LATENCIA MORFOFISIOLÓGICA EN SEMILLAS DE *Taxus globosa* SCHLTDL

MORPHOPHYSIOLOGICAL DORMANCY IN *Taxus globosa* SCHLTDL SEEDS

Perla Azucena Avalos-Molina[1], Alejandrina Robledo-Paz[1]*, Susana Elizabeth Ramírez-Sánchez[2] y Juan Celestino Molina-Moreno[1]

[1]Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad, Montecillo, Estado de México, México. [2]Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Centro Altos de Jalisco, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México.

**Autor de correspondencia* (arobledo@colpos.mx)

RESUMEN

Taxus globosa es una especie que se encuentra restringida en el mundo y se incluye en la categoría de protección especial, sus semillas germinan uno o dos años después de haber sido dispersadas, por lo que se consideran latentes. El objetivo de la presente investigación fue determinar los cambios morfológicos y fisiológicos en las semillas de *T. globosa* expuestas a distintos tratamientos para romper la latencia. Las semillas se sometieron a tres tratamientos: escarificación con N_2 líquido (Tratamiento 1), escarificación, aplicación de ácido giberélico ($AG_{4/7}$), estratificación fría alternada con estratificación cálida y estratificación fría (Tratamiento 2), y doble escarificación con N_2 líquido, intercalada con estratificación cálida y $AG_{4/7}$ (Tratamiento 3). No se observaron semillas germinadas en ninguno de los tratamientos probados. En el Tratamiento 1 hubo crecimiento del embrión y 3.8 % de las semillas rompieron su testa a los 90 días. Después de 120 días de la aplicación de los tratamientos fue posible detectar en la testa trans-zeatina (0.008-0.009 µg mg^{-1}), cis-zeatina (0.029 µg mg^{-1}) y ácido abscísico (ABA) (0.0002-0.0023 µg mg^{-1}). En el megagametofito se encontró cinetina (0.011 µg mg^{-1}), trans-zeatina (0.008-0.011 µg mg^{-1}) y ácido indolacético (AIA) (0.009 µg mg^{-1}). Las hormonas citocininas (trans-zeatina, cis-zeatina, cinetina) y auxinas (AIA) estuvieron presentes en mayor concentración tanto en las semillas testigo como en las de los tratamientos. No se detectaron giberelinas en ninguno de los tratamientos. En la testa de las semillas tratadas se encontró floretina, ácido p-hidroxibenzoico (ACH), catequina, naringenina y ácido protocateuico, mientras que en el megagametofito estuvieron presentes el ácido sinápico, ACH, así como catequina, los cuales se consideran inhibidores de la germinación. Las semillas de *T. globosa* presentan latencia morfofisiológica causada por la inmadurez del embrión y la presencia de inhibidores de la germinación.

Palabras clave: *Taxus globosa*, fenoles, germinación, hormonas, latencia, semillas.

SUMMARY

Taxus globosa is a species that is restricted in the world and is included in category of special protection, its seeds germinate one or two years after being dispersed, so they are considered dormant. The objective of this research was to determine the morphological and physiological changes in *T. globosa* seeds exposed to different treatments to break dormancy. Seeds were subjected to three treatments: scarification with liquid N_2 (Treatment 1); scarification, application of gibberellic acid ($GA_{4/7}$), cold stratification alternating with warm stratification, and cold stratification (Treatment 2), and double scarification with liquid N_2, alternated with warm stratification and $GA_{4/7}$ (Treatment 3). No germinated seeds were observed in any of the tested treatments. In Treatment 1 there was embryo growth and 3.8 % of the seeds broke their coat at 90 days. After 120 days of applying the treatments, it was possible to detect trans-zeatin (0.008-0.009 µg mg^{-1}), cis-zeatin (0.029 µg mg^{-1}) and abscisic acid (ABA) (0.0002-0.0023 µg mg^{-1}) in the seed coat; kinetin (0.011 µg mg^{-1}), trans-zeatin (0.008-0.011 µg mg^{-1}) and indoleacetic acid (IAA) (0.009 µg mg^{-1}) were found in the megagametophyte. Hormones cytokinins (trans-zeatin, cis-zeatin, kinetin) and auxins (IAA) were at higher concentration in both the control and treated seeds. No gibberellins were detected in any of the treatments. Phloretin, p-hydroxybenzoic acid (HBA), catechin, naringenin and protocathaeuic acid were found in the coat of the treated seeds, while sinapinic acid, HBA, and catechin, which are considered as germination inhibitors, were present in the megagametophyte. Seeds of *T. globosa* show morphophysiological dormancy caused by immaturity of the embryo and the presence of germination inhibitors.

Index words: *Taxus globosa*, dormancy, germination, hormones, phenols, seeds.

INTRODUCCIÓN

Taxus globosa es una especie que pertenece a la familia Taxaceae, se caracteriza por ser un árbol perennifolio, dioico, de 6 a 18 m de altura y que forma un tronco erecto de 30 a 50 cm de diámetro (Shemluck *et al*., 2003). Esta especie se encuentra restringida en el mundo, su distribución se limita a México, Honduras, Guatemala y El Salvador. El área de distribución potencial de esta especie en México representa el 0.5 % de su territorio (García-Aranda *et al*. 2010); esta área tiende a reducirse debido a la deforestación, cambio de uso del suelo y fragmentación del hábitat (Contreras-Medina *et al*., 2010). Asimismo, las plantas de *T. globosa* muestran crecimiento lento, capacidad reproductiva escasa y distribución dispersa. En México *T. globosa* se encuentra dentro de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT (SEMARNAT, 2010) en la categoría de 'protección especial' (Antúnez, 2021), situación que conlleva a la necesidad de promover su conservación y recuperación. La regeneración y recuperación de las poblaciones de *T. globosa* se basa principalmente en la producción de semillas, puesto que

Recibido: 13 de noviembre de 2023
Aceptado: 12 de diciembre de 2024

DOI: https://doi.org/10.35196/rfm.2025.1.77

es una fuente importante de variabilidad genética; no obstante, la producción de semillas es escasa (6 a 15 semillas maduras por árbol) y su germinación presenta algunos inconvenientes (Ramírez-Sánchez *et al*., 2011).

Asimismo, las especies del género *Taxus* producen un metabolito secundario conocido como taxol, el cual es utilizado con fines farmacéuticos para el tratamiento de algunos tipos de cáncer, como el de mama y de ovario (Wei *et al*., 2023) . La extracción de su corteza y hojas para la obtención del taxol ha promovido la explotación ilegal de esta especie (Jia *et al*., 2022). Se sabe que un árbol maduro produce 3 kg de corteza, a partir de los cuales solo es posible obtener 300 mg de taxol (Appendino *et al.,* 1994).

Ramírez-Sánchez *et al*. (2018) mencionaron que las semillas de *Taxus globosa* presentan latencia morfofisiológica, por lo cual la germinación de estas semillas ocurre hasta después de uno o dos años de haber sido dispersadas. La latencia es un proceso mediante el cual las semillas no germinan aun cuando se les provee de las condiciones óptimas para que ésta ocurra (Pausas y Lamont, 2022). La latencia es una estrategia de las semillas que impide que germinen cuando se exponen a condiciones adversas, las cuales podrían poner en riesgo su supervivencia (Lennon *et al*., 2021). Entre los factores que pueden causar latencia destacan los anatómicos (estructura de la testa), fisiológicos (presencia de inhibidores de la germinación) y morfológicos (madurez del embrión) (Miransari y Smith, 2014).

En algunas semillas, la latencia puede ser causada por más de un factor (Pausas y Lamont, 2022). En las semillas con latencia morfofisiológica, el embrión no ha terminado de desarrollarse al momento que es dispersada (Zhang *et al*., 2023); además, las semillas pueden presentar inhibidores de la germinación en la testa o en el megagametofito (Chenyin *et al*., 2023). Al respecto, Liu *et al*. (2011) encontraron que compuestos fenólicos como los flavonoides, presentes tanto en la testa como en el embrión de las semillas de *T. chinensis* var. Mairei, tienen la capacidad de inhibir su germinación.

Por otro lado, las auxinas, citocininas, giberelinas y ácido abscísico, son hormonas con actividad importante en el desarrollo y germinación de las semillas, así como en la señalización para la comunicación entre sus tres componentes: embrión, endospermo y testa (Miransari y Smith, 2014). Uno de los tratamientos más utilizados para estimular la germinación de semillas latentes de especies forestales de climas templados es la estratificación (Song *et al*., 2023). Esta práctica consiste en exponer las semillas a temperaturas frías (4 a 10 °C) o cálidas (15 a 25 °C), en condiciones de humedad. Otras formas de liberar de la latencia a las semillas son la escarificación (física o química), la aplicación de ácido giberélico (AG_3) o la combinación de estos métodos (Nawrot-Chorabik *et al*., 2021; Stejskalová *et al*., 2015).

Los trabajos relacionados con el rompimiento de la latencia de las semillas de *T. globosa* son escasos, por lo que es necesario llevar a cabo investigaciones enfocadas a conocer las causas de dicha latencia y las estrategias que permitan romperla. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue analizar los cambios morfológicos y fisiológicos en las semillas de *T. globosa* sometidas a distintos tratamientos para romper la latencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Las semillas de *Taxus globosa* se recolectaron en la localidad El Chico, Hidalgo, México, de septiembre a diciembre del año 2021. Las semillas se colocaron en bolsas de papel y se mantuvieron en refrigeración a 4 °C, durante 90 días (hasta su uso). Antes de aplicar los tratamientos se formaron cuatro grupos de 15 semillas elegidas al azar, las cuales fueron seccionadas longitudinalmente a través del eje embrionario e inmediatamente sumergidas en una solución de tetrazolio 1 %, a temperatura ambiente, durante 24 h; posteriormente, se evaluó el grado de tinción en el embrión, considerando como viables aquellas semillas cuya área se tiñera en un 70 % y las que no se tiñeran como inviables (ISTA, 2016).

Tratamientos para romper la latencia

Cuatro repeticiones de 20 semillas cada una se sometieron a tres tratamientos; además, se consideró un testigo que consistió en semillas secas al tiempo de inicio (Cuadro 1). Previamente, las semillas se desinfectaron con dióxido de cloro y agua destilada en proporción de 40:60 v/v. Para la escarificación, las semillas fueron embebidas en agua durante 12 h y luego se sumergieron en nitrógeno líquido (N_2) durante 10 s. Para la estratificación, las semillas previamente embebidas durante 12 h y escarificadas con N_2, se expusieron a 4 °C (estratificación fría) o 25 °C (estratificación cálida) durante 30 días. Después de someter las semillas a los tratamientos, se colocaron sobre papel absorbente humedecido dentro de contenedores de plástico con tapa. Los recipientes que contenían las semillas se incubaron a 25/13 °C y 12 h luz/12 h oscuridad. Las semillas de los Tratamientos 2 y 3 se expusieron de manera consecutiva a las distintas condiciones señaladas en el Cuadro 1. Cada 30 días, durante 120 días, se evaluó el porcentaje de germinación y el porcentaje de semillas con testa abierta en los distintos tratamientos.

Análisis morfométrico y viabilidad

Se analizaron 10 semillas testigo al tiempo cero (semillas secas) y 10 semillas de cada tratamiento después de 120 días de su aplicación. Las semillas fueron seccionadas longitudinalmente y observadas con un microscopio estereoscópico (AmScope Discovery V20 Carl Zeiss®, Oberkochen, Alemania) y las imágenes se capturaron con una cámara (Cannon, EOS Rebel T7®, Tokio, Japón). Las variables evaluadas fueron longitud del megagametofito, longitud del embrión, la longitud de los cotiledones y del eje hipocótilo-radicular, todas ellas en mm (Figura 1). Las mediciones se hicieron con el software ImageJ 1.53k.

Cuantificación de hormonas y fenoles

La determinación de hormonas y fenoles se llevó a cabo en 800 mg de semillas expuestas a los distintos tratamientos después de 120 días, así como en el testigo al tiempo cero. Se analizaron semillas sin testa, a lo que se le denominó megagametofito, y la testa de éstas, mediante el protocolo desarrollado por Pan *et al*. (2010). El protocolo consistió en congelar el material vegetal con N_2 líquido y molerlo; luego, se agregó una mezcla de propanol:agua:HCl concentrado (2:1:0.002 v/v). La mezcla con el material vegetal se agitó a 100 rpm por 30 min y se le añadió 1 mL de diclorometano; se agitó nuevamente y se centrifugó por 5 min. Después, se obtuvieron 900 µL de la parte baja del solvente, la cual se concentró con la ayuda de una corriente de nitrógeno y se añadieron 0.5 mL de metanol; al finalizar, se inyectaron 50 µL de la solución en el cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) (Serie 200, Perkin Elmer®, Waltham, Massachusetts, EUA) y se utilizó una columna de la marca Rx/SB-C8 Rapid Res, HPLC Col. 4.6 × 75 (Perkin Elmer®, Waltham, Massachusetts, EUA).

Diseño experimental y análisis estadístico

Para analizar la viabilidad se utilizaron cuatro repeticiones de 15 semillas cada una, a partir de las cuales se obtuvo el valor promedio expresado en porcentaje y su error estándar. El experimento para probar el efecto de los tratamientos para romper la latencia de las semillas tuvo un diseño completamente al azar con tres tratamientos y un testigo (semillas secas al tiempo cero), con cuatro repeticiones de 20 semillas cada una. El análisis morfométrico también tuvo un diseño completamente al azar con tres tratamientos y un testigo; cada tratamiento constó de 10 semillas, considerando una semilla como una repetición. Para el análisis de hormonas y fenoles, el diseño experimental fue completamente al azar con dos factores: tratamientos para romper la latencia (tres niveles más un testigo al tiempo cero) y la estructura de la semilla (dos niveles); cada tratamiento constó de tres repeticiones. Los datos obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza con el paquete estadístico R-Studio (R Core Team, 2021) y la comparación de medias se llevó a cabo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Para la variable ácido rosmarínico, previo al análisis, se llevó a cabo una transformación logarítmica de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La viabilidad de las semillas al tiempo cero fue de 87.0 $\pm$ 2.76 %, esto indica que la mayoría de las semillas que se utilizaron para probar los tratamientos estaban vivas y tenían la capacidad para germinar. Esta prueba permitió conocer de manera rápida y confiable si la falta de germinación de las semillas de *T. globosa* podría deberse a la baja viabilidad del lote o a que éstas presentaban latencia.

Cuadro 1. **Tratamientos aplicados a las semillas de *Taxus globosa* para romper la latencia.**

Testigo	Tratamientos		
	1	2	3
Semillas secas sin escarificar con N_2 líquido, en el tiempo cero	Escarificación con N_2 Sumergir las semillas por 10 s en N_2	Escarificación con N_2 (10 s) Ácido giberélico$_{4/7}$: 300 mg L^{-1} (48 h) Estratificación fría: humedad + 4 °C, 30 d Estratificación cálida: humedad + 25 °C, 30 d. Estratificación fría: humedad + 4 °C, 30 d	Escarificación con N_2 (10 s) Estratificación cálida: humedad + 25 °C, 30 d. Escarificación con N_2 (10 s) Ácido giberélico $_{4/7}$: 300 mg L^{-1} (48 h)

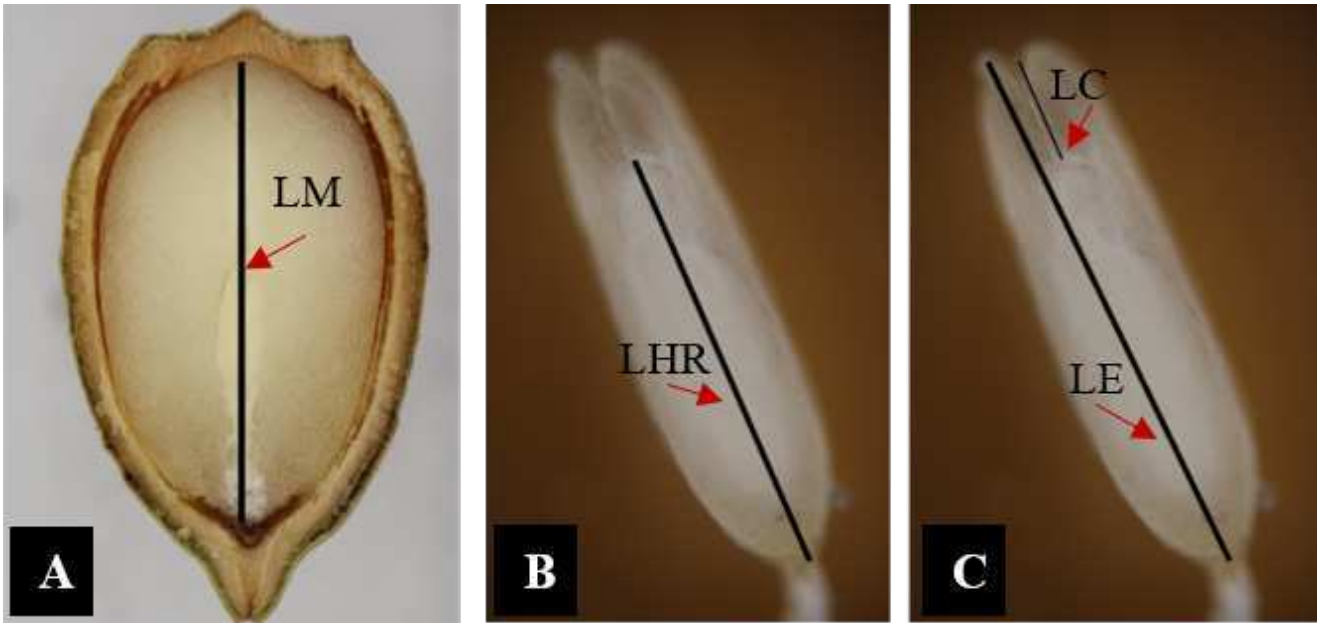


Figura 1. Características evaluadas en el análisis morfométrico de las semillas de *Taxus globosa* expuestas a distintos tratamientos. A) longitud del megagametofito (LM), B) longitud del eje hipocótilo-radicular (LHR), C) longitud del embrión (LE) y longitud de los cotiledones (LC).

Efecto de los tratamientos en la germinación de las semillas

No fue posible observar semillas germinadas en ninguno de los tratamientos probados, sólo en el Tratamiento 1 (escarificadas con N_2) 3.8 % de las semillas mostraron la testa abierta después de 90 días. Liu *et al*. (2011) reportaron que usar la estratificación fría (4 °C), seguida de la estratificación cálida (25 °C) y nuevamente estratificación fría, durante tres meses (en cada una), promovió la germinación de 23.7 % de las semillas de *T. chinensis* var. Mairei después de los 280 días. Por otra parte, Ramírez-Sánchez *et al*. (2018) encontraron que combinar la estratificación cálida (25 °C) con la estratificación fría (3 °C) y la aplicación de $AG_{4/7}$ (500 ppm), seguida de escarificación con N_2, promovió la germinación de 12 a 14 % de las semillas de *T. globosa*, 266 días después de aplicar los tratamientos. Lo anterior indica que la germinación de las semillas del género *Taxus*, aun con la aplicación de tratamientos para romper la latencia, podría requerir de al menos 266 días.

Análisis morfométrico

No se encontraron diferencias significativas en el tamaño de las semillas de *T. globosa* sometidas a los distintos tratamientos probados. Las semillas tuvieron una longitud promedio entre 6.0 y 6.5 mm, valores superiores a los observados por Ghimire *et al*. (2019) en semillas de *T. cuspidata* y *T. caespitosa* (5.42 y 5.25 mm, respectivamente). Por otro lado, la longitud del embrión en las semillas del Tratamiento 3 solo fue significativamente menor (0.94 mm) que el de las semillas del Tratamiento 1 (1.85 mm) (Cuadro 2). En cuanto a la longitud del megagametofito, no se observaron diferencias significativas entre las semillas de los distintos tratamientos y el testigo (Cuadro 2). Al respecto, el tamaño del megagametofito y del embrión de *T. globosa* al día cero (testigo) coincide con lo reportado por Ramírez-Sánchez *et al*. (2011), quienes encontraron que las semillas de *T. globosa* de la región centro de México mostraron una longitud promedio de 4.8 mm y 1.7 mm, respectivamente; asimismo, el tamaño de los cotiledones no fue significativamente distinto entre los tratamientos (1.65 mm, promedio), en tanto que la longitud del eje hipocótilo-radicular fue menor en las semillas del Tratamiento 3 (0.6 mm) (Cuadro 2). La aplicación del Tratamiento 3 (escarificación con N_2 + estratificación cálida + escarificación con N_2 + $AG_{4/7}$) pudo haber causado daño en las semillas, lo cual se manifestó por cambios en el color (oscurecimiento) de la testa, megagametofito y embrión, así como por la reducción en la longitud del embrión y del eje hipocótilo-radicular (Cuadro 2).

Bian *et al*. (2018) evaluaron la longitud de la semilla y del embrión de *T. yunnanensis*, de los 30 a los 360 días de ser sembradas en arena húmeda a 16.5 °C. Observaron que la longitud del megagametofito fue de 6.89 y 6.94 mm a los 30 y 180 días, respectivamente, en tanto que la longitud del

embrión fue de 2.58 y 2.69 mm a los 90 y 180 días.

Hormonas

Al día cero (testigo) fue posible detectar en el megagametofito la presencia de trans-zeatina, cis-zeatina, cinetina, ácido indolacético (AIA) y ácido abscísico (ABA), mientras que en la testa se encontró cis-zeatina, cinetina, ácido indolacético y ABA, en tanto que en los tratamientos se encontraron diferencias significativas en el contenido de trans-zeatina en el megagametofito, siendo las semillas del Tratamiento 1 (escarificadas con N_2 líquido) las que produjeron la mayor cantidad (0.0116 µg mg^{-1}) (Cuadro 3). Por otro lado, la cis-zeatina y el ABA no estuvieron presentes en el megagametofito de las semillas de ninguno de los tratamientos probados.

En cuanto a la cinetina, solo se detectó en el megagametofito de las semillas del Tratamiento 1, sin que hubiera diferencias significativas con respecto al testigo; asimismo, se encontró AIA en el megagametofito de las semillas del Tratamiento 3 (Cuadro 3). En cuanto a la testa, solo se detectó trans-zeatina en las semillas de los Tratamientos 2 (escarificación con N_2 + $AG_{4/7}$ + estratificación fría + estratificación cálida) y 3 (escarificación con N_2 + estratificación cálida, escarificación con N_2 + $AG_{4/7}$), siendo mayor en el Tratamiento 3. En contraste, la cis-zeatina se encontró en la testa de las semillas del Tratamiento 1, siendo dos veces mayor que en el testigo (0.02975 µg mg^{-1}). El ABA estuvo presente en concentraciones bajas en la testa de las semillas de todos los tratamientos probados. Las hormonas que se encontraron en las concentraciones más altas en las semillas testigo (megagametofito más testa) fueron cinetina (0.0755 µg mg^{-1}), cis-zeatina (0.0351 µg mg^{-1}) y AIA (0.0365 µg mg^{-1}) (Cuadro 3), en tanto que en el Tratamiento 1, en el que algunas semillas lograron romper la testa, se encontró dos veces más cis-zeatina (0.0297 µg mg^{-1}) que trans-zeatina (0.0116 µg mg^{-1}) y cinetina (0.0110 µg mg^{-1}). Las hormonas que estuvieron presentes en mayor concentración, tanto en las semillas testigo como en las expuestas a todos los tratamientos probados, fueron las citocininas (trans-zeatina, cis-zeatina, cinetina) y las auxinas (AIA). No fue posible detectar ácido giberélico en las semillas al día cero, ni después de 120 días de aplicar los tratamientos.

Kucera *et al*. (2005) mencionaron que las citocininas promueven la división celular durante la formación y desarrollo del embrión. Las auxinas por su parte, definen el patrón basal-apical del embrión y permiten que el endospermo se celularice (Matilla, 2020). El ABA es una fitohormona requerida para la síntesis de carbohidratos, proteínas y lípidos de reserva (Bian *et al*., 2018). Esta hormona también regula la maduración, la morfogénesis y la tolerancia a la desecación del embrión, además de evitar la germinación prematura y promover la latencia (Matilla, 2000; Sano y Marion-Poll, 2021; Warpeha y Montgomery, 2016). Considerando lo anterior, se puede inferir que las semillas de *T. globosa* al día cero y después de 120 días de la aplicación de los tratamientos, aún se encontraban en la etapa de división y expansión celular, así como de acumulación de reservas (Matilla, 2000).

La baja concentración de ABA presente en las semillas al día cero y en todos los tratamientos probados, podría indicar que la latencia de las semillas de *T. globosa* después de 120 días de ser expuestas a distintos tratamientos no se debe únicamente al efecto inhibidor de esta hormona. Lo anterior contrasta con lo observado por Bian *et al*. (2018), quienes después de someter las semillas de *T. yunnanensis* a una combinación de estratificación fría (4 °C) y cálida (25 °C) encontraron que el ABA es el principal inhibidor de la germinación de las semillas en esta especie; asimismo, la presencia de mayor concentración de citocininas y auxinas en las semillas de *T. globosa* que de ABA, así como no haber detectado giberelinas (estimulan la germinación al aumentar su concentración), al tiempo cero y después de

Cuadro 2. Análisis morfométrico de las semillas de *Taxus globosa* después de 120 días de exponerse a distintos tratamientos para romper la latencia.

Tratamiento	Longitud del embrión	Longitud del megagametofito	Longitud de los cotiledones	Longitud del EHR
Testigo	1.77 ab	4.8 a	1.9 a	1.3 ab
1	1.85 a	4.8 a	1.2 a	1.4 a
2	1.64 ab	4.8 a	1.8 a	1.2 ab
3	0.94 b	4.7 a	1.7 a	0.6 b

Los valores se expresan en mm. EHR: eje hipocótilo radicular. Medias con letras iguales dentro de una columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Cuadro 3. Fitohormonas presentes en el megagametofito y testa de semillas de *Taxus globosa* sometidas a distintos tratamientos para romper la latencia, después de 120 días.

Trat	Estructura	TZ	CZ	CIN	AIA	ABA
		(µg mg^{-1})				
Testigo	Megagametofito	0.00052 c	0.02128 a	0.01909 a	0.01773 a	0.00103 a
1		0.01169 a	NP	0.01109 a	NP	NP
2		0.01010 b	NP	NP	NP	NP
3		0.00857 c	NP	NP	0.00915 a	NP
Testigo	Testa	NP	0.01385 b	0.05646 a	0.01884 a	0.00295 a
1		NP	0.02975 a	NP	NP	0.00235 a
2		0.00884 c	NP	NP	NP	0.00123 a
3		0.00980 b	NP	NP	NP	0.00027 a

Medias con la misma letra en una columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05). TZ: trans-zeatina, CZ: cis-zeatina, CIN: cinetina, AIA: ácido indolacético, ABA: ácido abscísico, NP. No presente.

Cuadro 4. Fenoles presentes en el megagametofito y testa de semillas de *T. globosa* sometidas a distintos tratamientos, después de 120 días.

Trat	Estructura	NAR	FLO	ACS	ACH	ACF	ACR	CAT	ACP
		(µg mg^{-1})							
Testigo	Megagametofito	0.00459 ab	0.00386 b	0.00260 b	NP	0.00136 b	0.00216 a	NP	NP
1		NP	NP	0.00227 c	NP	NP	NP	0.00188 b	NP
2		NP	NP	NP	0.00222 b	NP	NP	0.00163 c	NP
3		NP	NP	0.00234 bc	0.00219 b	NP	NP	0.00185 b	NP
Testigo	Testa	0.00656 a	0.00564 a	0.00614 a	0.00487 a	0.00393 a	0.00682 a	NP	NP
1		0.00456 ab	0.00384 b	NP	0.00222 b	NP	NP	0.00344 a	0.00747 a
2		0.00447 ab	0.00377 c	NP	0.00218 b	NP	NP	0.00197 b	0.00747 a
3		0.00335 b	0.00377 c	NP	0.00217 b	NP	NP	0.00183 b	0.00747 a

Medias con la misma letra en una columna no son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05). NAR: naringenina, FLO: floretina, ACS: ácido sinápico, ACH: ácido p-hidroxibenzoico, ACF: ácido ferúlico, ACR: ácido rosmarínico, CAT: catequina, ACP: ácido protocatecuico, NP: no presente.

120 días de haber aplicado los tratamientos para romper la latencia, sugiere que las semillas aún se encontraban en desarrollo como se mencionó anteriormente. De lo anterior, se puede inferir que morfológica y fisiológicamente, el embrión no estaba en condiciones de iniciar el proceso de germinación al momento de ser cosechadas las semillas, ni después de 120 días.

Fenoles

En el megagametofito de las semillas testigo (día cero) se encontró naringenina, floretina, ácido sinápico (ACS), ácido ferúlico (ACF) y ácido rosmarínico (ACR), siendo la naringenina la que se presentó en mayor concentración (0.0045 µg mg^{-1}), en tanto que en la testa de las semillas testigo se detectó naringenina, floretina, ACS, ácido p-hidroxibenzoico (ACH), ACF y ACR (Cuadro 4). En cuanto a los tratamientos, la catequina se detectó en el megametofito de las semillas de los tratamientos 1, 2 y 3; en las semillas de los tratamientos 2 y 3 se encontró ACH, y ACS solo en las de los tratamientos 1 y 3 (Cuadro 4). Por otro lado, en la testa de los tratamientos 1, 2 y 3 fue posible observar naringenina, floretina, ACH, catequina y ácido protocatecuico (ACP). La catequina se encontró tanto en el megagametofito como en la testa de las semillas de todos los tratamientos probados, siendo significativamente mayor en el Tratamiento 1 (Cuadro 4). La mayor concentración de fenoles se encontró en la testa de las semillas, tanto del testigo como del resto de los tratamientos. Aun cuando en las semillas testigo y del Tratamiento 1 (en el que se observó rompimiento de la testa) se encontró naringenina, floretina y ACH, la concentración de estos fenoles se redujo en 50 % en las semillas del Tratamiento 1 (120 días después de aplicar los tratamientos) (Cuadro 4). Los fenoles que se detectaron en mayor concentración en las semillas testigo (megagametofito más testa) al día cero fueron naringenina (0.0111 µg mg^{-1}), floretina (0.0095 µg mg^{-1}) y ACS (0.00875 µg mg^{-1}), y después de 120 días de aplicar los tratamientos fueron el ACP (0.0074 µg mg^{-1}), catequina (0.0036-0.0053 µg mg^{-1}), naringenina (0.0033-0.0045 µg mg^{-1}) y ACH (0.0043-0.0044 µg mg^{-1}).

Los fenoles tienen un rol importante en las semillas, ya que participan en funciones fisiológicas como la latencia o viabilidad de éstas (Lepiniec *et al*., 2006). Algunos autores han reportado que los compuestos fenólicos como el ácido ferúlico, el AHB y el catecol son inhibidores de la germinación de las semillas de lechuga, nogal, algodón, melón, maíz y diversas malezas (Chenyin *et al*., 2023). Distintos autores señalan que la presencia de fenoles como taninos condensados (PAs), catequina, ácido ferúlico, ácido sinápico, AHB, así como las ligninas, son posibles inhibidores de la germinación de semillas de distintas especies (Bewley, *et al*., 2013; Chenyin *et al*., 2023; Lepiniec *et al*., 2006); asimismo, la naringenina fue reportada como inhibidora de la germinación en *Glycine max* y *Arabidopsis* (Hernández y Munné-Bosch, 2012), en tanto que el ácido rosmarínico se considera un compuesto de defensa en las plantas (Petersen y Simmonds, 2003) y el ácido protocatecuico tiene actividad alelopática (Šćepanović *et al*., 2022).

Taxus globosa es una especie forestal de distribución restringida, que produce un número limitado de semillas, las cuales presentan latencia al momento de ser dispersadas. Aunque *T. globosa* puede propagarse de manera vegetativa, la propagación mediante semillas es importante para los programas de restauración y mejoramiento genético. Lo anterior ha generado la necesidad de conocer los mecanismos que ocasionan la latencia de las semillas de esta especie, con el fin de diseñar las estrategias que permitan romper dicho periodo de reposo y promover la germinación del mayor número de semillas en el menor tiempo; no obstante, los trabajos enfocados a estudiar las posibles causas de la latencia en esta especie son escasos (Ramírez-Sánchez *et al*., 2018).

Los resultados obtenidos en la presente investigación indican que, efectivamente, las semillas de *T. globosa* presentan latencia morfofisiológica, como fue propuesto por Ramírez-Sánchez *et al*. (2018). Lo anterior se basa en el hecho de haber encontrado que el embrión de *T. globosa* aún estaba en una etapa de expansión celular y síntesis de sustancias de reserva al momento de la cosecha, lo que indica que éste no había alcanzado su madurez, pudiendo causar latencia morfológica; asimismo, fue posible detectar fenoles, considerados como inhibidores de la germinación, tanto en la testa como en el megagametofito, los cuales podrían actuar en forma sinérgica con el ABA para promover la latencia fisiológica. Estos hallazgos permitirán establecer de manera más certera, los tratamientos que promuevan la maduración del embrión y la eliminación de los inhibidores de la germinación, con el fin de reducir el tiempo requerido para que las semillas de *T. globosa* germinen.

CONCLUSIONES

Los tratamientos probados para romper la latencia no lograron promover la germinación de las semillas. Sólo las semillas escarificadas con nitrógeno líquido lograron abrir su testa a los 90 días de incubación; este mismo tratamiento estimuló el crecimiento del embrión. Las semillas contienen otros inhibidores de la germinación (fenoles) en el embrión y el megagametofito (testa y megagametofito), además del ABA. La presencia de auxinas y citocininas en mayor concentración en las semillas al día cero y después de 120 días de aplicar los tratamientos, así como la ausencia de giberelinas, sugieren que las semillas de *T. globosa* aún se encontraban en desarrollo cuando fueron dispersadas. Las semillas de *T. globosa* requieren de más de 120 días después de la cosecha para que el embrión alcance la madurez, sea capaz de percibir los estímulos ambientales y logre germinar. La presencia de inhibidores de la germinación, así como de embriones inmaduros confirma que las semillas de la especie en estudio presentan latencia morfofisiológica.

BIBLIOGRAFÍA

Antúnez P. (2021) Influence of physiography, soil and climate on *Taxus globosa*. *Nordic Journal of Botany* 2021:e3058, https://doi.org/10.1111/njb.03058

Appendino G., G. Cravotto, P. L. Gariboldi, B. Gabetta and E. Bombardelli (1994) The chemistry and occurence of taxane derivates. The photochemistry of taxine B. *Gazzetta Chimica Italiana* 124:1-4.

Bewley D., K. J. Bradford, H. W. Hilhorst and H. Nonogaki (2013) Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. Third edition. Springer. New York, USA. 392 p.

Bian F., J. Su, W. Liu and S. Li (2018) Dormancy release and germination of *Taxus yunnanensis* seeds during wet sand storage. *Scientific Reports* 8:3205, https://doi.org/10.1038/s41598-018-21469-9

Chenyin P., W. Yu, S. Fenghou and S. Yongbao (2023) Review of the current research progress of seed germination inhibitors. *Horticulturae* 9:462, https://doi.org/10.3390/horticulturae9040462

Contreras-Medina R., I. Luna-Vega y C. A. Ríos-Muñoz (2010) Distribución de *Taxus globosa* (Taxaceae) en México: modelos ecológicos de nicho, efectos del cambio de uso de suelo y conservación. *Revista Chilena de Historia Natural* 83:421-433, https://doi.org/10.4067/S0716-078X2010000300009

García-Aranda M. A., C. Cantú-Ayala, E. Estrada-Castillón, M. Pando-Moreno y A. Moreno-Talamantes (2012) Distribución actual y potencial de *Taxus globosa* (Taxaceae) en México. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas* 6:587-598.

Ghimire B., D. Yeom and M. J. Jeong (2019) Seed atlas of Korea I. Conifers. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity* 12:459-466, https://doi.org/10.1016/j.japb.2019.03.011

Hernández I. and S. Munné-Bosch (2012) Naringenin inhibits seed germination and seedling root growth through a salicylic acid-independent mechanism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry* 61:24-28, https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.09.003

ISTA, International Seed Testing Association (2016) International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. Zurich, Switzerland. 40 p.

Jia X., S. Feng, H. Zhang and X. Liu (2022) Plastome phylogenomics provide insight into the evolution of *Taxus*. *Forests* 13:1590, https://doi.org/10.3390/f13101590

Kucera B., M. A. Cohn and G. Leubner-Metzger (2005) Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research* 15:281307, https://doi.org/10.1079/ssr2005218

Lennon J. T., F. den Hollander, M. Wilke-Berenguer and J. Blath (2021) Principles of seed banks and the emergence of complexity from dormancy. *Nature Communications* 12:4807, https://doi.org/10.1038/s41467-021-24733-1

Lepiniec L., L. Debeaujon, J. M. Routaboul, A. Baudry, L. Pourcel, N. Nesi and M. Caboche (2006) Genetics and biochemistry of seed flavonoids. *Annual Review of Plant Biology* 57:405-430, https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105252

Liu D., H. L. Yu, F. L., Li and H. H. Guo (2011) An analysis of dormancy and dormancy release in *Taxus chinensis* var. Mairei seeds. *Seed Science and Technology* 39:29-43, https://doi.org/10.15258/sst.2011.39.1.04

Matilla Á. J. (2000) Desarrollo y germinación de las semillas. *In*: Fundamentos de Fisiología Vegetal. J. Azcón-Bieto y M. Talón (eds.). McGraw-Hill. México, D. F., México. pp:1-24.

Matilla Á. J. (2020) Auxin: hormonal signal required for seed development and dormancy. *Plants* 9:705, https://doi.org/10.3390/plants9060705

Miransari M. and D. L. Smith (2014) Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 99:110-121, https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005

Nawrot-Chorabik K., M. Osmenda, K. Słowiński, D. Latowski, S. Tabor and S. Woodward (2021) Stratification, scarification and application of phytohormones promote dormancy breaking and germination of pelleted scots pine (*Pinus sylvestris*L.) seeds. *Forests* 12:621, https://doi.org/10.3390/f12050621

Pan X., R. Welti and X. Wang (2010) Quantitative analysis of major plant hormones in crude plant extracts by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Nature Protocols* 5:986-992, https://doi.org/10.1038/nprot.2010.37

Pausas J. G. and B. B. Lamont (2022) Fire-released seed dormancy-a global synthesis. *Biological Reviews* 97:1612-1639, https://doi.org/10.1111/brv.12855

Petersen M. and M. S. J. Simmonds (2003) Rosmarinic acid. *Phytochemistry* 62:121-125, https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00513-7

R Core Team (2021) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. https://www.R-project.org

Ramírez-Sánchez S. E., J. López-Upton, G. García de los Santos, J. J. Vargas-Hernández, A. Hernández-Livera y O. J. Ayala-Garay (2011) Variación morfológica de semillas de *Taxus globosa* Schltdl. provenientes de dos regiones geográficas de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34:93-99, https://doi.org/10.35196/rfm.2011.2.93

Ramírez-Sánchez S. E., J. López-Upton, J. J. Vargas-Hernández, O. J. Ayala-Garay, G. García de los Santos and M. R. Soto-Hernández (2018) Pregermination treatments of *Taxus globosa* seeds: growth and *in vitro* embryo culture. *Journal of Tropical Forest Science* 30:528-536, https://doi.org/10.26525/JTFS2018.30.4.528536

Sano N. and A. Marion-Poll (2021) ABA metabolism and homeostasis in seed dormancy and germination. *International Journal of Molecular Sciences* 22:5069, https://doi.org/10.3390/ijms22105069

Šćepanović M., L. Košćak, V. Šoštarčić, L. Pismarović, A. Milanović-Litre and K. Kljak (2022) Selected phenolic acids inhibit the initial growth of *Ambrosia artemisiifolia* L. *Biology* 11:482, https://doi.org/10.3390/biology11040482

SEMARNAT, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (2010) NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, Edición 30/Diciembre/2010. Ciudad de México, México.

Shemluck M. J., E. Estrada, R. Nicholson and S. W. Brobst (2003) A preliminary study of the taxane chemistry and natural history of the Mexican yew, *Taxus globosa* Schltdl. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 72:119-127, https://doi.org/10.17129/botsci.1672

Song Y., X. Li, M. Zhang, G. Xia and C. Xiong (2023) Effect of cold stratification on the temperature range for germination of *Pinus koraiensis*. *Journal of Forestry Research* 34:221-231, https://doi.org/10.1007/s11676-022-01540-y

Stejskalová J., I. Kupka and S. Miltner (2015) Effect of gibberellic acid on germination capacity and emergence rate of sycamore maple (*Acer pseudoplatanus* L.) seeds. *Journal of Forest Science* 61:325-331, https://doi.org/10.17221/22/2015-JFS

Warpeha K. M. and B. L. Montgomery (2016) Light and hormone interactions in the seed-to-seedling transition. *Environmental and Experimental Botany* 121:56-65, https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.05.004

Wei Q., Q. Z. Li and R. L. Wang (2023) Flavonoid components, distribution, and biological activities in *Taxus*: a review. *Molecules* 28:1713, https://doi.org/10.3390/molecules28041713

Zhang L., C. Xu, H. Liu, Q. Wu, J. Tao and K. Zhang (2023) Intermediate complex morphophysiological dormancy in seeds of *Aconitum barbatum* (Ranunculaceae). *BMC Plant Biology* 23:350, https://doi.org/10.1186/s12870-023-04357-x