

Nota Técnica

Características seminales de cinco variedades de morera (*Morus alba* L.) cosechadas en Matanzas, Cuba[♦]Seed characteristics of five mulberry (*Morus alba* L.) varieties harvested in Matanzas, Cuba[♦]Jorge Jesús Reino-Molina¹, Laura A. Montejo-Valdés², Jorge Alberto Sánchez-Rendón² y Giraldo Jesús Martín Martín¹¹Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey, Universidad de Matanzas, Ministerio de Educación Superior Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba²Instituto de Ecología y Sistemática, La Habana, Cuba
Correo electrónico: jreino@ihatuey.cu**Resumen**

El objetivo del estudio fue caracterizar los rasgos morfológicos y fisiológicos de las semillas de cinco variedades de *Morus alba* L. (cubana, tigreada, universidad, universidad mejorada y yu -62) que se cosecharon en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey –Matanzas, Cuba–. Se empleó un diseño totalmente aleatorizado, y se determinó el tipo de embrión, las dimensiones y la masa de las semillas, su contenido de humedad, la asignación de biomasa a las reservas seminales (embrión-endospermo) y el índice de tolerancia a la desecación. A los datos se les realizó un análisis de varianza de clasificación simple. Los resultados indicaron que las semillas tenían forma de ova-da a circular; mientras que el embrión era desarrollado, de tipo doblado. La masa fresca varió entre 1,30 y 1,46 mg, y la mayor parte de sus recursos se destinaron a la formación de reservas (entre 62,3 y 68,1 %). El contenido de humedad varió entre 11,5 y 13,2 %, y el índice de tolerancia a la desecación fue menor que 0,5; valor que se corresponde con el de semillas ortodoxas. Se concluye que la información obtenida sobre la biología de la semilla de *M. alba* resulta de gran utilidad para la conservación del banco de germoplasma de esta especie y para su propagación por vía sexual.

Palabras clave: embriones vegetales, humedad, semillas.

Abstract

The objective of the study was to characterize the morphological and physiological traits of the seeds of five *Morus alba* L. varieties (cubana, tigreada, universidad, universidad mejorada and yu-62), which were harvested at the Pastures and Forages Research Station Indio Hatuey –Matanzas, Cuba–. A completely randomized design was used, and the type of embryo, seed size and mass, moisture content, allocation of biomass to the seed reserves (embryo-endosperm) and desiccation tolerance index, were determined. Simple classification variance analysis was performed on the data. The results indicated that the seeds had ovate to round shape; while the embryo was developed, of folded type. The fresh mass varied between 1,30 and 1,46 mg, and most of the seed resources were aimed at reserve formation (between 62,3 and 68,1 %). The moisture content varied between 11,5 and 13,2 %, and the desiccation tolerance index was lower than 0,5; value which is in correspondence with that of orthodox seeds. It is concluded that the information obtained on the biology of the *M. alba* seed is highly useful for the conservation of the germplasm bank of this species and for its sexual propagation.

Keywords: plant embryos, moisture, seeds.

Introducción

Desde la década del noventa del pasado siglo, en Cuba se investiga la morera (*Morus alba* L., *Moraceae*) para la producción de forraje de manera

sostenible, debido a la gran aceptabilidad por los animales, y en la actualidad se estudia por su destacado potencial medicinal y en la industria de la seda (Martín *et al.*, 2014). Para ello, el país posee

[♦] Este resultado corresponde al proyecto «Investigaciones con *Morus* sp. para el desarrollo de tecnologías sostenibles de alimentación y salud humana y animal en Cuba», Programa Nacional de Ciencia y Técnica «Producción de alimento animal», del Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, Cuba.

[♦] This result corresponds to the project «Studies with *Morus* sp. for the development of sustainable human and animal feeding and health technologies in Cuba», National Science and Technology Program «Feed production», of the Ministry of Science, Technology and Environment, Cuba.

un germoplasma de 20 variedades conservadas en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey (EPPFIH), que fueron introducidas desde Costa Rica, Etiopía, Brasil, Corea del Sur, China y España (Martín *et al.*, 2014).

Este germoplasma ha sido caracterizado, con la finalidad de evaluar su crecimiento y desarrollo en las condiciones edafoclimáticas de diferentes zonas de Cuba y para su inclusión en las tecnologías sostenibles que contribuyan a la producción de biomasa y la obtención de bioproductos de interés para la salud humana, animal y vegetal (Martín *et al.*, 2014). Sin embargo, si se quiere explotar de forma intensiva y efectiva el cultivo de la morera en el país, debe caracterizarse de manera precisa sus semillas, así como los mecanismos de germinación.

La reproducción de esta especie mediante semillas por vía sexual resulta clave para mantener la diversidad genética. El conocimiento de su biología es una herramienta importante para tener éxito en el establecimiento de las plántulas en los sistemas agrícolas y silvopastoriles, conservar un banco viable de semillas, realizar programas de mejoramiento y enfrentar el cambio climático (Jiménez-Alfaro *et al.*, 2016).

Entre los rasgos seminales se destacan los morfofisiológicos, ya que pueden determinarse de manera rápida y poseen un importante valor predictivo en lo referente a la adaptación de las plantas (Sánchez *et al.*, 2015). En este sentido, Baskin y Baskin (2007; 2014) reconocen que la estructura interna de las semillas, en particular la morfología del embrión, es una información valiosa para la clasificación de la dormancia seminal. En tanto, Jiménez-Alfaro *et al.* (2016) también señalan que el tamaño y la masa seminal son rasgos de vital importancia en el ciclo de vida de una planta, debido a que tienen implicaciones en los mecanismos de dispersión, establecimiento y supervivencia de las especies. Mientras, el grado de hidratación de los diseminulos desempeña un papel fundamental en su longevidad y comportamiento germinativo.

Sin embargo, otras características de las semillas también podrían mostrar las respuestas de las especies al ambiente; por ejemplo, las estructuras de defensas físicas (testa/endocarpo) y el contenido de nutrientes en las reservas seminales –embrión/endospermo– (Daws *et al.*, 2006; Montejo *et al.*, 2015). Por ello, el objetivo de este estudio fue caracterizar los diferentes rasgos morfofisiológicos de las semillas frescas de cinco variedades de morera que se cosecharon en la EPPFIH.

Materiales y Métodos

Material vegetal. Las semillas frescas de *M. alba* evaluadas provenían del banco de recursos genéticos de la EPPFIH. Como tratamientos, se emplearon semillas de cinco variedades: cubana, tigreada, universidad, universidad mejorada y yu-62, que fueron cosechadas en marzo de 2014. Para los ensayos se utilizó un diseño completamente aleatorizado, y estos se realizaron inmediatamente después de la colecta, en el laboratorio de semillas del Instituto de Ecología y Sistemática –La Habana, Cuba.

Caracterización de las semillas. La forma seminal fue descrita según Niembro (1988), y las características de la superficie de la testa se detallaron conforme a lo planteado por Stearn (1992). La descripción del tipo de embrión se realizó sobre la base de la morfología (forma) y el grado de desarrollo de este (tamaño), mediante la relación longitud del embrión (E)-longitud de la semilla (S), según el criterio de clasificación propuesto por Baskin y Baskin (2007). Para tal propósito se utilizó una muestra de 30 semillas por variedad, a las que se les extrajeron los embriones con un bisturí quirúrgico. Posteriormente, estos fueron examinados en un microscopio estereoscopio equipado con micrómetro, para medir la longitud del embrión (mm). Se consideró que la semilla presentó embrión no desarrollado (en términos de tamaño) cuando este fue pequeño, pero con órganos diferenciados, y la relación entre el tamaño del embrión con respecto a la semilla (E-S) fue menor que 0,5 mm. Por su parte, se consideró una semilla con embrión totalmente desarrollado cuando este ocupó más del 50 % de la cavidad seminal ($E-S > 0,5$ mm) o la totalidad de esta (Baskin y Baskin, 2007).

Posteriormente, de cada variedad se tomó al azar una muestra de 100 semillas, a las cuales se les determinó las dimensiones seminales (longitud, ancho y grosor) con un pie de rey (Mitutoyo, de 0,02 mm de precisión). Con estos valores se calculó el índice de varianza de las dimensiones de las semillas, según el método de Thompson *et al.* (1993). Previo al cálculo de la varianza, cada valor de dimensión seminal se dividió entre el valor de la longitud, para que esta última fuera igual a la unidad. De esta manera, en una semilla esférica la varianza es 0; mientras que en una alargada o achatada, la varianza puede ser de hasta 0,33.

El resto de las variables seminales estudiadas fueron: masa fresca total (mg), masa seca total (mg), contenido de humedad inicial (%) y masa

seca de las reservas (embrión-endospermo, mg). La masa fresca se determinó mediante el pesaje individual de las semillas en una balanza (Sartorius, con precisión 10^{-4} g). La masa seca y el contenido de humedad inicial se obtuvieron a partir del secado de las semillas durante 17 h, en una estufa a 103 ± 2 °C, según las normas del International Seed Testing Association (ISTA, 2007). Para calcular la fracción (o asignación) de la masa seca de la semilla destinada a las reservas seminales se dividió el valor de este componente seminal entre la masa seca total de la semilla (Sánchez *et al.*, 2009), y los valores resultantes se multiplicaron por 100 para facilitar la interpretación de los datos.

También se determinó el índice de probabilidad de sensibilidad a la desecación, P (D-S), basado en datos biométricos de las semillas, de acuerdo con la fórmula propuesta por Daws *et al.* (2006):

$$P(D-S) = \frac{e^{3.269-9.974a+2.156b}}{1+e^{3.269-9.974a+2.156b}}$$

donde a representó la fracción de la masa seminal destinada a las cubiertas seminales (MSC) y b es el \log_{10} de la masa seca total de la semilla. Por lo que: si P (D-S) $> 0,5$ es probable que las semillas sean sensibles a la desecación; si P (D-S) $< 0,5$ es probable que las semillas sean tolerantes a la desecación; mientras que si P (D-S) = $0,5$ las semillas tienen la misma probabilidad de ser sensibles a la desecación o tolerantes.

Análisis estadístico. Todos los datos cuantitativos se procesaron mediante un análisis de varianza de clasificación simple, y en el caso de los expresados en porcentaje (contenido de humedad y asignación a reservas) se transformaron con el arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción. Para ello se utilizó el programa InfoStat v. 2015 (Di Rienzo *et*

al., 2015), teniendo en cuenta que el nivel de significación fijado fue de $p < 0,05$.

Resultados y Discusión

Las semillas de *M. alba* que se sometieron a análisis tenían forma ovada a circular; su color era carmelita claro, y la superficie de la testa, granulada a coliculada. En su interior presentaban una pequeña capa de endospermo que envolvía por completo el embrión, ubicado en el eje central del diseminulo y cuyos órganos estaban diferenciados; lo que permite afirmar que se corresponde con un embrión doblado (fig. 1), según la clasificación establecida por Baskin y Baskin (2007). Ello a su vez coincide con la caracterización realizada por Baskin y Baskin (2014), para la familia *Moraceae*. El eje embrionario era continuo, y los cotiledones, de tipo incumbentes. El tamaño del embrión en relación con el interior de la cavidad seminal (E-S) era mayor en 50 %; por tanto, se considera un embrión desarrollado. Esto indica que las clases de dormancia que puede presentar la especie, una vez que el fruto es dispersado por la planta madre, es la física, la fisiológica, o combinaciones de estas clases (Baskin y Baskin, 2014). De hecho, para las semillas frescas y envejecidas de *M. alba* se ha informado que puede existir dormancia física y fisiológica (Barbour *et al.*, 2008), aunque también pueden ser no dormantes (Permán *et al.*, 2013).

Los valores de longitud, ancho y grosor de las semillas de *M. alba* no mostraron diferencias significativas entre las variedades (tabla 1). La longitud de las semillas varió en un rango de 2,15 a 1,77 mm, y las semillas eran más gruesas que anchas. Como la longitud de la semilla fue menor de 5 mm, esto ubica a la especie en la categoría más pequeña de tamaño seminal (clase A), propuesta por Hladik y Miquel



Figura 1. Semilla y embrión de *Morus alba* (la barra de escala es igual a 0,5 mm).

Tabla 1. Valores promedio de las dimensiones de las semillas en las variedades de *M. alba*

Variedad	Longitud (mm)	Ancho (mm)	Grosor (mm)	Varianza de las dimensiones
Cubana	2,06 (0,02)	0,96 (0,03)	1,63 (0,02)	0,07 (0,01)
Tigreada	2,07 (0,02)	0,92 (0,01)	1,58 (0,02)	0,07 (0,009)
Universidad	1,77 (0,02)	1,10 (0,02)	1,48 (0,02)	0,03 (0,01)
Universidad mejorada	1,83 (0,05)	1,03 (0,05)	1,46 (0,04)	0,04 (0,008)
Yu-62	2,15 (0,02)	1,00 (0,03)	1,65 (0,03)	0,07 (0,01)

(): EE

(1990) para especies arbóreas. Por su parte, la varianza de las dimensiones mostró que las semillas de todas las variedades tendían a ser esféricas, o de forma ovada a circular, como ya se comentó.

La masa total de la semilla (fresca y seca), el contenido de humedad, la asignación de biomasa a las reservas seminales y el índice de sensibilidad a la desecación no mostraron diferencias significativas entre las variedades (tabla 2). El valor promedio de la masa fresca de las variables fue de 1,41 mg, que se corresponde con la segunda categoría de tamaño seminal (1,0-9,9 mg) propuesta por Montejo *et al.* (2015) para especies arbóreas.

El contenido de humedad inicial varió entre 11,5 y 13,2 %, con un promedio de 12,3 %; estos porcentajes de humedad se ajustaron a los establecidos para especies con semillas ortodoxas o tolerantes a la desecación durante el almacenamiento (Dickie y Pritchard, 2002). De hecho, es conocido el comportamiento ortodoxo de las semillas de *M. alba* (Permán *et al.*, 2013; Royal Botanic Garden, 2015).

Los valores para el índice de sensibilidad a la desecación (< 0,5) también indicaron que las simientes de las cinco variedades podrían ser tolerantes a la desecación. Según Permán *et al.* (2013), las semillas de la morera se pueden mantener viables durante dos a tres años en condiciones ambientales

comunes. Igualmente, se ha informado que en la familia *Moraceae* más del 50 % de las especies presentan semillas ortodoxas o tolerantes a la desecación (Dickie y Pritchard, 2002).

Las semillas de las cinco variedades destinaron más de un 60 % de la materia seca total a la formación de las reservas nutricionales (embrión/endospermo), tal como sucede en otras especies de semillas muy pequeñas (Sánchez *et al.*, 2009). Esto podría garantizar que las plántulas cuenten con cierta cantidad de recursos para crecer durante las primeras etapas de su desarrollo en vivero, fenómeno registrado en semillas de *Talipariti elatum* (Sw.) y *Ceiba pentandra* (L.) (Sánchez *et al.*, 2009). También una considerable cantidad de recursos en las reservas seminales podría ser una ventaja para el inicio del crecimiento en suelos pobres en nutrientes (Sánchez *et al.*, 2015).

Algunos de estos rasgos se han identificado en semillas de especies pioneras del neotrópico, que crecen en bosques tropicales siempreverdes y semi-decíduos (Montejo *et al.*, 2015), y también en semillas de *M. alba* que crecen en sistemas cultivados y de forma silvestre en zonas mediterráneas semiáridas (Permán *et al.*, 2013).

Conclusiones

Las semillas de *M. alba* mostraron un embrión desarrollado de tipo doblado, que ocupó más del 50

Tabla 2. Valores promedio de los rasgos morfofisiológicos de las semillas en las variedades de *M. alba*

Variedad	Masa fresca (mg)	Masa seca (mg)	Contenido de humedad (%)	Asignación a reservas (%)	Sensibilidad a desecación
Cubana	1,46 (0,05)	1,28 (0,05)	12,3 (2,1)	68,1 (3,3)	0,0011 (1,6E-07)
Tigreada	1,29 (0,03)	1,15 (0,03)	11,5 (2,5)	64,8 (2,2)	0,0012 (1,6E-07)
Universidad	1,43 (0,07)	1,24 (0,06)	13,2 (1,9)	63,9 (2,8)	0,0010 (1,6E-07)
Universidad mejorada	1,40 (0,08)	1,22 (0,07)	12,8 (1,6)	67,8 (2,3)	0,0012 (1,6E-07)
Yu-62	1,48 (0,04)	1,21 (0,04)	11,9 (1,9)	62,3 (2,3)	0,0012 (1,6E-07)

(): EE Los datos porcentuales se corresponden con los originales.

% del interior de la cavidad seminal, característica que evidenció que no presentaban dormancia morfológica ni morfofisiológica; pero que sí podrían exhibir dormancia fisiológica, como ocurre en otras especies de la familia *Moraceae*. Por otra parte, los valores de masa seminal, contenido de humedad e índice de sensibilidad a la desecación estuvieron en el rango señalado para las especies con semillas ortodoxas o tolerantes a la desecación durante el almacenamiento. Por ello, la información que se obtuvo sobre la biología de la semilla de *M. alba* resulta de gran utilidad para la conservación del banco de germoplasma de esta especie y para su propagación por vía sexual.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Alejandro Gamboa por la asistencia técnica en el laboratorio.

Referencias bibliográficas

- Barbour, J. R.; Read, R. A. & Barnes, R. L. *Morus* L. In: F. T. Bonner and R. P. Karrfalt, eds. *The woody plant seed manual*. 727. Washington: United States Department of Agriculture. Agriculture Handbook 727. p. 728-732, 2008.
- Baskin, Carol C. & Baskin, J. M. *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. 2 ed. San Diego, USA: Academic Press, 2014.
- Baskin, J. M. & Baskin, Carol C. A revision of Martin's seeds classification system, with particular reference to this dwarf-seed type. *Seed Sci. Res.* 17 (1):11-20, 2007.
- Daws, M. I.; Garwood, Nancy C. & Pritchard, H. W. Prediction of desiccation sensitivity in seeds of woody species: a probabilistic model based on two seed traits and 104 Species. *Ann. Bot.* 97 (4):667-674, 2006.
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.; González, L.; Tablada, M. & Robledo, C. W. *Manual del usuario. InfoStat*. Argentina: Grupo Infostat, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Córdoba. <http://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=46>. [13/10/2016], 2015.
- Dickie, J. B. & Pritchard, H. W. Systematic and evolutionary aspects of desiccation tolerance in seeds. In: M. Black and H. W. Pritchard, eds. *Desiccation and survival in plants: drying without dying*. CAB International: Wallingford, The Netherlands. p. 239-259, 2002.
- Hladik, A. & Miquel, S. Seedling types and plant establishments in an African rain forest. In: K. S. Bawa and M. Hardley, eds. *Reproductive ecology of tropical forest plants*. Paris: MAB, Parthenon Publishing Group. p. 261-276, 1990.
- ISTA. *International rules for seed testing*. Bassersdorf, Switzerland: International Seed Testing Association, 2007.
- Jiménez-Alfaro, B.; Silveira, F. A. O.; Fidelis, Alessandra; Poschlod, P. & Commander, Lucy E. Seed germination traits can contribute better to plant community ecology. *J. Veg. Sci.* 27 (3):637-645, 2016.
- Martín, G. J.; Pentón, Gertrudis; Noda, Yolai; Contino, Y.; Díaz, Maykelis; Ojeda, F. *et al.* Comportamiento de la morera (*Morus alba* L.) y su impacto en la producción animal y la crianza de gusanos de seda en Cuba. *Rev. cubana Cienc. agric.* 48 (1):73-78, 2014.
- Montejo, Laura; Sánchez, J. A.; Muñoz, Bárbara & Gamboa, A. Caracterización de semillas de un bosque siempreverde tropical del oeste de Cuba. Correlaciones ecológicas entre rasgos. *Bosque (Valdivia)*. 36 (2):211-222, 2015.
- Niembro-Roca, A. *Semillas de árboles y arbustos: ontogenia y estructura*. México, D. F.: Editorial Limusa, 1988.
- Permán, J.; Navarro, R.; Nicolás, J. L.; Prada, María & Serrada, R., Coords. *Producción y manejo de semillas y plantas forestales*. Madrid: Organismo Autónomo Parques Nacionales, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2013.
- Royal Botanic Garden. *Seed Information Database (SID)*. Version 7.1. Kew, United Kingdom: Royal Botanic Garden. <http://data.kew.org/sid/>. [19/04/2017], 2015.
- Sánchez, J. A.; Montejo, Laura & Pernús, Mayté. Germinación de nuestras semillas: factor de éxito en la restauración ecológica. En: L. Menéndez, M. Arellano and P. M. Alcolado, eds. *¿Tendremos desarrollo socioeconómico sin conservación de la biodiversidad? Experiencias del Proyecto Sabana-Camagüey en paisajes productivos*. La Habana: Editorial AMA. p. 130-145, 2015.
- Sánchez, J. A.; Muñoz, Bárbara & Montejo, Laura. Rasgos de semillas de árboles en un bosque siempreverde tropical de la Sierra del Rosario, Cuba. *Pastos y Forrajes*. 32 (2):141-164, 2009.
- Stearn, W. T. *Botanical latin. History, grammar, syntax, terminology and vocabulary*. 4 th ed. United Kingdom: David & Charles, 1992.
- Thompson, K.; Band, S. R. & Hodgson, J. G. Seed size and shape predict persistence in soil. *Funct. Ecol.* 7 (2):236-241, 1993.