

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD -
FISIOLOGIA VEGETAL

**GERMINACIÓN Y LONGEVIDAD DE SEMILLAS DE
GENOTIPOS DE PITAHAYA (*Hylocereus* spp) Y PITAYA
(*Stenocereus* spp).**

OBDULIA GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO.

2013

La presente tesis, titulada: Germinación y longevidad de semillas de genotipos de pitahaya (*Hylocereus spp*) y pitaya (*Stenocereus spp*), realizada por el alumna: Obdulia González Hernández, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD - FISILOGIA VEGETAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



Dr. Manuel Livera Muñoz

ASESOR:



Mc. Adrián Hernández Livera

ASESOR:



Dr. Víctor A. González Hernández

ASESOR:



Dr. Porfirio Ramírez Vallejo

Montecillo, Texcoco, Edo de México, Diciembre de 2013.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados y principalmente al área de Fisiología Vegetal, por la oportunidad para lograr mi superación profesional.

Al CONACYT, por haberme otorgado la beca para efectuar mis estudios de Maestría en el Colegio de Postgraduados.

Al Dr. Manuel Livera Muñoz, agradezco de manera especial por brindarme sus conocimientos y apoyo de la presente tesis desde el inicio hasta su culminación.

Al Mc. Adrián Hernández Livera, porque con su gran apoyo y dedicación se llevó a cabo el trabajo satisfactoriamente y por las correcciones pertinentes. Gracias

Al Dr. Víctor González Hernández, por su apoyo en las correcciones pertinentes, sin las cuales este trabajo no tendría la misma calidad.

Al Dr. Porfirio Ramírez Vallejo, por colaborar en este trabajo y por su amistad.

Al Dr. Gabino García De los santos, por su apoyo en este trabajo en las mediciones morfológicas de las semillas y por brindarme su amistad. Gracias

Al Dr. Aquiles Carballo Carballo, por apoyarme en el almacenamiento de las semillas.

Al Mc. Iván Ramírez, por el apoyo en la conservación de la semilla.

Al Dr. Apolinar Mejía Contreras, por proporcionarme información de dicho trabajo.

Al laboratorio de análisis de semillas del postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Producción de Semillas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por haber proporcionado sus instalaciones para la realización de la siembra de las semillas de la presente tesis.

A la laboratorista Bárbara por su apoyo en el trabajo de laboratorio y por su amistad.

Al señor José Luis, por su apoyo en este trabajo y por brindarme su amistad

A Mc. Roberto Flores, por su amistad y apoyo.

A las Secretarias, Sonia y Tonanci, por brindarme su amistad sincera y apoyarme en todo momento.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Gracias Dios porque todo lo que soy y todo lo que tengo es regalo tuyo.

A mi familia.

A mi esposo Luis Ángel López Martínez porque me ha brindado su apoyo incondicional, amor y paciencia en todo momento, mil gracias.

A mis padres Juan González Conrado y Domitila Hernández Hernández, por su apoyo, comprensión y amor. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia para conseguir mis objetivos.

A mis hermanos por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar.

A mi hermana Mary, por apoyarme en cada momento de mi vida y a la cual amo mucho.

A todos mis sobrinos (a) quienes han sido mi motivación, inspiración y felicidad y aun angelito que me cuida donde quiera que me encuentre (German González Díaz⁺).

ÍNDICE GENERAL

	PAG.
AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos.....	3
1.2 Hipótesis.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Importancia de la pitahaya.....	4
2.2 Importancia del pitayo.....	5
2.3 Conservación.....	6
2.3.1 Conservación <i>in situ</i>	7
2.3.2 Conservación <i>ex situ</i>	8
2.3.3 Banco de germoplasma.....	9
2.4 Semillas.....	12
2.5 Calidad de las semillas.....	13
2.5.1 Calidad física.....	14
2.5.2 Calidad fisiológica.....	17
2.6 Conservación de las semillas en almacenamiento.....	25
2.6.1 Clasificación de las semillas de acuerdo con su comportamiento durante el almacenamiento.....	26
2.6.2 Almacenamiento “artificial” de semillas.....	28
2.6.3 Protocolo de almacenamiento.....	29
2.7 Factores que influyen en el almacenamiento de las semillas.....	29
2.7.1 Cambios en las semillas durante el almacenamiento.....	33

III. MATERIALES Y MÉTODOS	35
3.1 Ubicación del sitio experimental.....	35
3.2 Colectas de frutos de <i>Hylocereus</i> spp y <i>Stenocereus</i> spp.....	35
3.3 Material genético.....	36
3.4 Análisis físico de las semillas.....	37
3.4.1 Determinación del contenido de humedad.....	37
3.4.2 Determinación del peso volumétrico.....	38
3.4.3 Peso de 1000 semillas.....	38
3.5 Caracterización morfológica de las semillas.....	39
3.6 Evaluación fisiológica de las semillas.....	39
3.6.1 Prueba de germinación.....	39
3.6.2 Prueba de viabilidad con tetrazolio.....	41
3.6.3 Evaluación del vigor de la semilla mediante la prueba de envejecimiento Acelerado.....	43
3.7 Determinación del comportamiento ortodoxo, recalcitrante o intermedio de las semillas de pitahaya y pitaya.....	45
3.8 Análisis estadístico.....	47
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	48
4.1 Análisis físico de las semillas.....	48
4.1.1 Contenido de humedad.....	48
4.1.2 Peso volumétrico.....	49
4.1.3 Peso de 1000 semillas.....	50
4.2 Caracterización morfológica de las semillas.....	51
4.3 Evaluación fisiológica de las semillas.....	55
4.3.1 Prueba de germinación.....	55
4.4 Prueba de vigor con envejecimiento acelerado.....	58
4.5 Determinación del comportamiento de las semillas durante el almacenamiento.....	61
V. CONCLUSIONES	65
VI. BIBLIOGRAFÍA	66

ÍNDICE DE CUADROS

PAG.

Cuadro 1. Genotipos de pitahaya y pitaya, origen y edad de la semilla.....	37
Cuadro 2. Genotipos de pitahaya y pitaya seleccionados después de la prueba de viabilidad con tetrazolio.....	43
Cuadro 3. Contenido de humedad (n-2) y peso volumétrico (n-1) de genotipos de pitahaya y pitaya de diferentes localidades y diferentes años.....	49
Cuadro 4. Cuadrados medios del análisis de varianza de peso de mil semillas de genotipos de pitahaya y pitaya.....	50
Cuadro 5. Comparación de medias para el peso de mil semillas en diferentes años de genotipos de pitahaya y pitaya.....	52
Cuadro 6. Cuadrados medios del análisis de varianza de cuatro caracteres morfológicos provenientes de la digitalización de imágenes de semillas de los genotipos de pitahaya y pitaya.....	53
Cuadro 7. Comparación de medias para las variables evaluadas en el análisis de imágenes de semilla de los diferentes genotipos de pitahaya y pitaya.....	54
Cuadro 8. Cuadrados medios de análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de germinación de un genotipo de pitahaya y tres de pitaya de diferentes edad.....	56
Cuadro 9. Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de germinación de un genotipo de pitahaya y tres de pitaya de diferente edad.....	57
Cuadro 10. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de vigor con envejecimiento acelerado en genotipos de pitahaya y pitaya.....	57
Cuadro 11. Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de envejecimiento acelerado en un genotipo de pitahaya y tres de pitaya de diferentes edad.....	59
	61

Cuadro 12. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de germinación de los genotipos de pitahaya y pitaya, después de haber almacenado la semilla durante tres meses a -20 °C.....	62
Cuadro 13. Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de germinación de un genotipo de pitahaya y tres de pitaya de diferente edad, después de ser almacenada la semilla durante tres meses a -20 °C.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

	PAG.
Figura 1. Protocolo de para determinar el comportamiento de semillas durante el almacenamiento (Tomado de Hong y Ellis, 1996).....	30
Figura 2. Patrón de tinción de semillas viables.....	42
Figura 3. Patrón de tinción de semillas no viables.....	42

GERMINACIÓN Y LONGEVIDAD DE SEMILLAS DE GENOTIPOS DE PITAHAYA (*Hylocereus* spp) Y PITAYA (*Stenocereus* spp)

Obdulia González Hernández, MC.

Colegio de Postgraduados, 2013.

RESUMEN

Los huertos comerciales de pitaya y pitahaya se establecen mediante propagación vegetativa con estacas, debido a que las plantas derivadas de semilla tardan más tiempo en producir frutos. Sin embargo, la reproducción sexual es importante para obtener variabilidad genética y para producir semillas para la conservación de esta variabilidad en bancos de germoplasma, con objeto de coadyuvar a evitar su erosión genética. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar si la edad de la semilla y el genotipo tiene efecto sobre su longevidad y germinación, y si se comportan como semillas ortodoxas.

Se utilizó semilla de 17 genotipos de pitahaya y de tres de pitaya, con edades que variaron de 1 a 5 años. Se evaluó la viabilidad de la semilla con la prueba de tetrazolio. En la prueba de germinación se utilizó el método “sobre papel” en cajas tipo “sandwichera”, dentro de la cual se colocó papel filtro como sustrato, se utilizó una caja por genotipo. En pitahaya la edad de la semilla tuvo efecto en la viabilidad, ya que la de 3 años tuvo menor porcentaje que la de 2 años, con valores de 68 y 75 %, respectivamente; en germinación también hubo tal efecto, con porcentajes de 67.5 y 75.5 % para esas edades. En pitaya también hubo esos efectos, ya que las semillas de 2 años de Endollo y Ceniza 2010 tuvieron una viabilidad menor (85 y 89 %, respectivamente) que las de 1 año (92 y 97 %); la germinación de semilla de 2 años fue de 84 y 91 %, menores a los de semilla de 1 año (97.5 y 95 %).

Con respecto a la germinación de las semillas envejecidas durante 24 horas fue menor que la observada en semillas sin envejecer, lo cual es evidencia del efecto adverso del deterioro sobre dicho proceso ya que CP 178, 2009 y CP 178, 2010 presentaron los porcentajes más bajos con 49 y 68 % de germinación. Los genotipos de pitaya tuvieron más del 72 % de germinación después del envejecimiento artificial. Los resultados obtenidos indican que las semillas de pitahaya y pitaya son ortodoxas.

Palabras clave: Pitahaya, *Hylocereus* spp., pitaya *Stenocereus* spp., semillas ortodoxas.

**GERMINATION AND LONGEVITY OF SEEDS OF PITAHAYA (*Hylocereus*spp)
AND PITAYA (*Stenocereus*spp) GENOTYPES**

Obdulia González Hernández, MC.

Colegio de Postgraduados, 2013.

ABSTRACT

Commercial orchards of pitahayas and pitayas are established by vegetative propagation with stems, because plants derived from seed take longer to produce fruit. However, sexual reproduction is important for variability genetic and to produce seeds for the conservation of this variability in germplasm banks in order to help to prevent genetic erosion. The present study was aimed to determine whether age and genotype has an effect on seed longevity and germination and if seeds behave as orthodox seeds.

Seeds of 17 pitahaya genotypes and of three pitayas were used, with ages ranging from 1 to 5 years old. Seed viability was also assessed with tetrazolium test. In the germination test method "on paper" in such cases "sandwich", into which was placed a filter paper as substrate, a box was used per genotype was used. In pitahaya seed age affected viability because 3 years old seeds had lower percentages than 2 years old ones, with values of 68 and 75 %, respectively. The effect on seed germination with percentages of 67.5 and 75.5 % for those ages. The same effects were observed in pitaya. because the seeds of 2 years old of Endollo y Ceniza 2010 presented a lower viability (85 and 89 %, respectively) than 1 year old seeds (92 and 97 %). Germination of 2 years old seeds also had lower percentages (84 and 91 %) than 1 year old seeds (97.5 and 95 %).

With respect to theseedgermination after agingfor 24 hours it wasless than that observedinnon-agedseeds, which is evidenceof the adverse effectof the deteriorationon the processasCP178,CP178, 2009 and2010had the lowestpercentages,49and 68%, of germination. Germination after seed aging of pitayagenotypeswas above72%. The results indicate that seeds of pitahaya and pitaya behave as orthodox seeds.

Keywords: Pitahaya, *Hylocereus* spp., pitaya *Stenocereus* spp., orthodox seeds.

I. INTRODUCCIÓN

Las cactáceas son plantas autóctonas del continente americano distribuidas principalmente en las regiones áridas y semiáridas, aunque algunas también crecen como epifitas en áreas intertropicales y tropicales húmedas (Bravo-Hollis, 1978; Bravo-Hollis y Scheinvar, 1995).

La mayoría de las cactáceas son utilizadas como alimento humano, aprovechadas principalmente por sus frutos y tallos (Casas, 2002). Los géneros *Hylocereus* y *Stenocereus* tienen especies que destacan por la producción de frutos comestibles de importancia económica, porque tienen demanda como fruta fresca, y para la elaboración de mermelada, pulpa concentrada, bebidas refrescantes y helados (Rebollar *et al.*, 1998, Ortiz y Livera, 1999a, Castillo *et al.*, 2005). Además de su importancia ecológica, estas especies representan un recurso alimenticio para los pobladores de las zonas donde se encuentran; por ello resulta importante su conservación y utilización racional.

No obstante que la pitahaya se utiliza en México desde tiempos prehispánicos, su cultivo comercial tiene aproximadamente dos décadas (Livera *et al.*, 2010) pero con avances importantes en el conocimiento de su diversidad genética, fisiología y cultivo (Ortiz *et al.*, 2012). En México existen cuatro especies *Hylocereus*, *H. undatus*, *H. Purpusi*, *H. ocamponis* y una subespecie (*H. undatus subsp. luteocarpus* "Cáliz de Dios") son las de mayor amplitud de distribución e importancia como frutal (Bravo, 1978; Castillo *et al.*, 1996; Ortiz y Livera, 2000; Cáliz, 2005; Guzmán *et al.*, 2007; Livera *et al.*, 2010).

El género *Stenocereus* comprende 24 especies, de las cuales 19 se distribuyen en México (Mercado y Granados, 1999), en donde a su fruto se le llama pitaya (Rebollar *et al.*, 2002).

Los huertos comerciales de pitaya y pitahaya se establecen mediante propagación vegetativa a partir de estacas, debido a que las plantas obtenidas de semilla tardan más tiempo en producir frutos (Ortiz y Livera, 2000; Martínez, 2011). Sin embargo, su reproducción sexual es importante para obtener variabilidad útil para su mejoramiento genético y para la conservación de esta variabilidad en bancos de germoplasma, con objeto de coadyuvar a evitar su erosión genética. Lo anterior requiere el conocimiento de la fisiología de la germinación y el comportamiento de la viabilidad de la semilla en función de diversas condiciones de almacenamiento, para su conservación y utilización, y esto último incluye la reforestación con objeto de rehabilitar las zonas áridas y semiáridas.

Para la preservación de las especies se utilizan métodos *in situ* y *ex situ* (Livera *et al.*, 2000). Un método *ex situ* es el almacenamiento de semillas a mediano y largo plazo, lo cual requiere conocer previamente el comportamiento de la semilla con un bajo contenido de humedad para su almacenamiento a baja temperatura. Entre las cactáceas apreciadas por sus frutos comestibles están *Hylocereus* spp y *Stenocereus* spp, que deben protegerse contra la erosión genética y el peligro de extinción, ya que en México ambas especies están gravemente amenazadas por el deterioro de los ecosistemas, incluyendo las áreas naturales protegidas.

Respecto a la conservación *ex situ*, la diversidad se conserva en forma restringida en colecciones de clones en diferentes instituciones. Pero en las especies de *Hylocereus* spp y *Stenocereus* spp no hay información sobre la longevidad y vigor de sus semillas después de su almacenamiento a bajas temperaturas por períodos largos. Tampoco se tiene información sobre si la semilla es ortodoxa, recalcitrante o intermedia. Hong y Ellis (1996) clasifican a las semillas en ortodoxas, intermedias y recalcitrantes; las primeras toleran la desecación a grados de humedad entre 5 y 7 %, las segundas la toleran entre 10 a 12.5 y las últimas toleran la desecación de 15 a 20 %.

Por ello, la determinación del comportamiento de las semillas de una especie constituye un tema trascendental para su conservación a largo plazo. Las especies con semillas ortodoxas pueden ser conservadas en bancos de semillas en condiciones de baja temperatura y humedad. Por el contrario, las especies con semillas recalcitrantes o intermedias no pueden conservarse de esta manera (Marzalina y Krishnapillay, 1999). La conservación *ex situ* de recursos filogenéticos a través de la conservación de semillas a largo plazo es considerada segura y relativamente de bajo costo. Sin embargo, solo existe información sobre el comportamiento de las semillas (sobrevivencia y longevidad) en varias condiciones de almacenamiento en cerca de 3 % de las plantas superiores (Hong y Ellis, 1996).

Por lo anterior, los objetivos de la presente investigación fueron determinar el efecto de la edad de la semilla en genotipos de *Hylocereus* spp y *Stenocereus* spp en cuanto a su viabilidad y germinación, y conocer si son ortodoxas o recalcitrantes.

1.1 Objetivos

- a) Determinar si las semillas de *Hylocereus* spp y *Stenocereus* spp son ortodoxas o recalcitrantes.
- b) Estudiar el comportamiento de semillas de genotipos de *Hylocereus* spp y *Stenocereus* spp almacenadas por diferentes períodos.

1.2 Hipótesis

Las semillas de *Hylocereus* spp y *Stenocereus* spp son ortodoxas y pueden conservarse en almacenamiento.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia de la pitahaya

Las pitahayas son un importante recurso genético vegetal nativo de América, con amplia distribución y variación; también son un nuevo cultivo con gran potencial para el desarrollo agrícola y económico de amplias áreas de México y varios países de Centroamérica (Ortiz y Livera, 1999a, b; Ortiz, 1999; Yoldi, 2000; Legaria *et al.*, 2005). Actualmente los frutos de *Hylocereus* son de los más cotizados mundialmente, principalmente por los mercados europeos y asiáticos. Internacionalmente los frutos de la pitahaya son catalogados entre los frutos exóticos de mayor auge de los últimos tiempos, además se puede aprovechar toda la planta como alimento y como medicina (Raveh *et al.*, 1993; Rodríguez, 2000; Castillo *et al.*, 2005).

El fruto de *Hylocereus undatus*, es globoso de 10 a 12 cm de longitud, con cascara rojiza o rosada cubierta con grandes escamas foliáceas y pulpa purpura o blanquecina cremosa (Azis *et al.*, 2010). Su cubierta tiene escamas foliáceas o brácteas distribuidas helicoidalmente; es de pulpa dulce y abundante, de color blanco o tonalidades rojas, las semillas son numerosas y pequeñas de color café oscuro o negro y se encuentran distribuidas en toda la pulpa (Ortiz, 2000).

Los frutos se desarrollan del ovario y el receptáculo que lo rodea. El fruto cambia el color de su cáscara desde verde a rojo cerca de 25 días después de la floración. La cáscara se vuelve completamente roja en los 4-5 días siguientes al primer cambio de color. Alrededor de 25-41 días después de floración, el peso seco de la pulpa del fruto aumenta significativamente, mientras que el peso seco de la cáscara y el porcentaje de agua de la cáscara disminuyen. La firmeza del fruto

también disminuye durante este período. Frutos maduros pueden ser cosechados entre 30-50 días después de la polinización (Gunasena *et al.*, 2007).

La parte comestible del fruto es el mesocarpio, el cual tiene una textura mucilaginosa con muchas semillas pequeñas, las que son blandas y están distribuidas homogéneamente en toda la pulpa. La pulpa representa el 60-80 % del peso de un fruto maduro en la mayoría de las especies de *Hylocereus*. El rendimiento de jugo sin semillas es mucho menor, representando sólo el 55 % en algunos cultivares de pitahaya. El mesocarpio contiene 82-88 % de agua con un contenido habitual de sólidos solubles de 70-110 g/L a la madurez (Le Bellec *et al.*, 2006).

2.2 Importancia del pitayo

Las pitayas son frutos ovoides, globosos o elipsoidales, a veces largos, están cubiertos por una cáscara o pericarpio delgado y generalmente suave. Llevan aréolas con cerdas, espinas o pelos, que en la mayoría de los casos se desprenden al madurar el fruto. La pulpa es jugosa y dulce, generalmente de color rojo púrpura, pero puede ser blanca con tintes más o menos rosados o amarillentos, rara vez verdosos. Contiene numerosas semillas generalmente muy pequeñas, de color negro o castaño oscuro (Rebollar *et al.*, 1997).

Las semillas de los frutos del género *Stenocereus griseus* son muy pequeñas, de aproximadamente 2 a 2.5 mm de longitud por 1.1 a 1.5 mm de diámetro, de forma más o menos periforme y de color negro o castaño oscuro. Constan en su estructura de un embrión, endospermo, testa, micrópilo e hilo.

La testa de las semillas se origina y consta de dos tegumentos cada tegumento consta a su vez de dos capas de células que aumentan en la región micropilar. En el tegumento interno existe una pequeña abertura que es el micrópilo, sus células contienen abundantes taninos que son los responsables de la dureza y el color oscuro en la testa, se define como un poro pequeño por el cual sale la radícula del embrión en la germinación. (Rebollar *et al.*, 1997).

En el género *Stenocereus* están comprendidas especies de valor comercial y por el sabor de sus frutos. Está constituido por 24 especies de las cuales en México se encuentran 19 distribuidas en casi todo el país (Bravo y Sánchez, 1991). Bravo y Sánchez (1991) describen al género *Stenocereus* como plantas arborescentes, frecuentemente grandes, con tronco definido y ramificado desde la base con costillas de 5 a 20 en cada tallo. Sus flores se encuentran en las areolas cercanas al ápice; su fruto es carnoso con pericarpio provisto de areolas lanosas y regularmente espinosas, las cuales caducan con el tiempo, sus semillas son grandes y de color negro.

2.3 Conservación

Se han desarrollado estrategias encaminadas a la protección y conservación de las especies en sus hábitats (*in situ*) y fuera de las áreas donde crece de forma natural (*ex situ*). Entre las estrategias de conservación *in-situ* se hallan las áreas naturales protegidas. Estas zonas están destinadas esencialmente para actividades de carácter científico, educativo y de conservación. Para la conservación de plantas suculentas fuera de su hábitat *ex situ*, existen jardines botánicos, instituciones que mantienen colecciones de plantas vivas con fines de investigación científica, conservación y educación, permitiendo la preservación de muestras de la cactoflora mexicana y su diversidad genética en pequeñas áreas, contribuyendo así a la protección y sobrevivencia de las especies. Algunos

jardines botánicos cuentan con importantes colecciones de plantas y semillas de cactáceas y crasuláceas de varias regiones del país (Franco, 1997). Para conservar los recursos genéticos también es posible el establecimiento de bancos de germoplasma *in vitro*.

2.3.1 Conservación *in situ*

La conservación *in situ* de especies amenazadas implica una adecuada protección y gestión de sus ecosistemas. La gestión activa de un ecosistema para conservar una determinada especie puede requerir medidas de intervención, como la preservación del medio físico en el que se desarrolla la especie amenazada, la potenciación de interacciones con otros organismos que lleven implícito un beneficio para la especie amenazada, y el establecimiento de programas de reforzamiento de poblaciones existentes, reintroducción en localidades donde la población y se haya extinguido o incluso, la introducción de nuevas poblaciones (Falk, 1989).

Para llevar a cabo de forma apropiada este tipo de acciones resulta necesario recabar previamente información sobre la especie a proteger y su ecosistema. Por ello, el proceso de conservación *in situ* se inicia con el estudio y seguimiento en el tiempo de las poblaciones, recabando datos demográficos, genéticos y autoecológicos (Schemske *et al.*, 1994; Gillman, 1997).

La utilización de técnicas de análisis de viabilidad de poblaciones constituye otra herramienta de gran valor por su capacidad diagnóstica y su poder de evaluación al considerar diferentes alternativas de gestión (Menges, 1986; Iriondo, 1996). A menudo, las actividades de conservación *in situ* se encuentran con problemas de aplicación derivados de la necesidad de establecer marcos legales de protección de las áreas y hábitats pertinentes, de conflictos de interés con otras actividades humanas, y de falta de una asignación continuada y a largo plazo de recursos

económicos a las instituciones encargadas de las tareas de conservación. A esto cabe añadir, en numerosas ocasiones, la falta de una información básica sobre la biología de las especies a conservar. Este tipo de limitaciones con lleva la necesidad de desarrollar métodos de conservación *ex situ*, o conservación fuera del hábitat natural, que sirvan para complementar las acciones tomadas en los hábitats naturales (Reid y Miller, 1989).

2.3.2 Conservación *ex situ*

Mientras está universalmente aceptado que el mecanismo más efectivo y eficiente para la conservación es la protección de los hábitats, también está reconocido que las técnicas de conservación *ex situ* constituyen componentes críticos en un programa de conservación global (Conway, 1988; Ashton, 1987).

Los programas de conservación *ex situ* complementan la conservación *in situ*, almacenando a largo plazo germoplasma representativo de las poblaciones, permitiendo un mejor conocimiento de las características anatómicas, fisiológicas y bioquímicas del material almacenado, y proporcionando propágulos para su utilización en programas educativos, programas de mejora genética de especies cultivadas y en planes de reforzamiento, reintroducción o introducción (McNeely *et al.*, 1990).

Los métodos de conservación *ex situ* implican la recolección de muestras representativas de la variabilidad genética de una especie y su mantenimiento fuera de las condiciones naturales en las que la especie ha evolucionado. Las ventajas que proporcionan estos métodos son control directo sobre el material, fácil accesibilidad y disponibilidad (Reidy Miller, 1989). Una vez realizada la recolección del material a conservar, la conservación *ex situ* de especies

amenazadas consta de dos elementos esenciales: el almacenamiento o preservación del germoplasma y el desarrollo de métodos que posibiliten su propagación. No obstante, también deben tenerse presentes otros elementos relevantes tales como la documentación y la caracterización del germoplasma almacenado (Hummer, 1999). Conviene tener presente que la reducida disponibilidad del material vegetal disponible es un factor que siempre acompaña a las actividades de conservación de especies raras o amenazadas, de manera que la capacidad de ensayar protocolos y llevar a cabo experimentos con repeticiones se encuentra frecuentemente limitada (Pence,1999). Para solventar este problema, a veces se trabaja simultáneamente con especies emparentadas no amenazadas donde la disponibilidad de material no está limitada (McComb, 1985).

2.3.3 Banco de germoplasma

Los bancos de germoplasma tienen como objetivo preservar la diversidad de los recursos fitogenéticos de las especies cultivadas y sus especies relacionadas y corregir la uniformidad derivada de las prácticas de mejoramiento genético que reducen la base genética de los cultivos y que causan la susceptibilidad de las poblaciones a efectos de factores adversos (Martín, 2002).

El término germoplasma se refiere al material que se conserva como semillas, cultivo de tejido o plantas establecidas en colecciones de campo que reúne la variabilidad genética intra-específica para perpetuar una especie o una población de un organismo (Graur y Wen-Hsiung, 2000). Además de las funciones de conservación y mantenimiento, los bancos de germoplasma tienen un papel importante ya que su propósito no se limita a la conservación de especies, sino que además incluye funciones tales como la documentación, caracterización, evaluación de la variabilidad genética, estudios filogenéticos y, lo más importante,

el mejoramiento de caracteres deseables y la multiplicación y distribución del germoplasma (Graur y Wen-Hsiung, 2000). La obtención de caracteres deseables y su mejoramiento demanda un conocimiento apropiado de la diversidad genética del germoplasma.

Colecciones

El germoplasma se conserva en diferentes colecciones que son utilizadas por el banco de germoplasma de diferentes maneras. Existen tres tipos de colecciones fundamentales: base, activa y de trabajo.

- **Colección Base:** Es una colección de germoplasma que se conserva a largo plazo y no es usada como fuente de distribución rutinaria. Es una representación de toda la variabilidad genética existente. Generalmente se almacena a temperatura bajo 0°C, con un bajo contenido de humedad.
- **Colección Activa:** Es la que se utiliza para regeneración, multiplicación, distribución, caracterización y evaluación. Debe mantenerse en cantidad suficiente con el fin de estar disponible cada vez que sea necesario. Generalmente se duplica en una colección base y se almacena a mediano o largo plazo.
- **Colección de Trabajo:** Es una colección que utilizan los fitomejoradores o investigadores en su trabajo. La conservación no constituye una prioridad. Un ejemplo es un grupo de accesiones derivadas de una colección activa.

También podemos encontrar los términos de “colección de campo” y “colección *in vitro*”.

- Colección de campo: Es una colección de plantas. Por ejemplo en frutales que se mantiene en el campo, y cultivos en invernadero, Esto se hace con aquel germoplasma que de otro modo hubiera sido difícil mantener en forma de semilla.
- Colección *in vitro*: Es aquella que guarda el material genético en forma de tejidos de plantas que crecen en un cultivo activo en un medio sólido o líquido. Se almacena a temperaturas muy bajas. Ej: en nitrógeno líquido a – 196°C(crio conservación).

Colección núcleo. Suministra el material ideal para tal propósito al igual que el material adecuado para diversas actividades rutinarias de monitoreo que tienen que realizar los bancos de germoplasma, como los ensayos de viabilidad de las semillas. La colección núcleo nunca pretende reemplazar la colección completa pero puede haber situaciones en las que funcionaría como un conjunto prioritario por razones de seguridad. Se le puede dar prioridad si los recursos para la regeneración son limitados o si hay que obtener, en etapas, una copia de seguridad de una colección. Puede suministrar también un conjunto óptimo de materiales en situaciones de emergencia, como desastres naturales, en las que solo se puede asegurar una parte de la colección. Una vez establecida una colección núcleo, se abre para ella un campo continuo de desarrollo en la conservación del vínculo que la une a la colección completa (Dussert *et al.*, 1997).

2.4 Semillas

Definición e importancia

La semilla es un ovulo fecundado, que dará origen a una nueva planta (Fahn, 1978). Douglas (1982) la define como un ovulo maduro, que consta de una planta embrionaria, una fuente de alimento almacenado y una testa o cubierta protectora.

Su importancia biológica radica en que las semillas contienen los recursos genéticos recombinados, además de que en muchos casos están adaptadas para la dispersión, por lo que de ellas depende la repoblación, el desplazamiento dentro de la misma comunidad y la expansión a nuevos territorios u otros hábitats (Espinosa-Osornio y Engelman, 1998).

Formación de la semilla

La formación de la semilla inicia al ocurrir la fecundación o unión de los gametos masculino (polen) y femenino (óvulo); esta singamia ocurre cuando los gametos están completamente maduros y en angiospermas ocurre una doble fusión, que es conocida como doble fertilización, no es así en gimnospermas, en donde solo se da una fecundación. En las angiospermas, cuando el grano de polen llega al estigma, este germina y emite un tubo polínico que crece a través del estigma hasta el micrópilo; por este tubo se conducen tres células, el núcleo del tubo y dos células espermáticas, la primera degenera, las otras dos entran al saco embrionario; una se fusiona con dos núcleos polares formando un endospermo triploide ($3n$) y la otra se fusiona con la célula huevo, formando un cigoto diploide ($2n$) (Copeland y McDonald, 2001).

2.5 Calidad de las semilla

Una semilla de buena calidad tiene pureza tanto varietal como física, un alto porcentaje de germinación y está libre de organismos patógenos, tanto externa como internamente (CIAT, 1980).

Poulsen (2000) señala que para expresar la calidad de semilla no es suficiente el porcentaje de germinación, debido a que este concepto también implica calidad genética y calidad fisiológica. La definición de calidad debe depender del uso final que se le da a la semilla, como sería para conservación de recursos genéticos, producción en vivero, siembra directa en tierra arable, o en bosque, o bien para producir alimentos.

Los lotes de semillas están definidos por sus características, que en conjunto son indicativas de su valor para la siembra. Las características de calidad más importantes son la variedad, la pureza específica, el porcentaje de germinación, viabilidad, vigor y la proporción de otras especies. Otras características tales como el porcentaje de la humedad, pureza varietal, peso de 1000 semillas, estado sanitario, etc., tienen una importancia variable según la especie, el origen de las semillas, la época de su cosecha, etc. (Besnier, 1989; Álvarez, 2007).

En general la calidad de semilla comprende varios atributos, que se pueden clasificar en cuatro puntos clave (Bishaw *et al.*, 2007):

Calidad genética. Es la inherente a la variedad porque proporciona el potencial para un buen rendimiento, mejor calidad de grano y mayor tolerancia a estrés biótico y abiótico.

Calidad fisiológica. Explicada por la viabilidad, germinación y vigor de las semillas, que determinan su potencial para germinar, emergencia de las plántulas y establecimiento del cultivo en campo.

Calidad física. Referida al tamaño, peso y uniformidad de las semillas, así como a la pureza que es la ausencia de semillas de otros cultivos, de malezas y materia inerte.

Calidad sanitaria. Es la ausencia de todo agente que causa infección o infestación en las semillas, como pueden ser hongos, bacterias, virus, nemátodos, insectos, etc.

2.5.1 Calidad física

Las características de las semillas que determinan su calidad física son el tamaño, forma, uniformidad de color, peso volumétrico, peso de 1000 semillas, pureza y contenido de humedad relacionado con la sanidad.

Contenido de humedad

Es la cantidad de agua presente en las semillas; se expresa en porcentaje y se calcula con base en peso seco o en peso húmedo (Copeland y MacDonald, 2001). Es el principal factor que determina el mantenimiento de la calidad, pues altos contenidos de humedad pueden provocar el deterioro, que conduce a la pérdida

de viabilidad y vigor de las semillas en poco tiempo, además de estimular la proliferación de insectos y hongos en el almacén (María, 2002).

En las semillas comúnmente ocurren procesos de evaporación y absorción de agua; cuando la evaporación y absorción son iguales, se dice que el contenido de humedad de la semilla está en equilibrio, y éste varía según la especie (Moreno, 1996).

Jara (1997) Indica que la variación interespecífica del contenido de humedad de las semillas, obedece al porcentaje de aceite que contienen; las semillas que almacenan sus reservas en forma de proteínas o almidón, tienen un contenido de humedad en equilibrio más alto que las que almacenan sus reservas en forma de grasas y aceites, pues las primeras son hidrófilas mientras que las segundas son hidrófobas.

El contenido de humedad se calcula mediante la siguiente fórmula (Moreno, 1996).

$$\% \text{ Humedad (con base en peso húmedo)} = \left[\frac{P2 - P1}{P2 - P3} \right] \times 100$$

En donde:

P1 = Peso de la caja y su tapa (g);

P2 = Peso de la caja, tapa y semilla (g);

P3 = Peso de la caja, tapa y semilla después del secado en la estufa (g).

Peso volumétrico

Es un indicador de la calidad porque está influenciado por la falta de nutrientes y daño por heladas o granizo (Bustamante, 1983), factores bióticos como plagas y

enfermedades y, abióticos como la humedad, impurezas de la semilla etc., que se reflejan es un mayor o menor peso volumétrico.

El peso volumétrico es la relación entre el peso y el volumen total de la masa del producto, incluyendo los espacios intersticiales que dejan los granos entre sí. En el peso hectolítrico el grano depositado en un recipiente se pesa y ése convierte en términos de kg hL^{-1} (Ospina, 2002).

Peso de mil semillas

Este es un factor importante para calcular tasas de siembra. El peso va a depender del tamaño de la semilla, su contenido de humedad y la cantidad de semilla pura (Cuevas, 1996). Para llevar a cabo la determinación de peso puede hacerse por medio del peso de 1000 semillas, peso volumétrico y peso hectolítrico.

Del peso de 1000 semillas, la ISTA (2005) indica que para medirla, de la semilla pura se toman al azar ocho repeticiones de 100 semillas cada una; el conteo de las semillas se hace con un aparato contador o manualmente. Cada repetición se pesa en gramos. Después se calcula la varianza, desviación estándar y el coeficiente de variación, si este último no excede a 6.0 para semillas brozosas de pastos, o de 4.0 para otras semillas, el resultado de la prueba es aceptable.

2.5.2 Calidad fisiológica

Se refiere a la viabilidad de las semillas, a la alta capacidad de germinación y al vigor para establecer nuevos individuos. La calidad es el resultado de la expresión de factores propios del genoma de la semilla y de su interacción con los factores ambientales que la rodean durante su desarrollo, cosecha y almacenamiento. Dornbos (1995) señala que la viabilidad, germinación y vigor en su conjunto, describen adecuadamente la calidad fisiológica de un lote de semilla. Una alta germinación y vigor son esenciales para asegurar un rápido y uniforme establecimiento que permita desarrollar el potencial de rendimiento en una amplia variedad de condiciones de campo.

Viabilidad

Esta característica expresa el grado al cual una semilla está viva, metabólicamente activa y posee enzimas capaces de catalizar reacciones bioquímicas necesarias para la germinación y crecimiento de la plántula.

La ISTA (2005) menciona que en una prueba de germinación, la viabilidad contempla el total de semillas que germinaron, independientemente de que hayan generado plántulas normales o anormales.

La determinación de la viabilidad puede realizarse a través de distintas pruebas, y la más común es la prueba de tetrazolio (2,3,5 cloruro de trifenil tetrazolio), que en forma rápida permite estimar la condición biológica de las semillas en cuanto a viabilidad y vigor (Fenner, 2000). Se basa en la reacción bioquímica de ciertas

enzimas (deshidrogenasas) de las células vivas con la sal de tetrazolio, la cual consiste en la reducción del tetrazolio para formar un compuesto rojo llamado formazán; estos sistemas enzimáticos decrecen a la par de la viabilidad de la semilla, por lo que un color rojo intenso indica presencia de células vivas en el embrión, en cambio la falta de coloración o la coloración rosa pálido, indican la muerte o poca vitalidad de las células embrionarias (Moreno, 1996).

Germinación

Desde el punto de vista fisiológico, la germinación se define como la emergencia de la radícula a través de la cubierta de la semilla (Salisbury y Ross, 2000). Para los analistas de semillas, la germinación es la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una plántula normal bajo condiciones favorables (Copeland y MacDonald. 2001). La ISTA (2005) indica que en laboratorio la germinación de una semilla se considera como la emergencia y desarrollo de la plántula, hasta un estado en el que el aspecto de sus estructuras esenciales indica si es apta para dar origen a una planta normal en condiciones favorables.

La germinación inicia con la absorción de agua por la semilla y termina con el alargamiento del eje embrionario (Bewley, 1997), aunque el signo visible de que la germinación ha concluido, aparece cuando la radícula traspasa las estructuras que rodean al embrión (Bredford y Nonogaki, 2007). Posteriormente continúan eventos relacionados con la movilización de reservas, para finalizar con el crecimiento de la plántula, momento en el que los tejidos de almacenamiento dejan de intervenir en las actividades metabólicas (Salisbury y Ross, 1994).

La prueba de germinación, cuyo principal objetivo es conocer la calidad fisiológica de la semilla, no es la medida óptima para evaluar el potencial de una semilla para la producción de plántulas, debido a que se conduce en condiciones ambientales controladas en laboratorio (Dolouche, 2002); en contraparte, la prueba de vigor define la calidad de un lote de semillas, porque simula las condiciones de campo (Pereira *et al.*, 2002,).

La prueba de germinación clasifica a las plántulas en normales, anormales y semillas sin germinar (semillas duras, muertas, inmaduras). Los resultados se expresan en porcentaje de germinación del número de plántulas normales que puede suponerse se convertirían en plantas fuertes (FAO, 1985).

Esta prueba es también el único método seguro para determinar si las condiciones seleccionadas de almacenamiento mantienen la calidad de la semilla con el paso del tiempo. Los estándares internacionales de los bancos de genes recomiendan que la primera prueba de germinación sea después de los 10 años de almacenamiento para semillas almacenadas en condiciones ideales, o después de 5 años para semillas con pobre calidad de inicio o longevidad (Sweedman y Merritt, 2006).

Germinación de semillas de cactáceas

Las semillas de cactus por lo general tienen una buena viabilidad durante un año, y pueden seguir germinando durante 2 o 3 años más, pero con un porcentaje de éxito cada vez menor (Flores *et al.*, 2005). Diversos estudios con cactáceas han demostrado que la luz, la temperatura y la humedad son factores importantes para la germinación de las semillas. Se ha demostrado que la temperatura constante de

entre 25 y 30 °C las semillas presenta su máxima capacidad y velocidad de germinación, además de ser fotoblasticas positivas. Flores *et al.* (2005).

Se han realizado numerosos trabajos acerca del efecto de diferentes tratamientos para la germinación de semillas en cactáceas. Corona y Chávez (1982) estudiaron en semillas de *Echinocactus grandis* y *E. grusonii* el efecto de un tratamiento pregerminativo con ácido sulfúrico concentrado y posteriormente sometidas a Nitrato de potasio al 0.2 % teniendo como resultado una ligera disminución en el tiempo de obtención de plántulas. Por su parte Godínez (1991) estudio en ocho especies de cactáceas el afecto del ácido clorhídrico a diferentes concentraciones y observo qué la inmersión en el ácido le permitió obtener porcentajes de germinación altos.

Álvarez y montaña (1997) observaron que la inmersión de semillas en HCl de *Cephalocereus chrysacanthus*, *Cephalocereus hoppenstedtii*, *Ferocactus latispinus*, *Stenocereus stellatus* y *Wilcoxia viperina*, no influyó de manera significativa en los porcentajes de germinación. Para el género *Ferocactus* se han realizado estudios sobre factores de germinación y crecimiento.

Del Castillo (1986) observó que las semillas de *Ferocactus histrix* requiere de luz para germinar; sin embargo, en sitios muy expuestos a la luz, la desecación del terreno impide la imbibición de las semillas, por esto implica que *F. histrix* tiene selectividad por terrenos pedregosos donde exista luz suficiente y sombra.

Álvarez y montaña (1997) evaluaron la germinación y supervivencia de cinco especies de cactáceas del Valle de Tehuacán. Aunque los porcentajes de germinación finales variaron tanto entre especies, como entre métodos de

escarificación y la interacción entre ambos factores fue significativa. La variabilidad explicada fue de 36 % para especie, y el porcentaje de germinación de *Cephalocereus chysacanthus* (36 %) fue el más bajo. Las otras cuatro especies no difirieron entre si y promediaron 79 % de germinación entre las cuatro.

Ayala *et al.* (2004) evaluaron la variación en el tamaño y peso de la semilla y su relación con la germinación en una población de *Stenocereus beneckeii*. Además evaluaron en cuatro fechas de siembra de cinco categorías de peso de semillas de estas especies con la finalidad de inferir las estrategias de supervivencias en las primeras fases de su ciclo de vida. *S. beneckeii* presenta las semillas más grandes (largo 3.2 + 0.4 mm, ancho 2.6 + 0.3 mm) y pesadas (11.8 + 2.7 mg) del género *Stenocereus*. El número de semillas/fruto fluctuó entre 25 y 200, detectándose una correlación positiva entre tamaño del fruto y número de semillas. Los porcentajes de germinación fueron superiores al 75 % para cuatro categorías de peso de semilla bajo condiciones de laboratorio; el menor porcentaje de germinación (11 %) fue para semillas más pequeñas y el mayor para las de tamaño intermedio (84 %). Las curvas de germinación mostraron diferencias estadísticamente significativas para las cinco categorías de peso por fecha y para las semillas del mismo peso pero germinadas en diferente fecha. En las categorías de mayor tamaño (3-5), la germinación fue superior en semillas recién colectadas; pero inversa en las semillas más pequeñas (categorías 1-2).

Benítez Rodríguez *et al.* (2004) estudiaron la germinación de cuatro especies del género *Mammillaria* (Cactácea) del Valle de Tehuacán Cuicatlan, México, comparando cuatro tratamientos: luz roja, roja lejana, blanca y oscuridad a 25 °C y en luz blanca y oscuridad a 2 temperaturas alternantes (15/30 y 20/35 °C). Las semillas resultaron ser fotoblasticas positivas, aunque germinaron en rojo lejano. Para todas las especies la mejor germinación se obtuvo a 25 °C con luz y luz roja,

y no hubo diferencias significativas entre tratamientos. Se obtuvieron porcentajes más altos de germinación a 25 °C que a temperaturas alternantes y las semillas no presentaron ningún mecanismo de latencia morfofisiológica.

Sánchez Salas *et al.* (2006) con el fin de promover la conservación de *Astrophytum myriostigma* Lem, cactácea endémica del desierto Chihuahuense, México, amenazada de extinción, realizaron un experimento de germinación con semillas de 4 años de edad provenientes de una población desaparecida por efecto de actividades mineras. Evaluó el porcentaje y la velocidad de germinación en semillas de dos clases de tamaño significativamente distintas en longitud y peso seco, pero no en diámetro. Los tratamientos fueron H₂SO₄, agua destilada, escarificación mecánica y enfriamiento. El porcentaje de germinación fue afectado por los tratamientos, el tamaño de las semillas y la interacción tratamiento x tamaño de semilla. Los mejores tratamientos para la germinación fueron agua destilada y enfriamiento. Las semillas pequeñas mostraron mayor germinación que el testigo en todos los tratamientos, excepto escarificación, donde presentaron baja germinación independientemente del tamaño. La velocidad de germinación fue afectada por el tamaño y la interacción tratamiento x tamaño de semilla. Las semillas pequeñas germinaron más rápido (3.8 semillas/día) que las grandes (1.7 semillas/día). El tratamiento con H₂SO₄ mostro mayor velocidad de germinación en semillas pequeñas que grandes y con la escarificación se obtuvo mayor velocidad en las semillas grandes.

Vigor

El vigor es de utilidad para predecir el comportamiento de las semillas cuando las condiciones del ambiente no son favorables para la germinación y emergencia de las plántulas.

Vigor es la suma de las propiedades que determinan el nivel de actividad y capacidad de la semilla durante la germinación y emergencia de la plántula. Las semillas de buen comportamiento se denominan de alto vigor y las de pobre comportamiento, de bajo vigor (ISTA, 2005). Es importante el uso de semillas vigorosas porque aseguran un buen porcentaje de germinación, velocidad y uniformidad de la germinación de la semilla y crecimiento de la plántula.

Vigor de semilla y deterioro están fisiológicamente ligados, y son aspectos recíprocos de la calidad de la semilla; el vigor disminuye a medida que el deterioro aumenta. Deterioro significa envejecimiento y muerte de la semilla, y el vigor es el componente de la calidad más afectado por el proceso de deterioro (Dolouche, 2002).

El vigor de las semillas está determinado por la constitución genética, las condiciones ambientales y nutrimentales de la planta madre, madurez de la semilla a la cosecha, tamaño, peso y densidad de la semilla, condición física e integridad de la semilla, edad y deterioro y presencia de patógenos (Hampton, 2002). Conocer el vigor es útil para explicar las diferencias en comportamiento de diferentes lotes de semillas. Cuando las condiciones ambientales en el campo o en el almacén no son favorables, el comportamiento de la semilla no se puede predecir si no se conoce su vigor (Filho, 2002). Es conveniente realizar una prueba de vigor al inicio del almacenamiento y repetirla dos meses antes de la siembra, para predecir el comportamiento del lote de semillas (Pereira *et al.*, 2002).

Existen diferentes pruebas para evaluar el vigor. Las más utilizadas son las de frío y envejecimiento acelerado, para semillas de maíz y soya respectivamente; las

pruebas de conductividad eléctrica y de lixiviación de potasio, se usan principalmente en semillas de leguminosas. La evaluación del vigor de manera sencilla y económica, se logra mediante la observación del desempeño de las plántulas en términos de la velocidad de germinación o emergencia de plántulas, primer conteo de la prueba de germinación, peso de la materia verde o seca y crecimiento de plántulas o de algunas partes de ellas (Ana, 2001).

Perry (1983) indica que las características esenciales de una prueba de vigor práctica, son que los resultados sean reproducibles y uniformes entre los laboratorios, y deben estar mejor correlacionados que otras pruebas con algún aspecto conveniente del comportamiento en el campo bajo ciertas condiciones.

Las pruebas de vigor han sido divididas por algunos autores, en directas e indirectas. Las primeras imitan las condiciones del campo en alguna manera y miden la habilidad de las semillas para emerger bajo condiciones de estrés simuladas en campo o en laboratorio. Las pruebas indirectas miden componentes específicos fisiológicos de la semilla y son medidas en el laboratorio y relacionadas con el establecimiento en campo, y entre sus ventajas están las de poder ser efectuadas con mayor facilidad (Copeland y McDonald, 2004).

Las pruebas de velocidad de germinación, dentro de las pruebas directas, constituyen un buen criterio para medir el vigor de la semilla (Copeland, 1976). Los lotes de semillas con germinación total similar, a menudo varían en su tasa de germinación y crecimiento (Copeland y McDonald, 2004). Por eso se han utilizado varios métodos para la determinación de la tasa de germinación.

En la prueba de la tasa de germinación, las semillas vigorosas son capaces de hacer eficiente la síntesis de nuevos materiales y transferirlos rápidamente para la emergencia del eje embrionario, lo que dará como resultado un incremento en la acumulación del peso seco del embrión en crecimiento. La prueba incluye medidas como tiempo de protrusión de la radícula, tasa de crecimiento de las plántulas después de la protrusión de la radícula, y la evolución del crecimiento de las plántulas en fuertes o débiles (McDonald y Kwong, 2005).

2.6 Conservación de las semillas en almacenamiento

Debido a la gran escala de destrucción del hábitat natural y de la consecuente erosión genética, en las últimas décadas se ha incrementado de manera progresiva el esfuerzo por conservar las especies silvestres y cultivadas en bancos de semillas, donde son almacenadas a baja temperatura y contenido de humedad. Estas condiciones permiten prolongar su viabilidad para su uso en el futuro. La utilidad de dichos bancos en la conservación de las semillas se ha atribuido a que permiten el acceso inmediato al material para: investigación, evaluación de sus propiedades medicinales, nutritivas y genéticas, además de facilitar los estudios para la conservación de las poblaciones naturales de las especies y protegerlas de la destrucción de su hábitat, enfermedades y predadores (Gold y Way, 2004). La importancia del almacenamiento de la semilla quedó de manifiesto desde que el hombre comenzó a domesticar a las plantas, y la duración del almacenamiento varía grandemente entre las especies y dentro de la especie; debido a las diferencias en su genotipo y procedencia (Hong y Ellis, 1996).

2.6.1 Clasificación de las semillas de acuerdo con su comportamiento durante el almacenamiento

Para clasificar a las semillas con diferente potencial de viabilidad en almacenamiento se utiliza el término “comportamiento” palabra que corresponde a la traducción en español de “behaviour” utilizada por Hong y Ellis (1996) en su publicación “A protocol to determine seed storage behaviour”. Si bien el término no es propiamente aplicado a las plantas, es utilizado por diversos autores (Bewley, 1997; Martínez-Cárdenas *et al.*, 2006; Rao *et al.*, 2007) para referirse a los cambios fisiológicos y bioquímicos que conservan o disminuyen la longevidad de la semilla en almacenamiento.

Existen diferentes clasificaciones de las semillas, según la duración potencial de su viabilidad. De acuerdo con el Laboratorio de Semillas de la Universidad de Reading, Reino Unido, las semillas se clasifican en tres categorías: ortodoxas, recalcitrantes e intermedias (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

a) Semillas ortodoxas

Estas semillas pueden ser desecadas hasta contenidos de humedad muy bajos sin sufrir daños, al menos hasta un nivel de humedad constante que se mantenga en equilibrio con una humedad relativa ambiental de 10 % (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

Su longevidad aumenta cuando disminuyen el contenido de humedad y la temperatura de almacenamiento, en una forma cuantificable y predecible (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997). Las semillas cuyo tamaño va de pequeñas a medianas, a menudo con una testa dura, con frecuencia presentan latencia y su actividad metabólica se reduce al mínimo cuando son almacenadas. Predominan en ambientes áridos y semiáridos, y son principalmente de ambientes húmedos,

también prevalecen en especies de altura de zonas templadas y tropicales, abarcando familias como Myrtaceae, Fabaceae, Pinaceae y Casuarinaceae.

b) Semillas recalcitrantes

En contraste con las semillas ortodoxas, las recalcitrantes no pueden ser desecadas por debajo de 10 % en el contenido de humedad sin causarles daño. A pesar de que existe gran variación en el contenido de humedad crítico entre las especies, abajo del cual la viabilidad se reduce, algunas especies comienzan a morir rápidamente aún en equilibrio con una humedad relativa ambiental de 98-99 %, y la mayoría de las semillas muere cuando su contenido de humedad está en equilibrio con una humedad ambiental de 30-60 %. Todavía no existe una técnica satisfactoria para mantener la viabilidad de las semillas de estas especies, en particular las de origen tropical, por arriba de un periodo corto, menor a un año (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

Entre éstas se encuentran: semillas de encinos, nogales, araucarias, avellano y bellotos, las cuales pueden ser almacenadas en húmedo por no más de un año. Otras semillas pueden ser incluso más sensibles a la pérdida de humedad, por lo que no toleran ser almacenadas más allá de unos días; por ejemplo semillas de frutos carnosos como arrayanes, lumas y murtilas (Hartmann y Kester, 1988).

Son semillas por lo general de tamaño mediano a grandes y pesadas, lo que se atribuye en parte a su alto contenido de humedad; sin latencia, y con maduración y germinación más o menos continua; y actividad metabólica normal cuando son almacenadas. Son semillas frecuentes en climas cálidos y húmedos, especialmente de selvas tropicales y manglares, algunas especies de climas templados y muy pocas de zonas secas, abarcando familias como Dipterocarpaceae, Rhizophoraceae, Meliaceae y los géneros *Artocarpus*, *Araucaria*, *Madhuca*, *Triplochiton*, *Vitellaria*, *Agathis*, *Syzygium* y *Quercus*.

c) Semillas intermedias

Una tercera categoría de comportamiento de las semillas en almacenamiento ha sido demostrada con semillas de café, palma aceitera y papaya. La principal característica de este comportamiento es cierta sensibilidad a la desecación hasta un nivel de humedad relativamente bajo de 7 a 10 % (en equilibrio con una humedad relativa ambiental de 30-50 %). Sin embargo, la longevidad de las semillas secas de origen tropical se reduce en temperaturas bajas (por debajo de 5 °C) y temperaturas bajo cero. Por ello las condiciones ideales para el almacenamiento a largo plazo de semillas ortodoxas (5 % de contenido de humedad, -18 °C) son potencialmente dañinas para las semillas intermedias, y no deben usarse con ellas porque les provoca la muerte en pocos meses.

A pesar de esto, es posible almacenar las semillas intermedias por periodos de alrededor de 10 años, desecándolas hasta 7-10 % de contenido de humedad, y manteniéndolas a temperatura de laboratorio (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

2.6.2 Almacenamiento “artificial” de semillas

Para poder almacenar semillas en condiciones artificiales, en primer lugar debe disminuirse su contenido de humedad. Para que una semilla sobreviva a la desecación a que se le somete, la pérdida de humedad debe ser lenta y a temperaturas bajas. Cambios bruscos en el contenido de humedad hacen que la membrana celular se rompa, se libere el citoplasma y produzca la muerte de la célula. Posteriormente debe almacenarse a bajas temperaturas y evitar fluctuaciones del ambiente (temperatura y humedad) en que se mantiene. De esta manera, al almacenar semillas se recomienda en primer lugar bajar el contenido de humedad lentamente hasta alcanzar un valor de 4-6 %, lo que se logra colocando las semillas en una corriente de aire de baja humedad hasta que alcancen el nivel deseado. Después se colocan las semillas en contenedores que

se cierran herméticamente, en compañía de alguna sustancia deshidratante como gel de sílice. Se guardan en refrigeradores o cuartos fríos a temperaturas constantes entre -10 y -20 °C (Vázquez-Yanes *et al.*, 1997).

2.6.3 Protocolo de almacenamiento (Hong y Ellis, 1996)

En la conservación de las semillas es importante seguir los procedimientos adecuados que permitan a corto, mediano y largo plazo el mantenimiento de la viabilidad y calidad de las semillas, de manera eficiente, que garanticen la máxima longevidad. Para determinar las condiciones de almacenamiento se deben considerar la tolerancia: a la deshidratación a bajos contenidos de humedad (10, 7.5 y 5 %) y a temperaturas bajas (10, 5,0 y -20 °C), así como realizar investigaciones sobre la sobrevivencia de las semillas en diferentes condiciones de almacenamiento (Figura 1).

2.7 Factores que influyen en el almacenamiento de las semillas

Dentro de los factores que determinan la conservación de la longevidad de las semillas en condiciones de almacenamiento se encuentran la humedad y la temperatura.

a) Humedad

El contenido de humedad de las semillas es la cantidad de agua que hay en una semilla, presente tanto en forma libre como combinada con los compuestos químicos de las células, como los carbohidratos y las proteínas (Rao *et al.*, 2007). Por lo general se expresa como un porcentaje de peso húmedo de las semillas de acuerdo con la Asociación Internacional de Analistas de Semillas (ISTA, 2005).

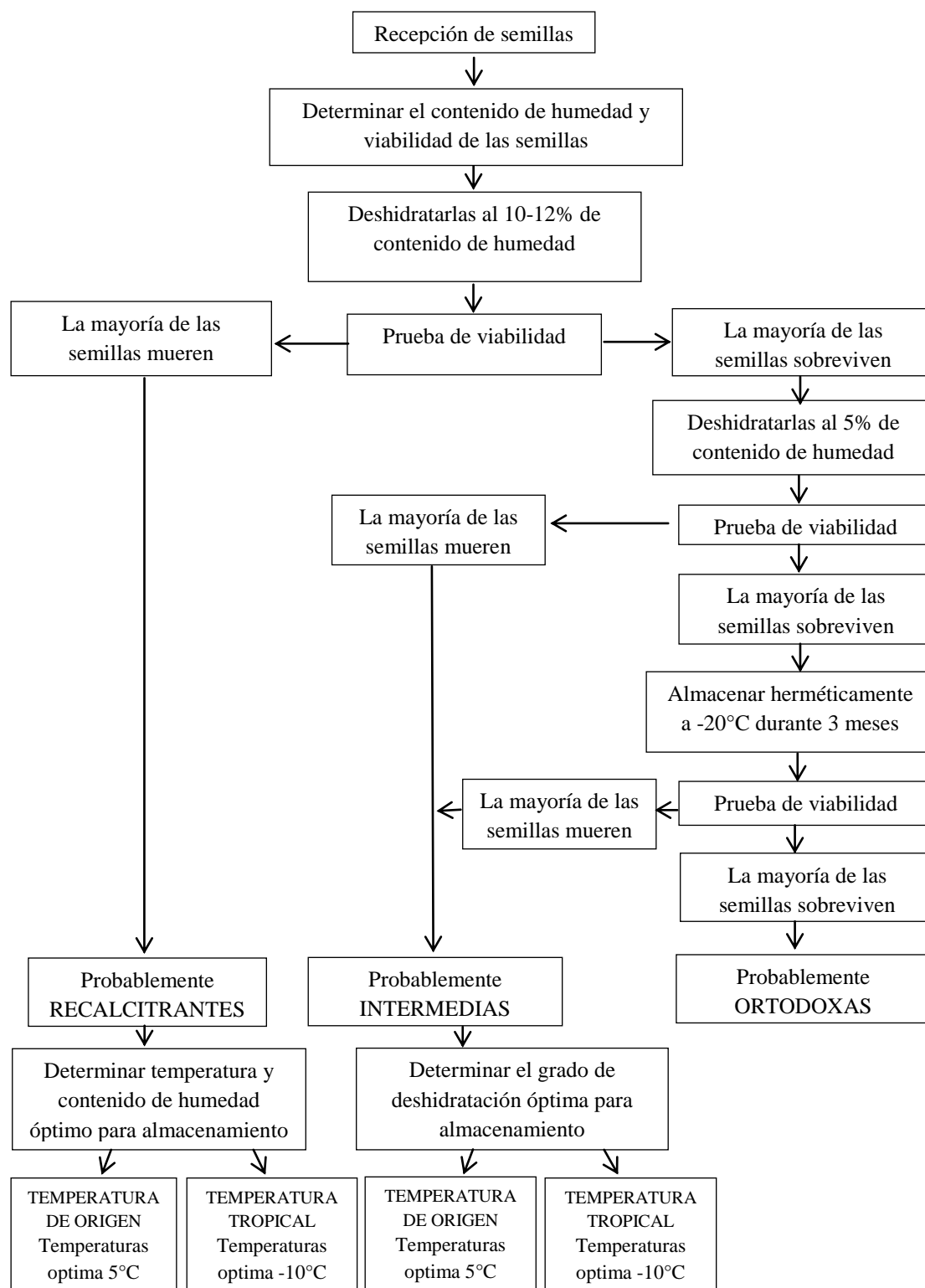


Figura 1. Protocolo de para determinar el comportamiento de semillas durante el almacenamiento (Tomado de Hong y Ellis, 1996).

El contenido de humedad es el factor más importante para determinar la velocidad a la cual las semillas se deterioran, y tiene un impacto considerable en la longevidad de las semillas almacenadas en un banco de germoplasma. Incluso pequeños cambios en el contenido de humedad tienen un gran efecto en la vida en almacenamiento. Por lo tanto es importante determinar el contenido de humedad antes de almacenar las semillas, para predecir con exactitud el potencial de vida que tendrá cada muestra (Rao *et al.*, 2007).

Las semillas sumamente sensibles a la deshidratación pueden ser dañadas por la disminución del contenido de humedad a menos del 50-60 %. Sin embargo, aún la semilla más recalcitrante puede ser secada al contenido de humedad de 12-17 % y almacenada durante varios meses (Hong y Ellis, 1996); para las semillas consideradas intermedias se utiliza alguno de los intervalos entre el ortodoxo y el recalcitrante. El porcentaje de humedad debajo del cual ocurre daño irreversible por deshidratación es denominado Límite Máximo de Decremento del Contenido de Humedad (LSMC, por sus siglas en inglés).

Asimismo se ha encontrado (Walters *et al.*, 2001) que un decremento superior del límite del contenido de humedad, en las semillas ortodoxas pueden experimentar daños indirectos tales como:

- 1) Sensibilidad al daño mecánico, debido a que el agua estructural desaparece y los embriones se hacen más frágiles.
- 2) Daño por imbibición; en particular una tasa de imbibición lenta parece potencialmente dañar a las semillas muy secas.

Siendo la deshidratación un factor importante en la conservación de las semillas, se han desarrollado técnicas que llevan a cabo este proceso; entre las que se encuentran: el uso de corrientes de aire desde 30 °C hasta >40 °C, secado con gel

de sílice, cloruro de calcio anhidro, soluciones salinas saturadas, así como el uso de deshumificadores.

Otros métodos también recomendados son el uso de refrigerador de descongelación automática, cuyo mecanismo de autodescongelación mantiene la humedad relativa baja entre 10 y 40 % y el secado a la sombra; en ambientes donde la humedad relativa es baja, menor a 40 % (Rao *et al.*, 2007).

b) Temperatura

La temperatura influye en procesos bioquímicos, de modo que el desempeño biológico óptimo radica en una cierta temperatura ambiente. En la práctica, entre más baja sea la temperatura, más despacio ocurren los procesos y así es más lento el deterioro.

Temperatura baja (entre 4 y 10 °C) inactiva la mayor parte de insectos de semilla y hongos de almacenaje. Sin embargo, temperaturas muy bajas pueden ser perjudiciales para la semilla húmeda, como en las semillas tropicales recalcitrantes; la formación de cristales de hielo en temperatura bajo cero, reduce los procesos metabólicos esenciales (Pritchard *et al.*, 2003). Para la semilla sensible a la temperatura, el principio de daño ocurre a los 20 °C aproximadamente. La alta temperatura junto con el alto contenido de humedad acelera el envejecimiento (Bewley, 1997).

c) Relación entre la humedad y la temperatura

El potencial de almacenaje está estrechamente unido a la capacidad de desarrollar y mantener una condición de mínima actividad fisiológica durante el almacenamiento. Las condiciones 'ideales' de almacenamiento son las que reducen la actividad fisiológica: generalmente baja temperatura y bajo contenido

de humedad. Es necesario entonces establecer las condiciones específicas para cada especie, en especial para las cactáceas ya que presentan lento crecimiento y alta mortalidad en las primeras etapas de vida, sobre todo en ambientes con limitada disponibilidad de humedad, como el Valle de Tehuacán, Puebla (Ruedas *et al.*, 2000).

2.7.1 Cambios en las semillas durante el almacenamiento

El deterioro de las semillas se debe principalmente a los factores ambientales que prevalecen en el almacenamiento, entre ellos, el contenido de humedad es el de mayor importancia y generalmente se asocia con un incremento en la contaminación por hongos que ocasionan cambios en el color y daños en la estructura externa e interna de las semillas (Moreno, 1996; Li *et al.*, 2003).

Los sistemas bioquímicos en la semilla (enzimas, proteínas, lípidos, membranas de mitocondria y ribosomas), son los sitios más susceptibles al envejecimiento causados por las condiciones desfavorables del almacenamiento. Los daños durante el envejecimiento, posiblemente son causados por la acción de radicales libres y productos originados por la peroxidación de los lípidos de las membranas y de las sustancias de reserva, los cuales actúan directamente durante el envejecimiento en seco o interfieren en reacciones producidas en los primeros momentos de la imbibición (Besnier, 1989; Walters *et al.*, 2010).

Las semillas pueden reparar los daños causados durante el envejecimiento, reparación que ocurre después de la imbibición, lo que produce un retraso en la germinación que se manifiesta por la pérdida de vigor. Si el daño es muy grande o las enzimas que intervienen en las acciones de reparación han resultado dañadas a su vez, la germinación no tiene lugar o la plántula muere (Rao *et al.*, 2006).

El almacenamiento inadecuado de las semillas se deriva de un incremento en la velocidad de envejecimiento de las mismas. El envejecimiento provoca deterioro que se expresa como la pérdida de vigor o viabilidad (Kibinza *et al.*, 2011). Las semillas deterioradas muestran una disminución del vigor, produciendo plántulas débiles incapaces de sobrevivir en determinado hábitat.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del sitio experimental

La investigación se realizó en el Laboratorio de Análisis de Semillas del Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Producción de Semillas, del Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados (CP), ubicado en el Estado de México a 19° 29' N y 98° 51' W, a una altura de 2250 m.s.n.m, cuyo clima es templado con lluvias en verano, el más seco de los subhúmedos, con verano fresco y largo, con temperatura media anual entre 12 y 18 °C, y oscilación anual de las temperaturas medias mensuales entre 5 y 7 °C (García, 1998).

3.2 Colectas de frutos de *Hylocereus spp* y *Stenocereus spp*

La recolección de los frutos de genotipos de pitahaya se llevó a cabo en los años de 2007 a 2010 (Cuadro 1) en un huerto experimental del Colegio de Postgraduados establecido en Tepoztlán, Morelos, México, a 18° 57' 15.5' N y 99° 03' 20.5' W, con altitud de 1541 m.

El clima del sitio es templado con verano cálido, poca oscilación térmica y se clasifica como (A)Ca(w2)(w)(i')g (García, 1988). Los meses más calurosos son de marzo a mayo, con vientos dominantes de norte a sur. La temperatura media anual es de 28 °C, con un período de lluvias de junio a octubre y precipitación anual 1384 mm (Anónimo, 1988)

Los frutos de pitaya fueron recolectados por el productor de pitaya Sadot Cruz Córdova en Joluxtla, Municipio de Cosoltepec, del Estado de Oaxaca, México, y se encuentra en las coordenadas geográficas 97.748333° W, 18.155833°N. La localidad se encuentra a una altura de 1640 m.s.n.m.

El clima del área es semi cálido subhúmedo (A(C)Wo(w)), con lluvias en verano desde junio hasta septiembre, y una precipitación pluvial anual promedio de 800 mm (Soriano *et al.*, 2011; Trejo, 2004). Las temperaturas promedio mínima y máxima del año son 4 y 40°C, respectivamente, mientras que la media anual es 19°C. La vegetación típica de la región es selva baja caducifolia, aunque también se pueden encontrar matorral xerófilo, pastizal inducido y un manchón de bosque de galería (Soriano *et al.*, 2011).

La recolección de los frutos de pitahaya y pitaya se realizó cuando el fruto se encontraba en madurez de consumo. Posteriormente se extrajo la pulpa con las semillas, la cual se lavó con agua y luego las semillas se separaron con un colador. Las semillas fueron secadas a temperatura ambiente, contadas y pesadas en una balanza analítica. La semilla se conservó en sobres de papel a temperatura ambiente por períodos que variaron de uno a cinco años (Cuadro 1)

3.3 Material genético

Se utilizaron semillas de 17 genotipos de pitahaya cosechados en diferentes años, de plantas crecidas en el huerto experimental del Proyecto “Recursos genéticos de cactáceas: conservación y uso sustentable”, perteneciente al Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética, del Colegio de Postgraduados, y 3 genotipos de pitaya cosechados en diferentes años de plantas cultivadas en Joluxtla, municipio de Cosoltepec, Oaxaca (Cuadro 1).

Cuadro 1. Genotipos de pitahaya y pitaya, origen y edad de la semilla.

Especie	Genotipo	Origen y año	Edad
Pitahaya	171X182	Tepoztlán 2007 y 2008	5-4 años
Pitahaya	178X182	Tepoztlán 2007	5 años
Pitahaya	182X178	Tepoztlán 2007	5 años
Pitahaya	168X171	Tepoztlán 2008	4 años
Pitahaya	175X182	Tepoztlán 2008	4 años
Pitahaya	182X168	Tepoztlán 2008	4 años
Pitahaya	171X178	Tepoztlán 2008	4 años
Pitahaya	175X178	Tepoztlán 2008	4 años
Pitahaya	171X168	Tepoztlán 2008	4 años
Pitahaya	146X178	Tepoztlán 2009	3 años
Pitahaya	178X146	Tepoztlán 2009	3 años
Pitahaya	CP146	Tepoztlán 2009	3 años
Pitahaya	CP182	Tepoztlán 2009 y 2010	3 -2 años
Pitahaya	CP178	Tepoztlán 2009 y 2010	3-2 años
Pitahaya	CP171	Tepoztlán 2009 y 2010	3-2 años
Pitahaya	CP175	Tepoztlán 2009 y 2010	3-2 años
Pitahaya	CP168	Tepoztlán 2010	2 años
Pitaya	San Gabriel	Joluxtla 2010 y 2012	2-1 año
Pitaya	Ceniza	Joluxtla 2010 y 2012	2 -1 año
Pitaya	Endollo	Joluxtla 2010 y 2012	2-1 año

3.4 Análisis físico de las semillas

3.4.1 Determinación del contenido de humedad

Se determinó por el método de la estufa a 130 °C por 1 hora; se usaron cajas de aluminio con tapa, dentro de las cuales se colocaron 2 g de semilla entera sin

secar de cada genotipo, y su peso seco se registró después del secado. El resultado se calculó mediante la siguiente fórmula y se reportó en porcentaje.

$$\% \text{ Humedad (con base en peso húmedo)} = \left[\frac{P2 - P1}{P2 - P3} \right] \times 100$$

En donde:

P1 = Peso de la caja y su tapa (g);

P2 = Peso de la caja, tapa y semilla (g);

P3 = Peso de la caja, tapa y semilla después del secado en la estufa (g).

3.4.2 Determinación del peso volumétrico

Para esta variable se pesaron 2.0 g de semilla cuyo volumen se determinó en una probeta graduada en mililitros. El peso volumétrico se expresó en kg hL^{-1} , y se calculó con la siguiente expresión:

$$PV = \frac{\text{peso de 2.0 g de semilla}}{\text{volumen de la semilla (mL)}} \times 100$$

En donde:

PV = Peso volumétrico.

3.4.3 Peso de 1000 semillas

Se tomaron al azar ocho repeticiones de 100 semillas de cada genotipo, y cada repetición se pesó en una balanza analítica con precisión de 0.0001 g. Con los pesos de cada genotipo se calculó la varianza, la desviación estándar y el coeficiente de variación (ISTA, 2005).

El peso de 1000 semillas se calculó a partir de ocho repeticiones mediante la siguiente fórmula (ISTA, 2005):

$$P1000S (g) = \bar{X} \times 10$$

En donde:

\bar{X} = Media del peso de 100 semillas.

3.5 Caracterización morfológica de las semillas

A partir de imágenes de semilla se midieron estas características mediante un programa digital. En cuatro repeticiones de 50 semillas por cada genotipo, cada repetición colocada en una hoja de papel, se obtuvieron sus imágenes con un escáner a color marca Epson modelo ES-1000C acoplado con una computadora de escritorio. El procesamiento de imágenes se hizo con el paquete ImageJ 1.45s (National Institute of Health, USA). Los datos obtenidos fueron: área, perímetro, longitud (eje mayor), y ancho (eje menor) (García y Estrada, 1999).

3.6 Evaluación fisiológica de las semillas

3.6.1 Prueba de germinación

De cada genotipo se tomó una muestra de 100 semillas para dividirla en cuatro repeticiones de 25 semillas. En la prueba de germinación se utilizó el método “sobre papel” en cajas tipo “sandwichera”, dentro de las cuales se colocó papel filtro como sustrato, y se utilizó una caja por genotipo. En el sustrato humedecido con agua destilada se colocaron las 25 semillas, se tapó la caja y ésta se puso en un cuarto de germinación a temperatura constante de 25 °C durante los 15 días que duró la prueba. Se efectuó un solo conteo de plántulas a los 15 días de iniciada la prueba.

Variables evaluadas

Porcentaje de germinación (PG). Se calculó con base en las plántulas que presentaron raíz, hipocótilo y epicótilo bien desarrollados, sanos y sin malformaciones, a los 15 días de iniciada la prueba.

$$PG = \frac{\text{Número de plántulas normales}}{100} \times 100$$

Longitud de plántula (LP). A una muestra al azar de cinco plántulas normales en cada repetición, se les midió la longitud en cm, del cuello de la raíz hasta el ápice de la hoja más larga.

Longitud de raíz (LR). En cinco plántulas normales tomadas al azar se midió la longitud de la raíz en cm, desde el cuello de la raíz hasta el ápice de la misma.

Peso seco de la parte aérea (PSPA). En cinco plántulas normales elegidas al azar por repetición, se pesó la parte aérea después de ser secada a 70 °C durante 72 h. El peso se determinó en gramos en una balanza analítica, y se obtuvo el promedio de las cuatro repeticiones.

Peso seco de raíz (PSR). Peso en gramos de las raíces de cinco plántulas normales, después de ser secadas a 70 °C durante 72 h. El peso se obtuvo en gramos en una balanza analítica.

3.6.2 Prueba de viabilidad con tetrazolio

Se usaron 100 semillas de cada genotipo para establecer cuatro repeticiones de 25 semillas cada una.

Las semillas se acondicionaron durante 18 h mediante remojo en agua destilada, para intensificar la respiración y facilitar los cortes de la semilla. Las semillas se cortaron longitudinalmente y se pusieron a teñir durante 12 h en una solución de cloruro de tetrazolio a 1 %.

Transcurrido el período de tinción, las semillas se sacaron de la solución, se enjuagaron con agua destilada, y con la ayuda de un microscopio estereoscópico se evaluó la viabilidad de las semillas, como se describe a continuación.

Evaluación de la prueba de tetrazolio

Como pitahaya y pitaya son especies para las que no existen protocolos en las normas del ISTA (International Seed Testing Association), la prueba se llevó a cabo con base en los patrones de tinción definidos para otras especies. Como son los cultivos agrícolas (ISTA 2003)

Semillas viables

Se clasificaron como viables todas las semillas que presentaron las siguientes características:

- 1) Embriones desarrollados, sin daño mecánico y con un color rojo intenso.
- 2) Embriones con tinción de color rojo en 50 % del tejido y 50 % de color rosa intenso.

- 3) Embriones con tinción de color rosa intenso en 75 % del tejido y 25 % de color rosa pálido.



Figura 2. Patrón de tinción de semillas viables.

Semillas no viables

Se clasificaron como semillas no viables a todas las que no presentaron coloración alguna o bien aquellas cuyaradícula o cotiledones no se tiñeron, ya que esto es indicativo de que dicha semilla no dará origen a una plántula normal, pues carecería de la raíz (ausencia de tinción en la radícula) o de la plúmula (ausencia de tinción en los cotiledones), según el caso.



Figura 3. Patrón de tinción de semillas no viables.

A la prueba de viabilidad fueron sometidos los 17 genotipos de pitahaya y 3 de pitaya. Con los resultados obtenidos en esta prueba se definió el número de genotipos que entrarían en la evaluación del vigor de la semilla mediante la prueba de envejecimiento acelerado.

3.6.3 Evaluación del vigor de la semilla con la prueba de envejecimiento acelerado

Con base en los resultados de la prueba de viabilidad con tetrazolio, se seleccionaron 4 genotipos que presentaron los porcentajes de viabilidad más altos, 1 de pitahaya y 3 de pitaya de diferente año, para ser incluidos en la prueba de vigor mediante envejecimiento acelerado (Cuadro 2).

Cuadro 2. Genotipos de pitahaya y pitaya seleccionados después de la prueba de viabilidad con tetrazolio.

Especie	Genotipo	Origen y año	Edad
Pitahaya	CP178	Tepoztlán 2009 y 2010	3- 2 años
Pitaya	San Gabriel	Joluxtla 2010 y 2012	2 -1 año
Pitaya	Ceniza	Joluxtla 2010 y 2012	2-1 año
Pitaya	Endollo	Joluxtla 2010 y /2012	2-1 año

Para esta prueba se utilizó la metodología propuesta por Dolouche y Baskin (1973), modificada por McDonald y Phaneedranath (1978), la cual consiste en mantener las semillas a una temperatura de $41\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ y 100 % de humedad relativa por 24 h. Se utilizaron cajas “sandwicheras” de plástico de 10 x 10 x 3.5 cm, a las que se les agregaron 100 mL de agua destilada, y por arriba del nivel de ésta se colocó una malla de alambre para evitar el contacto directo de las semillas con el agua. En cada caja se depositaron 100 semillas (cuatro repeticiones de 25

semillas cada una), las cajas se cerraron con su tapa y se sellaron con cinta adhesiva. Las semillas, cajas y mallas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio a 5 %. Después del período de envejecimiento de la semilla se hizo una prueba de germinación mediante el método “sobre papel” en cajas tipo “sandwichera”. Se empleó como sustrato papel filtro M-2 y se establecieron cuatro repeticiones de 25 semillas cada una. El sustrato de germinación fue humedecido inicialmente con agua destilada. La germinación se hizo en un cuarto a temperatura constante de 25 °C, durante el periodo de 15 días que duró la prueba.

Variables evaluadas

Velocidad de germinación (VG). Para medirla se realizaron conteos diarios a partir de que emergió la primera radícula (2 mm) hasta que se obtuvo un número constante de ellas.

Esta variable se calculó mediante la fórmula de Maguire (citado por Copeland y McDonald, 1995).

$$VG = \sum_{i=1}^n \left(\frac{X_i}{N_i} \right)$$

En donde:

VG = Velocidad de germinación;

X_i = Número de semillas germinadas por día;

N_i = Número de días después de la siembra.

Prueba de germinación (PG). Se calculó con base en la cantidad de plántulas que presentaron raíz, hipocótilo y epicótilo bien desarrollados, sanos y sin malformaciones, a los 6 y 15 días de iniciada la prueba.

$$PG = \frac{\text{Número de plántulas normales}}{100} \times 100$$

Longitud de plántula (LP). Se midió en cm en una muestra al azar de cinco de plántulas normales en cada repetición, del cuello de la raíz hasta el ápice de la hoja más larga.

Longitud de raíz (LR). En cinco plántulas normales tomadas al azar, se midió la longitud de la raíz en cm desde el cuello de la raíz hasta el ápice de la misma.

Peso seco de la parte aérea (PSPA). En cinco plántulas normales elegidas al azar por repetición se pesó la parte aérea, después de ser secadas a 70 °C durante 72 h. El peso se determinó en gramos en una balanza analítica, y se obtuvo el promedio de las cuatro repeticiones.

Peso seco de raíz (PSR). Peso en gramos de las raíces en cinco plántulas normales, después de ser secadas a 70 °C durante 72 h. El peso se obtuvo en gramos en una balanza analítica.

3.7 Determinación del comportamiento ortodoxo, recalcitrante o intermedio de las semillas de pitahaya y pitaya

Para esta clasificación se usó el protocolo de Hong y Ellis (1996). Se determinó el contenido de humedad y la viabilidad de las semillas en un genotipo de pitahaya

(CP 178, con semillas de 3 y 2 años de edad (CP 178, orígenes 2009 y 2010) y tres de pitaya (San Gabriel, Ceniza y Endollo, con semillas de 1 y 2 años de edad (orígenes 2010 y 2012). Luego las semillas se deshidrataron a 5 % de su contenido de humedad. El contenido de humedad se bajó con la mezcla de dos desecantes, sílica gel y activa, en relación 1:1 (p/p). El desecante se colocó en bolsas de plástico con pequeñas perforaciones, las bolsas se colocaron en frascos de vidrio, y dentro de éstos se pusieron las semillas durante un tiempo promedio de 6 h hasta obtener el contenido de humedad establecido (5 %). Enseguida se realizó la prueba de viabilidad con tetrazolio a 1.0% y en cada genotipo se obtuvo el porcentaje de semillas viables y no viables.

Una vez realizada la prueba de tetrazolio, la semilla de los cuatro genotipos se almacenó durante 3 meses, en sobres de papel de aluminio que se sellaron muy bien y fueron depositados en un ultra congelador a -20 °C.

Después de haber cumplido los 3 meses se evaluó la viabilidad de la semilla en cuatro repeticiones 25 semillas por genotipo. Adicionalmente se estableció una prueba de germinación, la cual consistió en sembrar cuatro repeticiones de 25 semillas de cada genotipo, en cajas tipo “sandwichera” y sobre sustrato de papel filtro. De acuerdo con los resultados de la prueba de viabilidad con tetrazolio y los porcentajes de germinación, se determinó si las semillas eran recalcitrantes, intermedias u ortodoxas.

Para determinar el peso de las semillas al contenido de humedad deseado (CHD), se aplicó la fórmula propuesta por Hong y Ellis (1996):

$$\text{Contenido de humedad} = \frac{100 - \text{contenido de humedad inicial}}{100 - \text{contenido de humedad final}} \times \text{peso inicial}$$

En donde:

Contenido de humedad inicial: el que se determinó al recibir las semillas.

Contenido de humedad final: el que se desea lograr.

Peso inicial: peso del lote de semillas antes de la desecación.

3.8 Análisis estadístico

Los datos de contenido de humedad de las semillas y de peso volumétrico, se capturaron en la hoja electrónica Excel 2013 (Microsoft, Inc. EE. UU.) para obtener la media y el coeficiente de variación. Para el análisis del resto de las variables se utilizó el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System). El diseño experimental que se utilizó fue bloques completamente al azar, y luego del análisis de varianza se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis físico de las semillas

4.1.1 Contenido de humedad

En estas variables de contenido de humedad y peso volumétrico (Cuadro 3), no se aplicó análisis de varianza solo se calculó la media (9.43) y el coeficiente de variación (13.86 %) del conjunto de datos, con el programa Excel. Con estos valores se detectó que hubo algunas diferencias entre genotipos, que en las especies de pitaya su contenido de humedad fue bajo, excepto para la pitaya Endollo 2012 cuyo valor fue de 8.9 %.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el contenido de humedad, se observa claramente que tres genotipos de pitaya de diferente año presentan una humedad similar, adecuada para ser almacenadas; las demás tendrían que secarse para bajarles la humedad al nivel deseado.

Al respecto, Bonner *et al.* (1994) recomiendan almacenar semillas ortodoxas con un contenido de humedad de 5 a 8 %, porque las semillas con menos de 5 % pueden tener problemas por desecación excesiva, y con más de 9 % tendrían problemas debidos a insectos y hongos. Además, un contenido elevado de humedad puede ocasionar un exceso de temperatura durante el almacenamiento debido a la respiración, o provocar que las semillas germinen.

Para semillas de *Pseudotsuga menziesii*, Young y Young (1992) consideran que se pueden almacenar con una humedad de 6 a 9 %; y según Sorensen (1999), un contenido de humedad de 8.5 % es suficiente bajo para mantener la viabilidad de la semilla de esta especie en almacenamiento.

Cuadro 3. Contenido de humedad (R= 2) y peso volumétrico (R= 1) de genotipos de pitahaya y pitaya de diferentes localidades y diferentes años.

Especie	Origen	Genotipo	Contenido de humedad (%)	Peso volumétrico (kg hL ⁻¹)
Pitahaya	Tepoztlán 2007	171X178	8.9	50.00
Pitahaya	Tepoztlán 2007	178X182	9.3	52.63
Pitahaya	Tepoztlán 2007	182X178	9.4	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2008	168X171	9.6	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2008	175X182	10.5	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2008	182X168	11.2	48.78
Pitahaya	Tepoztlán 2008	171X178	10.3	50.00
Pitahaya	Tepoztlán 2008	175X178	9.8	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2008	171X168	9.7	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2008	171X182	9.4	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP146	9.0	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP182	12.1	52.63
Pitahaya	Tepoztlán 2009	146X178	10.1	52.63
Pitahaya	Tepoztlán 2009	178X146	9.2	50.00
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP178	9.4	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP171	11.5	48.78
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP175	11.7	50.00
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP171	10.1	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP178	7.6	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP182	9.5	52.63
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP168	10.2	51.28
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP175	9.4	48.78
Pitaya	Joluxtla 2010	San Gabriel	7.4	48.78
Pitaya	Joluxtla 2010	Ceniza	7.2	52.63
Pitaya	Joluxtla 2010	Endollo	7.6	52.63
Pitaya	Joluxtla 2012	San Gabriel	7.5	50.00
Pitaya	Joluxtla 2012	Ceniza	7.8	52.63
Pitaya	Joluxtla 2012	Endollo	8.9	52.63

R2 = 2 repeticiones; R1 = 1 repetición

4.1.2 Peso volumétrico

En el peso volumétrico la media fue de 51.05 kg hL⁻¹ y su coeficiente de variación de 2.56 %. En esta variable no se aprecian diferencias notorias entre genotipos ni en especies, ni entre edades de la semilla (Cuadro 3).

Con los resultados obtenidos de peso volumétrico de la semilla, se puede deducir que las de estas especies de pitahaya y pitaya son semillas más grandes que las de *Astrophytum myriostigma*, porque según Sánchez *et al.* (2006) las semillas grande son las que presentan 3.105 mm de longitud y la pequeña 2.925 mm de longitud. Por otra parte, la semilla presenta su más alto nivel de vigor y potencial germinativo cuando alcanza la madurez fisiológica, porque es cuando obtiene el máximo peso seco por haber acumulado la máxima cantidad de reservas nutritivas y el embrión presumiblemente ha completado su desarrollo (Ohto *et al.*, 2007).

Por ello una semilla relativamente pequeña con un alto peso volumétrico, tiene igual calidad fisiológica que una semilla relativamente grande (Rodríguez *et al.*, 1998). En este estudio se encontró que las semillas de los genotipos de pitahaya tienen un promedio similar a los genotipos de pitaya, por lo que se puede concluir que no hay diferencias entre genotipos ni entre especies (Cuadro 3)

4.1.3 Peso de 1000 semillas

No hubo diferencias significativas en el peso de mil semillas entre genotipos ni entre especies ni entre edades de la semilla (Cuadro 4), cuyos promedios se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 4. Cuadros medios del análisis de varianza de peso de mil semillas de genotipos de pitahaya y pitaya.

Fuente de variación	GL	Peso de mil semillas (g)
Gen	27	0.00781
Rep	7	0.000010
Error	189	0.000019
CV (%)		2.36
R²		0.98

Significativo al 0.05; GL= grados libertad; Gen= efecto de genotipos; Rep= efecto de repeticiones; CV= coeficiente de variación; R2= coeficiente de determinación o bondad de ajuste del modelo estadístico.

Con base en estos resultados se puede señalar que ambas especies de cactáceas son iguales en la calidad física medida como peso de 1000 semillas, variable que refleja la máxima acumulación de materia seca al llegar a madurez fisiológica. Según Carballo (1992), este criterio de calidad es un elemento esencial para obtener los volúmenes adecuados de semilla aprovechable.

Por su parte, Puente y Bustamante (1991) y Randle y Honma (1981) mencionan entre otros factores que tienen efecto en la calidad de semilla, son el grado de madurez del fruto en la cosecha y el tiempo de maduración de la semilla después de cosecha.

Por lo general, los frutos se cosechan cuando se colorean completamente, ya que es cuando se obtiene semilla de buena calidad; sin embargo, la pigmentación que coincide con tal calidad puede variar con el genotipo, las condiciones agroclimáticas y el manejo del cultivo (Cuadro 5).

4.2 Caracterización morfológica de las semillas

Los análisis de varianza para estas variables (Cuadro 6) muestran que solamente para área y perímetro de la semilla hubo diferencias entre genotipos, pero no para largo y ancho de la semilla. Lo anterior indica que hay diferencias en tamaño de semilla entre genotipos, y la existencia de variabilidad en los caracteres morfológicos de semilla.

Los coeficientes de variación en estas variables morfológicas fueron de baja magnitud (< 5.1 %), lo que confiere confiabilidad a estos datos (Cuadro 6).

Cuadro 5. Comparación de medias para el peso de mil semillas cosechadas en diferentes años de genotipos de pitahaya y pitaya.

Especie	Origen y año	Genotipo	Peso de mil semillas (gr)
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP182	0.263
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP178	0.247
Pitahaya	Tepoztlán 2007	182X178	0.214
Pitaya	Joluxtla 2012	Endollo	0.214
Pitahaya	Tepoztlán 2009	146X178	0.213
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP146	0.213
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP168	0.204
Pitaya	Joluxtla 2010	Endollo	0.202
Pitaya	Joluxtla 2010	Ceniza	0.199
Pitahaya	Tepoztlán 2008	168X171	0.197
Pitahaya	Tepoztlán 2007	178X182	0.197
Pitahaya	Tepoztlán 2007	171X178	0.197
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP178	0.196
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP182	0.191
Pitaya	Joluxtla 2012	Ceniza	0.190
Pitahaya	Tepoztlán 2008	171X178	0.188
Pitahaya	Tepoztlán 2008	171X168	0.188
Pitahaya	Tepoztlán 2009	178X146	0.182
Pitahaya	Tepoztlán 2008	171X182	0.177
Pitaya	Joluxtla 2012	San Gabriel	0.169
Pitahaya	Tepoztlán 2008	175X178	0.169
Pitahaya	Tepoztlán 2008	175X182	0.165
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP175	0.158
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP171	0.150
Pitahaya	Tepoztlán 2009	CP171	0.149
Pitaya	Joluxtla 2010	San Gabriel	0.147
Pitahaya	Tepoztlán 2010	CP175	0.142
Pitahaya	Tepoztlán 2008	182X168	0.120

Cuadro 6. Cuadrados medios del análisis de varianza de cuatro caracteres morfológicos provenientes de la digitalización de imágenes de semillas de los genotipos de pitahaya y pitaya.

Fuente de variación	GL	Área (mm ²)	Perímetro (mm)	Largo (mm)	Ancho (mm)
Gen	27	2.461**	1.969**	0.262	0.200
Rep	3	0.049	0.217	0.031	0.011
Error	81	0.026	0.228	0.026	0.016
CV (%)		2.219	4.480	4.233	5.164
R²		0.968	0.743	0.769	0.802

**=Significativo al 0.05; GL=grados de libertad; Gen = efecto de genotipos; Rep = efecto de repeticiones; CV = coeficiente de variación; R² = coeficiente de determinación o bondad de ajuste del modelo estadístico.

Los promedios morfológicos (Cuadro 7) indican que en las semillas de pitahaya y pitaya el área varía de 5.7 a 8.9 mm² (una diferencia de 56 % sobre el valor más bajo), y en perímetro el rango es de 9.3 a 11.7 (26 % sobre el más bajo), lo que indica que hay más variación relativa en área que en perímetro. En general, los datos muestran que las semillas con más área tienen más perímetro, y también son más largas y más anchas, aunque en estas últimas dos dimensiones las diferencias no hayan sido estadísticamente significativas.

Dado que a simple vista la semilla de estos genotipos es muy uniforme, hubiera resultado difícil detectar a simple vista las diferencias en sus características morfológicas. La técnica que se utilizó es cuantitativa, y permitió detectar esa pequeña variación en morfología de semilla que a su vez permite caracterizar a los genotipos. Estos resultados concuerdan con lo informado por Puecher *et al.* (1996), quienes señalan que en muchas especies el color, forma, y longitud de semilla se ha utilizado para revelar importantes diferencias entre genotipos.

El tamaño de la semilla se ve influenciado por el genotipo, aunque el tamaño real también depende de su posición en la planta madre y las condiciones de manejo en su producción. En Chile serrano Zúñiga (1988) encontró una mejor calidad de semilla reflejado en una mayor germinación, peso volumétrico, velocidad de

emergencia y materia seca de plántula, en los primeros dos cortes, así como una mejor calidad del fruto. Al respecto, Montes y Martínez (1992) mencionan que en los frutos de los primeros nudos el grado de cruzamiento es bajo comparado con el que ocurre en nudos de frutos superiores, esto ayuda a tener una calidad más uniforme en las semillas cosechadas.

Cuadro 7. Comparación de medias para las variables evaluadas en el análisis de imágenes de semilla de los diferentes genotipos de pitahaya y pitaya.

Spp	Origen y año	Genotipo	Área (mm ²)	Perímetro (mm)	Largo (mm)	Ancho (mm)
Ph	Tepoztlán 2009	CP182	8.91 a	11.77 ab	4.35	2.60
Ph	Tepoztlán 2009	CP178	8.82 ab	11.62 a-c	4.27	2.60
P	Joluxtla 2012	Ceniza	8.45 bc	12.70 a	4.37	3.31
Ph	Tepoztlán 2009	CP146	8.21 cd	11.27 b-d	4.14	2.52
P	Joluxtla 2012	Endollo	8.05 c-e	10.83 b-g	3.72	2.75
Ph	Tepoztlán 2008	168X171	7.98 d-f	11.15 b-e	4.06	2.50
Ph	Tepoztlán 2010	CP168	7.96 d-g	11.04 b-f	4.00	2.53
P	Joluxtla 2010	Ceniza	7.87d-h	10.70 b-g	3.70	2.68
Ph	Tepoztlán 2007	182x178	7.86 d-h	11.01 b-f	4.04	2.47
Ph	Tepoztlán 2008	182X168	7.72 e-i	10.92 b-f	4.04	2.43
P	Joluxtla 2010	Endollo	7.66 e-i	10.49 b-h	3.63	2.67
Ph	Tepoztlán 2008	171X178	7.53 f-i	10.73 b-g	3.86	2.46
Ph	Tepoztlán 2007	178x182	7.52 g-i	10.70 b-g	3.85	2.48
Ph	Tepoztlán 2007	171X182	7.52 g-i	10.88 b-g	3.87	2.53
Ph	Tepoztlán 2009	178X146	7.44 h-j	10.69 b-g	3.96	2.38
Ph	Tepoztlán 2009	146X178	7.42 h-j	10.61 b-h	3.90	2.42
Ph	Tepoztlán 2010	CP178	7.34 i-k	10.57 b-h	3.87	2.41
Ph	Tepoztlán 2008	171X168	7.32i-k	10.62 b-h	3.82	2.43
Ph	Tepoztlán 2010	CP182	7.03 j-l	10.40 b-h	3.84	2.32
Ph	Tepoztlán 2008	171X182	6.96 k-m	10.29 d-h	3.72	2.37
Ph	Tepoztlán 2008	175X178	6.66 l-n	10.03 d-h	3.61	2.33
Ph	Tepoztlán 2009	CP175	6.64 l-n	10.05 d-h	3.66	2.30
Ph	Tepoztlán 2008	175X182	6.56 mn	9.97 d-h	3.58	2.33
P	Joluxtla 2012	San Gabriel	6.52 n	11.24 b-d	3.95	2.79
Ph	Tepoztlán 2010	CP171	6.41 n	9.89 e-h	3.62	2.25
P	Joluxtla 2010	San Gabriel	6.36 n	9.60 gh	3.35	2.41
Ph	Tepoztlán 2009	CP 171	6.33 n	9.79 f-h	3.57	2.25
Ph	Tepoztlán 2010	CP175	5.75 n	9.37 h	3.44	2.12

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.005).

Spp= Especie, Ph= Pitahaya, y P=Pitaya.

La clasificación por tamaño es el proceso mediante el cual se consigue una cierta uniformidad en el tamaño de los granos, dentro de un lote de semillas (FAO, 1985). Cuando se utilizan semillas grandes por lo general se da un incremento en los porcentajes de emergencia, se producen plántulas de mayor tamaño y se aumenta el rendimiento final de los cultivos de corto periodo vegetativo. Dentro de un cultivo la gama de tamaños de semilla se debe a la variación de la planta como consecuencia de diferencias genéticas, la competencia entre plantas por luz, agua, nutrientes y la incidencia de enfermedades. El tamaño de la semilla también varía por la inflorescencia, que refleja las diferencias en épocas de floración y la nutrición de las semillas en desarrollo (Wood *et al.*, 1977). El tamaño de semilla también se debe considerar en su conservación en bancos de germoplasma (Cuadro 7).

4.3 Evaluación fisiológica de las semillas

La calidad fisiológica de la semilla solo se evaluó en 1 genotipo de pitahaya con semilla de dos edades, CP 178 2010 y CP 178 2009, y 3 genotipos de pitaya con semilla de edad variable: Endollo 2010 y 2012, Ceniza 2012, y San Gabriel 2010 y 2012, que tenían más del 50 % de germinación.

4.3.1 Prueba de germinación

Los resultados obtenidos muestran que solamente en las variables de viabilidad, porcentaje de germinación, longitud de la parte aérea y peso seco de la parte aérea hubo diferencias significativas entre genotipos, pero no para velocidad de germinación, longitud de raíz y peso seco de raíz, que no fueron significativos (Cuadro 8). Para las variables de viabilidad y porcentaje de germinación también hubo diferencias entre repeticiones, pero de muy baja magnitud (< de 1 % con respecto a los cuadrados medios del factor genotipos).

Cuadro 8. Cuadrados medios de análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de germinación de un genotipo de pitahaya y tres de pitaya de diferente edad.

FV	GL	V A R I A B L E S						
		VI (%)	PG (%)	VG (días)	LPA (cm)	LR (cm)	PSPA (mg)	PSR (mg)
Gen	7	343.6**	409.1**	0.206	14.69**	0.168	7.878**	0.006
Rep	3	2.125**	3.125**	0.012	0.003	0.010	0.002	0.0001
Error	21	5.934	7.505	0.010	0.006	0.007	0.004	0.0001
CV (%)		2.88	3.23	4.73	1.783	6.054	1.646	3.378
R²		0.95	0.94	0.86	0.99	0.87	0.99	0.92

**=Significativo al 0.05

VI= viabilidad; PG= porcentaje de germinación; VG= velocidad de germinación; LPA= longitud de la parte aérea; LR= longitud de raíz; PSPA= peso seco de parte aérea; PSR= peso seco de raíz.

Las medias de las características fisiológicas de las semillas de pitahaya y pitaya (Cuadro 9) indican que los genotipos de pitaya tienen los mayores porcentajes de viabilidad y de germinación que los genotipos de pitahaya. En cambio, en la longitud de la parte aérea es mayor en pitahaya comparado con pitaya, y por lo mismo la pitahaya tiene mayor peso seco en la parte aérea.

Estos datos además indican que también existen diferencias significativas entre genotipos de cada especie, así como efecto de la edad de la semilla en la germinación, ya que la calidad de las semillas disminuye con el transcurso del tiempo a una tasa de deterioro que depende de las condiciones ambientales durante el almacenamiento y el tiempo en que estas permanecen almacenadas. Para las variables de velocidad de germinación y longitud de raíz no se hubo diferencias significativas. Estos resultados son similares a los de Ruedas *et al.* (2000) quienes mencionan que los porcentajes de germinación en *Mammillaria magnimamma* fueron de 95 % cuando las semillas tenían un mes de edad, porcentaje que se redujo a 91.3 % cuando las semillas tenían un año de edad.

Tanto la viabilidad y porcentaje de germinación son afectadas por la edad de la semilla en la pitahaya CP 178, ya que sus orígenes 2009 y 2010 dieron los porcentajes más bajos de 67.5 y 75.5 % de germinación. Estos resultados son similares a los reportados por Ayala *et al.* (2004) quienes en semillas de 4 años de edad de *Stenocereus beneckeii* encontraron una germinación de 75 %.

En la variable velocidad de germinación (VG) no se presentaron diferencias entre genotipos de una especie pero sí entre especies, ya que la pitahaya CP 178 de los años 2009 y 2010 presentaron los valores más bajos de 1.87 en ambos años (Cuadro 9). Por lo tanto, se puede decir que la VG está influenciada por la especie y la edad de la semilla. Según Sánchez (2006), la velocidad de germinación se ve afectada por el tamaño de la semilla ya que en *Astrophytum myriostigma* reportaron 1.7 semillas/día en semilla grande y 3.8 semillas/día en semilla chica; estos autores clasificaron la semilla grande de 3.105 mm de largo, y a la pequeña de 2.925 mm de largo.

Cuadro 9. Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de germinación de un genotipo de pitahaya y tres de pitaya de diferente edad.

Especie/año	Gen	VI (%)	PG (%)	VG (día)	LPA (cm)	LR (cm)	PSPA (mg)	PSR (mg)
Pitaya 2012	Endollo	97 a	97.5 a	2.37	3.2 d	1.75	3.37 cd	0.34c
Pitaya 2012	Ceniza	92 ab	95.0 ab	2.25	3.5 b	1.75	3.55 b	0.40a
Pitaya 2010	Ceniza	89 bc	91.0 bc	2.40	3.4 bc	1.60	3.47 bc	0.37b
Pitaya 2012	Sn. Gab.	86 cd	87.5 cd	2.30	3.3 cd	1.55	3.17 e	0.34c
Pitaya 2010	Endollo	85 cd	84.0 ed	2.37	3.2 d	1.50	3.22 de	0.33c
Pitaya 2010	Sn. Gab.	82 cd	80.0 ef	2.00	3.1 d	1.45	3.07 e	0.34c
Pitahaya 2010	CP178	75 d	75.5 f	1.87	7.5 a	1.20	6.37 a	0.42a
Pitahaya 2009	CP178	68 e	67.5 g	1.87	7.3 a	1.15	6.27 a	0.42a

Gen= Genotipo, VI= viabilidad; PG= porcentaje de germinación; VG= velocidad de germinación; LPA= longitud de la parte aérea; LR= longitud de raíz; PSPA= peso seco de parte aérea; PSR= peso seco de raíz, Sn. Gab.= San Gabriel.

Para las variables de longitud y peso seco de la parte aérea (LPA y PSPA), los genotipos de pitahaya CP178 2009 y 2010 tuvieron los valores más altos de la parte aérea, aunque tuvieron también los menores PG. En cambio, en las variables de tamaño de raíz (LR y PSR) no hubo diferencias. En pitaya se detectaron diferencias entre los genotipos. Se puede concluir entonces que existen diferencias entre especies y entre genotipos. De todo lo anterior se puede mencionar que las especies de pitahaya y pitaya tienen un buen comportamiento germinativo y que sus semillas pueden ser almacenadas en bancos de semilla, y que el contenido de agua es el único factor que podría deteriorar la germinación de las semillas de ambas especies.

4.4 Prueba de vigor con envejecimiento acelerado

Los resultados obtenidos de los análisis de varianza muestran que solamente las variables de porcentaje de germinación, longitud de la parte aérea y peso seco de la parte aérea presentan diferencias significativas (Cuadro 10).

La germinación de las semillas envejecidas durante 24 horas (Cuadro 11) fue menor que la observada en semillas sin envejecer (Cuadro 9), lo cual es evidencia del efecto adverso del deterioro sobre dicho proceso. Se ha establecido que los lotes de semillas que presenten germinación superior a 80 % después del envejecimiento acelerado, podrían ser clasificados como de alto vigor, entre 60 y 80 % como de vigor medio, y menores de 60 % como de bajo vigor (Tekrony, 1995).

Cuadro 10. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de vigor con envejecimiento acelerado en genotipos de pitahaya y pitaya.

V A R I A B L E S							
Fuente de variación	GL	VG (días)	PG (%)	LPA (cm)	LR (cm)	PSPA (mg)	PSR (mg)
Gen	7	0.2998	881.410**	17.0328**	0.2053	9.694**	0.0027
Rep	3	0.0187	16.458	0.0128	0.053	0.0136	0.00001
Error	21	0.0092	6.839	0.0070	0.0107	0.0136	0.00005
C.V (%)		3.97	3.360	2.19	9.20	3.37	2.66
R²		0.91	0.97	0.99	0.87	0.99	0.94

**=Significativo al 0.05; VG= velocidad de germinación; PG= porcentaje de germinación; LPA= longitud de la parte aérea;

LR= longitud de raíz; PSPA= peso seco de parte aérea; PSR= peso seco de raíz.

A pesar del deterioro causado por el envejecimiento acelerado, los resultados obtenidos en germinación se pueden considerar aceptables, con excepción de la pitahaya CP 178, ya que sus dos orígenes (2009 y 2010) presentaron los porcentajes más bajos de germinación con 49 y 68 %. En contraste, los genotipos de pitaya estuvieron por encima de 72 % de germinación (Cuadro 11).

Los genotipos de pitahaya CP 178, 2010 y CP 178, 2009 mostraron mayor LPA con valores de 7.20 y 7.10 cm, respectivamente. También acumularon mayor PSPA con valores de 6.02 y 5.85 mg, en comparación con pitaya. Con lo que respecta a LR no se presentaron diferencias significativas entre genotipos ni entre especies. El crecimiento inicial de las plántulas fue afectado por el envejecimiento acelerado, ya que todas las variables asociadas con dicho proceso, tanto en LPA, LR, PSPA y PSR, fueron disminuidas (Cuadro 11) comparado con semillas sin envejecer (Cuadro 9). Estos datos indican que el deterioro de la semilla tuvo un efecto más severo en la capacidad de la plántula para acumular materia seca, que en el alargamiento de la misma. Como consecuencia de lo anterior, el peso seco total de la plántula también es notablemente reducido por el deterioro.

Si se tiene en cuenta que el crecimiento inicial de la plántula depende de las sustancias acumuladas en el tejido de reserva (Leopold y Kriedemann, 1975), los datos anteriores permiten inferir que el deterioro afecta la capacidad metabólica de la semilla para transformar y transferir las reservas contenidas en el endospermo.

En cualquier caso, los resultados indican que el deterioro de las semillas a causa del envejecimiento natural o inducido, es un factor determinante para la germinación y establecimiento de un cultivo.

Estudios realizados por Delouche y Baskin (1973) enfocados a los efectos de la calidad de la semilla sobre varias fases del desarrollo y la producción de plantas de soya provenientes de semillas sometidas a envejecimiento acelerado, mostraron que el deterioro afecta variables como la germinación, la población inicial, la altura de la planta, el área foliar, la acumulación de materia seca y la productividad.

Méndez y Vergara (2003) obtuvieron resultados similares en laboratorio, ya que encontraron reducción en la cantidad de biomasa de la planta, disminución del potencial germinativo de la semilla, disminución en la altura de las plantas y en la longitud de raíces en maíz después de 24 y 48 h de envejecimiento artificial, y reafirman la idea de que plantas con mayores contenidos de materia seca son más vigorosas dado que aportan más al llenado de las diferentes estructuras de la planta durante su desarrollo.

En el presente trabajo se observó que el envejecimiento acelerado artificial afectó severamente al genotipo de pitahaya CP 178 (orígenes 2009 y 2010) ya que ambos orígenes tendieron a reducir el porcentaje de germinación con un valor de

49 y 68 %, comparado con semillas sin envejecer cuyos valores fueron de 67.5 y 75.5 %. Con respecto a estos resultados podemos mencionar que el envejecimiento acelerado tuvo un efecto marcado en semilla de pitahaya con edad de 2 y 3 años.

Cuadro 11. Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de envejecimiento acelerado en un genotipo de pitahaya y tres de pitaya de diferente edad.

especie/año	Gen	VG (días)	PG (%)	LPA (cm)	LR (cm)	PSPA (mg)	PSR (mg)
Pitaya 2010	Endollo	2.77	79 b	2.35 d	1.30	2.25 d	0.27
Pitaya 2010	Ceniza	2.70	85 b	3.15 b	1.27	3.07 b	0.28
Pitaya 2012	Endollo	2.70	94.5 a	2.42 d	1.32	2.32 d	0.27
Pitaya 2010	Sn. Gab.	2.42	72.5 c	2.65 c	0.92	2.65 c	0.23
Pitaya 2012	Ceniza	2.32	93.5 a	3.15 b	1.42	3.07 b	0.32
Pitahaya 2010	CP178	2.15	68 c	7.20 a	1.0	6.02 a	0.27
Pitahaya 2009	CP178	2.15	49 c	7.10 a	0.95	5.85 a	0.26
Pitaya 2012	Sn. Gab.	2.12	81 b	2.70 c	1.82	2.47 cd	0.25

Medias seguidas de igual letra en la vertical no difieren significativamente al 0.005 de probabilidad (Tukey).

VG= velocidad de germinación; PG= porcentaje de germinación; LPA= longitud de la parte aérea; LR= longitud de raíz; PSPA= peso seco de parte aérea; PSR= peso seco de raíz.

4.5 Determinación del comportamiento de las semillas durante el almacenamiento

El efecto del deterioro, evaluado mediante el protocolo de Hong y Ellis (1996), fue significativo para las variables de VI, PG, LPA y PSPA (Cuadro 12).

Cuadro 12. Cuadrados medios del análisis de varianza para las variables evaluadas en la prueba de germinación de los genotipos de pitahaya y pitaya, después de haber almacenado la semilla durante tres meses a -20 °C.

V A R I A B L E S								
Fuente de variación	GL	VI (%)	PG (%)	VG (días)	LPA (cm)	LR (cm)	PSPA (mg)	PSR (mg)
Gen	7	424.3**	506.6**	0.23	16.375**	0.149	9.002**	0.005
Rep	3	2.53	3.125	0.002	0.0137	0.0112	0.001	0.00006
Error	21	3.24	3.410	0.005	0.0108	0.0117	0.021	0.00004
C.V (%)		2.20	2.253	3.235	2.638	8.451	3.93	2.545
R²		0.97	0.98	0.93	0.99	0.81	0.99	0.97

**=Significativo al 0.05; GL; grados de libertad; VI= viabilidad; PG= porcentaje de germinación; VG= velocidad de germinación; LPA= longitud de la parte aérea; LR= longitud de raíz; PSPA= peso seco de parte aérea; PSR= peso seco de raíz.

Las semillas de pitaya deshidratadas a 5 % y almacenadas durante tres meses a una temperatura de -20 °C no fueron afectadas por dicho almacenamiento, ya que la viabilidad y el porcentaje de germinación son superiores a 82.5 %. Los genotipos de pitahaya que presentaron valores bajos de 62.7 y 72.5 %, los resultados se atribuyen al efecto de la edad de la semilla (Cuadro 13). Dado que la germinación de las semillas almacenadas durante tres meses a -20 °C fue similar a la de semillas almacenadas en condiciones naturales, se infiere que el almacenamiento en frío no afectó la calidad de la semilla en términos de germinación.

Para el caso de la longitud las plántulas (LPA), los genotipos pitahaya CP178, 2010 y CP178, 2009 son los que más sobresalen, y por ello también acumularon más PSPA (Cuadro 13). Mientras que el genotipo pitaya Endollo, 2010 que tuvo la menor LPA con un valor de 2.4 cm, también presentó el menor PSPA con un valor de 2.62 mg. Con respecto a la variable LR, los genotipos que sobresalieron son pitaya Ceniza, 2010 y Ceniza, 2012 con valores de 1.52, 1.50 cm, mientras que los

genotipos CP178, 2009 y San Gabriel, 2012 son las de menor LR con valores de 1.10 y 1.04 cm. En la variable PSR, los genotipos Ceniza 2012 y Endollo 2012 son los que más sobresalen con valores de 0.34 y 0.31 mg, mientras que San Gabriel, 2010 es la de menor valor con 0.24 mg. Entonces se puede afirmar que existe diferencia significativa entre especies y entre genotipos.

Cuadro 13. Comparación de medias de las variables evaluadas en la prueba de germinación de un genotipo de pitahaya y tres de pitaya de diferente edad, después de ser almacenada la semilla durante tres meses a -20 °C.

especie/año	Gen	VI (%)	PG (%)	VG (días)	LPA (cm)	LR (cm)	PSPA (mg)	PSR (mg)
Pitaya 2012	Ceniza	93.5 a	94.5 a	2.25	3.1 b	1.52	3.20 b	0.34
Pitaya 2012	Endollo	93.5 a	95 a	2.37	2.7 cd	1.47	2.72 c	0.31
Pitaya 2010	Ceniza	85.4 b	87 b	2.37	3.0 b	1.50	3.20b	0.24
Pitaya 2010	Endollo	82.5 bc	84 b	2.75	2.4 d	1.27	2.62 c	0.25
Pitaya 2012	Sn. Gab.	82.5 bc	85 b	2.07	3.0 b	1.05	3.17 b	0.25
Pitaya 2010	Sn. Gab.	79.5 c	76.5 c	2.20	2.7 c	1.20	2.70 c	0.24
Pitahaya 2010	CP178	72.5 d	70.5 d	2.05	7.3 a	1.12	6.15 a	0.28
Pitahaya 2009	CP178	62.75 e	63 e	2.02	7.1 a	1.10	6.12 a	0.28

VI= viabilidad; PG= porcentaje de germinación; VG= velocidad de germinación; LPA= longitud de la parte aérea; LR= longitud de raíz; PSPA= peso seco de parte aérea; PSR= peso seco de raíz, San Gab= San Gabriel.

De acuerdo con los datos obtenidos en esta prueba con semillas de *Hylocereus* spp y *Stenocereus* spp, la deshidratación a 5 % del contenido de humedad no tuvo efecto sobre la viabilidad. Según Azcón-Bieto y Talón (2000), algunas semillas pueden presentar tolerancia a la desecación, lo cual queda de manifiesto en la conservación de la viabilidad. Los resultados de la germinación en las semillas almacenadas a -20 °C indicaron que la deshidratación y la temperatura de -20 °C no afectaron significativamente la germinación de las semillas. Por el contrario, se observó un incremento en su germinación atribuido a la eliminación de la presencia de latencia, ya que de acuerdo con Moreno (1996) muchas semillas

requieren ser sometidas a temperaturas bajas para romperla; o también se puede eliminar gradualmente mediante tratamientos como escarificación mecánica o química, exposición a luz o a la fluctuación de temperatura, que vuelven permeable a la cubierta. Al parecer en las semillas de *Hylocereus* spp y *Stenocereus* spp deshidratadas y luego almacenadas a -20 °C ocurrió una reducción de inhibidores de la germinación, lo que actuó en favor del proceso.

Por otra parte, la longevidad de las semillas almacenadas se puede prolongar si son deshidratadas a un contenido de humedad bajo, según las indicaciones del IPGRI que recomienda que sean deshidratadas a 5 + 2 % de humedad antes de ser almacenadas a temperatura de hasta -18 °C (Cubero, 1990).

Los resultados demuestran que los genotipos de pitahaya y pitaya respondieron de forma similar a la deshidratación y almacenamiento a temperatura de -20 °C.

V. CONCLUSIONES

La edad de la semilla tuvo efecto en la viabilidad y germinación de los genotipos de pitahaya y pitaya, ya que la semilla de pitahaya CP178 de 3 años tuvo menor viabilidad que la de 2 años (2009 vs. 2010), con valores de 68 y 75 %, respectivamente. En germinación también hubo efecto, pues los porcentajes fueron de 67.5 y 75.5 % para esas edades.

En pitaya también hubo esos efectos, ya que las semillas de 2 años de Endollo y Ceniza 2010 tuvieron una viabilidad menor (85 y 89 %, respectivamente) que las de 1 año (92 y 97 %), y las tasas de germinación de semilla de 2 años fueron de 84 y 91 %, menores a los de semillas de 1 año (97.5 y 95 %). Los genotipos de *Hylocereus* spp y *Stenocereus* spp estudiados tienen semillas ortodoxas.

VI. BIBLIOGRAFIA

- Álvarez G, C. Montaña (1997)** Germinación y supervivencia de cinco especies de Cactáceas del Valle de Tehuacán: implicaciones para su conservación. Act. Bot. Mex.40:43-58.
- Álvarez L G (2007)** Producción, Comercio y Certificación de Semillas en México. Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. Primera Edición Mc editores. pp: 1-44.
- Ana D L L (2001)** Evaluación de la calidad de las semillas. New Zealand Seed Technology Institute - P O Box 84 Lincoln University Canterbury - New Zealand. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml>. Consultado el 10 de septiembre de 2013.
- Anónimo (1988)** Enciclopedia: los municipios del estado de Morelos. Ed. CNEM de la Secretaria de Gobernación. México, D.F. 137 p.
- Ashton P S (1987)**. Biological considerations in *in-situ* versus *ex-situ* plant conservation. En: Botanic Gardens and the World Conservation Strategy. Bramwell, D., Hamann, O., Heywood, V.H., Syngé, H., eds. Academic Press, London, pp. 117-130.
- Ayala C G, T Terrazas, M L López, C Trejo (2004)** Variación en el tamaño y peso de la semilla y su relación con la germinación en una población de *Stenocereus beneckeii*. Interciencia 29: 692-697.
- Azcón B, T Manuel (2000)** Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mc Graw – Hill S.A.de C.V. 522 p
- Aziz F A, M M Noor (2010)** Ethanol extract of dragon fruit and its effects on sperm quality and histology of the testes in mice. Biomedical Research 21 (2): 126-130.

- Benítez R J L, S A Orozco, A M Rojas (2004)** Light effect on seed germination of four *Mammillaria* species from the Tehuacán- Cuicatlán Valley, central Mexico. Southwest. Nat. 49: 11-17.
- Besnier R F (1989)** Semillas, Biología y Tecnología. Mundi-Prensa. Madrid, España. 637 p.
- Bewley D J (1997)** Seed germination and dormancy. The Plant Cell 9:1055-1066.
- Bishaw Z, A A Niane, Y Gan (2007)** Quality seed production. In: Lentil: An ancient Crop for Modern Times. Yadav, S.S., Meneil, D. and Stevenson, P.C. (eds). Springer Verlag. pp: 349-383.
- Bonner F T, J A Vozzo, W W Elam, S B Land (1994)** Tree Seed Technology Training Course. Instructors Manual. USDA, Forest Service New Orleans, Louisiana. 160 p.
- Bonner F T, J A Vozzo, W W Elam, S B Land (1994)** Tree Seed Technology Training Course. Instructors Manual. USDA, Forest Service New Orleans, Louisiana. 160 p.
- Bradford K, H Nonogaki (2007)** Seed development, dormancy and germination. Annual plant review. Vol. 27. Editorial Blackwell publishing LTD. Oxford, uk. 392 p.
- Bravo H (1978)** Las Cactáceas de México. Vol. I. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 743 p.
- Bravo H H, L Scheinvar (1995)** El interesante mundo de las Cactáceas. CONACYT y Fondo de Cultura Económica. México D.F.
- Bravo H H, M H Sánchez (1991)** Las cactáceas de México. 3ª. Ed. Vol. I y 3. UNAM, México. 643 p.
- Bustamante G L (1983)** Semillas: control y evaluación de su calidad. In: Memorias del curso de actualización sobre tecnología de semillas. UAAAN-AMSAC, Saltillo, Coahuila. México. pp: 99-106.

- Cáliz de D H (2005)** A new subspecies of *Hylocereus undatus* (Cactaceae) from southeastern México. *Haseltonia* 11: 11-17.
- Carballo C A (1992)** La calidad genética y su importancia en la producción de semillas. *In*: Mendoza, O. L.; Favela, C. E.; Cano, R. P. y Esparza, M. J. H. 1992. Situación actual de la producción, investigación y comercio de semillas en México. Memoria tercer Simposium, Torreón Coah., México. 80-101 pp.
- Casas A (2002)** Uso y manejo de cactaceas columnares mesoamericanas CONABIO. *Biodiversitas* 40:18-23.
- Castillo M R, H C de Dios, A C Rodríguez (1996)** Guía técnica para el cultivo de pitahaya. CONACYT, Universidad de Quintana Roo, INIFAP, Universidad Autónoma. Chapingo, México. 158 p.
- Castillo M R, M M Livera, F Brechu, E Alicia (2003)** Compatibilidad sexual entre dos tipos de *Hylocereus* (Cactaceae). *Revista biología tropical*. 51:3-4.
- Castillo M R, M M Livera, G G Márquez (2005)** Morphological characterization and sexual compatibility of five pitahayas (*Hylocereus undatus*) genotypes. *En*: *Agrociencia* 39:183-194.
- CIAT (1980)** Semilla de frijol de Buena calidad. 2^{da} edición. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 37 p.
- Conway W (1988)** Can technology aid species preservation? *En*: Wilson E O (Ed) *Biodiversity*, pp. 263-268. National Academy Press. Washington DC.
- Copeland L O (1976)** Principles of seed science and technology. Burgess Publishing Company. Minnesota, U.S.A. 369 p.
- Copeland L O, M B McDonald (2004)** Seed vigor and vigor testing. *In*: Principles of Seed Science and Technology. 4th. Ed. Kluwer Academic Publisher. USA. pp: 165-185.

- Copeland L O, MB McDonald (2001)** Principles of seed science and technology. 4th edition. Norwell, Massachusetts: Kluwer Academic Publishers. USA. 467 p.
- Corona N V, V M Chávez (1982)** Cultivo de cactáceas en medios asépticos. *Cact. Suc. Mex.* 27:17-22.
- Cubero J I (1990)** Técnicas de conservación de recursos genéticos vegetales de interés económico con riesgo de extinción. En: Proceeding of the International Conference on Conservation Techniques in Botanic Gardens. Koeltz Scientific Books D-6240, Koenigstein/Germany. pp. 17-26.
- Cuevas C (1996)** Análisis de la calidad física de semillas forestales. *In*: Primer Seminario Nacional sobre Mejoramiento Genético y Semillas Forestales. Memoria. Mesen, F., Rodríguez, Y., y Sánchez, A; (ed). Centro. Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).Turrialba, Costa Rica. 60p.
- Del Castillo R F (1986)**Semillas, germinación y establecimiento de *Ferocactus histrix*. *Cact.Suc. Mex.* 3:5-10.
- Delouche C J (2002)**Germinación, deterioro y vigor de semillas. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml>. Consultado el 09 de septiembre de 2013.
- Delouche, C C Baskin (1973)** Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci y Technol.* 1:427-452.
- Dornbos Jr D L (1995)** Seed vigour. *In*: Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications. A. S. Basra (ed.). Food products Press. New York, U.S.A. pp: 45-80.
- Douglas J E, E Monsalve (1982)** Programas de semillas. Guía de planeación y manejo. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 357 p.

- Dussert S, N Chabrillange, F Anthony, F Engelmann, C Recalt, S Hamon (1997).** Viability in storage response within a coffee (*coffea* spp.) core collection under slow grow conditions. *Plant Cell Reports* 16:344-348.
- Edwards R L, F J Sundstrom (1987)** Afterripening and harvesting effects on Tabasco pepper seed germination performance. *Hortscience*. 22:473-475.
- Ellis R H, T D Hong, E H Roberts (1990a)** An intermediate category of seed behaviour? 1. Coffee. *Journal of Experimental Botany* 41, 1167-1174.
- Ellis R H, U R Sinniah, P John (1993)** Irrigation and seed quality development in rapid-cycling Brassica. In: M. Black, K.J. Bradford, J.Vazquez-Ramos (eds). *Seed biology: Advances and applications*. pp:113-121.
- Espinosa O H, M Engelman (1998)** Breve recopilación de anatomía de semillas. Colegio de Postgraduados. 100 p.
- Fahn A (1978)** Anatomía Vegetal. H. Blume Ediciones, Madrid, España. 228 p.
- Falk D. (1989).** The Theory of Integrated Conservation Strategies for Biological Diversity. En: *Proceedings of the Natural Areas Association*. Syracuse, NY, 6-9 June 1988. Nat. Areas Assoc., Rockford, Illinois, pp. 5-10.
- FAO (1985)** Procesamiento de semillas de cereales y leguminosas de grano, directrices técnicas. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 173 p.
- Fenner M (2000)** *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. 2^a edition. CAB International. Oxon, UK. 410 p.
- Filho M J (2002)** Probando el vigor de las semillas. *Seednews* 6: pp. 8-9.
- Flores J, E Arredondo (2005)** Comparative seed germination in species of *Turbinicarpus*: An endangered cacti genus. *Nat. Áreas J.* 25: 183-187.
- Franco M (1997)** "Legislación y Conservación". En *Suculentas Mexicanas: Cactáceas*. Conabio. México, D. F. pp.101-111.

- García E (1998)** Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen. 4^a edición. Ed. Instituto de Geografía, UNAM. México. D.F.132 p.
- García D S G, G J A Estrada (1999)** Caracterización de frijol de la variedad Bayomex mediante descriptores agronómicos y análisis de imágenes de morfología de semillas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 22 (1): 63-74.
- Gillman M. (1997)**. Plant Population Ecology. En: *Plant Genetic Conservation. The In Situ Approach*. Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., Hawkes, J.G., ed. Chapman & Hall, London, pp. 114-131.
- Godínez H (1991)** Propagación de Cactáceas por semilla: una experiencia para su cultivo y conservación. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de México.
- Gold K, M Way (2004)** Seed conservation of the Latinoamerican flora an international opportunity. La conservación de semillas de la flora latinoamericana una oportunidad internacional. *Royal Botanic Gardens. Lyonia*. 6.1:19-24.
- Graur D, R I Wen-Hsiung (2000)**. *Fundamentals of Molecular Evolution*. Sinauer Associates Inc. USA. 481 p.
- Gunasena H P, D K Pushpakumara, M Kariyawasam (2007)** Dragon fruit *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose. In: *Underutilized fruit trees in Sri Lanka*. World Agroforestry Centre South Asia Office, New Delhi, India.
- Guzmán A D (2007)** Catálogo de Cactáceas Mexicanas. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional Para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Primera reimpresión. pp: 57-58.
- Hampton J G (2002)** What is Seed Quality? *Seed Sci. and Tecnology*. 30:1-10.
- Hartmann H, D Kester (1988)** Propagación de plantas: principios y prácticas. México D.F. Compañía Editorial Continental. 760 p.

- Herrera R D (2001)** Germinación de *Escontria chiotilla* (Weber) Rose y *Myrtillocactus geometrizans* (Bravo) Backeberg en diferentes suelos y niveles de humedad. Tesis de Licenciatura. F.E.S. Iztacala. U.N.A.M. México. 58 p.
- Hong T D, R H Ellis (1996)** A protocol to determine seed storage behaviour. International Plant Genetic Resources Institute (IPGR), Rome, Italy. 62 p.
- Hong T D, R H Ellis (1996)** A protocol to determine seed storage behaviour. International Plant Genetic Resources Institute (IPGR), Rome, Italy. 62 p.
- Hummer K.E. (1999)**. Biotechnology in Plant Germplasm Acquisition. En: Plant Conservation Biotechnology. Benson, E. (ed.). Taylor & Francis, London, pp. 25-39.
- Iriondo J. M. (1996)**. The survey and modelling of small plant populations as a basis for developing conservation strategies. *Bocconea* 5, 151-157.
- ISTA (2003)** Working sheets on Tetrazolium Testing,(ed) By N Leist, S Kramer. Agricultural, Vegetables and horticultural Species. Vol I y II.
- ISTA (2005)** International Seed Testing Association International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. 243 p.
- Jara N L F (1997)** Secado, procesamiento y almacenamiento de semillas forestales. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. 135 p.
- Kibinza S, J Bazin, C Bailly, J M Farrant, F Corbineau, H El-Maarovf-Bouteau (2011)** Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Science* 181. pp. 309-315.
- Le Bellec F, F Vaillant, E Imbert (2006)** Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. *Fruits* 61: 237-250.
- Legaria J, M Alvarado, R Hernández (2005)** Diversidad genética en Pitahaya (*Hylocereus undatus* Haworth, Britton y Ross). En: *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28.3:179-185.

- Leopold A C, P E Kriedemann (1975)** Plant growth and development. McGraw Hill Inc., New York.
- Li C D, R C M Lance, H. M., Collins, A., Tarr, S., Roumeliotis, S., Harasymow, M., Cakir, G. P., Fox, C. R., Grime, S., Broughton, K. J., Young, H., Raman, A. R Barr, D B Moody, B J Read, (2003)** Quantitative trait loci controlling kernel discoloration in barley (*Hordeum vulgare* L.). Australian journal of agricultural research 54. pp. 1251-1259.
- Livera M M, V P Ramírez, G F Castillo, L A Muratalla, H Y D Ortiz (2000)** Los recursos fitogenéticos en perspectiva. En: Recursos fitogenéticos de México para la alimentación y la agricultura. Informe Nacional. SOMEFI-SAGAR-SNICS, pp. 116-130.
- Livera M M, V P Ramírez, G F Castillo, L A Muratalla, H Y D Ortiz (2000)** Los recursos fitogenéticos en perspectiva. En: Recursos fitogenéticos de México para la alimentación y la agricultura. Informe Nacional. SOMEFI-SAGAR-SNICS, pp. 116--130, México.
- Livera M M, Y D O Hernández, R C Martínez, F C González, R M Chávez, J J R Delgadillo, A J V Botín, J A C Salazar (2010)** Pitahaya (*Hylocereus* spp.): problemas, logros y perspectivas. En: S C Izquierdo, A M Lúa, A T K Yamakake. (comps.). La investigación al servicio del campo mexicano. Ed. Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética. Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. Montecillo, Edo de México. pp: 69-71.
- Maria L L (2002)** Mediciones de humedad. En línea: <http://www.seednews.infi.br/espanhol/arquivo.shtml>. Consultado el 09 de septiembre de 2013.
- Martín A (2002)** Los marcadores genéticos en la Mejora Vegetal. En: Genómica y Mejora Vegetal. Nuez, F.; Carrillo, J.M.; Lozano, R. (Eds). Mundi-Prensa. Sevilla. pp. 37-64.

- Martínez C M L, J M C Cabrera, A Carmona, H G Varela (2006)** Promoción de la germinación de *Stenocereus griseus* (Haworth) Buxbaum y *Escontria chiotilla* (Weber) Rose. *Cactáceas y suculentas mexicanas*. 51.4:111-121.
- Martínez C R, M M Livera, J A S Carrillo, Y D H Ortiz, G G Alcantar, J C Valdez (2011)** Relaciones entre Genotipo, Productividad y Calidad de Fruto en Pitahaya (*Hylocereus* spp) Montecillo, Texcoco, Estado de México. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados.
- Marzalina M, B Krishnapillay (1999)** Recalcitrant Seed Biotechnology. Applications to Rain Forest Conservation. En: *Plant Conservation Biotechnology*. Benson, E. (ed). Taylor y Francis, London. pp: 265-276.
- Matthews S (1980)** controlled deterioration; a new vigour test for crops seeds. In: P. D. Hebblethwaite (eds). *Seed Production*. London; Butterworths. pp. 467-660.
- Mc Comb J A (1985)** Micropropagation of the rare species *Stylidium coroniforme* and other *Stylidium* species. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 4: 151-158.
- Mc Neely, J A, K R Miller, W V Reid, R A Mittermeierl, T B Werner (1990)** *Conserving the World Biological Diversity*. IUCN, WRI, CI, WWF-US, the World Bank, Gland, Suiza.
- McDonald M B, Y F Kwong (2005)** *Flower seeds: biology and technology*. CAB International. London, UK. 372 p.
- McDonald M B Jr, N R Phaneedranath(1978)** A modified accelerated ageing test for soybean. *Seed Technology* 3 (1):27-37.
- McNeely J A, K R Miller, W V Reid, R A Mittermeier, T B Werner (1990)** *Conserving the World Biological Diversity*. IUCN, WRI, CI, WWF-US, the World Bank, Gland, Suiza, 193p.
- Méndez N J, M Vergara (2003)** Deterioro de la calidad de la semilla de tres híbridos de maíz (*Zea maíz* L) en función de diferentes periodos de

almacenamiento en cámara de envejecimiento acelerado. Escuela de Ingeniería Agronómica, Departamento de Agronomía, Maturin.

Menges E (1986) Predicting the future of rare plant populations: demographic monitoring and modeling. *Natural Areas Journal* 6, 13-25.

Mercado B A, S A Granados (1999) La pitaya (Tribu *Pachycereae*): biología, ecología fisiología, sistemática, etnobotánica. 1ra. Ed. Universidad Autónoma Chapingo México. 194 p.

Montes C F, C J Martínez (1992) Prácticas culturales relacionadas con la producción de semilla de chile. In: Mendoza, O. L.; Favela, C. E.; Cano, R. P. y Esparza, M. J. H. 1992. Situación actual de la producción, investigación y comercio de semillas en México. Memoria tercer Simposium, Torreón, Coahuila, México. pp: 80-101.

Moreno M E (1996) Análisis Físico y Biológico de Semillas Agrícolas. Tercera Ed. Instituto de Biología, UNAM. México. 393 p.

Moreno M E, M E Vázquez, A Rivera, R Navarrete, F Esquivel (1988) Effect of seed shape and size on germination of corn (*Zea mays* L.) stored under adverse conditions. *Seed Sci. Technol.* 26:439-448.

Nerd A T, N Mizrahi Y (2002) Fruits of vine and columnar cacti. In *Cacti: biology and uses*. Berkeley and Los Angeles, California: University of California Press. pp: 185-198.

Nerd A, N Tel-Zur, Y Mizrahi (2002) Fruits of vine and columnar cacti. In: Nobel, P.S., ed. *Cacti: biology and uses*. UCLA Press, Los Angeles, USA. p. 185-197.

Nerd A, Y Sitrit, R Avtar K, Y Mizrahi (2002) High summer temperatures inhibit flowering in vine pitaya crops (*Hylocereus* spp.). *Scientia Horticulturae* 96:343-350.

Ohto A A, S L Stone, J J Harada (2007) Genetic control of seed development and seed mass. In: *Seed, Development, and Germination*, Bradford K. and Nonogaky. *Annual Plant Reviews*. 27. 27: 1-17.

- Ortiz (1999)** CO₂ assimilation by pitaya *Hylocereus undatus* under field conditions. En: Agrociencia. 33.2:165-169.
- Ortiz H Y D (2000)** Hacia el conocimiento y conservación de la pitahaya (*Hylocereus* spp.). Ed. IPN-SIBEJ-CONACYT-FMCN. Oaxaca, México. 124 p.
- Ortiz H Y D, M M Livera (1999a)** La pitahaya (*Hylocereus* spp.) en la Agrodiversidad. In. Uriel *et al.* (ed.). Agrodiversidad Campesina. México. pp: 205-209.
- Ortiz H Y D, M M Livera (1999b)** Manual sobre la propagación de la pitahaya (*Hylocereus* spp.). SIBEJ-CONACYT-FMCN-IPN. Oaxaca. México. 35 p.
- Ortiz H Y D, M M Livera (2000)** Manual para la propagación de la pitahaya (*Hylocereus* spp.) ccdir-Oaxaca, Instituto Politécnico Nacional, México. 36 p.
- Ortiz Y D H, M M Livera, J A S Carrillo, B A J valencia, M R Castillo (2012)** Agronomical, physiological and cultural contributions of pitahaya (*Hylocereus* spp.) in México. Israel Journal of Plant Sciences 60 (3): 359-370.
- Ospina M J E (2002)** Características Físico Mecánicas y Análisis de Calidad de Granos. Unidad de Publicaciones de la Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia. Bogota, Colombia. 230 p.
- Pence, V (1999)** The Application of Biotechnology for the Conservation of Endangered Plants En: Benson E. (Ed). Plant Conservation Biotechnology. Taylor y Francis. London pp. 227-250.
- Pereira C N, F C Franca-Nieto, A A Henning (2002)** Nueva metodología para la prueba de tetrazolio en soya. Seed News 6:10-11.
- Perry D A (1983)** El concepto de vigor de la semilla y su relevancia con respecto a las técnicas de producción de semilla In: Producción Moderna de Semillas.

Hebblethwaite, P. D; (ed). Tomo II. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay. pp: 693-702.

Popinigis F (1977) Fisiología da semente. Brasilia. 2ª Ed. 289 p.

Poulsen M K (2000) Técnicas para la germinación de semillas forestales. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Proyectos de Semillas Forestales. Turrialba, Costa Rica. 54 p.

Pritchard H W, J B Dickie (2003) Predicting seed longevity: the use and abuse of seed viability equations. In Smith, R. D. Dickie, J. B. Linington, S. L., Pritchard, H. W. and Probert, R. J. (Eds.). Seed conservation: turning science into practice. Kew: Royal Botanic Gardens, Kew. pp: 653-722.

Puecher D I, M A Ibanez, M A Di Renzo (1996) Classification and diversity values of seventeen cultivars of *Eragrostis curvula* (L). Seed Sci. y Technol. 24:139-149.

Puente P C, G L Bustamante (1991) Efecto del estado de madurez y postmaduración del fruto de chile (*Capsicum annum* L.) sobre la calidad de su semilla. Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A. C. IV Congreso Nacional.

Puente P C, G L Bustamante (1991) Efecto del estado de madurez y postmaduración del fruto de chile (*Capsicum annum* L.) sobre la calidad de su semilla. Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A. C. IV Congreso Nacional.

Quagliotti L, M Antonucci, S L Lantiere (1981) Effects of postharvest ripening of the seeds within the Berry in two varieties of peppers (*Capsicum annum* L.) Riv. Ortoflororo frutticoltura 65(4)249-256.

Randle W M, S Honma (1981) Dormancy in peppers. Scientia Hort. 14: 19-25

Rao K N, J Hanson, E M Dulloo, K Ghosh, D Nowell, M Laringe (2007) Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales para bancos de germoplasma No. 8. Bioversity international, Roma, Italia.165 p.

- Rao R G S, P M Singh, M Rai (2006)** Storability of onion seeds and effects of packaging and storage conditions on viability and vigour. *Scientia Horticulturae* 110. pp. 1-6.
- Rasyad A, D A Van Sanford, D M Tekrony (1990)** Changes in seed viability and vigour during wheat seed maturation. *Seed science and technology* 18:259-267.
- Raveh E, J Weiss, A Nerd, Mizrahi (1993)** Pitayas (Genus *Hylocereus*): a new fruit crop for the Negev Desert of Israel, Proceedings of the Second National Symposium, John Wiley and Sons, Nueva York. pp. 491-495.
- Rebollar A A, P J Romero, H P Cruz, C H Zepeda (1998)** El cultivo de la pitaya (*Stenocereus spp.*), una alternativa para el trópico seco del estado de Michoacán. Universidad Autónoma de Chapingo; Centro Regional Universitario Centro Occidente. 71 p.
- Rebollar A A, J P Romero, P H Cruz, H C Zepeda (1997)** el cultivo de Pitaya (*Stenocereus spp.*), una alternativa para el trópico seco del estado de Michoacán. UACH-Centro Regional Universitario Centro-Occidente. Chapingo, México. 71 p.
- REID W V, K R Miller (1989)** Keeping Options Alive. The Scientific Basis for Conserving Biodiversity. World Resources Institute, Washington, 128 p.
- Rodríguez C A (2000)** Pitahaya: estado mundial de su cultivo y comercialización. Maxcanú, Yucatán, México: Fundación Yucatán Produce, A.C., Universidad Autónoma de Chapingo. 153 p.
- Rodriguez R, F Narvaez, H Williams (1998)** Calidad de la semilla de líneas e híbridos de sorgo sometidos a intemperismo. *Agron. Mesoam.* 9:45-50.
- Ruedas M, T Valverde, S A Castillo (2000)** Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mammillaria magnimamma* (*Cactaceae*) bajo diferentes

condiciones ambientales. Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana. 66: 25-35.

Salisbury F B, C Ross (1994) Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamericana. México, D.F. 159 p

Salisbury F B, C Ross (2000) Fisiología de plantas 3. Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental. Paraninfo, España. 765 p.

Sánchez H (2004) Manual tecnológico del maíz criollo duro y de buenas prácticas agrícolas para el valle de Huaura. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Lima, Perú. 139 p.

Sánchez S J, J Flores, E G Martínez (2006) Efecto del tamaño de semilla en la germinación de *Astrophytum myriostigma*. Interciencia.31.5:371-37.

Schemske D W, B C husband, M H ruckelshaus, C Goodwillie, I M Parker, J G Bishop (1994) Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants. Ecology 75, 584-606.

Sorensen F C (1999) Effect of dry storage on germination rate of seed of coastal Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb). Franco var. *menziesii*). Seed Science and Technology 27:91-99.

Soriano R, I Arias, O Bonilla, J Haro (2011) Programa de desarrollo comunitario agropecuario y ambiental participativo en una comunidad Mixteca: Cosolotepec, Oaxaca. Desarrollo, Ambiente y Cultura 1:4-12.

ISTA (2005) International Rules for Seed Testing. Published by The International Seed Testing Association. P.O BOX 308, 3803 Bassersdorf, CH-Switzerland. 243 p.

Sweedman L, D Merrit (2006) Australian seed: A guide to their collection, identification, and biology. CSiro Publishing. Australia. 272 p.

- Tekrony D M (1995)** Accelerated ageing. Accelerated ageing. In: Congress of the international seed testing association 24 p.
- Trejo I (2004)** Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México - Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza-World Wildlife Fund. Ciudad de México, México.pp: 67-8.
- Vázquez Y C, S A Orozco, A M Rojas, C M Sánchez (1997)** La reproducción de las plantas: semillas y meristemos. Fondo Cultura Económica. México, D.F. 167 p.
- Walters C, D Ballesteros, V A Vertucci (2010)** Structural mechanics of seed deterioration: Standing the test of time. Plant Science. 565-573.179p.
- Walters C, N W Pammenter, P Berjak, J Crane (2001)** Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. Seed Science Research. 11: 135-148.
- Wood D W, P C Longden, R K Scott (1977)** Seed size variation; its extent, source and significance in field crops. Seed Science and Technology 5: 337- 352.
- Yoldi M (2000)** Producciony comercialización de pitahayas en México. Claridades Agropecuarias. 14:10-44.
- Young J M, Ch G Young (1992)** Seeds of Woody Plants in North America. Dioscorides Press. Portland, Oregon. 407 p.
- Zúñiga S A (1988)** Efecto de diferentes niveles de fertilización en la producción de fruto y semilla de chile serrano (*Capsicum annuum* L). Tesis. FAUANL. Marín, N. L. México.88 p.