



EFECTO DE LA MADUREZ EN LA CRIOCONSERVACIÓN DE SEMILLAS DE *Nicotiana tabacum* L.

Effect of the ripening in the cryopreservation of the *Nicotiana tabacum* L. seeds

Juan L. Pérez-Rodríguez^{1✉}, Gilberto Torrecilla Guerra¹, Otilio Ruiz Padrón¹, René C. Rodríguez Escriba², Gustavo Y. Lorente González², Marcos E. Martínez Montero² y Justo L. González Olmedo²

ABSTRACT. The main objective of this investigation was to determine the effect of the ripening in the cryopreservation of the *Nicotiana tabacum* L seeds. cv Sancti Spíritus 96 (SS-96). This study was done between the years 2012 and 2014, at the Tobacco experimental station located in Cabaiguan, Sancti Spiritus. SS-96 seeds were harvest at the 14, 21, 28, 35, 42, 49 and 56 days after the anthesis (DAA), determining the fresh and dry mass to over 1000 seeds, the humidity percentage (fresh mass) and germinating power (GP), as well as evaluate the tolerance of it to desiccation. At the same time, seeds collected every day, were conserved in 5 °C or liquid nitrogen, and within 30 days, its GP was evaluated and put under accelerated aging and electrolyte leakage tests. During the research it was determined that the physiological ripeness of SS-96 seeds is reached at 29,6 DAA, with a 30,6 % of water and a dry mass of 1000 seeds of 81,2 mg of weight. 35 DAA were established as the optimum momentum for the harvest. The anticipation of the recollection process will end up in a diminishing the desiccation tolerance levels due to the lack of ripeness of seeds; meanwhile a late recollection ends up in lack of potency due to a larger exposure to the environment.

RESUMEN. La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de la madurez en la crioconservación de semillas de *Nicotiana tabacum* L. cv Sancti Spíritus 96 (SS-96). El estudio se realizó en la Estación experimental del tabaco de Cabaiguán, Sancti Spíritus, perteneciente al Instituto de Investigaciones del Tabaco, entre los años 2012 y 2014. Las semillas de SS-96 se colectaron a los 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días después de la antesis (DDA) y se les determinó masa fresca y masa seca de 1000 semillas, porcentaje de humedad (base masa fresca) y potencia germinativa (PG), además de evaluar su tolerancia a la desecación. Al mismo tiempo, semillas de cada día de colecta se conservaron a 5 °C o en nitrógeno líquido y, transcurridos 30 días, les fue evaluada su PG y se sometieron a las pruebas de envejecimiento acelerado y pérdida de electrólitos. Durante el desarrollo de la investigación se determinó que la madurez fisiológica de las semillas de SS-96 se alcanza a los 29,6 DDA, con un contenido de agua de 30,6 % y masa seca de 1000 semillas de 81,2 mg. Se estableció 35 DDA como el momento idóneo para la colecta de semillas en este cultivar. Una colecta antes de esta fecha provoca una disminución en la tolerancia a la desecación producto de la inmadurez de las semillas; una recolección posterior conlleva a la pérdida de vigor debido a la mayor exposición de las semillas a las condiciones ambientales.

Key words: anthesis, conservation, desiccation, vigor

Palabras clave: antesis, conservación, desección, vigor

INTRODUCCIÓN

La colección de *Nicotiana*, presente en el banco de germoplasma del Instituto de Investigaciones del Tabaco de Cuba, progresa constantemente con nuevas variedades y especies (1). Conservar a largo plazo la variabilidad genética del género es de vital importancia con el fin de introducir genes de valor en

¹ Estación Experimental del Tabaco. carretera Santa Lucía, km 2, Cabaiguán, CP: 62410, Sancti Spíritus, Cuba.

² Centro de Bioplantas, Universidad de Ciego de Ávila, carretera Morón km 9, Ciego de Ávila, CP 69450, Ciego de Ávila, Cuba.

✉ espec.banco@eetcab.co.cu

las variedades comerciales (2) y reconstruir o reforzar las poblaciones *in situ*^A.

Desde la década de los 80 del pasado siglo, a nivel mundial se han realizado varias investigaciones en la crioconservación como alternativa a los métodos tradicionales de almacenamiento de semillas (3, 4). Las técnicas de crioconservación utilizan normalmente nitrógeno líquido (-196 °C) debido a su costo relativamente bajo. El objetivo es alcanzar temperaturas inferiores a -130 °C para lograr condiciones de baja energía cinética molecular y una difusión extremadamente lenta, de tal forma que las reacciones químicas se encuentren prácticamente paralizadas (5); bajo estas condiciones, se postulan longevidades extremadamente largas (3).

Basados en experimentos de almacenamiento llevados durante 10 años y a partir de la ecuación de viabilidad, Walters *et al* (3), pronosticaron una viabilidad de 3,400 años para semillas de lechuga conservadas a -196 °C. Por consiguiente, la crioconservación puede ser de gran utilidad en la conservación de las colecciones bases y duplicado en los bancos de germoplasmas de semillas, sin dejar de lado las condiciones clásicas, útiles para el almacenamiento a corto plazo (colección activa) (5).

Se ha demostrado desde los años 60 del pasado siglo que la diversidad genética puede ser preservada en los bancos de germoplasma. En el nuevo siglo la pregunta cambia de "si" es viable a "cómo" optimizar el proceso de conservación (6). La madurez con que se colectan y conservan las semillas se identifica como determinante en su longevidad (7, 8, 9). El objetivo de la investigación estuvo dirigido a determinar el efecto de la madurez en la germinación y el vigor de semillas crioconservadas de *Nicotiana tabacum* L.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Estación Experimental del Tabaco de Cabaiguán, perteneciente al Instituto de Investigaciones del Tabaco de Cuba, durante las campañas tabacaleras 2012-2013 y 2013-2014. Para la realización de la investigación se seleccionó la accesión *Nicotiana tabacum* Linnaeus cultivar Sancti Spíritus 96 (SS-96). Este cultivar presenta alto potencial productivo (2 906 kg ha⁻¹), magnífica calidad (444 kg ha⁻¹, en clases superiores) y excelente combustibilidad (>20 s). Es uno de los cultivares más plantados en la región central y oriental del país (10).

Las semillas de SS-96 se sembraron en bandejas de polietileno expandido con sustrato orgánico con composición según investigaciones anteriores (11), basadas en la tecnología de producción de posturas

en bandejas flotantes descrita por García y Andino (12). El trasplante de las posturas al campo se realizó a los 45 días. La distancia de plantación fue de 30 cm entre plantas y 180 cm entre hileras, y la fertilización, riego y cuidados fitosanitarios se realizaron según lo establecido por el instructivo técnico del cultivo (13). La colecta se realizó a intervalos de siete días, a los 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días después de la antesis (DDA). Para cada día de colecta se determinó masa fresca y masa seca de 1000 semillas.

Los ensayos de humedad se realizaron empleando el método de secado al horno a temperatura baja constante (14), a una temperatura de 103 °C durante 4 h con tres repeticiones de 0,5 g de semillas cada una. El contenido de humedad se expresó en porcentaje de masa fresca.

En los ensayos de germinación se realizaron cuatro repeticiones de 100 semillas cada una. Las semillas se colocaron en placas Petri de 9 cm de diámetro sobre dos discos de papel de filtro humedecidos con 5 mL de agua destilada. La incubación se realizó a 27±2 °C con un fotoperiodo de 12 h y una intensidad de 350 μmol m⁻² s⁻¹. En todos los ensayos la emergencia de la radícula fue el criterio para considerar que la germinación de la semilla había tenido lugar. La potencia germinativa (PG) se determinó a los 14 días después de embebidas las semillas, al contar el número de semillas germinadas durante ese intervalo de tiempo entre el total de semillas (14).

Para evitar los daños de imbibición, previo a los ensayos de germinación, las semillas con más de 35 DDA se humidificaron dispersándolas de manera uniforme en placas Petri sin tapa. Seguidamente, se introdujeron en una desecadora de vidrio con H₂O en su interior, evitando el contacto directo de las semillas con el agua. Las semillas se incubaron bajo estas condiciones hasta alcanzar un contenido de humedad superior al 14 %.

Con el propósito de ilustrar el papel de la síntesis de determinados metabolitos en la tolerancia a la desecación de semillas de SS-96 se evaluó para cada día de colecta los valores de PG medidos solo después de deshidratar las semillas hasta valores de 10,0; 7,5; 5,0 y 2,5 % de humedad. La deshidratación se realizó mediante la exposición al agente desecante silicagel autoindicador, en desecadoras de vidrio cerradas herméticamente a temperatura ambiente, en proporción 1:3 (masa de semillas: masa silicagel autoindicador). El tiempo de exposición al agente desecante estuvo determinado por la intensidad de la desecación requerida.

Para determinar el efecto del momento de colecta en la germinación y el vigor de las semillas crioconservadas de SS-96 muestras de semillas colectadas a los diferentes DDA se dividieron en dos porciones de igual masa. Una porción se introdujo directamente en una cámara de refrigeración a 5 °C

^A Bacchetta, G.; Bueno, A.; Fenu, G.; Jiménez-Alfaro, B.; Mattana, E.; Piotto, B. y Virevaire, M. *Conservación ex situ de plantas silvestres*. edit. Principado de Asturias, La Caixa, 2008, 375 p.

(no crioconservadas) y la otra en tanques con nitrógeno líquido (crioconservadas). Transcurridos 30 días los crioviales se retiraron y se dejó que la temperatura estuviera en equilibrio con la temperatura ambiente. A cada muestra se les determinó su PG y se sometieron a las pruebas de envejecimiento acelerado (EA) y escape de electrólitos (EE).

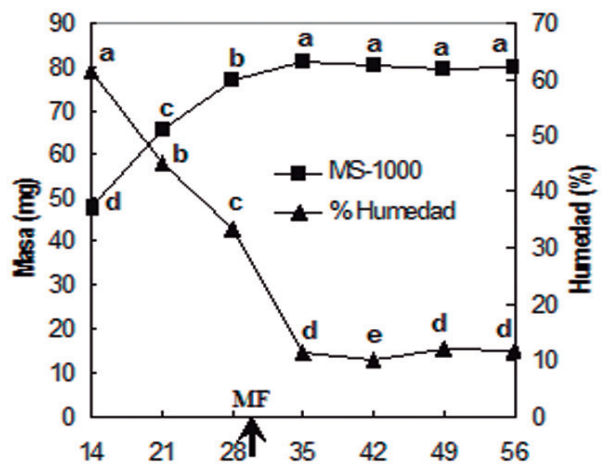
Para la realización de las pruebas de EA y EE las semillas fueron previamente acondicionadas. Según el porcentaje de humedad, las semillas se secaron o hidrataron hasta alcanzar un 14 % de humedad. La prueba de EA se realizó según la metodología descrita por Pérez-Rodríguez^B. El ensayo se realizó hasta disminuir la germinación a un valor inferior al 50 % de la PG inicial. Entonces, para cada intervalo se calculó el tiempo transcurrido para que cada muestra alcanzara el 50 % de la germinación inicial (T_{50}) (15). La prueba de EE se realizó con algunas modificaciones (16). Para cada muestra se colocaron cuatro repeticiones con 0,15 g de semillas cada una en 35 ml de agua desionizada a $30 \pm 0,5$ °C. Los lixiviados se recogieron después de 24 h de imbibición y la conductividad se midió con un medidor de conductividad.

En el procesamiento estadístico de los datos se utilizó el *Statistical Package for Social Sciences* (17). Se comprobó el ajuste a la distribución normal de los datos de cada tratamiento (Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de las varianzas (Levene). Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar las posibles diferencias significativas entre las medias y para discriminar entre estas se utilizó el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. En algunos casos fue necesaria la transformación de los datos para lograr los supuestos de las pruebas paramétricas realizadas. Cada tabla y figura de la sección Resultados y Discusión describe el tratamiento estadístico específico ejecutado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la fase inicial de desarrollo de las semillas de SS-96 la humedad desciende rápidamente (Figura 1), desde 61 % a los 14 DDA hasta valores inferiores al 11 % a los 35 DDA; aunque entre los 28 DDA y 35 DDA este descenso se hace más acentuado. La masa seca de 1000 semillas (MS-1000) aumenta de forma aproximadamente lineal. Sin embargo, a partir de los 35 DDA tanto la MS-1000 como la humedad tienden a permanecer constantes; comportamiento que se mantiene hasta los 56 DDA. Las semillas alcanzan su madurez fisiológica (MF) a los 30 DDA, determinada según procedimiento descrito por Sanhew y Ellis (18), con humedad de 28 % y MS-1000 de 81 mg (Figura 1). A partir de ese momento la masa seca tiende a permanecer prácticamente constante hasta los 56 DDA.

^B Pérez, R. J. L. *Crioconservación de semillas de Nicotiana tabacum cv Sancti Spiritus 96*. [Tesis de Maestría], Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez, Ciego de Ávila, Cuba, 2014, 70 p.



La flecha señala los 30 DDA como la madurez fisiológica (MF). Medias con letras desiguales, para cada parámetro determinado, tienen diferencias estadísticamente significativas ANOVA simple, $p \leq 0,05$, $n = 9$.

Figura 1. Cambios en la masa seca de 1000 semillas (MS-1000) y en el porcentaje de humedad de semillas de SS-96 colectadas a los 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días después de la antesis (DDA)

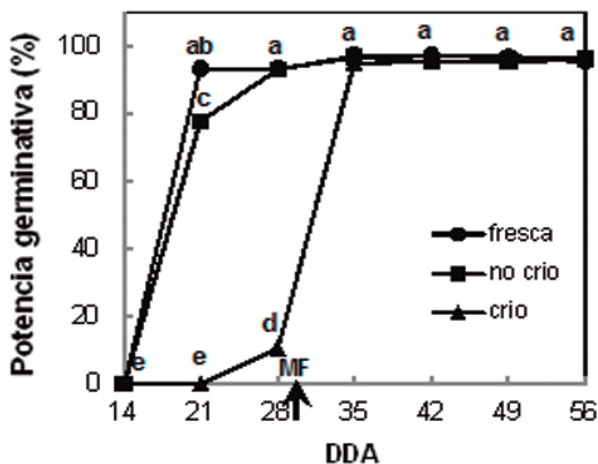
Las variables cuantitativas referidas se correlacionan con el estado de desarrollo de semillas ortodoxas dicotiledoneas en otras especies (19). Existe relación entre la ganancia de masa seca, la humedad y la PG con el estado o etapa de desarrollo de la semilla^C. Por lo tanto, es posible relacionar con cierta aproximación el desarrollo morfológico de semillas de SS-96, con los valores obtenidos de estas variables, analizadas en conjunto.

En el estado inicial de desarrollo (hasta los 14 DDA), existe un aumento progresivo de la masa seca, producto de la formación del embrión. No obstante, las semillas no poseen las reservas necesarias para germinar (20), razón por la cual la PG de las semillas de SS-96 frescas, las no crioconservadas y las crioconservadas, fue cero (Figura 2).

Al avanzar el estudio, la PG de las semillas frescas se incrementa significativamente hacia los 21 DDA. Resultado similar muestran las semillas no crioconservadas, aunque en este caso la germinación alcanza valores significativamente superiores solo a partir de los 28 DDA (Figura 2).

Sin embargo, la semilla crioconservada presenta un comportamiento diferente en la primera parte del estudio al compararla con los demás tratamientos analizados (Figura 2). Mientras que para las semillas frescas y las no crioconservadas se incrementa rápidamente la PG a partir de los 14 DDA, la germinación de las crioconservadas apenas alcanza un 10,5 % a los 28 DDA y solo toma valores semejantes a los restantes tratamientos a partir de los 35 DDA.

^C Zhu, H. *The Effect of Drying on Desiccation Tolerance and Late Embryogenesis Abundant Protein Gene Expression in Immature Seeds of Phalaenopsis amabilis* [en línea]. [Master These], Grand Valley State University, Michigan, USA, 2014, 714 p., [Consultado: 1 de febrero de 2016], Disponible en: <<http://scholarworks.gvsu.edu/theses/714>>.



Recién colectadas (fresca), conservadas por 30 días a 5 °C (no crioconservadas) o en NL (crioconservadas)
 Medias con letras desiguales tienen diferencias estadísticamente significativas. ANOVA bifactorial, $p \leq 0,05$, $n = 12$
 Solamente para el procesamiento estadístico los datos se transformaron según $y' = 2 * \arcsen((y/100)0,5)$

Figura 2. Potencia germinativa de semillas de SS-96 colectadas a los 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 días después de la antesis (DDA)

Las semillas inmaduras carecen de metabolitos indispensables en su longevidad durante la conservación (Ej: proteínas LEA) (21, 22), ácidos ribonucleicos mensajeros (ARN_m), requeridos para la síntesis de proteínas durante el proceso de germinación y azúcares (9)). La baja concentración de estos metabolitos en estadios tempranos de desarrollo de las semillas de SS-96 pudiera ser el origen del descenso en la PG durante los 30 días de almacenamiento de la semilla no crioconservada al compararla con la semilla fresca, ambas colectadas a los 21 DDA.

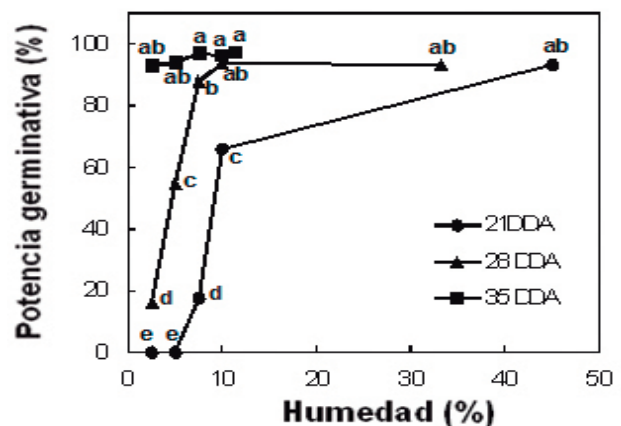
Asimismo, la causa principal de la menor PG de las semillas crioconservadas pudiera estar relacionada con el alto porcentaje de humedad todavía presente en ellas al alcanzar los 28 DDA. Los cristales de hielo, formados principalmente durante el descongelamiento después de la exposición al NL (9), por su conformación espacial, causan daños en las membranas celulares. Además, al ocurrir el desplazamiento del agua para la formación de hielo extracelular, la concentración intracelular de soluto se eleva paulatinamente y pone en peligro el funcionamiento a nivel celular (7, 23).

Las semillas de SS-96 poco después de alcanzar la madurez fisiológica (30 DDA), sufren una acelerada pérdida de agua. En esta etapa la conexión vascular con la planta madre disminuye (24), con lo cual el porcentaje de humedad en la semilla desciende rápidamente hasta alcanzar el equilibrio con la humedad del ambiente (Figura 1). Esta tolerancia a la desecación se correlaciona en otras especies con la presencia de proteínas LEA (21, 22) y de azúcares

(9, 16). Las LEA, son un grupo de proteínas altamente hidrofílicas que se acumulan en semillas durante los estados finales de la formación del embrión (9, 25, 26) y que junto a azúcares como la rafinosa y trealosa juegan un papel importante en la formación intracelular del estado *vitréo* y en la protección de las membranas celulares (9, 21, 22).

El estado vitreo posee características similares a las de un sólido, como son la disminución del movimiento molecular, pero con las propiedades de un líquido (9). Debido a que la viscosidad del citoplasma al vitrificar es extremadamente alta, se evita la fusión entre sistemas de membranas y cambios conformacionales en las proteínas. Además, se reduce considerablemente la velocidad de las reacciones de envejecimiento y la formación de cristales de hielo (23, 25). Esta es la causa fundamental por la cual la PG alcanza valores significativamente superiores para todos los tratamientos a partir de los 35 DDA.

Por otro lado, al ser desecada la semilla colectada a los 21 DDA hasta un 10 % de humedad disminuye significativamente su PG, la cual desciende abruptamente al continuar el secado hasta valores de 7,5 y 5 % y se hace nula al ser desecada de forma extrema a 2,5 % (Figura 3). Sin embargo, para la semilla colectada a los 28 DDA el descenso de la PG solo se hace significativa al desecar hasta un 5 % y para la colectada a los 35 DDA no hubo diferencias significativas en su PG, incluso a valores de humedad de 2,5 %. Resultados similares a los 35 DDA se obtienen al desecar mediante el mismo procedimiento ilustrado en la Figura 3 a las semillas colectadas a los 42, 49 y 56 DDA.



Medias con letras desiguales tienen diferencias estadísticamente significativas
 ANOVA bifactorial, $p \leq 0,05$, $n = 4$
 Solamente para el procesamiento estadístico los datos se transformaron según $y' = 2 * \arcsen((y/100)0,5)$

Figura 3. Potencia germinativa de semillas frescas de SS96 colectadas a los 21, 28 y 35 días después de la antesis (DDA) y desecadas hasta 10,0, 7,5, 5,0 y 2,5 % de humedad (base masa fresca)

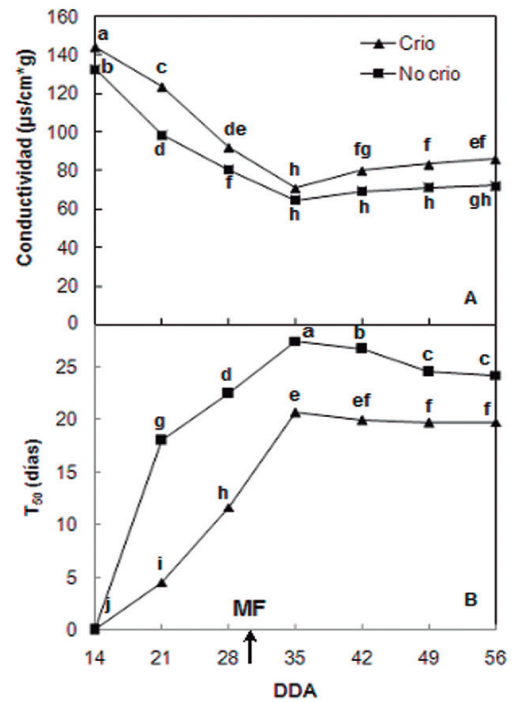
Este resultado está en estrecha relación con los valores de MS-1000 y humedad mostrados en la Figura 1. Varios de los compuestos sintetizados en la semilla durante esta etapa (entre los 30 DDA y 35 DDA para semillas de SS-96), además de su correspondencia con la adquisición de la tolerancia a la desecación, se vinculan con una mayor longevidad de las semillas durante su almacenamiento (15, 20). Así, considerando los tratamientos evaluados, no es posible una colecta adecuada de la semilla antes de los 35 DDA, sin tomar una semilla inmadura, que durante el almacenamiento a largo plazo pierda de forma temprana su viabilidad.

A pesar de lo antes expuesto, no es posible seleccionar el mejor momento de colecta posterior a los 35 DDA tomando como base los resultados de MS-1000, humedad, PG y tolerancia a la desecación (Figuras 1, 2 y 3). Se utilizaron indicadores de vigor como discriminantes al predecir la influencia de las condiciones de conservación en la longevidad de las semillas (16, 18). En el presente estudio el vigor fue evaluado mediante las pruebas EE y EA (16, 18).

Las pruebas de envejecimiento acelerado pueden brindar, en intervalos cortos de tiempo, información valiosa sobre las condiciones de conservación más adecuadas para lograr mayor longevidad en las semillas de una especie dada (27). En la Figura 4 se observa un mínimo en la conductividad de los lixiviados y un aumento del tiempo para alcanzar el 50 % de la germinación inicial (T_{50}) de semillas de SS-96 hacia los 35 DDA. Los 35 DDA constituyen la primera medición realizada en el estudio a las semillas de SS-96 después de adquirir estas la MF. Además, al alcanzar este estado de desarrollo la humedad de las semillas se reduce hasta valores inferiores al 11 %. Ambos hechos están en concordancia con una mayor integridad de las membranas celulares y, por lo tanto, con el vigor mostrado (23).

Igualmente, es de destacar el aumento en el EE y en la sensibilidad de las semillas a la prueba de EA posterior a los 35 DDA, tanto las crioconservadas como las no crioconservadas. Este comportamiento sugiere una pérdida de vigor si las semillas no son colectadas inmediatamente después de la acelerada pérdida en el contenido de agua, posterior a la MF. Este comportamiento pudiera ser consecuencia del efecto de una mayor exposición de las semillas a las condiciones ambientales (elevada temperatura y humedad), las que pudieran acelerar las reacciones de envejecimiento (16).

De forma general, las semillas de SS-96 no crioconservadas tuvieron un mayor vigor que las crioconservadas. Sin duda, el elevado contenido de humedad presente en las semillas, muy por encima de lo normado (entre 5 y 7 %) (14), provoca un aumento en el EE y en la sensibilidad de las semillas a la prueba de EA (24). Se hace necesario comprobar en futuras investigaciones el efecto del porcentaje de humedad en la longevidad de las semillas crioconservadas, como un factor determinante (7, 16, 28).



Crioconservadas por 30 días (Crio) y conservadas a 5 °C (No crio) por igual período y sometidas a la prueba de envejecimiento acelerado. Medias con letras desiguales tienen diferencias estadísticamente significativas. ANOVA bifactorial, $p < 0,05$, $n = 4$

Figura 4. Conductividad de lixiviados (A) y tiempo para decrecer al 50 % la potencia germinativa inicial (T_{50}) (B) de semillas de SS-96 colectadas a los 14, 21, 28, 35, 42, 49 y 56 después de la antesis (DDA)

No se tiene conocimiento en la literatura consultada de un estudio de la influencia de la madurez en la crioconservación de semillas. Tampoco se encontraron evidencias de una investigación semejante, al menos dirigida a la semilla fresca, en el género *Nicotiana*. Sin embargo, comportamiento similar al mostrado por las semillas frescas de SS-96 durante su desarrollo se reportó en semillas de frijol (16, 18), arábido (29) y tomate (30). En todos los casos existe coincidencia que el momento donde la humedad de la semilla alcanza el equilibrio con la humedad ambiental, posterior a la MF y la pérdida acelerada en el contenido de agua (en la vecindad de los 35 DDA en este estudio), es el mejor momento para colecta.

CONCLUSIONES

- ♦ La colecta de semillas de SS-96 antes de los 35 DDA provoca una disminución en su tolerancia a la desecación y, como consecuencia, un descenso en la longevidad durante la crioconservación.
- ♦ Una recolección posterior a los 35 DDA incide de forma negativa en el vigor de la semilla crioconservada, debido a la mayor exposición a las condiciones ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Torrecilla, G.; Cabrera, M. y Pérez-Rodríguez, J. L. "Principales descriptores para la caracterización morfo-agronómica del género *Nicotiana*". *Cuba Tabaco*, vol. 13, no. 2, 2012, pp. 44-50, ISSN 0138-7456.
2. Tesfaw, A. y Feyissa, T. "Current trends in genetic manipulations to enhance abiotic and biotic stresses in tobacco". *African Journal of Biotechnology*, vol. 13, no. 21, 2015, pp. 2095-20102, ISSN 1684-5315, DOI 10.4314/ajb.v13i21.
3. Walters, C.; Wheeler, L. y Stanwood, P. C. "Longevity of cryogenically stored seeds". *Cryobiology*, vol. 48, no. 3, junio de 2004, pp. 229-244, ISSN 0011-2240, DOI 10.1016/j.cryobiol.2004.01.007.
4. Veiga-Barbosa, L.; Mira, S.; González-Benito, M. E.; Souza, M. M.; Meletti, L. M. M. y Pérez-García, F. "Seed germination, desiccation tolerance and cryopreservation of *Passiflora speciosa*". *Seed Science and Technology*, vol. 41, no. 1, 1 de abril de 2013, pp. 89-97, ISSN 0251-0952, 1819-5717, DOI 10.15258/sst.2013.41.1.08.
5. Cejas, I.; Vives, K.; Laudat, T.; González-Olmedo, J.; Engelmann, F.; Martínez-Montero, M. E. y Lorenzo, J. C. "Effects of cryopreservation of *Phaseolus vulgaris* L. seeds on early stages of germination". *Plant Cell Reports*, vol. 31, no. 11, 28 de julio de 2012, pp. 2065-2073, ISSN 0721-7714, 1432-203X, DOI 10.1007/s00299-012-1317-x.
6. Walters, C. "Optimising seed banking procedures". En: Smith R. D., *Seed Conservation: Turning Science Into Practice*, edit. Royal Botanic Gardens, Kew, 2003, pp. 725-743, ISBN 978-1-84246-052-8.
7. Walters, C.; Ballesteros, D. y Vertucci, V. A. "Structural mechanics of seed deterioration: Standing the test of time". *Plant Science*, vol. 179, no. 6, diciembre de 2010, (ser. Translational Seed Biology: From Model Systems to Crop Improvement), pp. 565-573, ISSN 0168-9452, DOI 10.1016/j.plantsci.2010.06.016.
8. Rajjou, L.; Duval, M.; Gallardo, K.; Catusse, J.; Bally, J.; Job, C. y Job, D. "Seed Germination and Vigor". *Annual Review of Plant Biology*, vol. 63, no. 1, 2012, pp. 507-533, ISSN 1545-2123, 1543-5008, DOI 10.1146/annurev-arplant-042811-105550, PMID: 22136565.
9. Verdier, J.; Lalanne, D.; Pelletier, S.; Torres-Jerez, I.; Righetti, K.; Bandyopadhyay, K.; Leprince, O.; Chatelain, E.; Vu, B. L.; Gouzy, J.; Gamas, P.; Udvardi, M. K. y Buitink, J. "A Regulatory Network-Based Approach Dissects Late Maturation Processes Related to the Acquisition of Desiccation Tolerance and Longevity of *Medicago truncatula* Seeds". *Plant Physiology*, vol. 163, no. 2, 1 de octubre de 2013, pp. 757-774, ISSN 1532-2548, DOI 10.1104/pp.113.222380, PMID: 23929721.
10. Pino, A. L. "Sancti Spiritus 96 «Variedad de tabaco negro resistente al moho azul (*Peronospora hyoscyami* de bary f. sp. tabacina), a la pata prieta (*Phytophthora nicotianae* brenda de hann), al virus del mosaico del tabaco (tmv) y su homólogo androestérol Sancti Spiritus 96)". *Cuba Tabaco*, vol. 8, no. 2, 2007, pp. 58-59, ISSN 0138-7456.
11. Hernández, Y.; León, Y.; Hernández, J. M. y Monroy, A. L. "Nuevos sustratos para la producción de plántulas de tabaco en semilleros flotantes". *Cuba Tabaco*, vol. 5, no. 2, 2004, pp. 15-19, ISSN 0138-7456.
12. García, M. y Andino, V. "Tecnología de bandejas flotantes en la producción de plántulas de tabaco en Cuba". *Cuba Tabaco*, vol. 3, no. 1, 2002, pp. 30-33, ISSN 0138-7456.
13. Espino, E. M.; Uriarte, B. E.; Cordero, P. L.; Rodríguez, N.; Izquierdo, A.; Blanco, L. E.; Hernández, J. M.; Quintana, G.; Benítez, O.; Ibizate, J. y Díaz, M. *Instructivo técnico para el cultivo del tabaco en Cuba*. edit. Instituto de Investigaciones del Tabaco, Artemisa, Cuba, 2012, 147 p., ISBN 978-959-7212-07-2.
14. Engels, J. M. M. y Visser, L. *Guía para el manejo eficaz de un banco de germoplasma*. (ser. Manuales de Bioversity para Bancos de Germoplasma, no. ser. 6), edit. Bioversity International, 2007, 209 p., ISBN 978-92-9043-767-3.
15. Pu, X.; Huang, Y. F.; Pan, C. L.; Yao, L.; Ai, X. R. y Deng, Z. J. "Effects of temperature, light, desiccation and cold storage on germination of *Sophora tonkinensis* (Leguminosae) seeds". *African Journal of Biotechnology*, vol. 14, no. 12, 2015, pp. 1015-1019, ISSN 1684-5315, DOI 10.4314/ajb.v14i12.
16. Bailly, C.; Audigier, C.; Ladonne, F.; Wagner, M. H.; Coste, F.; Corbineau, F. y Côme, D. "Changes in oligosaccharide content and antioxidant enzyme activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying tolerance and seed quality". *Journal of Experimental Botany*, vol. 52, no. 357, 15 de abril de 2001, pp. 701-708, ISSN 0022-0957, 1460-2431, DOI 10.1093/jexbot/52.357.701, PMID: 11413206.
17. *IBM SPSS Statistics* [en línea]. versión 20, [Windows], edit. IBM Corporation, U.S, 2011, Disponible en: <<http://www.ibm.com>>.
18. Sanhewe, A. J. y Ellis, R. H. "Seed development and maturation in *Phaseolus vulgaris* L. Ability to germinate and to tolerate desiccation". *Journal of Experimental Botany*, vol. 47, no. 7, 7 de enero de 1996, pp. 949-958, ISSN 0022-0957, 1460-2431, DOI 10.1093/jxb/47.7.949.
19. Jolivet, P.; Boulard, C.; Bellamy, A.; Valot, B.; d'Andréa, S.; Zivy, M.; Nesi, N. y Chardot, T. "Oil body proteins sequentially accumulate throughout seed development in *Brassica napus*". *Journal of Plant Physiology*, vol. 168, no. 17, 15 de noviembre de 2011, pp. 2015-2020, ISSN 0176-1617, DOI 10.1016/j.jplph.2011.06.007.
20. Sumathi, S. y Srimathi, P. "Seed development and maturation studies in Chinese medicinal plant babchi (*Psoralea corylifolia*)". *Seed Science and Technology*, vol. 43, no. 1, 1 de abril de 2015, pp. 80-89, ISSN 0251-0952, 1819-5717, DOI 10.15258/sst.2015.43.1.09.
21. Delahaie, J.; Hundertmark, M.; Bove, J.; Leprince, O.; Rogniaux, H. y Buitink, J. "LEA polypeptide profiling of recalcitrant and orthodox legume seeds reveals ABI3-regulated LEA protein abundance linked to desiccation tolerance". *Journal of Experimental Botany*, vol. 64, no. 14, 11 de enero de 2013, pp. 4559-4573, ISSN 0022-0957, 1460-2431, DOI 10.1093/jxb/ert274, PMID: 24043848.
22. Liu, Y.; Wang, L.; Jiang, S.; Pan, J.; Cai, G. y Li, D. "Group 5 LEA protein, *ZmLEA5C*, enhance tolerance to osmotic and low temperature stresses in transgenic tobacco and yeast". *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 84, noviembre de 2014, pp. 22-31, ISSN 0981-9428, DOI 10.1016/j.plaphy.2014.08.016.
23. Kaviani, B. "Conservation of plant genetic resources by cryopreservation". *Australian Journal of Crop Science*, vol. 5, no. 6, 2011, p. 778, ISSN 1835-2707.

24. Sreenivasulu, N. y Wobus, U. "Seed-Development Programs: A Systems Biology–Based Comparison Between Dicots and Monocots". *Annual Review of Plant Biology*, vol. 64, no. 1, 29 de abril de 2013, pp. 189-217, ISSN 1543-5008, 1545-2123, DOI 10.1146/annurev-arplant-050312-120215.
25. Battaglia, M.; Olvera-Carrillo, Y.; Garcarrubio, A.; Campos, F. y Covarrubias, A. A. "The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins". *Plant Physiology*, vol. 148, no. 1, 2008, pp. 6–24, ISSN 0032-0889.
26. Chatelain, E.; Hundertmark, M.; Leprince, O.; Gall, S. L.; Sator, P.; Deligny-Penninck, S.; Rogniaux, H. y Buitink, J. "Temporal profiling of the heat-stable proteome during late maturation of *Medicago truncatula* seeds identifies a restricted subset of late embryogenesis abundant proteins associated with longevity". *Plant, Cell & Environment*, vol. 35, no. 8, 1 de agosto de 2012, pp. 1440-1455, ISSN 1365-3040, DOI 10.1111/j.1365-3040.2012.02501.x.
27. Milosevic, M.; Vujakovic, M. y Karagic, D. "Vigour tests as indicators of seed viability". *Genetika*, vol. 42, no. 1, 2010, pp. 103-118, ISSN 0534-0012, DOI 10.2298/GENSR1001103M.
28. Treuren, R. van; Groot, E. C. de y Hintum, T. J. L. van. "Preservation of seed viability during 25 years of storage under standard genebank conditions". *Genetic Resources and Crop Evolution*, vol. 60, no. 4, 17 de noviembre de 2012, pp. 1407-1421, ISSN 0925-9864, 1573-5109, DOI 10.1007/s10722-012-9929-0.
29. Locascio, A.; Roig-Villanova, I.; Bernardi, J. y Varotto, S. "Current perspectives on the hormonal control of seed development in Arabidopsis and maize: a focus on auxin". *Frontiers in Plant Science*, vol. 5, 2014, p. 412, ISSN 1664-462X, DOI 10.3389/fpls.2014.00412, PMID: 25202316PMCID: PMC4142864.
30. Berry, T. y Bewley, J. D. "Comparisons between the roles of the fruit tissues, osmoticum and abscisic acid in maintaining tomato seed development and storage protein synthesis". *Seed Science Research*, vol. 3, no. 01, marzo de 1993, pp. 25–34, ISSN 1475-2735, DOI 10.1017/S0960258500001537.

Recibido: 15 de mayo de 2015

Aceptado: 27 de enero de 2016

NÚMERO ESPECIAL

*Este número de la revista está dedicado
al X Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg2015)*

Nota:

Durante el proceso de edición no se pudo acceder al trabajo de retoque y mejoramiento de imágenes, por lo que estas han sido insertadas con la misma calidad con la que enviaron sus autores.

La Editorial

TUTORIAL

NÚMERO ESPECIAL

*Este número de la revista está dedicado
al X Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg2015)*

El Centro de Bioplantas es una institución de investigaciones científicas, adscrita a la Universidad de Ciego de Ávila “Máximo Gómez Báez” del Ministerio de Educación Superior de Cuba. El mismo surge en 1987 como un laboratorio de investigaciones y micropropagación de plantas frutales. Desde 1992, tiene como misión desarrollar, aplicar y ofrecer tecnologías, productos, asistencia técnica y servicios académicos de excelencia en el marco de la Biotecnología Vegetal.

El grupo de investigadores, técnicos de laboratorio y otro personal auxiliar altamente calificados, han sido galardonados con premios relevantes de la Academia de las Ciencias de Cuba y con reconocimientos por la labor que realizan en la transferencia de resultados científicos y tecnológicos, la producción de vitroplantas para el comercio internacional, y la educación postgraduada. Para el trabajo científico cuenta con seis laboratorios: Cultivo de Células y Tejidos Vegetales, Agrobiología, Interacción Planta-Patógeno, Ingeniería Metabólica, Mejoramiento Genético de Plantas y Computación Aplicada. Todos con las mejores facilidades y un equipamiento de alta calidad para asegurar resultados relevantes.

El Centro de Bioplantas desde 1997 y, como bienal, desarrolla su Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg), el cual constituye un marco excepcional para el intercambio de conocimientos y experiencias entre científicos, docentes y productores. En este se debaten en forma de Conferencia Magistrales, Talleres y Mesas Redondas durante sesiones de trabajo, los resultados más relevantes y los problemas más acuciantes que enfrenta la biotecnología vegetal cubana y mundial.

Por todo lo anterior, el Comité Organizador de BioVeg2015 en su décima edición se complace en presentarles una muestra representativa de 19 trabajos científicos completos recibidos y siente profunda satisfacción en invitarlos para el próximo BioVeg2017 que se desarrollará en la fecha 22-26 del mes de mayo.

Nota:

Durante el proceso de edición no se pudo acceder al trabajo de retoque y mejoramiento de imágenes, por lo que estas han sido insertadas con la misma calidad con la que enviaron sus autores.

La Editorial