



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN BOTÁNICA

**FENOLOGÍA REPRODUCTIVA DE
Hechtia perotensis,
ALMACENAMIENTO,
ACONDICIONAMIENTO Y
SECADO DE SEMILLAS**

VIOLETA ELIZALDE CASTILLO

TESIS
PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2018

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y
DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Violeta Elizalde Castillo, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor José Rodolfo García Nava, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis FENOLOGIA REPRODUCTIVA DE Hechtia perotensis ALMACENAMIENTO, ACONDICIONAMIENTO Y SECADO DE SEMILLAS

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 30 de julio de 2018



Firma del
Alumno (a)


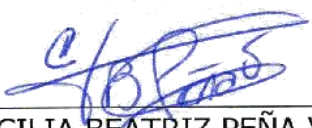

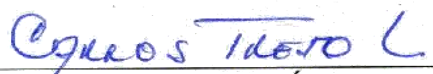


José Rodolfo García Nava

Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada: **Fenología reproductiva de *Hechtia perotensis*, almacenamiento, acondicionamiento y secado de semillas** realizada por la alumna: **Violeta Elizalde Castillo** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
BOTÁNICA
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO	 _____
	DR. JOSÉ RODOLFO GARCÍA NAVA
ASESORA	 _____
	DRA. CECILIA BEATRIZ PEÑA VALDIVIA
ASESORA	 _____
	DRA. Ma. CARMEN YBARRA MONCADA
ASESOR	_____
	DR. OTTO RAÚL LEYVA OVALLE
ASESOR	 _____
	DR. CARLOS TREJO LÓPEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, agosto 2018

**FENOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *Hechtia perotensis*, ALMACENAMIENTO,
ACONDICIONAMIENTO Y SECADO DE SEMILLAS**

Violeta Elizalde Castillo, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2018

RESUMEN

Los objetivos de la investigación fueron: 1) estudiar la fase reproductiva de *H. perotensis* en las localidades Frijol Colorado, Veracruz y Tepeyahualco, Puebla, 2) evaluar la calidad de las semillas en tres secciones de la infrutescencia *ex situ* e *in situ* y el efecto del almacenamiento, acondicionamiento y secado en la germinación de las semillas. Las hipótesis fueron: 1) la fase reproductiva de las plantas son similares en las dos localidades, 2) La calidad física y fisiológica es máxima en un lapso determinado después de la polinización, 3) el almacenamiento, acondicionamiento y secado disminuyen la germinación de semillas de *H. perotensis*. La fenología reproductiva se documentó y se describió. Un diseño de medidas repetidas se utilizó para evaluar germinación, contenido de humedad, peso de semillas y semillas sin germinar (con y sin embrión) durante la madurez en cuatro fechas. Se realizaron comparaciones múltiples con el modelo lineal general ($\alpha = 0.05$). El desarrollo de la fase reproductiva de *H. perotensis* fue similar en ambas localidades, la calidad de las semillas en plantas *ex situ* fue similar que las semillas maduras *in situ*, las semillas alcanzan la madurez fisiológica *in situ* a los 87 d después de la floración, el contenido de humedad $< 20\%$ en las semillas de *H. perotensis* favorece su germinación. El almacenamiento y el secado no afectaron la germinación de semillas de *H. perotensis*.

Palabras clave: fase reproductiva, calidad, germinación, almacenamiento, secado.

**REPRODUCTIVE PHENOLOGY OF *Hechtia perotensis*, STORAGE, CONDITIONING
AND DRYING OF SEEDS**

Violeta Elizalde Castillo, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2018

ABSTRACT

The research objectives were: 1) to investigate the reproductive phase of *H. perotensis* in the localities of Frijol Colorado, Veracruz and Tepeyahualco, Puebla, 2) evaluate seeds quality on three sections of the *ex situ* and *in situ* peduncle and the effect of storage, conditioning and drying on germination of the seeds. The hypotheses were: 1) the reproductive phase of the plants are similar to the localities, 2) physical and physiological quality is maximum in a determined period after the pollination, 3) the storage, conditioning and drying decreased seeds germination of *H. perotensis*. Reproductive phenology was documented and described. A design of repeated measures was use to evaluate: germination, moisture content, weight of seeds and ungerminated seeds (with and without embryo) during maturity in four dates. Multiple comparisons were made with the general linear model ($\alpha = 0.05$). The development of the reproductive phase of *H. perotensis* was similar in both locations, the quality of the seeds of *ex situ* plants is the same as the seeds mature *in situ*, seeds reach physiological maturity in situ at 87 days after flowering, the moisture content < 20 % in the seeds of *H. perotensis* favours its germination. Storage and drying does not affect the germination of *H. perotensis* seeds

Keywords: reproductive phase, quality, germination, storage, drying.

DEDICATORIAS

A dios por guiarme, cuidarme, por las pruebas que han generado en mí un gran aprendizaje y por todas las bendiciones que he recibido.

A mis padres: María Teodula Castillo Rodríguez y Joel Elizalde Miranda, por estar ahí en cada tropiezo y en cada acierto de mi vida, todo lo que soy se los debo a ustedes. Con su ejemplo de esfuerzo, trabajo, rectitud, perseverancia, etc. me han guiado e impulsado a alcanzar mis metas. Este es nuestro logro.

A mi hermana y compañera de vida, mi cómplice de aventuras y desilusiones. Azucena Elizalde Castillo gracias por todas las lecciones y experiencias compartidas. Sin ti mi vida no sería la misma.

A mi esposo José Timoteo Vergara González, gracias por aparecer en mi vida, por el amor y el respeto que me has dado incondicionalmente y por compartir tu camino conmigo, por tu apoyo y paciencia. Te amo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca proporcionada para mis estudios doctorales; por la enorme contribución en la formación académica de miles de mexicanos y su constante promoción a la ciencia.

Al Colegio de Postgraduados, especialmente al Campus Montecillo, por acogerme durante estos cuatro años, a sus instalaciones y a los profesores que ayudaron a mi formación académica.

A mi consejero, el Dr. José Rodolfo García Nava, por su apoyo, orientación, paciencia por su trato amable y por creer en mí y en mi trabajo, durante estos cuatro años.

A mi consejo particular: Dr. J. Rodolfo García Nava, Dra. Cecilia B. Peña Valdivia, Dr. Carlos Trejo López, Dra. Ma. Carmen Ybarra Moncada y Dr. Otto Raúl Leyva Ovalle, por su tiempo, apoyo, críticas, comentarios y sugerencias en los viajes de estudio, en trabajo experimental y en la escritura de esta tesis y artículos, por su colaboración, paciencia y correcciones que hicieron posible concluir esta tesis y artículo.

Al Dr. Héctor Manuel Ortega Escobar por su apoyo, compañía e invaluable conocimiento proporcionado durante los viajes de estudio. Al M.C. Gerardo Torres Cantú por su apoyo en el primer viaje de muestreo y a Carlos Patricio Illescas Riquelme por su apoyo con la identificación de polinizadores de *H. perotensis*. Al Dr. David Midmore por su compañía en los viajes de estudio y su apoyo en la edición del primer artículo.

Al Postgrado de Botánica: Cori, Cande, Carla, Janet, Mari por apoyarme con trámites administrativos y demás; Anita, Doña Susana, Doña Lety, José Luis, Benito y todas las personas que me ayudaron en la etapa experimental.

A mis compañeros del Colegio de Postgraduados: Betza, Celerino, Erasmo, Azucena, Mine.

A mis amigos: Consuelo, María Concepción, Jael, David, Celia y otros más que compartieron esta etapa de mi vida con migo. Gracias

CONTENIDO

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
DEDICATORIAS	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
CONTENIDO.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 LITERATURA CITADA.....	5
CAPÍTULO I. FENOLOGÍA REPRODUCTIVA DE <i>Hechtia perotensis</i>	9
1.1 Resumen.....	9
1.2 Introducción	10
1.3 Materiales y Métodos.....	12
1.3.1 Fenología reproductiva.....	12
1.3.2 Componentes de la inflorescencia o infrutescencia y la calidad de las semillas.....	14
1.3.3 Calidad de semillas.....	15
1.3.4 Diseño experimental.....	16
1.4 Resultados	17
1.4.1 Datos climatológicos en cada localidad de recolecta.....	17

1.4.2 Datos climatológicos de la estación “La Noria” de INIFAP.....	19
1.4.3 Antesis y polinización en la localidad de Frijol Colorado y la Laguna de Alchichica	20
1.4.4 Desarrollo de cápsulas en la localidad de Frijol Colorado y Tepeyahualco	22
1.4.5 Componentes de la inflorescencia o infrutescencia ex situ.....	24
1.4.6 Calidad de semillas ex situ	27
1.4.7 Datos climatológicos de la Estación Agrometeorológica del Colegio de Postgraduados campus Montecillo	28
1.5 Discusión.....	29
1.6 Conclusiones.....	31
1.7 Agradecimientos	31
2.8 Referencias.....	31
CAPÍTULO II. CALIDAD FÍSICA Y FISIOLÓGICA DE LAS SEMILLAS DE <i>Hechtia</i> <i>perotensis</i> DURANTE LA MADUREZ.....	35
2.1 Resumen.....	35
2.2 Introducción	36
2.3 Materiales y Métodos	39
2.3.1 Localidades de recolecta	39
2.3.2 Selección de plantas	40
2.3.3 Muestreo de cápsulas	40
2.3.4 Limpieza y almacenamiento de semillas.....	41

2.3.5	Calidad de semillas.....	41
2.3.6	Peso de semilla.....	42
2.3.7	Humedad de semillas	42
2.3.8	Germinación.....	42
2.3.9	Semillas sin germinar	43
2.3.10	Diseño experimental.....	43
2.4	Resultados	44
2.4.1	Germinación, humedad y peso de semillas	44
2.4.2	Semillas sin germinar	46
2.4.3	Germinación, humedad y peso de semillas	46
2.4.4	Semillas sin germinar	49
2.5	Discusión.....	49
2.6	Conclusiones	53
2.7	Referencias.....	53
CAPÍTULO III. EFECTO DEL ALMACENAMIENTO, ACONDICIONAMIENTO Y SECADO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE <i>Hechtia perotensis</i> DE DOS LOCALIDADES EN MÉXICO.....		59
3.1	Resumen.....	59
3.2	Introducción	60
3.3	Materiales y Métodos	63

3.3.1 Localidades de recolecta	63
3.3.2 Contenido de humedad.....	65
3.3.3 Germinación	66
3.3.4 Diseño experimental.....	66
3.4 Resultados	67
3.4.1 Experimento I. almacenamiento.....	67
3.4.2 Experimento II. Acondicionamiento de semillas almacenadas 18 meses	68
3.4.3 Experimento III. Acondicionamiento de semillas recién cosechadas de la localidad Frijol Colorado	69
3.4.4 Experimento IV. Acondicionamiento de semillas recién cosechadas de la localidad Tepeyahualco	69
3.4.5 Experimento V. Secado.....	71
3.5 Discusión.....	72
3.6 Conclusión.....	74
3.7 Referencias	75
5. CONCLUSIONES GENERALES.....	80

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1. Temperatura máxima, mínima, promedio mensual (triángulos, cuadrados y puntos) promedio general (°C) (línea continua) y humedad relativa promedio mensual (%) (barras), en las localidades de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz (a) y Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla (b)..... 18
- Figura 1.2. Humedad relativa promedio mensual (barras), temperatura máxima, mínima, promedio mensual (triángulos, cuadrados y puntos) promedio general (línea continua) de enero (mes 1) a diciembre (mes 12) de la de la estación “La Noria” de INIFAP en Puebla. 20
- Figura 1.3. Polinizadores de *H. perotensis*: Díptero de la familia Sirfidae (a), Lepidoptera de la familia Nymphalidae (b), Coleopteros de la familia Lycidae (c), *Apis mellifera* (d)..... 21
- Figura 1.4. Inflorescencia de planta masculina (a, ai) e inflorescencia de planta femenina (b) de *H. perotensis* en anthesis..... 21
- Figura 1.5. Cápsulas de *H. perotensis* con desarrollo distinto. Flor femenina recién polinizada (a)/ corte longitudinal (ai)/ corte transversal (aii); cápsula 30 DDF (b)/ corte longitudinal (bi)/ corte transversal (bii); cápsula 60 DDF (c)/ corte longitudinal (ci)/ corte transversal (cii)..... 23
- Figura 1.6. Fotografías de la región apical del escapo floral en distintas etapas y plantas de *H. perotensis* en junio 2017. 24
- Figura 1.7. Número de cápsulas y flores de la sección apical (■) centro (■) y base (■) de las infrutescencias e inflorescencias de *H. perotensis*, de la localidad de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz (a, c) y Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla (b, d)..... 25
- Figura 1.8. Germinación, humedad, peso de semillas, semillas sin germinar con y sin embrión de la planta de *H. perotensis* de la localidad de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y de Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Cada grupo de tres columnas representa a la

infrutescencia y sus diferentes secciones: apical (■), centro (■) y base (■). Las letras sobre las columnas representan el efecto de cada sección de la inflorescencia.	27
Figura 1.9. Humedad relativa promedio mensual (barras), temperatura máxima, mínima, promedio mensual (triángulos, cuadrados y puntos) promedio general (línea) de enero (mes 1) a diciembre (mes 12) de la de la estación agrometeorológica del Colegio de Postgraduados campus Montecillo.	28
Figura 2.1. Cápsulas de <i>H. perotensis</i> : (A) cápsula inmadura color verde (julio 2016); (B) cápsula madura color castaño (agosto y noviembre 2016).	41
Figura 2.2. Semillas de <i>H. perotensis</i> : (A) con embrión y con presencia de hongos; (B) sin embrión y sin presencia de hongos	43
Figura 2.3. <i>H. perotensis</i> : germinación, humedad, peso de semillas, semillas sin germinar con y sin embrión de la planta de la planta A (a, b, c, d, e) de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y B (f, g, h, i, j) de Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla. Cada columna representa el promedio de cuatro repeticiones, con 15 semillas cada una. Cada grupo de tres columnas representa a la infrutescencia y sus diferentes secciones: apical (■), centro (■) y base (■). Las letras sobre las columnas representan el efecto del tiempo (DDF) en cada sección de la inflorescencia.	45
Figura 2.4. <i>H. perotensis</i> : germinación, humedad, peso de semillas, semillas sin germinar con embrión y sin embrión de la planta C (a, b, c, d, e) de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y D (f, g, h, i, j) Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una. Cada grupo de tres columnas representa a la infrutescencia y sus diferentes secciones: apical (■), centro (■) y base (■). Las letras sobre las columnas representan el efecto del tiempo (DDF) en cada sección de la inflorescencia.	48
Figura 3.1. Germinación de semillas de <i>H. perotensis</i> de la localidad Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz sin almacenamiento (0 meses) y almacenadas (18	

meses) a 25 ± 1 °C) y 50 % HR. Planta uno (■) y planta dos (□). Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del almacenamiento en las semillas de cada infrutescencia. 67

Figura 3.2. Germinación y contenido de humedad de semillas de *H. perotensis* de la localidad Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz. Planta uno (■) y planta dos (□); almacenadas (18 meses) a 25 ± 1 °C y 50 % HR y posterior al acondicionamiento a 100 % HR a 30 °C durante 0, 24 y 48 h. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del almacenamiento en cada infrutescencia. 68

Figura 3.3. Germinación y contenido de humedad de semillas de *H. perotensis* recién cosechadas de la localidad de Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz, sin acondicionamiento (0) y acondicionadas durante 0, 24, 48, 72 y 120. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del almacenamiento en las semillas de cada infrutescencia. 69

Figura 3.4. Germinación y contenido de humedad de semillas de *H. perotensis* recién cosechadas de la localidad Tepeyahualco Laguna de Alchichica, Puebla, con acondicionamiento a 100 % HR y 30 °C durante 0, 24, 48, 72 y 120 h. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del almacenamiento en las semillas de cada infrutescencia. 70

Figura 3.5. Germinación y humedad de semillas de *H. perotensis* de las localidades Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz (■) y de Tepeyahualco Laguna de Alchichica, Puebla (□), al inicio y después del secado a 50 °C durante 10 d. Cada columna representa el promedio de cuatro repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del secado en las semillas de cada infrutescencia. 71

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las plantas son parte de la diversidad biológica del mundo y un recurso esencial para el planeta. Miles de plantas silvestres tienen importancia económica y cultural, proporcionando alimentos, medicinas, combustible, ropa y abrigo para los seres humanos en todo el mundo. Las plantas también mantienen el equilibrio ambiental de la Tierra y la estabilidad de los ecosistemas. Proporcionando un hábitat para los animales del mundo y la vida de los insectos (CDB, 2009).

La inseguridad alimentaria y los impactos negativos del cambio climático han aumentado la necesidad de conservar la diversidad que se encuentra en los parientes silvestres de cultivos (Tanksley y McCouch 1997; Maxted y Kell 2009; Maxted *et al.*, 2012; FAO, 2015). Esta prioridad se encuentra en el Plan Estratégico de Diversidad Biológica, que establece que para 2020, se habrán desarrollado e implementado estrategias para disminuir la erosión genética y salvaguardar la diversidad genética de plantas cultivadas, parientes silvestres y especies socioeconómicas y culturalmente valiosas.

También se encuentra en el Tratado Internacional sobre Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2001), el Segundo Plan de Acción Mundial para los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2011). Estos documentos, impulsan a las organizaciones nacionales a enfocarse en la conservación genética de los parientes silvestres.

La falta de colaboración en los sectores, las reformas normativas y legislativas, la experiencia técnica y los recursos limitados exige un enfoque estratégico. Por lo tanto, se

necesita que cada país logre la conservación de sus especies silvestres (Hunter y Heywood, 2011).

México necesita, capacitar, educar, generar conocimiento, normatividad, sensibilización e implementar diversificación en los usos, certificación del aprovechamiento de recursos silvestres y paquetes de incentivos, entre otros (CONABIO, 2012).

Los programas de recuperación se han enfocado en especies en peligro crítico, hay una necesidad de más programas de restauración y recuperación que incluyen especies con potencial económico (plantas medicinales y especies silvestres emparentadas con los cultivos). En las últimas dos décadas, aumentó el número de jardines botánicos y otras instituciones botánicas que están estableciendo bancos de semillas con el propósito de conservar plantas silvestres (Fahey, 2013).

ENSCONET (2018) coordina actividades de conservación de semillas de plantas silvestres en Europa. Se enfoca en la preservación de semillas, a fin de mejorar el estudio, la información y la investigación de la biología de la semilla con el objetivo de intercambiar experiencias, protocolos y servicios que optimicen las prácticas y orienten las necesidades de conservación de semillas de plantas silvestres.

En México los Bancos Comunitarios de Semillas coordinados por el SNICS a través del SINAREFI, forman parte de la estrategia de conservación *in situ* y como apoyo a los agricultores de áreas expuestas a desastres naturales, actualmente la Red está formada por 26 Bancos Comunitarios de Semillas distribuidos en 10 estados del país (SNICS, 2018).

Las principales funciones de los Bancos Comunitarios están: disponer de semilla para el restablecimiento de sistemas de cultivo en caso de desastres naturales, conservar *in situ* la diversidad local; seleccionar semilla en el campo durante cada ciclo de cultivo; garantizar

la disponibilidad de semilla para los ciclos subsiguientes y producir semilla de variedades amenazadas o en peligro de extinción (SNICS, 2018).

Para implementar las estrategias de conservación de especies silvestres primero es necesario conocer la fenología de la especie que se desea conservar. Los estudios fenológicos son importantes para comprender las interacciones entre especies y la función de la comunidad (Fenner, 1998). Krishnan (2004) afirma que el estudio fenológico de las especies endémicas es significativo debido al riesgo de extinción. El momento de la floración es uno de los aspectos más ampliamente investigados de la fenología de los ciclos de vida de las plantas, y se ha estudiado en todas las escalas, desde el nivel de la comunidad (Murali y Sukumar 1994) hasta el de la flor individual (Herrera 1995).

Hechtia perotensis es endémica de México y la biología de sus semillas se conoce poco (Espejo *et al.*, 2007). Reyes (2015) indica que el género *Hechtia* de la familia de las Bromeliáceas tiene potencial para la restauración ecológica por su resistencia a la sequía y por la cantidad de semillas que producen, lo que permite la obtención de miles de plantas con variación genética.

La información en la literatura especializada sobre el género *Hechtia* incluye las descripción de nuevas especies de *H. nuusaviorum* (Espejo *et al.*, 2007); *H. schottii* (Escobedo, 2012), *H. santanae* (Ramírez *et al.*, 2016), *H. flexilifolia*, *H. huamelulaensis*, *H. nivea* (Ramírez *et al.*, 2014);); *H. pretiosa*, *H. zamudioi* (Espejo *et al.*, 2008); evaluación de la germinación de las semillas de *H. confusa* y *H. tehuacana* (Montes, 2013).

En el Centro de Investigación Científica de Yucatán, México aún se trabajan algunos proyectos como sistemática y filogenia de *Hechtia* (Bromeliaceae) dirigido por Ramírez,

M. I., entre otros estudios que ayudan a la conservación de *Hechtia* (CICY, 2018). FAO (2018) reporta a *Hechtia confusa*, *H. glomerata*, *H. podantha*, *H. tehuacana*, *H. texensis* en su banco de germoplasma *ex situ*.

Debido a la importancia de la conservación de las especies silvestres como parte de una estrategia mundial de conservación de la diversidad y en este caso la conservación de *H. perotensis* por su importancia endémica, por su potencial en la restauración ecológica, la aparición de nuevas especies de *Hechtias* y la escasa información en cuanto a fenología reproductiva, calidad de semillas durante la maduración *in situ* y *ex situ*, almacenamiento, acondicionamiento y secado de las semillas de *H. perotensis*.

Los objetivos de esta investigación fueron:

- Describir la fenología reproductiva de *H. perotensis* en las localidades de Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz y Tepeyahualco en la laguna de Alchichica, Puebla.
- Evaluar los componentes las infrutescencias y la calidad de las semillas *ex situ* (campus Montecillo).
- Determinar atributos físicos y fisiológicos de semillas de *H. perotensis* durante la maduración en las localidades de Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz y Tepeyahualco en la laguna de Alchichica, Puebla.
- Establecer el efecto del almacenamiento, acondicionamiento y secado en la germinación de semillas de *H. perotensis*.

Las hipótesis planteadas fueron:

- Las plantas de *H. perotensis* tuvieron un desarrollo de la fase reproductiva similar en las localidades evaluadas.

- El porcentaje de germinación de semillas *ex situ* es ± 80 %.
- Existe un momento a partir de la polinización de las flores en la que la calidad física y fisiológica es máxima (peso seco máximo), la humedad de la semilla de ± 20 % favorecerá la germinación de la semilla.
- El almacenamiento, acondicionamiento y secado tienen un efecto significativo en la germinación de las semillas de *H. perotensis*.

1.1 LITERATURA CITADA

- CBD. (2015). Notification strengthening the *in situ* conservation of plant genetic resources for food and agriculture through incorporation of crop wild relatives under areas important for biodiversity in protected area networks and other effective area-based conservation measures. www.cbd.int/doc/notifications/2015/ntf-2015-092-gspc-en.pdf. Consultado en junio 2018.
- CDB. (2009). Informe sobre la Conservación de las Especies Vegetales: Una revisión de los progresos realizados en la aplicación de la Estrategia Mundial para la Conservación de Plantas (GSPC). pp. 48. www.cbd.int/doc/publications/plant-conservation-report-es.pdf. Consultado en junio 2018.
- CICY. (2018). Centro Público de Investigación del Sistema CONACYT. www.cicy.mx/sitios/germoplasma. Consultada en mayo 2018.
- CONABIO. (2012). Estrategia Mexicana para la Conservación Vegetal, 2012-2030. http://www.biodiversidad.gob.mx/pais/emcv/pdf/EMCV_Completa_Baja.pdf. Consultado en junio 2018.

- ENSCONET. (2018). European Native Seed Conservation Network
<http://ensconet.maich.gr/es/Sobre.htm>. Consultado en junio 2018.
- Escobedo, S. (2012). Mecanismos de dispersión de semillas en las Bromelias. Desde el herbario CICY 4: 22-23. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
- Espejo, S., López, F., Ramírez, M. y Martínez, C. (2007). Dos nuevas especies de *Hechtia* (Bromeliaceae) de México. *Acta Botánica Mexicana*.78: 97-109.
- Espejo, S., López, F. y Ramírez, M. (2008). Dos nuevas especies de *Hechtia* (Bromeliaceae; Pitcairnioideae) del centro de México. *Acta Botánica Mexicana*. 83: 49-61.
- Fahey, M., Martyn, A. y Offord, C. (2013). Historic seed collections germinated for the Australian Plant Bank opening. *Australasian plant conservation. Australian Network for Plant Conservation*. 22 (3): 7-8.
- FAO. (2018). World Information and Early Warning System on PGRFA. www.fao.org/wIEWS-archive/germplasm_species.jsp?species=H. Consultada en mayo 2018.
- FAO. (2001). International treaty on plant genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. www.planttreaty.org.
- FAO. (2011). Second global plan of action for plant genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organisation of the United Nations. www.fao.org/docrep/015/i2624e/i2624e00.pdf. Consultado en junio 2018.
- FAO. (2015). The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture (Rome, Italy). www.fao.org/docrep/013/i1500e/i1500e00.htm. Consultado en junio 2018.

- Fenner, M. (1998). The phenology of growth and reproduction in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 1: 78–91.
- Herrera, C. (1995) Floral biology, microclimate, and pollination by ectothermic bees in an early blooming herb. *Ecology*, 76, 218–228.
- Hunter, D. y Heywood, V. (2011). *Crop wild relatives: a manual of in situ conservation*. Bioversity International, pp. 109–128.
- Krishnan, R. (2004). Reproductive phenology of endemic under story assemblage in a wet forest of the Western Ghats, south India. *Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 199 (4): 351–359.
- Maxted, N. y Kell, S. (2009). Establishment of a global network for the *in situ* conservation of crop wild relatives: status and needs. Commission on genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. p. 266. www.fao.org. Consultado en junio 2018.
- Maxted, N., Kell, S., Ford-Lloyd, B., Dulloo, M. y Toledo, A. (2012). Toward the systematic conservation of global crop wild relative diversity. *Crop Science*. 52(2):774–785.
- Montes, R. (2013). Germinación de especies de la familia Bromeliaceas: aspectos ecológicos y anatómicos. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de México, México, p. 97.
- Murali, K. y Sukumar, R. (1994) Reproductive phenology of a tropical dry forest in Mudumalai, southern India. *Journal of Ecology*. 82, 759–767.
- Ramírez, M., Carrillo, R., Tapia, M. y Cetzal, I. (2016). An addition to genus *Hechtia* (Hechtioideae; Bromeliaceae) from Jalisco, Mexico. *Phytotaxa*. 266 (4): 261–270.

- Ramírez, M., Jiménez, F., Fernández, C. y Pinzón, J. (2014). Three new species and growth patterns in *Hechtia* (Bromeliaceae: Hechtioideae). *Phytotaxa*. 178: 113-127.
- Reyes, S. (2015). Conservación y restauración de cactáceas y otras plantas suculentas mexicanas. México: Comisión Nacional Forestal. p. 108.
- SNICS (2018). Bancos Comunitarios de Semillas como estrategia de Conservación in situ. www.gob.mx/snics/acciones-y-programas/bancos-comunitarios-de-semillas-como-estrategia-de-conservacion-in-situ#agenda. Consultado en junio 2018.
- Tanksley, S. y McCouch, S. (1997). Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science*. 277:1063–1066.

CAPÍTULO I. FENOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *Hechtia perotensis*

Violeta Elizalde¹, José Rodolfo García¹, Carlos Trejo¹ Cecilia Beatriz Peña-Valdivia¹, Ma.

Carmen Ybarra², Otto Raúl Leyva³

1. Postgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco, km 35.5, Estado de México, 56230, México; violeta.elizalde@colpos.mx, garcianr@colpos.mx, cecilia@colpos.mx, cecibetipv@gmail.mx, catre@colpos.mx

2. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km 38.5, Estado de México, 56230, México; agroalim@correo.chapingo.mx

3. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana. Camino a Peñuela s/n. C.P. Peñuela, Amatlán de los Reyes, Ver., México; oleyva@uv.mx

1.1 Resumen

Los factores ecológicos como la temperatura, precipitación y presencia de polinizadores, afectan y modifican la fenología y los patrones de floración. Para implementar un programa de conservación de una especie silvestre es necesario conocer las fenología de esta. Los objetivos del estudio fueron describir la fase reproductiva de *H. perotensis in situ* en las localidades de Frijol Colorado, Veracruz y Tepeyahualco, Puebla, evaluar los componentes de las infrutescencias, la calidad de las semillas *ex situ*. Las hipótesis son que las plantas de *H. perotensis* tienen un desarrollo de la fase reproductiva similar en las dos localidades evaluadas y la germinación de las semillas de *H. perotensis ex situ* es ± 80 %. La fenología reproductiva de *H. perotensis* se documentó *in situ* por

medio de múltiples fotografías con una cámara (Canon, PowerShot SX4201S) y *ex situ* con fotografías de las cápsulas con un microscopio estereoscópico (Leica EZ4 HD) desde la polinización hasta la dehiscencia de las cápsulas. Se recolectaron cuatro plantas una femenina y otra masculina de cada localidad de muestreo y se establecieron en el estado de México en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillos. A las plantas recolectadas se les determinó la longitud, número de espigas, de cápsulas y semillas. A los 30 d, se cosecharon las semillas y se les evaluó la germinación, humedad, peso de semillas, semillas sin germinar con embrión y sin embrión. Un diseño completamente al azar fue implementado con cuatro repeticiones y 15 semillas por unidad experimental. Las evaluaciones se realizaron por sección ápice, centro y base de la infrutescencia. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). El desarrollo de la fase reproductiva de *H. perotensis* en la localidad de Frijol Colorado, Veracruz, fue similar a la de Tepeyahualco, Puebla. Los componentes de la de la inflorescencia o infrutescencia se obtuvieron como un antecedente, de las características que presentaron al momento de la recolecta. La germinación de semillas *ex situ* excedió el 70 %.

1.2 Introducción

La fenología estudia las etapas de crecimiento de las plantas, incluyendo la interacción entre las fases de crecimiento de la misma especie o de diferentes especies (Fenner, 1998; Ruml y Vulić, 2005; Saska y Kuzovkina, 2010). Las fases de crecimiento pueden determinar el establecimiento y persistencia de una especie en condiciones favorables y evitar las condiciones climáticas desfavorables (Chuine, 2010, Van Der Putten *et al.*,

2010, Pau *et al.*, 2011, Gratani, 2014). Los estudios fenológicos también permiten conocer la adaptación ecológica de las especies vegetales (Kikim y Yadava, 2001).

Las fases fenológicas (fenofase), en la mayoría de los casos, están reguladas por mecanismos que aseguran que cada fase se produzca adecuadamente en el período correcto, aunque exista cierta interdependencia entre ellas (Ruiz *et al.*, 2011). Los factores ecológicos como la temperatura, precipitación, presencia de polinizadores, afectan y modifican la fenología y los patrones de floración (Pilson, 2000). Por ejemplo, las especies de cruzamiento florecen al mismo tiempo que otras plantas (Marquis 1988) y cuando el ambiente abiótico es adecuado para el crecimiento y la reproducción de las plantas (Evans *et al.*, 1989).

Los estudios fenológicos pueden incluir la observación, el registro y la interpretación de las etapas de vida de las plantas (Fenner, 1998; Tooke y Battey, 2010; Ruiz *et al.*, 2011). La información de la fenología de *Hechtia perotensis* actualmente es escasa; sin embargo, es importante, por su endemismo y su potencial en la restauración ecológica.

Reyes (2015) indicó que la familia Bromeliaceae especialmente el género *Hechtia* puede propagarse para la restauración ecológica ya que son resistentes a la sequía extrema y producen gran cantidad de semillas, lo que permitiría obtener miles de plantas con variación genética. Esto último es factor importante para un programa de restauración ecológica.

Krishnan (2004) afirma que el estudio fenológico de las especies endémicas y amenazadas es importante debido a su susceptibilidad al riesgo de extinción. Espejo *et al.* (2007) indicaron que *H. perotensis* es endémica de México y se conoce hasta el momento

en los estados de Puebla y Veracruz y crece en matorrales xerófilos entre altitudes de 2400 y 2500 m.

Los objetivos del estudio fueron describir la fase reproductiva de *H. perotensis in situ* (localidades de Frijol Colorado, municipio de Perote y Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica), evaluar los componentes de las infrutescencias y la calidad de las semillas *ex situ*.

Las hipótesis son que las plantas de *H. perotensis* tienen un desarrollo de la fase reproductiva similar en las dos localidades evaluadas y la germinación de las semillas de *H. perotensis ex situ* es ± 80 %.

1.3 Materiales y Métodos

1.3.1 Fenología reproductiva

1.3.1.1 Localidades de muestreo

Las localidades de muestreo fueron: Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz, México (19°32'13.95" N, 97°22'98" O y altitud de 2 416 m) y Tepeyahualco, en la región de la Laguna de Alchichica, Puebla, México (19° 25' 11" N. 97°24' 38" O, y altitud de 2 326 m) (geolocalización con Garmin eTrex 10 y Google Earth®). De acuerdo con el sistema de clasificación climática de Köppen, modificado por García (1988), las localidades estudiadas tienen un clima semiárido, templado con veranos cálidos BS1kw (i' gw". La temperatura promedio mensual de la localidad uno y dos fue de 15.3 °C y 17.6 °C, respectivamente y la humedad relativa (H.R.) promedio mensual de la localidad uno y dos fue de 56.8 % y 60 %.

1.3.1.2 Datos climatológicos de las localidades de recolecta

Los datos de temperatura y humedad de 2016 y 2017 se obtuvieron de la estación “La Noria” del INIFAP (19° 42’55” N, 97°62’88” O, Puebla). Además, de noviembre 2016 a octubre 2017 en las localidades de recolecta se obtuvieron datos con un registrador de datos automático (Onset HOBO modelo: U12- 013) para elaborar los climogramas.

1.3.1.3 Visitas a las localidades de recolecta

Las dos localidades de recolecta se visitaron nueve veces: en junio, julio, agosto, septiembre, octubre, noviembre de 2016 y enero, marzo y junio de 2017.

1.3.1.4 Antesis y polinización

La antesis y polinización se presentó en junio 2016, se tomaron fotografías con una cámara digital (Canon, PowerShot SX4201S) dos plantas de la localidad de Frijol Colorado y cuatro de Tepeyahualco se marcaron. Los insectos polinizadores de *H. perotensis* se identificaron.

1.3.1.5 Desarrollo de cápsulas y exposición del escapo floral

Un grupo de 15 cápsulas por sección apical, central y basal de la inflorescencia se recolectaron en julio, agosto y septiembre en bolsas herméticas metalizadas. En las cápsulas se hicieron cortes longitudinales o transversales, con una hoja de bisturí y un microscopio estereoscópico (Leica EZ4 HD). Los cortes se hicieron hasta que la dureza de la cápsula lo permitió, 86 días después de la floración (septiembre 2016). Se tomaron fotografías de las cápsulas de *H. perotensis* en cada fecha de recolecta en el laboratorio.

En octubre y noviembre de 2016 y enero, marzo y junio de 2017 se fotografiaron, con cámara digital (Canon, PowerShot SX4201S), las plantas *in situ* en ambas localidades para registrar los cambios en las infrutescencias durante la antesis, polinización y secado de las cápsulas.

1.3.1.6 Procesamiento de las fotografías

En las imágenes con estéreo microscopio se determinaron las dimensiones de las cápsulas. El desarrollo de cápsulas y semillas se documentó con las imágenes tomadas *in situ* y en laboratorio.

1.3.2 Componentes de la inflorescencia o infrutescencia y la calidad de las semillas

Una planta masculina y una femenina en floración se extrajeron de cada localidad muestreada, en junio de 2016. Las plantas se plantaron en macetas de 31 cm de diámetro y 30 cm de profundidad con suelo de cada localidad muestreada y se mantuvieron en el jardín del Postgrado de Botánica, en el Estado de México (19.52 °N, 98.88 °O, altitud de 2 250 m, temperatura y H.R. promedio mensual de 15.7 °C y 68 %) (Estación Agrometeorológica del Colegio de Postgraduados campus Montecillo) para determinar el número de flores, espigas y longitud de las infrutescencias.

Las plantas se tuvieron hasta la dehiscencia de las cápsulas, cuando se cosecharon las semillas y se evaluó la germinación, humedad, peso de semillas, semillas sin germinar con y sin embrión. Los climogramas del lugar se utilizaron para comparar las condiciones ambientales *ex situ* e *in situ*.

1.3.2.1 Número de flores, espigas y longitud

La longitud, número de espigas y número de flores o cápsulas por sección apical, centro y base de la inflorescencia (planta masculina) o infrutescencia (planta femenina) se cuantificaron y midieron 4 días después de la floración (DDF).

1.3.3 Calidad de semillas

Las cápsulas del ápice, centro y base de la infrutescencia se cosecharon separadas, las semillas se separaron de las cápsulas y se evaluó, humedad, peso de semillas, germinación, semillas sin germinar con y sin embrión a los 30 días de la floración (DDF).

1.3.3.1 Peso de semilla

La biomasa fue determinada de 225 semillas por infrutescencia: 15 semillas con cinco repeticiones del ápice, centro y base de la infrutescencia, se usó una balanza analítica (± 0.0001 g; Scientech SA 120).

1.3.3.2 Humedad de semillas

El peso fresco se obtuvo de 15 semillas, con cinco repeticiones, del ápice, centro y base de la infrutescencia. Las semillas se mantuvieron en una estufa de secado (Riossa) a 50 ± 1 °C hasta peso constante (5 d). La humedad de las semillas se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido de humedad} = \left(\frac{\text{Peso fresco} - \text{peso seco}}{\text{Peso fresco}} \right) \times 100$$

1.3.3.3 Germinación

Las semillas se germinaron en cajas petri con papel filtro, humedecido con 10 mL de agua destilada. Quince semillas con cinco repeticiones, del ápice, centro y base de la infrutescencia se colocaron en cajas petri, estas se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio comercial (60 g/L de Cl activo) al 1 % (v:v en agua).

Las cajas se colocaron en una cámara con ambiente controlado (Thermo Scientific. EE.UU.; modelo 846), a 25 ± 1 °C y fotoperiodo 12 x 12 h (12 $\mu\text{mol/m/s}$ de irradiancia). Las semillas germinaron cuando el hipocótilo expuesto alcanzó más de 1 mm, se contabilizaron a los 8 d de establecido el ensayo y después de 15 d se obtuvo la germinación total (International Seed Testing Association, 2010).

1.3.3.4 Semillas sin germinar

Las semillas que no germinaron en la prueba anterior se observaron en un estéreo microscopio electrónico (Leica EZ4 HD) para determinar la presencia del embrión.

La cubierta seminal de las semillas se raspó del lado en el que se encuentra el embrión en la semilla, y se extrajo con la punta de un bisturí.

1.3.4 Diseño experimental

Un diseño completamente al azar se utilizó para evaluar la germinación, contenido de humedad, peso de semillas y semillas sin germinar (con y sin embrión). Cuatro repeticiones, con 15 semillas por sección ápice, centro y base de la infrutescencia se evaluaron. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los componentes de la inflorescencia

o infrutescencia se ilustran como un antecedente, de las características que presentaron al momento de la recolecta.

1.4 Resultados

1.4.1 Datos climatológicos en cada localidad de recolecta

La temperatura y H.R. fluctuaron similarmente en las localidades de Frijol Colorado y Tepeyahualco (Figura 1.1a y Figura 1.1b). La localidad de Frijol Colorado tuvo H.R. constante ($< 30\%$) en los meses de toma de datos y la temperatura promedio de la localidad fue $\pm 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ con las temperaturas mayores en abril y mayo 2017 ($\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $\pm 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ respectivamente), temperaturas mínimas en enero y febrero 2017 ($\pm 7\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $\pm 8\text{ }^{\circ}\text{C}$).

En la localidad de Tepeyahualco, temperatura promedio general fue de $\pm 17\text{ }^{\circ}\text{C}$, las temperaturas en promedio mayores respecto a los otros meses se presentaron en junio 2017 ($\pm 23\text{ }^{\circ}\text{C}$) y las menores se registraron en enero 2017 ($\pm 14\text{ }^{\circ}\text{C}$). La H.R. promedio fue de 60% , las H.R. en promedio mayores respecto a los otros meses se presentaron en septiembre y octubre de 2017 ($\pm 86\%$ y $\pm 88\%$, respectivamente).

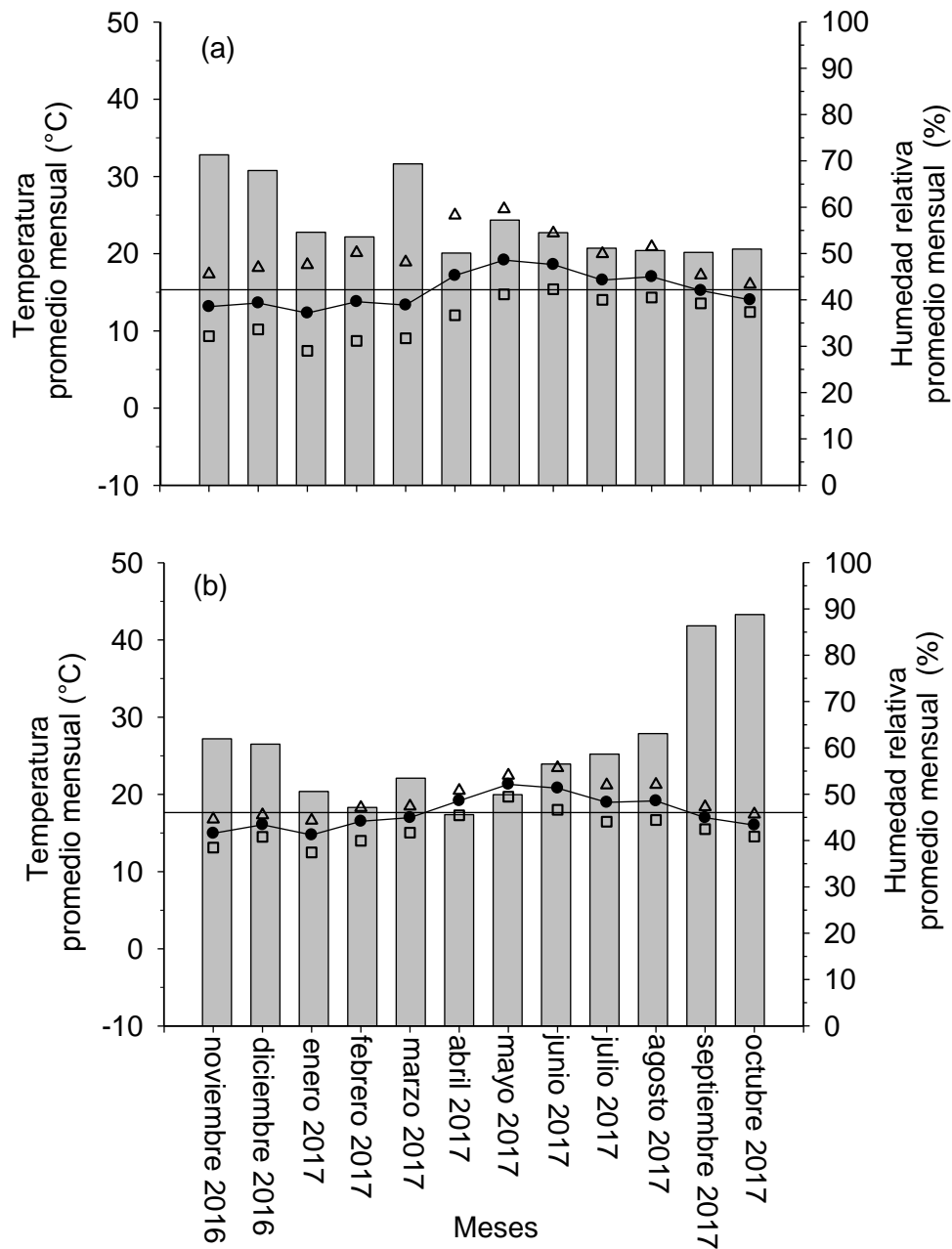


Figura 1.1. Temperatura máxima, mínima, promedio mensual (triángulos, cuadrados y puntos) promedio general (°C) (línea continua) y humedad relativa promedio mensual (%) (barras), en las localidades de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz (a) y Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla (b).

1.4.2 Datos climatológicos de la estación “La Noria” de INIFAP

Los datos obtenidos de INIFAP para el año 2016 y 2017 son similares entre sí, se tiene una temperatura promedio anual de $\pm 13\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $\pm 12.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ respectivamente. Las temperaturas promedio más altas y más bajas del 2016 fueron en agosto ($\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) y febrero ($\pm -1.9\text{ }^{\circ}\text{C}$) respectivamente (Figura 1.2).

Mayo y diciembre del 2017 tuvieron las temperaturas promedio mayores ($\pm 28\text{ }^{\circ}\text{C}$) y menores ($\pm -4.4\text{ }^{\circ}\text{C}$) respectivamente en comparación con los demás meses. Humedades relativas bajas en comparación de los otros meses se presentaron de enero hasta abril 2016 y 2017 con incremento de junio a diciembre en los dos años. Septiembre tuvo H.R. mayor en 2016 ($\pm 83\text{ }%$) y 2017 ($\pm 86\text{ }%$), febrero y abril presentaron la H.R. menor (de $\pm 50\text{ }%$ a $\pm 60\text{ }%$ en 2016 y $\pm 60\text{ }%$ en 2017) respecto a los otros meses.

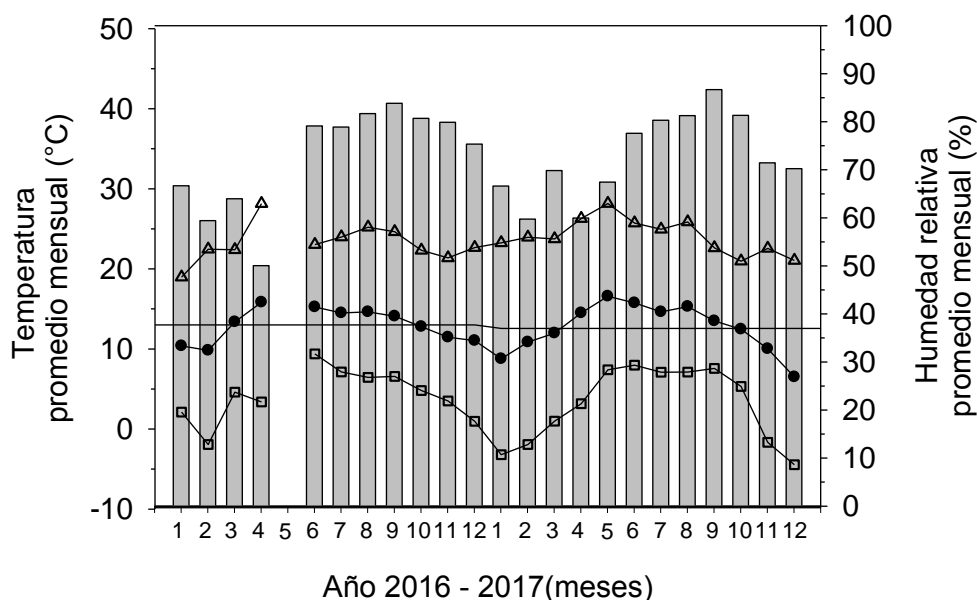


Figura 1.2. Humedad relativa promedio mensual (barras), temperatura máxima, mínima, promedio mensual (triángulos, cuadrados y puntos) promedio general (línea continua) de enero (mes 1) a diciembre (mes 12) de la de la estación “La Noria” de INIFAP en Puebla.

1.4.3 Antesis y polinización en la localidad de Frijol Colorado y la Laguna de Alchichica

En las inflorescencias se identificaron espigas distribuidas a lo largo de la inflorescencia, la cantidad de espigas varió de ± 70 a ± 111 . Alrededor de las plantas masculinas y femeninas en antesis, en junio de 2016, en ambas localidades muestreadas se observaron insectos que podrían ser polinizadores. Los polinizadores que se identificaron en ambas localidades de recolecta, son del orden: Diptero, Lepidoptero, Coleoptero, Hymenoptera (Figura 1.3).

La apertura de las flores de las plantas masculinas es acropétala, en las flores de las plantas femeninas no se observó un patrón en la exposición del estigma (Figura 1.4a, 1.4ai y 1.4b). La apertura de las flores masculinas y femeninas ocurrió de manera simultánea en junio 2016 en ambas localidades de estudio.



Figura 1.3. Polinizadores de *H. perotensis*: Díptero de la familia Syrphidae (a), Lepidoptera de la familia Nymphalidae (b), Coleopteros de la familia Lycidae (c), *Apis mellifera* (d).

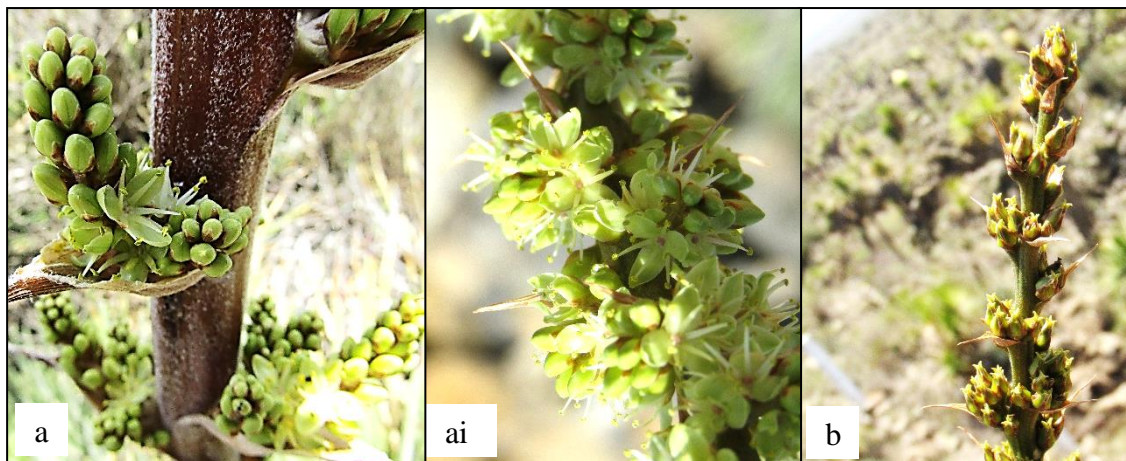


Figura 1.4. Inflorescencia de planta masculina (a, ai) e inflorescencia de planta femenina (b) de *H. perotensis* en antesis.

1.4.4 Desarrollo de cápsulas en la localidad de Frijol Colorado y Tepeyahualco

Las flores femeninas expusieron su estigma en junio 2016 momento en el que se inició la polinización con una longitud de ± 0.77 cm y un diámetro de ± 0.33 cm (Figura 1.5a, 1.5ai y 1.5aii). La flor inició la formación de la cápsula, mostrando un tono verde y con un tamaño de ± 9.78 cm de longitud y ± 5.18 cm de diámetro en julio 2016 (Figura 1.5b). El corte longitudinal de la cápsula permitió ver las semillas blanquecinas distribuidas de manera longitudinal a lo largo del carpelo (Figura 1.5bi), cada cápsula está conformada por tres carpelos, cada carpelo con ± 20 semillas (Figura 1.5aai, 1.5bii y 1.5cii), en raras ocasiones se encuentran cápsulas con dos o cuatro carpelos.

Las cápsulas mostraron al deshidratarse color café a los ± 60 DDF (Figura 1.5c) y el corte longitudinal mostró la cubierta seminal color café de las semillas y el endospermo blanquecino (Figura 1.5ci y 1.5cii). Las cápsulas comenzaron su dehiscencia debido a la pérdida de humedad a los ± 87 DDF, las semillas alcanzaron su peso seco máximo (± 0.79 a ± 1.10 mg) y se encontraron separadas de los carpelos y listas para su dispersión cuando la cápsula tiene diámetro de ± 6.81 mm y ± 11.12 mm de longitud.

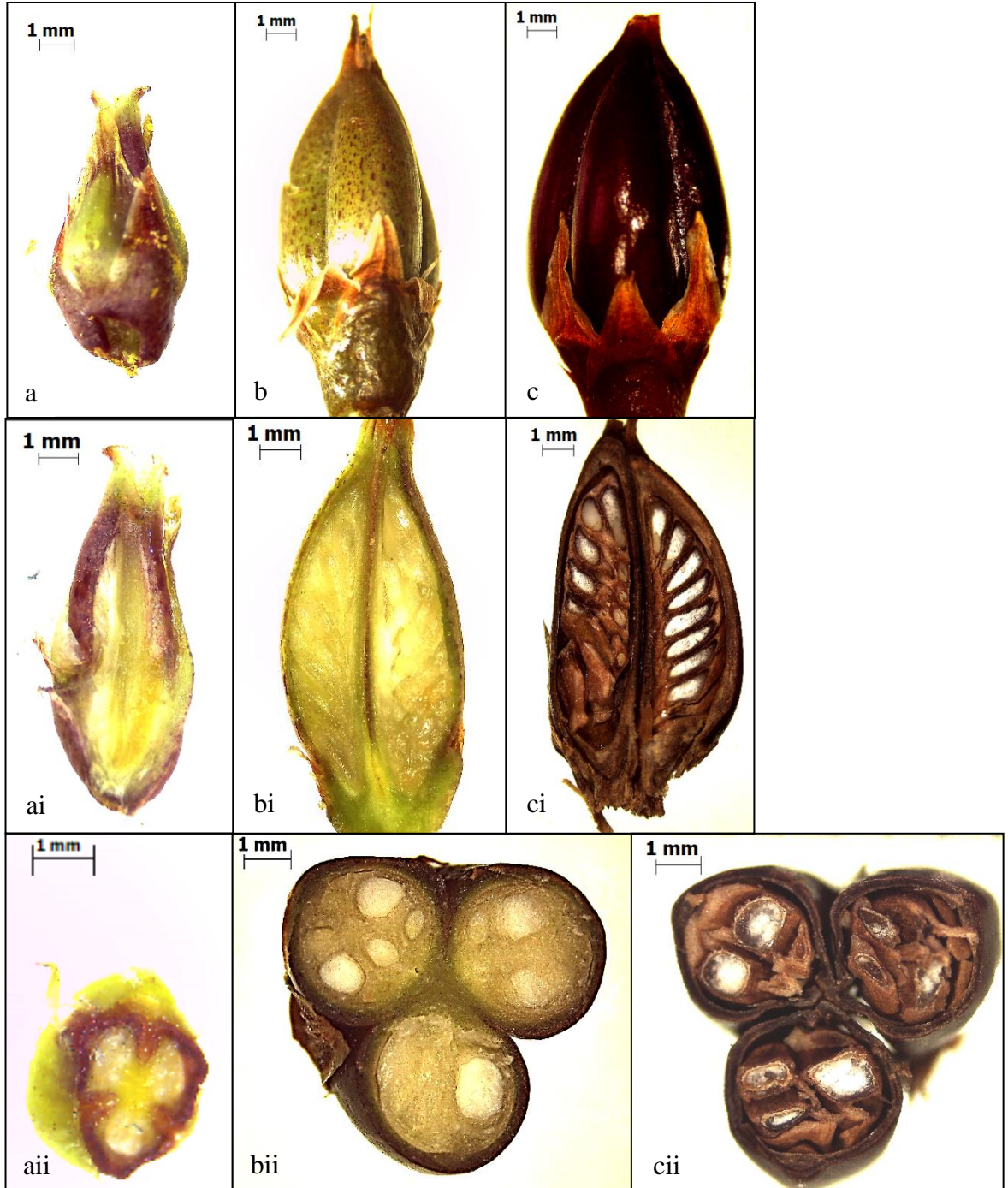


Figura 1.5. Cápsulas de *H. perotensis* con desarrollo distinto. Flor femenina recién polinizada (a)/ corte longitudinal (ai)/ corte transversal (aii); cápsula 30 DDF (b)/ corte longitudinal (bi)/ corte transversal (bii); cápsula 60 DDF (c)/ corte longitudinal (ci)/ corte transversal (cii).

Las plantas femeninas en junio de 2017 contenían cápsulas verdes, cafés y abiertas sin semillas; las plantas masculinas con emergencia de escapo floral mostraron flores cerradas, abiertas o secas. Los escapos florales en emergencia encontrados en junio 2017 poseían alturas de ± 28 a ± 42 cm de longitud (Figura 1.6), los escapos florales femenino o masculino adultos (en floración) encontrados en estas localidades de recolecta en 2016 llegaron a medir hasta ± 130 cm de longitud.

La región apical del escapo floral se logró documentar con fotografías en junio 2017. Se observó que tienen la mitad de la longitud de un escapo promedio para esta región de estudio en distintas plantas (Figura 1.6), la región apical del escapo floral se encontraba cubierta por brácteas (Figura 1.6a) en otros casos más expuesta al medioambiente para lograr su emergencia completa (Figura 1.6b).

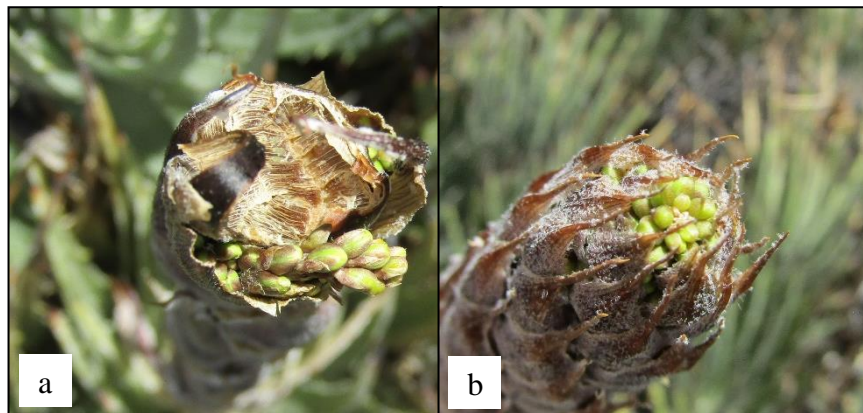


Figura 1.6. Fotografías de la región apical del escapo floral en distintas etapas y plantas de *H. perotensis* en junio 2017.

1.4.5 Componentes de la inflorescencia o infrutescencia ex situ

Las infrutescencias provenientes de ambas localidades muestreadas tenían una mayor cantidad de cápsulas en la sección media de la infrutescencia (planta femenina), las

inflorescencias (planta masculina) tuvieron un mayor porcentaje de flores en la sección del ápice de la inflorescencia. La cantidad de cápsulas y flores por infrutescencia e inflorescencia oscilaron entre ± 400 y ± 1000 cápsulas y ± 1500 y ± 1200 flores las de longitud mayor y con más espigas, también tuvieron más cápsulas o flores (Figura 1.7).

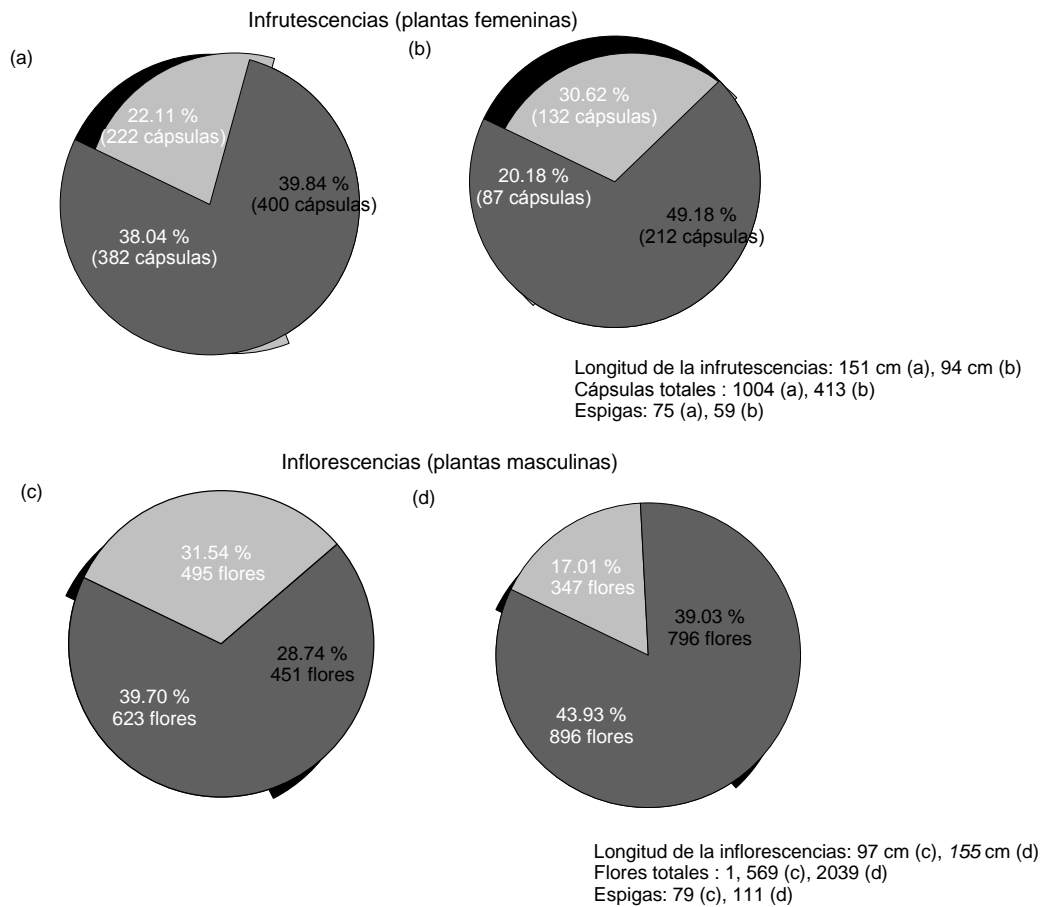


Figura 1.7. Número de cápsulas y flores de la sección apical (■) centro (■) y base (■) de las infrutescencias e inflorescencias de *H. perotensis*, de la localidad de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz (a, c) y Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla (b, d).

Las semillas sin germinar sin embrión de la sección centro de la infrutescencia de la localidad de Frijol Colorado fue estadísticamente inferior ($p \leq 0.05$) respecto a las secciones apical y basal. Las otras variables evaluadas a las semillas de *H. perotensis ex*

situ no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre la sección apical, centro y base de la infrutescencia (Figura 1.8). Las plantas femeninas recolectadas de la localidad Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz establecidas en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo tuvieron porcentajes de germinación < 90 % debido a la humedad de la semilla de 40 % y las semillas de la localidad de Tepeyahualco tuvieron una humedad < 40 % y porcentaje de germinación > 74 % (Figura 1.8a y 1.8b).

El peso de las semillas de las plantas en ambas localidades fue < 0.06 g (Figura 1.8c) y el porcentaje de semillas sin germinar con embrión fue < 10 %, mientras que el porcentaje de semillas sin embrión en la sección del ápice y base de la infrutescencia fue > 20 % en la planta de la localidad de Frijol Colorado (Figura 1.8d y 1.8e).

1.4.6 Calidad de semillas ex situ

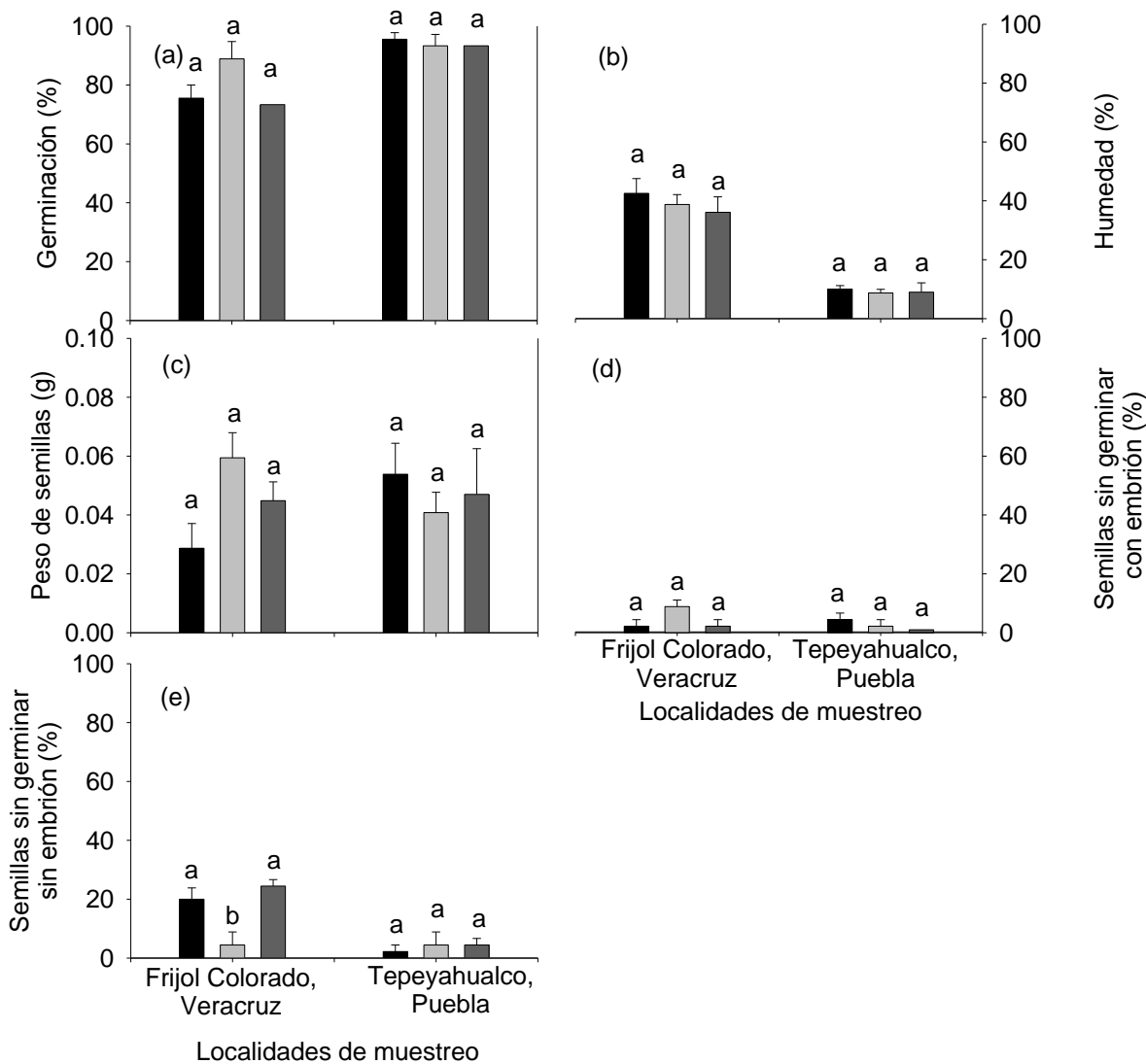


Figura 1.8. Germinación, humedad, peso de semillas, semillas sin germinar con y sin embrión de la planta de *H. perotensis* de la localidad de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y de Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Cada grupo de tres columnas representa a la infrutescencia y sus diferentes secciones: apical (■), centro (■) y base (■). Las letras sobre las columnas representan el efecto de cada sección de la inflorescencia.

1.4.7 Datos climatológicos de la Estación Agrometeorológica del Colegio de Postgraduados campus Montecillo

La temperatura promedio anual y H.R. del campus Montecillo en 2016 fueron 15.7 °C y 68 %. En junio 2016, cuando las plantas se trasladaron al campus, la temperatura y H.R. mayor al promedio mostraron valores de 17.3 °C y 80 % como promedio mensual (Figura 1.9).

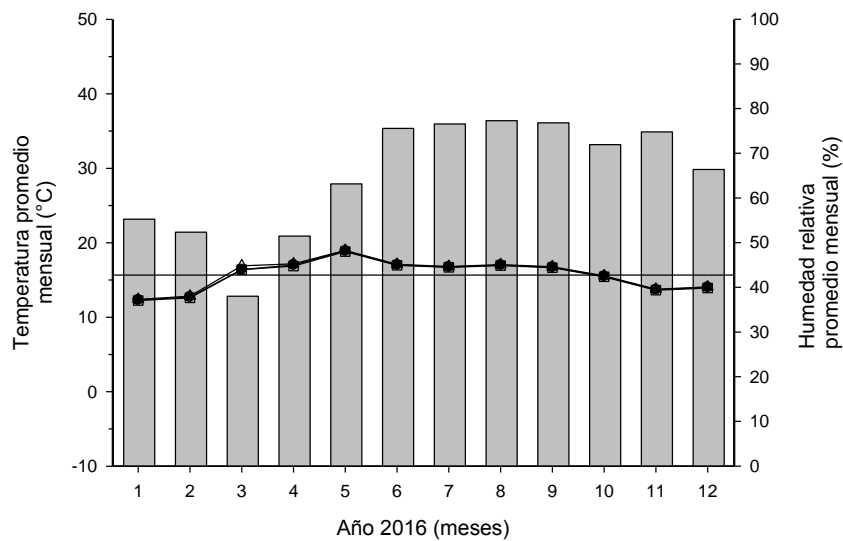


Figura 1.9. Humedad relativa promedio mensual (barras), temperatura máxima, mínima, promedio mensual (triángulos, cuadrados y puntos) promedio general (línea) de enero (mes 1) a diciembre (mes 12) de la de la estación agrometeorológica del Colegio de Postgraduados campus Montecillo.

1.5 Discusión

Ratnaningrum y Indrioko (2015) mencionaron que el incremento de temperatura extrema condujo a un período de floración corto, aumento en la frecuencia de floración, disminución de la abundancia de flores y frutos y aborto de semillas en *Santalum album* Linn. Por otro lado informaron que las precipitaciones prolongadas generan un período de floración largo, retraso en la iniciación floral y receptividad del estigma y una longevidad del polen cortas en *Santalum album* Linn. La estación seca provoca el aumento en la producción de flores, flores polinizadas y frutas maduras en comparación con aquéllas la estación lluviosa.

En el caso de *H. perotensis* es necesario evaluar otro ciclo de floración para determinar si existe alguna variación en los componentes de las inflorescencias ocasionado por la temperatura o la precipitación con respecto a los resultados obtenidos en este estudio. Dado que la temperatura y la humedad en las localidades evaluadas fueron similares, la fenología reproductiva también lo fue.

Las semillas de plantas femeninas recolectadas en ambas localidades y establecidas en el Campus Montecillo tuvieron cerca de 9 % y 40 % de humedad y cerca de 79 % de germinación en promedio por infrutescencia.

H. perotensis tiene metabolismo ácido crasuláceo (MAC), que le permite tener mecanismos de resistencia a diversos factores con respecto a las plantas con otro metabolismo fotosintético López *et al.* (2000) indicó que estos ácidos participan en los mecanismos que algunas plantas utilizan para hacer frente a las deficiencias de nutrientes, ajuste osmótico, tolerancia a metales y las interacciones microbio-planta que operan en la interfaz raíz-suelo, por ejemplo: las plantas que crecen en suelos alcalinos donde el calcio

es abundante, a menudo reducen el exceso de calcio celular al combinarlo con ácidos orgánicos, esto es crucial para la supervivencia en estas condiciones del suelo; la colza (*Brassica napus*) excretan ácidos cítrico y málico de la raíz hacia la rizosfera y solubilizan fósforo debido a que en la mayoría de los suelos el fósforo no está disponible para la absorción de la planta; asimismo, el ácido málico es un intermediario de la fijación de CO₂ en relación con la apertura estomática y la eficiencia del uso del agua.

Además de las características metabólicas que le permiten a *H. perotensis* adaptarse y no verse afectada por diversas condiciones ambientales, también existen los factores morfológicos y fisiológicos que tienen estas plantas similares al *Agave*. Álvarez *et al.* (2004) mencionó que la morfología y fisiología de los magueyes les permite alcanzar la madurez fisiológica en condiciones de déficit hídrico, en comparación con la mayoría de las especies. Unas de estas características, son cutícula gruesa (0.01 cm) en sus hojas.

Matthies (1990) indicó que los componentes relacionados con la reproducción, como: número de brotes florales, número de cápsulas, óvulos por cápsula y peso de semillas de especies como *Thlaspi arvense* L. son modificados (plasticidad) por la densidad de plantas por superficie, sistemas productivos y otros factores. En este estudio se observa que la longitud de la inflorescencia, cantidad de flores, cápsulas y espiga son características específicas de cada individuo; es decir, que no se asemejan.

Kameswara *et al.* (2017) mencionaron que la germinación de la semilla es afectada por las condiciones de desarrollo de la planta y Álvarez *et al.* (2004) indicaron que si ocurre la polinización se pueden obtener semillas con germinación > 82 %, como ocurrió con las infrutescencias recolectadas de *H. perotensis* en este estudio.

1.6 Conclusiones

El desarrollo de la fase reproductiva de *H. perotensis* en la localidad de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz, fue similar a la de Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla.

La descripción de la fase reproductiva de *H. perotensis* es una aportación al conocimiento de la biología de esta especie y puede facilitar el desarrollo de otras investigaciones enfocadas en la biología de estas especies, la floración o la obtención de semillas.

La germinación de las semillas de plantas trasplantadas en el Campus Montecillo excedió el 70 %.

1.7 Agradecimientos

Agradecemos a Carlos Patricio Illescas Riquelme quien identificó el orden y la familia de tres polinizadores y el género y la especie de uno de los polinizadores fotografiados en las localidades de recolecta.

2.8 Referencias

- Álvarez, R., Godínez, A., Guzmán, U. y Dávila, P. (2004). Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: implicaciones para su conservación. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 75: 7–16.
- Chuine, I. (2010). Why does phenology drive species distribution? Philosophical Transactions of the Royal Society Biological. 365: 3149–3160.

- Espejo, S., López, F., Ramírez, M. y Martínez, C. (2007). Dos nuevas especies de *Hechtia* (Bromeliaceae) de México. *Acta Botánica Mexicana*.78: 97-109.
- Evans, E., Smith, C. y Gendron, R. (1989) Timing of reproduction in a prairie legume: seasonal impacts of insects consuming flowers and seeds. *Oecologia* 78:220–230.
- Fenner, M. (1998). The phenology of growth and reproduction in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 1: 78–91.
- García, E. (1988). Modificaciones al sistema de clasificación climática de köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México, p. 90.
- Gratani, L. (2014). Plant phenotypic plasticity in response to environmental factors. *Advances in Botany* 1–17.
- International Seed Testing Association (2010). *International Rules for Seed Testing*. Basserdorf, CH Switzerland, p. 47.
- Kameswara, R., Dolloo, M. y Engels, J. (2017). A review of factors that influence the production of quality seed for long-term conservation in genebanks. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 64:1061–1074.
- Kikim, A. y Yadava, P. (2001). Phenology of tree species in subtropical forests of Manipur in Northeast India. *Tropical Ecology*. 42 (2): 269–276.
- Krishnan, R. (2004) Reproductive phenology of endemic under story assemblage in a wet forest of the Western Ghats, south India. *Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 199 (4): 351–359.
- López, B., Nieto, J., Ramírez, R. y Herrera, E. (2000). Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. *Plant Science*. 160: 1–13.

- Marquis, R. (1988) Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arielanum*: causes and consequences. *Ecology*. 69:1552–1565.
- Matthies, D. (1990). Plasticity of reproductive components at different stages of development in the annual plant *Maspi arvensis* L. *Oecologia*. 83: 105-116.
- Pau, S., Wolkovich, E., Cook, B., Davies, T., Kraft, N., Bolmgren, K., Betancourt, J. y Cleland, E. (2011). Predicting phenology by integrating ecology, evolution and climate science. *Global Change Biology*. 17: 3633–3643.
- Pilson, D. (2000). Herbivory and natural selection on flowering phenology in wild sunflower, *Helianthus annuus*. *Oecología*. 122:72–82.
- Ratnaningrum, Y. y Indrioko, S. (2015). Response of flowering and seed production of sandalwood (*Santalum album* Linn. Santalaceae) to climate changes. *Procedia Environmental Sciences*. 28: 665 – 675.
- Reyes, S. (2015). Conservación y restauración de cactáceas y otras plantas suculentas mexicanas. México: Comisión Nacional Forestal, p. 108.
- Ruiz, L., Alcázar, P., Domínguez, V. y Galán, C. (2011). Study of Poaceae phenology in a Mediterranean climate. Which species contribute most to airborne pollen counts?. *Aerobiologia*. 27: 37–50.
- Ruml, M. y Vulić, T. (2005). Importance of phenological observations and predictions in agriculture. *Agricultural Sciences*. 50: 217–225.
- Saska, M. y Kuzovkina, Y. (2010). Phenological phases of willow (*Salix*). *Annals of Applied Biology*. 156: 431–437.
- Tooke, F. y Battey, N. (2010). Temperate flowering phenology: flowering newsletter review. *Experimental Botany*. 61: 2853–2862.

Van Der Putten, W., Macel, M. y Visser, M. (2010). Predicting species distribution and abundance responses to climate change: why it is essential to include biotic interactions across trophic levels. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological*. 365: 2025–2034.

CAPÍTULO II. CALIDAD FÍSICA Y FISIOLÓGICA DE LAS SEMILLAS DE

Hechtia perotensis DURANTE LA MADUREZ

Violeta Elizalde¹, José Rodolfo García¹, Carlos Trejo¹, Cecilia Beatriz Peña-Valdivia¹,

Ma. Carmen Ybarra², Otto Raúl Leyva³

1. Postgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco, km 35.5, Estado de México, 56230, México; violeta.elizalde@colpos.mx, garcianr@colpos.mx, cecilia@colpos.mx, cecibetipv@gmail.mx, catre@colpos.mx

2. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km 38.5, Estado de México, 56230, México; agroalim@correo.chapingo.mx

3. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana. Camino a Peñuela s/n. C.P. Peñuela, Amatlán de los Reyes, Ver., México; oleyva@uv.mx

2.1 Resumen

La fecha de la recolección de las semillas evita obtenerlas inmaduras y su contenido de humedad es importante para su conservación. *Hechtia perotensis* es endémica de México (Puebla y Veracruz), produce abundantes semillas, pero la variación de su calidad durante su madurez se desconoce. El objetivo de este estudio fue evaluar algunos atributos físicos y fisiológicos de las semillas de *H. perotensis*. La hipótesis propuesta es que existe un momento a partir de la polinización de las flores en el que la calidad física y fisiológica es máxima. Capsulas de infrutescencias se recolectaron después de su polinización natural en dos localidades (plantas A y C de la región Frijol Colorado, Perote, Veracruz y plantas B y

D de Alchichica, Puebla) El diseño experimental fue de medidas repetidas con cuatro repeticiones y 15 semillas como unidad experimental, en el ápice, centro y base de la infrutescencia. Las evaluaciones incluyeron germinación, semillas sin germinar (con y sin embrión), contenido de humedad y peso en cada fecha de muestro. Las diferencias entre el ápice, centro y base de las infrutescencias no fueron significativas, pero entre la fecha inicial y final de muestreo sí hubo significancia. La humedad de semillas menor a 20 % favoreció la germinación a más de 80 %. La humedad menor en las semillas se obtuvo 86 d después de la floración.

2.2 Introducción

De acuerdo con Ramírez *et al.* (2014) El género *Hechtia* Klotzsch es uno de los miembros más interesantes de las Bromeliaceae mexicanas por ser el único miembro de la subfamilia Hechtioideae y al descubrimiento frecuente de especies nuevas. El número de especies se estima en 65 (Ramírez y Jiménez, 2012). México alberga el número mayor de especies de este género, con aproximadamente 94 % de ellas endémicas del país (Ramírez *et al.*, 2014). Las plantas de *Hechtia* son terrestres o litofíticas, se desarrollan en rocas volcánicas, cársticas o gipsófilas. Las rosetas son cespitas o rara vez caulescentes, que varían en tamaño desde ± 30 cm de diámetro en el caso de *H. edulis* (Ramírez *et al.*, 2011) y ± 2 m de diámetro, como *H. myriantha* (Mez, 1901). Estas plantas tienen hojas suculentas, con o sin espinas y márgenes serrulados. Las especies de *Hechtia* son principalmente especies xerofíticas y se presentan en matorrales, bosques tropicales caducifolios y, menos frecuente en bosques de *Quercus Linnaeus* (Rzedowski, 1978). Como la mayoría de las plantas de la familia Bromeliceae, las especies de *Hechtia* tienen

inflorescencias centrales, pero en cerca de 20 % son laterales, es el caso de *H. glomerata* (Jiménez, 2011). La distribución de las especies del género *Hechtia* incluye una o pocas poblaciones por localidad (Ramírez y Carnevali, 1999).

H. perotensis es endémica de México y se ha identificado en matorrales xerófilos, entre 2400 y 2500 m de altitud, en Puebla y Veracruz.

Las plantas de *H. perotensis* se han descrito como hierbas arrosietadas, terrestres, con inflorescencia de hasta 2 m de altura, con rosetas globosas, compactas y densamente cespitosas, con altura que pueden alcanzar 50 cm y diámetro de 40 cm (Espejo *et al.*, 2007).

Las bromelias son monocotiledóneas (Moreno, 1996), con semillas color pardo claro, fusiformes, ligeramente rugosas, oblongas, elipsoidales o fusiformes, circunvaladas, con un ala extendiéndose en dos caudas terminales de alrededor de 1 mm de anchura y 3 mm de longitud (Espejo *et al.*, 2007).

Reyes (2015) quien señaló que las semillas del género *Hechtia* han sido útiles para la restauración ecológica. Krishnan (2004) afirma que el estudio fenológico de las especies endémicas es significativo debido al riesgo de extinción. La biología de las semillas de *Hechtia* se conoce poco (Espejo *et al.*, 2007). La información de la calidad física y fisiológica durante la maduración de la semilla de *H. perotensis* es nula en la literatura especializada. La información sobre el género *Hechtia* incluye las descripción de nuevas especies de *H. nuusaviorum* (Espejo *et al.*, 2007); *H. schottii* (Escobedo, 2012), *H. santanae* (Ramírez *et al.*, 2016), *H. flexilifolia*, *H. huamelulaensis*, *H. nivea* (Ramírez *et al.*, 2014); *H. pretiosa*, *H. zamudioi* (Espejo *et al.*, 2008); evaluación de la germinación de las semillas de *H. confusa* y *H. tehuacana* (Montes, 2013).

La germinación de semillas es fundamental para la conservación de especies (Baskin y Baskin, 1998); el conocimiento de su calidad física y fisiológica es valioso para obtener semillas de calidad alta (Willan 1985).

La etapa de germinación es sensible a las condiciones ambientales (Leck *et al.* 2008). Sankhla y Chawan (1980) señalaron que diferentes niveles de humedad en las semillas juegan un papel importante en el mecanismo regulador de la germinación, por ejemplo: las semillas de *Phaseolus trilobus* disminuyeron su germinación a 37.5 % y 0 % cuando tenían 9.09 % y 5 % de humedad, respectivamente. El ambiente de maduración de la semilla a menudo es relativamente seco (Koutecka y Leps, 2009).

La calidad de la semilla de frijol (Sanhewe y Ellis, 1996) y otros cereales y especies silvestres (Hay y Probert, 1995), se ha demostrado que continúa mejorando durante su desarrollo y maduración e inclusive durante un tiempo después del llenado de la semilla (Pieta y Ellis, 1991).

La variación de la calidad de las semillas de *Hechtia perotensis* durante su maduración no se ha documentado. El objetivo de este estudio fue evaluar algunos atributos físicos y fisiológicos de las semillas de *H. perotensis* para estimar su calidad durante la maduración. Las hipótesis fueron que existe un momento a partir de la polinización de las flores en la que la calidad física y fisiológica es máxima (peso seco máximo) y que la humedad de la semilla de ± 20 % favorecerá la germinación de la semilla. Además la calidad de las semillas es diferente en tres secciones del escapo floral.

2.3 Materiales y Métodos

2.3.1 Localidades de recolecta

Las localidades de recolecta de cápsulas de *H. perotensis* fueron: Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz (2416 m) y Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla (2326 m), México, ubicados a 19° 32' 13.95" N, 97° 22' 98" O, y 19° 25' 11" N, 97° 24' 38" O, respectivamente (geolocalización con Garmin eTrex 10 y Google Earth®).

Cápsulas de *H. perotensis* de ambas localidades, se recolectaron en agosto, septiembre, octubre, noviembre 2016 y enero 2017. El clima de la región de acuerdo con el sistema de clasificación de Köppen, modificado por García (1988), es semiárido, templado con veranos cálidos BS1kw (i' gw". La temperatura promedio mensual de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla fue de 15.3 °C y 17.6 °C, una humedad relativa promedio mensual de 56.8 % y 60 %, respectivamente.

La flora de ambas localidades de recolecta corresponde a un matorral xerófilo, también llamado izotal, con presencia de *Nolina* Michx., *Yuca* sp. y *Dasylyrion* Zucc., algunos árboles de menos de 5 m de altura, pertenecientes a los géneros *Juniperus*, *Quercus* y *Pinus* y plantas de *Agave horrida* subsp. *Perotensis* B. Ulrich, *D. acrotriche* (Schiede) Zucc., *Tillandsia erubescens* Schltdl., *T. recurvata* (L.) L., *N. parviflora* (Kunth) Hemsl., *Juniperus* L. *Q. microphylla* Née, *P. cembroides* Zucc., *Echeveria subalpina* E. Walther, *Salvia* L., *Lupinus* L., *Ephedra* L., *Sedum batesii* L., *Mammillaria magnimamma* Haw., *Coryphantha pallida* (Engelm.) Lem., *Cylindropuntia pallida* (Engelm.) F.M. Knuth, *Baccharis* L., entre otras (Elizalde *et al.*, 2017).

2.3.2 Selección de plantas

En junio de 2016 las plantas femeninas y masculinas estaban en antesis en ambas localidades de estudio e insectos polinizadores se identificaron. A este momento se le denominó día 0, que corresponde a la floración completa.

A las plantas femeninas con cápsulas inmaduras (Figura 3.1A) a los 13 d después de la floración se les colocó una tela de tul (orificios de 1 mm de diámetro), alrededor de la infrutescencia, para evitar la pérdida de semillas. La longitud de la infrutescencia se midió.

2.3.3 Muestreo de cápsulas

A partir de los 41 d después de la floración (DDF) (cuando el color de las cápsulas cambió de verde a castaño) (Figura 2.1), se cosecharon 25 cápsulas de la base, centro y ápice de cada infrutescencia. Dos a cuatro muestreos por infrutescencia se hicieron en función de la cantidad de cápsulas disponible.

Las cápsulas de la planta A de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y B de Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla se muestrearon a los 41, 87, 152 y 215 d después de la floración (DDF).

Las cápsulas de la planta C de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y la planta D, Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla se muestrearon a los 41 y 87 DDF, debido a la cantidad de cápsulas limitada.

Las cápsulas recolectadas en cada muestreo sumaron un total de 75 por infrutescencia y se colocaron en bolsas metalizadas con cierre hermético, para realizar las evaluaciones físicas y fisiológicas a las semillas en laboratorio.

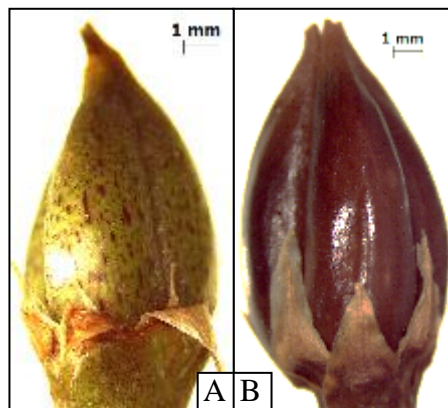


Figura 2.1. Cápsulas de *H. perotensis*: (A) cápsula inmadura color verde (julio 2016); (B) cápsula madura color castaño (agosto y noviembre 2016).

2.3.4 Limpieza y almacenamiento de semillas

Las semillas fueron extraídas de las cápsulas, abiertas con pinzas para disección, y se conservaron en bolsas metalizadas con cierre hermético en ambiente de laboratorio (25 ± 1 °C). En las dos semanas siguientes se hicieron las evaluaciones físicas y fisiológicas.

2.3.5 Calidad de semillas

Las cápsulas del ápice, centro y base de la infrutescencia se cosecharon separadas, las semillas se separaron de las cápsulas y se evaluó su germinación, humedad, peso, número de semillas sin germinar con y sin embrión a los 30 días de la floración (DDF).

2.3.6 *Peso de semilla*

La biomasa fue determinada de 225 semillas por infrutescencia: 15 semillas con cinco repeticiones del ápice, centro y base de la infrutescencia, se usó una balanza analítica (± 0.0001 g; Scientech SA 120).

2.3.7 *Humedad de semillas*

El peso fresco se obtuvo de 15 semillas, con cinco repeticiones, del ápice, centro y base de la infrutescencia. Las semillas se mantuvieron en una estufa de secado (Riossa) a 50 ± 1 °C hasta peso constante (5 d). La humedad de las semillas se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido de humedad} = \left(\frac{\text{Peso fresco} - \text{peso seco}}{\text{Peso fresco}} \right) \times 100$$

2.3.8 *Germinación*

Las semillas se germinaron en cajas petri con papel filtro, humedecido con 10 mL de agua destilada. Quince semillas con cinco repeticiones, del ápice, centro y base de la infrutescencia se colocaron en cajas petri, estas se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio comercial (60 g/L de Cl activo) al 1 % (v:v en agua).

Las cajas se colocaron en una cámara con ambiente controlado (Thermo Scientific. EE.UU.; modelo 846), a 25 ± 1 °C y fotoperiodo 12 x 12 h (12 $\mu\text{mol/m/s}$ de irradiancia). Las semillas germinaron cuando el hipocótilo expuesto alcanzó más de 1 mm, se contabilizaron a los 8 d de establecido el ensayo y después de 15 d se obtuvo la germinación total (International Seed Testing Association, 2010).

2.3.9 Semillas sin germinar

Las semillas que no germinaron en la prueba anterior se observaron en un estéreo microscopio electrónico (Leica EZ4 HD) para determinar la presencia del embrión.

La cubierta seminal de las semillas se raspó del lado en el que se encuentra el embrión en la semilla, y se extrajo con la punta de un bisturí.

La mitad de las semillas con embrión presentaron hongos en él y estaban en estado de descomposición. En otros casos el embrión estaba intacto dentro de la semilla (Figura 2.2A). Las semillas sin embriones no presentaron contaminación por hongos (Figura 2.2B).

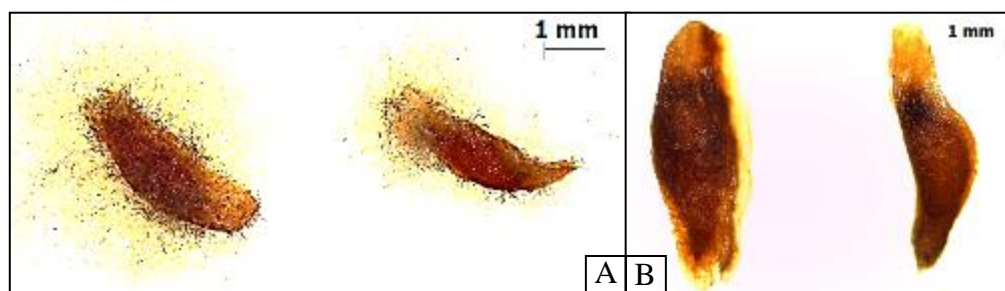


Figura 2.2. Semillas de *H. perotensis*: (A) con embrión y con presencia de hongos; (B) sin embrión y sin presencia de hongos

2.3.10 Diseño experimental

Un diseño de medidas repetidas se utilizó para evaluar la germinación, contenido de humedad, peso de semillas y semillas sin germinar (con y sin embrión) en cuatro fechas a partir de la floración completa. Cuatro repeticiones con 15 semillas por tratamiento se utilizaron, del ápice, centro y base de la infrutescencia. Se realizaron comparaciones múltiples con el modelo lineal general ($\alpha = 0.05$).

2.4 Resultados

2.4.1 Germinación, humedad y peso de semillas

2.4.1.1 Planta A de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz

El peso de las semillas (Figura 2.3c) fue diferente ($p \leq 0.05$) entre las secciones de la infrutescencia a los 41 y 87 DDF siendo la región apical la de peso mayor: 0.036 g y 0.029 g respectivamente. Las secciones apical, centro y base no tuvieron un efecto significativo ($p > 0.05$) en la germinación y humedad de semillas (Figura 2.3a y 2.3b). Sin embargo, a través del tiempo estas variables fueron diferentes, en promedio tenían una germinación de semillas (Figura 2.3a) de 20 % a los 41 DDF cuando pesaban 0.0360 g y su humedad era 76 %. La germinación a los 215 DDF, fue de 94 %, la humedad de la semilla 6 % y su peso de 0.0139 g ($p \leq 0.05$).

2.4.1.2 Planta B de Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla

El peso de las semillas (Figura 2.3h) tuvo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las secciones de la infrutescencia y el tiempo. El peso promedio de las semillas de la infrutescencia fue más del doble a los 41 DDF (0.036 g) que a los 215 DDF (0.016 g) lo que coincide con el aumento en la germinación de 37 % a 96 % en el mismo periodo (Figura 2.3f).

La germinación y la humedad de las semillas (Figura 2.3f y 2.3g) no fue significativamente diferente ($p > 0.05$) entre la sección apical, centro y base de la infrutescencia. Sin embargo el efecto del tiempo en la germinación y humedad de semillas fue evidente. En promedio la germinación a los 41 DDF (37 %) aumentó 2.6 veces a los 215 DDF (98 %). Inversamente, la humedad de las semillas disminuyó de 69 % (Figura 2.3g) a 6 % es decir cerca de diez veces, en el mismo período.

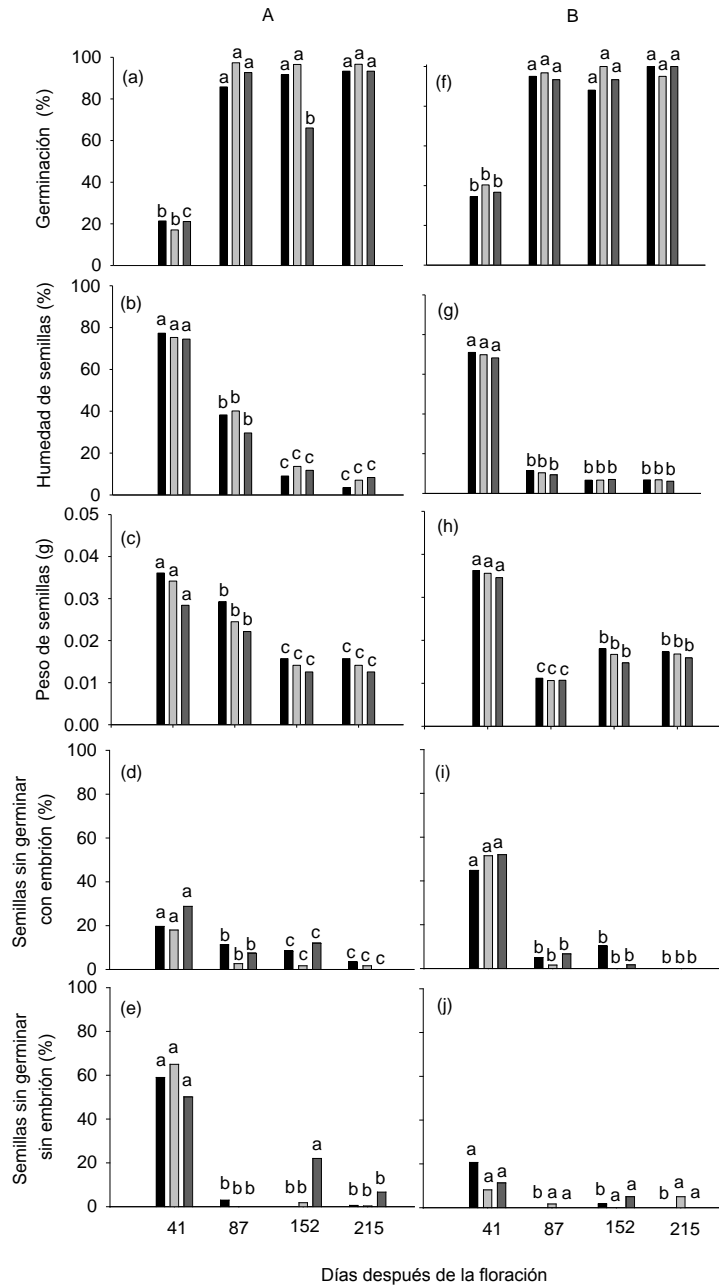


Figura 2.3. *H. perotensis*: germinación, humedad, peso de semillas, semillas sin germinar con y sin embrión de la planta de la planta A (a, b, c, d, e) de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y B (f, g, h, i, j) de Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla. Cada columna representa el promedio de cuatro repeticiones, con 15 semillas cada una. Cada grupo de tres columnas representa a la infrutescencia y sus diferentes secciones: apical (■), centro (▒) y base (■). Las letras sobre las columnas representan el efecto del tiempo (DDF) en cada sección de la inflorescencia.

2.4.2 Semillas sin germinar

2.4.2.1 Planta A de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz

Las semillas que no germinaron, con embrión y sin embrión (Figura 2.3d y 2.3e) no tienen diferencia estadística entre el ápice, centro y base de la infrutescencia ($p > 0.05$). El efecto del tiempo sobre el porcentaje de semillas germinadas con y sin embrión fue significativo ($p \leq 0.05$). Las semillas sin germinar con embriones (Figura 2.3d) no superaron el 29 % en el ápice, centro, base de la infrutescencia a los 41 DDF y disminuyen a $< 41\%$ de semillas germinadas con embrión a los 215 DDF. La infrutescencia mostro $< 65\%$ de semillas maduras sin embrión a los 41 DDF y $< 6\%$ a los 215 DDF.

2.4.2.2 Planta B de Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla

El efecto del tiempo sobre el porcentaje de semillas germinadas con y sin embrión fue significativo ($p \leq 0.05$) (Figura 2.3i y 2.3j). Las semillas a los 41 DDF presentaron $< 53\%$ de semillas no germinadas con embrión y $< 21\%$ sin embrión en el ápice, centro, base de la infrutescencia y fue disminuyendo con el tiempo (Figura 2.3i). Las semillas de la sección centro de la infrutescencia a los 87 DDF fueron las únicas que no tenían embrión (Figura 2.3j). La sección apical y base presentó 0 % de embriones no germinados a los 215 DDF (Figura 2.3j).

2.4.3 Germinación, humedad y peso de semillas

2.4.3.1 Planta C de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz

La germinación, contenido de humedad y peso de semillas del ápice, centro y base de la infrutescencia fue similar a los 41 y 87 DDF ($p > 0.05$) (Figura 2.4 a- c).

El efecto del tiempo en la humedad, la germinación y peso de las semillas fue significativo en la sección apical, centro y base de la inflorescencia ($p \leq 0.05$). La germinación de semillas promedio del ápice, centro y base de la infrutescencia a los 41 y 87 DDF fue de 23 y 95 %, respectivamente (aumento 4.04 veces) (Figura 2.4a). La humedad y el peso de las semillas fue de 72 % y 0.035 g en promedio en las tres regiones que conforman la infrutescencia a los 41 DDF y 29 % y 0.0266 g a los 87 DDF (Figura 2.4b y 2.4c).

2.4.3.2 Planta D, Tepayahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla

La germinación, contenido de humedad y peso de semillas, no fue significativamente diferente ($p > 0.05$) entre las secciones de la infrutescencia de la planta D (Figura 2.4 f y 2.4g). El efecto del tiempo en la germinación fue significativo en la sección apical de la inflorescencia y en la humedad y peso de las semillas en la sección apical, centro y base de la inflorescencia ($p \leq 0.05$).

El porcentaje de germinación de la sección apical de la infrutescencia aumento a 95 % a los 87 DDF, el porcentaje de germinación promedio de la infrutescencia fue de 83 %. El contenido de humedad y el peso de las semillas (Figura. 2.4g y 2.4h) disminuyo a 9 % y 0.0144 g en promedio de la sección apical, media y basal de la infrutescencia a los 87 DDF.

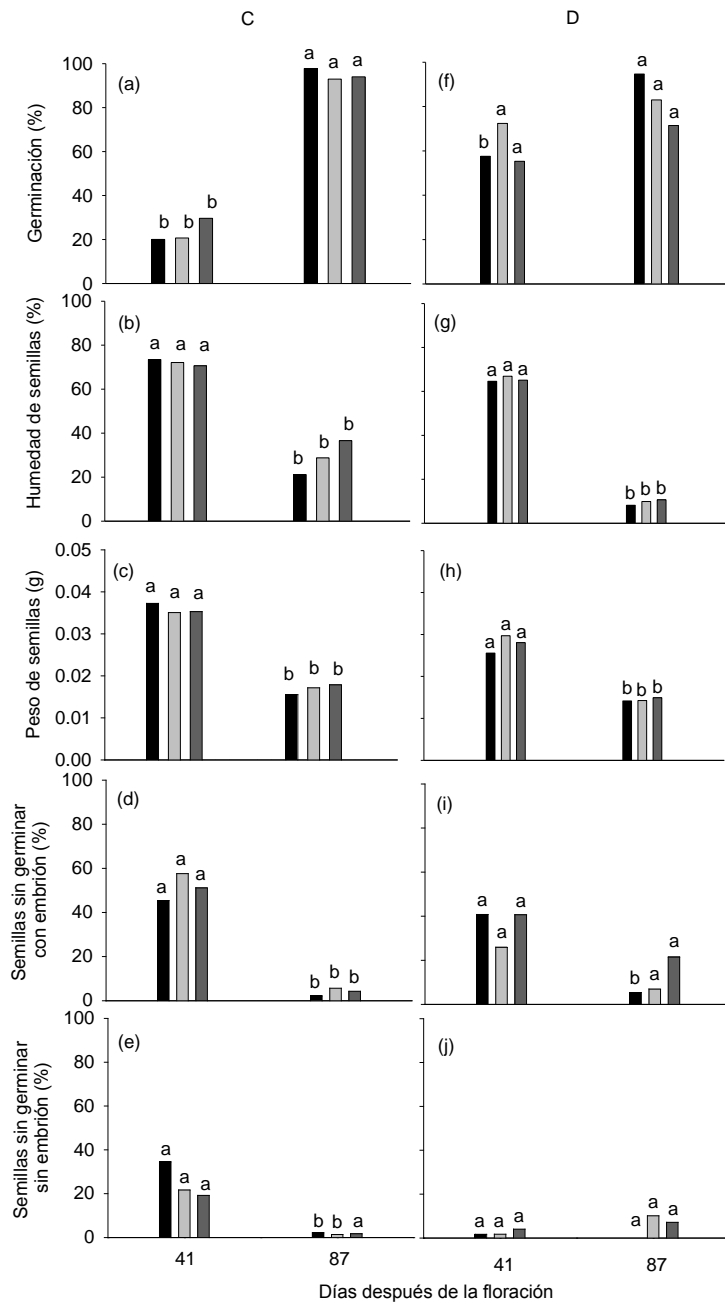


Figura 2.4. *H. perotensis*: germinación, humedad, peso de semillas, semillas sin germinar con embrión y sin embrión de la planta C (a, b, c, d, e) de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y D (f, g, h, i, j) Tepayahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una. Cada grupo de tres columnas representa a la infrutescencia y sus diferentes secciones: apical (■), centro (■) y base (■). Las letras sobre las columnas representan el efecto del tiempo (DDF) en cada sección de la inflorescencia.

2.4.4 Semillas sin germinar .

2.4.4.1 Planta C de Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz

El efecto del tiempo sobre el porcentaje de semillas germinadas con y sin embrión fue significativo ($p \leq 0.05$). Las semillas sin germinar con embriones en toda la infrutescencia paso de $< 57\%$ a $< 6\%$ de los 41 DDF a los 87 DDF respectivamente(Figura 2.4d). El porcentaje de semillas sin germinar sin embrión tambien disminuyo con el tiempo ($<45\%$ a 4%) (Figura 2.4e).

2.4.4.2 Planta D de Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla

El efecto del tiempo sobre el porcentaje de semillas germinadas con y sin embrión no fue significativo ($p > 0.05$) (Figura 2.4i y 2.4j) a excepción de las semillas sin germinar con embrión de la sección apical ($p \leq 0.05$) que disminuyo su porcentaje de 40% a los 41 DDF hasta 5% a los 87 DDF (Figura 2.4i).

2.5 Discusión

Gutterman (1980) indicó que en algunas especies la germinación de la semilla la afectan la posición de las semillas en el fruto, las infrutescencias o la posición de las infrutescencias en la planta, sobre todo en arbustos perennes como el caso de *Mesembryanthemum nodiflorum* en el cual, el grupo terminal de semillas germinaron 8 años después de la cosecha, en luz y oscuridad, hasta 61% , las semillas de la parte central 5.5% y la base 1% . Por el contrario las semillas de ápice, centro y base de las infrutescencias de *H. perotensis* en este estudio no presentaron diferencias en su calidad y germinación.

Gesch *et al.* (2016) indica que la posición de la semilla en el tallo no definió su capacidad para germinar en poblaciones de *T. arvense* y refutó la hipótesis de que las semillas basales y apicales diferirían en su germinación por diferencias en la acumulación de reservas durante el desarrollo de la semilla en la infrutescencia. Por lo tanto, podría haber otros factores que afectan a la calidad de la semilla dentro de la inflorescencia, como las condiciones de crecimiento de la planta madre, la etapa de madurez de las semillas, la presencia de polinizadores, etc. (Gray y Thomas, 1982).

Willson y Price (1977) indican que una planta al producir más flores, puede atraer más polinizadores y asegurar la producción de más semillas. McKinney *et al.* (2012) aseguran que el tiempo de floración de flores entomófilas puede coincidir con la actividad de los insectos para lograr una polinización homogénea (Hegland *et al.*, 2009). *H. perotensis* se encontró en anthesis con insectos polinizadores lo que garantiza la polinización de las flores femeninas, aseguro el desarrollo de las semillas de forma sincrónica y esto se refleja en la calidad de las semillas semejante en las diferentes secciones de la inflorescencia.

El contenido de agua de semillas disminuye gradualmente durante el desarrollo, las reservas de almacenamiento se depositan en vacuolas de almacenamiento, desplazando el agua. Después de la maduración fisiológica, las semillas ortodoxas se deshidratan y maduran (Bewley *et al.*, 2013). Pandit *et al.* (2002) sugieren que la disminución del contenido de humedad en peso fresco de las semillas maduras está estrechamente relacionada con la madurez de la semilla.

Un porcentaje de germinación mayor refleja una mejor calidad de la semilla, con bajo contenido de humedad y se observa claramente en los resultados de esta prueba en la que las semillas de *H. perotensis* evaluadas en este estudio, presentaron porcentajes de

germinación por debajo del 80 % cuando la humedad de las semillas estaba entre 40 y 80 %. La humedad de semillas por debajo del 20 % favoreció un mayor porcentaje de germinación (superior a 80 %).

Bhawna *et al.* (2011) indica que la germinación de *Prunus cerasoides* de ± 58.0 a ± 8.6 % fue cuando el contenido de humedad de las semillas fue de ± 31.96 % y ± 1.42 %. Según Shah (2005) menciona que la madurez de la semilla en *Myrica esculenta* se alcanza cuando el contenido de humedad de la semilla es del 30 %. El contenido de humedad de la semilla también ha sido utilizado como un indicador de madurez confiable por numerosos investigadores (Shah *et al.*, 2010). Shah *et al.* (2006) indicaron que el contenido de humedad del 23.4 al 36.1 % puede asociarse con la germinación óptima de las semillas de *Pyracantha crenulata*.

Bewley *et al.* (2013) mencionan que la madurez fisiológica es el punto cuando el peso seco de la semilla ha alcanzado su valor máximo y la calidad de la semilla con respecto a la germinación y el vigor también se maximiza. Las semillas a partir de este momento solo pueden perder calidad. En soya ocurre a 45 d después de la floración mientras que las semillas siguen siendo intolerantes a la desecación. En semillas de *Caesalpinia lutea* y *C. wrightii* ocurre alrededor de 18 a 21 d (Kaliangile y Grabe, 1988). En semillas de *Helianthus annuus* L. ocurre a los 35 d (Robertson *et al.*, 1978). Las semillas de *Ricinus communis* L. alcanzan su madurez fisiológica cuando tiene 22 % de humedad (Vallejos *et al.*, 2011). *Aesculus indica* Colebr, *Albizzia lebbeck* y *Celtis australis* cuando las semilla presenta 58 %, 52 % y 32% de humedad respectivamente (Majeed *et al.*, 2010; Bhardwaj *et al.*, 2002; Singh, 2006).

En esta investigación cuando las semillas de *H. perotensis* tenían una humedad por debajo del 20 % y germinación ± 80 %, presentaron pesos de semillas de ± 0.79 a 1.10 mg lo que coincide con lo reportado por Elizalde *et al.* (2017) quienes reportan un peso seco de semilla de *H. perotensis* de ± 0.96 mg a 1.10 mg. La acumulación máxima de biomasa de las semillas de *H. perotensis* se observó a 87 d de la floración. De acuerdo a lo mencionado se puede asegurar que la madurez fisiológica y el porcentaje de humedad de las semillas es variable en cada especie.

Sankhla y Chawan (1980) indicaron que las semillas con humedad alta y la inmadurez del embrión puede ser la causa de una mala respuesta de germinación. Debido a que la semilla antes de la desecación está en desarrollo, principalmente anabólico, asociado a la formación del embrión, sus estructuras circundantes y la deposición de las principales reservas de almacenamiento, un grado de secado es necesario para cambiar las semillas de un modo de desarrollo a uno germinativo.

Después de la desecación los eventos relacionados con el desarrollo cesan y con la rehidratación el metabolismo de la germinación comienza (Bewley *et al.*, 2013). Es probable que algunas semillas de *H. perotensis* no presentaran embriones cuando su humedad era superior a 70 %. En otros casos, aunque las semillas con humedad alta sí presentaban embriones no germinaron. Por lo que, en estos casos los embriones probablemente eran inmaduros.

2.6 Conclusiones

El momento en que las semillas alcanzan la madurez fisiológica es específico para cada especie y es fácilmente determinado con la evaluación de humedad, germinación y peso de semilla. *H. perotensis* alcanza la madurez fisiológica de sus semillas a los 87 d después de la floración. El contenido de humedad < 20 % en las semillas de *H. perotensis* favorece su germinación.

2.7 Referencias

- Baskin, C. C. y Baskin, J. M. (1998). Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego, p. 204.
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. y Nonogaki, H. (2013). Physiology of development germination and dormancy. Springer Science Business Media, pp. 27-83.
- Bhardwaj, S. D., Panwar, P. y Kumar, M. (2002). Physical and biochemical changes in seeds as a maturity indices for harvesting *Albizia lebbek* seeds. Journal of hill research. 15(1): 52–55.
- Bhawna, T., Ashish, T., Shruti, S. y Neerja, P. (2011). Physical attributes as indicator of seed maturity and germination enhancement in Himalayan Wild Cherry (*Prunus cerasoides* D. Don.). New Forests. 41:139–146.
- Elizalde, V., García, J. R., Peña-Valdivia, C. B., Ybarra, M. C., Leyva, O. R. y Trejo, C. (2017). Viabilidad y germinación de semillas de *Hechtia perotensis* (Bromeliaceae). Revista de Biología Tropical. 65(1): 153-165.

- Escobedo, S. J. (2012). Mecanismos de dispersión de semillas en las Bromelias. Desde el herbario CICY 4: 22-23. http://www.cicy.mx/sitios/desde_herbario/
- Espejo, S. A., López, F. A. R., Ramírez, M. I. y Martínez, C. N. (2007). Dos nuevas especies de *Hechtia* (Bromeliaceae) de México. *Acta Botánica Mexicana*, 78: 97-109.
- García, E. (1988). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. [Modifications to the climate classify system of *Köppen*] México: Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Gesch, R. W., Royo-Esnal, A., Edo-Tena, E., Recasens, J., Isbell, T. A. y Forcellaa, F. (2016). Growth environment but not seed position on the parent plant affect seed germination of two *Thlaspi arvense* L. populations. *Industrial Crops and Products*. 84:241–247.
- Gray, D. y Thomas, T. H. (1982). Seed germination and seedling emergence as influenced by the position of development of the seed on, and chemical applications to, the parent plant. In: Khan, A.A. (Ed.). *The Physiology and Biochemistry of Seed Development, Dormancy and Germination*. Elsevier Biochemical Press, Amsterdam, pp 81- 110.
- Gutterman, Y. (1980). Annual rhythm and position effect in the germinability of *Mesymbranthemum nodiflorum*. *Israel Journal of Botany*. 29: 93-97.
- Hay, F. R. y Probert, R. J. (1995). The effect of different drying conditions and maturity on desiccation tolerance and seed longevity in *Digitalis purpurea* L. *Annals of Botany*. 76: 639–647.
- Hegland, S. J., Nielsen, A., Lazaro, A., Bjerknes, A. L. y Totland, O. (2009). How does climate warming affect plant-pollinator interactions?. *Ecology Letters*.12: 184–195.

- International Seed Testing Association (2010). International Rules for Seed Testing. Basserdorf, CH Switzerland, p. 47.
- Jiménez, C. F. (2011) Sistemática del complejo *Hechtia glomerata* Zucc. (Bromeliaceae). Tesis de licenciatura., Instituto Tecnológico de Conkal, Conkal, Yucatán, p. 157.
- Kaliangile, I. y Grabe, D. F. (1988). Seed maturation in *Cuphea*. Journal of Seed Technology. 12 (2):107–113.
- Koutecka, E. y Leps, J. (2009). Effect of Light and Moisture Conditions and Seed Age on Germination of Three Closely Related *Myosotis* Species. Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic. 44:109-130.
- Krishnan, R. (2004) Reproductive phenology of endemic under story assemblage in a wet forest of the Western Ghats, south India. Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants. 199 (4): 351–359.
- Leck, M. A., Parker, V. T. y Simpson, R. L. (2008). Seedling ecology and evolution. Cambridge University Press, p. 501.
- Majeed, M., Khan, M. A., Bashir, A. y Qaisar, K.N. (2010). Maturity indices of Indian horse chestnut (*Aesculus indica* Colebr.) seeds under temperate Kashmir conditions. Forestry Studies in China. 12(1): 45–48.
- McKinney, A. M., CaraDonna, P. J., Inouye, D. W., Barr, B., Bertelsen, C. D. y Waser, N. M., 2012. Asynchronous changes in phenology of migrating Broad-tailed Hummingbirds and their early-season nectar resources. Ecology. 93: 1987–1993.
- Mez, C. (1901) Bromeliaceae et *Lauraceae novae* vel adhuc non satis cognitae. Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie. 30 (67):1–20.

- Montes, R. S. (2013). Germinación de especies de la familia Bromeliaceas: aspectos ecológicos y anatómicos. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de México, México, p. 97.
- Moreno, C. P. (1996). Vida y obra de granos y semillas. Fondo de Cultura Económica. México, D. F, p. 205.
- Pandit, A., Pant, K. y Ram, J. (2002). Effect of collection date on capsule moisture content and germination of *Populus ciliata* wall. Ex. Royel from central Himalaya. New For. 23:121–130.
- Pieta, F. C. y Ellis, R. H. (1991). The development of seed quality in spring barley in four environments. I. Germination and longevity. Seed Science Research. 1:163–177.
- Ramírez, M. I. y Carnevali, G. F. (1999). Biología reproductiva de *Hechtia schottii* Baker ex Hemsley (Bromeliaceae), una especie dioica y rara de la Península de Yucatán. Centro de Investigación Científica de Yucatán AC. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. M063. México D. F, p. 29.
- Ramírez, M. I. y Jiménez, C. F. (2012). A new species of *Hechtia* (Hechtioideae: Bromeliaceae) from Puebla, Mexico. Phytotaxa. 42:1–8.
- Ramírez, M. I., Carrillo, R. P., Tapia, M. J. y Cetzal, I. W. (2016) An addition to genus *Hechtia* (Hechtioideae; Bromeliaceae) from Jalisco, Mexico. Phytotaxa., 266 (4): 261–270
- Ramírez, M. I., Espejo, S. A. y López, F. A. (2011). A new species of *Hechtia* (Bromeliaceae) from Chihuahua, México. Novon. 21: 362–367.

- Ramírez, M. I., Jiménez, F. C., Fernández-Concha, G. C. y Pinzón, J. P. (2014). Three new species and growth patterns in *Hechtia* (Bromeliaceae: Hechtioideae). *Phytotaxa*, 178: 113-127.
- Reyes, S. J. (2015). Conservación y restauración de cactáceas y otras plantas suculentas mexicanas. México: Comisión Nacional Forestal, p. 108.
- Robertson, J. A., Chapman, G. W. y Wilson, R. L. (1978). Relation of days after flowering to chemical composition and physiological maturity of sunflower seed. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 55: 226- 269.
- Rzedowski, J. (1978) *Vegetación de México*. Limusa, México, D. F, p. 432.
- Sanhewe, A. J. y Ellis, R. H. (1996) Seed development and maturation in *Phaseolus vulgaris*. II. Post-harvest longevity in air-dry storage. *Journal of Experimental Botany*. 47: 959– 965.
- Sankhla, R. y Chawan, D. D. (1980), Effect of Different Seed Moisture Levels on the Germination Behaviour of *Phaseolus trilobus*. *Biología plantarum*. 22(5): 388-391.
- Shah, S. (2005) Regeneration and nursery technique of *Myrica esculenta*. Tesis de post Doctorado. Kumaun University Nainital, India, p. 146.
- Shah, S., Tewari, A. y Bisht, S. (2006). Seed maturation indicators in *Pyracantha crenulata* Roxb. in Kumaun central Himalaya. *New Forests*. 32:1–7.
- Shah, S., Tewari, A., Tewari, B. y Singh, R. (2010). Seed maturity indicators in *Myrica esculenta*, Buch-Ham. Ex. D. Don.: a multipurpose tree species of subtropical temperate Himalayan region. *New Forests*. 40:9–18.

- Singh, A. (2006). Status and propagation of hackberry (*Celtis* spp.) A multipurpose tree species of Kashmir valley. Tesis de Maestría. University of Agricultural Sciences y Technology of Kashmir, pp. 37–42.
- Vallejos, M., Rondanini, D. y Wassner, F. D. (2011). Water relationships of castor bean (*Ricinus communis* L.) seeds related to final seed dry weight and physiological maturity. *European Journal of Agronomy*. 35: 93–101.
- Willan, R. L. (1985). A guide to forest seed handling. FAO Forestry paper 20/2. FAO, Rome, p. 379.
- Willson, M. F. y Price, P. W. (1977). The evolution of inflorescence size in *Asclepius* (Asclepiadaceae). *Evolution*. 31: 495-511.

**CAPÍTULO III. EFECTO DEL ALMACENAMIENTO, ACONDICIONAMIENTO
Y SECADO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Hechtia perotensis* DE
DOS LOCALIDADES EN MÉXICO**

Violeta Elizalde¹, José Rodolfo García¹, Carlos Trejo¹, Cecilia Beatriz Peña-Valdivia¹, Ma.
Carmen Ybarra², Otto Raúl Leyva³

1. Postgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Carretera México-Texcoco, km 35.5, Estado de México, 56230, México; violeta.elizalde@colpos.mx, garcianr@colpos.mx, cecilia@colpos.mx, cecibetipv@gmail.mx, catre@colpos.mx

2. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km 38.5, Estado de México, 56230, México; agroalim@correo.chapingo.mx

3. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana. Camino a Peñuela s/n. C.P. Peñuela, Amatlán de los Reyes, Ver., México; oleyva@uv.mx

3.1 Resumen

Las semillas se deterioran gradualmente durante el almacenamiento, y esto es un factor que conduce a la pérdida de viabilidad. Para ayudar a la conservación de especies endémicas como *H. perotensis* es necesario conocer las condiciones que preserven sus semillas. Los objetivos de este estudio fueron evaluar la germinación y humedad de semillas recién cosechada, el efecto del almacenamiento de semillas, por 18 meses, a 50 % HR y 25 °C, su acondicionamiento a 30 °C y 100 % HR de semillas almacenadas y recién cosechada a 100 % HR, 30 °C y el secado a 50 °C por 10 días de semillas recién cosechadas. Las hipótesis

fueron que la germinación de las semillas de *H. perotensis* almacenadas a 50 % HR y 25 °C por 18 meses y su acondicionamiento posterior, no demeritan. El secado de las semillas de *H. perotensis* disminuye la germinación. Se evaluó el efecto del almacenamiento de semillas a 50 % HR y 25 °C durante 18 meses, acondicionamiento de semillas almacenadas y recién cosechada a 100 % HR y 30 °C. Asimismo, el efecto del secado de semillas recién cosechadas sobre la germinación y la humedad. Un diseño completamente al azar se utilizó para cada experimento. Cinco repeticiones con 15 semillas por unidad experimental se ensayaron por localidad de estudio (Frijol Colorado o Tepeyahualco). Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). El almacenamiento de las semillas a 50 % HR y 25 °C por 18 meses, el acondicionamiento de las semillas recién cosechadas y su secado no afectaron el porcentaje de germinación. La germinación de las semillas almacenadas 18 meses y acondicionadas, en uno de los casos, disminuyó a 80 %. La humedad de las semillas recién cosechadas, de Tepeyahualco, Puebla, no aumentó significativamente con el acondicionamiento. De acuerdo a los resultados obtenidos en acondicionamiento y secado, es posible afirmar que las semillas de *H. perotensis* una vez que alcanzan su madurez fisiológica pueden soportar condiciones de humedad relativa alta y secado a 50 °C.

3.2 Introducción

Hechtia perotensis es endémica de México y se ha identificado en matorrales xerófilos, entre 2400 y 2500 m de altitud, en Puebla y Veracruz (Espejo *et al.*, 2007). México alberga el número mayor de especies de este género, con aproximadamente 94 % de ellas

endémicas del país (Ramírez *et al.*, 2014). En el caso de especies endémicas como *H. perotensis* es necesario conocer las condiciones en las que se pueden preservar sus semillas y las estrategias de conservación.

La Estrategia Mundial para la Conservación de las Plantas (EMCP) proporciona el marco general para la conservación de las plantas del mundo. La EMCP exige: que al menos 75 % de las especies de plantas amenazadas se resguarden en colecciones *ex situ*, preferiblemente en el país de origen, y al menos el 20 % se incorporen a programas de recuperación y restauración para 2020 (CBD, 2010).

México, Brasil y China han desarrollado respuestas nacionales al EMCP; otros países las han implementado a través de sus estrategias y planes de acción nacionales sobre biodiversidad. Es el caso de los bancos de semillas, que conservan principalmente semillas de especies que se cultivan. En las últimas dos décadas, aumentó el número de jardines botánicos y otras instituciones botánicas que han establecido bancos de semillas con el propósito de conservar plantas silvestres (Fahey *et al.*, 2013).

El sistema mundial de información y alertas sobre recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura reporta en su colección de germoplasma *ex situ* a *H. confusa*, *H. glomerata*, *H. podantha*, *H. tehuacana*, *H. texensis* (FAO, 2018). En el Banco de germoplasma del Centro de Investigación Científica de Yucatán, se están desarrollando proyectos que incluyen sistemática y filogenia de *Hechtia* (Bromeliaceae), que ayudan a la conservación del género *Hechtia* (CICY, 2018).

Las semillas de *H. perotensis* se clasifican como ortodoxas. Estas semillas pueden sobrevivir a la desecación, con 3 a 7 % de humedad, en temperaturas a -20 °C por tiempo indefinido (Hay *et al.*, 2000).

El deterioro de las semillas es un problema en los países en desarrollo, donde generalmente se almacenan sin un control de humedad y temperatura (Bijan-zadeh *et al.*, 2017). Las semillas ortodoxas se deterioran gradualmente y pierden viabilidad durante el almacenamiento. El envejecimiento de las semillas conduce a una reducción en la germinación, y aquellas que sí germinan producen plántulas débiles. La tasa de pérdida de viabilidad de la semilla depende principalmente de su contenido de humedad y de la humedad y la temperatura de almacenan (Bewley *et al.*, 2013).

Una regla utilizada para el almacenamiento de semillas conocida como Regla de James es la temperatura (en Fahrenheit) más la HR del aire (en porcentaje) debe totalizar menos de 100 para un almacenamiento de semillas satisfactorio. Por ejemplo, si el RH es del 50%, la temperatura de almacenamiento no debe ser superior a 50 ° F (10 °C) para almacenamiento comercial (Bewley *et al.*, 2013).

La regla de Harrington establece que la vida de almacenamiento se duplicará aproximadamente por cada 10 ° F (5.6 °C) de disminución de temperatura y cada 1% de disminución en el contenido de humedad de la semilla para temperaturas entre 0 y 40 °C y contenidos de humedad entre 5 y 14%; por ello, estos factores se regulan en la semilla y en el almacenamiento para la conservación de germoplasma. Otros factores contribuyen al deterioro de las semillas, entre ellos están las especies reactivas al oxígeno y la oxidación química (Bewley *et al.*, 2013).

Los objetivos de este estudio fueron evaluar el efecto del almacenamiento a 25 °C y 50 % HR por 18 meses en la germinación de las semillas de *H. perotensis*; evaluar la germinación de semillas recién cosechadas y almacenadas por 18 meses ambas,

acondicionadas a 100 % HR y 30 °C y el efecto del secado (50 °C) de las semillas con contenido de humedad inicial de 4.5 %.

Las hipótesis fueron que el almacenamiento en HR de 50 % y a 25 °C por 18 meses y su acondicionamiento posterior, modifica el porcentaje de germinación de las semillas de *H. perotensis*. El secado de las semillas a 50 °C por 10 días disminuirá la germinación de semillas de *H. perotensis*.

3.3 Materiales y Métodos

3.3.1 Localidades de recolecta

Las cápsulas de *H. perotensis* se recolectaron en las localidades: Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz (19° 32' 13.95" N, 97° 22' 98" O y altitud de 2416 m) y Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla (19° 25' 11" N, 97 °24' 38" O y altitud de 2326 m) (geolocalización con Garmin eTrex 10 y Google Earth®).

3.3.1.1 Experimento I. Almacenamiento

Las cápsulas de dos plantas de la localidad Frijol Colorado, se cosecharon en marzo 2015, se extrajeron las semillas y se cuantificó su germinación. Otro grupo de semillas se mantuvo con 50 % de HR, en bolsas metalizadas cierre hermético, a 25 ± 1 °C por 18 meses y se determinó la germinación.

3.3.1.2 Experimento II. acondicionamiento de las semillas almacenadas 18 meses

Una cámara de vidrio hermética de 1 L con 50 mL de agua destilada se mantuvo a 30 °C en una estufa (Esco Isotherm, modelo: IFA-32-9) por un día. En esas condiciones la humedad dentro de la cámara de vidrio era 100 %.

Otro lote de semillas se almacenó por 18 meses como en el experimento I. Muestras de 75 semillas por planta (dos plantas) se colocaron en cinco sacos de tul blanco (orificios de 1 mm) con 15 semillas cada saco y se expusieron a las condiciones de la cámara de vidrio por 0, 24 y 48 h. Después de cada periodo de acondicionamiento se determinó el porcentaje de germinación y el contenido de humedad.

3.3.1.3 Experimento III. Acondicionamiento de semillas recién cosechadas de la localidad Frijol Colorado

En septiembre de 2016 se recolectaron cápsulas con semillas de una planta de la localidad Frijol Colorado. La humedad inicial y la germinación de las semillas se determinaron. El lote completo de las semillas se colocó en bolsas metalizadas con cierre hermético y se mantuvieron a 25 ± 1 °C y 50 % HR, por 5 d. Cinco sacos de tul blanco (orificios de 1 mm) con 15 semillas cada saco se acondicionaron en una cámara de vidrio hermética de 1 L con 50 mL de agua destilada por 24, 48, 72, 120 h a 100 % HR y 30 °C. El contenido de humedad y la germinación se evaluaron al inicio y después de cada periodo de acondicionamiento.

3.3.1.4 Experimento IV. Acondicionamiento de semillas recién cosechadas de la localidad Tepeyahualco

En septiembre de 2016 se recolectaron cápsulas con semillas de una planta de la localidad de Tepeyahualco. La germinación y la humedad de las semillas se determinaron. El lote completo de semillas se colocó en bolsas metalizadas con cierre hermético y se mantuvieron a 25 ± 1 °C, 50 % HR, por 5 d. Cinco sacos de tul blanco (orificios de 1 mm) con 15 semillas cada saco se acondicionaron en una cámara de vidrio hermética de 1 L con 50 mL de agua destilada por 0, 24, 48, 72, 120 h a 100 % HR y 30 °C. El contenido de humedad y la germinación se evaluaron al inicio y después de cada periodo de acondicionamiento.

3.3.1.5 Experimento V. Secado

En septiembre 2016, se tomó un grupo de semillas de las localidades de Frijol Colorado y Tepeyahualco, pertenecientes a los lotes de semillas utilizadas en los experimentos III y IV. Cinco repeticiones con 15 semillas por unidad experimental por localidad de recolecta (tratamiento), se colocaron en una estufa de secado (Riossa) a 50 ± 1 °C durante 10 d. El contenido de humedad y la germinación después del secado (10 d de secado) se determinó y se comparó con el porcentaje de germinación y humedad inicial (0 d de secado).

3.3.2 Contenido de humedad

El contenido de humedad de las semillas se determinó con la siguiente fórmula (FAO, 2018a):

$$\text{Contenido de humedad} = \left(\frac{\text{Peso fresco} - \text{peso seco}}{\text{Peso fresco}} \right) \times 100$$

El peso fresco se obtuvo de 15 semillas, con cinco repeticiones por infrutescencia. Las semillas se colocaron en una estufa de secado (Riossa) a 50 ± 1 °C hasta peso constante (5 d).

3.3.3 Germinación

La germinación se evaluó con cinco repeticiones, en cada una se colocaron 15 semillas en cajas petri con papel filtro humedecido. Las semillas se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio comercial (60 gL^{-1} de Cl activo) al 1 % (v: v en agua).

Las cajas petri se colocaron en una cámara con ambiente controlado (Thermo Scientific. EE.UU.; modelo 846), a 25 ± 1 °C y fotoperiodo 12 x 12 h ($12 \mu\text{molm}^{-1}\text{s}^{-1}$ de irradiación). Las semillas germinadas se contabilizaron a los 8 d de establecido el ensayo y después de 15 d se cuantificó la germinación total (International Seed Testing Association, 2010).

3.3.4 Diseño experimental

Un diseño completamente al azar se utilizó para cada uno de los experimentos. Cinco repeticiones con 15 semillas por unidad experimental se ensayaron por localidad de estudio (Frijol Colorado o Tepeyahualco). Se evaluó el efecto del almacenamiento de semillas a 50 % HR y 25 °C durante 18 meses, acondicionamiento de semillas almacenadas y recién cosechada a 100 % HR y 30 °C. Asimismo, el efecto del secado de semillas recién cosechadas sobre la germinación y la humedad. Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de tratamientos de Tukey ($\alpha = 0.05$).

3.4 Resultados

3.4.1 Experimento I. almacenamiento

El almacenamiento de las semillas por 18 meses a 25 ± 1 °C y 50 % HR no tuvo efecto significativo ($p > 0.05$) sobre la germinación. La germinación de las semillas de ambas plantas fue similar al de las semillas sin almacenar (92 y 89 % en la plata uno y dos) (Figura 3.1).

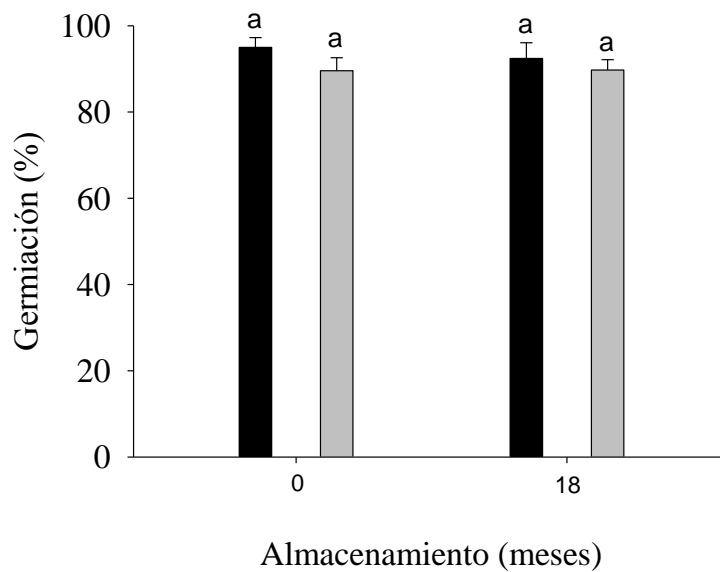


Figura 3.1. Germinación de semillas de *H. perotensis* de la localidad Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz sin almacenamiento (0 meses) y almacenadas (18 meses) a 25 ± 1 °C) y 50 % HR. Planta uno (■) y planta dos (□). Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del almacenamiento en las semillas de cada infrutescencia.

3.4.2 Experimento II. Acondicionamiento de semillas almacenadas 18 meses

El acondicionamiento de semillas con 100 % de HR y a 30 °C, por 24 y 48 h con almacenamiento previo por 18 meses (25 °C y 50 % HR), mostró efecto significativo ($p \leq 0.05$) en la germinación de la planta uno recolectada en la localidad de Frijol Colorado. Las semillas a las 48 h de almacenamiento disminuyeron (a 80 %) significativamente la germinación, (Figura 3.2). El acondicionamiento no afectó ($p > 0.05$) la germinación de la planta dos y se mantuvo mayor a 90 %.

El acondicionamiento de las semillas a 100 % de HR y 30 °C por 24 y 48 h después del almacenamiento por 18 meses (25 °C y 50 % HR) tuvo un efecto significativo ($p \leq 0.05$) en la humedad, la cual a las 48 h de acondicionamiento aumentó hasta siete veces la humedad inicial de las semillas en ambas muestras recolectadas de la localidad de Frijol Colorado (Figura 3.2).

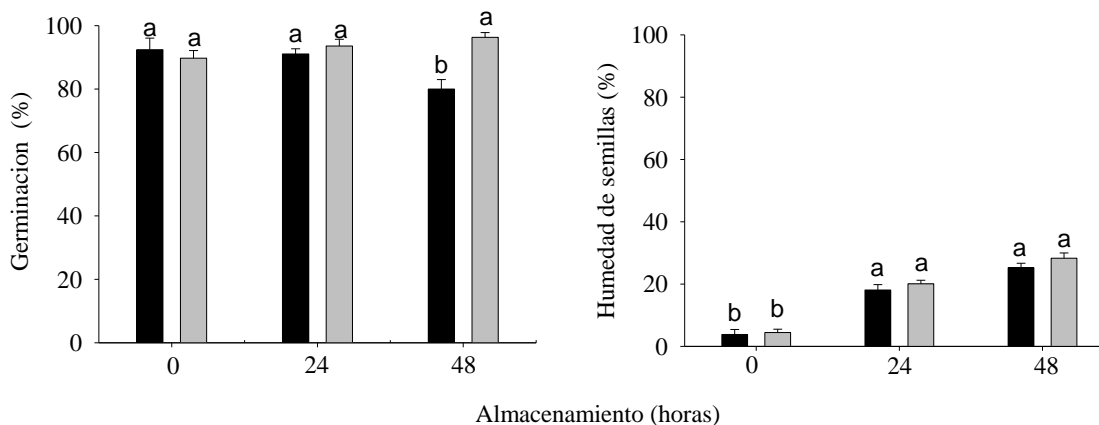


Figura 3.2. Germinación y contenido de humedad de semillas de *H. perotensis* de la localidad Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz. Planta uno (■) y planta dos (□); almacenadas (18 meses) a 25 ± 1 °C y 50 % HR y posterior al acondicionamiento a 100 % HR a 30 °C durante 0, 24 y 48 h. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del almacenamiento en cada infrutescencia.

3.4.3 Experimento III. Acondicionamiento de semillas recién cosechadas de la localidad Frijol Colorado

El acondicionamiento de las semillas de la localidad de Frijol Colorado (recolectadas en septiembre 2016) a 100 % HR y 30 °C por 24, 48, 72 y 120 h no fue significativo ($p > 0.05$) en la germinación, la cual, a través del tiempo se conservó superior a 95 % (Figura 3.3). El acondicionamiento afectó significativamente ($p \leq 0.05$) la humedad de las semillas. A las 24 h de acondicionamiento la humedad incrementó a 15 % (Figura 3.3).

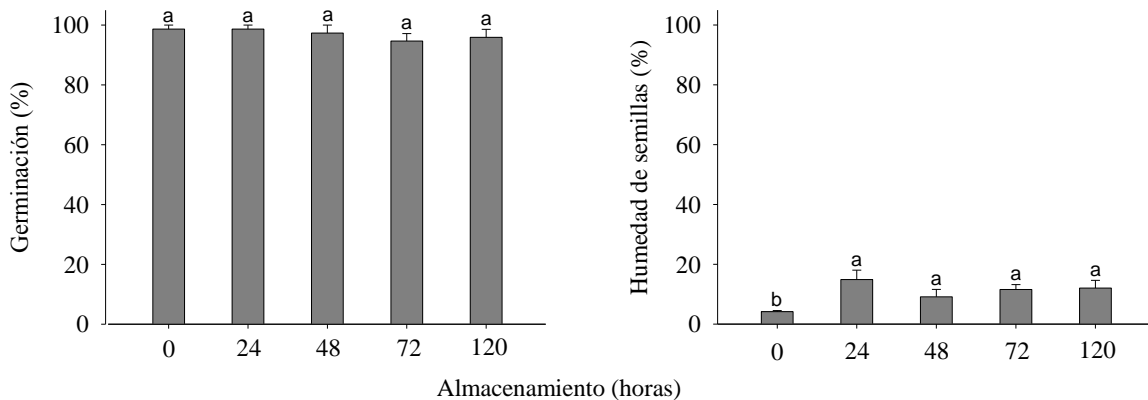


Figura 3.3. Germinación y contenido de humedad de semillas de *H. perotensis* recién cosechadas de la localidad de Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz, sin acondicionamiento (0) y acondicionadas durante 0, 24, 48, 72 y 120. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del almacenamiento en las semillas de cada infrutescencia.

3.4.4 Experimento IV. Acondicionamiento de semillas recién cosechadas de la localidad Tepeyahualco

El acondicionamiento a 100 % HR y 30 °C por 24, 48, 72 y 120 h, de las semillas de la localidad de Tepeyahualco, recolectadas en septiembre 2016, no modificó ($p > 0.05$) la

humedad (menor a 10 %) de las semillas ni la germinación (mayor a 95 %) en ninguno de los periodos de almacenamiento (Figura 3.4).

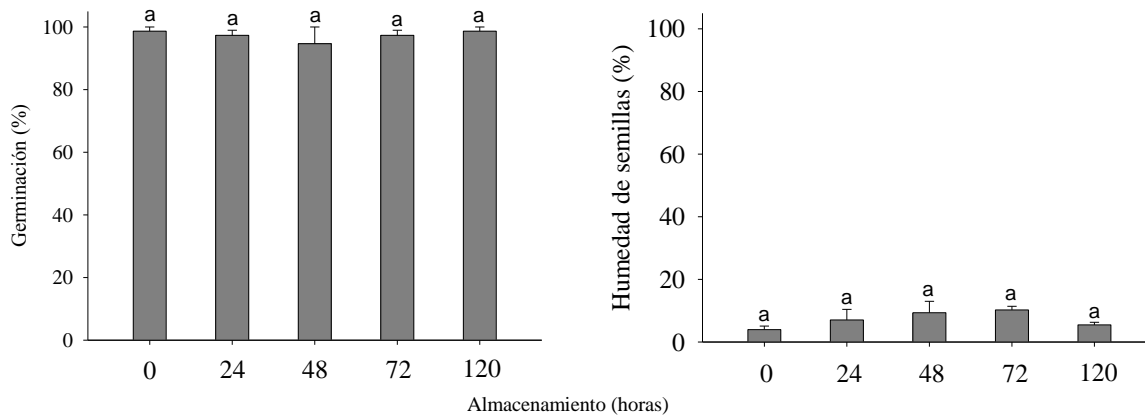


Figura 3.4. Germinación y contenido de humedad de semillas de *H. perotensis* recién cosechadas de la localidad Tepeyahualco Laguna de Alchichica, Puebla, con acondicionamiento a 100 % HR y 30 °C durante 0, 24, 48, 72 y 120 h. Cada columna representa el promedio de cinco repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del almacenamiento en las semillas de cada infrutescencia.

3.4.5 Experimento V. Secado

El secado a 50 °C, por 10 d, no afectó significativamente ($p > 0.05$) la germinación de las semillas recolectadas en la localidad de Frijol colorado y Tepeyahualco ($p \leq 0.05$). La humedad a los 10 d de secado no se modificó en semillas se mantuvo constante a partir de los cinco d de secado. La humedad inicial de las semillas recolectadas en la localidad de Frijol Colorado y Tepeyahualco fue de 4.5 % y 4.0 %, respectivamente. La humedad a los 10 d de secado mostró un 0 %, debido a que el peso de las semillas se mantuvo constante a partir de los cinco d de secado (Figura 3.5).

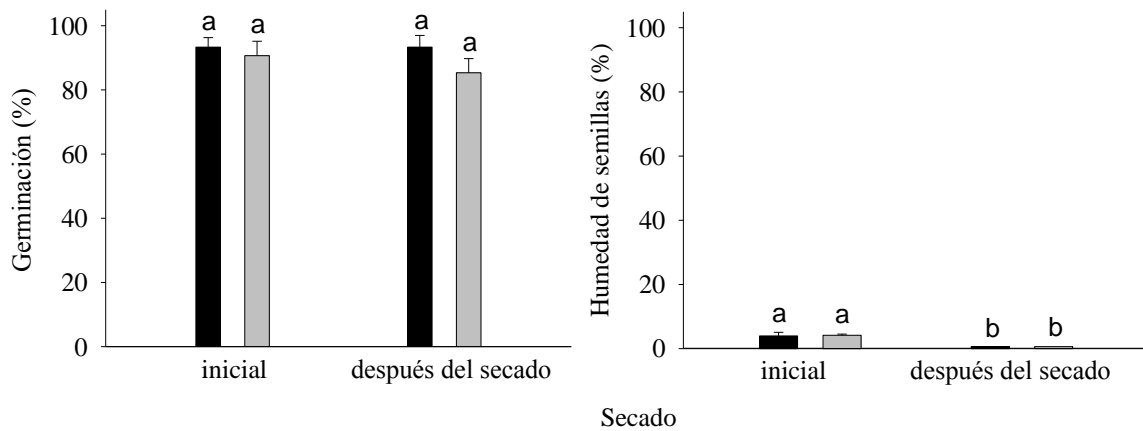


Figura 3.5. Germinación y humedad de semillas de *H. perotensis* de las localidades Frijol Colorado, Municipio de Perote, Veracruz (■) y de Tepeyahualco Laguna de Alchichica, Puebla (■), al inicio y después del secado a 50 °C durante 10 d. Cada columna representa el promedio de cuatro repeticiones, con 15 semillas cada una + error estándar. Tukey ($\alpha = 0.05$). Las letras sobre las columnas representan el efecto del secado en las semillas de cada infrutescencia.

3.5 Discusión

Las semillas pueden sobrevivir en un estado seco durante años dependiendo de cada especie (Porsild *et al.*, 1967; Steiner y Ruckenbauer, 1995; Sallon *et al.*, 2008). Sin embargo, los mecanismos de envejecimiento en las semillas aún son poco conocidos (McDonald, 1999; Kranner *et al.*, 2010; Walters *et al.*, 2010). La tasa de deterioro de las semillas depende de las condiciones de almacenamiento, y se han realizado intentos para cuantificar el efecto del contenido de agua y la temperatura en la longevidad de la semilla (Ellis y Roberts, 1980; Pritchard y Dickie, 2003).

Esta investigación mostró que las semillas de *H. perotensis* una vez recolectadas con un porcentaje de germinación superior a 80 % se pueden almacenar 18 meses a 25 °C y 50 % HR, sin alteración significativa en la germinación.

Kumar y Sharma (2017) secaron semillas de *Rheum australe* al ambiente, con sombra, las almacenaron en un recipiente hermético a 15 ± 3 °C y determinaron su germinación. La germinación fue 82, 80 y 86% al inicio y después de 6 y 12 meses de almacenamiento. Sin embargo los autores no reportaron humedad inicial ni final de las semillas. Estos resultados exponen que las condiciones de almacenamiento varían entre especie. El uso de recipientes herméticos y el secado de la semilla son factores que pueden preservar o disminuir la germinación.

Pereira *et al.* (2016) mencionó que el contenido de humedad de 6.0 a 8.0 % permite la mejor conservación de las semillas de *Acrocomia aculeata* hasta por un año y la temperatura de almacenamiento de 10 °C es perjudicial para la viabilidad de la semilla. En

el caso de *H. perotensis* es necesario realizar otros estudios que permitan determinar cuánto tiempo se pueden almacenar las semillas a 25 °C y 50 % HR.

Leinonen (1998) recolectó semillas de *Picea abies* con 24.1 % de humedad y las secó hasta 5.0 o 6.0 % de humedad. Posteriormente las almacenó en obscuridad en recipientes sellados que contenían aire y solución salina saturada (25.0 y 75.0 % de HR, y a 5.0 y 12.0 °C). Los resultados indicaron que la probabilidad de germinación se vio afectada en mayor proporción con el aumento de la HR de 25.0 a 75.0 % a 5.0 °C que con un aumento de la temperatura de 5.0 a 12.0 °C a 25.0 % de HR. Después del almacenamiento a 75.0 % de HR y 12.0 °C, la probabilidad de germinación disminuyó a 0 %.

En el caso de las semillas de *H. perotensis* a pesar de que la humedad relativa a la que se acondicionaron fue de 100 % la germinación se mantuvo superior al 95 % con excepción de las semillas de la localidad de Frijol Colorado, Municipio de Perote con 18 meses de almacenamiento a 25 °C con humedad de 4.44 % y acondicionadas después a 100 % HR y 30 °C en las que la germinación fue de 80 %. Se puede apreciar que el efecto de la humedad relativa a la que se almacenan las semillas, en la germinación varía entre cada especie.

. El contenido crítico de agua para almacenamiento es el valor por debajo del cual la longevidad no muestra ninguna mejora adicional (Ellis *et al.*, 1989; Vertucci y Roos, 1990) y varía con la temperatura de almacenamiento, aumentando la longevidad a medida que disminuye (Vertucci y Roos 1993; Walters, 1998; Ellis y Hong, 2006). Los efectos del secado por debajo de este valor crítico del contenido de agua aún están bajo discusión. Los informes sobre este tema son contradictorios, y los datos muestran que el secado por debajo del contenido crítico de agua a temperaturas altas (35-65 °C) es perjudicial para la

longevidad de la semilla (Vertucci *et al.*, 1994; Li *et al.*, 2008; Niedzielski *et al.*, 2009) o no tiene efecto (Ellis *et al.*, 1989; Hong *et al.*, 2005; Ellis y Hong, 2007), en algunos casos no se detectó contenido crítico de agua (Ellis *et al.*, 1990).

En este estudio, el secado a 50 °C por 10 d no afectó la germinación de las semillas de *H. perotensis*, pero existen otras especies en las que el secado afecta a su germinación. Mira *et al.* (2015) reportaron que el efecto de la desecación extrema a 45 °C en semilla de siete especies de Brassicaceae es variable entre estas especies, tres de siete especies mostraron aparentes efectos nocivos por exceso de secado. Mira *et al.* (2015) reportó peso seco de semillas de 0.009 g hasta 0.212 g, después de secado, sin embargo, no indicó el contenido de humedad inicial en las semillas.

Kumar y Sharma (2017) mostró que la germinación de las semillas de las mismas especies puede variar, algunas cualitativamente, dependiendo del hábitat, ubicación, el tiempo de recolección, la duración del almacenamiento y las condiciones de almacenamiento. Los hallazgos obtenidos con una población específica podrían no ser necesariamente generalizados.

3.6 Conclusión

El almacenamiento de semillas de *H. perotensis* a 25 °C durante 18 meses, el acondicionamiento de las semillas recién cosechadas y el secado no afectan el porcentaje de germinación.

Dieciocho meses de almacenamiento a 25 °C de las semillas con humedad de 4.44 % y acondicionadas después, disminuye la germinación en el caso de semillas recolectadas en la localidad de Frijol Colorado, Municipio de Perote

La humedad de las semillas no aumentó significativamente con el acondicionamiento en semillas recién cosechadas de la localidad de Tepeyahualco, Puebla.

El secado disminuyó significativamente la humedad de semillas de *H. perotensis*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en acondicionamiento y secado, es posible afirmar que las semillas de *H. perotensis* una vez que alcanzan su madurez fisiológica pueden soportar condiciones de humedad relativa alta y secado a 50 °C.

3.7 Referencias

- Bewley, J., Bradford, K., Hilhorst, H. y Nonogaki, H. (2013). Physiology of development germination and dormancy. Springer Science Business Media. pp. 27-83.
- Bijanzadeh, E., Naderia, R., Nosratib, K. y Egan, P. (2017). Effects of accelerated ageing on germination and biochemistry of eight rice cultivars. *Journal of Plant Nutrition*. 40 (2): 156-164.
- CBD (2010). Conference of the Parties 10 Decision X/17. Consolidated Update of the Global Strategy for Plant Conservation 2011- 2020. Secretariat of the Convention on Biological Diversity. www.cbd.int/doc/decisions/cop-10/cop-10-dec-17-en.pdf. Consultada en mayo 2018.
- CICY (2018). Centro Público de Investigación del Sistema CONACYT. www.cicy.mx/sitios/germoplasma. Consultada en mayo 2018.
- Ellis, R. y Hong, T. (2006). Temperature sensitivity of the low-moisture-content limit to negative seed longevity–moisture content relationships in hermetic storage. *Annals of Botany*. 97: 785– 791.

- Ellis, R. y Hong, T. (2007). Quantitative response of the longevity of seed of twelve crops to temperature and moisture in hermetic storage. *Seed Science and Technology*. 35: 432–444.
- Ellis, R. y Roberts, E. (1980). Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany*. 45: 13–30.
- Ellis, R., Hong, T. y Roberts, E. (1989). A comparison of the low moisture content limit to the logarithmic relation between seed moisture and longevity in 12 species. *Annals of Botany*. 63: 601–611.
- Ellis, R., Hong, T., Roberts, E. y Tao, K. (1990). Low moisture content limits to relations between seed longevity and moisture. *Annals of Botany*. 65: 493–504.
- Espejo, S., López, F., Ramírez, M. y Martínez, C. (2007). Dos nuevas especies de *Hechtia* (Bromeliaceae) de México. *Acta Botánica Mexicana*, 78: 97-109.
- Fahey, M., Martyn, A. y Offord, C. (2013). Historic seed collections germinated for the Australian Plant Bank opening. *Australasian plant conservation. Australian Network for Plant Conservation*. 22 (3): 7-8.
- FAO (2018). World Information and Early Warning System on PGRFA. www.fao.org/wIEWS-archive/germplasm_species.jsp?species=H. Consultada en mayo 2018.
- FAO (2018a). Capítulo 9. Ensayo de la Semilla. Determinación del Contenido de Humedad. <http://www.fao.org/docrep/006/AD232S/ad232s13.htm>. Consultada en mayo 2018.

- Hay, F., Probert, R., Marro, J. y Dawson, M. (2000). Towards the ex situ conservation of aquatic angiosperms: a review of seed storage behaviour. *Seed Biology: Advances and Applications*. CAB International, Wallingford, UK. pp. 161–177.
- Hong, T., Ellis, R., Astley, D., Pinnegar, A., Groot, S. y Kraak, H. (2005). Survival and vigour of ultra-dry seeds after ten years of hermetic storage. *Seed Science and Technology*. 33: 449–460.
- International Seed Testing Association (2010). *International Rules for Seed Testing*. Basserdorf, CH Switzerland.
- Kranner, I., Minibayeva, F., Beckett, R. y Seal, C. (2010). What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytologist*. 188: 655–673.
- Kumar, S. y Sharma, S. (2017). Seed longevity, germination and seedling vigour of *Rheum australe* D.Don: A step towards conservation and cultivation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 5: 47–52.
- Leinonen, K. (1998). Effects of storage conditions on dormancy and vigor of *Picea abies* seeds. *New Forests* 16: 231–249.
- Li, Y., Qu, J., Yang, X. y An, L. (2008) A report on ultradry storage experiment of *Zygophyllum xanthoxylon* seeds. *Botanical Studies*. 49: 243–251.
- McDonald, M. B. (1999) Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*. 27: 177–237.
- Mira, S., Estrelles, E. y Gonzalez, M. (2015). Effect of water content and temperature on seed longevity of seven Brassicaceae species after 5 years of storage. *Plant Biology*. 17: 153–162.

- Niedzielski, M., Walters, C., Luczak, W., Hill, L., Wheeler, L. y Puchalski J. (2009). Assessment of variation in seed longevity within rye, wheat and the intergeneric hybrid triticale. *Seed Science Research*. 19: 213–224.
- Pereira, S., Yoshimitsu, M., Carvalho, M., Naomi, K., Euclides, L. y Marcos, S. (2016). Storage on the vigor and viability of macauba sedes from two provenances of Minas Gerais State. *Ciencia Rural, Santa María*. 46 (11):1932-1937.
- Porsild, A., Harington, C. y Mulligan, G. (1967) *Lupinus arcticus* Wats. Grown from seeds of Pleistocene age. *Science*. 158 (3797): 113-114.
- Pritchard, H. y Dickie, J. (2003) Predicting seed longevity: the use and abuse of seed viability equations. *Seed conservation: turning science into practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, London, UK. pp. 653–721.
- Ramírez, M., Jiménez, F., Fernández C. y Pinzón, J. (2014). Three new species and growth patterns in *Hechtia* (Bromeliaceae: Hechtioideae). *Phytotaxa*. 178: 113-127.
- Sallon, S., Solowey, E., Cohen, Y., Korchinsky, R., Egli, M., Woodhatch, I., Simchoni y O., Kislev, M. (2008). Germination, genetics, and growth of an ancient date seed. *Science*. 320 (5882): 1464- 1464.
- Steiner, A. y Ruckenbauer, P. (1995). Germination of 110- year-old cereal and weed seeds, the Vienna Sample of 1877. Verification of effective ultra-dry storage at ambient temperature. *Seed Science Research*. 5: 195–199.
- Vertucci, C. y Roos, E. (1990). Theoretical basis of protocols for seed storage. *Plant Physiology*. 94: 1019–1023.

- Vertucci, C. y Roos, E. (1993). Theoretical basis of protocols for seed storage. II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Science Research*. 3: 201–213.
- Vertucci, C., Roos, E. y Crane J. (1994). Theoretical basis of protocols for seed storage. III. Optimum moisture contents for pea seeds stored at different temperatures. *Annals of Botany*. 74: 531–540.
- Walters, C. (1998). Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Science Research*. 8: 223–244.
- Walters, C., Ballesteros, D. y Vertucci V. (2010). Structural mechanics of seed deterioration: Standing the test of time. *Plant Science*. 179: 565–573.

5. CONCLUSIONES GENERALES

La humedad relativa y la temperatura de las localidades de: Frijol Colorado, municipio de Perote, Veracruz y Tepeyahualco en la Laguna de Alchichica, Puebla fueron semejantes durante el período de investigación. Esta podría haber favorecido que el desarrollo de la fase reproductiva de *H. perotensis* en las dos localidades estudiadas fue similar.

El momento en que las semillas alcanzan la madurez fisiológica es específico para cada especie y es posible determinarlo con la evaluación de humedad, germinación y peso de semilla.

La germinación de las semillas recolectadas *in situ* fue superior al 80 % a los 87 d después de la floración y la germinación de las semillas de plantas *ex situ* (trasplantadas en el Campus Montecillo) sobrepaso el 70 % a los 30 d después de la floración. Probablemente debido al estrés de la planta por el trasplante.

El contenido de humedad de 3.9 % a 20 % en las semillas de *H. perotensis* favorece su germinación. Sus semillas se pueden almacenar a 25 °C durante 18 meses con una humedad de 4.5 % y mantener el porcentaje de germinación que tenían al momento de la recolecta.

El acondicionamiento de las semillas recién cosechadas y el secado no afectan el porcentaje de germinación. Dieciocho meses de almacenamiento a 25 °C de las semillas con humedad de 4.5 % y acondicionadas después, disminuye la germinación en el caso de semillas recolectadas en la localidad de Frijol Colorado, Municipio de Perote.

La humedad de las semillas no aumentó significativamente con el acondicionamiento en semillas recién cosechadas de la localidad de Tepeyahualco, Puebla. La humedad de las semillas en el acondicionamiento se mantuvo por debajo del 30 %, este porcentaje de humedad no disminuyó el porcentaje de germinación respecto a la germinación inicial de las semillas.

La información obtenida de la fenología reproductiva de *H. perotensis*, de acondicionamiento, de secado y de madurez fisiológica de las semillas, puede ser una pauta para estudios posteriores de esta especie.

La determinación del momento adecuado de cosecha permite obtener semillas con germinación que sobrepase el 80 %, para su estudio o conservación. Pero es necesario realizar otros estudios para determinar las condiciones en las que las semillas de *H. perotensis* se deterioran *in situ* y el tiempo de almacenamiento en que pueden permanecer almacenadas para su conservación.

De acuerdo a los resultados obtenidos en acondicionamiento y secado, es posible afirmar que las semillas de *H. perotensis* una vez que alcanzan su madurez fisiológica pueden soportar condiciones de humedad relativa alta y secado a 50 °C, pero se desconoce, cuanto tiempo pueden permanecer en estas condiciones y los mecanismos que hacen que conserven su capacidad de germinación.