

Evaluación de la viabilidad en semillas de *Pinus tropicales* Morelet con diferente tiempo de almacenamiento

*Evaluation of viability in seeds of *Pinus tropicalis* Morelet with different storage time*

Odalys Álvarez Cisneros

Ingeniero Forestal, Ministerio de la Agricultura. Grupo Empresarial Agroforestal. La Habana, Cuba. teléf.: 78864730, silvicultura2@gaf.minag.cu; ID: <http://orcid.org/0000-0002-4035-5397>

Claudia María Pérez-Reyes

Ingeniero Forestal, profesor Universidad "Hermanos Saiz Montes de Oca", Facultad de Ciencias Forestales y Agropecuarias Departamento Forestal. Pinar del Río, Cuba, teléf.: 48-779661, claudia.maria@upr.edu.cu; ID: <http://orcid.org/0000-0002-3690-3119>

Marta Bonilla-Vichot

Doctora en Ciencias Forestales, profesor Universidad "Hermanos Saiz Montes de Oca", Facultad de Ciencias Forestales y Agropecuarias Departamento Forestal. Pinar del Río, Cuba, teléf.: 48-779661, mbon@upr.edu.cu; ID: <http://orcid.org/0000-0002-6605-5296>

Para citar este artículo / To reference this article / Para citar este artigo

Álvarez, O., Pérez-Reyes, C. M. y Bonilla, M. (2020). Evaluación de la viabilidad en semillas de *Pinus tropicales* Morelet con diferente tiempo de almacenamiento. *Avances*, 22(1), 97-109
Recuperado de <http://www.ciget.pinar.cu/ojs/index.php/publicaciones/article/view/512/1597>

Recibido: 25 de octubre de 2019

Aceptado: 18 de diciembre de 2019

RESUMEN

Las semillas de *Pinus tropicalis* presentan bajo porcentaje de germinación por lo que es necesario profundizar en los métodos más

adecuados para evaluar la calidad de las semillas a partir de la viabilidad, por tanto esta investigación se desarrolló con el objetivo de

evaluar la viabilidad de las semillas con diferentes tiempos de almacenamiento. Las semillas procedían de la masa sencillera La Manaja, Empresa Agroforestal Macurije, Pinar del Río, con diferentes tiempos de almacenamientos dos, cuatro, siete y años en frigorífico y 3 meses en condiciones ambientales. Los experimentos fueron realizados en condiciones de Laboratorio. Las semillas se colocaron inicialmente en agua para facilitar la eliminación de la testa, una vez eliminadas fueron tratadas con las soluciones colorantes, en cada caso se tuvieron en cuenta los criterios evaluativos para determinar las semillas viables y no viables en función de la parte de la semilla coloreada o no coloreada. Se emplearon para la comparación datos de la germinación de los diferentes años de almacenamiento. Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente por un análisis de varianza y la prueba de Duncan. La prueba de tetrazolio mostró los mayores valores para las semillas cosechadas en 2018 con tres meses de almacenamiento, seguidas de las semillas de 2 años de cosechadas. La viabilidad disminuyó con el tiempo de almacenamiento. La prueba de tetrazolio y de índigo carmín no mostraron diferencias significativas para los diferentes tiempos de almacenamiento, pero si con respecto a la germinación.

Palabras clave: calidad de las semillas, prueba de tetrazolio, prueba de Índigocarmín, test de conductibilidad eléctrica.

ABSTRACT

The seeds of *Pinus tropicalis* have low germination percentage because it is necessary to deepen the most appropriate methods to evaluate the quality of the seeds from the viability, therefore this research was developed with the objective of evaluating the viability of the seeds with different storage times. The seeds came from the simple mass La Manaja, Macurije Agroforestry Company, Pinar del Río, with different storage times two, four seven and nine years in the refrigerator and 3 months in environmental conditions. The experiments were performed under laboratory conditions. The methodologies established for these analyzes were applied. The seeds were initially placed in water to facilitate the removal of the testa, once removed they were treated with the coloring solutions, in each case the evaluation criteria were taken into account to determine the viable and non-viable seeds depending on the part of the colored or uncolored seed. Germination data from the different storage years were used for comparison. The data obtained were statistically processed by an analysis of variance and the Duncan test. The tetrazolium test showed the highest values for seeds harvested in 2018 with three months of storage, followed by 2-year-old seeds harvested. Feasibility decreased with storage time. The tetrazolium and indigo carmine test showed no significant differences for the different storage times, but with respect to germination.

Key Words: quality of the seeds, tetrazolio and índigo carmine test, electrical conductivity test.

INTRODUCCIÓN

Entre los factores que terminan la calidad de la semilla se pueden señalar: procedencia, madurez, año semillero y tiempo de cosecha. La calidad en semillas es un concepto formado por cuatro componentes principales: características físicas, fisiológicas, genéticas y sanitarias. Los análisis para su determinación se realizan en laboratorio y/o invernadero, utilizando técnicas estandarizadas, que aseguren resultados uniformes repetibles (Avendaño-López *et al.*, 2015).

Se entiende por viabilidad de un lote de semillas, no durmientes, a la capacidad de germinar y de originar plántulas normales en condiciones ambientales favorables; el vigor de un lote de semillas por su parte, se define como el conjunto de propiedades que determinan el nivel de actividad y capacidad de las semillas durante la germinación y posterior emergencia de las plántulas (Pérez García, y Pita Villamil, 2001) citado por Barone, Duarte y Luna (2016).

Existen varios métodos para determinar la viabilidad de las semillas entre ellos métodos colorimétricos como el test de tetrazolio que se

implementa en una gran variedad de especies (Salazar y Gélvez, 2015), que da evidencia de los procesos de reducción que tienen lugar en células vivas, mediante una sustancia indicadora, internacionalmente se recomienda una solución acuosa al 1% de Cloruro o Bromuro de Tetrazolio, resultando más frecuente e empleo de 2-3-5 Trifenil Cloruro Tetrazolio. También se emplea el método directo o prueba de germinación que tiene como objetivo determinar el valor productivo del lote de semillas, conociendo la proporción de plantas efectivas con relación al número de semillas sembradas en la muestra, esta prueba es la más confiable, pero demanda tiempos prolongados que van desde los treinta días, dependiendo de la especie. La Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA, por sus siglas en inglés) solo acepta tres métodos rápidos de evaluación de la viabilidad como oficiales: la escisión del embrión, el ensayo topográfico de tetrazolio y el método de rayos x (ISTA, 2014). No obstante, se han extendido además, el empleo del test conductibilidad eléctrica y la prueba del Índico carmín.

La prueba de Índico carmín, como test ha sido desarrollada desde la mitad del siglo pasado y en especial en tejido animal. El test es un método colorimétrico que no está aceptado por la Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA); sin embargo, se ha utilizado para evaluar la viabilidad en un determinado grupo de plantas (Jyoti & Malik, 2013), siendo bastante utilizado desde 1925 para diferentes especies forestales. Se basa en la tinción de color oscuro de las partes muertas, mientras que las vivas permanecen incoloras. Se ha reportado como una técnica útil para especies de pináceas y no hay constancias de su utilización en otras especies (Benito-Matías *et al.*, 2004). Así, se tiñen de azul las semillas muertas por el aumento en la permeabilidad de la membrana y las no viables permanecen incoloras.

Benito-Matías *et al.* (2004) reportan su utilidad en semillas forestales en especial de coníferas. Esta prueba se realiza para determinar el grado de necrosidad de las semillas, ocurriendo una coloración diferencial de los tejidos vivos (incoloros) y muertos (negro) del embrión expuesto al colorante, de forma contraria a prueba de tetrazolio, se

produce una coloración de las partes no viables de la semilla.

Pinus tropicalis es una especie endémica de la región occidental de Cuba, crece sobre suelos pobres y es muy exigente por la luz. Tiene una gran demanda por los múltiples usos de la madera y otros productos no maderables que de ella se pueden obtener.; pero su baja germinación limita su obtención en vivero, por lo que es necesario contar con semillas de calidad para garantizar los planes de reforestación.

Debido a la importancia ecológica y aprovechamiento comercial de esta especie, se hace necesario investigar la aplicación de métodos colorimétricos para evaluar la viabilidad. Estos métodos son más rápidos y permiten conocer la calidad de los diferentes lotes de semillas, determinando la potencia germinativa, en sustitución de los ensayos de germinación, que requieren un mayor tiempo para la evaluación. Por lo que se decide como objetivo de esta investigación, evaluar la viabilidad de las semillas de *Pinus tropicalis* con diferentes tiempos de almacenamiento a partir de métodos colorimétricos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del área en estudio

La masa semillera de La Manaja, la cual está ubicada en el lote cuatro correspondiente a los rodales 2,4,7,14,15, y 16, perteneciente al

Consejo Popular Punta de la Sierra, abarca una superficie de 54,3 ha, a una altitud de 245 msnm. El suelo predominante es ferralítico

rojo lixiviado con una pendiente de un 20%, la temperatura promedio anual es de 28°C, precipitación media anual de 1200 a 1312 mm (MINAG, 2018).

Características de la muestra

Se tomaron muestras de semillas de *Pinus tropicalis*, las que se encontraban almacenadas en el frigorífico de la Empresa de semillas de la provincia Pinar del Río, con intervalo de almacenamiento de nueve, ocho, cuatro y dos años respectivamente y con tres meses de cosechadas y conservada en condiciones ambientales. Las mismas corresponde a los siguientes años de cosechadas (2009, 2011, 2014, 2016 y 2018).

Para determinar la viabilidad de las semillas se realizaron las pruebas de tetrazolio (ISTA, 2014) e Índico carmín (Prats, 1944).

Prueba de tetrazolio

Para comprobar la viabilidad de las semillas, se realizó la tinción con tetrazolio, mediante la inmersión en una solución acuosa de cloruro de 2,3,5-triphenyl tetrazolium (pH 6,5-7,5) al 1, 0% por 24 horas en ausencia de luz (ISTA, 2014).

Previamente las semillas permanecieron 24 horas en agua para facilitar la eliminación de la testa sin dañar los cotiledones.

Una vez retirada la testa se colocaron 25 semillas con cuatro réplicas en las placas Petri, con 10 mL de la solución. La solución actuó como un indicador de los procesos de

reducción que tienen lugar dentro de las células vivas a partir de los cambios de coloración en las diferentes partes de las semillas. Se procedió a realizar los cortes a la semilla, para observar la coloración del embrión y de los cotiledones se utilizó un estereoscopio para mejorar la visualización de dichas estructuras y determinar la viabilidad.

La evaluación de la viabilidad se basó en el color adquirido por los embriones, principalmente aquellos que presentaron un color rojo intenso (viables), excluyendo los que tenían un color ligeramente pálido o no tenían color, que se consideraron no viables o muertos (Maldonado-Peralta *et al.*, 2016).

Los resultados se expresaron en por ciento de semillas viables (semillas mayormente teñidas) y semillas no viables (embrión sin tinción).

La viabilidad se determinó por la siguiente expresión:

$$\% \text{ de Viabilidad} = \frac{\text{semillas teñidas}}{\text{semillas totales}}$$

Prueba bioquímica de Índico carmín

Para realizar la prueba, se tomaron 4 repeticiones con 25 semillas de los diferentes años de almacenamientos las cuales al igual que la prueba del tetrazolio se colocaron en agua por 24 horas para poder eliminar la testa que las recubre sin dañar los cotiledones, una vez retirada la testa se colocaron en las placas Petri con 2 mL de la solución y se dejaron

durante 6 horas en condiciones de oscuridad, pasado este tiempo se lavaron con agua destilada, y se realizaron los cortes longitudinales al eje de la semilla, para realizar las observaciones correspondientes. En función de la coloración de los tejidos se consideran tres categorías para la evaluación: embriones vivos, muertos y vitalidad limitada.

Análisis estadístico:

A los datos obtenidos en los test de viabilidad (Índice carmín, prueba de tetrazolio) y en la

prueba convencional de germinación (realizada paralela a este estudio) se les aplicó la prueba de normalidad Shapiro – Wilk comprobándose que cumplían una distribución normal; por lo que se realizó un análisis de varianza con comparación múltiple de las medias aplicando el Paquete Estadístico SPSS ver. 16 sobre Windows. A partir de los datos obtenidos se elaboraron tablas y gráficos utilizando Microsoft Office Word y Microsoft Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba del tetrazolio

En la *Figura 1*, se puede observar cómo se distribuyó el número de semillas en los diferentes tiempos de almacenamiento en los grupos conformados según la viabilidad o no viabilidad de las mismas, establecidas por (ISTA, 2014), a partir de la parte de la semilla que este teñida de forma total,

parcial y no teñida, la mayor cantidad de semillas viables corresponden a las cosechadas en 2018 con tres meses de almacenamiento (10), seguidas de las semillas de 2 años de cosechadas (8), observándose que el número de semillas viables disminuye con el tiempo de almacenamiento.

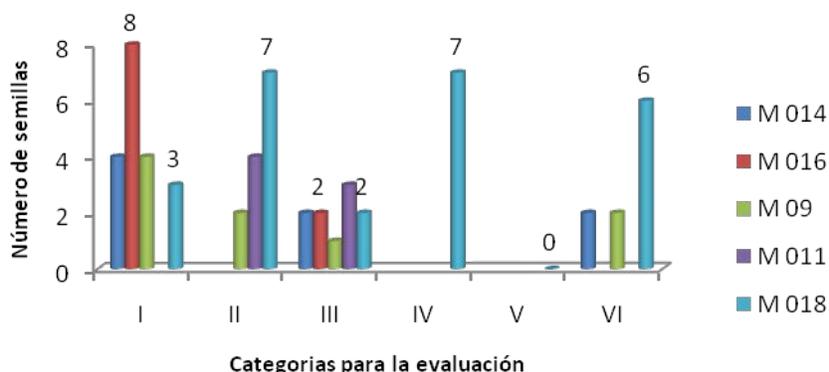


Figura 1. Resultados de la prueba de viabilidad

Leyenda: Categorías para la evaluación: I y II semillas viables, III, IV, V VI, semillas no viables

Las semillas mostraron variaciones en la intensidad de la tinción, debido a que la sal de tetrazolio permite determinar la localización y naturaleza de las alteraciones en los tejidos vivos de las semillas (ISTA, 2014), que evidencia o no la actividad respiratoria y con ello, la viabilidad de la semilla. Por lo tanto, el color rojo en los embriones, es un indicador positivo de la viabilidad de las semillas, mientras que aquellas regiones débilmente coloreadas en algunas partes del embrión, indican que las células presentan una disminución en la actividad respiratoria (Craviotto, Arango, & Gallo 2008).

Durante el ensayo se pudo observar la presencia de embriones totalmente coloreados y mientras que el endospermo permanece incoloro, esto demuestra que el embrión está en condiciones de germinar, pero no puede ocurrir la germinación al no contar con las sustancias necesarias para este proceso, por encontrarse sin actividad respiratoria. En otras semillas se observó el endospermo teñido y el embrión no, o sea, que aunque cuenta con las reservas necesarias para lograr la germinación, el embrión no puede convertirse en plántula por estar muertos sus tejidos. Un gran número de

semillas quedó totalmente blanco ante la acción de la sustancia ensayada, lo que indica la ausencia de enzimas activas, en los tejidos del embrión, ya que están muertos, en este caso no puede ocurrir la germinación. Estos resultados corroboran lo reflejado por (ISTA, 2014).

Los valores de viabilidad se representan en la *Figura 2*, donde las semillas con tres meses de cosechadas (2018) y almacenadas en condiciones ambientales favorables alcanzan el mayor por ciento de viabilidad. Al realizar la evaluación del número de semillas viables para los diferentes tiempos de almacenamiento se observó que no existen diferencias entre los tiempos de almacenamiento de dos, cuatro, siete y nueve años de almacenamiento, con respecto a los 3 meses en condiciones ambientales, mientras que estas últimas si mostraron diferencias con el resto de los tiempos evaluados. Estos valores muestran que las semillas pueden permanecer cortos periodos en condiciones ambientales sin que se afecte su viabilidad y en condiciones de almacenamiento en frigorífico no debe ser superior a los dos años (*Figura 3*).

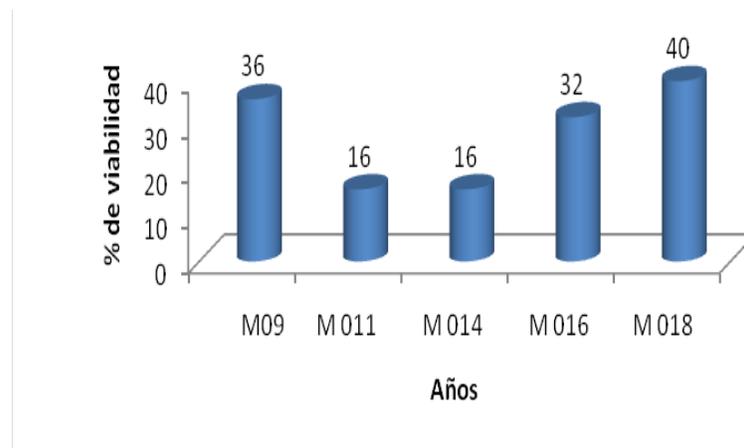


Figura 2. Viabilidad por tiempo de almacenamiento.

Esto está relacionado con lo expuesto Ríos-García *et al.* (2016), que la calidad de las semillas disminuye con el transcurso del tiempo, lo que ocasiona un deterioro que depende de las condiciones ambientales, edad, contenido de humedad y las condiciones de manejo y almacenamiento, coincidiendo además con (Manjarrez-Juárez *et al.*, 2017).

El almacenamiento por cortos períodos en condiciones ambientales (a 22 °C y humedad relativa 70,9 %) no influye en su viabilidad, pero cuando este período se prolonga, el deterioro de la semilla se acelera, provocado fundamentalmente por las temperaturas superiores a los 22 °C y el elevado contenido de humedad del aire que rodea a las mismas.

De igual manera, cuando las semillas almacenadas son expuestas a una mayor humedad y temperatura tienden a perder la viabilidad más rápidamente. Esto ocurre porque la humedad propicia una intensificación

de la actividad respiratoria de la semilla consumiendo sus reservas nutritivas y como consecuencia, libera calor, creando además condiciones propicias para la aparición de agentes patógenos (Doria, 2010). Estos aspectos se manifestaron durante el desarrollo de la investigación.

Algunas especies como *P. wallichiana* pueden permanecer viables por varios años a temperatura ambiente. En el caso de *Pinus tropicalis*, según Matos (1963), deben sembrarse rápidamente una vez cosechadas. Mientras que Samek (1967), señala que un período de almacenamiento de siete y ocho meses favorece la germinación de la especie. Al respecto Peña *et al.* (2000), señala que las semillas van alcanzando su madurez total durante el proceso de almacenamiento, determinado por un proceso de post maduración.

A criterio de las autoras existen diferentes factores en el momento de la

cosecha que inciden en los resultados de la viabilidad y finalmente de la germinación, fundamentalmente el tiempo óptimo de cosecha y la manipulación de los frutos y semillas.

Prueba de Índigo carmín

La Figura 3 muestra que la mayor cantidad de semillas viables se encuentran en

el año 2018 (tres meses de almacenamiento en condiciones ambientales), resultando además, el de mayor cantidad de semillas viables en la prueba de tetrazolio, también sobresalen los resultados correspondientes al 2016 (dos años de almacenamiento en frigorífico) en ambas pruebas.

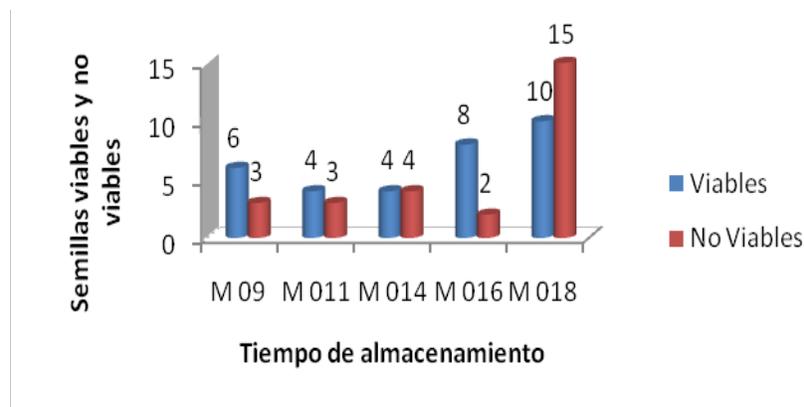


Figura 3 .- Semillas viables y no viables en la prueba de Índigo carmín

Al comparar estos resultados con los obtenidos con la prueba de tetrazolio se puede destacar que no existe diferencias significativas entre ellos, por lo que pueden ser utilizado cualquiera de los métodos colorímetros. La mejor respuesta del Índigo carmín puede deberse a la facilidad para considerar los daños. Teniendo estos test una fuerte carga de objetividad en la interpretación de los resultados, basada principalmente en la experiencia del analizador, resultando más

difícil interpretar zonas de las semillas pobremente teñidas por el tetrazolio. Mientras que en el caso del Índigo carmín la tinción de las zonas muertas se define claramente (Benitos et al., 2004). Por tanto desde el punto práctico resulta más factible el empleo del Índigo carmín para la determinación de la viabilidad.

En la *Figura 4* se presentan los resultados obtenidos en la germinación para los diferentes tiempos de almacenamiento.

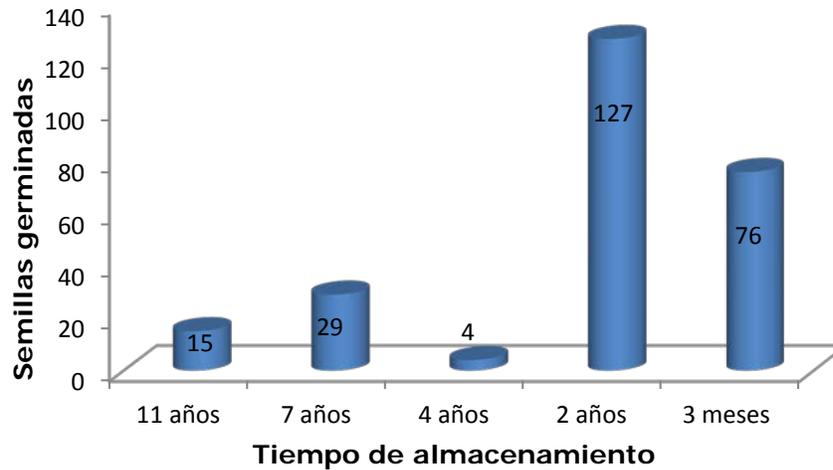


Figura 4 . - Germinación para los diferentes tiempos de almacenamiento

Como se puede observar los mayores valores se observan en las semillas almacenadas durante 2 años coincidiendo con lo señalado por Peña *et al.* (2000) que durante los tres primeros años de almacenamiento se produce un incremento en las semillas sanas, a partir de un proceso de post-maduración, elevándose por tanto los valores de germinación.

El análisis estadístico realizado mostró que no existen diferencias entre la prueba del Tetrazolio y el Índigo carmín, pero si se observan diferencias con respecto a los valores alcanzados en el ensayo de germinación (*Tabla*).

Tabla. Prueba de comparación de Medias.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = .05
Tetrazolio	20	1,2000a
Índigo carmín	20	1,6500a
Germinación	20	12,5000b
Sig.		,835 1,000

Leyenda: Letras iguales no difieren significativamente para $p \leq 0,05$.

La diferencia entre la germinación y ambos test coloriméricos, está dada por definición de

la viabilidad o no de las semillas a partir de las partes coloreadas y su intensidad, aspecto

analizado anteriormente. Además hay que tener en cuenta lo señalado por Benito et al. (2004), al precisar que la eliminación de la cubierta de la semilla, es una operación muy

CONCLUSIONES

Al comparar el test del tetrazolio y la prueba del Índigo carmín no mostraron diferencias significativas, resultando factible el empleo de cualquiera de los métodos para determinar la viabilidad; pero por ser de más fácil interpretación los resultados obtenidos a partir

delicada que puede ocasionar daños que se verán reflejados en la interpretación de los resultados obtenidos tras la tinción.

de la prueba de Índigo carmín, es más factible su empleo.

La viabilidad de la semilla disminuyó con el tiempo de almacenamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Avendaño-López, A., Quintana-Camargo, M.,

Padilla-García, J. y Arriaga-Ruiz, M.

(2015). Análisis de semilla de *Pinus*

devoniana con rayos X. *Revista de*

Ciencias Naturales y Agropecuarias,

2(4), 556-560. Recuperado de

[https://www.ecorfan.org/bolivia/resea](https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/vol2num4/Ciencias%20Naturales%20y%20Agropecuarias%20Vol%202%20Num%204%20Final_6.pdf)

[rchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agr](https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/vol2num4/Ciencias%20Naturales%20y%20Agropecuarias%20Vol%202%20Num%204%20Final_6.pdf)

[opecuarias/vol2num4/Ciencias%20Nat](https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/vol2num4/Ciencias%20Naturales%20y%20Agropecuarias%20Vol%202%20Num%204%20Final_6.pdf)

[urales%20y%20Agropecuarias%20Vol](https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/vol2num4/Ciencias%20Naturales%20y%20Agropecuarias%20Vol%202%20Num%204%20Final_6.pdf)

[%202%20Num%204%20Final_6.pdf](https://www.ecorfan.org/bolivia/researchjournals/Ciencias_Naturales_y_Agropecuarias/vol2num4/Ciencias%20Naturales%20y%20Agropecuarias%20Vol%202%20Num%204%20Final_6.pdf)

Barone, J. O., Duarte, E. R. y Luna, C. V.

(2016). Determinación de la eficacia

de métodos de evaluación de calidad

de semillas de especies forestales

nativas de la Selva Atlántica.

Universidad Nacional de Santiago del

Estero. Facultad de Ciencias Sociales.

Quebracho, 24(1-2). Recuperado de

[http://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/](http://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/51683)

[51683](http://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/51683)

Benito, L. F., Herrero, N., Jiménez, I. y

Peñuelas, J. L. (2004). Aplicación de

métodos colorimétricos para la

determinación de la viabilidad en

semillas de "*Pinus Pinae*": Test de

tetrazolio e índigo carmín. *Cuadernos*

de la Sociedad Española de Ciencias

Forestales (17), 23-28. Recuperado de

- <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2978417>
- Craviotto, M., Arango, M., & Gallo, C. (2008). *Topographic tetrazolium test for soybean*. Recuperado de www.cosechaypostcosecha.org/data/articulos/calidad/topographicTetrazoliumTestForSoybean.pdf
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 74-85. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0258-59362010000100011&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- ISTA International Seed Testing Association. (2014). *International Rules for Seed Testing*. Suiza: Bassersdorf.
- Jyoti, C. & Malik, C.P. (2013). Seed deterioration: A review. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 2(3), 374-385. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=4722131&pid=S0121-1935201500020000400015&lng=en
- Maldonado, M. de A., García, G., García-Nava, J. R., Ramírez-Herrera, C., Hernández-Livera, A., Valdez-Carrasco, J. M., Corona-Torres, T. & Cetina-Alcalá, V. M. (2016). Seed Viability and vigour of two nanche species (*Malpighia mexicana* and *Byrsonima crassifolia*). *Seed Science and Technology*, 44(1). <https://doi.org/10.15258/sst.2016.44.1.03>
- Manjarrez, F. J., Díaz, R., Carballo-Carballo, A., Estrada-Gómez, A., Vaquera-Huerta, H., Acosta-Gallegos, J. A., Ávila, M. A. y Gámez, A. J. (2017). Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la calidad de semilla de canola. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(4), 933-948. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i4.18>
- Matos, E. (1963). *Coníferas en Cuba*. La Habana: INRA. p. 12.
- MINAG (2018). *Proyecto de Organización y Desarrollo de la Economía Forestal 2015-2020 de la Empresa Forestal Integral Macurije*. (Inédito). Pinar del Río. 240 p.

Peña, A., Álvarez, A. y Montalvo, J. M. (2000). *Aproximación a la variabilidad de la calidad germinativa de las semillas de Pinus tropicalis Morelet*. La Habana: Instituto de Investigaciones Forestales. p. 11.

Prats, M. (1944). *Orientaciones modernas en el ensayo de semillas forestales*. Madrid, España: Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias.

Ríos-García, C., Orantes-García, C., Moreno-Moreno, R. y Farrera-Sarmiento, O. (2016). Viabilidad y germinación de semillas de Jopi (*Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam.) Urb.) (Malvaceae). *Lacandonia*, 10(2), 7-11. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publicat>

ion/313746805_Viabilidad_y_germinacion_de_semillas_de_Jopi_Ochroma_pyramidale_Cav_ex_Lam_Urb_Malvaceae

Salazar, S. A. y Gélvez, J. D. (2015). Determinación de la viabilidad de semillas de orquídeas utilizando la prueba de Tetrazolio e Índigo carmín. *Revista de Ciencias*, 19(2), 59-69. Recuperado de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0121-19352015000200004&lng=en&nrm=iso&tlng=es

Samek, V. (1967). *Elementos de Silvicultura de los Pinares*. La Habana, Cuba: Editorial Universidad de la Habana.

Avances journal assumes the Creative Commons 4.0 international license