (69 % ± 7,5 %), seguido por el 55 % ± 4,5 % de semillas germinadas de Imbacocha. En las semillas del lago Cuicocha se observó un porcentaje muy bajo de germinación, ya que tan solo el 27,7 % ± 5,8 % de sus semillas germinó. En las restantes variables analizadas se obtuvieron resultados similares, pues se detectaron diferencias significativas en la germinación de las semillas provenientes de los tres lagos (Fig. 5).

En cuanto a la variable días a la germinación de la primera semilla (DGPS), los promedios fueron de 26,5 ± 0,8 para Yahuarcocha; 31,2 ± 1,8 para Imbacocha y 40,7 ± 1,0 para Cuicocha. De la variable Días a la germinación de la última semilla (DGUP), los promedios fueron: Yahuarcocha 32.0 (± 1.4), Cuicocha 38.2 (±1.8 DE), e Imbacocha 49.7 (± 2.2). Finalmente, los días de duración del período germinativo (DPG), tuvieron un promedio de 5,5 ± 1,5; 8,8 ± 1,7 y 7,0 ± 1,4 para las semillas de los lagos Yahuarcocha, Imbacocha y Cuicocha, respectivamente.

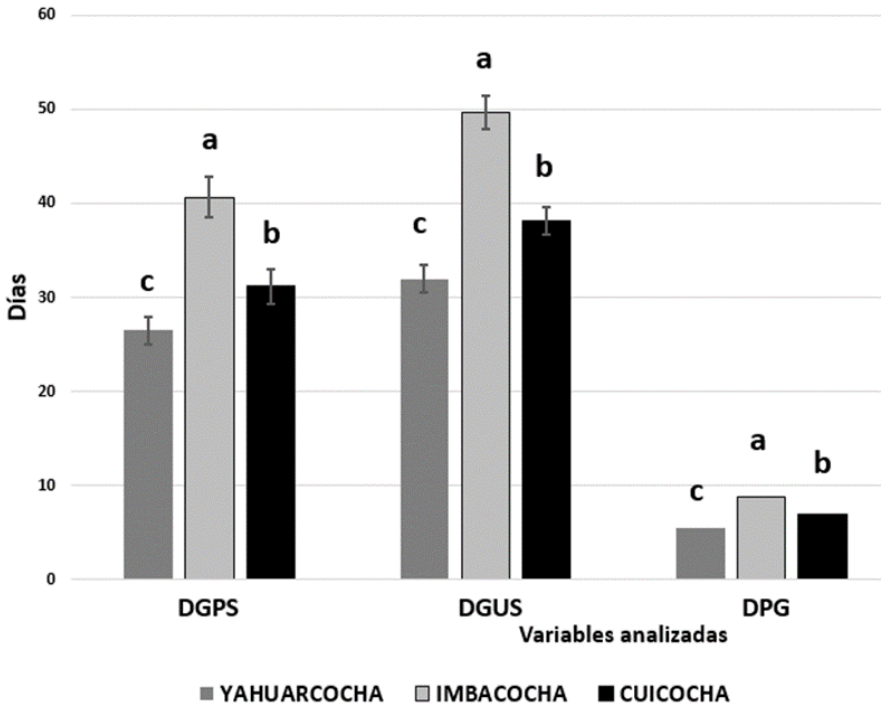

Figura 5. Germinación de semillas de totora (*Schoenoplectus californicus*), procedentes de tres lagos representativos de la provincia de Imbabura, Ecuador. DGPS = Días a la germinación de la primera semilla; DGUP = Días a la germinación de la última semilla; DPG = Duración del período germinativo. Las letras diferentes representan las diferencias significativas entre las medias (p<0,05) según la prueba Tukey, y las barras verticales la desviación estándar. n= 18.

***Figure 5**. Germination of totora seeds (*Schoenoplectus californicus*), from three representative lakes of the Imbabura province, Ecuador. DGPS = Days to the germination of the first seed; DGUP = Days to the germination of the last seed; DPG = Duration of the germinative period. The letters different represent the significant differences of the means (p <0.05). n= 18.*

DISCUSIÓN

Las semillas de totora, colectadas en tres lagos de la provincia de Imbabura, e hidratadas sin ningún tipo de tratamiento pregerminativo, presentaron latencia, razón por la cual no lograron germinar, pese a estar húmedas por un período de 50 días. Esta pudiera ser la razón por la que Heiser (1979), no logró obtener plántulas cuando empleó semillas de los lagos Yahuarcocha e Imbacocha, y probablemente no al hecho de tratarse de poblaciones híbridas entre dos variedades de *Schoenoplectus californicus*, como sostienen este autor.

Es necesario mencionar que la función de latencia de la semilla no es, según se afirma, evitar la germinación durante períodos que no son aptos para la semilla, sino evitar la germinación cuando las condiciones son adecuadas para la germinación, pero la probabilidad de supervivencia y crecimiento de la plántula es baja (Fenner y Thompson, 2005).

Así, Washitani y Masuda (1990) encontraron que en un pastizal japonés, muchas especies que arrojan sus semillas al final de la temporada de crecimiento, pese a que las condiciones eran adecuadas para la germinación, entraban en latencia debido a que la disminución posterior de la temperatura representaba un riesgo para las nuevas plantas. En el caso de las plantas de totora de los lagos de Imbabura, el principal riesgo podría estar relacionado con la disminución de los niveles de agua en las orillas (con potenciales para el crecimiento de la totora) durante los períodos secos del año, poniendo en peligro a las plántulas recién germinadas.

Baskin y Baskin (2004) sugirieren acoger un sistema jerárquico de clasificación internacionalmente aceptable para la latencia, antes de tratar el tema de latencia de un grupo específico. Por su parte, Fenner y Thompson (2005), consideran tres clases fundamentales de latencia: física, morfológica y fisiológica.

Posteriormente Nikolaeva (2014), propone un sistema general, que incluye dos clases más de latencia: la latencia morfofisiológica y la latencia combinacional (latencia física + latencia fisiológica).

La latencia fisiológica es el tipo más común de latencia, y dado que esta clase está presente en semillas de poblaciones silvestres de *Arabidopsis thaliana*, este modelo puede ser usado para explicar los mecanismos básicos de la latencia fisiológica en las semillas de numerosas especies (Baskin y Baskin, 2004). Sin embargo, en áreas tropicales de vegetación perennifolia, como es el caso de los lagos de Imbabura, solo una pequeña fracción de especies presentan algún tipo de letargo en sus semillas (Fenner& Thompson, 2005).

Las pruebas de imbibición, usadas para determinar la clase de latencia, se realizaron en este trabajo con semillas maduras frescas, como recomiendan algunos estudios realizados en esta temática, para evitar que el secado pueda hacer que las semillas entren en latencia, como ocurre en varias especies mediterráneas. Del mismo modo, si las semillas tienen latencia física, el secado puede provocar que se abra una brecha para la entrada agua (Baskin *et al*., 2006).

Los tratamientos pregerminativos térmicos (choque de temperaturas) y químicos (alcohol y ácidos), sugeridos por Nadjafi *et al*. (2006), y aplicados a las semillas de totora, no lograron romper la dura y resistente barrera que representa la testa; aunque se reportan estudios que sostienen que la utilización de ácido sulfúrico concentrado, puede alcanzar porcentajes de 96 % de germinación, en semillas con testa dura, como las de *Passiflora edulis* (Mabundza *et al*., 2009).

Resulta evidente que, una testa altamente resistente, incluso al ataque de ácidos concentrados, constituye una barrera efectiva para que el agua no pueda ingresar al interior de la semilla. Sin embargo, para probar que las semillas tienen latencia física, es necesario demostrar que el embrión no absorba agua (Baskin *et al*., 2006), gracias a testas o pericarpios impermeables que mantienen seco al embrión (Baskin y Baskin, 1998).

Las pruebas de imbibición permitieron corroborar que, luego de las 30 h de hidratación, las semillas dejan de absorber agua y el peso se mantiene constante (Fig.1); lo que sugiere que, las semillas de totora en condiciones naturales, presentan latencia física.

El incremento de peso registrado (mayoritariamente en las primeras dos horas de hidratación), correspondería a la absorción de agua por parte de la superficie de la testa. La absorción que se produce en menor cantidad, hasta las 30 h de hidratación, correspondería a la cantidad de agua que necesita la testa para alcanzar el punto de saturación, y sin que el agua llegue al embrión. La latencia física se conoce actualmente en varias familias de plantas (Baskin et el., 2006); sin embargo, Cyperaceae (familia a la que pertenece *Schoenoplectus californicus*), no aparece en este listado.

El peso inicial de las semillas no escarificadas de Cuicocha y Yahuarcocha, no presentan diferencias significativas; sin embargo, durante las dos primeras horas de imbibición, se produce un incremento diferencial del peso de las semillas de las dos localidades (32,9 % y 23,9 %, respectivamente). Esto podría deberse a acumulaciones diferenciales de sustancias osmóticamente activas en la testa, que generan la marcada diferencia en la absorción; y/o a las evidentes diferencias ambientales y climáticas (cerca de 10 °C menos en su promedio anual y aproximadamente 1000 m más de altitud, para Cuicocha), lo que podría haber generado estrategias de germinación diferentes. Estas diferencias ambientales se traducen en expresiones genéticas diferentes (Hoyle *et al*., 2015). Las semillas dormidas perciben y responden a su ambiente (Vleeshouwers *et al*., 1995), por lo que una testa más engrosada pudo ser la respuesta de las semillas de Cuicocha, a su entorno inmediato.

Las pruebas de imbibición también se realizaron con semillas escarificadas. Esta escarificación mecánica (con arena sílice extra fina), permitió disminuir el espesor de la testa, lo que logró reducir la barrera impermeable que supone la cubierta, para que la radícula puede emerger de la semilla. Se debe considerar que la escarificación también podría hacer que se supere el umbral de luz que el embrión necesita para la germinación (como sucede en otras especies), lo que induce una latencia fisiológica (Baskin *et al*., 2006), aunque en el caso específico de la totora se desconoce la importancia de esta variable para la geminación.

Al igual que las semillas no escarificadas, los pesos iniciales de aquellas provenientes de Cuicocha y Yahuarcocha no presentaron diferencias significativas.

Sin embargo, a medida que transcurre la hidratación se pueden diferenciar estrategias de germinación propias. Las semillas del lago Cuicocha incrementaron su peso (producto del ingreso de agua) en un 38 % y el inicio de la germinación se produce a los 31 días; mientras que las de Yahuarcocha requieren de 22,2 % de incremento y su germinación comenzó a los 26 días (a 19 °C de temperatura promedio). Es necesario mencionar que estas mismas semillas de Yahuarcocha iniciaron su germinación a los 12 días en experimentos realizados a 29,6 °C de promedio, lo que muestra el efecto del aumento de la temperatura sobre el incremento de la velocidad de germinación, lo que ubica a la temperatura como uno de los factores más determinantes en el proceso de germinación (Caroca *et al*., 2016). El efecto de la temperatura sobre la germinación estaría relacionado con las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla luego de su hidratación (Rajjou *et al*., 2012).

Pese a las características fenotípicas similares observadas en las poblaciones de totora de los dos lagos, las diferencias ambientales podrían condicionar estrategias germinativas particulares, como lo demostró Hoyle *et al*. (2015), en especies alpinas; en esos casos las estrategias germinativas fueron independiente de rasgos morfológicos y funcionales similares en plantas maduras.

Las semillas del lago Imbacocha, por otra parte, son diferentes tanto en el peso inicial, como en el peso al inicio de la germinación; estas semillas requieren un 35.3 % de incremento de su peso y comienzan a germinar a los 40 días. Análisis de características fenotípicas (vegetativas y reproductivas) realizados de forma paralela a esta investigación (datos no publicados), sugerirían que se trata de un morfotipo de totora distinto. Además, las semillas provenientes de Imbacocha presentaron una cinética de germinación diferente (Fig. 3), cuya fase I se extiende hasta los 26 días (respecto a los 16 días que dura la fase I en semillas de Cuicocha y Yahuarcocha); aunque en los tres casos la cinética de germinación se ajusta a una curva hipotética de germinación propuesta por Vásquez *et al*. (1997).

Los análisis estadísticos no mostraron diferencias en cuanto a las fuentes de agua usada para la germinación (Fig. 4). Los porcentajes de germinación similares con agua destilada versus el agua del propio lago, sugieren que, una vez producida la ruptura de la latencia física, los mecanismos que se desencadenan al interior de las semillas (Fase II), no dependen del contenido de nutrientes u otras sustancias presentes en el agua. La latencia física en este tipo de semillas sería, por lo tanto, el mecanismo de protección para adecuarse a las condiciones ambientales requeridas (Vleeshouwers *et al*., 1995), pues amortigua posibles daños catastróficos y efectos perjudiciales que las variaciones ambientales podrían causar (Tielbörger *et al*., 2014). La evidencia de una latencia física en totora, poco usual en especies tropicales perennifolias, estaría relacionado a procesos adaptativos bajo regímenes muy selectivos. Según Willis *et al*. (2014), esta latencia física, al ser un estado derivado y evolutivamente efímero, está restringido a ambientes muy específicos y a pocos grupos de plantas.

El porcentaje de germinación fue estadísticamente diferente para los tres lagos, siendo Yahuarcocha, con un 69 % de germinación el que alcanzó el mayor valor. Por su parte, Cuicocha apenas alcanzó un 27,7 %. Se conoce, que los niveles de nutrientes del suelo originario donde se desarrollan las plantas, afectan la expresión fenotípica de las plántulas originadas a partir de sus semillas (Wulff *et al*., 1999). De modo que cuando las plantas madre crecieron bajo altas concentraciones de nitrógeno se identificaron estados de latencia más débiles. Esto concuerda con el hecho de que Yahuarcocha es catalogado como un lago eutrófico, con alto contenido de Nitrógeno (Terneus, 2014), mientras Cuicocha es oligotrófico.

La baja germinación de un grupo de semillas colectadas a un mismo tiempo, como fue el caso de las semillas de Cuicocha, pudiera explicarse por los distintos niveles de madurez de las semillas en el momento de la recolección (Hoyle *et al*., 2015), y podrían reflejar un tipo de latencia morfológica, en el que las semillas maduran gradualmente para garantizar que algunas, o muchas de ellas, eviten una temporada o condición desfavorable, como un medio práctico de supervivencia (Tudela-Isanta *et al*., 2018). En la latencia morfológica, la semilla es inmadura cuando se desprende y se requiere un período de crecimiento y/o diferenciación antes de que pueda tener lugar la germinación (Baskin y Baskin, 1998).

Es necesario aclarar que, establecer de forma experimental la latencia morfológica en semillas muy pequeñas, como es el caso de las semillas de totora, resulta relativamente complicado con las pruebas de imbibición realizadas en la presente investigación.

Para esto, sería necesario demostrar que el embrión crece dentro de la semilla antes de que surja la radícula, y que la diferencia de peso se deba al crecimiento y no a la hidratación (Baskin *et al*., 2006). Debido a esto, la mención de la existencia de latencia morfológica en las semillas de Cuicocha, no sería concluyente.

Diferencias significativas entre los tres lagos, similares a las mostradas para el porcentaje de germinación, fueron detectadas para el resto de variables (Fig. 5). Estos resultados muestran la cercanía de las estrategias germinativas de las semillas de Cuicocha y Yahuarcocha; y fortalecen la idea de que la totora de Imbacocha pertenece a un morfotipo distinto.

Si bien las semillas de los tres lagos germinaron luego de la escarificación mecánica, porcentajes significativos de 31 %, 45 % y 72,3 %, para Yahuarcocha, Imbacocha y Cuicocha, respectivamente, no germinaron. La respuesta a este hecho podría estar en la denominada: latencia fisiológica, misma que impide la germinación hasta que se produce un cambio químico en la semilla y, a diferencia de los otros tipos, es reversible y brinda una respuesta más flexible a los cambios del entorno (Baskin y Baskin, 1998).

Si las semillas maduras absorben agua (a veces hasta 20-40 % de aumento en masa) y tienen la suficiente fuerza expansiva (o suficiente debilitamiento de la cubierta) para romper el recubrimiento de la semilla; y aun así no germinan, la respuesta podría estar en la latencia fisiológica (Baskin *et al*., 2006). Efectivamente, la evidencia representada en los datos experimentales obtenidos en la presente investigación, apunta en esta misma dirección: la latencia fisiológica como un factor regula la estrategia germinativa, luego de que la latencia física ha sido suprimida.

La latencia fisiológica tiene una gran importancia filogenética en la mayoría de las plantas ya que parecería ser un "centro evolutivo" del cual han evolucionado otras clases de latencia, incluida la ausencia de latencia, y pudo haber influido en los principales patrones evolutivos en las plantas de semillas (Willis *et al*., 2014). Pese a esto, muchos aspectos genéticos, biológicos, bioquímicos, que intervienen en este tipo de latencia, son poco conocidos (Nonogaki *et al*., 2010). Por ejemplo, la mayoría de estudios se han realizado con semillas completas, por lo que hay poca información sobre la contribución de tejidos individuales, al control de la latencia (Graeber *et al*., 2012).

Los resultados obtenidos sobre comportamiento y estrategias particulares de germinación de la totora, son de gran importancia si se tiene en consideración que la germinación es uno de los primeros fenotipos expresados por las plantas (Donohue *et al*., 2010). Este hecho tiene varias consecuencias para la evolución de los rasgos de pos-germinación, nichos ecológicos, rangos geográficos y condiciones climáticas, que permiten a las plantas de totora prosperar.

Finalmente, se concluye que las semillas de totora presentan latencia física, por la impermeabilidad de la testa, y latencia fisiológica expresada en la baja tasa de germinación pese a que la barrera ipermeable fue retirada y el agua ingresó al embrión. Las semillas de totora son viables si se las somete a un proceso de escarificación, por lo que es poco probable que provengan de poblaciones híbridas sin capacidad germinativa.

AGRADECIMIENTO

A todo el personal del Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de La Habana, por las facilidades brindadas. A José Luis Moreno y Jorge Torres, del Laboratorio de Química de la Universidad Técnica del Norte (UTN). A Oscar Rosales del laboratorio de Geomática de la UTN. A Luis Fernando Pabón y Paulet Vallejos, por el apoyo logístico durante el trabajo de campo.

LITERATURA CITADA

Adams, C. A., J. M. Baskin y C. C. Baskin (2005). Trait stasis versus adaptation in disjunct relict species: evolutionary changes in seed dormancy-breaking and germination requirements in a subclade of Aristolochia subgenus *Siphisia* (Piperales). Seed Sci. Res. 15(02): 161-173.

Baskin, C. C. y J. M. Baskin (1998). Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press. San Diego, California: Academic. 400pp.

Baskin, C. C., K. Thompson y M. Baskin (2006). Mistakes in germination ecology and how to avoid them. Seed Sci. Res. 16(03): 165-168.

Baskin, J. y C. Baskin (2004). A classification system for seed dormancy. Seed Sci. Res. 14(01): 1-16.

Caroca, R. N. Zaoata y M. Vargas (2016). Efecto de la temperatura sobre la germinación de cuatro genotipos de maní (Arachis hypogaea L.). Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia. 32 (2): 94-101.

Donohue, K., R. Rubio de Casas, L. Burghardt, K. Kovach y C. Willis (2010). Germination, postgermination adaptation, and species ecological ranges. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 41(1): 293-319.

Fenner, M. y K. Thompson (2005). The ecology of seed. 260pp

Ferreira, A. y F. Borghetti (2004). Germinação: do básico ao aplicado. Edorial Artmed. Porto Alegre. Brasil. 327pp.

Garwood, N. (1983). Seed germination in a seasonal tropical forest in Panama: a community study. Ecol. Monogr. 53(2): 159-181.

Graeber, K., K. Nakabayashi, E. Miatton, G. Leubner-Metzger *et al*. (2012). Molecular mechanisms of seed dormancy. Plant Cell Environ.. 35(10): 1769-1786.

Heiser, C.B. (1979). Origins of some cultivated new world plants. Annu. Rev. Ecol. Syst. 10: 309-326.

Hester. M.W., J.M. Willis y T.M. Sloey (2015). Field assessment of environmental factors constraining the development and expansion of *Schoenoplectus californicus* marsh at a California tidal freshwater restoration site. Wetlands Ecol. Manage.

Hidalgo-Cordero, J.F. y J. García-Navarro (2018). Totora (*Schoenoplectus californicus* (C.A. Mey.) Soják) and its potential as aconstruction material. Ind. Crops Prod.112: 467-480.

Hoyle, G. L., K. J. Steadman, R. B. Good, E. J. McIntosh *et al*. (2015). Seed germination strategies: an evolutionary trajectory independent of vegetative functional traits. Front. Plant Sci., 6 (October): 1-13.

Kiersch, Mühleck y Gunkel (2003). Las macrofitas de algunos lagos-altoandinos del Ecuador y su bajo potencial como bioindicadores de eutroficación. Rev. Biol. Trop. 52(4): 829-837.

Macia, M.J. y H. Balslev (2000). Use and management of totora (*Schoenoplectus californicus*, Cyperaceae) In Ecuador. Economic Botany. 54(1): 82-89.

Mabundza, R.M., P.K. Wahome y M.T. Masarirambi (2009). Effects of different pre-germination treatment methods on the germination of passion (*Passiflora edulis*) seeds. JASR. 6(3): 57-60.

Mardorf, M.C. (1985). Artesanía y ecología de la totora (Scirpus sp.), en la provincia de Imbabura, Ecuador. Sarance. Rev. IOA. 10: 1-78.

Nadjafi, F, M. Bannayan, L. Tabrizi y M. Rastgoo (2006). Seed, germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*. J Arid Environ. 64: 542-547.

Nikolaeva, M. G. (2004). On criteria to use in studies of seed evolution. Seed Sci. Res, 14(4): 315-320.

Nonogaki, H., G. W. Bassel y J. D. Bewley (2010). Germination-still a mystery. Plant Sci, 179(6): 574-581.

Rajjou, L., M. Duval, K. Gallardo, J. Catusse *et al*. (2012). Seed germi-nation and vigour. Annu. Rev. Plant Biol. 63:507-33.

Simbaña, A. y G. Pabón (2006). Fibras Naturales de la Provincia de Imbabura. Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra. ECAA. CENFIN. Ibarra, Ecuador. 124pp.

Terneus J.E. (2014). Vegetación acuática y estado trófico de las lagunas andinas de San Pablo y Yahuarcocha, provincia de Imbabura, Ecuador. REMCB: 121-131.

Tielbörger, K.,M. C. Bilton, J. Metz, J. Kigel *et al*. (2014). Middle-Eastern plant communities tolerate 9 years of drought in a multi-site climate manipulation experiment. Nat. Commun. 5: 62-72.

Tudela-Isanta, M.,E. Fernández-Pascual, M. Wijayasinghe, S. Orsenigo *et al*. (2018). Habitat-related seed germination traits in alpine habitats. Ecol. Evol. 8(1): 150-161.

Vázquez, C., A. Orozco, M. Rojas, E. Sánchez *et al*. (1997). La reproducción de las plantas: semillas y meristemos. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 170pp.

Vleeshouwers, L. M., H. J. Bouwmeester y C. M. Karssen, (1995). Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. J. Ecol. 83(6): 1031-1048.

Washitani, I. y M. Masuda (1990). A comparative study of the germination characteristics of seeds from a moist tall grassland community. Functional Ecology. 4(4): 543.

Willis, C. G.,C. Baskin, J. Baskin, J. R. Auld *et al*. (2014). Dormancy and diversification: environmentally cued dormancy, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. New Phytol. 203: 300-309.

Wulff, R., H. F. Causin, O. Benitez y P. A. Bacalini (1999). Intraspecific variability and maternal effects in the response to nutrient addition in *Chenopodium album*. Can. J. of Bot. 77(8): 1150-1158.

● ● ●

Editor para correspondencia: Dra. Patricia Ortega Rodés