



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

Características bioquímico-fisiológicas de la germinación y desarrollo de plantas jóvenes de maguey (*Agave*) y su relación con la especie, temperatura y potencial de agua del sustrato

HUGO MAGDALENO RAMÍREZ TOBÍAS

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2010

La presente tesis titulada “**Características bioquímico-fisiológicas de la germinación y desarrollo de plantas jóvenes de maguey (Agave) y su relación con la especie, temperatura y potencial de agua del sustrato**”, realizada por el alumno **Hugo Magdaleno Ramírez Tobías**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS
BOTÁNICA**

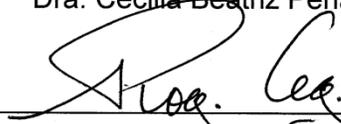
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA



Dr. Cecilia Beatriz Peña Valdivia

ASESOR



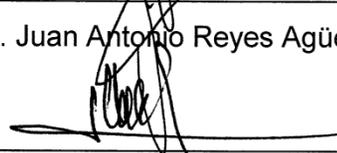
Dr. Juan Rogelio Aguirre Rivera

ASESOR



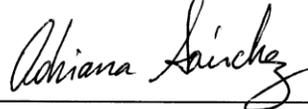
Dr. Juan Antonio Reyes Agüero

ASESOR



Dr. Salvador Valle Guádarrama

ASESORA



Dr. Adriana Beatriz Sánchez Urdaneta

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2010

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICO-FISIOLÓGICAS DE LA GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE MAGUEY (*Agave*) Y SU RELACIÓN CON LA ESPECIE, TEMPERATURA Y POTENCIAL DE AGUA DEL SUSTRATO

Hugo Magdaleno Ramírez Tobías, Dr
Colegio de Postgraduados, 2010

Los procesos fisiológicos como la germinación y el crecimiento de las especies de *Agave* son modificados por los factores ambientales en función de las características climáticas prevalecientes en las áreas de distribución de las especies. Para probar esta hipótesis se evaluó la germinación de las semillas de ocho especies de *Agave* en un gradiente de temperatura entre 10 y 40 °C y de potencial de agua (ψ) de -0.03 a -1.5 MPa en condiciones de laboratorio, y el efecto de la disminución del ψ del sustrato (desde -0.7 hasta -6.0 MPa, con un promedio de -3.5) en plantas jóvenes de las mismas especies durante 14 meses en condiciones de invernadero. La germinación acumulada (GA) máxima (90% o mayor) se registró alrededor de 25 °C y con -0.03 MPa entre 80 y 190 h, excepto en *A. angustifolia* ssp. *tequilana* que alcanzó 26% en 30 °C. La GA máxima en *A. americana*, *A. lechuguilla*, *A. striata* y *A. salmiana* se mantuvo ($p > 0.05$) desde 15 hasta 33 °C con -0.03 MPa, y desde -0.03 a -1.5 MPa a 25 °C; en cambio, en *A. asperrima* y *A. cupreata* la germinación fue máxima sólo entre 15 y 25 y 25 y 30 °C, respectivamente, con -0.03 MPa; pero, con -1.5 MPa a 25 °C decreció hasta 30%. Las plantas jóvenes en el sustrato deshidratado (con disminución del ψ de -0.7 hasta -6.0 MPa) durante 14 meses, en comparación con las mantenidas en el sustrato hidratado (-0.7 MPa): duplicaron ($p < 0.05$) el contenido de prolina radical hasta 1 $\mu\text{mol } 100 \text{ mg}^{-1}$; excepto en *A. lechuguilla* y *A. striata*; cuatro especies incrementaron ($p < 0.05$; hasta 0.46) el índice raíz vástago, pero en tres se mantuvo sin cambio y en una se redujo ($p < 0.05$; a 0.17); y el grosor de la octava hoja se mantuvo constante en todas. La biomasa seca total por planta se redujo ($p < 0.05$; de 68 a 28 g) en todas las especies con la reducción del ψ ; sin embargo, el número de hojas por planta de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. salmiana* (14 y 10) y la cobertura de sus plantas y de *A. lechuguilla* y *A. duranguensis* (0.222, 0.043, 0.017 y 0.185 $\text{m}^2 \text{pl}^{-1}$) permanecieron sin cambio. Se evidenció la tolerancia (desde la germinación) de *Agave* spp. a temperaturas moderadamente extremas y humedad limitada, la cual es amplia, restringida o sesgada según el clima de su área de distribución. El incremento de la proporción de biomasa radical y del contenido de prolina, en parte, y el mantenimiento del grosor de la hoja (indicador de turgencia) son reacciones adaptativas a la restricción de humedad en *Agave*. La menor disponibilidad de humedad inhibe la acumulación total de biomasa; a pesar de ello, el crecimiento (número de hojas y cobertura de la planta) puede mantenerse en las especies más adaptadas a la aridez o con límites de tolerancia ambiental más amplios.

Palabras clave: *Agave*, germinación óptima, crecimiento, restricción de humedad, tolerancia ambiental, reacción fisiológica y morfológica.

BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF GERMINATION AND DEVELOPMENT OF YOUNG PLANTS OF MAGUEY (*Agave*) IN RELATION TO SPECIES, TEMPERATURE AND SUBSTRATE WATER POTENTIAL

Hugo Magdaleno Ramírez Tobías, Dr
Colegio de Postgraduados, 2010

Physiological processes such as germination and growth of *Agave* species are modified by environmental factors according to the climatic conditions at the sites of species distribution. To test this hypothesis, seed germination of eight *Agave* species in a temperature and water potential (ψ) gradient, from 10 to 40 °C and from -0.03 to -1.5 MPa, respectively, under laboratory conditions, and the effect of high and low substrate ψ (-0.7 and -3.5 MPa, in average) in young plants of the same species for 14 months, in greenhouse conditions, were evaluated. Maximum cumulative germination (AG) (90% or higher) was recorded around 25 °C and at -0.03 MPa after 80-190 h, except *A. angustifolia* ssp. *tequilana* which reached 26% at 30 °C. Maximum AG in *A. Americana*, *A. lechuguilla*, *A. striata* and *A. salmiana* remained similar ($p > 0.05$) between 15 and 33 °C at -0.03 MPa and between -0.03 and -1.5 MPa at 25 °C; whereas in *A. asperrima* and *A. cupreata* maximum AG occurred only between 15 and 25 and 25 and 30 °C, respectively, at -0.03 MPa, and at -1.5 MPa at 25 °C it dropped to 30%. Young plants in the restrictive substrate (ψ averaging -3.5 MPa, but dropped from -0.7 to -6.0): (1) duplicated ($p < 0.05$) radical proline content, up to 1 mol/100 mg⁻¹, except *A. lechuguilla* and *A. striata*, (2) four species increased ($p < 0.05$; until 0.46) the root:shoot index, while in three it index remained similar and in another it was reduced ($p < 0.05$ to 0.17), (3) eighth leaf thickness was maintained in comparison with plants kept under hydrated condition (-0.7 MPa). The total dry biomass per plant was reduced ($p < 0.05$, from 68 to 28 g) in all of species under water restriction, however, the number of leaves per plant of *A. angustifolia* ssp. *tequilana* and *A. salmiana* (14 and 10), and plant coverage of these species and of *A. lechuguilla* and *A. duranguensis* (0.222, 0.043, 0.017 and 0.185 m² pl⁻¹) remained unchanged. Tolerance of *Agave* spp. germination to slightly severe temperatures and water restriction was evident; it is broad, restricted and/or skewed depending on the climate of species distribution. The increase of biomass root proportion and proline root content, in part, and maintenance of leaf thickness (a turgor indicator) are *Agave* responses to tolerate the moisture restriction. Low water availability inhibits the total biomass accumulation; despite of this, species adapted to aridity or to wider environmental conditions can maintain the growth (number of leaves and plant cover) under this condition.

Keywords: *Agave*, optimum germination, growth, moisture restriction, environmental tolerance, physiological and morphological responses.

*A lo más valioso en mi vida
Erika, Hugo Azael y Glenda Zoeh
Su apoyo y compañía dan color y sentido a mi existencia*

*A mis padres y hermanos, gran parte de lo que soy se los debo a
ustedes*

Agradecimientos

Al pueblo de México, que sostiene al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, el cual me otorgó una beca para realizar mis estudios de doctorado.

Al Colegio de Postgraduados, por permitirme formarme en sus aulas, invernaderos y laboratorios.

A los profesores del Colegio de Postgraduados, por transmitir sus conocimientos y contribuir en mi formación de postgrado.

A la Dra. Cecilia B. Peña Valdivia, mi consejera, por su valiosísimo apoyo y tolerancia, por su calidad y calidez humana.

A los miembros de mi consejo particular: Dr. J. Rogelio Aguirre, Dr. J. Antonio Reyes A., Dr. Salvador Valle y Dra. Adriana B. Sánchez. Por sus observaciones y recomendaciones para mejorar el trabajo de investigación, y con ello, mis habilidades como investigador. Gracias. De manera particular reconozco al Dr. Aguirre por sus ideas y por proporcionarme y/o facilitarme la semilla para los experimentos, y al Dr. Valle por facilitarme el uso de su laboratorio cuando los del Colegio estaban penosamente sellados.

Al MC. Antonio García E. y el Dr. Kohashi Shibata por facilitarme las cámaras de crecimiento para la realización de los experimentos de germinación.

A la MC. Ana B. Galicia por su apoyo en el laboratorio.

Al Dr. Humberto Vaquera le agradezco las asesorías que amablemente me brindó, y que me ayudaron a salir del embrollo donde lo único que pasa, es el tiempo..., pero no se avanza.

Al Dr. Rodolfo García Nava le agradezco su sensibilidad como persona, su paciencia y su apoyo en el trabajo pesado del invernadero, tan importante en esos momentos en los que parecía que el horizonte de la vida se nublaba.

A la MC. Catalina Illsley del Grupo de Estudios Ambientales, por proporcionarme las semillas de *A. cupreata*.

Al Dr. Carlos Trejo, por asesorarme en diversas dudas durante la investigación.

Al Dr. Edmundo García Moya, por orientarme, informarme y apoyarme.

Al MC. Hector Tovar le agradezco facilitarme el acceso a su biblioteca llena de documentos relacionados con los magueyes.

Al Cuasi MC Cristian López P. Lo menos que puedo decir por tu ayuda desinteresada es gracias.

A aquellos que agradablemente me brindaron su amistad, algo invaluable, Eric y Gisela.

Al señor Ricardo García y la señora Irma Alvarado, por su apoyo en la cosecha de plantas.

A todos aquellos con los que me toco compartir estos años de mi vida. La MC Ana B. Galicia, la Dra. Rosario A., el Dr. Balois, la Dra. Raquel, la MC. Mayra T., el cuasi MC Erasmo, al Pato Saucedo y al MC. Bardo Sánchez.

A los que involuntariamente omití...

Contenido

| | |
|--|----|
| Introducción general..... | 1 |
| Capítulo I. Características de la germinación de semillas de maguey (<i>Agave</i> spp.) dependientes de la especie y la temperatura..... | 6 |
| Resumen | 6 |
| Abstract | 7 |
| Introducción..... | 7 |
| Materiales y métodos | 9 |
| Material vegetal..... | 9 |
| Caracterización de las semillas..... | 11 |
| Medición de la imbibición y germinación..... | 11 |
| Resultados y discusión..... | 12 |
| Características de las semillas..... | 12 |
| Imbibición..... | 13 |
| Germinación | 18 |
| Inhibición de la germinación | 27 |
| Conclusiones | 29 |
| Literatura citada..... | 29 |
| Capítulo II. Germinación de semillas de maguey (<i>Agave</i> spp.) en dependencia de la especie y el potencial de agua del sustrato | 35 |
| Resumen | 35 |
| Introducción..... | 37 |
| Materiales y métodos | 39 |
| Material vegetal..... | 39 |
| Homogeneización de la humedad de las semillas y estratificación por tamaño | 40 |
| Sustrato para la germinación | 43 |
| Registro de datos y análisis | 44 |
| Resultados | 46 |
| Imbibición..... | 46 |
| Germinación | 49 |
| Tasa de germinación y parámetros del modelo de tiempo hídrico..... | 49 |
| Recuperación de la actividad germinativa | 51 |
| Discusión..... | 52 |
| Conclusiones..... | 61 |
| Literatura citada..... | 62 |
| Capítulo III. Efecto de la restricción de humedad en el crecimiento, la distribución de biomasa y el contenido de prolina de plantas jóvenes de <i>Agave</i> spp. | 67 |
| Resumen | 67 |

| | |
|--|-----|
| Abstract | 68 |
| Introducción..... | 69 |
| Materiales y métodos | 70 |
| Material vegetal..... | 70 |
| Variables evaluadas..... | 74 |
| Diseño experimental y análisis estadístico | 75 |
| Resultados | 76 |
| Contenido de prolina..... | 76 |
| Distribución de biomasa y grosor de la hoja | 76 |
| Indicadores del crecimiento | 81 |
| Diferencias de crecimiento entre especies cuando se desarrollaron con -0.7 MPa | 83 |
| Discusión..... | 84 |
| Conclusiones..... | 90 |
| Literatura citada..... | 91 |
| Discusión general | 97 |
| Conclusiones generales..... | 104 |
| Literatura citada | 106 |
| Anexo único. Manuscrito sometido para su publicación en la revista Plant Species Biology | 111 |

Lista de cuadros

Pág.

Capítulo I

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Diferencias taxonómicas, reproductivas y del ambiente de origen de las especies de <i>Agave</i> evaluadas. | 10 |
| Cuadro 2. Características de las semillas de <i>Agave</i> evaluadas. | 13 |
| Cuadro 3. Coeficientes canónicos estandarizados (SEMI ¹ y GERM ¹) de la primera pareja de variables canónicas y coeficientes de correlación (SEM ² y GERM ²) de la primera pareja de variables canónicas con las variables originales. | 17 |

Capítulo II

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Identidad taxonómica y tendencias reproductivas y ambientales de las especies de <i>Agave</i> evaluadas. | 41 |
| Cuadro 2. Parámetros del modelo de tiempo hídrico estimados para la germinación de siete especies de <i>Agave</i> con tres niveles de potencial de agua (-0.03, -1.0 y -1.5 MPa). | 52 |

Capítulo III

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Clasificación taxonómica y tendencias reproductivas y ambientales de las especies de <i>Agave</i> evaluadas. | 72 |
| Cuadro 2. Crecimiento de plantas jóvenes de ocho especies de <i>Agave</i> desarrolladas en invernadero con riego frecuente (RF, ψ promedio de -0.7 MPa) y riego restringido (RR, ψ promedio de -3.5 MPa), durante 14 meses. | 82 |

Capítulo de Discusión general

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Tipos de vegetación con presencia de especies de <i>Agave</i> en México (García-Mendoza, 2002). | 99 |
|---|----|

Lista de figuras

| Capítulo I | Pág. |
|---|------|
| Figura 1. Dinámica de imbibición de semillas de ocho especies de <i>Agave</i> en siete temperaturas (● 10, ■ 15, ▲ 20, ▼ 25, ◆ 30, ◈ 35 y ■ 40 °C). | 14 |
| Figura 2. Efecto de la temperatura en la imbibición a las 12 h de ocho especies de <i>Agave</i> (● <i>A. lechuguilla</i> , ■ <i>A. striata</i> , ■ <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> , ◈ <i>A. asperrima</i> , ▼ <i>A. cupreata</i> , ★ <i>A. duranguensis</i> , ▲ <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> y ■ <i>A. salmiana</i>). | 16 |
| Figura 3. Asociación entre el tamaño de semilla de siete especies de <i>Agave</i> y la imbibición durante las primeras 12 horas, en 25 °C y oscuridad ($r^2=0.4119$, $p<0.001$). | 18 |
| Figura 4. Efecto de la temperatura sobre la germinación acumulada de semillas de ocho especies de <i>Agave</i> . Las barras indican el error estándar, $n=5$. (Lec: <i>A. lechuguilla</i> , Str: <i>A. striata</i> , Ame: <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> , Asp: <i>A. asperrima</i> , Cup: <i>A. cupreata</i> , Dur: <i>A. duranguensis</i> , Ang: <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> y Sal: <i>A. salmiana</i> ; ● 10, ■ 15, ▲ 20, ▼ 25, ◆ 30, ◈ 35 y ■ 40 °C). | 19 |
| Figura 5. Efecto de la temperatura en el tiempo necesario para iniciar la germinación (A), en la tasa media de germinación (B) y en la germinación acumulada (C) de ocho especies de <i>Agave</i> durante 312 h. (● <i>A. lechuguilla</i> , ■ <i>A. striata</i> , ■ <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> , ◈ <i>A. asperrima</i> , ▼ <i>A. cupreata</i> , ★ <i>A. duranguensis</i> , ▲ <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> y ■ <i>A. salmiana</i>). | 22 |
| Figura 6. Inhibición de la germinación de semillas de ocho especies de <i>Agave</i> por cuatro temperaturas constantes durante 312 h, y rompimiento de la quiescencia después de ser transferidas a 25 °C (área sombreada). Para <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> el tiempo de inhibición fue 600 h y la temperatura posterior 30 °C. (● <i>A. lechuguilla</i> , ■ <i>A. striata</i> , ■ <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> , ◈ <i>A. asperrima</i> , ▼ <i>A. cupreata</i> , ★ <i>A. duranguensis</i> , ▲ <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> y ■ <i>A. salmiana</i>). | 28 |
| Capítulo II | |
| Figura 1. Distribución de frecuencia del peso seminal de siete especies de <i>Agave</i> . Los datos proceden de una muestra de 300 semillas de cada especie. | 42 |
| Figura 2. Relación entre el porcentaje de humedad y el ψ_A de la vermiculita empleada para evaluar la germinación de semillas de <i>Agave</i> spp. | 43 |
| Figura 3. Dinámica de imbibición de semillas de <i>Agave</i> con tres niveles de potencial de agua. -·-·-·- <i>A. lechuguilla</i> , - - - - <i>A. striata</i> ——— <i>A.</i> | 46 |

americana var. *marginata*, --- *A. asperrima*, - - - - - *A. duranguensis*, - - - - - *A. cupreata* y - - - - - *A. salmiana*. Para mayor claridad de la información, los datos observados fueron omitidos.

- Figura 4. Imbibición durante las primeras 12 h de germinación de semillas de *Agave* spp. bajo diferentes potenciales de agua, a 25 °C y en obscuridad. ● *A. lechuguilla*, ◆ *A. striata*, ♣ *A. americana* var. *marginata*, ▲ *A. asperrima*, ☆ *A. duranguensis*, ▼ *A. cupreata* y ■ *A. salmiana*. 47
- Figura 5. Imbibición necesaria para la germinación (imbibición máxima) de semillas de *Agave* spp. bajo diferentes potenciales de agua, a 25 °C y en obscuridad. ● *A. lechuguilla*, ◆ *A. striata*, ♣ *A. americana* var. *marginata*, ▲ *A. asperrima*, ☆ *A. duranguensis*, ▼ *A. cupreata* y ■ *A. salmiana*. 48
- Figura 6. Efecto del potencial de agua en la tendencia de germinación acumulada de semillas de siete especies de *Agave*, en la oscuridad y a 25 °C. Con -1.5 MPa el tratamiento se mantuvo durante 732 h, posteriormente el sustrato fue rehidratado. ● *A. lechuguilla*, ◆ *A. striata*, ♣ *A. americana* var. *marginata*, ▲ *A. asperrima*, ☆ *A. duranguensis*, ▼ *A. cupreata* y ■ *A. salmiana*. 50
- Figura 7. Relación de la tasa de germinación ($1/t_{50}$) de siete especies de *Agave* con la variación del potencial de agua del sustrato. ● *A. lechuguilla*, ◆ *A. striata*, ♣ *A. americana* var. *marginata*, ▲ *A. asperrima*, ☆ *A. duranguensis*, ▼ *A. cupreata* y ■ *A. salmiana*. 51

Capítulo III

- Figura 1. Temperatura media (●) y promedio de máximas (▲) y mínimas (■) registrada durante el desarrollo del experimento, el cual se realizó de junio de 2008 a octubre de 2009. El cero indica el tiempo en que se inició el tratamiento de restricción del riego (20 de julio de 2008). 71
- Figura 2. Potencial de agua del sustrato durante el crecimiento de plantas jóvenes de ocho especies de *Agave* en macetas de 12 litros en condiciones de invernadero. Los cuadros representan el potencial de agua de los tratamientos con riego frecuente y los círculos el de los tratamientos con riego restringido. 74
- Figura 3. Efecto del riego frecuente (▨, -0.7 MPa) y el riego restringido (■, -3.5 MPa) en el contenido de prolina en la materia seca (MS) de la región apical radical de ocho especies de *Agave* crecidas en macetas en condiciones de invernadero durante 14 meses. Lec: *A. lechuguilla*, Str: *A. striata*, Ame: *A. americana* var. *marginata*, Asp: *A.* 77

asperrima, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y Sal: *A. salmiana*.

Figura 4. Efecto del riego frecuente (, -0.7 MPa) y el riego restringido 78

(, -3.5 MPa) en el índice raíz/vástago de ocho especies de *Agave* crecidas en macetas, en condiciones de invernadero durante 14 meses. Lec: *A. lechuguilla*, Str: *A. striata*, Ame: *A. americana* var. *marginata*, Asp: *A. asperrima*, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, Sal: *A. salmiana* y Dur+: Datos del 50% de los individuos de *A. duranguensis*, con crecimiento significativamente menor.

Figura 5. Variación relativa de la biomasa de hojas (, raíz () 79

y tallo (, de plantas jóvenes de ocho especies de *Agave*, por efecto del riego frecuente (-0.7 MPa, gráfico superior) y del riego restringido (-3.5 MPa, gráfico inferior). Las plantas crecieron en macetas de 12 litros en condiciones de invernadero durante 14 meses. Lec: *A. lechuguilla*, Str: *A. striata*, Ame: *A. americana* var. *marginata*, Asp: *A. asperrima*, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, Sal: *A. salmiana* y Dur+: Datos del 50% de los individuos de *A. duranguensis*, con crecimiento significativamente menor.

Figura 6. Efecto del riego frecuente (, -0.7 MPa) y el riego restringido 81

(, -3.5 MPa) en el grosor de la octava hoja de ocho especies de *Agave* crecidas en macetas en condiciones de invernadero durante 14 meses. Lec: *A. lechuguilla*, Str: *A. striata*, Ame: *A. americana* var. *marginata*, Asp: *A. asperrima*, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y Sal: *A. salmiana*.

Introducción general

Maguey es el nombre común de un grupo numeroso de especies que conforman el género *Agave*, de las cuales, en México se encuentra aproximadamente el 75% (García-Mendoza, 2002). Los magueyes son utilizados en México como alimento humano y del ganado, como materia prima para producir bebidas fermentadas, destiladas y fibras, como medicamento, como material para construcción, y como cobertura vida para la retención del suelo, entre muchos otros uso (Ruvalcaba, 1983). Algunos de estos usos se han registrado en al menos 74 especies y 28 taxa infraespecíficos (Colunga-GarcíaMarín *et al.*, 2007), y aún persisten de forma tradicional en ciertas comunidades rurales (Reyes *et al.*, 2000; Aguirre *et al.*, 2001).

En la actualidad, quizá el uso más importante es como materia prima para la producción de bebidas destiladas como el mezcal, el tequila, el bacanora, y otras, para lo cual se estima son empleadas 48 especies (Colunga-GarcíaMarín *et al.*, 2007), y se han registrado más de 700 marcas comerciales (González-Elizondo *et al.*, 2009). Las posibilidades de uso de los magueyes aumentan debido a algunas características de los productos extraídos de ellos y a su contenido de ciertos metabolitos. Al respecto, se señala que el 6% de la oferta de precursores para corticoesteroides proviene de los magueyes (Nobel, 1988). Además, se ha documentado la acción de extractos y jarabes de maguey en la inhibición del crecimiento de hongos fitopatógenos (Sánchez *et al.*, 2005) y en la disminución de desórdenes hepáticos en ratas diabéticas (García-Pedraza *et al.*, 2009). Cabe señalar, que el valor de los magueyes no sólo deriva de su utilidad sino también de su importancia como elementos dominantes en los ecosistemas a los que pertenecen. Tal es el caso de *A. lechuguilla* y *A. striata*, elementos primordiales del matorral rosetófilo en el Desierto Chihuahuense, región ecológica importante (Huerta-Martínez y García-Moya, 2004).

Los magueyes pueden reproducirse sexual y asexualmente, según la especie, y producen abundante semilla. La propagación de *Agave* se realiza tradicionalmente de manera asexual, a través de hijuelos y bulbilos (Aguirre *et al.*, 2001; Valenzuela-

Zapata y Nabhan, 2003). En la naturaleza, esta forma de propagación favorece el establecimiento exitoso de la plántula, por su dependencia temporal de la planta madre. Por otro lado, cuando la propagación se realiza para producir materia prima para mezcal o aguamiel, se argumenta que con propagación vegetativa el tiempo para la maduración de la planta y su cosecha es menor que si se propaga por semilla, y que se facilita el manejo agronómico por la homogeneidad así obtenida. Sin embargo, tradicionalmente no se considera el tiempo necesario para producir el hijuelo (Ruvalcaba, 1983), por lo que la comparación parece inadecuada.

La homogeneidad que se genera con la propagación asexual propicia mayor susceptibilidad al ataque de plagas y enfermedades. Así, se han documentado pérdidas económicas cuantiosas debidas a daños por plagas y enfermedades en especies cultivadas de *Agave* (Valenzuela-Zapata y Nabhan, 2003; Espinosa *et al.*, 2005). Esto muestra la necesidad de aumentar la variabilidad genética en las plantaciones de *Agave*, lo que puede lograrse mediante la propagación a través de semilla. Aguirre *et al.* (2001) sostienen que la propagación con plantones producidos a partir de semilla podría competir favorablemente con la propagación por hijuelos. Además, Barrientos *et al.* (1985) encontraron que más que 50% de las plántulas de *A. salmiana*, obtenidas de semilla, superaron en vigor a los hijuelos empleados tradicionalmente en la propagación. Algunas investigaciones señalan que las semillas de *Agave* son viables y carecen de latencia (Freeman *et al.*, 1977; Pritchard y Miller, 1995; Peña-Valdivia *et al.*, 2006). Sin embargo, en el caso de *Agave*, en la mayoría de las especies se desconocen las condiciones ambientales óptimas y las mínimas o extremas, de temperatura y humedad, en las que sucede la germinación.

Los magueyes se distribuyen en una diversidad amplia de ambientes, desde el nivel del mar hasta 3400 m de altitud, y en diversas comunidades vegetales, aunque la mayoría de las especies se encuentran en comunidades xerófitas (García-Mendoza, 2002). Esto se debe a que las especies de *Agave* presentan adaptaciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas que les permiten sobrevivir a las restricciones temporales de humedad características de las zonas secas (Schulte, 2009); pero también indica una gran capacidad de adaptación a ambientes diversos y adversos para otras especies.

Algunos aspectos fisiológicos, como la germinación de semillas y el crecimiento de las plantas, y bioquímicos como el contenido de prolina parecen modificarse de acuerdo con la capacidad de tolerancia a las características ambientales donde se distribuye cada especie. Por ejemplo, la germinación de especies adaptadas a climas secos y de cultivares seleccionados por su tolerancia a la sequía sucede aun en condiciones de humedad baja (Allen *et al.*, 2000; Sadeghian y Yavari, 2004), incluso condiciones de humedad elevada, en algunos casos, la inhiben (Tsoukrianis *et al.*, 2009). Por otro lado, se ha observado que la inhibición del crecimiento es más intensa en las plántulas de especies adaptadas a ambientes húmedos que en las adaptadas a ambientes áridos, y que el crecimiento del vástago generalmente es más sensible que el crecimiento radical a potenciales de agua restrictivos (Evans y Etherington, 1991). La modificación de la proporción de biomasa entre órganos, comúnmente una mayor asignación de recursos a la raíz, ha sido considerada una reacción de las plantas a la restricción de humedad en el suelo (Taiz y Zeiger, 2006). De manera similar, se ha documentado que el contenido de prolina es un indicador de algún tipo de estrés experimentado por la planta, en particular el estrés por déficit de agua (Szabados y Savoure, 2009). Así, el aumento de la razón raíz/vástago y del contenido de prolina en las especies de *Agave* parecerían atributos comunes, que son expresados al caer la disponibilidad de humedad en el suelo, en las condiciones ambientales donde prevalecen esas plantas. Sin embargo, en *A. lechuguilla* la razón raíz/vástago se mantuvo constante (Nobel *et al.*, 1989), por lo que este postulado queda en duda. Por otra parte, se ha reconocido el aumento de prolina en la radícula de plántulas de *A. salmiana* (Peña-Valdivia y Sánchez-Urdaneta, 2009), pero no en plantas de mayor desarrollo.

Con estos antecedentes, es posible sugerir que dada la riqueza de especies en el género *Agave* y la diversidad de ambientes donde se distribuyen, la germinación y el crecimiento de las plantas de cada especie pueden ser óptimos en condiciones ambientales similares a las que prevalecen en su región de origen. Por lo que, para entender los procesos que modulan el crecimiento de las plantas que crecen en ambientes áridos y semiáridos, como las de *Agave*, resulta necesario conocer si las modificaciones de la distribución de biomasa son o no propias de su

adaptación a la aridez, y si los niveles de prolina pueden considerarse indicadores de una condición de estrés en este tipo de plantas.

Con base en lo señalado, se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar el efecto de la temperatura en la germinación de ocho especies de *Agave*.
- Analizar la reacción de la germinación de ocho especies de *Agave* a diferentes potenciales de agua del sustrato.
- Examinar el efecto de la condición de humedad del sustrato de crecimiento en el contenido de prolina, la distribución de biomasa y el crecimiento de plantas jóvenes de *Agave*.

La hipótesis general de esta investigación plantea que procesos fisiológicos como la germinación y el crecimiento de especies de *Agave*, podrían ser modificados por factores ambientales en función de las características climáticas prevalecientes en las áreas de distribución de dichas especies. Así, los niveles de las variables usadas para cuantificar la germinación, como los de otras variables indicadoras de cambios fisiológicos, podrían incluir los niveles óptimos de temperatura o disponibilidad de humedad (potencial de agua), o mostrar una tendencia de tolerancia o susceptibilidad, en dependencia de la dirección de cambio de nivel de la variable ambiental estudiada.

En concordancia, las hipótesis particulares son:

- Las variables de la germinación de las especies de clima cálido presentan niveles óptimos en las temperaturas más elevadas y viceversa.
- La germinación de las especies adaptadas a los ambientes más áridos es menos disminuida por los niveles de potencial de agua bajos. Incluso probablemente los potenciales de agua elevados inhiben el proceso.
- La conservación de la turgencia, el aumento en la cantidad de prolina y la mayor asignación de biomasa al sistema radical son formas, adicionales a las documentadas a la fecha, por medio de las cuales las especies de *Agave* toleran la deficiencia de humedad en el sustrato de crecimiento.

- El crecimiento será menos disminuido por la deficiencia de humedad en las especies procedentes de los ambientes con climas más secos.

Capítulo I. Características de la germinación de semillas de maguey (*Agave* spp.) dependientes de la especie y la temperatura¹

Resumen

El objetivo de esta investigación fue caracterizar la germinación de semillas de *A. lechuguilla*, *A. striata*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A. duranguesis*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. salmiana* en 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 °C de temperatura constante, en condiciones de laboratorio. Se analizó la asociación entre la humedad, el peso individual y el peso volumétrico de las semillas y el proceso de germinación. Se construyeron las cinéticas de imbibición y germinación acumulada y se determinó la imbibición durante las primeras 12 h (I-12), la imbibición necesaria para la germinación (IM), el tiempo necesario para el inicio de la germinación (TNIG), la tasa media de germinación (TMG) y la germinación acumulada (GA) durante 312 h. Después de 312 h las semillas fueron transferidas a 25 °C y se registró su germinación. Las cinéticas de imbibición y germinación presentaron el mejor ajuste al modelo logístico. La I-12 se correlacionó ($r=0.6560$, $p<0.001$) positivamente con el tamaño de semilla e incrementó ($p<0.05$) con la temperatura, de 35% en 10 °C a 66% en 40°C, con tasas distintas entre las especies. La IM fue desigual ($p<0.05$) entre especies y promedió $113\pm 17\%$, solamente en *A. lechuguilla*, *A. asperrima*, *A. salmiana* y *A. striata* varió ($p<0.05$) desde 84 hasta 142% entre las temperaturas. El TNIG disminuyó ($p<0.05$) gradualmente de 125 y 173 h en 15 °C a 68 y 84 h en 25 °C y se revertió a 84 y 196 h en 35 °C. Los óptimos de TMG y GA descendieron desde 0.5 y 0.95% de semillas germinadas h^{-1} y 85 y 99% en 25 °C, a valores cercanos a cero en 10 y 40°C. Las temperaturas más extremas (10, 35 y 40 °C) sólo inhibieron la germinación de la mayoría de las especies, pero fueron letales para *A. asperrima*, *A. duranguesis* y *A. salmiana*. La germinación de las semillas de *Agave* fue regulada por la temperatura

¹ Este capítulo fue sometido para su revisión y posible publicación en la revista *Plant Species Biology* en mayo de 2010. A la fecha, los revisores y el editor de la revista recomendaron su publicación, condicionada a la realización de algunas correcciones.

de acuerdo con un patrón de respuesta gaussiano, y fue óptima en una temperatura o intervalo de temperatura aparentemente relacionado con las condiciones ambientales de la región de origen de cada especie.

Abstract

Agave spp. plants have been valuable as source of raw material for several human supplies. Genetic diversity and wild populations are threaded by expansion of clones and climatic change. Sexual reproduction is a way for increasing genetic variability; however, seed germination information is scarce. Seed germination of *A. lechuguilla*, *A. striata*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A. duranguensis*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* and *A. salmiana* at constant temperatures (10 to 40 °C) was evaluated. Initial imbibition (after the first 12 h) was significantly variable among species, positively correlated with the seed weight ($r=0.6560$, $p<0.001$) and increased with temperature (35% at 10 °C to 66% at 40 °C). Temperature affected maximum imbibition (84 to 142%) in *A. asperrima*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* and *A. striata*; other species averaged 110%. Germination kinetics fitted best to the logistic model, and only a few treatments to Weibull model. The onset of germination diminished ($p<0.05$) from 125-173 h at 15 °C to 68-84 h at 25 °C, and rose back to 84-196 h at 35 °C. Mean germination rate and cumulative germination were maximum (0.50-0.95% seeds h^{-1} and 85-99%, respectively) at 25 °C and decreased ($p<0.05$) near to zero at 10 and 40 °C. Ten, 35 and 40 °C were partially lethal to *A. asperrima*, *A. duranguensis* and *A. salmiana* seeds. The onset of the germination, cumulative germination, and mean germination rate are described by a Gaussian distribution, with optimum around 25 °C; optimum seems to be related with ecological species distribution.

Introducción

Diversas plantas del género *Agave* se han utilizado en México desde la época precolombina para producir alimentos, medicamentos, fibras y bebidas (González, 1978; Gentry, 1982; Charlton *et al.*, 1991). El uso de estas plantas no se restringe a las formas tradicionales de aprovechamiento, pues algunas sustancias contenidas

en ellas, como las utilizadas para la manufactura de los corticoesteroides (Nobel, 1988) y otras que inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos (Sánchez *et al.*, 2005), son otros ejemplos de su valor.

Las plantas de maguey pueden reproducirse sexual y asexualmente, según la especie. La propagación asexual a través de hijuelos parece ser la más común, pues esta forma de reproducción asegura el éxito del establecimiento de la plántula (Nobel, 1988; Arizaga y Ezcurra, 2002) y cierta uniformidad que puede facilitar el manejo agronómico, pero también mayor susceptibilidad a enfermedades y otras amenazas para las plantaciones (Piven *et al.*, 2001). La propagación asexual también se debe a que se cree que las semillas de los magueyes son inviables, y se ha señalado que muchas especies de *Agave* de interés comercial se propagan sólo por hijuelos y bulbilos (Gentry, 1982; Aguirre *et al.*, 2001). Lo anterior es debido, en parte, porque se considera que la reproducción por semilla requiere más cuidados y alarga el periodo de maduración de la planta (Anónimo, 1988). Sin embargo, Aguirre *et al.* (2001) sostienen que la propagación con plantones producidos a partir de semilla podría competir favorablemente con la propagación por hijuelos. Al respecto, Barrientos *et al.* (1985) determinaron que más de 50% de las plántulas de *A. salmiana*, obtenidas de semilla, superaron en vigor a los hijuelos empleados tradicionalmente en la propagación. Además, la variabilidad genética proveniente de la reproducción sexual resulta necesaria para prevenir daños debidos a plagas y enfermedades.

Las semillas de algunas especies de *Agave* carecen de latencia y alcanzan porcentajes máximos de germinación en dependencia de la temperatura y en periodos variables dependientes de la especie y en algunos casos del ambiente de origen (Freeman *et al.*, 1977; Pritchard y Miller, 1995; Peña-Valdivia *et al.*, 2006). Así, el objetivo de este estudio fue caracterizar la germinación de varias especies de *Agave* y su relación con la temperatura; bajo la hipótesis de que las condiciones térmicas propias de los sitios de distribución de cada especie explican la reacción de las semillas a las condiciones de germinación, y que esta reacción también depende de ciertas características botánicas de las especies, algunos atributos morfológicos de las semillas, formas de reproducción y posición sistemática.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se evaluaron ocho especies de maguey con importancia comercial actual o histórica, por ser empleadas en la producción de materia prima para la fabricación de mezcal o como fuente de fibra. Las especies seleccionadas presentan formas diversas de reproducción, proceden de regiones climáticas distintas y se clasifican, de acuerdo con Gentry (1982), en los dos subgéneros, *Agave* y *Littaea*, y ocho grupos taxonómicos. Dentro del subgénero *Littaea* se encuentran *A. lechuguilla* y *A. striata*, las seis restantes fueron clasificadas dentro del subgénero *Agave* (Cuadro 1).

Los frutos fueron recolectados en los ambientes propios de cada especie o en colecciones vivas, según su disponibilidad. Así, las cápsulas de *A. cupreata*, *A. salmiana*, *A. asperrima*, *A. lechuguilla* y *A. striata* fueron cosechadas en sus hábitats naturales (Cuadro 1), *A. cupreata* en Chilapa, Gro., *A. salmiana*, en La Mantequilla, SLP., *A. asperrima* en Cerritos, SLP., y *A. lechuguilla* y *A. striata* en Guadalcázar, SLP. Por otro lado *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. duranguesis* y *A. americana* var. *marginata* proceden de colecciones vivas, la primera del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato y las segundas, del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Las cápsulas fueron cosechadas de un solo individuo, seleccionado por su buen vigor y salud, en madurez fisiológica, posteriormente fueron colocadas en sitios con humedad baja para su deshidratación. Se consideró que la madurez fisiológica ocurre cuando el color de los frutos es amarillo-verdoso. Finalmente, las semillas fueron separadas de los frutos totalmente deshidratados y almacenadas a 4 °C hasta su utilización.

Cuadro 1. Diferencias taxonómicas, reproductivas y del ambiente de origen de las especies de *Agave* evaluadas[†].

| Subgénero | Grupo | Especie | Tendencias en la reproducción | Temperatura (°C) | | | Tipo de vegetación |
|---------------|-------------------|---|-----------------------------------|---|------------------|---------------------|--|
| | | | | MA [§] | MMF [¶] | MMC [Ⓟ] | |
| <i>Litsea</i> | <i>Marginatae</i> | <i>A. lechuguilla</i> | Hijuelos y semilla | -3 a 22 | > -3 | s.l.e. [†] | Matorral desértico rosetófilo |
| | <i>Striatae</i> | <i>A. striata</i> | Semilla y ramificaciones axilares | 18 a 22 | <18 | s.l.e. | Matorral desértico rosetófilo |
| <i>Agave</i> | <i>Americanae</i> | <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> | Hijuelos y semilla | Diversas temperaturas debido a la dispersión humana | | | Hábitats "artificiales" por la distribución antropógena |
| | <i>Americanae</i> | <i>A. asperrima</i> | Hijuelos y semilla | 12 a 18 | -3 a 18 | <18 | Matorral submontano |
| | <i>Crenatae</i> | <i>A. cupreata</i> | Semilla | 18 a 22 | >18 | s.l.e. | Bosque de pino y encino |
| | <i>Ditpetalae</i> | <i>A. duranguensis</i> | Hijuelos y semilla | 12 a 18 | -3 a 18 | <18 | Matorral xerófito y bosque abierto de pino y encino |
| | <i>Rigidae</i> | <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> [‡] | Bulbilos e hijuelos | >18 | <18 | >22 | Bosque tropical caducifolio y plantaciones |
| | <i>Salmianae</i> | <i>A. salmiana</i> | Hijuelos y semilla | 12 a 22 | -3 a 18 | >18 | Asociación de matorral desértico micrófilo y matorral crasicaule |

[†] Cuadro elaborado con base en: Gentry (1982); Aguirre *et al.* (2001); Ruiz-Corral *et al.* (2002); Valenzuela-Zapata y Nabhan (2003); García (2004); CONABIO (2006); Illsley *et al.* (2007). [‡] Denominación de acuerdo con Valenzuela-Zapata y Nabhan (2003). [§] MA: Temperatura media anual. [¶] MMF: Temperatura media del mes más frío. [Ⓟ] MMC: Temperatura media del mes más caliente. [†] s.l.e.: Sin un límite especificado.

Caracterización de las semillas

Se registraron el porcentaje de humedad, el peso volumétrico y tamaño (peso) de las semillas de los lotes de semilla de cada especie. La humedad se estimó en muestras de 500 mg a 75 ± 10 °C hasta peso constante y el peso volumétrico se obtuvo con el método de probeta según la ISTA (1999); en ambos casos se realizaron cinco repeticiones. El tamaño de las semillas se determinó con el registro del peso individual de 300 semillas por especie; luego, se obtuvo la distribución de frecuencias del peso seminal de cada especie. Debido a la variabilidad del peso de las semillas dentro de cada especie, como criterio de homogeneidad para caracterizar la germinación y sus parámetros, en este estudio fueron utilizadas semillas con peso dentro de la amplitud de una desviación estándar alrededor de la media de cada especie.

Medición de la imbibición y germinación

La germinación y sus parámetros fueron evaluados según el método aprobado por la Association of Official Seed Analysis (AOSA, 1983), modificado por Peña-Valdivia *et al.* (2002), a las temperaturas constantes de 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 °C. Las observaciones se realizaron cada 12 o 24 horas durante 312 h. Al final de ese período las semillas que aún no habían germinado fueron transferidas a 25 °C, excepto *A. angustifolia* ssp. *tequilana* que fue transferida a 30 °C después de 600 h, hasta que germinaran o presentaran signos de contaminación.

La imbibición fue expresada como el porcentaje de ganancia de peso de la semilla, debido a la absorción de agua, respecto a su peso inicial. Como una medida indirecta de la velocidad inicial de imbibición, se determinó la imbibición después de las primeras 12 h (I-12), y la imbibición máxima (IM) fue equivalente a la proporción de agua requerida por cada semilla para germinar o la alcanzada al declinar la tasa de imbibición. Además, se determinó el tiempo necesario para iniciar la germinación (TNIG), la germinación acumulada y la tasa media de germinación (TMG) con la siguiente igualdad:

$$TMG (\% \text{ semillas germinadas } h^{-1}) = \frac{\text{Semillas germinadas } (\%)/12 \text{ h}}{\text{Número de periodos de 12 h}}$$

Diseño y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones en un arreglo factorial de tratamientos. Los factores y niveles fueron: especie (*A. lechuguilla*, *A. striata*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A. duranguensis*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. salmiana*) y temperatura constante (10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 °C). Para las pruebas de germinación, la unidad experimental estuvo conformada por un grupo de 10 semillas. Se efectuó el análisis de normalidad con base en el análisis gráfico de residuales y la prueba Shapiro-Wilks; las variables fueron transformadas cuando el supuesto no se cumplió. Los datos se analizaron con la técnica de análisis de covarianza, en la que el contenido inicial de humedad fue la covariable, y la prueba de comparación de medias, ambas con el programa SAS (SAS, 1999-2000); además, se realizaron pruebas de correlación canónica entre las variables de semilla y las de germinación con el procedimiento Cancorr, del mismo software. Las curvas de imbibición y germinación en el tiempo y las curvas de respuesta a la temperatura se ajustaron con el programa SigmaPlot Jandel Scientific (Version 7.1).

Resultados y discusión

Características de las semillas

El efecto de la especie fue altamente significativo en el contenido de humedad, peso volumétrico y tamaño o peso de la semilla. Lo anterior evidenció la amplia variabilidad existente entre las semillas de las especies estudiadas.

Las especies se ordenaron en cuatro grupos según su contenido de humedad. *Agave salmiana* y *A. angustifolia*, con valores similares ($p > 0.05$) entre sí, presentaron los valores mayores ($p < 0.05$) entre todas las especies. Mientras las semillas con menor humedad fueron las de *A. asperrima*, *A. lechuguilla* y *A. striata* (Cuadro 2).

El peso volumétrico y el tamaño de semilla mostraron un gradiente, opuesto entre sí, entre las especies, de 113 a 415 g l⁻¹ y de 2.26 a 14.56 mg, respectivamente (Cuadro 2). Así, en general las semillas mayores presentaron los pesos volumétricos menores, y viceversa. Una excepción fue *A. cupreata* cuyas

semillas estuvieron entre las más grandes y además presentaron uno de los pesos volumétricos mayores (Cuadro 2). En la muestra de especies de *Agave* seleccionada para este estudio las semillas más grandes, las de *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, fueron cerca de 6.5 veces mayores que las de *A. striata*, la especie con las semillas más pequeñas.

Cuadro 2. Características de las semillas de *Agave* evaluadas

| Especie | Contenido de humedad (%) | Peso volumétrico (g l ⁻¹) | Peso de semilla (mg) |
|--|--------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| <i>A. lechuguilla</i> | 6.4 e | 415 a | 4.30 f |
| <i>A. striata</i> | 6.5 de | 172 d | 2.26 g |
| <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> | 7.2 cd | 137 e | 11.11 b |
| <i>A. asperrima</i> | 7.2 cde | 183 d | 5.62 e |
| <i>A. cupreata</i> | 8.3 b | 283 b | 11.14 b |
| <i>A. duranguensis</i> | 7.5 bc | 169 d | 9.50 c |
| <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> | 9.2 a | 113 f | 14.56 a |
| <i>A. salmiana</i> | 9.8 a | 227 c | 7.17 d |

* Letras diferentes en cada columna señalan diferencias estadísticas (Tukey, $\alpha < 0.05$).

Con la distribución de frecuencias del tamaño de las semillas, se encontró que las de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. duranguensis* se agruparon alrededor de dos medias, una mayor que la otra. Así, de estas especies se emplearon las semillas del grupo de tamaño mayor, debido a que se realizaron pruebas de germinación y se encontró escasa o nula germinación de las semillas distribuidas alrededor de la media más pequeña.

Imbibición

Las semillas de las ocho especies fueron permeables al agua e incrementaron su peso por imbibición, con todas las temperaturas evaluadas (Figura 1). La dinámica de imbibición presentó la fase típica de absorción acelerada de agua, seguida de un decaimiento parcial o total de la tasa de absorción. La imbibición acelerada se debe al contenido de humedad bajo de las semillas (Cuadro 2) que propicia diferencias altas entre el potencial hídrico de los tejidos seminales y el ambiente de germinación (Bewley y Black, 1994).

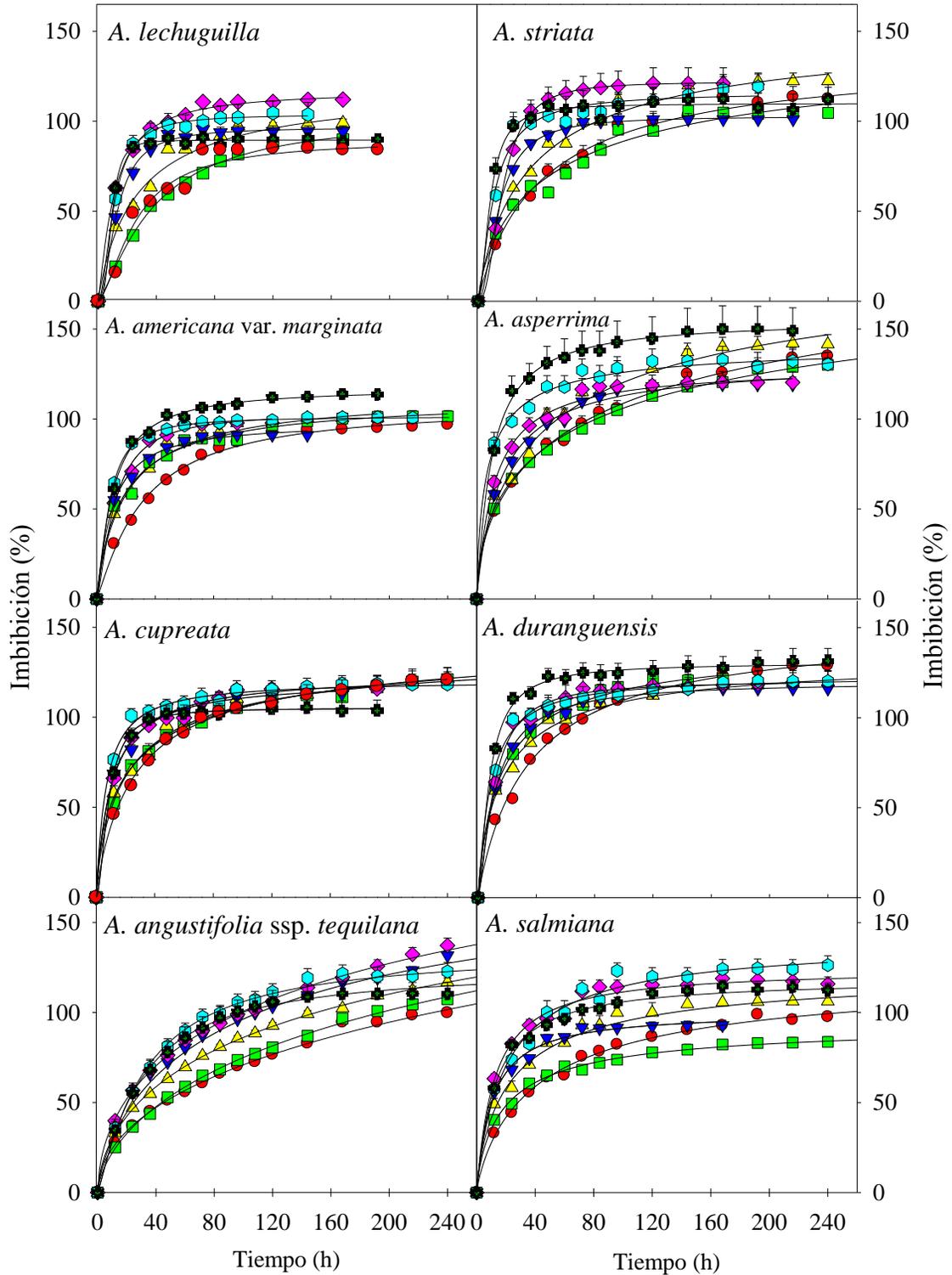


Figura 1. Dinámica de imbibición de semillas de ocho especies de *Agave* en siete temperaturas (● 10, ■ 15, ▲ 20, ▼ 25, ◆ 30, ⬢ 35 y ✖ 40 °C). Las barras indican el error estándar.

La tasa de imbibición aumentó directamente con la temperatura. La fase de imbibición acelerada ocurrió durante las primeras 36 h, en algunas especies a partir de los 25 °C y en otras desde los 30 °C. En contraste, en las temperaturas bajas, la imbibición requirió 100 h o más para detenerse (Figura 1). Similarmente, la I-12 h incrementó linealmente con la temperatura en siete de las ocho especies evaluadas y en forma sigmoide en *A. striata* (Figura 2). La relación entre la tasa de imbibición y la temperatura fue documentada por Vertucci y Leopold (1987), y resulta del efecto de la viscosidad del agua sobre su difusión en la semilla. La viscosidad del agua se relaciona de manera inversa con la temperatura (Vertucci y Leopold, 1983). *Agave lechuguilla*, y en menor proporción *A. asperrima*, presentaron la I-12 más dependiente de la temperatura. En contraste, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* fue la menos sensible al presentar la pendiente menor (Figura 2). La I-12 de *A. striata* se mantuvo estable de los 10 a los 30 °C con una imbibición de 40%, pero aumentó significativamente hasta 73% entre los 30 y 40 °C (Figura 2). Las diferencias entre especies pueden explicarse, en parte, por sus diferencias en tamaño y contenido inicial de humedad (Cuadro 2), variables en las que difirieron y que influyen en la tasa de imbibición (Bewley y Black, 1994; Wilson y Witkowski, 1998); también, pueden deberse a diferencias en su composición química.

Solamente la correlación de la primera pareja de variables canónicas de la semilla y la germinación fue estadísticamente significativa; y dentro de éstas, las variables más relevantes fueron el tamaño de la semilla y la I-12, respectivamente (Cuadro 3). Así, se encontró una correlación positiva y significativa entre el tamaño de semilla y la I-12 (Figura 3). Resultados similares fueron encontrados en semillas de *Lens culinaris* (Al-Karaki, 1998) y de *Acacia* (Wilson y Witkowski, 1998). A pesar de la asociación entre el tamaño de la semilla y la velocidad de imbibición, se señala que la tasa de imbibición puede ser atribuida a características de la testa (Pascualides y Planchuelo, 2007; Nonogaki *et al.*, 2007) y al grosor del endospermo más que al tamaño de la semilla (Pascualides y Planchuelo, 2007). Sin embargo, Bewley y Black (1994) señalaron que la absorción de agua depende de la morfología, composición, estructura y contenido inicial de humedad de la semilla. Además, estos autores concluyeron que es difícil modelar tales efectos y que

algunos resultados documentados, aparentemente contradictorios, ocurren por interacciones complejas dentro de la semilla.

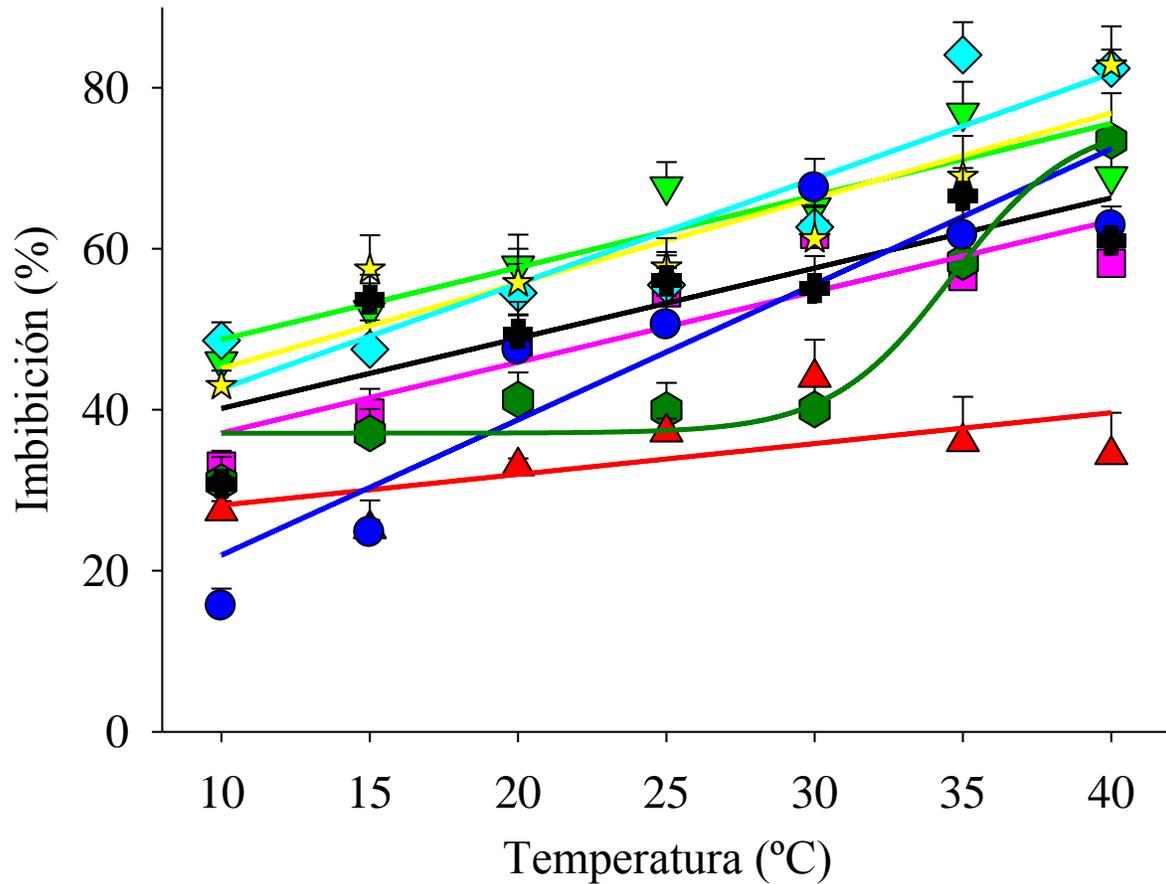


Figura 2. Efecto de la temperatura en la imbibición a las 12 h de ocho especies de *Agave* (● *A. lechuguilla*, ◆ *A. striata*, ■ *A. americana* var. *marginata*, ◇ *A. asperima*, ▽ *A. cupreata*, ☆ *A. duranguensis*, ▲ *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y ◻ *A. salmiana*). Las barras indican el error estándar.

Cuadro 3. Coeficientes canónicos estandarizados (SEMI1 y GERM1) de la primera pareja de variables canónicas y coeficientes de correlación (SEM2 y GERM2) de la primera pareja de variables canónicas con las variables originales.

| Variables de semilla | SEMI ¹ | SEMI ² |
|---------------------------|--------------------|--------------------|
| Humedad | 0.3336 | 0.6775 |
| Peso individual | 0.8319 | 0.9430 |
| Peso volumétrico | 0.1612 | -0.0648 |
| Variables de germinación* | GERMI ¹ | GERMI ² |
| IM | -0.2944 | 0.2023 |
| I-12 | 1.0300 | 0.8598 |
| TNIG | 0.1280 | 0.4185 |
| TMG | -0.2049 | -0.0067 |
| GA | 0.4319 | 0.2756 |

* IM: imbibición máxima; I-12: imbibición a las 12 h; TNIG: tiempo necesario para iniciar la germinación; TMG: tasa media de germinación; GA: germinación acumulada.

Las semillas de maguey embebieron, un promedio de 113% de su peso fresco (Figura 1), este valor varió significativamente, entre y dentro de las especies, por efecto de la temperatura. Por su capacidad de imbibición e independientemente de la temperatura las especies pueden ser ordenadas en un gradiente de imbibición: alta (*A. asperrima* y *A. duranguensis*) con 128%, intermedia (*A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. cupreata*, *A. striata* y *A. salmiana*) con 113% y baja (*A. americana* var. *marginata* y *A. lechuguilla*) con 98%.

Los diferentes niveles térmicos produjeron efectos significativos en la I-Max sólo de algunas especies, las menos afectadas fueron *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata* y *A. duranguensis*, pues su I-Max fue similar en todos los niveles térmicos, excepto en los extremos. En cambio, la I-Max de las otras especies varió significativamente con la temperatura, aunque sin una tendencia (Figura 1). Peña-Valdivia *et al.* (2006) mencionaron que el tamaño de la semilla se relacionó negativamente con la cantidad de agua embebida por *A. salmiana*; sin embargo, en la presente investigación, con el gradiente amplio de tamaño de semilla (Cuadro 2) no se observó una relación equivalente. Es probable que las diferencias en la capacidad de imbibición sean el resultado de una interacción entre diferencias

genéticas (Triboi y Triboi-Blonde, 2002) y alteraciones debidas a la temperatura (Leopold, 1983).

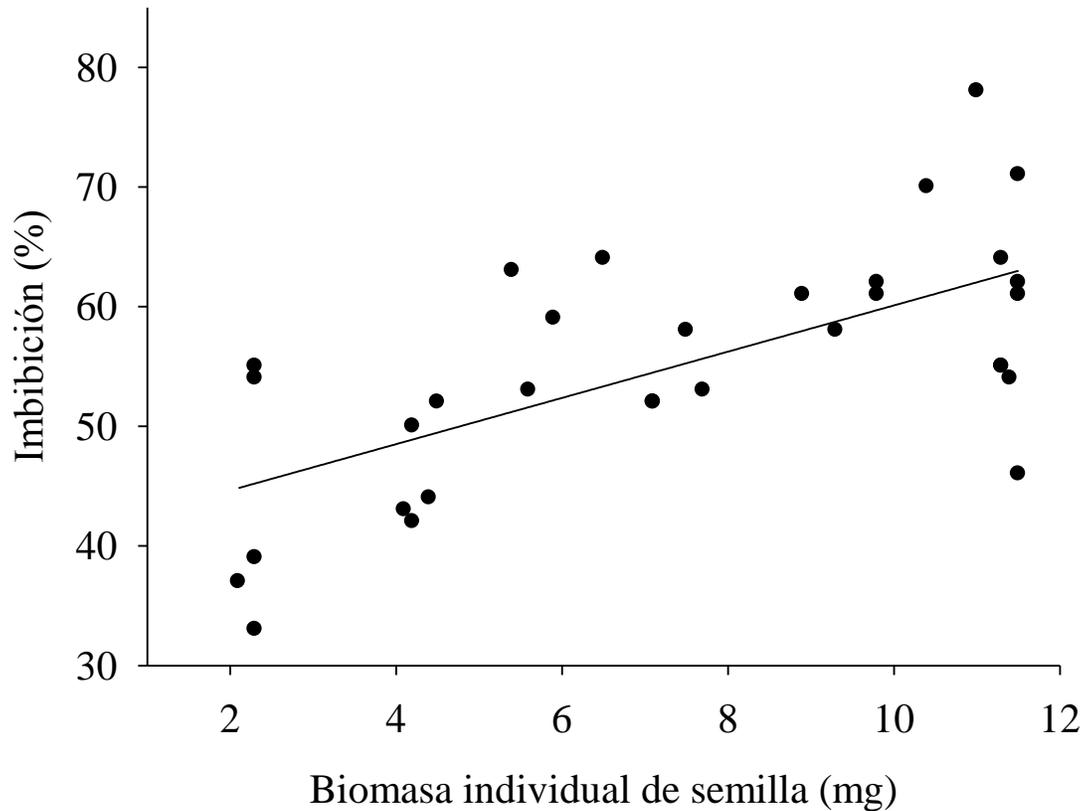


Figura 3. Asociación entre el tamaño de semilla de siete especies de *Agave* y la imbibición durante las primeras 12 horas, en 25 °C y oscuridad ($r^2=0.4119$, $p<0.001$).

Germinación

En 25 °C los porcentajes de germinación fueron en promedio 91%. Con excepción de *A. angustifolia ssp. tequilana*; *A. lechuguilla* y *A. striata* alcanzaron su máxima germinación en 90 h, *A. americana var. marginata* y *A. salmiana* en 120 h, y *A. asperrima*, *A. cupreata* y *A. duranguensis* en 150 h (Figura 4). Estos resultados muestran que las semillas de estas siete especies carecieron de latencia y coinciden con los de otras investigaciones con *A. lechuguilla* (Freeman *et al.*, 1977), *A. americana* (Pritchard y Miller, 1995), *A. attenuate*, *A. jarcia* y *A. victoria-reginae* (Maiti *et al.*, 2005), y algunas variantes de *A. salmiana* (Peña-Valdivia *et al.*, 2006). Así, es posible que la germinación de las semillas de *Agave* en su hábitat natural ocurra

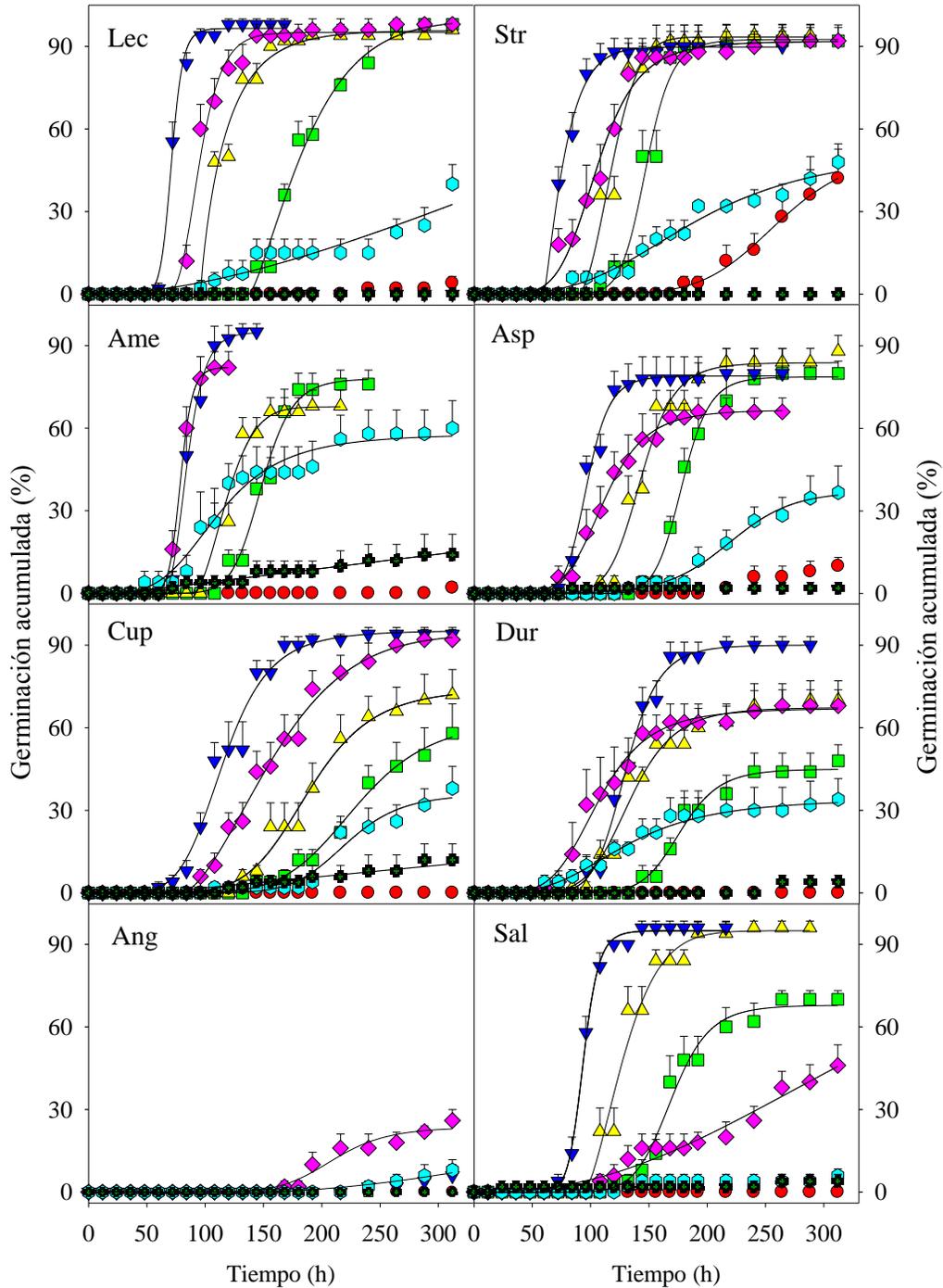


Figura 4. Efecto de la temperatura sobre la germinación acumulada de semillas de ocho especies de *Agave*. Las barras indican el error estándar, n= 5. (Lec: *A. lechuguilla*, Str: *A. striata*, Ame: *A. americana* var. *marginata*, Asp: *A. asperima*, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y Sal: *A. salmiana*; ● 10, ■ 15, ▲ 20, ▼ 25, ◆ 30, ⬡ 35 y ✖ 40 °C).

cuando la humedad del suelo sea alta y la temperatura media sea cercana a los 25 °C. Lo anterior ocurre en microhábitats protegidos durante los periodos lluviosos, cuando la nubosidad propicia la retención de humedad del suelo (Freeman *et al.*, 1977; Jordan y Nobel, 1979).

Agave angustifolia ssp. *tequilana* contrastó con las otras siete especies, pues su germinación acumulada fue 7% en 25 y 35 °C, y 26% en 30 °C, y no germinó en las otras temperaturas (Figuras 4 y 5). Esta respuesta puede deberse a diferentes causas, como la latencia. En las condiciones de evaluación, 30 °C pareció ser su temperatura óptima de germinación y diferente a las otras especies. Los contrastes en la latencia entre especies puede ser explicada con las diferencias en las condiciones ambientales durante la maduración de las semillas (Gutterman, 2000), ya que determinados niveles de humedad provocan latencia, que desaparece con la deshidratación (Bewley y Black, 1994). Aunque, la humedad de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* fue una de las más elevadas de las ocho especies junto con la de *A. salmiana* (Cuadro 2), en esta última se alcanzó la germinación máxima en más de una temperatura. Otras explicaciones son las diferencias entre los genotipos e inmadurez del embrión (Murdoch y Ellis, 2000). También, se ha señalado que las semillas de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* parecen ser poliploides estériles que raramente son viables (Gentry, 1982) por su proporción elevada de polen estéril (Ruvalcaba y Rodríguez, 2002), lo que quizá explique su propagación principalmente por bulbilos e hijuelos (Gentry, 1982). Además, de las ocho especies evaluadas *A. angustifolia* ssp. *tequilana* es la que con mayor frecuencia produce bulbilos (Gentry, 1982) o cuya reproducción mediante estas estructuras puede considerarse significativa. Así, es posible inferir que *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, como las otras especies, presenta dos posibilidades de reproducción, hijuelos y bulbilos, mientras que las otras siete especies se propagan por hijuelos y semillas. Sin embargo, los resultados de la presente investigación avalan la producción de plántulas de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* a partir de semilla, por lo que se propone continuar realizando pruebas que permitan conocer la viabilidad de las semillas de esta especie, mediante contrastes entre muestras de diferentes regiones geográficas

mexicanas, tratamientos pregerminativos, como escarificación de las semillas, y condiciones de germinación en laboratorios, etc.

Curva de germinación acumulada

La curva de germinación acumulada de las ocho especies, con la mayoría de las temperaturas evaluadas, presentó el mejor ajuste al modelo logístico (Figura 4), con valores de r^2 que variaron de 0.73 a 0.98 y promedio de 0.89, las excepciones fueron 10, 35 y 40 °C. Esto coincidió con lo encontrado por Peña-Valdivia *et al.* (2006) para la curva de germinación acumulada de las variantes Liso, Chino y Blanco de *A. salmiana*. En contraste, las curvas de germinación acumulada de *A. americana* var. *marginata* en 20 y 25 °C, de *A. lechuguilla* en 15 y 20 °C, de *A. salmiana* en 20 °C, de *A. striata* en 20 y 25 °C, y de *A. cupreata* en 30 °C presentaron el mejor ajuste al modelo Weibull ($r^2=0.95$). Los modelos empíricos, como el logístico y el Weibull se caracterizan por describir procesos biológicos, ambos modelos tienen parámetros que estiman la germinación final acumulada, la tasa de germinación y la germinación inicial. El modelo Weibull contiene un cuarto parámetro que le permite ajustarse a una curva asimétrica, esto lo hace más flexible que el logístico, que es simétrico (Brown y Meyer, 1988). Sin embargo, las curvas de germinación acumulada de cerca del 80% de los tratamientos mostraron indistintamente el mejor ajuste al modelo logístico y Weibull. Los resultados de este estudio también muestran que en 35 °C el patrón de la curva de germinación acumulada tiende a cambiar; ya que presenta un r^2 de 0.69, valor menor que el promedio (0.91) para las curvas en 15, 20, 25 y 30 °C.

Durante las primeras 312 h, en las condiciones de evaluación, a 10 y 40 °C la germinación permaneció parcialmente inhibida, y se modificó diferentemente a lo largo del tiempo entre las especies. Así, *A. asperrima*, *A. lechuguilla* y *A. striata* en 10 °C, y *A. cupreata*, *A. duranguensis* y *A. salmiana* en 40 °C, presentaron curvas de germinación acumulada con la etapa de incremento lento inicial únicamente, y en el extremo térmico opuesto respectivo, 40 o 10 °C, su germinación estuvo inhibida totalmente (Figura 4).

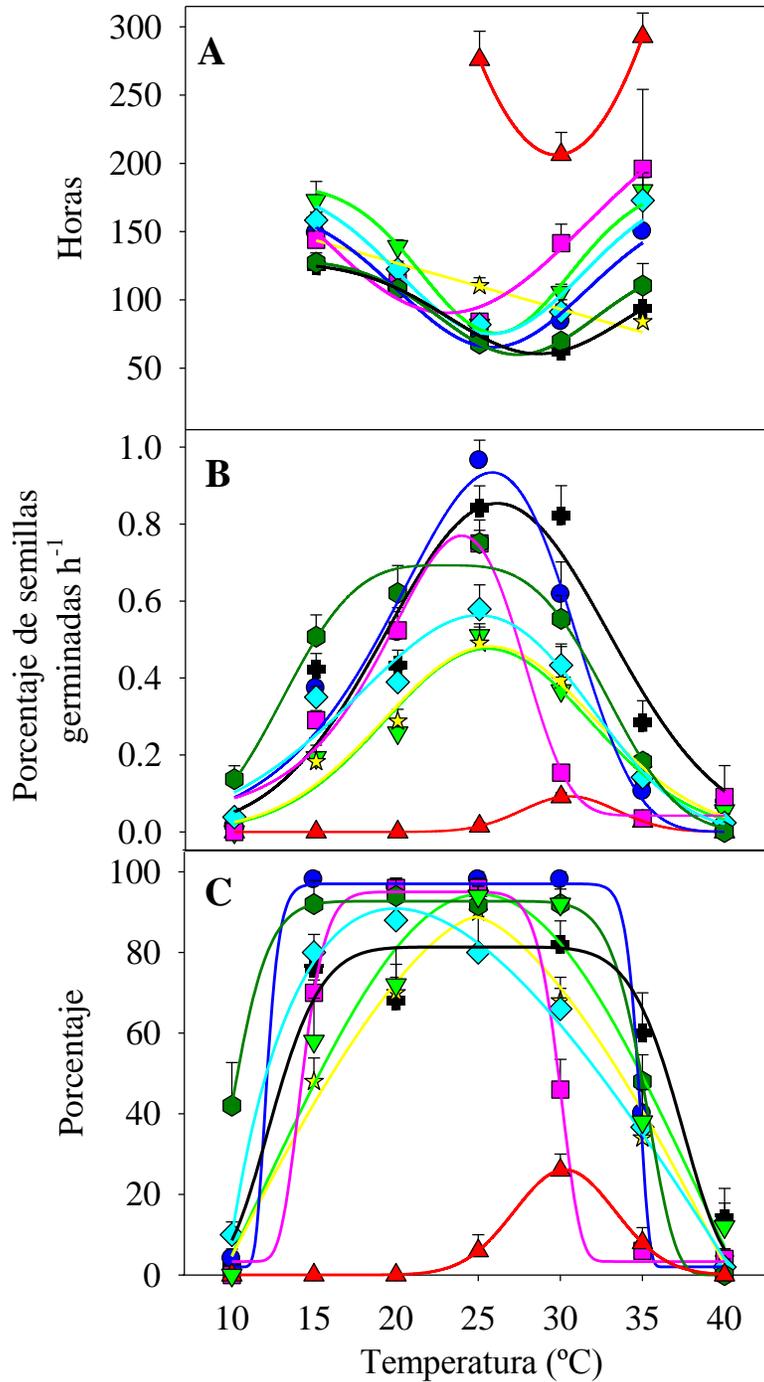


Figura 5. Efecto de la temperatura en el tiempo necesario para iniciar la germinación (A), en la tasa media de germinación (B) y en la germinación acumulada (C) de ocho especies de *Agave* durante 312 h. (● *A. lechuguilla*, ● *A. striata*, ■ *A. americana* var. *marginata*, ◆ *A. asperima*, ▼ *A. cupreata*, ☆ *A. duranguensis*, ▲ *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y ■ *A. salmiana*).

Las barras indican el error estándar, n= 5.

Estos resultados permiten suponer la existencia de un intervalo térmico variable entre las especies, en el que se afecta el valor de los parámetros sin que sea inhibida la germinación. Sin embargo, fuera ese intervalo óptimo la dinámica de la germinación es inhibida parcial o totalmente.

Para caracterizar el proceso de germinación y la germinación acumulada, fueron analizados otros parámetros de la germinación en este estudio. Durante las primeras 312 h de germinación, el tiempo necesario para iniciar la germinación (TNIG), la tasa media de germinación (TMG) y la germinación acumulada (GA) fueron afectados significativamente por la temperatura, pero de manera distinta en cada especie (Figura 5). Las ocho especies presentaron una temperatura o un intervalo térmico óptimo para su germinación.

Tiempo necesario para iniciar la germinación

El TNIG estuvo asociado con la temperatura con tres patrones: 1) parabólico inverso, en *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, con un TNIG mínimo de 206 h en 30 °C; 2) lineal con pendiente negativa, en *A. duranguensis* en el que el TNIG disminuyó con la temperatura desde 158 h en 15 °C hasta 84 h en 35 °C; y 3) campana de gauss invertida, en *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana*, *A. asperrima* y *A. striata*, con un TNIG óptimo promedio de 77 h que se duplicó en 15 y 35 °C (Figura 5A). Las especies de este último grupo se diferenciaron por la temperatura en que ocurrió el TNIG óptimo y por su reacción heterogénea en las temperaturas mayores que 25 °C. Así, *A. salmiana* reaccionó mejor en 23 °C, *A. asperrima*, *A. cupreata* y *A. lechuguilla* en 26 °C y *A. americana* var. *marginata* y *A. striata* en 28 °C. *Agave americana* reaccionó igual que *A. striata* y aunque presentaron variaciones significativas dependientes de la temperatura, fueron afectadas menos que las otras especies. Así, es conveniente resaltar el hecho de que en uno de los tres patrones para el inicio de la germinación, dependiente de la temperatura, las especies se ordenaron en un gradiente térmico entre los 23 y 28 °C.

Tasa media de germinación

La relación de la TMG con la temperatura generó un patrón con forma de campana de gauss con valores máximos alrededor de los 25 °C y cercanos a cero en 10 y 40

°C. *Agave angustifolia* ssp. *tequilana* se diferenci6 por presentar su TMG m6xima en 30 °C. La simetría de la curva vari6 entre las especies, así como la temperatura 6ptima, intervalo t6rmico 6ptimo y tasa de germinaci6n en cada temperatura, excepto en 10 y 40 °C (Figura 5B). La curva de *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata* y *A. duranguensis* fue afectada similarmente por la temperatura, pero con intensidad distinta pues en la temperatura 6ptima, la TMG de *A. americana* var. *marginata* (0.84% semillas germinadas h⁻¹) fue casi el doble ($p < 0.05$) que la de *A. cupreata* y *A. duranguensis*. Por otro lado, la TMG de *A. asperrima*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. striata* se redujo aproximadamente a la mitad de 25 a 15 °C, pero de 25 a 35 °C la reducci6n fue de alrededor de 8 veces (Figura 5B), lo que indica una mayor sensibilidad de éstas especies a las temperaturas mayores que 25 °C. Los 6ptimos de la TMG de *A. cupreata*, *A. duranguensis*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. asperrima* ocurrieron alrededor de los 25 °C. En contraste, *A. americana* var. *marginata* y *A. striata* presentaron intervalos t6rmicos 6ptimos, m6s c6lido (25 a 30 °C) para la primera respecto a la segunda (20 a 25 °C). En 25 °C, *A. lechuguilla*, *A. americana* var. *marginata*, *A. striata* y *A. salmiana* presentaron TMG (0.83% de semillas germinadas h⁻¹) similares entre sí ($p > 0.05$) y mayores a las otras cuatro especies; mientras, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* present6 la menor de todas las especies (0.1% de semillas germinadas h⁻¹).

Germinaci6n acumulada

Todas las especies presentaron una temperatura o intervalo de temperatura 6ptimo, en que la germinaci6n fue m6xima. Con excepci6n de *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, la GA en la temperatura 6ptima respectiva, fue mayor que 90% y sin diferencias estadísticas entre las especies. En consecuencia, fuera del intervalo t6rmico 6ptimo, y en dependencia de la especie, la germinaci6n fue inhibida parcial o totalmente. Así, la GA en funci6n de la temperatura gener6 modelos tipo gauss, simétricos con un intervalo t6rmico 6ptimo amplio (*A. americana* var. *marginata*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. striata*), simétricos con una temperatura 6ptima única (*A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. cupreata* y *A. duranguensis*) y asimétrico con un intervalo de temperatura 6ptima (*A. asperrima*). *Agave lechuguilla* y *A. striata* fueron las especies

con el intervalo térmico óptimo más amplio (de 14 a 32 °C) e incluyó los óptimos de las otras especies, les siguió *A. americana* var. *marginata* con intervalo térmico óptimo de 17 a 32 °C, y *A. salmiana*, con un intervalo de 17 a 27 °C. Además, de acuerdo con los datos observados, la reacción de *A. cupreata* fue asimétrica y opuesta a la de *A. asperrima*, aunque ambas especies presentaron intervalos amplios de temperatura óptima, la primera reaccionó mejor a temperaturas altas y la segunda de forma inversa (Figura 5C).

Las semillas de *Agave* evaluadas presentaron una temperatura o amplitud térmica óptima para germinar (Figura 5). Los resultados con estas especies de *Agave* confirman lo señalado sobre la ventana de germinación y su relación con la temperatura para especies de importancia agrícola (Bewley y Black, 1994) y para otras especies de *Agave* (Freeman *et al.*, 1977; Pritchard y Miller, 1995; Peña-Valdivia *et al.*, 2006). Además, los óptimos difieren entre especies y parecen relacionarse con su distribución ecológica y geográfica, forma de reproducción, características genéticas, caracteres citogenéticos y manejo humano.

De acuerdo con su porcentaje de germinación, *A. americana* var. *marginata*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. striata* presentaron intervalos óptimos de germinación con amplitudes de 10 hasta 17 °C alrededor del óptimo. La tolerancia térmica de *A. lechuguilla* puede deberse a su capacidad de adaptación, por la cual es calificada como una de las especies del género *Agave* con mayor distribución geográfica y abundancia en sus comunidades vegetales (Gentry, 1982; Reyes-Agüero *et al.*, 2000). Existe la posibilidad de que *A. americana* (Gentry, 1982; CONABIO, 2006) y *A. salmiana* (Aguirre *et al.*, 2001) hayan sido sometidas a manejo humano y que esto haya aumentado su capacidad de adaptación; además de que son poliploides (Granick, 1944), lo que eleva su capacidad de adaptación a las variaciones ambientales (Granick, 1944; García-Mendoza, 2007). Así, se señala que *A. americana* se encuentra en hábitats artificiales en los que ha sido diseminada por el hombre, resiste el déficit hídrico, el frío de las zonas templadas y se desarrolla en diferentes tipos de suelos (Gentry, 1982; CONABIO, 2006).

La reacción de *A. salmiana* a las temperaturas de germinación también evidenció las características térmicas, de templadas a semicálidas (Aguirre *et al.*,

2001) de su distribución geográfica, pues su ventana de germinación óptima está desplazada hacia temperaturas más frescas (Figura 5C). La reacción opuesta de *A. asperrima* respecto a *A. cupreata*, coincidió con las características climáticas de donde proceden. La primera se distribuye en valles, planicies y laderas de Durango y San Luis Potosí, México (Gentry, 1982), regionalmente se le denomina maguey de cerro o serrano (Gentry, 1982; Aguirre *et al.*, 2001), lo que puede indicar su distribución principalmente en altitudes mayores y temperaturas templadas. Por su parte, *A. cupreata* es la especie, entre las ocho evaluadas, que se desarrolla en zonas más cálidas (Cuadro 1).

En relación con el efecto del genotipo, se ha propuesto la activación de genes que codifican enzimas relacionadas, por un lado, con el debilitamiento de estructuras que permiten la emergencia, y por el otro, con la expansión del embrión (Bradford *et al.*, 2000). Al respecto, Cantliffe *et al.* (2000) encontraron que la producción de la enzima endo- β -mananasa, responsable de la relajación del endospermo en el sitio de penetración del embrión, y la resistencia del tejido endospermico a la penetración, fueron mayor y menor, en genotipos de lechuga tolerantes al calor que en los susceptibles, respectivamente. Lo anterior permite sugerir que los ambientes propios de las especies de *Agave* estudiadas favorecieron la evolución de sus características genéticas.

La reacción de *A. striata* a la temperatura fue distinta a las otras especies, su tasa de germinación óptima fue significativamente similar de los 15 a los 30 °C (un intervalo de 15 °C). En contraste, para las otras especies, dicha variable pareció ser la más sensible a la variación de la temperatura (Figura 5B). El tamaño de las semillas puede explicar, en parte, el éxito en la germinación de *A. striata* (Cuadro 2); ya que, la probabilidad de establecimiento de las plántulas se reduce directamente con el tamaño de las semillas (Leishman *et al.*, 2000). Así, es probable que para elevar la probabilidad de sobrevivencia, su reproducción sea asegurada con la producción de más plántulas (Smith y Fretwell, 1974). La discrepancia en la germinación de *A. striata* con las otras especies también sugiere diferencias genéticas confirmadas con análisis moleculares de ADN (Gil-Vega *et al.*, 2007). De hecho, *A. striata* es una de las especies primitivas del subgénero *Littaea* y su

clasificación es cuestionada por ser policárpica y generar vástagos por ramificación axilar (Gentry, 1982).

Inhibición de la germinación

Las temperaturas más extremas inhibieron la germinación en todas las especies; similarmente, aunque con menor intensidad, y también en forma diferente entre especies, en 15 y 35 °C la germinación fue inhibida (Figura 6). Sin embargo, una vez transferidas a 25 °C (o 30 °C para *A. angustifolia* ssp. *tequilana*) todas las especies germinaron independientemente de la temperatura en la que habían permanecido previamente, y su germinación acumulada, en seis de las especies, fue similar a la germinación máxima promedio en la(s) temperatura(s) óptima(s) de cada especie (Figura 6). Lo anterior prueba que las temperaturas extremas permitieron la supervivencia del embrión, en la mayoría de las especies y que las semillas permanecieron quiescentes (Murdoch y Ellis, 2000). Esto coincide con lo observado por Peña-Valdivia *et al.* (2006) para *A. salmiana* y ha sido documentado para diversas especies (Bewley y Black, 1994; Probert, 2000). Así, se postula que el factor ambiental más importante que regula la germinación y latencia es la temperatura (Baskin y Baskin, 1988; Hilhorst, 1998). Tal regulación de la germinación por los factores ambientales tiene repercusiones ecológicas al permitir el inicio de la repoblación en las condiciones ambientales adecuadas (Probert, 2000).

Las temperaturas extremas fueron, en parte, letales para las semillas de *A. duranguensis*, *A. salmiana* y *A. asperrima*. La primera con mortalidad por ambos extremos térmicos, y *A. salmiana* y *A. asperrima* sólo por las temperaturas altas (Figura 6). Así, aunque la tasa de germinación de *A. duranguensis*, una vez colocada en 25 °C, fue similar a la de las otras especies, su germinación acumulada final en 10, 35 y 40 °C, fue significativamente menor; respecto a la alcanzada en 25 °C. Por otro lado, la germinación final de *A. salmiana* y *A. asperrima*, después de haber permanecido 312 h en 40 °C y ser trasladadas a 25 °C, alcanzo 48 y 62%, respectivamente, y mortalidad cercana al 50% (Figura 6). Bewley y Black (1994) señalan que las temperaturas extremas pueden deteriorar las semillas desde la imbibición debido a tasas de absorción lentas o rápidas, lo anterior fue corroborado

en semillas de lechuga (Hall, 2001). Este efecto resulta, en parte, porque las temperaturas bajas pueden causar rigidez de las membranas (Öpik y Rolfe, 2006), en contraste, las temperaturas elevadas aumentan su fluidez que a la vez puede conducir a la pérdida de solutos, como iones, azúcares, entre otros (Murphy y Noland, 1981). En ambos casos, la célula sufre deterioro (Öpik y Rolfe, 2006), y la tolerancia a ambas condiciones puede relacionarse con diferencias genéticas de las especies. La muerte de las semillas también pudo ocurrir porque la desnaturalización de las proteínas debido a las temperaturas altas generó disturbios en la organización celular y anomalías metabólicas (Öpik y Rolfe, 2006).

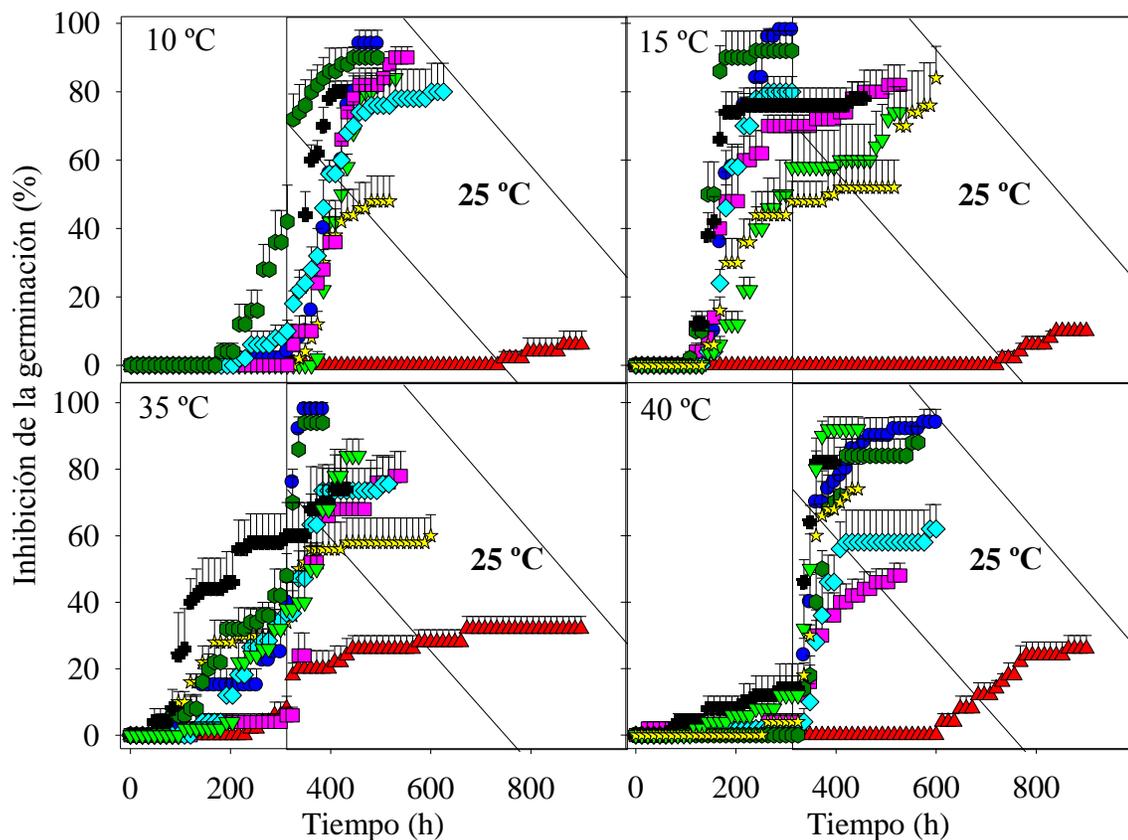


Figura 6. Inhibición de la germinación de semillas de ocho especies de *Agave* por cuatro temperaturas constantes durante 312 h, y rompimiento de la quiescencia después de ser transferidas a 25 °C (área sombreada). Para *A. angustifolia* ssp. *tequilana* el tiempo de inhibición fue 600 h y la temperatura posterior 30 °C. (● *A. lechuguilla*, ● *A. striata*, ■ *A. americana* var. *marginata*, ◆ *A. asperima*, ▼ *A. cupreata*, ★ *A. duranguensis*, ▲ *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y ■ *A. salmiana*).

Conclusiones

Las semillas de las ocho especies fueron permeables y presentaron las fases típicas de la imbibición, su velocidad de imbibición fue estimulada por la temperatura, pero con tasas diferentes. La imbibición máxima fue diferente entre especies, y para algunas especies, entre temperaturas.

Las especies de *Agave* estudiadas, con excepción de *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, carecieron de latencia. La germinación fue óptima en una temperatura o intervalo de temperatura aparentemente relacionado con las condiciones ambientales de la región de origen de cada especie.

Las temperaturas extremas indujeron quiescencia en todas las especies y mortalidad del embrión en aproximadamente la mitad de la muestra de semillas de *A. duranguensis*, *A. asperrima* y *A. salmiana*.

Literatura citada

- Aguirre R., J.R.; H. Charcas Z.; J.L. Flores F. 2001. El maguey mezcalero potosino. COPOCYT-UASLP. San Luis Potosí, SLP. México. 87 p.
- Al-Karaki, G.N. 1998. Seed size and water potential effects on water uptake, germination and growth of lentil. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 181: 237-242.
- Anónimo. 1988. El maguey: árbol de las maravillas. Museo Nacional de Culturas Populares. México, DF. 178 p.
- AOSA. 1983. Seed vigor testing handbook. Contribution No. 32. Association of Official Seed Analysis.
- Arizaga, S.; E. Ezcurra. 2002. Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid land succulent rosette. *American Journal of Botany*. 89: 63-641.
- Barrientos P., F.; A. Villegas M.; A. Vázquez R. 1985. Métodos de propagación de agaves. In: C. Cruz; L. Castillo; M. Robert; R.N. Ondarza (Eds). *Biología y aprovechamiento integral del henequén y otros agaves*. Centro de Investigación Científica de Yucatán. México. pp: 91–96.

- Baskin, C.C.; J.M. Baskin. 1988. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany*. 75: 286-305.
- Bewley, J.D.; M. Black. 1994. *Seeds. Physiology of development and germination*. 2a edición. Plenum press. NY. EU. 445 p.
- Bradford, K.J.; F. Chen; M.B. Cooley; P. Dahal; B. Downie; K.K. Fukunaga; O.H. Gee; S. Gurusinghe; R.A. Mella; H. Nonogaki; C-T. Wu; H. Yang; K-O. Yim. 2000. Gene expression prior to radicle emergence in imbibed tomato seeds. In: M. Black (Ed). *Seed biology: advances and applications*. Wallingford, Oxon, GBR: CABI Publishing. p 231. <http://site.ebrary.com/lib/colpos/10170097&ppg=251>
- Brown, R.F.; D.G. Mayer. 1988. Representing cumulative germination. 2. The use of weibull function and other empirically derived curves. *Annals of botany*. 61: 127-138.
- Cantliffe, D.J.; W.M. Nascimento; S.D.J. Huber. 2000. Lettuce endosperm weakening: a role for endo- β -mannanase in seed germination at high temperature. In: M. Black (Ed). *Seed biology: advances and applications*. Wallingford, Oxon, GBR: CABI Publishing. <http://site.ebrary.com/lib/colpos/10170097&ppg=297>
- Charlton, T.H.; D.L. Nichols; C.O. Charlton. 1991. Aztec craft production and specialization: archeological evidence from the city-state of Otumba, Mexico. *World Archeology*. 23: 98-114.
- CONABIO. 2006. *Mezcales y diversidad*. 2a. edición. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. (Mapa).
- Freeman, C.E.; R.S. Tiffany; W.H. Reid. 1977. Germination responses of *Agave lechuguilla*, *A. parryi*, and *Fouquieria splendens*. *The Southwestern Naturalist*. 22: 195-204.
- García, E. 2004. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. 5ª edición. Instituto de Geografía-UNAM. México, DF. 90 p.
- García-Mendoza, A. 2007. Los agaves de México. *Ciencias*. 87:15-23.
- Gentry, H.S. 1982. *Agaves of continental North America*. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. EU. 670 p.

- Gil-Vega, K.; C.E. Díaz-Quezada; A. Nava-Calvillo; A. García-Mendoza; J. Simpson. 2007. Análisis AFLP del género *Agave* refleja la clasificación taxonómica basada en caracteres morfológicos y otros métodos moleculares. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 23-39.
- González Q., L. 1978. Origen de la domesticación de los vegetales en México. In: J.L. Lorenzo (Coord). Historia de México. Tomo 1. Medio ambiente y primeras etapas. Salvat. México. pp: 77-92.
- Granick, E.B. 1944. A karyosystematic study of the genus *Agave*. American Journal of Botany. 31: 283-298.
- Gutterman, Y. 2000. Maternal effects on seeds during development. In: M. Fenner (Ed). Seeds: The ecology of regeneration in plant communities. 2a. edición. CABI Publishing. NY. EU. pp: 59-84.
- Hall, A.E. 2001. Crop responses to environment. CRC Press LLC. NY. EU.
- Hilhorst, H.W.M. 1998. The regulation of secondary dormancy: The membrane hypothesis revised. Seed Science Research. 8: 77-90.
- Illsley, C.; E. Vega, I. Pisanty; A. Tlacotempa; P. García; P. Montes; G. Rivera; J. García; V. Jiménez; F. Castro; M. Calzada. 2007. Maguey papalote: hacia el manejo sustentable de un recurso colectivo en el trópico seco de Guerrero, México. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 319-338.
- ISTA. 1999. International rules for seed testing. Int. Seed Testing Ass. (Ed). Zurich, Switzerland. 321 p.
- Jordan, P.W.; P.S. Nobel. 1979. Infrequent establishment of seedlings of *Agave deserti* (Agavaceae) in the northwestern Sonoran desert. American Journal of Botany. 66: 1079-1084.

- Leishman, M.R.; I.J. Wright; A.T. Moles; M. Westoby. 2000. The evolutionary ecology of seed size. In: M. Fenner (Ed). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. 2a. edición. CABI Publishing. NY. EU. pp: 31-58.
- Leopold, C.A. 1983. Volumetric Components of Seed Imbibition. *Plant Physiology*. 73: 677-680.
- Maiti, R.K.; E. Sanchez-Arreola; P. Wesche-Ebeling; O.E. Ramirez-Bravo. 2005. Effects of different light-temperature treatments over germination responses and seedling development of some *Agave* species. *Research on Crops*. 6: 587-595.
- Murdoch, A.J.; R.H. Ellis. 2000. Dormancy, viability and longevity. In: M. Fenner (Ed). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. 2a. edición. CABI Publishing. NY. EU. pp: 183-214.
- Murphy, J.B.; T.L. Noland. 1981. Temperature effects on seed imbibition and leakage mediated by viscosity and membranes. *Plant Physiology*. 69: 428-431.
- Nobel, P.S. 1988. *Environmental biology of agaves and cacti*. Cambridge University Press. Cambridge, NY. EU. 288 p.
- Nonogaki, H.; F. Chen; K.J. Bradford. 2007. Mechanisms and genes involved in germination *sensu stricto*. In: K.J. Bradford; H. Nonogaki (Eds). *Seed development, dormancy and germination*. Blackwell Publishing Ltd. Ames, Iowa. EU. pp: 264-304.
- Öpik, H.; S.A. Rolfe. 2006. *The physiology of flowering plants*. 4^a edición. Cambridge University Press. Cambridge. UK. 392 p.
- Pascualides, A.L.; A.M. Planchuelo. 2007. Seed morphology and imbibition pattern of *Crotalaria juncea* L. (Fabaceae). *Seed Science & Technology*. 35: 760-764.
- Peña-Valdivia, C.B.; A.B. Sánchez-Urdaneta; J.R. Aguirre R.; C. Trejo; E. Cárdenas; A. Villegas M. 2006. Temperature and mechanical scarification on seed germination of 'maguey' (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). *Seed Science & Technology*. 34: 47-56.
- Peña-Valdivia, C.B.; R. García N.; J.R. Aguirre R.; C. Trejo L. 2002. The effects of high temperature on dormancy and hypocotyl-root growth of wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Science & Technology*. 30: 231-248.

- Piven, N.M.; F.A. Barredo-Pool; I.C. Borges-Argaez; M.A. Herrera-Alamillo; A. Mayo-Mosqueda; J.L. Herrera-Herrera; M.L. Robert. 2001. Reproductive biology of henequen (*Agave fourcroydes*) and its wild ancestor *Agave angustifolia* (Agavaceae). I. Gametophyte development. American Journal of Botany. 88: 1966-1976.
- Pritchard, H.W.; A.P. Miller. 1995. The effects of constant temperatures, light and seed quality on the germination characteristics of *Agave americana*. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 57: 11-14.
- Probert, R.J. 2000. The role of temperatura in the regulation of the seed dormancy and germination. In: M. Fenner (Ed). Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. 2a. edición. CABI Publishing. NY. EU. pp: 261-292.
- Reyes-Agüero, J.A.; J.R. Aguirre R.; C.B. Peña V. 2000. Biología y aprovechamiento de *Agave lechuguilla* Torrey. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 67: 57-88.
- Ruiz-Corral, J.A.; E. Pimienta-Barrios; J. Zañudo-Hernández. 2002. Regiones térmicas óptimas y marginales para el cultivo de *Agave tequilana* en el estado de Jalisco. Agrociencia. 36: 41-53.
- Ruvalcaba R., D.; B. Rodríguez G. 2002. Aberrant meiotic behavior in *Agave tequilana* Weber var. azul. BMC Plant Biology. 2:10-14.
- Sánchez, E.; N. Heredia. S. García. 2005. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of *Agave* species. International Journal of Food Microbiology. 98: 271-279.
- SAS. 1999-2000. SAS user's guide: Statistics. Versión 6. SAS Institute Inc. Cary, NC. EU. 1290 p.
- Smith, C.C.; S.D. FretWell. 1974. The optimal balance between size and number of offspring. The American Naturalist. 118: 860-864.
- Triboi, E.; A.M. Triboi-Blonde. 2002. Productivity and grain or seed composition: a new approach to an old problem -invited paper-. European Journal of Agronomy. 16: 163-186.
- Valenzuela-Zapata, A.G.; G.P. Nabhan. 2003. Tequila: a natural and cultural history. The University of Arizona Press. Tucson. Arizona. EU. 114 p.

- Vertucci, C.W.; A.C. Leopold. 1983. Dynamics of imbibition by soybean embryos. *Plant Physiology*. 72: 190-193.
- Vertucci, C.W.; A.C. Leopold. 1987. Water Binding in Legume Seeds. *Plant Physiology*. 85: 224-231.
- Wilson, T.B.; E.T.F. Witkowski. 1998. Water requirements for germination and early seedling establishment in four african savanna woody plant species. *Journal of Arid Environments*. 38: 541-550.

Capítulo II. Germinación de semillas de maguey (*Agave spp.*) en dependencia de la especie y el potencial de agua del sustrato

Resumen

La reproducción de las plantas del género *Agave* a partir de semilla ha sido poco estudiada, a pesar de ser fundamental para mantener e incrementar la variabilidad genética de las poblaciones de maguey. El objetivo de esta investigación fue caracterizar la germinación de semillas de *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A. duranguesis*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. striata* en vermiculita con potenciales de agua (ψ_A) de -0.03, -1.0 y -1.5 MPa, en condiciones de laboratorio. Se construyeron las cinéticas de imbibición y germinación acumulada, y se estimó la imbibición durante las primeras 12 h (I-12), la imbibición necesaria para la germinación, la tasa de germinación ($1/t_{(50)}$) y el porcentaje de germinación acumulada máxima (GA) después de 732 h. Además, se estimaron la constante de tiempo hídrico (Θ_H), el potencial medio base ($\psi_{b(50)}$) y la desviación estándar (σ_{ψ_b}) del $\psi_{b(50)}$. La imbibición presentó una fase de absorción acelerada de agua con duración aproximada de 70 h en -0.03 MPa, y de 40 h en -1.0 y -1.5 MPa. La especie y el ψ_A afectaron significativamente la imbibición, y su interacción fue significativa. La I-12 de *A. asperrima*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. striata* decreció linealmente con el ψ_A , de 67 a 43% en -0.03 y -1.5 MPa, respectivamente; y en *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata* y *A. duranguensis* decreció significativamente de -0.03 a -1.0 MPa, y se mantuvo sin cambio entre -1.0 y -1.5 MPa. La imbibición máxima decreció ($p < 0.05$) de forma exponencial con el ψ_A , con tendencia a una asíntota; en *A. duranguensis* y *A. lechuguilla* se redujo de 140% en -0.03 MPa a casi la mitad en -1.0 y -1.5 MPa; y en *A. americana* var. *marginata* y *A. salmiana* disminuyó de 103% y 115% en -0.03 MPa a 73% y 82% en -1.0 MPa, y de 73% y 82% a 70%, en -1.5 MPa. La GA de todas las especies promedió 91%, con medias similares ($p > 0.05$) entre especies, en un periodo de 80 a 180 h en -0.03 MPa y de 250 a 430 h en -1.0 MPa. Únicamente la GA de *A. americana* var. *marginata* y *A. striata* en -1.5 MPa permaneció sin cambio, mientras que en las otras especies decreció

significativamente. La tasa de germinación decayó ($p < 0.05$) linealmente con el ψ_A , de 0.25 a 0.06 d^{-1} en -0.03 y -1.5 MPa, respectivamente. Los valores de Θ_H variaron desde 153 MPa·h en *A. lechuguilla* hasta 282 MPa·h en *A. salmiana*, y los de $\psi_{b(50)}$ desde -1.58 MPa en *A. asperrima* hasta -2.64 MPa en *A. salmiana*. El $\psi_{b(50)}$ promedio de las especies de *Agave* (-1.9 MPa) concuerda con su adaptación a los climas áridos. Las evidencias encontradas indican que la germinación de las especies de los climas más áridos es menos limitada ambientalmente por los potenciales de agua bajos.

Abstract

Water potential (ψ) has quantifiable effects on the rate and extent of seed germination. Germination at reduced ψ can be characterized on a hydrotime basis as well as some imbibition and germination parameters. *Agave* spp. plants have been identified as highly drought tolerant but the ψ effects on germination is unknown. The aim of this study is to demonstrate the effect of ψ on seed germination of seven *Agave* species from arid and semiarid distribution. The study was conducted under laboratory conditions, using vermiculite as the substrate to germination and the ψ evaluated were -0.03, -1.0 and -1.5 MPa. Curves fitting the time-courses of cumulative imbibition and germination were obtained; the following germination parameters were calculated: imbibition after the first 12 h (I-12; initial imbibition), maximum seed imbibition, rate of germination ($1/t_{(50)}$) and the maximum cumulative germination; besides, hydrotime constant (Θ_H), the mean $\psi_{b(50)}$ and standard deviation (σ_{ψ_b}) in minimum or base ψ among seeds in the population were obtained. The imbibition had an accelerated absorption water phase, during 70 h at -0.03 MPa and 40 h at both -1.0 and -1.5 -MPa. The I-12 of *A. asperrima*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* and *A. striata* decreased linearly with ψ , and that of *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata* and *A. duranguensis* decreased significantly only between -0.03 and -1.0 MPa, and remained unchanged between -1.0 and -1.5 MPa. The maximum imbibition decreased ($p < 0.05$) on a exponentially with a final asymptotic tendency, with the reduction of ψ ; in *A. duranguensis* and *A. lechuguilla* it declined from 140% at -0.03 MPa to almost an a half at -1.0 and -1.5 MPa, and in *A.*

americana var. *marginata* and *A. salmiana* it decreased from 103% and 115% at -0.03 MPa to 73% and 82% at -1.0 MPa, and from 73% and 82% to 70% at -1.5 MPa. The seven species reached maximum germination (>90%) at -0.03 MPa during 80-180 h and at -1.0 MPa during 250-430 h; however, at -1.5 MPa only in *A. americana* var. *marginata* and *A. striata* maximum germination was similar ($p>0.05$) to that at -0.03 MPa. Then the mean rate of germination declined ($p<0.05$) linearly from 0.25 to 0.06 d^{-1} with decreasing ψ . The Θ_H ranged from 153 MPa·h in *A. lechuguilla* up to 282 MPa·h in *A. salmiana*, and the $\psi_{b(50)}$ from -1.58 MPa in *A. asperima* up to -2.64 MPa in *A. salmiana*. The $\psi_{b(50)}$ of *Agave* spp. (-1.9 MPa) seems consistent with its adaptation to the arid climates. The results indicate that germination of the *Agave* species distributed along the most arid regions is less affected by the low ψ .

Introducción

Maguey es el nombre común de un grupo numeroso de especies clasificadas dentro del género *Agave*. Al menos 74 de esas especies y 28 taxa infraespecíficos han sido utilizadas en México como alimento humano y forraje, o materia prima para obtener bebidas fermentadas y fibra. También, de ese grupo, 48 especies destacan por ser la materia prima de bebidas destiladas como el mezcal, tequila, bacanora y otras (Colunga-GarcíaMarín *et al.*, 2007).

Las plantas de maguey pueden reproducirse sexual y asexualmente, según la especie, y su producción de semilla es abundante. Sin embargo, la propagación de *Agave* se realiza tradicionalmente de manera asexual, a través de hijuelos y bulbilos (Aguirre *et al.*, 2001; Valenzuela-Zapata y Nabhan, 2003). En la naturaleza, esta forma de propagación favorece el establecimiento exitoso del vástago, por su dependencia inicial directa de la planta madre. Además, se argumenta que con este tipo de propagación el tiempo para la maduración de la planta y su cosecha es menor que si se propaga por semilla. La propagación asexual propicia la existencia de poblaciones genéticamente homogéneas; al respecto, se han documentado pérdidas económicas cuantiosas debidas a daños por plagas y enfermedades en plantaciones clonadas de *Agave* (Valenzuela-Zapata y Nabhan, 2003; Espinosa *et*

al., 2005). Esto muestra la necesidad de aumentar la variabilidad genética de las plantaciones de *Agave*, lo que puede lograrse mediante la propagación por semilla.

Los magueyes se distribuyen en una diversidad amplia de ambientes, aunque el mayor número de especies se encuentra en comunidades vegetales xerófitas o en microambientes secos, dentro de tipos de vegetación más húmedos (García-Mendoza, 2002). Así, las especies de *Agave* toleran las restricciones de humedad características de las zonas secas, y son eficientes para producir biomasa aun con déficit de humedad (Pimienta-Barrios *et al.*, 2006; Schulte, 2009), en lugares donde pocos cultivos de importancia comercial pueden prosperar (Colunga-GarcíaMarín *et al.*, 2007). La capacidad de crecimiento de *Agave* en situaciones de sequedad se demuestra con el crecimiento radicular de plántulas de *Agave salmiana* que se mantuvo en sustratos con potenciales de agua (ψ_A) entre -0.65 y -2.5 MPa (Sánchez-Urdaneta *et al.*, 2004), y en plantas jóvenes de *A. salmiana*, y jóvenes y adultas de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* que asimilaron CO₂ aun después de seis meses sin suministro de agua y en la época seca del año (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001 y 2006; Ruiz *et al.*, 2007). En contraste, el exceso de humedad afectó el crecimiento de la raíz y de las hojas de plántulas de *A. salmiana* (Ruiz *et al.*, 2007). Estas evidencias conducen a la suposición de que procesos fisiológicos, como la germinación de semillas de maguey, pueden desarrollarse normalmente en condiciones subóptimas para otras plantas. Además, la amplia diversidad de especies y ambientes donde se distribuyen los magueyes, permiten esperar reacciones diferenciales en dependencia de las características climáticas donde se desarrollan dichas especies.

El modelo de tiempo hídrico es una forma similar a la escala de tiempo térmico o unidades calor empleada para describir o predecir eventos del desarrollo en diversos organismos. Dicho modelo asume la existencia de umbrales máximo y mínimo de humedad que permiten la germinación, y es señalado como una alternativa adecuada para cuantificar el efecto del potencial de agua del medio en el progreso de la germinación a través de tres parámetros, la constante de tiempo hídrico (Θ_H), el potencial base promedio ($\psi_{b(50)}$) y su desviación estándar ($\sigma_{\psi b}$) (Bradford, 1995 y 2002; Gummerson, 1986). El fundamento fisiológico del modelo

señala que el Θ_H equivale al tiempo hídrico acumulado (MPa h) necesario para que una semilla individual germine; el $(\psi_{b(50)})$ cuantifica la reacción germinativa de una población de semillas al ψ_A ; y la $\sigma_{\psi b}$ cuantifica la variación biológica de cada población de semillas (Bradford, 2002). Los valores del $(\psi_{b(50)})$ y su $(\sigma_{\psi b})$ en el modelo de tiempo hídrico han demostrado ser relevantes desde el punto de vista ecológico (Allen *et al.*, 2000; Daws *et al.*, 2008; Köchy y Tielbörger, 2007)

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del ψ_A en la germinación de semillas de siete especies de *Agave*, contrastantes en su clasificación taxonómica, procedencia climática y forma de reproducción.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se evaluaron siete especies de maguey con importancia económica actual o histórica, por ser empleadas como materia prima para la fabricación de mezcal o como fuente de fibras textiles duras. Las especies seleccionadas presentan formas naturales diversas de reproducción; su distribución natural ocurre en regiones climáticas distintas; pertenecen a uno de los dos subgéneros de *Agave*, *Agave* y *Littaea*, y a siete grupos taxonómicos (Gentry, 1982) (Cuadro 1).

Los frutos fueron recolectados en los ambientes propios de cada especie u obtenidos de colecciones vivas, según su disponibilidad; los de *A. cupreata*, *A. salmiana*, *A. asperrima*, *A. lechuguilla* y *A. striata* fueron recolectados en sus hábitats naturales (Cuadro 1): *A. cupreata* en Chilapa, Gro., *A. salmiana* en La Mantequilla, SLP, *A. asperrima* en Cerritos, SLP, y *A. lechuguilla* y *A. striata* en Guadalcázar, SLP. *Agave duranguensis* y *A. americana* var. *marginata* proceden de la colección viva del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Las cápsulas fueron cosechadas en madurez fisiológica, de un individuo seleccionado por su buen vigor y salud; posteriormente fueron extendidas sobre el piso en sitios ventilados para su maduración y deshidratación final. Los frutos se consideraron en madurez fisiológica cuando su color externo cambió de verde oscuro a amarillo-verdoso; para entonces, las semillas ya estaban completamente formadas. Con esta estrategia de recolección se impidió la apertura

de las cápsulas, por su dehiscencia natural, y la pérdida de semillas. Luego, las semillas fueron separadas de los frutos totalmente maduros y deshidratados, y fueron almacenadas (aproximadamente 20 meses) a 4 °C hasta su utilización.

Homogeneización de la humedad de las semillas y estratificación por tamaño

Grupos de semilla de cada especie se colocaron separadamente en bolsas de tela, las cuales a su vez se introdujeron en una bolsa de tamaño mayor, a 4 °C, para homogeneizar su contenido de humedad. Para conocer la uniformidad del tamaño de las semillas, se obtuvo la distribución de frecuencias del peso seminal específico a partir del peso individual de 300 semillas por especie (Figura 1). Debido a la variabilidad del peso de las semillas dentro de cada especie, para caracterizar la germinación y sus parámetros sólo se utilizaron las semillas con peso dentro de la amplitud delimitada por una desviación estándar alrededor de la media de cada especie. Un caso particular fue el de *A. duranguensis* que mostró una distribución bimodal del peso seminal individual; además, en pruebas preliminares la germinación fue mínima o nula en las semillas agrupadas alrededor de la moda menor. Por lo anterior, y sólo para *A. duranguensis*, las se emplearon las semillas cuyo peso estuvo en la amplitud de una desviación estándar alrededor de la moda mayor.

Cuadro 1. Identidad taxonómica y tendencias reproductivas y ambientales de las especies de *Agave* evaluadas.

| Subgénero | Especie | Tendencias en la reproducción | Clima (pptn)* | Tipo de vegetación |
|----------------|---|-------------------------------|---|--|
| <i>Littaea</i> | <i>A. lechuguilla</i> | Hijuelos y semilla | BW, BS ₀ , BS ₁ y CW ₀ (340) | Matorral desértico rosetófilo |
| | <i>A. striata</i> | Semilla y ramificación axilar | BShw (287) | Matorral desértico rosetófilo |
| <i>Agave</i> | <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> | Hijuelos y semilla | Varios (580) | Hábitats "artificiales", distribución antropógena |
| | <i>A. asperrima</i> | Hijuelos y semilla | BS ₁ kw (450) | Matorral submontano |
| | <i>A. cupreata</i> | Semilla | A(C)w ₁ (w)(i')g (838) | Bosque de pino y encino |
| | <i>A. duranguensis</i> | Hijuelos y semilla | BS ₀ kw(e) (484) | Matorral xerófito y bosque de pino y encino |
| | <i>A. salmiana</i> | Bulbilos, hijuelos y semilla | BS ₁ hw(e)g (361) | Matorral crasicaule y matorral desértico micrófilo |

Basado en: Gentry, 1982; Aguirre *et al.*, 2001; Ruiz-Corral *et al.*, 2002; García, 2004; CONABIO, 2006; Illsley *et al.*, 2007.

* pptn = Precipitación media anual, en mm.

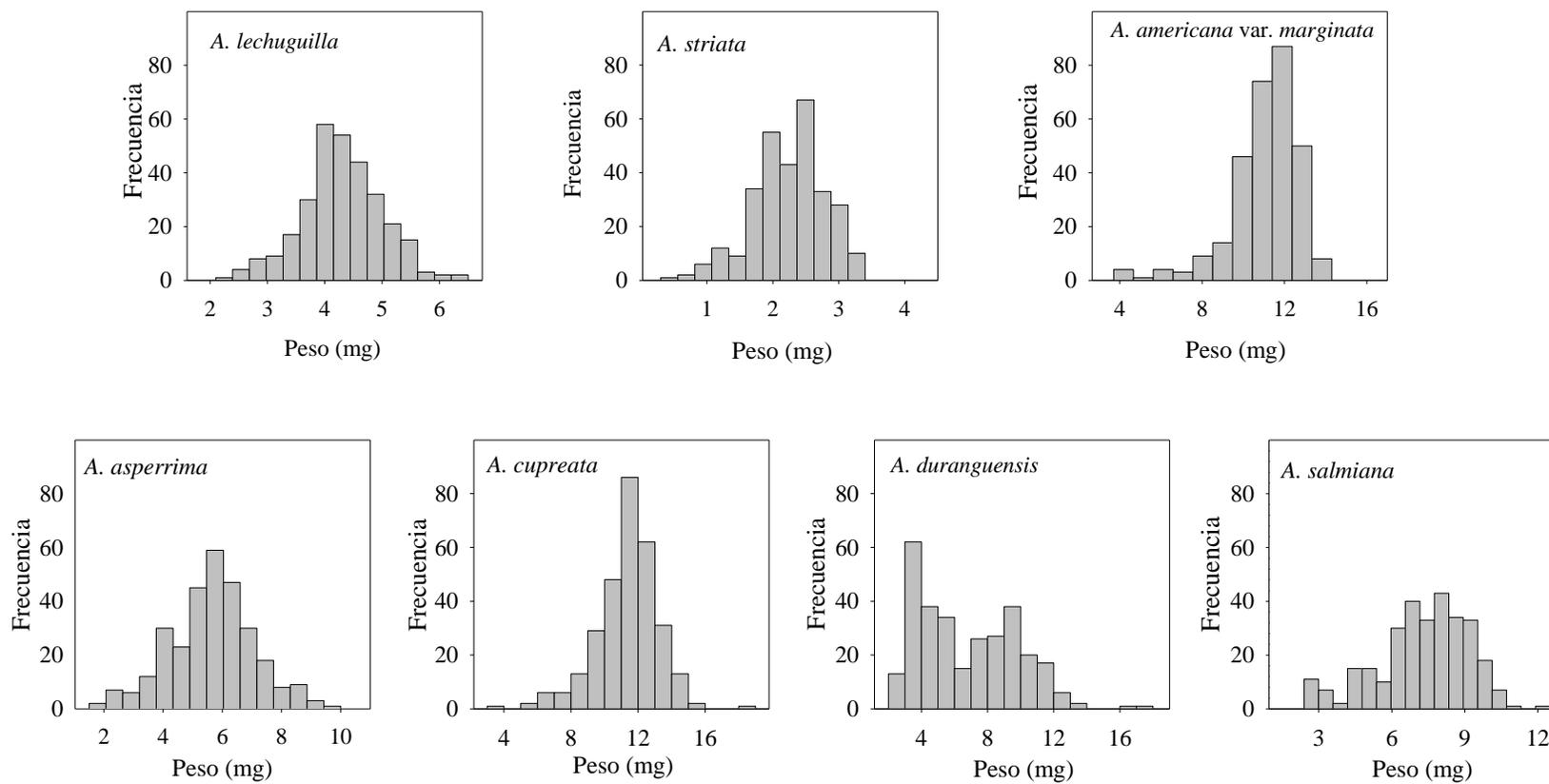


Figura 1. Distribución de frecuencia del peso seminal de siete especies de *Agave*. Los datos proceden de una muestra de 300 semillas de cada especie. Las escalas de las abscisas son diferentes.

Sustrato para la germinación

Como sustrato para la germinación se utilizó vermiculita con ψ_A promedio de -0.03 , -1.0 y -1.5 MPa. Para obtener cada ψ_A , la vermiculita fue secada en estufa a $100\text{ }^\circ\text{C}$ hasta peso constante, y posteriormente mezclada con agua destilada en proporción peso:volumen de acuerdo con la curva de retención de humedad (Figura 2). Las mezclas se prepararon 48 h antes de usarse y se mantuvieron en bolsas de polietileno selladas, según lo descrito por Sánchez-Urdaneta *et al.* (2004). Para corroborar los valores de ψ_A se incubaron muestras del sustrato en cámaras psicrométricas (Wescon C-52, Inc, Utha, USA) por 4 h. El ψ_A se midió con un microvoltímetro (Wescon HR-33T, Inc, Utha, USA), operado en el modo de punto de rocío, conectado a cada cámara. El sustrato de las unidades experimentales fue reemplazado cada 72 h para mantener el ψ_A en los valores promedio señalados.

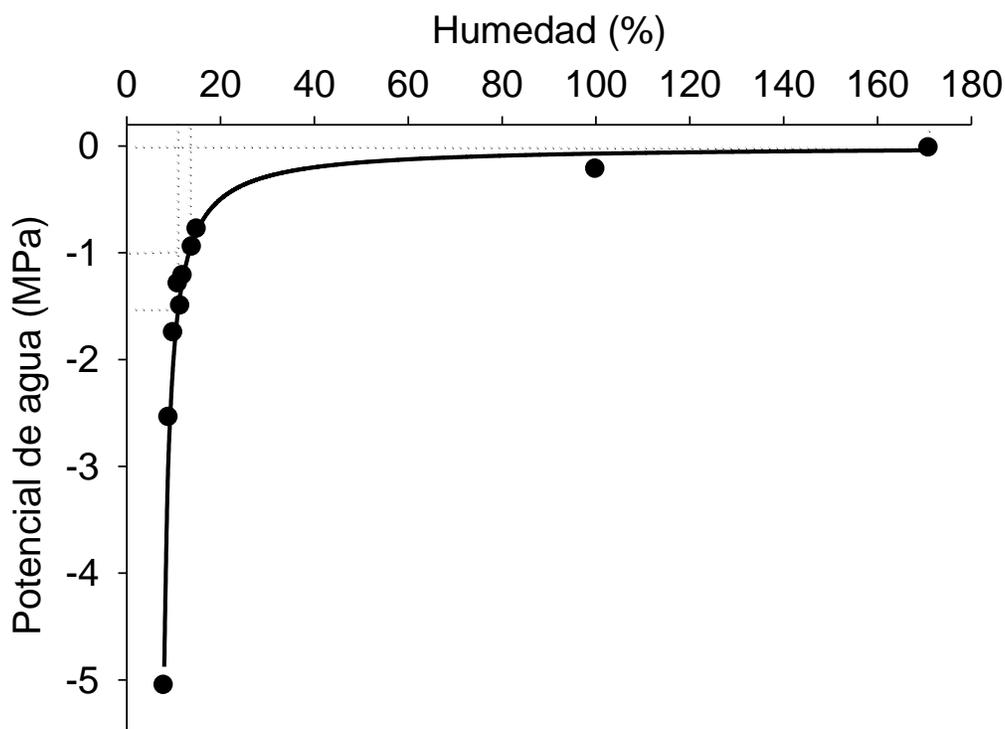


Figura 2. Relación entre el porcentaje de humedad y el ψ_A de la vermiculita empleada para evaluar la germinación de semillas de *Agave* spp. Los valores de ψ_A fueron estimados por psicrometría. Cada punto representa el promedio de cinco mediciones. Las líneas punteadas indican los niveles de potencial de agua estudiados.

Las semillas fueron sembradas individualmente en contenedores de cloruro de polivinilo (PVC), con 40 y 50 mm de diámetro interno y altura, respectivamente. Cada contenedor fue cerrado por los extremos con polietileno negro fijado con una banda elástica y se mantuvo en oscuridad a 25 ± 2 °C. Las observaciones se realizaron cada 12 ó 24 h. En los tratamientos de -1.5 MPa, cuando después de 732 h las semillas aun no habían germinado el sustrato de hidrató y se mantuvo con ψ_A de -0.03 MPa, hasta que las semillas germinaran o presentaran signos de deterioro.

Registro de datos y análisis

La imbibición se evaluó con el porcentaje de ganancia de peso de la semilla, debido a la absorción de agua, respecto a su peso inicial. La imbibición durante las primeras 12 h (I-12) se tomó como una medida indirecta de la velocidad de imbibición inicial. También midió la imbibición máxima, la cual fue la equivalente a la proporción de agua requerida por cada semilla para germinar. Además, se registró el proceso de germinación acumulada hasta el máximo asintótico.

De acuerdo con el modelo de tiempo hídrico, por debajo de un nivel umbral de ψ_A las semillas no germinan, pero por arriba de dicho nivel, las semillas germinan por la acumulación de tiempo hídrico (Θ_H). Cada semilla de una población varía en el nivel umbral de tiempo hídrico acumulado para germinar; en cambio, el Θ_H es constante para toda la población (Gummerson, 1986; Bradford, 1995 y 2002). De acuerdo con este modelo, la germinación puede describirse con la siguiente ecuación:

$$\Theta_{Hg} = (\psi_A - \psi_{bg})/t_g$$

en términos del potencial base:

$$\psi_{bg} = \psi_A - \left(\Theta_H / t_g \right)$$

Donde Θ_{Hg} es el tiempo hídrico (MPa h) requerido para que germine la proporción g de una población de semillas, ψ_A representa cada nivel de potencial de agua del sustrato de germinación (MPa), ψ_{bg} es el potencial base (MPa) en el cual germina la proporción g , y t_g es el tiempo (en h o d), desde que se inicia la imbibición hasta que germina la fracción g . Se considera que los potenciales base (ψ_{bg}) se distribuyen de forma normal dentro de una población de semillas y que el tiempo hídrico (Θ_H) es una constante característica de cada población. Dentro de la distribución de los potenciales base de las semillas puede estimarse el potencial base medio de la población, el $\psi_{b(50)}$, esto es, el requerido para que germine el 50% de las semillas. Con este porcentaje de germinación, también es posible cuantificar el tiempo para que ocurra el 50% de germinación acumulada (t_{50}). A su vez, la desviación estándar (σ_{ψ_b}) del $\psi_{b(50)}$ es un parámetro que mide la variabilidad de los ψ_{bg} (Gummerson, 1986; Bradford, 1995 y 2002). Para estimar los parámetros del modelo de tiempo hídrico, los valores de germinación acumulada, transformados a valores probit, fueron graficados con respecto al potencial base medio de la población de semillas de cada especie ($\psi_{b(50)}$). Así, la constante de tiempo hídrico puede ser estimada de forma iterativa hasta conseguir que la ecuación de regresión lineal de los valores probit de la germinación graficados respecto al ($\psi_{b(50)}$) presente el mejor ajuste, lo cual se reconoció con el mayor coeficiente de determinación correspondiente (Allen *et al.*, 2000).

El experimento se realizó de acuerdo con un diseño completamente al azar, con cinco repeticiones, y un arreglo factorial de tratamientos. Los factores y niveles fueron: especie (*A. lechuguilla*, *A. striata*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. duranguensis*, *A. cupreata* y *A. salmiana*) y Ψ_A (-0.03, -1.0 y -1.5 MPa). Para las pruebas de germinación, la unidad experimental estuvo conformada por un grupo de 10 contenedores, cada uno con una semilla. Se efectuó el análisis de normalidad con base en el análisis gráfico de residuales y la prueba Shapiro-Wilks a las variables I-12, imbibición máxima, tasa de germinación ($1/t_{50}$) y porcentaje de germinación acumulada (GA); las variables fueron transformadas cuando el supuesto de normalidad no se cumplió. Los datos se analizaron con la técnica de

análisis de varianza y la prueba de comparación múltiple de medias, ambas con el programa SAS (SAS, 1999-2000).

Resultados

Imbibición

La curva de absorción de agua de las semillas de *Agave* presentó una fase de hidratación rápida seguida por una fase de meseta, en la que la absorción fue reducida o nula. El decremento del ψ_A , de -0.03 a -1.0 y -1.5 MPa, disminuyó ($p < 0.05$) casi a la mitad la cantidad de agua absorbida por las semillas en la mayoría de las especies; uno de los resultados de este cambio fue que la duración de la fase acelerada de imbibición también se redujo. Así, de 70 h en el sustrato con -0.03 MPa la fase acelerada de imbibición disminuyó a 40 h en los sustratos con -1.5 y -1.0 MPa (Figura 3).

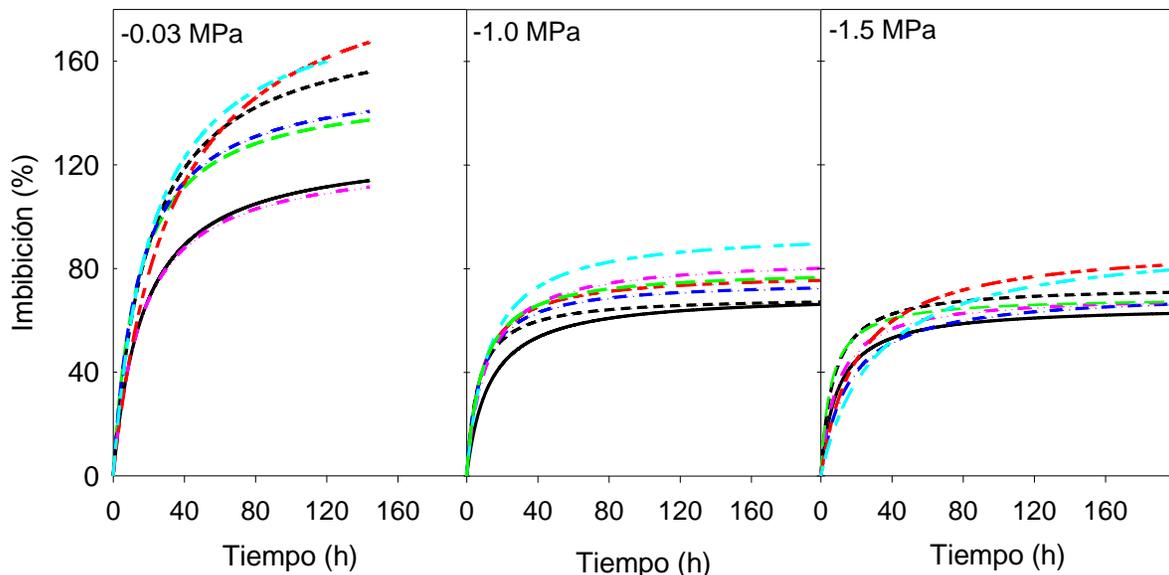


Figura 3. Dinámica de imbibición de semillas de *Agave* con tres niveles de potencial de agua. --- *A. lechuguilla*, --- *A. striata* — *A. americana var. marginata*, --- *A. asperrima*, --- *A. duranguensis*, --- *A. cupreata* y --- *A. salmiana*. Para mayor claridad de la información, los datos observados fueron omitidos.

Los ψ_A menores que -0.03 MPa redujeron significativamente la tasa de imbibición, pues la I-12 decreció, en promedio, de 67% en -0.03 MPa a 42 % en -1.5 MPa. Con excepción de *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata* y *A. duranguensis*, el I-12 decayó linealmente con la disminución del ψ_A , y el abatimiento fue más pronunciado en *A. lechuguilla* y *A. striata*. La I-12 de *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata* y *A. duranguensis* se mantuvo sin cambios significativos entre -1.0 y -1.5 MPa (Figura 4).

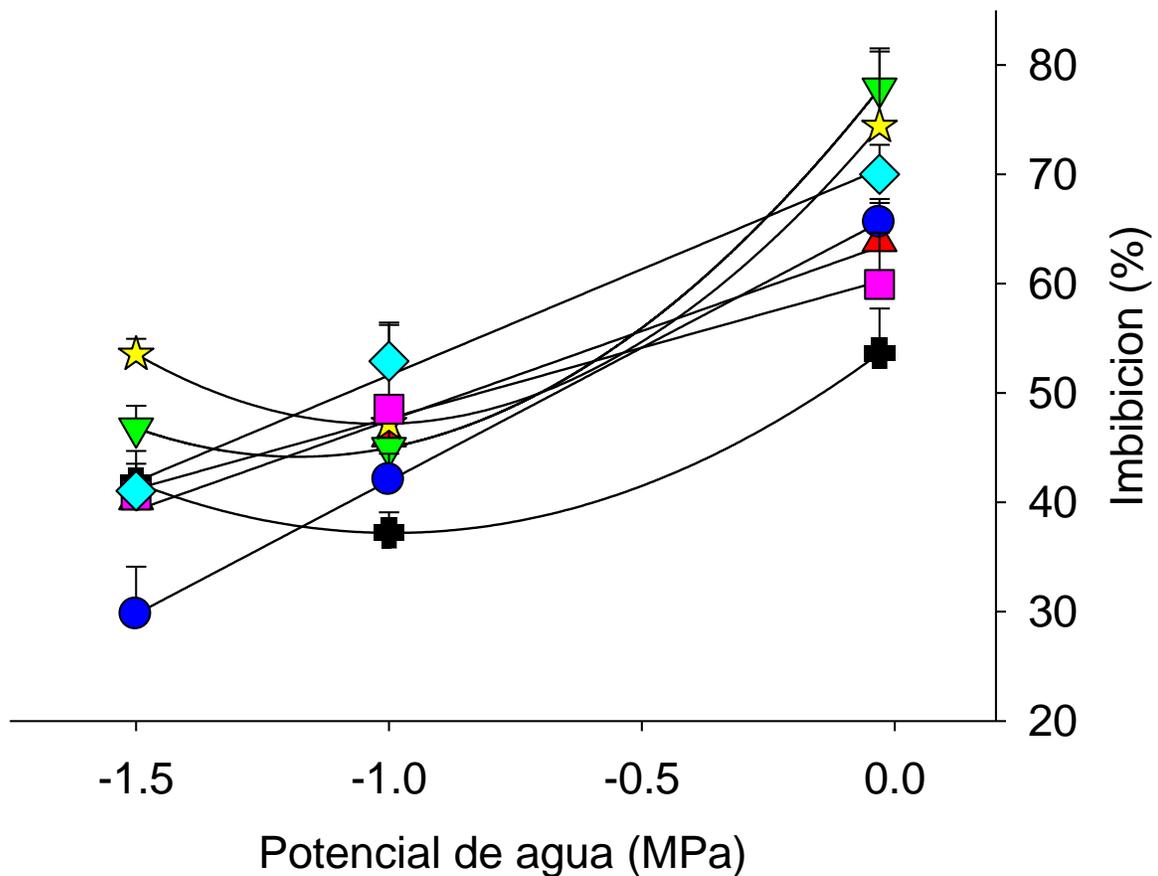


Figura 4. Imbibición durante las primeras 12 h de germinación de semillas de *Agave* spp. bajo diferentes potenciales de agua, a 25 °C y en obscuridad. ● *A. lechuguilla*, ◆ *A. striata*, ■ *A. americana* var. *marginata*, ▲ *A. asperima*, ★ *A. duranguensis*, ▼ *A. cupreata* y ■ *A. salmiana*.

(La barra vertical indica una desviación estándar; n=5).

El ψ_A alteró significativamente la imbibición máxima de las semillas de *Agave*; las diferencias entre especies fueron mayores en -0.03 MPa y tendieron a reducirse con la disminución de ψ_A . Independientemente del ψ_A , las semillas de *A. asperima* y *A. striata* embebieron significativamente más agua que las otras especies, mientras que las de *A. americana* var. *marginata* embebieron la menor ($p < 0.05$) cantidad, y en las cuatro especies restantes la cantidad de agua embebida fue intermedia. La imbibición máxima disminuyó exponencialmente y con tendencia asintótica con la declinación del ψ_A de -0.03 a -1.5 MPa, pero con proporciones distintas entre las especies. La mayor disminución de la imbibición máxima por la reducción del ψ_A la presentaron *A. duranguensis* y *A. lechuguilla*, de 140% a casi la mitad. En contraste, el nivel máximo de imbibición de *A. americana* var. *marginata* y *A. salmiana* sólo disminuyó de 103% y 115%, respectivamente, a 70% en ambas especies (Figura 5).

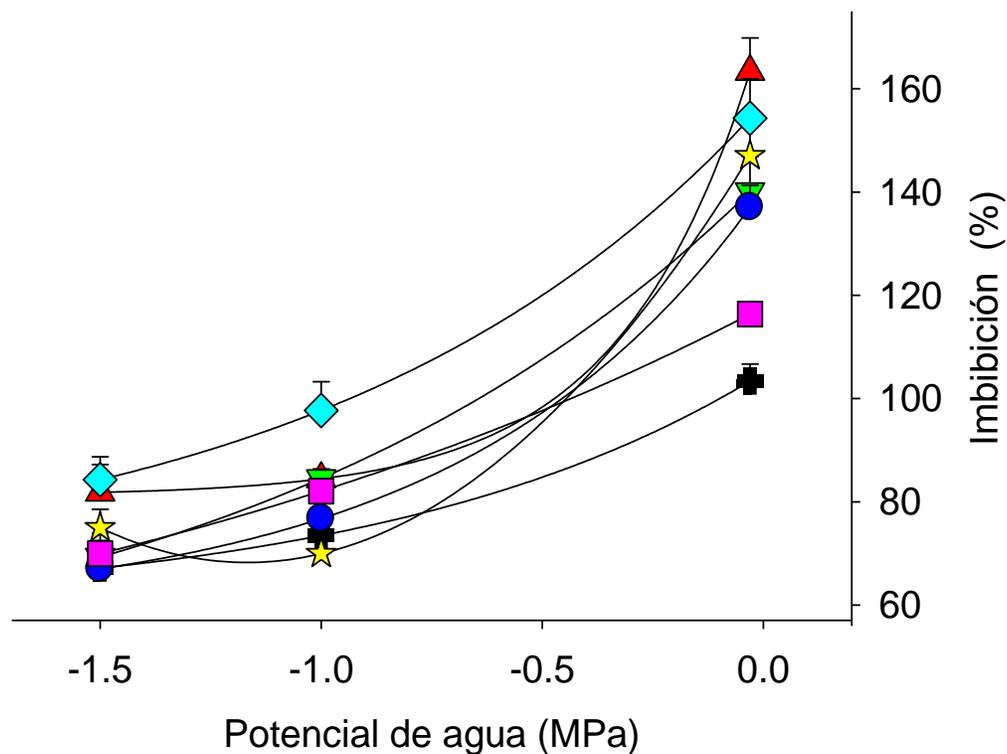


Figura 5. Imbibición necesaria para la germinación (imbibición máxima) de semillas de *Agave* spp. bajo diferentes potenciales de agua, a 25 °C y en obscuridad. ● *A. lechuguilla*, ◆ *A. striata*, ✚ *A. americana* var. *marginata*, ▲ *A. asperima*, ★ *A. duranguensis*, ▼ *A. cupreata* y ■ *A. salmiana*. (La barra vertical indica una desviación estándar; n=5).

Germinación

La germinación acumulada de las siete especies de *Agave* fue alrededor del 90%, sin diferencias ($p < 0.05$) entre sí, en un periodo de 80 a 180 h y de 250 a 430 h con ψ_A de -0.03 y -1.0 MPa, respectivamente. Los porcentajes de germinación acumulada de *A. americana* var. *marginata* y de *A. striata* con el ψ_A más restrictivo (-1.5 MPa) fueron significativamente iguales respecto a los observados con -0.03 y -1.0 MPa. En contraste, la germinación acumulada en 732 h con ψ_A de -1.5 MPa decreció significativamente hasta 30% en *A. asperrima*, 20% *A. cupreata*, 36% en *A. duranguensis*, 70% en *A. lechuguilla* y 48% en *A. salmiana*. Por otro lado, aunque el porcentaje final de germinación acumulada de *A. lechuguilla* con -1.5 MPa fue menor ($p < 0.05$) que con -0.03 y -1.0 MPa, fue similar ($p > 0.05$) que el de *A. striata* y *A. americana* var. *marginata* con -1.5 MPa (Figura 6).

Tasa de germinación y parámetros del modelo de tiempo hídrico

La tasa de germinación decreció ($p < 0.05$) linealmente con el ψ_A , desde 0.26 d^{-1} con -0.03 MPa hasta 0.06 d^{-1} con -1.5 MPa. La pendiente de la línea de regresión fue similar en la mayoría de las especies. La reacción de *A. salmiana* fue ligeramente distinta, pues la declinación de su tasa de germinación fue sólo de 0.2 a 0.1 d^{-1} (Figura 7).

Las especies que presentaron el tiempo hídrico (Θ_H) menor fueron *A. americana* var. *marginata*, *A. duranguensis* y *A. lechuguilla*. En contraste, *A. cupreata* y *A. salmiana* mostraron la mayor magnitud del Θ_H , y *A. asperrima* y *A. lechuguilla* presentaron valores intermedios. *Agave salmiana* se diferenció porque su Θ_H y σ_{ψ_b} fueron mayores que las otras especies, y porque su $\psi_{b(50)}$ fue el menor. Con excepción de *A. salmiana*, los valores de $\psi_{b(50)}$ variaron desde -1.58 y -1.68 en *A. asperrima* y *A. duranguensis*, hasta -2.01 y -2.02 en *A. americana* var. *marginata* y *A. striata*, todas con un valor de la σ_{ψ_b} aproximado a 0.45 MPa. Por otro lado, la diferencia del $\psi_{b(50)}$ de *A. salmiana* con respecto al de las otras especies fue mayor que las diferencias al respecto entre estas últimas (Cuadro 2).

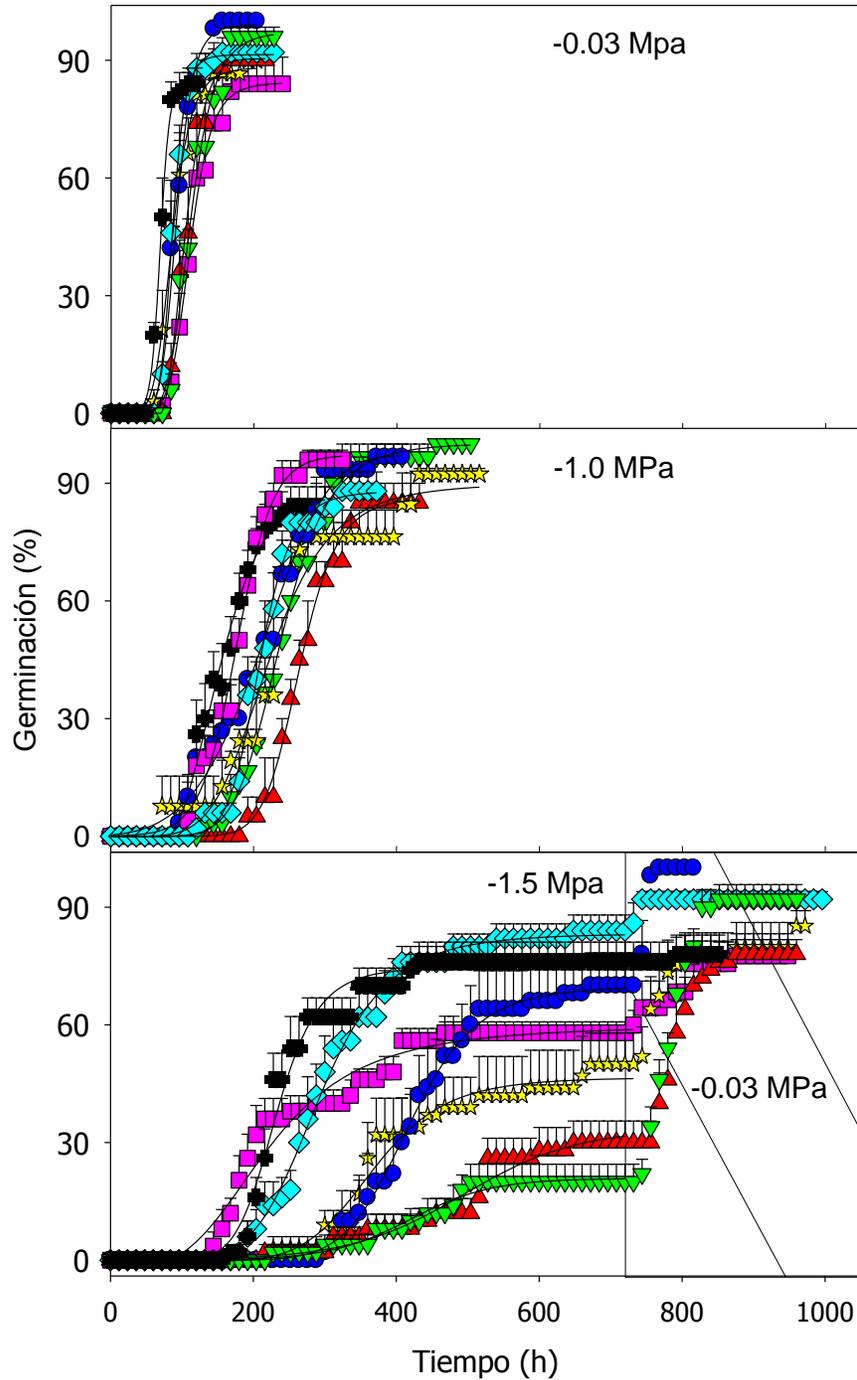


Figura 6. Efecto del potencial de agua en la tendencia de germinación acumulada de semillas de siete especies de *Agave*, en la oscuridad y a 25 °C. Con -1.5 MPa el tratamiento se mantuvo durante 732 h, posteriormente el sustrato fue rehidratado. ● *A. lechuguilla*, ◆ *A. striata*, ■ *A. americana var. marginata*, ▲ *A. asperrima*, ☆ *A. duranguensis*, ▼ *A. cupreata* y ■ *A. salmiana*. (La barra vertical indica una desviación estándar; n=5).

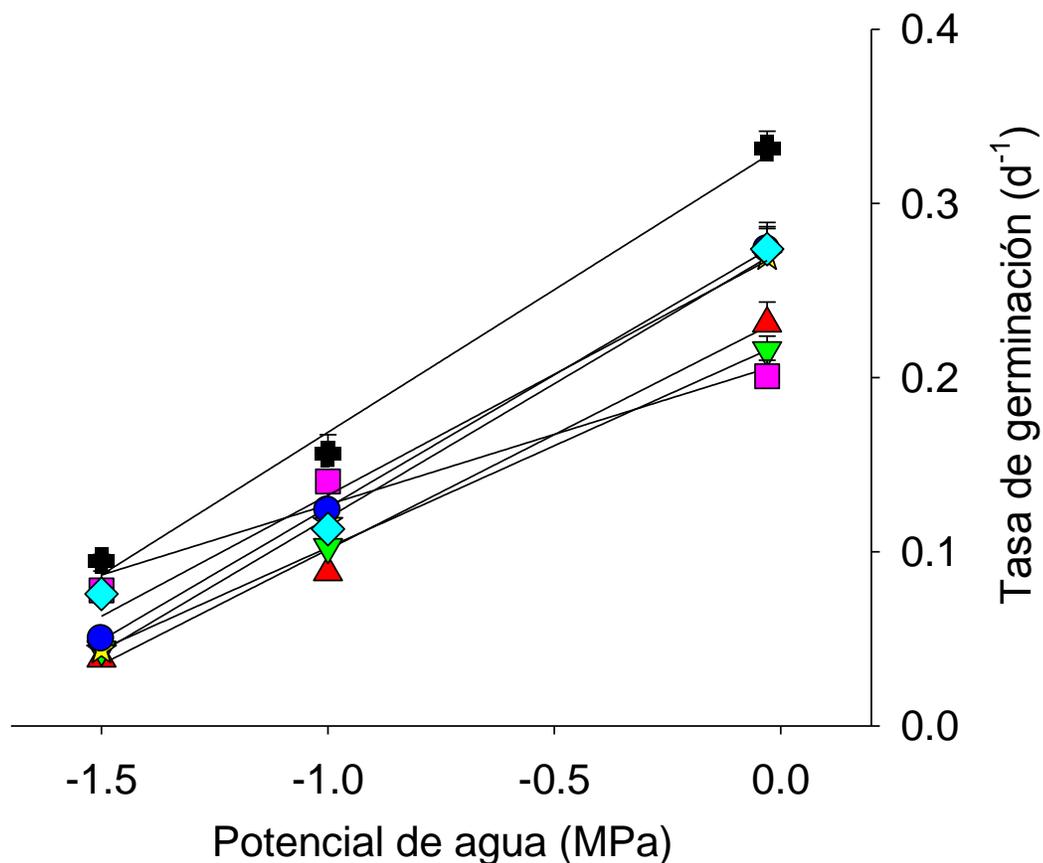


Figura 7. Relación de la tasa de germinación ($1/t_{50}$) de siete especies de *Agave* con la variación del potencial de agua del sustrato. ● *A. lechuguilla*, ◆ *A. striata*, ■ *A. americana var. marginata*, ▲ *A. asperima*, ★ *A. duranguensis*, ▼ *A. cupreata* y ■ *A. salmiana*. (La barra vertical indica una desviación estándar; $n=5$).

Recuperación de la actividad germinativa

El restablecimiento de la humedad después de 732 h, en los tratamientos con ψ_A de -1.5 MPa, propició la recuperación de la actividad germinativa. Es destacable la reacción de las semillas de *A. americana var. marginata*, *A. cupreata*, *A. lechuguilla* y de *A. striata*, pues su porcentaje de germinación acumulada promedió 94% con el incremento de humedad y este valor fue similar ($p>0.05$) al obtenido con -1.0 y -0.03 MPa. Además, aunque el porcentaje final de germinación acumulada de *A. asperima* y *A. salmiana*, una vez hidratada la vermiculita hasta el ψ_A de -0.03 MPa,

alcanzó un nivel menor que los obtenidos con -1.0 y -0.03 MPa, dicho valor fue mayor que 75% (Figura 6).

Cuadro 2. Parámetros del modelo de tiempo hídrico estimados para la germinación de siete especies de *Agave* con tres niveles de potencial de agua (-0.03, -1.0 y -1.5 MPa).

| Especie | Θ_H MPa h | $\Psi_{b(50)}$ MPa | $\sigma_{\psi b}$ MPa | r^2 |
|---|---------------------|-----------------------|--------------------------|--------|
| <i>A. lechuguilla</i> | 153 | -1.84 | 0.36 | 0.8916 |
| <i>A. striata</i> | 176 | -2.02 | 0.41 | 0.8293 |
| <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> | 142 | -2.01 | 0.44 | 0.8226 |
| <i>A. asperrima</i> | 158 | -1.58 | 0.37 | 0.8811 |
| <i>A. duranguensis</i> | 137 | -1.68 | 0.58 | 0.7752 |
| <i>A. cupreata</i> | 190 | -1.82 | 0.46 | 0.8139 |
| <i>A. salmiana</i> | 282 | -2.64 | 0.81 | 0.7676 |

Θ_H : Constante de tiempo hídrico; $\psi_{b(50)}$: potencial base medio; $\sigma_{\psi b}$: desviación estándar del $\psi_{b(50)}$; y r^2 : coeficiente de determinación.

Discusión

Las semillas de las siete especies de *Agave* presentaron permeabilidad natural a la humedad del medio de germinación y en sólo 12 h en vermiculita bien hidratada (-0.03 MPa) ganaron entre el 50 y 80% de su peso; aun con humedad limitada en el sustrato (15% o -1.5 MPa) las semillas ganaron entre 30 y 60% de su peso, en igual tiempo (Figuras 3 y 4). La dinámica de imbibición de las semillas de *Agave* coincidió con el patrón de absorción de agua documentado para semillas maduras deshidratadas de diversas especies (Bewley, 1997). Al respecto, Vertucci (1989) precisó que la imbibición es el evento inicial de la germinación, que consiste en la hidratación acelerada de los tejidos de la semilla, y que es un proceso físico que ocurre por la diferencia entre el potencial de agua de las semillas deshidratadas y el del sustrato de germinación. Así, en cuanto a la imbibición sobresalieron los resultados siguientes (Figura 4):

- a) Las diferencias entre las siete especies en humedad embebida (más que 25%) durante las primeras 12 horas, cuando carecieron de restricciones de humedad; el contraste mayor se presentó entre *A. cupreata* y *A.*

- duranguensis* (75%) y *A. americana* var. *marginata* y *A. salmiana* (50% en promedio).
- b) La amplitud de las diferencias en I-12 entre especies con los tres ψ_A evaluados fue también importante, pero similar a la anterior (más que 25%).
 - c) Tres especies, *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata* y *A. duranguensis*, presentaron similar ($p>0.05$) I-12 en el sustrato menos hidratado, con ψ_A de -1.5 MPa, y en el medianamente hidratado, con -1.0 MPa. Esto sólo puede resultar de un aumento de la permeabilidad en condiciones de menor disponibilidad de humedad en estas especies.
 - d) La reacción de imbibición inicial al ψ_A del sustrato mostró que el proceso de incorporación de humedad a los tejidos seminales es diferente entre especies de *Agave*, pues en *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata* y *A. duranguensis* decayó exponencialmente, en tanto que en las otras cuatro especies sucedió linealmente.

Estos resultados muestran que la velocidad de imbibición es regulada por caracteres intrínsecos de la semilla, los cuales sin embargo son modificados por factores ambientales durante el proceso de imbibición. Además, la permeabilidad, y por tanto la velocidad de absorción de agua, cambia con el tiempo y nivel de imbibición (Vertucci, 1989).

La imbibición inicial de las semillas de *Agave*, en dependencia de los ψ_A de la vermiculita, se modificó con el tiempo, y la imbibición máxima en relación con el ψ_A mostró los siguientes aspectos sobresalientes (Figura 5):

- a) Diferencias significativas amplias entre especies en su imbibición máxima con el ψ_A de -0.03 MPa. La diferencia de la humedad embebida para la germinación, independiente del tiempo, entre las siete especies cuando dispusieron de la humedad mayor, alcanzó 60 puntos porcentuales, respecto al peso inicial de las semillas. La diferencia mayor se presentó entre *A. asperima* y *A. duranguensis*, con la imbibición extrema superior (en promedio 160%), y *A. americana* var. *marginata* y *A. salmiana*, con las imbibiciones menores (en promedio 115%).

- b) La amplitud de la imbibición máxima entre las especies varió con el ψ_A . Tanto con el ψ_A más restrictivo, como con el más favorable, *A. asperrima* y *A. duranguensis* alcanzaron la imbibición máxima superior (en promedio 83%) con respecto a las otras especies. En contraste, *A. lechuguilla* y *A. salmiana* mostraron capacidad para iniciar la germinación con porcentajes de humedad significativamente menores (en promedio 70%) y con el ψ_A más restrictivo (-1.5 MPa).
- c) Sólo una especie, *A. duranguensis*, mostró independencia de su imbibición máxima de los niveles de ψ_A de -1.5 y -1.0 MPa. Como sucedió con la I-12 en otras especies de *Agave* (Figura 4), esta reacción parece sugerir un aumento en la permeabilidad y capacidad germinativa cuando estas semillas disponen de menos humedad.
- d) Al menos una de las siete especies, *A. asperrima*, requirió embeber la misma cantidad de agua para iniciar la germinación, independientemente de ambos ψ_A restrictivos.
- e) La imbibición necesaria para iniciar la germinación en dependencia del ψ_A contrastó con la I-12 del grupo, pues en ningún caso la caída fue lineal.

Las diferencias en imbibición máxima entre especies, debidas a los potenciales de agua, pueden relacionarse con las diferencias en la permeabilidad de las semillas entre especies (Figura 5), pues se ha señalado que la ruta de ingreso del agua y el orden en que las estructuras seminales son embebidas difiere entre especies, cultivares y variantes (McEntyre *et al.*, 1998; Kikuchi *et al.*, 2006; Kouzumi *et al.*, 2008). Además, las diferencias en la imbibición máxima debidas a la disminución del potencial de agua del sustrato pueden deberse en parte a los cambios del volumen y reorganización de los polímeros de la semilla conforme embebe humedad (Meyer *et al.*, 2007), con diferencias pequeñas a grandes, lo cual va creando más sitios para la adsorción de agua (Vertucci, 1989), pero con tasas diferentes entre las especies. Así, es probable que la menor disponibilidad de agua, con ψ_A de -1.0 y -1.5 MPa, produjera sólo parcialmente una hidratación e incremento de los volúmenes de los polímeros de las semillas de *Agave*. El ψ_A de las semillas

también tiene efecto en la imbibición, por lo que el decremento de la imbibición máxima con el ψ_A del medio de germinación puede deberse a que la magnitud de la diferencia entre ambos ψ_A fue mayor en el sustrato con -0.03 MPa, como sucedió con dos cultivares de *Lens culinaris* (Al-Karaki, 1998). La magnitud de esta diferencia es considerada la fuerza que propicia el proceso de imbibición (Vertucci, 1989), y este proceso se detiene cuando el potencial de agua de la semilla y el del ambiente de germinación llegan a un equilibrio (Bradford, 1995). Sin embargo, Vertucci (1989) señala que la disminución de la tasa de imbibición puede ser independiente de la disminución en la diferencia de potenciales, debido a que los cambios en los potenciales son dependientes de la permeabilidad. A su vez, la permeabilidad parece ser el atributo más importante para explicar la tasa de imbibición.

Las diferencias en la imbibición máxima entre especies coinciden parcialmente con lo encontrado por Peña-Valdivia *et al.* (2006) en tres variantes de *A. salmiana* con semillas de tamaños distintos. Los resultados de la presente investigación mostraron cierta relación inversa entre la imbibición máxima y el tamaño de la semilla, pues el promedio del peso seminal de *A. asperrima* y *A. striata* fue de 5 y 2 mg, respectivamente, y el de *A. americana* var. *marginata* de 11 mg (Figura 1), y en las dos primeras especies se registraron los mayores porcentajes de imbibición, mientras que en la tercera la imbibición fue menor con el ψ_A mayor. No obstante, los niveles de imbibición máxima de *A. salmiana* y *A. lechuguilla*, con pesos seminales de 7.2 y 4.3 mg, respectivamente, no variaron de acuerdo con la relación señalada (Figura 5). Aunque existe controversias respecto al papel de la composición de las semillas en la imbibición máxima, los niveles heterogéneos de imbibición máxima sí fueron explicados con base en las diferencias en la composición química de las semillas de un mutante y un cultivar de cebada (Molina-Cano *et al.*, 2002). Al respecto, Brancalion *et al.* (2008) señalaron la existencia de una correlación positiva entre la concentración de proteínas en la semilla y el contenido de humedad crítico para la germinación de cinco especies leñosas tropicales. Las diferencias en la imbibición máxima entre especies, y el patrón de disminución asintótico resultantes coinciden con lo documentado en *Festuca rubra* ssp. *litoralis*, *Lolium perenne* y *Poa pratensis* (Larsen *et al.*, 2004), y

demuestran la presencia de un umbral de imbibición necesario para que ocurra la germinación de las semillas de *Agave*. Así, en condiciones de disponibilidad de humedad baja, se requerirá mayor tiempo de imbibición para alcanzar dicho umbral e iniciar la germinación; de manera opuesta, si ese umbral no es superado, la germinación no ocurrirá (Bradford, 1995). Es destacable el hecho que en la mayoría de las especies de *Agave* estudiadas, el umbral de imbibición para la germinación fue la mitad del registrado en la condición menos restrictiva. Este resultado contrasta con la reacción de *Lolium perenne* y *Poa pratensis* cuyos porcentajes de imbibición para germinar disminuyeron de 100% y 90%, a un nivel asintótico de 90% y 80%, respectivamente, cuando el potencial de agua del ambiente de germinación disminuyó de cero MPa a -0.8 MPa o menos. Las diferencias en imbibición máxima entre las especies estudiadas, es decir en la humedad mínima para iniciar la germinación, con los tres ψ_A estudiados, evidencian que las semillas de estas siete especies pueden iniciar la germinación en ambientes diferentes. Debido a la riqueza de las especies de *Agave* del presente estudio, los resultados pueden tomarse como representativos de la capacidad germinación del género en ambientes con restricciones o variaciones fuertes de humedad.

Las semillas de las siete especies estudiadas carecieron de latencia, pues alcanzaron porcentajes de germinación acumulada similares ($p < 0.05$) entre ellas, de alrededor de 90%, en un periodo de 80 a 180 h, y de 250 a 430 h en la vermiculita con ψ_A de -0.03 y -1.0 MPa, respectivamente. La ausencia de latencia en varias especies y variantes de *Agave* ya había sido documentada (Pritchard y Miller, 1995; Pena-Valdivia *et al.*, 2006; Ramírez-Tobias *et al.*, 2010) y contrasta con el predominio de la repoblación de estas especies de manera vegetativa, con el esfuerzo reproductivo expresado por la semelparidad y la gran cantidad de semilla producida por planta (Arizaga y Ezcurra, 2002). Además, el tamaño pequeño de las semillas, que en las especies evaluadas varió de 2 a 11 mg, contrasta con la corpulencia de la planta, estimada en unos 200 kg en *A. salmiana* (Aguirre *et al.*, 2001). Sin embargo, la carencia de latencia y la producción masiva de semilla pequeña y viable pueden favorecer una repoblación mínima de plantas propagadas sexualmente en ambientes muy restrictivos.

La disminución del porcentaje de germinación acumulada debida a los ψ_A restrictivos del medio ha sido documentada en diversas especies silvestres (Evans y Etherington, 1990; Wang *et al.*, 2005) y domesticadas (Sadeghian y Yavary, 2004; Tsougkrianis *et al.*, 2009). La presencia de semillas no germinadas durante las 732 h en -1.5 MPa, pone de manifiesto que dichas semillas carecieron de un estímulo para germinar, aun cuando presentaron el mismo nivel de imbibición que las que germinaron. Esta ausencia de germinación en condiciones subóptimas de humedad, ha sido considerada una expresión de latencia (Hegarty, 1978; Bradford, 1995) y se debe a variación individual en los niveles de ψ_A de la semilla críticos para germinar. Así, mientras el ψ_A de la semilla permanezca en un nivel parcialmente limitante, la curva de germinación acumulada tenderá a una asíntota con respecto al tiempo.

La similitud del porcentaje de germinación acumulada final de todas las especies de *Agave* con -0.03 y -1.0 MPa demostró la tolerancia a ese proceso fisiológico con ψ_A del medio considerados estresantes para otras especies o cultivos. Es el caso del porcentaje de germinación acumulada final de dos variantes de *Lycopersicon esculentum*, una tolerante y otra resistente a la sequía, el cual disminuyó significativamente al pasar de -0.61 a -0.74 MPa (Dahal y Bradford, 1994). También, el porcentaje final de germinación de nueve variantes de remolacha azucarera decreció significativamente a partir de -0.5 MPa (Sadeghian y Yavary, 2004). Por otro lado, el ψ_A de -1.5 MPa en el medio de germinación puede tomarse como la condición adecuada para reconocer efectos de la disponibilidad de humedad en la germinación acumulada de las especies de *Agave*, cuantificar este factor como generador de estrés en dicho proceso, y como el nivel de humedad del medio de germinación que ya genera estrés en la germinación de las semillas de *Agave* spp. (Figura 6). La capacidad de las semillas de *Agave* para germinar en condiciones restrictivas de humedad del medio es probable que también se manifieste en el ambiente natural propio de cada especie, y particularmente en relación con las diferencias en precipitación. Así, *A. cupreata*, cuyo porcentaje final de germinación acumulada fue significativamente reducido a -1.5 MPa, habita en sitios con el clima más húmedo de las siete especies estudiadas, con una precipitación anual de más que 800 mm. En contraste, la precipitación anual de los sitios de distribución propios

de *A. striata* y *A. americana* var. *marginata* es 280 y 480 mm (García, 2004) y en estas especies el ψ_A más restrictivo no alteró el porcentaje de germinación acumulada (Figura 6). En este sentido, la precipitación media anual del clima de las regiones de distribución de *A. lechuguilla* es de alrededor de 300 mm, y su porcentaje de germinación acumulada con -1.5 MPa fue similar ($p>0.05$) al de *A. striata* y *A. americana* var. *marginata*.

En general, la dinámica de la germinación se ajustó adecuadamente al modelo de tiempo hídrico. El r^2 medio de la regresión lineal de los valores de germinación (transformados a probit) respecto al $\psi_{b(50)}$ fue 0.83. Con base en los valores del r^2 , es posible sugerir que la germinación de *A. asperrima* y de *A. lechuguilla* se ajustó mejor al modelo de tiempo hídrico; en contraste, *A. duranguensis* y *A. salmiana* tendieron a mostrar un ajuste menor (Cuadro 2).

La disminución lineal de la tasa de germinación de las semillas de *Agave* con la reducción en el ψ_A (Figura 7), coincide con la asociación entre estas dos variables señalada en diversos estudios (Gummerson, 1986; Bradford, 1995; Wang *et al.*, 2005; Daws *et al.*, 2008). La tasa de germinación de las especies de *Agave* también se correlacionó de forma positiva con la imbibición máxima ($r=0.74$, $p<0.05$). Hegarty (1978) señaló que las semillas, cuando carecen de restricciones, absorben más agua que la que requieren para germinar. Sin embargo, cada semilla tiene que superar su propio umbral de imbibición, el ψ_{bg} , para iniciar la germinación (Bradford, 2002). De la magnitud del ψ_A del medio de germinación depende la velocidad de imbibición, y de esta a su vez la velocidad de germinación. Al respecto, el decrecimiento menos acentuado de la tasa de germinación de *A. salmiana* por efecto del potencial de agua (Figura 7) indica una tolerancia más amplia de esta especie a los ψ_A diversos en el ambiente de germinación. De hecho, la tasa de germinación de *A. salmiana* con -1.5 MPa, aproximadamente hasta 40% de germinación acumulada, fue mayor que la de las otras especies (Figura 6). Esta mayor tolerancia aparente de *A. salmiana* puede deberse a su capacidad genética de sufrir modificaciones fisiológicas en sus semillas que les permiten germinar en medios con ψ_A restrictivos. Ni y Bradford (1992) encontraron que los ψ_{bg} de semillas de *Lycopersicum*

esculentum cambiaron cuando las semillas puestas a germinar con ψ_A restrictivos, lo que promovió la germinación.

El $\psi_{b(50)}$ varió entre especies de -1.58 a -2.64 MPa, entre ellas *A. salmiana* presentó el valor más alejado del $\psi_{b(50)}$ promedio de las otras seis (Cuadro 2). De manera similar, en un grupo de 14 especies colonizadoras se registró una variación del $\psi_{b(50)}$ de -1.07 a -2.02 MPa (Daws *et al.*, 2008). Una variación mayor (-5.92 a -0.07 MPa) en dicho parámetro fue registrada por Allen *et al.* (2000) en 24 especies xerófitas, agrupadas como adaptadas a hábitats salinos, arenosos y diversos (especies generalistas). Los valores del $\psi_{b(50)}$ han sido considerados como indicadores de la adaptación de las especies a su hábitat. Así, $\psi_{b(50)}$ bajos, como los registrados para halófitas por Allen *et al.* (2000) y los de *A. salmiana*, *A. americana* y *A. striata* encontrados en este estudio, sugieren que la germinación puede ocurrir en condiciones de baja humedad del suelo. De acuerdo con los datos climáticos de los sitios de distribución de *A. salmiana* y *A. striata*, estas especies disponen de la cantidad de lluvia anual menor (Cuadro 1). Por otro lado, el $\psi_{b(50)}$ bajo, la tasa de germinación alta y la mayor biomasa seminal de *A. americana* le puede conferir a esta especie una germinación más eficaz. Daws *et al.* (2008) señalaron que especies con características similares a *A. americana* presentan una probabilidad de germinación alta, cuando las condiciones ambientales son poco favorables para otras especies, lo que les permite establecerse exitosamente en sitios con humedad baja. De manera opuesta, $\psi_{b(50)}$ altos, como los de las especies de suelos arenosos (Allen *et al.*, 2000) y los de *A. asperrima* y *A. duranguensis* obtenidos en esta investigación, indican que la germinación puede ocurrir sólo cuando existe mayor humedad en el suelo, e inhibirse en caso contrario. En este último caso, la probabilidad de que ocurra la germinación es menor (Daws *et al.*, 2008). Las regiones templadas (k en la fórmula climática, Cuadro 1) donde se distribuyen *A. asperrima* y *A. duranguensis* indica la presencia de periodos húmedos más prolongados que los que ocurren en los climas más cálidos; en estos periodos probablemente ocurre su germinación. El cambio de los valores del $\psi_{b(50)}$ también ha sido demostrado en especies cultivadas. El mejoramiento para tolerancia y

resistencia a sequía en cultivares de *Lycopersicon esculentum* disminuyó significativamente el $\psi_{b(50)}$ (Dahal y Bradford, 1994).

La similitud en los valores de σ_{ψ_b} de la mayoría de las siete especies también indica uniformidad de las semillas dentro de cada especie. Esta semejanza podría deberse a la homogeneidad del peso (o tamaño) de las semillas utilizadas, que incluyó aquellas con peso medio \pm una desviación estándar de la muestra total. El σ_{ψ_b} mayor de *A. salmiana* también indica su plasticidad ecológica más elevada, pues los ψ_{bg} de sus semillas fueron más variables, lo que representa mayor probabilidad de germinación en diversas condiciones. La tolerancia amplia de la germinación de *A. salmiana* a la variación de factores ambientales, particularmente la temperatura, fue documentada por Ramírez-Tobías *et al.* (en prensa).

Cuando el $\psi_{b(50)}$ de las poblaciones de semillas es similar, la constante de tiempo hídrico de cada población, es un indicador de vigor y calidad fisiológica de la semilla (Bradford, 1995). Considerando lo señalado por Bradford, las semillas de *A. americana* var. *marginata* y *A. lechuguilla* mostraron ser más vigorosas que las de *A. striata* y *A. cupreata*, respectivamente. El mayor vigor de *A. americana* var. *marginata* con respecto a *A. striata* se confirma con su biomasa seminal cinco veces mayor, y su elevada tasa de germinación (Figuras 1 y 7). Una situación similar fue encontrada en subpoblaciones de semillas, una de semillas pequeñas y otra de semillas grandes, de *Eurotia lanata* (Wang *et al.*, 2005). No obstante, la biomasa seminal de *A. lechuguilla* es significativamente menor que la de *A. cupreata*, y su tasa de germinación fue significativamente mayor con los ψ_A de -0.03 y -1.0 MPa, y se igualó con el ψ_A de -1.5 MPa. Así, es probable que la diferencia en Θ_H entre *A. lechuguilla* y *A. cupreata* refleje diferencias en otros caracteres, como los genéticos (Bradford, 1995).

Las semillas de *Agave* mantenidas con ψ_A de -1.5 MPa durante 730 h embebieron humedad en tasas significativamente menores que con los otros ψ_A (Figuras 3 y 4), y la hidratación del medio incrementó la imbibición y su germinación final superó el 80% (Figura 6). Bewley y Black (1994) indicaron que cuando la imbibición es muy lenta las semillas pueden deteriorarse y morir, lo que probablemente ocurrió en parte de las semillas de *A. asperrima* y *A. salmiana*. Sin

embargo, la mayoría de las especies de *Agave* toleraron la imbibición lenta y permanecieron hasta 30 días con niveles de hidratación de 70% sin deteriorarse. Esta característica de las semillas de permanecer parcialmente hidratadas pero sin germinar ha sido considerada una forma de latencia, y parece representar una reacción adaptativa a las condiciones ambientales fluctuantes ya que de ocurrir la germinación con potenciales de agua muy bajos, la sobrevivencia de las plántulas disminuye (Hegarty, 1978).

El restablecimiento de la humedad, después de 732 h, en los tratamientos con ψ_A de -1.5 MPa, propició la recuperación de la actividad germinativa y evidenció la tolerancia de la mayoría de las semillas para permanecer vivas aun con bajo nivel de hidratación. Es destacable al respecto la reacción de las semillas de *A. americana* var. *marginata*, *A. cupreata*, *A. lechuguilla* y de *A. striata*, pues su porcentaje de germinación acumulada promedió 94% una vez incrementada la humedad; este valor fue similar ($p < 0.05$) al obtenido en -1.0 y -0.03 MPa. No menos notable fue la reacción de las semillas de *A. asperrima* y *A. salmiana* pues, aunque su porcentaje final de germinación acumulada, una vez transferidas a sustrato con humedad óptima, no alcanzó niveles similares a los obtenidos con -1.0 y -0.03 MPa, al menos resultó ser mayor que 75% (Figura 6).

Conclusiones

Las semillas de *A. lechuguilla*, *A. striata*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. duranguensis*, *A. cupreata* y *A. salmiana* alcanzan porcentajes de germinación cercanos a 100%, en vermiculita con ψ_A de -0.03 y -1.0 MPa (equivalentes a saturación y 14% de humedad, respectivamente), en condiciones de laboratorio, a 25 °C y en oscuridad).

La germinación acumulada de las especies propias de los climas más secos es menos reducida en condiciones de humedad más restrictivas (-1.5 MPa, equivalente a 10% de humedad) y viceversa.

La disminución del potencial de agua del sustrato disminuye la velocidad de germinación de las semillas de *Agave*. Tal disminución fue lineal de -0.03 a -1.5 MPa, y sólo en *A. salmiana* presentó una tasa de decaimiento menor.

Las semillas de las siete especies de *Agave* toleraron la hidratación parcial durante periodos relativamente prolongados (un mes) sin perder su capacidad de germinación.

Literatura citada

- Aguirre R., J.R.; H. Charcas Z.; J.L. Flores F. 2001. El maguey mezcalero potosino. COPOCYT-UASLP. San Luis Potosí, SLP. México. 87 p.
- Al-Karaki, G.N. 1998. Seed size and water potential effects on water uptake, germination and growth of lentil. *J. Agronomy & Crop Science*. 181: 237-242.
- Allen P.S.; S.E. Meyer; M.A. Khan. 2000. Hydrothermal time as a tool in comparative germination studies. In: M. Black; Bradford K.J.; J. Vazquez-Ramos (Eds). *Seed biology: Advances and applications*. CAB International, Wallingford, UK. pp: 401–410.
- Arizaga, S.; E. Ezcurra. 2002. Propagation mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a tropical arid land succulent rosette. *American Journal of Botany*. 89: 63-641.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*. 9: 1055-1066.
- Bewley, J.D.; M. Black. 1994. *Seeds. Physiology of development and germination*. 2a edición. Plenum. New York. EU. 445 p.
- Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. In: J. Kigel; G. Galili (Eds). *Seed development and germination*. Marcel Dekker. New York. EU. pp: 351-396.
- Bradford, K.J. 2002. Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. *Weed Science*. 50: 248–260.
- Brancaion, P.H.S.; A.D.L.C. Novembre; R.R. Rodrigues; D. Tay; L.C. Cunha. 2008. Seed imbibition of five brazilian native tree species. *Acta Horticulturae*. 771: 77-82.
- Colunga-GarcíaMarín, P.; D. Zizumbo-Villareal; J. Martínez-Torres. 2007. Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: una aportación a la protección legal y conservación de su diversidad biológica y cultural. In: P.

- Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 229-248.
- Colunga-GarcíaMarín, P.; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal. 2007. El futuro de lo ancestral. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 395-402.
- CONABIO. 2006. Mezcales y diversidad. 2a. edición. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. Mapa.
- Dahal, P.; K.J. Bradford. 1994. Hydrothermal time analysis of tomato seed germination at suboptimal temperature and reduced water potential. *Seed Science Research*. 4: 71-80.
- Daws, M.I.; L.M. Crabtree; J.W. Dalling; C.E. Mullins; D.F.R.P. Burslem. 2008. Germination responses to water potential in neotropical pioneers suggest large-seeded species take more risks. *Annals of Botany*. 102: 945–951
- Espinosa P., H.; E. Bravo M.; P. López L.; C. Arredondo V. 2005. El agave mezcalero de Oaxaca. *Avances de Investigación. Libro Técnico Núm. 3.* Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Oaxaca, México. 180p.
- Evans, C.E.; J.R. Etherington. 1990. The effect of soil water potential on seed germination of some British plants. *New Phytologist*. 115: 539-548.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5ª edición. Instituto de Geografía-UNAM. México, DF. 90 p.
- García-Mendoza, A. 2007. Los agaves de México. *Ciencias*. 87:15-23.
- Gentry, H.S. 1982. *Agaves of continental North America.* The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. EU. 670 p.
- Gummerson, R.J. 1986. The effect of constant temperatures and osmotic potentials on the germination of sugar beet. *Journal of Experimental Botany*. 37: 729-741.

- Hegarty, T.W. 1978. The physiology of seed hydration and dehydration, and the relation between water stress and the control of germination: a review. *Plant, Cell and Environment*. 1: 101-119.
- Illsley, C.; E. Vega, I. Pisanty; A. Tlacotempa; P. García; P. Montes; G. Rivera; J. García; V. Jiménez; F. Castro; M. Calzada. 2007. Maguey papalote: hacia el manejo sustentable de un recurso colectivo en el trópico seco de Guerrero, México. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves*. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 319-338.
- Kikuchi, K.; M. Koizumi; N. Ishida; H. Kano. 2006. Water uptake by dry beans observed by micro-magnetic resonance imaging. *Annals of Botany*. 98: 545–553.
- Köchy, M.; K. Tielbörger. 2007. Hydrothermal time model of germination: Parameters for 36 Mediterranean annual species based on a simplified approach. *Basic and Applied Ecology*. 8: 171-182.
- Koizumi, M.; K. Kikuchi; S. Isobe; N. Ishida; S. Naito; H. Kano. 2008. Role of seed coat in imbibing soybean seeds observed by micro-magnetic resonance imaging. *Annals of Botany*. 102: 343–352.
- Larsen, S.U.; C. Bailly; D. Côme; F. Corbineau. 2004. Use of the hydrothermal time model to analyse interacting effects of water and temperature on germination of three grass species. *Seed Science Research*. 14: 35–50.
- McEntyre, E.; R. Ruan; R.G. Fulcher. 1998. Comparison of water absorption patterns in two barley cultivars, using magnetic resonance imaging. *Cereal Chemistry*. 75: 792-795.
- Meyer, C.J.; E. Steudle; C.A. Peterson. 2007. Patterns and kinetics of water uptake by soybean seeds. *Journal of Experimental Botany*. 58: 717–732.
- Molina-Cano, J.L.; A. Sopena; J.P. Polo; C. Bergareche; M.A. Moralejo; J.S. Swanson; S.M. Glidewell. 2002. Relationships between barley hordeins and malting quality in a mutant of cv. Triumph. II. Genetic and environmental effects on water uptake. *Journal of Cereal Science*. 36: 39-50.

- Ni, B.R.; K.J. Bradford. 1992. Quantitative models characterizing seed germination responses to abscisic acid and osmoticum. *Plant Physiology*. 98: 1057-1068.
- Peña-Valdivia, C.B.; A.B. Sánchez-Urdaneta; J.R. Aguirre R.; C. Trejo; E. Cárdenas; A. Villegas M. 2006. Temperature and mechanical scarification on seed germination of 'maguey' (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). *Seed Science & Technology*. 34: 47-56.
- Pimienta-Barrios, E.; C. Robles-Murguía; P.S. Nobel. 2001. Net CO₂ uptake for *Agave tequilana* in a warm and temperate environment. *Biotrópica*. 33: 312-318.
- Pimienta-Barrios, E.; J. Zañudo-Hernández; J. García-Galindo. 2006. Fotosíntesis estacional en plantas jóvenes de *Agave tequilana*. *Agrociencia*. 40: 699-709.
- Pritchard, H.W.; A.P. Miller. 1995. The effects of constant temperatures, light and seed quality on the germination characteristics of *Agave americana*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 57: 11-14.
- Ramírez-Tobías, H.M.; C.B. Peña-Valdivia; J.R. Aguirre R.; J.A. Reyes-Agüero; A.B. Sánchez-Urdaneta; S. Valle G. (en prensa). Temperature on seed germination of eight Mexican *Agave* species with an extensive history of human use.
- Ruiz, G.; C.B. Peña-Valdivia; C. Trejo L.; A. Sánchez. 2007. Reacción fisiológica del maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) a la sequía intermitente. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 24 Supl. 1: 318-325.
- Ruiz-Corral, J.A.; E. Pimienta-Barrios; J. Zañudo-Hernández. 2002. Regiones térmicas óptimas y marginales para el cultivo de *Agave tequilana* en el estado de Jalisco. *Agrociencia*. 36: 41-53.
- Sadeghian, S.Y.; N. Yavari. 2004. Effect of water-deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. *J. Agronomy & Crop Science*. 190: 138-144.
- Sánchez-Urdaneta, A.B.; C.B. Peña-Valdivia; J.R. Aguirre R.; C. Trejo; E. Cárdenas. 2004. Efectos del potencial de agua en el crecimiento radical de plántulas de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck. *Interciencia*. 29: 626-631.
- SAS. 1999-2000. SAS User's Guide: Statistics. Versión 6. SAS Institute Inc. Cary, NC. EU. 1290 p.

- Schulte, P.J. 2009. Water transport processes in desert succulents plants. In: E. de la Barrera; W.K. Smith (Eds). Perspectives in biophysical plant ecophysiology: A tribute to Parks Nobel. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF. pp: 39-55.
- Tsougkrianis, N.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo L.; J. D. Molina G. 2009. El potencial de agua del sustrato en la germinación de maíces con tolerancia y sensibilidad a la sequía. Agricultura Técnica en México. 35: 363-369.
- Valenzuela-Zapata, A.G.; G.P. Nabhan. 2003. Tequila. A natural and cultural history. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. EU. 114 p.
- Vertucci, C.W. 1989. The kinetics of seed imbibition: Controlling factors and relevance to seedling vigor. In: P.C. Stanwood; M.B. McDonald (Eds). Seed moisture. CSSA Special Publication Number 14. Crop Science Society of America. Madison, WI. EU. pp: 93-115.
- Wang, R.; Y. Bai; K. Tanino.2005. Germination of winterfat (*Eurotia lanata* (Pursh) Moq.) seeds at reduced water potentials: testing assumptions of hydrothermal time model. Environmental and Experimental Botany. 53: 49–63.

Capítulo III. Efecto de la restricción de humedad en el crecimiento, la distribución de biomasa y el contenido de prolina de plantas jóvenes de *Agave* spp.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la disminución del potencial de agua (ψ) del sustrato (-0.7 y -3.5 MPa), generados con dos regímenes de riego, frecuente y restringido, sobre el contenido de prolina en la raíz, el índice raíz/vástago, los porcentajes de biomasa seca de la raíz, el tallo y las hojas, el grosor de la octava hoja, la biomasa total por planta, el número de hojas por planta, y la cobertura y altura de la planta en varias especies de *Agave*. Las evaluaciones se efectuaron en plantas jóvenes, de 14 meses, de *A. striata*, *A. lechuguilla*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A. duranguensis*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. salmiana* en condiciones de invernadero. Con el ψ más bajo el contenido de prolina en la materia seca de la región apical de la raíz se duplicó ($p < 0.05$) hasta $1 \mu\text{mol } 100 \text{ mg}^{-1}$, excepto en *A. lechuguilla* y *A. striata*; el índice raíz/vástago aumentó ($p < 0.05$) en *A. angustifolia* ssp. *tequilana* de 0.19 a 0.14, en *A. asperrima* 0.23 a 0.46, en *A. lechuguilla* 0.12 a 0.22 y en *A. striata* de 0.14 a 0.24; en *A. cupreata* disminuyó ($p < 0.05$) de 0.24 a 0.17; y en *A. americana* var. *marginata*, *A. duranguensis* y *A. salmiana* (0.37, 0.25 y 0.28) no cambió. La distribución promedio de la biomasa seca de *Agave* spp. fue: 4% en tallo, 20% en raíz y 76% en hojas. La proporción de biomasa seca en el tallo y la altura de la planta fueron similares ($p > 0.05$) en ambos ψ . Los porcentajes de biomasa de raíz y hoja aumentaron y disminuyeron de acuerdo con el mismo patrón descrito para el índice raíz/vástago. El grosor de la octava hoja promedió 5.2 mm, varió entre especies ($p < 0.05$) desde 3.1 mm en *A. striata* hasta 8.1 mm en *A. salmiana*, y sólo en esta última decreció significativamente con la menor disponibilidad de humedad. El ψ limitante redujo ($p < 0.05$) la acumulación de biomasa seca total por planta (pl) en todas las especies; la mayor reducción ocurrió en *A. duranguensis* (de 171 a 27 g pl⁻¹) y la menor en *A. lechuguilla* y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* (de 87 a 66 y de 16 a 11 g pl⁻¹). Solamente

el número de hojas por planta de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y de *A. salmiana* (14 y 10 hojas pl^{-1}), y la cobertura de planta de éstas y de *A. lechuguilla* y de *A. duranguensis* (0.222, 0.043, 0.017 y 0.185) permanecieron igual ($p>0.05$) en ambos ψ ; mientras que en las otras especies se redujeron ($p<0.05$) hasta un 68 y 43%, respectivamente, de lo observado con -0.7 MPa. La modificación de la distribución de biomasa entre órganos, principalmente el incremento radical, y el incremento del contenido de prolina, como formas de tolerar la restricción de humedad sólo se presentaron en parte de las especies estudiadas. En contraste, el mantenimiento del grosor de la hoja (indicador de turgencia) fue una reacción general al ψ limitante. La menor disponibilidad de humedad inhibió la acumulación de biomasa; a pesar de ello, el crecimiento (número de hojas y cobertura de planta) pudo mantenerse en las especies más adaptadas a la aridez o con límites de tolerancia ambiental más amplios.

Abstract

The aim of this research was to evaluate the effect of the substrate water potential (ψ) drop (from -0.7 to -6.0 MPa), generated with frequent or restricted watering, on root proline content, root/shoot index, dry biomass distribution among organs, thickness of the eighth leaf, total plant dry biomass, number of leaves, plant coverage and height in several *Agave* species. Fourteen months old plants of *A. striata*, *A. lettuce*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. duranguensis*, *A. cupreata*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* and *A. salmiana* under greenhouse conditions were evaluated. Proline content in the apical root region was doubled ($p<0.05$) to $1 \mu\text{mol } 100 \text{ mg}^{-1}$, except in *A. lechuguilla* and *A. striata*. Root/shoot index was increased ($p<0.05$) from 0.19 to 0.29 in *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, from 0.23 to 0.46 in *A. asperrima*, from 0.12 to 0.22 in *A. lechuguilla* and from 0.14 to 0.25 in *A. striata*, but decreased from 0.24 to 0.17 in *A. cupreata* ($p<0.05$); and did not change in *A. americana* var. *marginata*, *A. duranguensis* and *A. salmiana* (0.37, 0.25 and 0.28). The biomass mean distribution was: 4% in stem, 20% in root and 76% in leaves. The dry biomass percentage in the stem as well as plant height was similar ($p>0.05$) in both water conditions. The percentage of leaves and root biomass increased and

decreased according to the same pattern described for the root:shoot index. Eighth leaf thickness averaged 5.2 mm, and fluctuated ($p < 0.05$) among species from 3.1 mm in *A. striata* up to 8.1 mm in *A. salmiana*, and only the last decreased significantly at lower ψ . All species diminished ($p < 0.05$) total dry biomass per plant (pl) at lower ψ , *A. duranguensis* had the largest reduction (from 171 to 27 g pl⁻¹), and *A. lechuguilla* and *A. angustifolia* ssp. *tequilana* the lowest (87-66 and 16-11 g pl⁻¹, respectively). Only the number of leaves per plant of *A. angustifolia* ssp. *tequilana* and *A. salmiana* (14 and 10 pl⁻¹) and the plant coverage of both species and *A. lechuguilla* and *A. duranguensis* (0.222, 0.043, 0.017 and 0.185) remained similar ($p > 0.05$) in both humidity conditions, while in the other species these characteristics decreased ($p < 0.05$) 68 and 43%, respectively, in comparison to that at -0.7 MPa. The modification in biomass distribution among organs, mainly root biomass increasing, and proline accumulation are no generalized reactions to water restriction of *Agave*. In contrast, leaf thickness (as a turgor indicator) maintenance is a priority *Agave* reaction to maintain moisture availability. The water restriction inhibits the biomass accumulation; despite this, plant growth (number of leaves and plant cover) is maintained in the well adapted species to aridity environment or tolerance to wider environmental.

Introducción

En México se encuentra el 75% de las especies de *Agave* (García-Mendoza, 2002), de las cuales, 48 destacan por ser la materia prima de bebidas destiladas como el mezcal, el tequila, el bacanora y otras. Además, al menos 74 especies y 28 taxa infraespecíficos han sido utilizados como alimento humano y forraje, o materia prima para obtener bebidas fermentadas y fibra (Colunga-GarcíaMarín *et al.*, 2007).

Cuando los magueyes son cultivados o fomentados con el propósito de ser empleados como materia prima para producir mezcal, la velocidad de crecimiento es una característica importante, pues determina el tiempo en que la planta madurará y podrá ser aprovechada (Sánchez-López, 1989). Al respecto, se ha documentado que la restricción de humedad en el sustrato inhibió el crecimiento y aumentó la concentración de prolina de plántulas de *A. salmiana* (Peña-Valdivia y

Sánchez-Urdaneta, 2009). La disminución del crecimiento por estrés hídrico parece contraria a la evidencia obtenida por Pimienta-Barrios *et al.* (2006), quienes observaron el mantenimiento de la absorción de CO₂ en plantas de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* aun en la época seca del año. Al parecer, la actividad fisiológica observada en *A. angustifolia* ssp. *tequilana* puede mantenerse debido a la succulencia de las plantas con metabolismo ácido de las crasuláceas (Schulte, 2009), lo que permite la sobrevivencia aun sin crecimiento. Por otro lado, el déficit de humedad también promueve cambios en la distribución de biomasa entre órganos (Erice *et al.*, 2010; Atchen *et al.*, 2010). Al respecto, se sugiere que un valor mayor del índice raíz/vástago, cuando hay restricción de humedad, es una reacción favorable para la planta al aumentarse la absorción de agua a través del sistema radical y disminuirse la pérdida a través de la parte aérea. Así, el objetivo de este estudio fue conocer el efecto de la disponibilidad de humedad en el sustrato sobre la distribución de biomasa entre órganos, el crecimiento, el grosor de la hoja (como indicador de succulencia) y el contenido de prolina en plantas jóvenes de ocho especies de *Agave*.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se evaluaron ocho especies de maguey con importancia comercial actual o histórica, por ser empleadas como materia prima para la fabricación de mezcal, como fuente de fibra u ornato. Las especies seleccionadas provinieron de regiones climáticas distintas, y presentan formas de reproducción y posición sistemática diversas (Cuadro 1).

El experimento se realizó en un invernadero tipo túnel, en el Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, Texcoco, México. Como sustrato se empleó una mezcla de suelo agrícola y grava de tezontle en proporción 3:1. El sustrato fue analizado en el laboratorio de Física de Suelos del Colegio de Postgraduados, campus Montecillo. Las constantes de humedad, capacidad de campo y punto de marchitamiento permanente, fueron 23.6 y 15.6%, respectivamente. La porosidad total, de aireación y de retención de humedad del

sustrato de 46.0, 3.0 y 44.0%, respectivamente. Otras características fueron: pH, 7.73; conductividad eléctrica, 4.93 dS m⁻¹; densidad aparente y real, 1.21 y 2.33 g cm⁻³; conductividad hidráulica, 2.5 cm h⁻¹; y contenido de materia orgánica, 6.22%. Además, el sustrato presentó 0.35% de nitrógeno, 95.9 mg kg⁻¹ de fósforo y 5.57, 18.2, 8.54, 1.84 cmol kg⁻¹ de potasio, calcio, magnesio y sodio, respectivamente. Durante el desarrollo del experimento la media de las temperaturas máximas y mínimas fue 47 y 8 °C, respectivamente; y la media general fue de 22 °C (Figura 1).

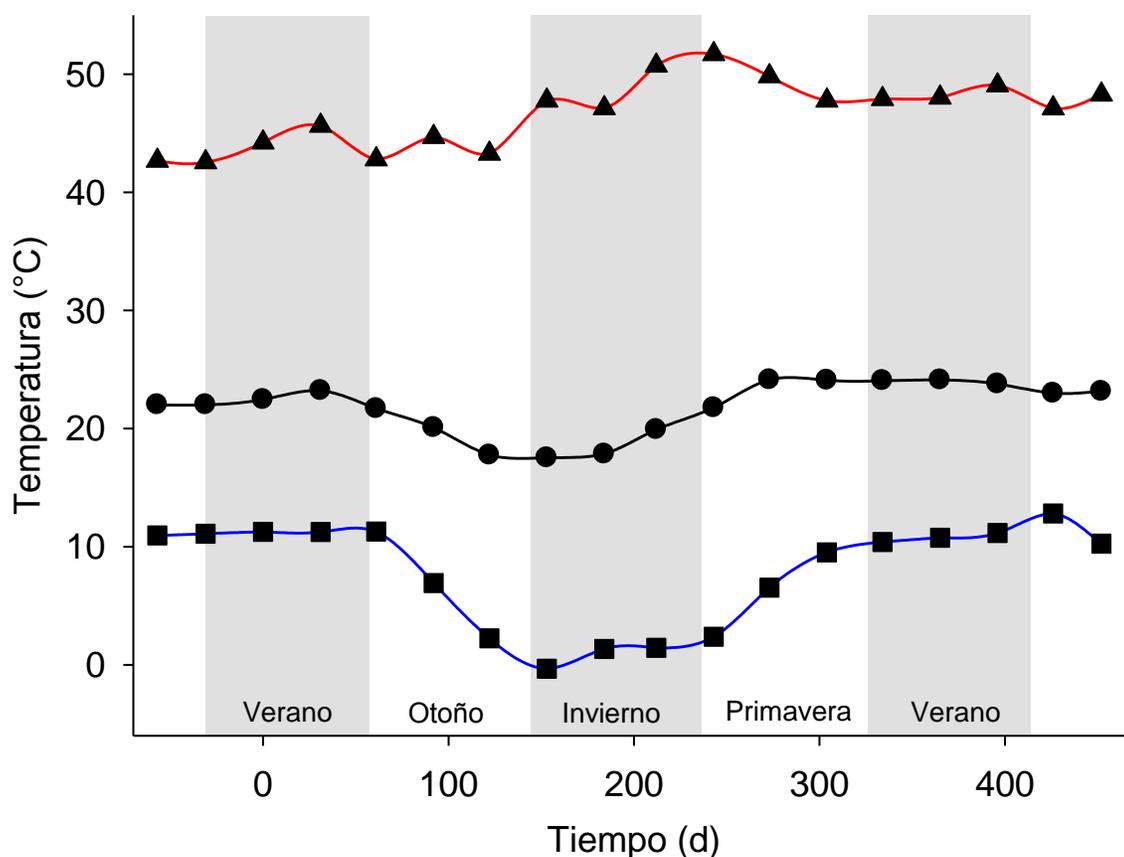


Figura 1. Temperatura media (●) y promedio de máximas (▲) y mínimas (■) registrada durante el desarrollo del experimento, el cual se realizó de junio de 2008 a octubre de 2009. El cero indica el tiempo en que se inició el tratamiento de restricción del riego (20 de julio de 2008).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica y tendencias reproductivas y ambientales de las especies de *Agave* evaluadas.

| Subgénero | Especie | Tendencias en la reproducción | Clima (pptn)* | Tipo de vegetación |
|-----------------|---|-------------------------------|--|--|
| <i>Littaeaa</i> | <i>A. lechuguilla</i> | Hijuelos y semilla | BW, BS ₀ , BS ₁ y CW ₀ (340) | Matorral desértico rosetófilo |
| | <i>A. striata</i> | Semilla y ramificación axilar | BShw (287) | Matorral desértico rosetófilo |
| <i>Agave</i> | <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> | Hijuelos y semilla | Varios (580) | Hábitats "artificiales", distribución antropógena |
| | <i>A. asperrima</i> | Hijuelos y semilla | BS ₁ kw (450) | Matorral submontano |
| | <i>A. cupreata</i> | Semilla | A(C)w ₁ (w)(i')g (838) | Bosque de pino y encino, pastizal y palmar |
| | <i>A. duranguensis</i> | Hijuelos y semilla | BS ₀ kw(e) (484) | Matorral xerófito y bosque de pino y encino |
| | <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> | Bulbilos e hijuelos | (A)Cw ₂ (w)i' (950) | Bosque tropical caducifolio y plantaciones |
| | <i>A. salmiana</i> | Bulbilos, hijuelos y semilla | BS1hw(e)g (361) | Matorral crasicaule y matorral desértico micrófilo |

Basado en: Gentry, 1982; Aguirre *et al.*, 2001; Ruiz-Corral *et al.*, 2002; García, 2004; CONABIO, 2006; Illsley *et al.*, 2007.

* pptn = Precipitación media anual, en mm.

Las plantas fueron producidas a partir de semilla, las cuales fueron sembradas directamente en el sustrato, en macetas de polietileno negro con capacidad de 12 litros. La mayoría de las plántulas emergió a principios de junio de 2008, y desde la siembra y hasta la emergencia de la segunda hoja lateral (aproximadamente 20 de julio de 2008), se proporcionó el agua suficiente para mantener el sustrato húmedo. A partir de entonces se formaron dos grupos de plantas; al primero se le proporcionó agua cada tercer día (riego frecuente) para propiciar una condición de humedad del sustrato cercana a capacidad de campo, y al segundo se le proporcionó agua con menor frecuencia y en menor cantidad para mantenerlo con un potencial de agua restrictivo (riego restringido) hasta concluir el experimento.

Para verificar la diferencia entre ambos grupos de tratamientos se estimó el potencial de agua (ψ) del sustrato; para lo cual, se colocaron muestras de suelo en cámaras psicrométricas (Wescon C-52, Inc, Utha, EU), las cuales fueron mantenidas ahí por 4 h, para que alcanzaran equilibrio termodinámico. El ψ se estimó a través del voltaje medido con un microvoltímetro (Wescon HR-33T, Inc, Utha, EU), operado en el modo de punto de rocío, conectado a cada cámara. El potencial de agua del sustrato (promedio \pm el error estándar) fue -0.7 ± 0.07 y -3.5 ± 0.41 MPa, en los tratamientos con riego frecuente y restringido, respectivamente (Figura 2).

En cada maceta se permitió el crecimiento de tres plantas, excepto cuando la emergencia fue baja, y hubo sólo una o dos. En *A. duranguensis* el 50% de las plantas mostraron un crecimiento evidentemente menor que la otra mitad, en ambas condiciones de humedad. Por tal situación, los datos de los dos grupos de *A. duranguensis* fueron analizados independientemente. La cosecha de plantas se realizó del día 1 al día 15 de octubre de 2009.

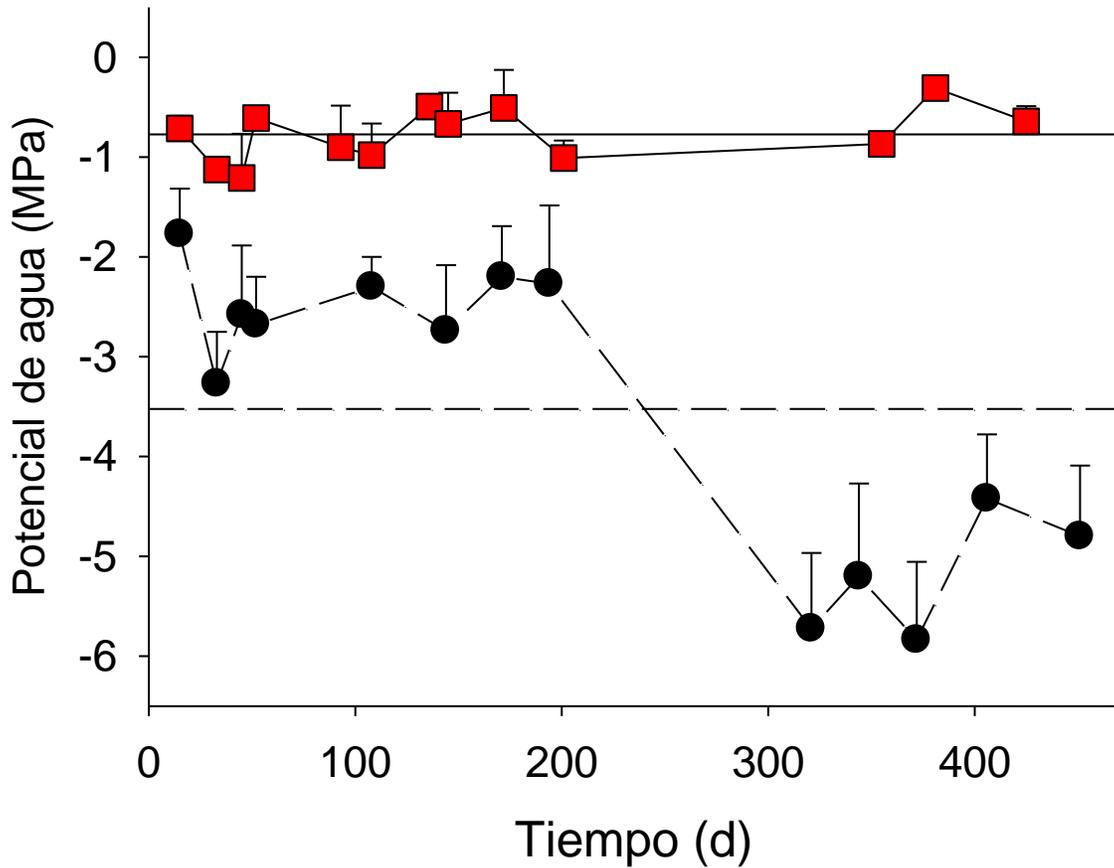


Figura 2. Potencial de agua del sustrato durante el crecimiento de plantas jóvenes de ocho especies de *Agave* en macetas de 12 litros en condiciones de invernadero. Los cuadros representan el potencial de agua de los tratamientos con riego frecuente y los círculos el de los tratamientos con riego restringido. Las líneas horizontales, continua y punteada, indican el potencial de agua promedio de cada tratamiento, y las barras verticales el error estándar. El valor de n en cada símbolo varió de cinco a 10. La restricción del riego inició el 20 de julio de 2008 hasta la cosecha, en octubre de 2009.

VARIABLES EVALUADAS

Se estimó el contenido de prolina en muestras de tejido liofilizado de raíz. La muestra fue una porción de 4 cm de longitud obtenida de la región apical. La concentración de prolina en cada muestra se calculó mediante una curva de calibración del aminoácido, con una concentración máxima de 1000 nmoles mL⁻¹, con el método colorimétrico descrito por Bates *et al.* (1973).

Se midió la altura de planta y se estimó la cobertura de la planta a partir de su diámetro entre espinas terminales, ambas mediciones se realizaron con una regla de aluminio de 1 m de longitud (Petigón) con precisión milimétrica. En cada planta, el diámetro se midió sobre dos líneas imaginarias perpendiculares sobre la planta, y la cobertura se calculó como el área de un círculo. Al momento de la cosecha se registró la biomasa fresca radical, caulinar y foliar de cada individuo. Para expresar los resultados en biomasa seca, se calculó el porcentaje de materia seca, en muestras de cada uno de los componentes morfológicos, después de secarlas en una estufa con aire forzado a 80 °C hasta peso constante. La biomasa seca total por planta fue la suma de la biomasa de cada órgano. Con la fracción de biomasa de cada órgano, expresada como porcentaje, se calculó la distribución de biomasa entre los órganos y se estimó el índice raíz/vástago, el cual fue el cociente entre la biomasa de la raíz y la suma de la biomasa del tallo y de las hojas. Además, se registró el número de hojas por planta y el grosor de la octava hoja. Esta última medición se realizó con un pie de rey digital (Mitutoyo. Japón), el cual permite una precisión de 0.01 mm, en la parte central de dicha hoja.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se estudiaron los factores: especie de *Agave* a ocho niveles (*A. lechuguilla*, *A. striata*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. duranguesis*, *A. cupreata*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. salmiana*) y condición humedad del sustrato a dos niveles (riego frecuente y riego restringido, con valores de potencial de agua medio durante el experimento de -0.7 y -3.5 MPa, respectivamente), estableciéndose en un diseño experimental completamente al azar, con cinco repeticiones. Se efectuó el análisis de normalidad con base en el análisis gráfico de residuales y la prueba Shapiro-Wilks; las variables fueron transformadas cuando el supuesto de normalidad no se cumplió. Una maceta fue considerada como la unidad experimental y el número de plantas por maceta como covariable, esta última por la probabilidad de que la densidad diferente de plantas por maceta afectara significativamente las variables estudiadas. Así, se realizó un análisis de covarianza y cuando el efecto de la covariable resultó significativo las comparaciones de medias dentro de cada

especie se realizaron considerando el valor ajustado por la covariable con la prueba LSMEANS del programa estadístico SAS. Cuando el efecto de la covariable no fue significativo, se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Dunnett ($\alpha=0.05$), considerando la media de cada especie obtenida en -0.7 MPa como el testigo. Los análisis de varianza, covarianza y de comparación de medias se ejecutaron con el SAS (SAS, 1999-2000). La representación gráfica de los datos se realizó con el programa SigmaPlot Jandel Scientific (Version 10).

Resultados

Contenido de prolina

El contenido promedio de prolina radical, registrado en las plantas desarrolladas con riego frecuente (-0.7 MPa), fue $0.52 \mu\text{moles } 100 \text{ mg}^{-1}$ de tejido seco, sin diferencias entre especies, excepto en *A. americana* var. *marginata*, en la cual descendió significativamente hasta $0.31 \mu\text{moles } 100 \text{ mg}^{-1}$ de tejido seco. En contraste, con la condición restrictiva (-3.5 MPa) se registró un incremento significativo de éste aminoácido, hasta un promedio de $1 \mu\text{mol } 100 \text{ mg}^{-1}$ de tejido seco. El contenido de prolina en la raíz de *A. lechuguilla* y *A. striata* se mantuvo sin cambios significativos debidos a la disponibilidad de humedad (Figura 3).

Distribución de biomasa y grosor de la hoja

La restricción de humedad incrementó el índice raíz/vástago de 0.19 a 0.29 en *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, de 0.23 a 0.46 en *A. asperrima*, de 0.12 a 0.28 en *A. lechuguilla*, de 0.14 a 0.24 en *A. striata*, y de 0.28 a 0.35 en *A. salmiana*, aunque en *A. salmiana* este aumento no fue significativo ($p>0.05$). En *A. americana* var. *marginata* y *A. duranguensis* el valor medio del índice raíz/vástago fue 0.35 y 0.25, sin diferencias estadísticas dentro de cada especie debidas a la disponibilidad de humedad del sustrato. En contraste, en *A. cupreata* se observó una tendencia de variación inversa a la de las otras especies, con un índice raíz/vástago 41% mayor cuando creció con elevada disponibilidad de humedad (ψ de -0.7 MPa) que cuando creció con -3.5 MPa (Figura 4).

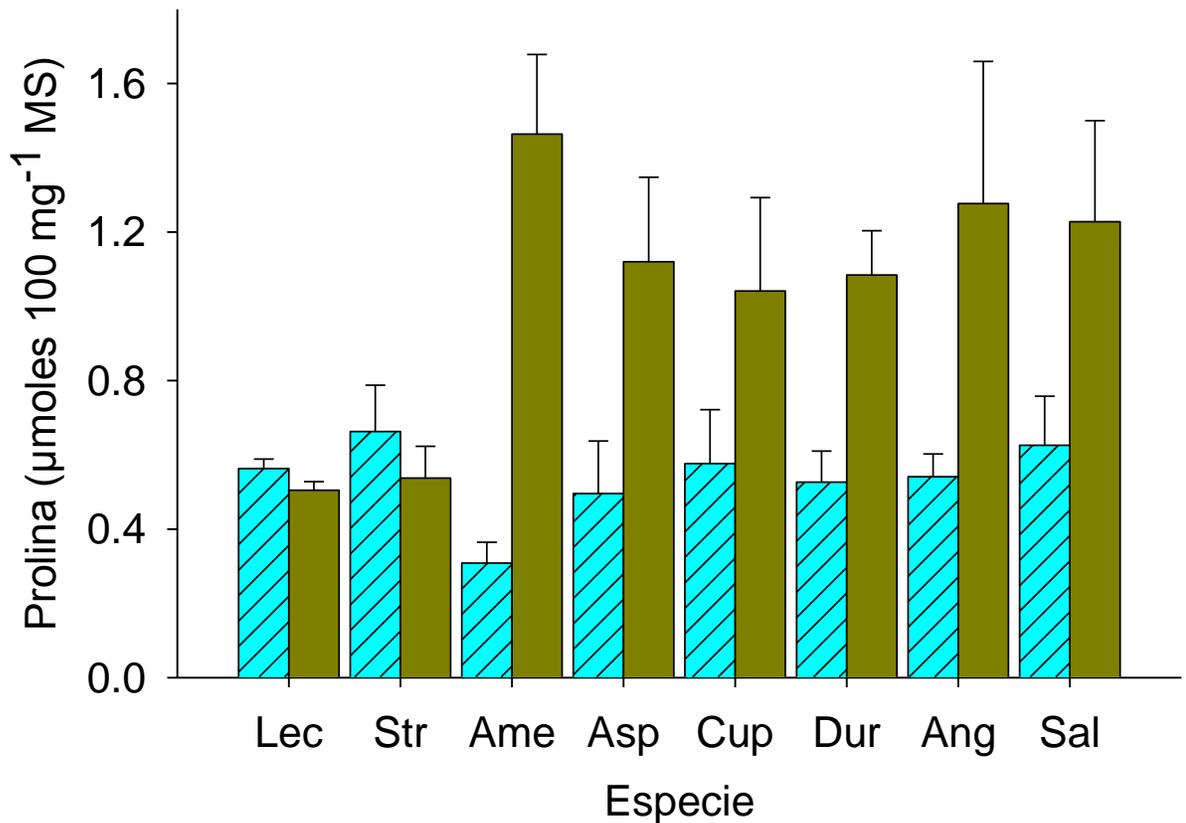


Figura 3. Efecto del riego frecuente (, -0.7 MPa) y el riego restringido (, -3.5 MPa) en el contenido de prolina en la materia seca (MS) de la región apical radical de ocho especies de *Agave* crecidas en macetas en condiciones de invernadero durante 14 meses. Lec: *A. lechuguilla*, Str: *A. striata*, Ame: *A. americana* var. *marginata*, Asp: *A. asperrima*, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y Sal: *A. salmiana*. Las barras verticales indican el error estándar, n=5.

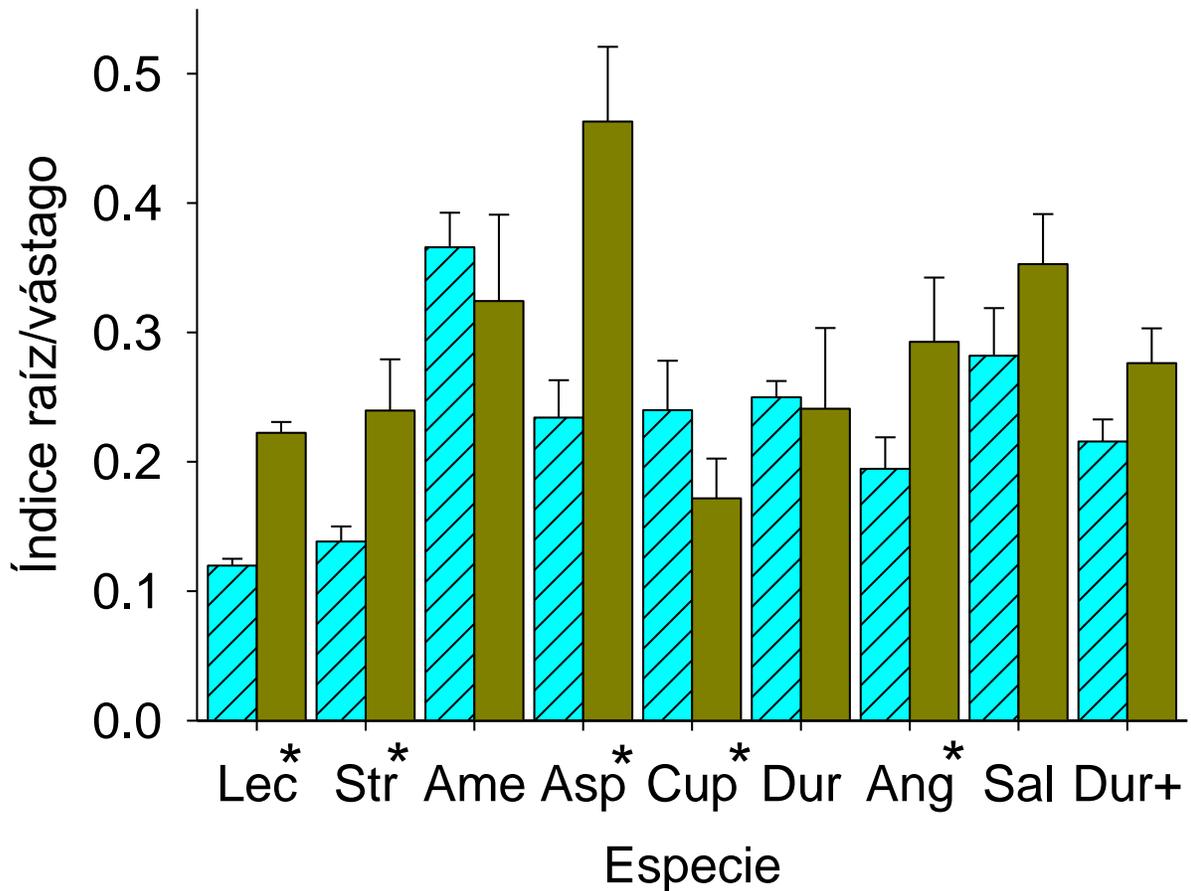


Figura 4. Efecto del riego frecuente (, -0.7 MPa) y el riego restringido (, -3.5 MPa) en el índice raíz/vástago de ocho especies de *Agave* crecidas en macetas, en condiciones de invernadero durante 14 meses. Lec: *A. lechuguilla*, Str: *A. striata*, Ame: *A. americana* var. *marginata*, Asp: *A. asperima*, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, Sal: *A. salmiana* y Dur+: Datos del 50% de los individuos de *A. duranguensis*, con crecimiento significativamente menor. Las barras verticales indican el error estándar, n=5. *Diferencia estadística debida a la condición de humedad de acuerdo con la prueba de Dunnett, $\alpha < 0.05$.

Los efectos de la condición de humedad del sustrato y de la especie fueron altamente significativos en los porcentajes de biomasa de la raíz y las hojas, y la interacción de ambos factores fue significativa. En cambio, el porcentaje de biomasa del tallo fue dependiente de la especie y no fue alterado por la condición de humedad. Los porcentajes de biomasa de la raíz de *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A.*

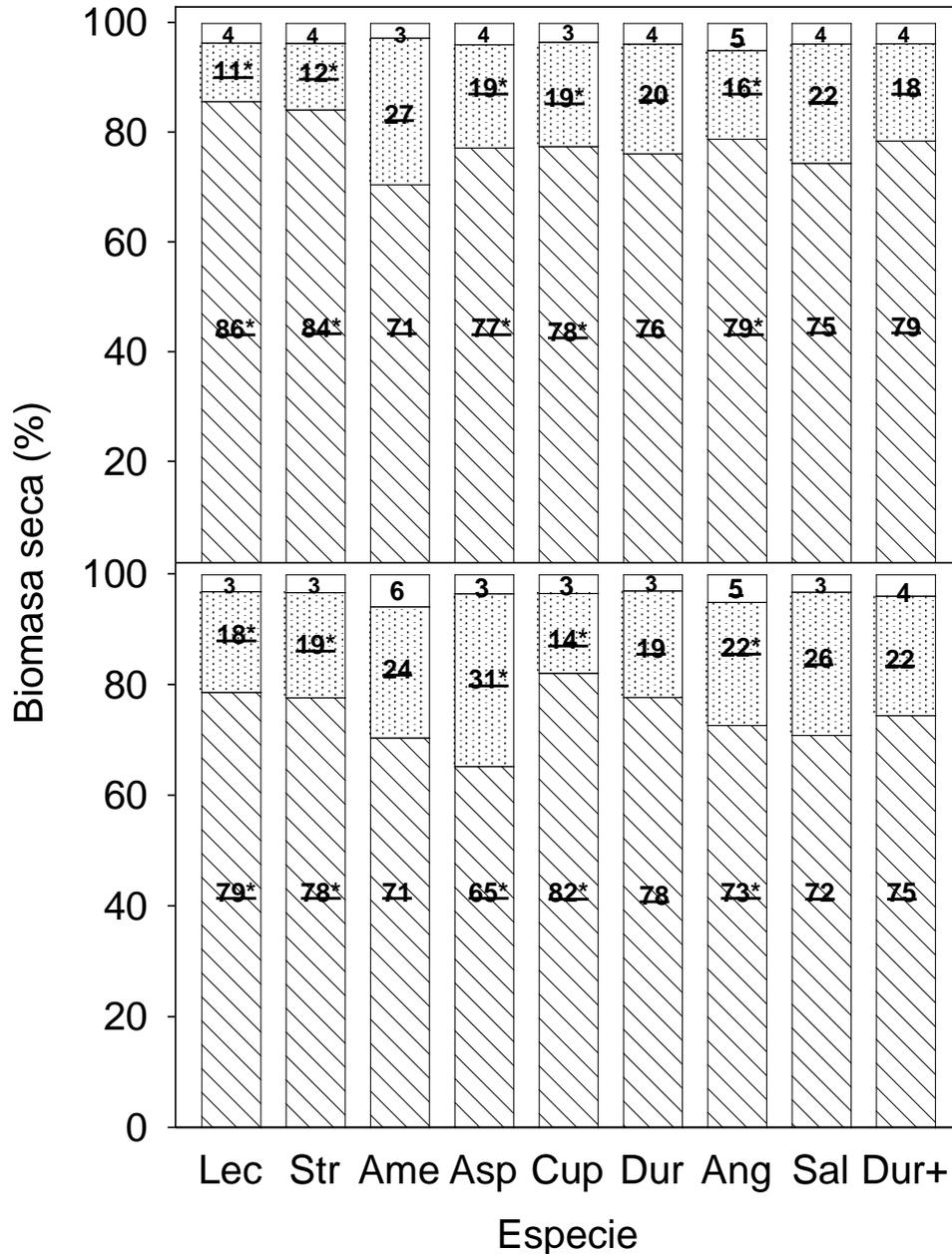


Figura 5. Variación relativa de la biomasa de hojas (), raíz () y tallo (), de plantas jóvenes de ocho especies de *Agave*, por efecto del riego frecuente (-0.7 MPa, gráfico superior) y del riego restringido (-3.5 MPa, gráfico inferior). Las plantas crecieron en macetas de 12 litros en condiciones de invernadero durante 14 meses. Lec: *A. lechuguilla*, Str: *A. striata*, Ame: *A. americana* var. *marginata*, Asp: *A. asperima*, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, Sal: *A. salmiana* y Dur+: Datos del 50% de los individuos de *A. duranguensis*, con crecimiento significativamente menor. Los números en las barras señalan el porcentaje de biomasa de cada órgano respecto a la biomasa total individual. El * indica diferencia estadística del porcentaje de cada órgano y especie, entre condiciones de humedad, de acuerdo con la prueba de Dunnett ($\alpha < 0.05$).

asperrima, *A. lechuguilla* y *A. striata* fueron 16, 19, 11 y 12%, respectivamente, cuando crecieron con riego frecuente; y aumentaron significativamente a 22, 31, 18 y 19, respectivamente, cuando se desarrollaron con el ψ de -3.5 MPa. En contraste, los porcentajes de biomasa de las hojas de estas mismas especies disminuyeron cuando se desarrollaron con riego restringido; así, de 79, 77, 86 y 84 en la primera condición, decrecieron a 73, 65, 79 y 78, respectivamente, cuando estuvieron con riego restringido. La fracción de biomasa seca acumulada en la raíz y en las hojas de *A. americana* var. *marginata*, *A. duranguensis* y de *A. salmiana* se mantuvo igual en ambas condiciones de humedad del sustrato, con valores promedio de 25% y 71%, 20% y 77%, y 24% y 73%, respectivamente. En *A. cupreata* los resultados fueron contrastantes respecto al resto de especies, ya que el porcentaje de biomasa radical fue mayor ($p < 0.05$) con riego frecuente que con riego restringido, con 19 y 14, respectivamente; y el porcentaje de biomasa de las hojas fue mayor ($p < 0.05$) con riego reducido que con riego frecuente (82 y 78, respectivamente) (Figura 5).

La distribución de biomasa en los individuos pequeños de *A. duranguensis* no fue modificada significativamente por los dos niveles de humedad a los que fueron sometidos (Figuras 4 y 5).

El grosor de la octava hoja fue alterado de manera altamente significativa por la especie y la condición de humedad, pero la interacción de los dos factores careció de significación. Sin embargo, sólo en *A. salmiana* el grosor (6.99 mm) de la octava hoja fue menor ($p < 0.05$) cuando creció con un ψ medio de -3.5 MPa, que con el ψ medio de -0.7 MPa (8.11 mm). A la vez, *A. salmiana* presentó el mayor ($p < 0.05$) grosor foliar en el grupo de las ocho especies. Sin considerar a *A. salmiana*, el grosor de la octava hoja varió desde 3.1 y 4.3 mm en *A. striata* y *A. cupreata*, hasta 6.2 y 6.5 mm en *A. duranguensis* y *A. lechuguilla*; por su parte, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima* y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* presentaron un grosor medio en la octava hoja (5.2 mm) cercano al promedio de todas las especies (Figura 6).

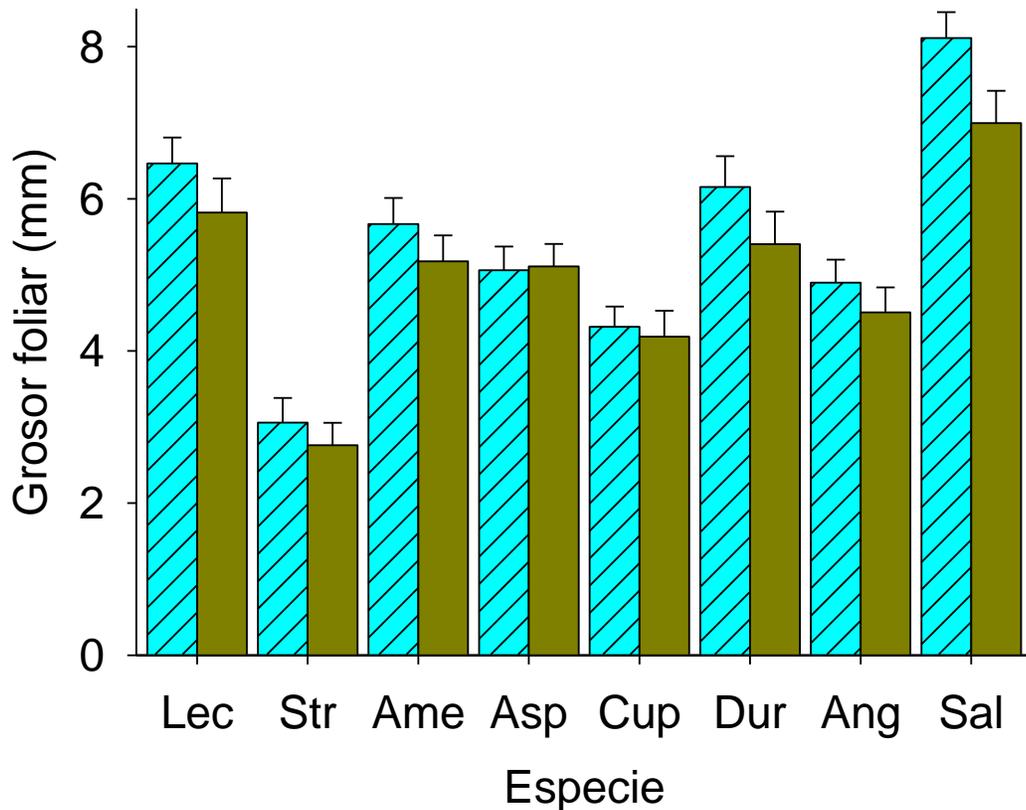


Figura 6. Efecto del riego frecuente (, -0.7 MPa) y el riego restringido (, -3.5 MPa) en el grosor de la octava hoja de ocho especies de *Agave* crecidas en macetas en condiciones de invernadero durante 14 meses. Lec: *A. lechuguilla*, Str: *A. striata*, Ame: *A. americana* var. *marginata*, Asp: *A. asperrima*, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y Sal: *A. salmiana*. Las barras verticales indican el error estándar, n=5.

Indicadores del crecimiento

La biomasa individual, el número de hojas por planta y la cobertura de planta se redujeron significativamente por efecto del potencial de agua restrictivo del sustrato, en promedio de 68 a 28 g de materia seca por planta, de 17 a 13 hojas en la planta y de 0.09 a 0.06 m² por planta, respectivamente. Con todo, la restricción de humedad no redujo significativamente la altura de las plantas de ninguna de las especies, y en algunas ni el número de hojas, ni la cobertura de la planta. Así, el número de hojas por planta de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y de *A. salmiana*, su cobertura y la de *A. lechuguilla* y *A. duranguensis* permanecieron sin cambios significativos ($p > 0.05$) debidos al ψ del sustrato (Cuadro 2).

Cuadro 2. Crecimiento de plantas jóvenes de ocho especies de *Agave* desarrolladas en invernadero con riego frecuente (RF, ψ promedio de -0.7 MPa) y riego restringido (RR, ψ promedio de -3.5 MPa), durante 14 meses.

| Especie | ¹ Biomasa seca (g pl ⁻¹) | | ¹ Número de hojas por planta | | ¹ Cobertura (m ² pl ⁻¹) | | Altura (cm) | |
|--|---|------|---|------|---|--------|-------------|------|
| | RF | RR | RF | RR | RF | RR | RF | RR |
| <i>A. lechuguilla</i> | 16e | 11* | 17bc | 14* | 0.017e | 0.013 | 15cd | 15 |
| <i>A. striata</i> | 5e | 2* | 32a | 22* | 0.023de | 0.008* | 13de | 8 |
| <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> | 132b | 48* | 14cd | 9* | 0.181ab | 0.078* | 33ab | 27 |
| <i>A. asperrima</i> | 74c | 30* | 15cd | 10* | 0.069c | 0.030* | 24bc | 19 |
| <i>A. cupreata</i> | 82c | 32* | 19b | 15* | 0.082bc | 0.040* | 24bc | 17 |
| <i>A. duranguensis</i> | 171a | 27* | 23a | 12* | 0.185a | 0.115 | 33ab | 35 |
| <i>A. angustifolia</i> spp. <i>tequilana</i> | 87bc | 66* | 14cd | 13 | 0.222a | 0.208 | 34a | 39 |
| <i>A. salmiana</i> | 35d | 18* | 10d | 9 | 0.043cd | 0.032 | 20cd | 18 |
| <i>A. duranguensis</i> ² | 10e | 16* | 12cd | 9 | 0.012e | 0.014 | 7e | 10 |
| Media | 67.8 | 27.7 | 17.3 | 12.6 | 0.093 | 0.06 | 22.5 | 20.9 |

Resultados de los análisis de varianza

| Fuente de variación | Significación estadística | | | |
|-------------------------|---------------------------|---------|---------|---------|
| Condición de humedad | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.128 |
| Especie | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| Especie x Cond. de hum. | <0.0001 | 0.0360 | 0.0866 | 0.0510 |
| Covariable | <0.0001 | 0.0485 | 0.0437 | 0.3854 |

¹Valores ajustados por el número de plantas por maceta, la cual fue empleada como covariable. ²Datos observados en *A. duranguensis* con diferencias significativas en crecimiento. *Diferencia estadística ($p < 0.05$) dentro de cada especie, de la media de RR respecto a la de RF, según la prueba de F (LSMEANS/SLICE de SAS). Letras distintas en cada columna RF indican diferencias estadísticas entre especies, según la prueba de Tukey con $\alpha < 0.05$.

Diferencias de crecimiento entre especies cuando se desarrollaron con -0.7 MPa Durante los 16 meses de desarrollo con riego frecuente, las especies de *Agave* presentaron valores promedio de biomasa individual, cobertura de planta y altura de planta de 67.8 g de materia seca por planta, 0.093 m² por planta y 22.5 cm, respectivamente, con diferencias significativas entre las especies. Los valores de biomasa individual, cobertura de planta y altura de planta de *A. duranguensis* fueron los mayores ($p < 0.05$), mientras que los de *A. lechuguilla* y *A. striata* fueron los menores ($p < 0.05$). En otras características, como cobertura de planta y altura de planta, *A. americana* var. *marginata* y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* fueron de las mayores ($p < 0.05$), con valores estadísticamente similares a los de *A. duranguensis*, aunque con biomasa individual menor ($p < 0.05$). La biomasa individual, la cobertura de planta y la altura de planta de *A. asperrima* y *A. cupreata*, y la cobertura y altura de planta de *A. salmiana*, resultaron estadísticamente similares a los valores promedio de las siete especies; sin embargo, la biomasa individual de *A. salmiana* fue significativamente menor que la de *A. asperrima* y *A. cupreata*, y solamente mayor que la de *A. striata* y *A. lechuguilla*, y estas últimas se distinguieron por presentar los valores de crecimiento menores de las ocho especies (Cuadro 2).

Como se indicó, *A. duranguensis* mostró desarrollo desigual de sus plantas. La biomasa seca promedio de los dos grupos fue 221 y 5 g por planta, respectivamente. Las diferencias entre los individuos de estos dos grupos de la misma especie, también se observó en el número de hojas por planta (23 y 12 hojas por planta), la cobertura individual (0.185 y 0.0121 m²) y la altura de la planta (33 y 7 cm). Dentro de los indicadores de crecimiento, en este grupo de plantas sólo la biomasa acumulada total por planta fue modificada significativamente por el riego restringido. En contraste, el número de hojas y la cobertura de planta se mantuvieron sin cambios en ambas condiciones de humedad (Cuadro 2). Cabe señalarse que en esta especie se observó también un dimorfismo del tamaño de la semilla que las agrupó en dos clases (Figura 1 del Capítulo II en este documento) y que la mayoría de las semillas pequeñas fueron inviables (datos no mostrados).

Discusión

Cabe destacar que el ψ , y por lo tanto la disponibilidad de humedad de las plantas mantenidas con riego restringido, alcanzó valores entre -5 y -6 MPa en los últimos cinco meses del estudio (más de la tercera parte del tiempo total de crecimiento evaluado). Los ψ menores coincidieron con los meses de verano, cuando las temperaturas registraron sus niveles mayores durante el año (Figuras 1 y 2). Las temperaturas promedio de mínimas, media y promedio de máximas, en ese periodo, fueron 11, 24 y 48 °C, respectivamente. Así, al considerar los niveles de humedad extremos en el sustrato y el tiempo de permanencia de las plantas de *Agave* en esas condiciones, los resultados de esta investigación son notables y novedosos.

El aumento de la concentración de prolina en el tejido apical radical debido a la reducción de agua ha sido observado en especies cultivadas como *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays* (Sánchez-Urdaneta *et al.*, 2003 y 2005) y *Oryza sativa* (Hien *et al.*, 2003), y también en plántulas de *A. salmiana* (Peña-Valdivia y Sánchez-Urdaneta, 2009). Es probable que el aumento de prolina registrado en algunas especies de *Agave* indique una función de regulación osmótica (Hare y Cress, 1997), la cual permitió un mayor crecimiento de la raíz en *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. asperrima*, al grado de aumentar significativamente su proporción de biomasa (Figura 3). Sin embargo, en *A. lechuguilla* y *A. striata* el incremento en la proporción de biomasa radical no se asoció con el contenido de prolina; y su aumento en *A. americana* var. *marginata*, *A. duranguensis* y *A. salmiana* no se asoció con un incremento de la proporción de biomasa radical. Tales excepciones permiten suponer que sea más probable que el aumento de prolina constituya un efecto protector, pues la acumulación de este aminoácido favorece la homeostasis celular en condiciones de estrés ocasionado por tensiones ambientales (Szabados y Savoure, 2009). Al respecto, una característica importante de las plantas CAM es su sobrevivencia en condiciones ambientales extremas (Whitford, 2002).

El incremento del índice raíz/vástago de *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. asperrima*, *A. lechuguilla* y *A. striata* provocado por una menor disponibilidad de humedad en el sustrato indica una diferencia en la distribución de biomasa entre los órganos como reacción al nivel de humedad del sustrato (Figura 4). En las plantas

de estas cuatro especies la modificación de la asignación de biomasa sucedió en la raíz y en las hojas, pues el porcentaje de biomasa del tallo fue similar en ambas condiciones de disponibilidad de humedad, y aumentó en la raíz cuando las plantas crecieron con riego restringido (Figura 5). Este aumento provocado por la restricción del riego coincidió con lo encontrado en algunas plantas suculentas (Nobel, 1988) y en diversas especies, como *Sophora davidii* (Wu *et al.*, 2008), *Jatropha curcas* (Atchen *et al.*, 2010), *Medicago sativa* (Erice *et al.*, 2010) y otras, pero contrasta con lo encontrado por Nobel *et al.* (1989) en *A. lechuguilla*. La reacción observada en *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. asperrima*, *A. lechuguilla* y *A. striata* parece una adaptación a la aridez, ya que el incremento del índice raíz/vástago es considerado como evidencia de resistencia de las plantas al déficit de humedad. Al respecto, se ha señalado que con el crecimiento del sistema radical se promueve el aumento de la absorción de agua, mientras que la detención del desarrollo del vástago promoverá la disminución de la transpiración (Taiz y Zeiger, 2006; Wu *et al.*, 2008).

En contraste con lo expuesto en el párrafo anterior, las proporciones de biomasa de la raíz y el vástago de *A. americana* var. *marginata*, *A. duranguensis* y *A. salmiana* permanecieron igual en ambas condiciones de humedad (Figuras 2 y 4). Esta persistencia de la proporción de biomasa entre los órganos también contrastó con la tendencia de incremento de asignación de recursos a la raíz, mostrada por varias especies (Wu *et al.*, 2008; Atchen *et al.*, 2010; Erice *et al.*, 2010) y considerada una reacción común al déficit de humedad entre las plantas (Taiz y Zeiger, 2006). Así, se demostró una reacción heterogénea entre las especies de *Agave* para asignar recursos a los órganos de la planta en dependencia de la humedad disponible.

Las plantas suculentas, como las de *Agave*, presentan una reserva importante de agua, principalmente en las hojas. Debido a eso, la reacción ante la indisponibilidad de humedad en el suelo mediante el aumento de la absorción a través de un mayor crecimiento radical parece innecesaria, en tanto que conservar el agua almacenada en sus hojas y tallos parece una reacción más eficiente. La conservación del agua en el vástago de estas especies ocurre como resultado de su morfología especializada y la presencia de una cutícula impermeable (Bobich y

North, 2009). También, la conservación del agua durante los periodos secos se debe a la contracción de las raíces, el embolismo y la cavitación (formación de burbujas) en los tejidos conductores, y la abscisión de raíces absorbentes (Huang y Nobel, 1992; Lüttge, 2010). Lo anterior también permite sugerir que cuanto mayor es la reserva de agua, en condiciones de déficit de humedad, el incremento de asignación de recursos al crecimiento radical es más improbable.

Con la restricción del riego se propició un incremento en la proporción de biomasa radical sólo en cuatro de las ocho especies estudiadas, mientras que en otras tres no hubo cambios. La reacción de *A. cupreata* fue contrastante con las otras especies, pues la proporción de su biomasa radical fue superior cuando creció con la disponibilidad mayor de humedad, lo que propició a la vez, una menor proporción de la biomasa en las hojas (Figuras 4 y 5). Reich (2002) menciona que las evidencias de una modificación en la asignación de recursos entre órganos debida a la variación de un gradiente ambiental, como la disponibilidad de humedad, es insuficiente para hacer afirmaciones conclusivas, como sí lo son las relacionadas con otros factores como la disponibilidad de nutrientes o de luz. Al parecer, el déficit de humedad más que incrementar la proporción de la biomasa radical, provoca cambios en la tasa de crecimiento, lo que propicia una interpretación errónea debida a la evaluación puntual en plantas de la misma edad, pero con desarrollo diferente (McConnaughay y Coleman, 1999). Lo anterior se relaciona con el hecho de que la distribución de la biomasa entre los órganos se modifica con el crecimiento y desarrollo. La información del presente estudio y la documentada por otros autores permite inferir que las plantas de *Agave* presentan cambios en la distribución de la biomasa durante su crecimiento. Así, la proporción de biomasa radical de plantas de *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. lechuguilla* y *A. salmiana* de 16 meses de edad, fue 16, 11 y 22% respectivamente (Figura 5) y la de plantas adultas de las mismas especies fue menor, 10, 6 y 11%, respectivamente (Nobel y Quero, 1986; Nobel y Meyer, 1985; Nobel y Valenzuela, 1987). Similarmente, se ha documentado la disminución con la edad del cociente raíz/vástago de plantas de *A. lechuguilla*, desde 0.14 en individuos con cinco hojas expuestas, a 0.05 en individuos con 49 hojas expuestas (Nobel, 2002). Lo anterior permite señalar que parece improbable

que la reacción de aumento de la proporción de biomasa radical sea una forma con la que las especies de *Agave* contrarresten las restricciones de humedad, pues presentan otros tipos de adaptaciones para ello. Esto podría confirmarse con evaluaciones de la distribución de biomasa durante el desarrollo total de las plantas.

El mayor grosor de hoja de *A. duranguensis*, *A. lechuguilla* y *A. salmiana* contrastó con el de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. cupreata* (Figura 6). El grosor de las hojas de las plantas suculentas, como las de *Agave*, se relaciona directamente con el contenido de agua (Vendramini *et al.*, 2002). Así, cuanto más gruesas sean las hojas, mayor capacidad de almacenamiento de agua, por lo que es probable que las especies con hojas más gruesas presenten mejor adaptación a ambientes secos. Al respecto, *A. lechuguilla* y *A. salmiana* son especies procedentes de climas con precipitación media anual entre 300 y 400 mm, mientras que *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. cupreata* habitan sitios donde la precipitación media anual es alrededor de 900 mm (Gentry, 1982). Esta asociación entre la capacidad de almacenamiento de agua, medida indirectamente a través del grosor de la hoja, y la precipitación, deducida para *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. cupreata*, *A. lechuguilla* y *A. salmiana* coincide con la encontrada en *Nopalea cochenillifera* y *Opuntia robusta* ssp. *larreyi* crecidas con disponibilidad de agua ilimitada, en hidroponía (Ramírez-Tobías *et al.*, 2007). De acuerdo con Ramírez-Tobías *et al.* (2007) *O. robusta* ssp. *larreyi*, adaptada a ambientes con precipitación media anual similar a la de las regiones donde se localiza *A. salmiana*, presentó cladodios más gruesos con un contenido de humedad significativamente mayor que los de *N. cochenillifera*, la cual es una especie adaptada a climas con precipitación media anual similar a la de las regiones donde se localizan *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. cupreata*. A la vez, el grosor menor de la hoja observado solamente en *A. salmiana*, con restricción de humedad en comparación con la condición de disponibilidad mayor, puede tomarse como evidencia de la plasticidad de esta especie, pues en ambas condiciones el grosor de la hoja de esta especie fue significativamente el mayor de las especies estudiadas (Figura 6). La estabilidad del grosor de la hoja en la mayoría de las especies, independientemente de la condición de humedad, indica que el agua de la condición de humedad restringida fue empleada primordialmente para mantener la

suculencia. Al respecto, Schulte (2009) señaló que una de las características más importante de las plantas MAC es su capacidad para absorber y almacenar rápidamente el agua disponible.

El efecto del ψ del sustrato en las características relacionadas con el crecimiento ha sido documentado recientemente en plántulas (Sánchez-Urdaneta *et al.*, 2004; Peña-Valdivia *et al.*, 2009), plantas jóvenes (Pimienta-Barrios *et al.*, 2006; Ruiz *et al.*, 2007) y plantas adultas (Martínez-Ramírez, 2006) de varias especies de *Agave*. Las tasas de exposición de hojas, de aumento del diámetro y de incremento de la altura de las plantas de *A. angustifolia* y *A. potarorum* fueron mayores durante los meses de la estación lluviosa que durante el periodo seco de año (Martínez-Ramírez, 2006). Por otro lado, la suspensión del riego por 30 días disminuyó de 325 a 2 mol m⁻² la asimilación neta de CO₂ en *A. fourcroydes* (Nobel, 1985), y redujo hasta 10% la acumulación ácida nocturna en *A. angustifolia* ssp. *tequilana* (Nobel y Valenzuela, 1987). La suspensión de riego por 60 días (ψ de -1.6 MPa) a plantas de *A. salmiana* menores que un año de edad, disminuyó el intervalo nocturno de asimilación de CO₂ a sólo 4 h, en contraste con el de 10 h en plantas con riego (ψ de -0.39 MPa), pero en ambos casos la tasa se mantuvo en 10 mmol m⁻² s⁻¹ (Ruiz *et al.*, 2007). Una menor disponibilidad de agua, promovida con la hidratación de una proporción de raíz menor que el 50% propició una asimilación neta de CO₂ reducida en *A. deserti* (Graham y Nobel, 1999). Lo anterior sugiere una reducción de fotoasimilados aprovechables para el crecimiento, debida a la menor disponibilidad de agua por períodos de hasta varios meses, independientemente de la especie de *Agave* y la etapa de desarrollo. Así, aunque las plantas suculentas como *Agave* están adaptadas a ambientes áridos, y pueden mantener algunas funciones fisiológicas, como la asimilación de CO₂, utilizando el agua almacenada en sus tejidos (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001 y 2006; Nobel, 2006), la disponibilidad baja de agua, en términos absolutos y durante periodos largos, sí disminuye su crecimiento, pues al abatirse finalmente la reserva de agua, la presión de turgencia (presión que origina expansión celular) disminuye (Taiz y Zeiger, 2006).

Los resultados del número de hojas por planta y cobertura de la planta mostraron que *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. duranguensis*, *A. lechuguilla* y *A.*

salmiana fueron menos alteradas por la restricción de humedad que las otras especies (Cuadro 2). Aunque la biomasa total individual de todas las especies decreció significativamente con la restricción del riego, la proporción de biomasa acumulada con riego restringido mostró diferencias amplias entre especies. Bajo esta condición, *A. duranguensis* acumuló sólo el 16%, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. cupreata* y *A. striata* acumularon en promedio 40%, *A. salmiana* 52%, *A. lechuguilla* 70% y *A. angustifolia* ssp. *tequilana* 78% de la biomasa total obtenida con riego frecuente. Este resultado coincidió parcialmente con lo observado en el número de hojas por planta y cobertura de la planta. Sin embargo, en el caso de *A. duranguensis*, aunque la cobertura fue similar en ambas condiciones de humedad el número de hojas por planta y su biomasa total sí se redujeron cuando creció con riego restringido. En contraste, la estabilidad del crecimiento de *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. lechuguilla* y *A. salmiana* en ambas condiciones de humedad pudo deberse a su capacidad de ajustar sus procesos fisiológicos con independencia de la humedad disponible, seguramente dentro de ciertos límites, como los que prevalecen en los ambientes áridos. La reacción positiva de *A. lechuguilla* y *A. salmiana* ha sido demostrada en otras condiciones ambientales, como es el caso de los niveles de germinación mayores que 90% en intervalos de temperatura más amplios que otras especies del género, que van de los 15 a los 33 °C y de los 18 a los 27 °C (Ramírez-Tobías *et al.*, en prensa), y en potenciales de agua de -1.0 MPa (Capítulo II de este documento). Por otro lado, *A. angustifolia* y *A. lechuguilla* son las especies de *Agave* de distribución geográfica más amplia (Gentry, 1982; Reyes-Agüero *et al.*, 2000), lo que se debe a su capacidad de adaptación elevada. Además, se ha documentado que *A. angustifolia*, *A. lechuguilla* y *A. salmiana* son poliploides, lo cual puede elevar su capacidad de reaccionar favorablemente a las variaciones ambientales (García-Mendoza, 2007; Palomino *et al.*, 2007).

En condiciones de desarrollo similares para todas las especies, el crecimiento de las plantas durante 16 meses sin restricción del riego mostró amplias diferencias entre especies. Así, *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. duranguensis* sobresalieron por su mayor cantidad de biomasa acumulada y tamaño

de las plantas; mientras que el menor crecimiento fue observado en *A. lechuguilla* y *A. striata* (Cuadro 2). Las diferencias del crecimiento de *A. lechuguilla* y *A. striata* con respecto a las seis especies restantes puede tener relación con su clasificación taxonómica, pues las dos primeras están ubicadas dentro del subgénero *Littaea*, mientras que las otras seis dentro del subgénero *Agave* (Cuadro 1). Las diferencias en los parámetros del crecimiento evidencian diferencias genéticas, entre subgéneros y entre especies, a las cuales probablemente se deben las tasas de crecimiento distintas, como lo observó Martínez-Ramírez (2006) en *A. angustifolia* y *A. potatorum*. Esas diferencias genéticas también determinan algunos procesos fisiológicos, como la absorción neta de CO₂ 30% menor en *A. lechuguilla* que en *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. salmiana*, y que contribuyó a que la productividad anual de la primera fuera menos de un tercio que la de *A. salmiana*, cuando crecieron con la misma disponibilidad de agua (Nobel, 1988).

Conclusiones

Las plantas de ocho especies de *Agave*, *A. lechuguilla*, *A. striata*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A. duranguensis*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, y *A. salmiana*, una vez establecidas en condiciones de invernadero con humedad del sustrato a capacidad de campo, con edad poco menor que dos meses, son capaces de sobrevivir al menos 14 meses con riego restringido, el cual decreció desde capacidad de campo al inicio del experimento hasta -6 MPa.

La caída del ψ del sustrato propició ciertas modificaciones en el patrón de distribución de biomasa entre órganos y en el contenido de prolina, aunque con diferencias entre especies. Así, la humedad restrictiva en el sustrato (-3.6 MPa en promedio, con variaciones desde -1.8 hasta cerca de -6 MPa) durante 14 meses favoreció el crecimiento de la raíz a costa del de las hojas en la mayoría de las especies, e incrementó el contenido de prolina en la región apical de la raíz, sin que esto fuera generalizado.

La reducción del crecimiento debida a la disponibilidad de humedad baja fue menor en las especies que de acuerdo con la zona de procedencia están adaptadas

a climas más áridos (*A. duranguensis*, *A. lechuguilla* y *A. salmiana*), pero también en *A. angustifolia* ssp. *tequilana*.

El mantenimiento de la turgencia, medida a través del grosor de la hoja, parece una reacción fundamental ante la exposición prolongada (14 meses) a potenciales de agua del sustrato menores a -0.39 y hasta -6 MPa.

La asignación de biomasa a la raíz y la acumulación de prolina, como reacciones fisiológicas de tolerancia a la restricción de humedad del sustrato, tendieron a ser homogéneas entre las especies del subgénero *Littaea* (duplicación del índice raíz/vástago e independencia en el contenido de prolina) y heterogéneas entre las del subgénero *Agave* (divergencia en la modificación de la distribución de biomasa e incremento del contenido de prolina), y distintas entre subgéneros.

En condiciones de invernadero, las especies del subgénero *Agave*: *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. duranguensis*, *A. cupreata*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. salmiana*, presentaron un crecimiento mayor que las del subgénero *Littaea* (*A. striata* y *A. lechuguilla*); y dentro del primer grupo, *Agave duranguensis* presentó el crecimiento más destacado, seguida por *A. americana* var. *marginata* y *A. angustifolia* ssp. *tequilana*.

Literatura citada

- Aguirre R., J.R.; H. Charcas Z.; J.L. Flores F. 2001. El maguey mezcalero potosino. COPOCYT-UASLP. San Luis Potosí, SLP. México. 87 p.
- Atchen, W.M.J.; W.H. Maes; B. Reubens; E. Mathijs; V.P. Singh; L. Verchot; B. Muys. 2010. Biomass production and allocation in *Jatropha curcas* L. seedlings under different levels of drought stress. *Biomass and Bioenergy*. 34: 667 - 676.
- Bates, L.W.; R.P. Waldren; L.D. Teare. 1973. Rapid determination of proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- Bobich, E.G.; G.B. North. 2009. Structural implications of succulence: Architecture, anatomy, and mechanics of photosynthetic stem succulents, pachycauls, and leaf succulents. In: E. de la Barrera; W.K. Smith. (Eds). *Perspectives in Biophysical Plant Ecophysiology, A tribute to Park S. Nobel*. Universidad Nacional Autónoma de México. pp: 3-38.

- Colunga-GarcíaMarín, P.; D. Zizumbo-Villareal; J. Martínez-Torres. 2007. Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: una aportación a la protección legal y conservación de su diversidad biológica y cultural. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 229-248.
- CONABIO. 2006. Mezcales y diversidad. 2a. edición. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. (Mapa).
- Erice, G; S. Louahia; J.J. Irigoyen; M. Sanchez-Diaz; J.C. Avice. 2010. Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. *Journal of Plant Physiology*. 167:114-120.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5ª edición. Instituto de Geografía-UNAM. México, DF. 90 p.
- García-Mendoza, A. 2007. Los Agaves de México. *Ciencias*. 87:15-23.
- Gentry, H.S. 1982. *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. EU. 670 p.
- Graham, E.A.; P.S. Nobel. 1999. Root water uptake, leaf water storage and gas exchange of a desert succulent: implications for root system redundancy. *Annals of Botany*. 84: 213-223.
- Hare, P.D.; W.A. Cress. 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*. 21: 79-102.
- Hien, D.T.; M. Jacobs; G. Angenon, C. Hermans; T.T. Thu; L.V. Son; N.H. Roosens. 2003. Proline accumulation and Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene properties in three rice cultivars differing in salinity and drought tolerance. *Plant Science*. 165:1059-1068.
- Huang, B.; P.S. Nobel. 1992. hydraulic conductivity and anatomy for lateral roots of *Agave deserti* during root growth and drought-induced abscission. *Journal of Experimental Botany*. 43: 1441-1449.
- Illsley, C.; E. Vega, I. Pisanty; A. Tlacotempa; P. García; P. Montes; G. Rivera; J. García; V. Jiménez; F. Castro; M. Calzada. 2007. Maguey papalote: hacia el

- manejo sustentable de un recurso colectivo en el trópico seco de Guerrero, México. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 319-338.
- Lüttge, L. 2010. Ability of crassulacean acid metabolism (CAM) plants to overcome interacting stresses in tropical environments. AoB Plants Advance Access published online. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/uk/>. doi:10.1093/aobpla/plq005.
- Martínez-Ramírez, S. 2006. Crecimiento de magueyes mezcaleros y suelos que los sustentan en la cuenca alta del río Mixteco, Oaxaca. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. México. 110 p.
- McConnaughay, K.D.M.; J.S. Coleman. 1999. Biomass allocation in plants: Ontogeny or optimality? A test along three resource gradients. *Ecology*. 80: 2581-2593.
- Nobel, P. S.; E. Quero, 1986. Environmental productivity indices for a Chihuahuan desert CAM plant, *Agave lechuguilla*. *Ecology*. 67: 1-11.
- Nobel, P.S. 1985. PAR, Water and temperature limitations on the productivity of cultivated *Agave fourcroydes* (henequen). *Journal of applied ecology*. 22: 157-173.
- Nobel, P.S. 1988. Environmental biology of agaves and cacti. Cambridge University Press. Cambridge, NY. EU. 288 p.
- Nobel, P.S. 2002. Ecophysiology of roots of desert plants, with special emphasis on agaves and cacti. In: Y. Waisel; A. Eshel; U. Kafkafi (Eds). *Plant roots, the hidden half*. 3ª edición. Marcel Dekker. New York. EU. pp: 961-963.
- Nobel, P.S. 2006. Parenchyma–chlorenchyma water movement during drought for the hemiepiphytic cactus *Hylocereus undatus*. *Annals of Botany*. 97: 469-474.
- Nobel, P.S.; A.G. Valenzuela. 1987. Environmental responses and productivity of the CAM plant, *Agave tequilana*. *Agricultural and Forest Meteorology*. 39: 319-334.

- Nobel, P.S.; E. Quero; H. Linares. 1989. Root versus shoot biomass: responses to water, nitrogen and phosphorous applications for *Agave lechuguilla*. *Botanical Gazette*. 150: 411-416.
- Nobel, P.S.; S. Meyer. 1985. Field productivity of a CAM plant, *Agave salmiana*, estimated using daily changes under various environmental conditions. *Physiologia Plantarum*. 65: 397-404
- Palomino, G.; J. Martínez; I. Méndez. 2007. Variación inter e intraespecífica en especies de *Agave* por citometría de flujo y análisis de sus cromosomas. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves*. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 41-66.
- Peña-Valdivia, C.B.; A.B. Sánchez-Urdaneta. 2009. Effects of substrate water potential in root growth of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck seedlings. *Biological Research*. 42: 239-248.
- Pimienta-Barrios, E.; C. Robles-Murguía; P.S. Nobel. 2001. Net CO₂ uptake for *Agave tequilana* in a warm and a temperate environment. *Biotropica*. 33: 312-318.
- Pimienta-Barrios, E.; J. Zañudo-Hernández; J. García-Galindo. 2006. Fotosíntesis estacional en plantas jóvenes de *Agave tequilana*. *Agrociencia*. 40: 699-709.
- Ramírez-Tobías, H.M.; C.B. Peña-Valdivia; J.R. Aguirre R.; J.A. Reyes-Agüero; A.B. Sánchez-Urdaneta; S. Valle G. (en prensa). Temperature on seed germination of eight Mexican *Agave* species with an extensive history of human use.
- Ramírez-Tobías, H.M.; J.A. Reyes-Agüero; J.M. Pinos-Rodríguez; J.R. Aguirre-Rivera. 2007. Effect of the species and maturity over the nutrient content of cactus pear cladodes. *Agrociencia*. 41: 619-626.
- Reich, P.B. 2002. Root-shoot relations: Optimality in acclimatation and adaptation or the "Emperor's new clothes"? In: Y. Waisel.; A. Eshel; U. Kafkafi (Eds). *Plant roots, the hidden half*. 3^a edición. Marcel Dekker. New York. EU. pp: 205-220.
- Reyes-Agüero, J.A.; J.R. Aguirre R.; C.B. Peña V. 2000. Biología y aprovechamiento de *Agave lechuguilla* Torrey. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 67:57-88.

- Ruiz G., S.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo L.; A. Sánchez. 2007. Reacción fisiológica del maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) a la sequía intermitente. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 24 (Sup. 1): 318-325.
- Ruiz-Corral, J.A.; E. Pimienta-Barrios; J. Zañudo-Hernández. 2002. Regiones térmicas óptimas y marginales para el cultivo de *Agave tequilana* en el estado de Jalisco. Agrocienca. 36: 41-53.
- Szabados, L; A. Savoure. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science. 15: 89-97.
- Sánchez-Urdaneta, A. B.; C. B. Peña-Valdivia; J. R. Aguirre R.; C. Trejo.; E. Cárdenas. 2004. Efectos del potencial de agua en el crecimiento radical de plántulas de *Agave salmiana* Otto Ex Salm-Dyck. Interciencia. 29: 626-631.
- Sánchez-Urdaneta, A.B.; C.B. Peña-Valdivia; C. Trejo; J.R. Aguirre R.; E. Cárdenas. 2005. Root growth and proline content of drought sensitive and tolerant maize (*Zea mays* L.) under different water potential. Cereal Research Communication. 33: 697-704
- Sánchez-Urdaneta, A.B.; C.B. Peña-Valdivia; C. Trejo; J.R. Aguirre R.; E. Cárdenas; A. Galicia. 2003. Permeabilidad de las membranas radicales de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestre y domesticado bajo déficit de humedad. Interciencia. 28: 597-603.
- Sánchez-López, A. 1989. Oaxaca tierra de maguey y mezcal. Instituto Tecnológico de Oaxaca. Oaxaca, México. 179 p.
- SAS. 1999-2000. SAS user's guide: Statistics. Versión 6. SAS Institute Inc. Cary, NC. EU. 1290 p.
- Schulte, P.J. 2009. Water transport processes in desert succulents plants. In: E. de la Barrera; W.K. Smith (Eds). Perspectives in biophysical plant ecophysiology: A tribute to Parks Nobel. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF. pp: 39-55.
- Taiz, L.; E. Zeiger. 2006. Plant Physiology. 4ª edición. Sinauer Associates. Sunderland, EU. 764 p.

- Vendramini, F.; S. Díaz; D.E. Gurvich; P.J. Wilson; K. Thompson; J.G. Hodgson. 2002. Leaf traits as indicators of resource-use strategy in floras with succulent species. *New Phytologist*. 154: 147–157.
- Whitford, W. 2002. *Ecology of desert systems*. Academic press. San Diego, California. EU. 343 p.
- Wu, F.; W. Baoa; F. Li; N. Wu. 2008. Effects of drought stress and N supply on the growth, biomass partitioning and water-use efficiency of *Sophora davidii* seedlings. *Environmental and Experimental Botany*. 63: 248–255.

Discusión general

En esta investigación se comprobó que las semillas de siete especies de *Agave* carecieron de latencia, pues cuando se les proveyó de las condiciones de temperatura y humedad adecuadas (alrededor de 25 °C y -0.03 MPa –esto es, sustrato humedecido a capacidad de campo) su germinación alcanzó niveles de 90% o mayores en periodos de 80 a 190 h (Figura 4 Capítulo I y Figura 6 Capítulo II). La germinación de *Agave* ya había sido documentada formalmente con anterioridad, pero sólo en *Agave lechuguilla* y *A. parryi* (Freeman *et al.*, 1977), *A. americana* (Pritchard y Miller, 1995), *A. attenuate*, *A. jarcia*, *A. victoria-reginae* (Maiti *et al.*, 2005) y *A. salmiana* (Peña-Valdivia *et al.*, 2006), por lo que la información de la presente investigación contribuye significativamente al conocimiento sobre este proceso fisiológico en el género.

La propagación con propósitos comerciales de plantas del género *Agave* se realiza comúnmente de manera vegetativa, a través de hijuelos o bulbilos (Sánchez-López, 1989; Aguirre *et al.*, 2001; Valenzuela-Zapata, 2003). Al respecto, se indica que con esta forma de propagación se favorece mayor homogeneidad y su manejo agronómico, y que así el tiempo de maduración es menor que cuando se propaga por semilla (Núñez, 2001). De manera particular, en *A. angustifolia* ssp. *tequilana* el aumento del periodo de crecimiento sólo ocurrió en una proporción de las plantas propagadas a través de semilla, aunque la cantidad no ha sido especificada (Núñez, 2001). Por otro lado, el periodo de crecimiento se suele considerar a partir del trasplante del hijuelo (Ruvalcaba, 1983), por lo que el tiempo requerido para la producción del plantón de semilla podría ser similar al requerido para obtener un hijuelo adecuado (Aguirre *et al.*, 2001). Así, la reacción de germinación observada en la presente investigación contribuye a sostener que la germinación de la semilla en *Agave* no es una limitante para su propagación sexual.

La prevalencia de la reproducción vegetativa de *Agave*, observada en la naturaleza y practicada bajo cultivo en las plantaciones, parece llevar a la situación de que la propagación a través de semilla sea desestimada e incluso cuestionada por los campesinos en algunas regiones del país, lo que posiblemente fomenta la

generalización de la reproducción asexual. Cabe considerar, que la propagación vegetativa también induce una mayor susceptibilidad poblacional ante condiciones de tensión biótica y abiótica, lo que ya ha ocasionado pérdidas cuantiosas en plantaciones de *Agave* (Valenzuela-Zapata y Nabhan, 2003; Espinosa *et al.*, 2005). Dicha susceptibilidad es producto de la variabilidad genética baja, comprobada en clones de *A. fourcroydes* (Colunga-GarcíaMarín, 1999) y de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* var. *azul* (Gil-Vega *et al.*, 2001 y 2006), en comparación con la variabilidad genética observada en poblaciones silvestres (Eguiarte y Souza, 2007). En contraparte, se ha documentado la posibilidad de obtención de plantas de maguey propagadas por semilla tan vigorosas como las propagadas por hijuelos (Barrientos *et al.*, 1985). Además, la tecnología disponible hace posible la producción masiva de plantones de semilla que podrían competir favorablemente con los hijuelos usados tradicionalmente (Aguirre *et al.*, 2001).

En la hipótesis de esta investigación se planteó que los procesos fisiológicos como la germinación y el crecimiento en algunas especies de *Agave* podrían ser modificados por la temperatura y humedad, en función de las características ambientales prevalecientes en las áreas de distribución de dichas especies. Esta aseveración supone que cada especie ha evolucionado en determinadas condiciones ambientales a las que se adaptó, y dentro de las cuales se podrían situar los límites de tolerancia correspondientes (Smith y Smith, 2001). La hipótesis de este trabajo se basa en la elevada capacidad de adaptación de *Agave* debida a las peculiaridades de su morfología y fisiología (Eguiarte y Souza, 2007). Esta capacidad de adaptación podría relacionarse con la elevada riqueza de especies dentro del género. Así, de las aproximadamente 200 especies descritas, 150 se encuentran en México, en una diversidad amplia de ambientes, los cuales abarcan desde el nivel del mar hasta los 3400 m de altitud, en un número amplio de comunidades vegetales (Cuadro 1) (García-Mendoza, 2002). Quizá la adaptación más clara en *Agave*, con respecto a su capacidad para tolerar condiciones restrictivas temporales de humedad, sea la succulencia y la fotosíntesis tipo CAM (metabolismo ácido de las crasuláceas, por sus siglas en inglés) (Eguiarte y Souza, 2007), pero no es la única, pues también han sido descritas otras adaptaciones que

permiten que la planta mantenga un nivel de hidratación suficiente para realizar funciones fundamentales como la asimilación de CO₂ (Pimienta-Barrios *et al.*, 2001 y 2006).

Cuadro 1. Tipos de vegetación con presencia de especies de *Agave* en México (García-Mendoza, 2002).

| Tipo de vegetación | Número de especies |
|----------------------------------|--------------------|
| Bosque tropical perennifolio | 1 |
| Bosque tropical subcaducifolio | 3 |
| Bosque tropical caducifolio | 31 |
| Bosque espinoso | 14 |
| Pastizal | 12 |
| Desierto y chaparral | 52 |
| Bosque de coníferas y de encinos | 44 |
| Bosque de niebla | 4 |

Los resultados de la presente investigación respaldan la hipótesis de que la germinación es uno de los procesos fisiológicos que se modifican al cambiar las condiciones de humedad y temperatura, y que los niveles de reacción óptimos presentan un patrón asociado al ambiente de procedencia de cada especie. Por otro lado, también se confirmó que el crecimiento se reduce con la restricción continua de humedad del sustrato, y que ante la menor disponibilidad de humedad por periodos prolongados, la reacción prioritaria es el mantenimiento del agua almacenada y probablemente un mayor crecimiento radical, lo cual puede aumentar la absorción de agua desde el sustrato.

Los resultados evidenciaron diferente tolerancia entre especies a las condiciones a las que fueron sometidas. Así, en la germinación sobresalió que *A. americana* var. *marginata*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. striata* presentaron límites de tolerancia más amplios de temperatura y humedad que las otras especies, y que *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. duranguensis*, *A. lechuguilla* y *A. salmiana* fueron menos dañadas en su crecimiento. *Agave americana* var. *marginata*, *A. lechuguilla*,

A. salmiana y *A. striata* presentaron porcentajes de germinación mayores que 90% en un intervalo de temperatura de 15 hasta 33 °C y en potenciales de agua de -0.03 y -1.0 MPa, y en -1.5 MPa fueron las menos perjudicadas pues su germinación final acumulada decayó a 80 %, mientras que en las otras especies se redujo hasta 30% (Figura 5C Capítulo I y Figura 6 Capítulo II). Por otro lado, la cobertura de las plantas de *A. lechuguilla*, *A. duranguensis*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. salmiana*, y también el número de hojas de las últimas dos, se mantuvieron sin cambio significativo, al crecer durante 14 meses en una condición restrictiva de humedad (Cuadro 2 Capítulo 3). Probablemente la capacidad de tolerancia amplia observada en *A. americana* var. *marginata*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. lechuguilla* y *A. salmiana* pueda deberse a características genéticas, pues se ha confirmado son poliploides y esta característica les puede conferir mayor capacidad de adaptación y reacción favorable a ambientes extremos (Palomino *et al.*, 2007).

La producción de semilla pequeña y abundante se ha considerado como tendencia favorable para la repoblación natural, al incrementarse la probabilidad de germinación y sobrevivencia de plántulas (Smith y Fretwell, 1974). Así, es posible que en *Agave* este atributo incremente su probabilidad de propagación sexual. Con todo, el tamaño de la semilla en las ocho especies analizadas presentó variaciones amplias (Cuadro 2 Capítulo I); así, *A. striata* con un peso seminal de 2.3 mg y *A. lechuguilla* con 4.3 mg, el peso promedio de ambas representó solo el 25% del peso de las semillas de mayor tamaño. Estas dos especies pueden considerarse de las más exitosas en germinación, con un porcentaje máximo estable en intervalos de temperatura mayores que los de *A. americana* var. *marginata* y *A. salmiana*. En particular, *A. striata* destacó por ser la única especie cuya tasa de germinación permaneció estable y elevada en temperaturas que fueron desde 15 hasta 27 °C (Figura 5B Capítulo I).

Los resultados obtenidos de la germinación a través del modelo de tiempo hídrico (Gummerson, 1986; Bradford, 2002) confirman la capacidad de las semillas de *A. americana* var. *marginata*, *A. salmiana* y *A. striata* para germinar en sustratos con disponibilidad de humedad limitada. Los valores de potencial base medio (ψ_{bg}) de estas tres especies tendieron a ser bajos (-2.01, -2.64 y -2.02 MPa,

respectivamente), lo que ha sido señalado como indicador de adaptación a ambientes con restricciones de humedad (Allen *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2005; Köchy y Tielbörger, 2007). La capacidad de germinación de *A. americana* var. *marginata*, *A. salmiana* y *A. striata* con poca humedad parece asociada con una menor precipitación media anual en los sitios de su distribución natural; además, sobresalieron *A. salmiana* y *A. striata* del total de especies estudiadas, las cuales habitan las zonas cuyo clima presenta la menor precipitación media anual (unos 300 mm) (García, 2004).

De la misma manera como la germinación experimental permitió establecer límites de tolerancia amplios en *A. americana* var. *marginata*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* y *A. striata* también permitió la observación de una reacción caracterizada por un estrechamiento de la tolerancia y un deslizamiento del nivel óptimo hacia temperaturas más frescas o cálidas, o hacia niveles de humedad restrictivos, de acuerdo con la procedencia de cada especie. Así, la germinación de *A. cupreata*, la especie de clima más cálido y lluvioso, alcanzó niveles de germinación de 90% sólo en 25 y 30 °C, mientras que *A. asperrima* presentó porcentajes máximos de germinación (80% en promedio) entre 15 y 25 °C (Figura 5C Capítulo I). Respecto a la disponibilidad de humedad, ambas especies fueron las menos tolerantes al potencial de agua más restrictivo (-1.5 MPa) (Figura 6 Capítulo II). Este resultado confirma la adaptación de *A. cupreata*, desde la germinación, a ambientes cálidos-subhúmedos, y permite sugerir una asociación entre la germinación y la precipitación media anual, típica del clima al cual está adaptada, y que es de las mayores (cerca de 900 mm) para el grupo estudiado (García, 2004).

Con esta investigación se confirmó que las plantas jóvenes de *Agave* pueden presentar reacciones similares en parte a las de otras plantas consideradas resistentes a déficits de humedad, como son el incremento en el contenido de prolina (Heerden y Krüger, 2002) y la modificación en la distribución de biomasa entre órganos, con una asignación prioritaria al crecimiento radical (Taiz y Zeiger, 2006). Aunque ambas reacciones se registraron sólo en algunas de las ocho especies de *Agave*. Lo anterior, a pesar que las especies de *Agave* son plantas especializadas

en la absorción y conservación de agua, y que son altamente competitivas en ambientes áridos (García-Mendoza, 2002; Eguiarte y Souza, 2007).

Sobresalió que luego de crecer durante 14 meses con un potencial de agua promedio de -3.5 MPa, pero que alcanzó a ser de -6 MPa en los últimos 5 meses del ensayo, el grosor de la hoja, un indicador de la succulencia, fuera similar al registrado en plantas que crecieron con -0.7 MPa (Figura 6 Capítulo III). En contraste, se observó un incremento del contenido de prolina radical pero sólo en seis especies, pues en *A. lechuguilla* y *A. striata* dicho contenido se mantuvo sin cambio (Figura 3 Capítulo III). En cuanto a la modificación en el patrón de distribución de biomasa por efecto de la restricción hídrica, se favoreció el crecimiento radical en cuatro de las ocho especies (*A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. asperrima*, *A. lechuguilla* y *A. striata*), pero en otras tres (*A. americana* var. *marginata*, *A. duranguensis* y *A. salmiana*) se mantuvo sin cambio, y en *A. cupreata* se presentó una tendencia inversa (Figura 4 Capítulo III). Así, dentro de las tres posibilidades evaluadas para reaccionar ante el déficit de humedad prolongado, el mantenimiento de la succulencia fue prioritario en las plantas de *Agave*. Esto se deduce porque la estabilidad en el grosor foliar fue la única reacción generalizada, y los cambios en el contenido de prolina y la modificación en la distribución de biomasa fueron reacciones menos consistentes entre especies. Sin embargo, el incremento del contenido de prolina y de la proporción de biomasa radical pudo contribuir a conservar la succulencia en algunas especies. En efecto, la prolina puede desempeñar una función de ajuste osmótico (Szabados y Savoure, 2009) y favorecer el crecimiento, y por otro lado, un aumento de la proporción de biomasa radical podría implicar mayor absorción de agua (Graham y Nobel, 1999).

La restricción de humedad provocó una reducción media de la biomasa seca acumulada de aproximadamente el 50%, con respecto a lo registrado en la mejor condición de humedad (Cuadro 2 Capítulo 3). Esto puede deberse principalmente a la cantidad menor de agua de que dispusieron las plantas cuando crecieron en la condición restrictiva. Así, a pesar de que en *A. angustifolia* ssp. *tequilana* se ha documentado la ocurrencia de procesos fisiológicos como la absorción de CO₂ cuando la disponibilidad de agua en el suelo es nula (-6 MPa) (Pimienta-Barrios et

al., 2001), es probable que los fotoasimilados obtenidos de esa manera no sean empleados en el crecimiento o sólo durante un tiempo corto que depende de la duración de la restricción de humedad. Al respecto, las adaptaciones presentes en las plantas CAM permiten su sobrevivencia en condiciones ambientales extremas y una absorción rápida de agua cuando está disponible (Whitford, 2002). Entonces, la eficiencia en el uso del agua aludida por Pimienta-Barrios *et al.* (2001 y 2006) tiene un componente temporal importante. Es decir, las plantas CAM pueden producir biomasa probablemente en intervalos interrumpidos por el abatimiento del agua almacenada hasta un nivel determinado, en el cual la planta puede llegar a cesar el aumento de biomasa (crecimiento), pero sobrevivir hasta que exista humedad disponible nuevamente. Así, el resultado de la actividad intermitente de acumulación de biomasa, al término de un ciclo anual, puede registrar un aumento de biomasa que es resultado de la cantidad de agua disponible en el año y de la capacidad de la planta de alargar su actividad de crecimiento.

Conclusiones generales

Las semillas de *A. lechuguilla*, *A. striata*, *A. americana* var. *marginata*, *A. asperrima*, *A. duranguensis*, *A. cupreata*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* y *A. salmiana* fueron permeables a la humedad, y presentaron las fases típicas de la imbibición en las diversas condiciones de germinación evaluadas. La velocidad de imbibición fue estimulada por la temperatura y el potencial de agua favorable, pero con tasas diferentes entre las especies. El nivel de imbibición requerido para la germinación fue variable entre especies, con una tendencia parcial a ser mayor en semillas pequeñas (con poco peso).

Las semillas estudiadas carecieron de latencia, con excepción de *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, y presentaron quiescencia inducida cuando las condiciones de temperatura y ψ fueron extremas (10 y 40 °C y -1.5 MPa). La germinación escasa de las semillas de *A. angustifolia* ssp. *tequilana* (26% en 30 °C) requiere confirmarse con más evaluaciones, con semillas de otros individuos y provenientes de otros lugares de recolecta.

Las semillas de la mayoría de las especies evaluadas alcanzaron la germinación máxima (cercana o igual a 100%) alrededor de los 25 °C y en ψ de -0.03 MPa; aunque, en general lo hacen en un intervalo de temperatura que incluye aquellas condiciones térmicas del ambiente de procedencia de cada especie. En general, la germinación de las semillas de las especies de los climas más secos fue menos limitada por la restricción de humedad del sustrato (ψ de -1.5 MPa) y contrastó con la de aquéllas procedentes de climas con mayor precipitación anual.

Las temperaturas extremas, 10 y 40 °C, fueron parcialmente letales para las semillas de *A. asperrima*, *A. duranguensis* y *A. salmiana*. En contraste, una condición restrictiva de humedad, equivalente -1.5 MPa permitió la imbibición parcial de las semillas sin afectar su viabilidad durante 30 días. Las condiciones restrictivas de humedad incrementaron la permeabilidad de la testa en algunas especies de *Agave*.

El incremento de prolina en la raíz después de 14 meses con ψ bajos fue exclusivo de las especies del subgénero *Agave* y ausente en las del subgénero *Litsea*.

La modificación en la distribución de biomasa entre órganos debida a la restricción de humedad sólo ocurrió en parte de las especies estudiadas.

La disminución del ψ del sustrato, desde -0.39 hasta cerca de -6 MPa, con un promedio de -3.5 MPa durante 14 meses y de hasta -6 MPa durante los últimos seis, redujo el crecimiento de plantas jóvenes de *Agave*. En las especies procedentes de climas más áridos, como *A. duranguensis*, *A. lechuguilla* y *A. salmiana*, los parámetros del crecimiento fueron poco afectados. En *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, específicamente el número de hojas y la cobertura se mantuvieron sin cambio.

La estabilidad de la turgencia, cuantificada indirectamente a través del grosor de la hoja, parece fundamental en las plantas de *Agave* sometidas a estrés hídrico prolongado (14 meses), a ψ de -3.5 MPa pero que decayó a -6 MPa.

En condiciones de desarrollo similares, las especies del subgénero *Agave* presentaron un crecimiento significativamente mayor que las del subgénero *Litsea*. Dentro de las especies del subgénero *Agave*, *A. duranguensis* mostró el mayor crecimiento, seguida por *A. americana* var. *marginata* y *A. angustifolia* ssp. *tequilana*.

Literatura citada

- Aguirre R., J.R.; H. Charcas Z.; J.L. Flores F. 2001. El maguey mezcalero potosino. COPOCYT-UASLP. San Luis Potosí, SLP. México. 87 p.
- Allen P.S.; S.E. Meyer; M.A. Khan. 2000. Hydrothermal time as a tool in comparative germination studies. In: M. Black; Bradford K.J.; J. Vazquez-Ramos (Eds). Seed biology: Advances and applications. CAB International, Wallingford, UK. pp: 401–410.
- Barrientos P., F.; A. Villegas M.; A. Vázquez R. 1985. Métodos de propagación de agaves. In: C. Cruz; L. Castillo; M. Robert; R.N. Ondarza (Eds). Biología y aprovechamiento integral del henequén y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. México. pp: 91–96.
- Bradford, K.J. 2002. Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. *Weed Science*. 50:248–260.
- Colunga-GarcíaMarín, P.; D. Zizumbo-Villareal; J. Martínez-Torres. 2007. Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: una aportación a la protección legal y conservación de su diversidad biológica y cultural. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 229-248.
- Colunga-GarcíaMarín, P.; J. Coello-Coello; L.E. Eguarte; D. Piñero. 1999. Isoenzymatic variation and phylogenetic relationships between henequén (*Agave fourcroydes*) and its wild ancestor *A. angustifolia* (Agavaceae). *American Journal of Botany*. 86: 115–123.
- Eguarte, L.E.; V. Souza. 2007. Historia natural del *Agave* y sus parientes silvestres. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 3-21.
- Espinosa P., H.; E. Bravo M.; P. López L.; C. Arredondo V. 2005. El agave mezcalero de Oaxaca. Avances de investigación. Libro Técnico Núm. 3.

- Instituto de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Oaxaca, México. 180 p.
- Evans, C.E.; J.R. Etherington. 1991. The effect of soil water potential on seedling growth of some British plants. *New Phytologist*. 118: 571-579.
- Freeman, C.E.; R.S. Tiffany; W.H. Reid. 1977. Germination responses of *Agave lechuguilla*, *A. parryi*, and *Fouquieria splendens*. *The Southwestern Naturalist*. 22: 195-204.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 5ª edición. Instituto de Geografía-UNAM. México, DF. 90 p.
- García-Mendoza, A. 2002. The distribution of *Agave* (Agavaceae) in Mexico. *Cactus & Succulent Journal of America*. 74: 177-187.
- García-Pedraza, L.G.; B.I. Juárez-Flores; J.R. Aguirre-Rivera; J.M. Pinos-Rodríguez; J.F. Martínez; M.E. Santoyo. 2009. Effects of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick highfructose syrup on non-diabetic and streptozotocindiabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3: 932-940.
- Gil-Vega, K.; C. Díaz; A. Nava-Cedillo; J. Simpson. 2006. AFLP analysis of *Agave tequilana* varieties. *Plant Science*. 170: 904–909.
- Gil-Vega, K.; M. González C; O. Martínez de la Vega; J. Simpson; G. Vandemark. 2001. Analysis of genetic diversity in *Agave tequilana* var. Azul using RAPD markers. *Euphytica*. 119: 335–341.
- González-Elizondo, M.; R. Galván-Villanueva; I.L. López-Enríquez; L. Resendiz-Rojas; M.S. González-Elizondo. 2009. Agaves, magueyes, lechuguillas y noas del estado de Durango y sus alrededores. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional. Durango. México. 163 p.
- Graham, E.A.; P.S. Nobel. 1999. Root water uptake, leaf water storage and gas exchange of a desert succulent: implications for root system redundancy. *Annals of Botany*. 84: 213-223.
- Gummerson, R.J. 1986. The effect of constant temperatures and osmotic potentials on the germination of sugar beet. *Journal of Experimental Botany*. 37: 729-741.

- Heerden, P.D. R; G.H.J. Krüger. 2002. Separately and simultaneously induced dark chilling and drought stress effects on photosynthesis, proline accumulation and antioxidant metabolism in soybean. *Journal of Plant Physiology*. 159. 1077-1086.
- Huerta-Martínez, F.M.; E. García-Moya. 2004. Diversidad de especies perennes y su relación con el ambiente en un área semiárida del centro de México: implicaciones para la conservación. *Interciencia*. 29: 435-441.
- Köchy, M.; K. Tielbörger. 2007. Hydrothermal time model of germination: Parameters for 36 Mediterranean annual species based on a simplified approach. *Basic and Applied Ecology*. 8: 171-182.
- Maiti, R.K.; E. Sanchez-Arreola; P. Wesche-Ebeling; O.E. Ramirez-Bravo. 2005. Effects of different light-temperature treatments over germination responses and seedling development of some *Agave* species. *Research on Crops*. 6: 587-595.
- Nobel, P.S. 1988. *Environmental biology of agaves and cacti*. Cambridge University Press. Cambridge, NY. EU. 288 p.
- Nobel, P.S.; E. Quero; H. Linares. 1989. Root versus shoot biomass: responses to water, nitrogen and phosphorous applications for *Agave lechuguilla*. *Botanical Gazette*. 150: 411-416.
- Núñez N., L. 2001. *La producción de mezcal Bacanora, una oportunidad económica para Sinaloa*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Hermosillo, Sonora. México. 217 p.
- Palomino, G.; J. Martínez; I. Méndez. 2007. Variación inter e intraespecífica en especies de *Agave* por citometría de flujo y análisis de sus cromosomas. In: P. Colunga-GarcíaMarín; A. Larqué S.; L.E. Eguarte; D. Zizumbo-Villareal (Eds). *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves*. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. México. pp: 41-66.
- Peña-Valdivia, C.B.; A.B. Sánchez-Urdaneta. 2009. Effects of substrate water potential in root growth of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck seedlings. *Biological Research*. 42: 239-248.

- Peña-Valdivia, C.B.; A.B. Sánchez-Urdaneta; J.R. Aguirre R.; C. Trejo; E. Cárdenas; A. Villegas M. 2006. Temperature and mechanical scarification on seed germination of 'maguey' (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). *Seed Science & Technology*. 34: 47-56.
- Pimienta-Barrios, E.; C. Robles-Murguía; P.S. Nobel. 2001. Net CO₂ Uptake for *Agave tequilana* in a warm and a temperate environment. *Biotropica*. 33: 312-318.
- Pimienta-Barrios, E.; J. Zañudo-Hernández; J. García-Galindo. 2006. Fotosíntesis estacional en plantas jóvenes de *Agave tequilana*. *Agrociencia*. 40: 699-709.
- Pritchard, H.W.; A.P. Miller. 1995. The effects of constant temperatures, light and seed quality on the germination characteristics of *Agave americana*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 57: 11-14.
- Reyes A., J. A.; J. R. Aguirre R.; C. B. Peña V. 2000. Biología y aprovechamiento de *Agave lechuguilla* Torrey. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 67: 57-88.
- Ruvalcaba M., J. 1983. El maguey manso, historia y presente en Epazoyucan, Hgo. Colección cuadernos universitarios. Serie Ciencias Sociales Número 4. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco. México. 122 p.
- Sadeghian, S.Y.; N. Yavari. 2004. Effect of water-deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. *J. Agronomy & Crop Science*. 190: 138-144.
- Sánchez, E.; N. Heredia; S. García. 2005. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of *Agave* species. *International Journal of Food Microbiology*. 98: 271-279.
- Sánchez-López, A. 1989. Oaxaca tierra de maguey y mezcal. Instituto Tecnológico de Oaxaca. Oaxaca, México. 179 p.
- Schulte, P.J. 2009. Water transport processes in desert succulents plants. In: E. de la Barrera; W.K. Smith (Eds). *Perspectives in biophysical plant ecophysiology: A tribute to Parks Nobel*. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF. pp: 39-55.

- Smith, C.C.; S.D. FretWell. 1974. The optimal balance between size and number of offspring. *The American Naturalist*. 118: 860-864.
- Smith, R.L.; T.M. Smith. 2001. *Ecología*. 4a edición. Pearson Educación. Madrid. España. 642 p.
- Szabados, L.; A. Savoure. 2009. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*. 15: 89-97.
- Taiz, L.; E. Zeiger. 2006. *Plant Physiology*. 4ª edición. Sinauer Associates. Sunderland, EU. 764 p.
- Tsougkrianis, N.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo L.; J. D. Molina G. 2009. El potencial de agua del sustrato en la germinación de maíces con tolerancia y sensibilidad a la sequía. *Agricultura Técnica en México*. 35: 363-369.
- Valenzuela-Zapata, A.G. 2003. *El agave tequilero, cultivo e industria de México*. Mundi-Prensa. México, DF. 215 p.
- Valenzuela-Zapata, A.G.; G.P. Nabhan. 2003. *Tequila. A natural and cultural history*. The University of Arizona Press. Tucson. Arizona. EU. 114 p.
- Wang, R.; Y. Bai; K. Tanino. 2005. Germination of winterfat (*Eurotia lanata* (Pursh) Moq.) seeds at reduced water potentials: testing assumptions of hydrothermal time model. *Environmental and Experimental Botany*. 53: 49–63.
- Whitford, W. 2002. *Ecology of desert systems*. Academic press. San Diego, California. EU. 343 p.

1 **Anexo único. Manuscrito sometido para su publicación en la revista Plant**
2 **Species Biology**
3

PLANT SPECIES BIOLOGY

Seed germination temperatures of eight Mexican Agave species with an extensive history of human use

| | |
|-------------------------------|---|
| Journal: | <i>Plant Species Biology</i> |
| Manuscript ID: | PSB-2010-0042 |
| mstype: | Original Article |
| Date Submitted by the Author: | 03-May-2010 |
| Complete List of Authors: | Ramírez-Tobías, Hugo; Colegio de Postgraduados, Posgrado en Botánica Peña-Valdivia, Cecilia; Colegio de Postgraduados, Posgrado en Botánica Aquire, J. Rogelio; Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Instituto de Investigación de Zonas Desérticas Reyes-Aquero, J. Antonio; Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Instituto de Investigación de Zonas Desérticas Valle, Salvador; Universidad Autónoma Chapingo Sánchez-Urdaneta, Adriana; Universidad de Zulia, Venezuela, Facultad de Agronomía |
| Keywords: | Agave angustifolia ssp. tequilana, A. cupreata, A. salmiana, Aqavej spirits, seed imbibition |



4
5
6
7
8
9
10
11
12

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1 Seed germination temperatures of eight Mexican *Agave* species with an extensive history
2 of human use

3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Running title: Temperature on seed germination of *Agave* spp

Hugo M. Ramírez-Tobías¹, Cecilia B. Peña-Valdivia¹, J. Rogelio Aguirre R.², J. Antonio
Reyes-Agüero², Adriana B. Sánchez-Urdaneta³ and Salvador Valle G.⁴

¹Botánica, Colegio de Postgraduados, México; ²Instituto de Investigación de Zonas
Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México; ³Facultad de Agronomía,
Universidad de Zulia, Venezuela; ⁴Universidad Autónoma Chapingo, México.

*Botánica, Colegio de Postgraduados. km 36.5 Carretera México-Texcoco. Texcoco,
Estado de México. México. 56230. Tel. (595) 952 02 00, ext. 1313.

Corresponding authors: cecilia@colpos.mx, rthugo@colpos.com

23 **Abstract**

24 *Agave* spp. plants have been valuable as source of raw material for several human
25 supplies. Genetic diversity and wild populations are threaded by expansion of clones
26 and climatic change. Sexual reproduction is a way for increasing genetic variability;
27 however, seed germination information is scarce. Seed germination of *A. americana*
28 var. *marginata*, *A. angustifolia* ssp. *tequilhana*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A.*
29 *duranguensis*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* and *A. striata* at constant temperatures (10 to
30 40 °C) was evaluated. Initial imbibition (after the first 12 h) was significantly variable
31 among species, positively correlated with the seed weight ($r=0.6560$, $p<0.001$) and
32 increased with temperature (35% at 10 °C to 66% at 40 °C). Temperature affected
33 maximum imbibition (83 to 150%) in *A. asperrima*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* and *A.*
34 *striata*; other species averaged 110%. Germination kinetics fitted best to the logistic
35 model, and only a few treatments to Weibull model. The onset of germination
36 diminished ($p<0.05$) from 125-173 h at 15 °C to 68-84 h at 25 °C, and rose back to 84-
37 196 h at 35 °C. Mean germination rate and cumulative germination were maximum
38 (0.50-0.95% seeds h^{-1} and 85-99%, respectively) at 25 °C and decreased ($p<0.05$) near
39 to zero at 10 and 40 °C. Ten, 35 and 40 °C were partially lethal to *A. asperrima*, *A.*
40 *duranguensis* and *A. salmiana* seeds. The onset of the germination, cumulative
41 germination, and mean germination rate are described by a Gaussian distribution, with
42 optimum around 25 °C; optimum seems to be related with ecological species
43 distribution.

44

1
2
3
4
5 45 **Keywords:** *Agave angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. cupreata*, *A. salmiana*, *Agave* spirits,
6
7 46 seed imbibition.
8
9 47

10 11 12 48 **Introduction**

13
14
15 49 Maguey is the common denomination for plants belonging to the *Agave* genus; they
16
17 50 have been used in Mexico since pre-Columbian time for producing food, beverages
18
19 51 (“aguamiel”), medicine, fibers, distilled spirits and fermented drinks, like “tequila”,
20
21 52 “mescal” and “pulque” (González 1978; Gentry 1982; Charlton *et al.* 1991). At least 48
22
23 53 species and variants are used en Mexico for producing spirits (Colunga-GarcíaMarín *et*
24
25 54 *al.* 2007). Besides, these plants contain some substances used for corticosteroids
26
27 55 synthesis (Nobel 1988), phyto-fungicides (Sanchez *et al.* 2005), and several
28
29 56 miscellaneous extractives are currently used as raw material in several biotechnological
30
31 57 processes.
32
33
34
35

36 58 Some current germplasm diversity is in danger of erosion due to an expansion in
37
38 59 the cultivation of the clone, climatic change, reduction of wild populations, among other
39
40 60 factors. Sexual, asexual or both type of reproduction has been observed in ‘magueyes’,
41
42 61 depending on the species. Asexual propagation through young rhizomatous suckers
43
44 62 seems to be the most common and successful reproductive form for natural maguey
45
46 63 plant establishment (Nobel 1988; Arizaga & Ezcurra 2002), as well as in commercial
47
48 64 and household plantations, where it makes easy the agronomic handling. Besides it is
49
50 65 commonly believed that *Agave* seeds are nonviable; furthermore, it has been indicated
51
52 66 that many *Agave* species of commercial interest are only propagated by offshoots and
53
54 67 bulbils (Gentry 1982; Aguirre *et al.* 2001). It has been pointed out that reproduction by
55
56 68 seeds requires more cares and increases time for plant growth and development
57
58
59
60

1
2
3
4
5 69 (Anonymous 1988). Nevertheless, Aguirre *et al.* (2001) stated that *Agave* propagation
6
7 70 by nursery seedlings is equally favourable than by offshoots, and Barrientos *et al.*
8
9 71 (1985) determined that more than 50% of nursery seedlings of *A. salmiana* were more
10
11 72 vigorous than the offshoots used traditionally for propagation. In addition, sexual
12
13 73 reproduction assures genetic variability in cultivated plantations, and may diminish the
14
15 74 probability of damages due to pests and diseases (Valenzuela-Zapata & Nabhan 2003).
16
17 75 Experimentally, it has been verified that some *Agave* species seeds lack of dormancy
18
19 76 and reach high germination percentages on dependence to temperature, species and their
20
21 77 own environment (Freeman *et al.* 1977; Pritchard & Miller 1995; Peña-Valdivia *et al.*
22
23 78 2006). Moreover, it has been pointed out that temperature is the most important factor
24
25 79 regulating seed germination (Hilhorst 1998). Nonetheless, thermal conditions for
26
27 80 optimal *Agave* germination are described only for a few species. The objective of this
28
29 81 study was to characterize seed germination, and the effect of temperature, of eight
30
31 82 Mexican *Agave* spp. with a long history of human uses. Seed germination test was
32
33 83 carried out at constant temperature (10 to 40 °C) under laboratory conditions. The
34
35 84 hypothesis is that any difference on seed germination among species could be related
36
37 85 with temperature pattern for each region of *Agave* spp. distribution, systematic position
38
39 86 and main reproductive traits.
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

88 **Materials and Methods**

89 **Plant material**

90 Eight *Agave* species with ancestral or current commercial importance, different
91 distribution regions (including diverse climate), sexual or asexual (or both) reproduction
92 strategies and systematic position (Table 1) were studied.

93 *Agave* fruits were obtained from Mexican wild populations or alive collections,
94 during/or after physiological maturity (yellow-greenish capsules), according to
95 availability, since September 2006 to April 2007, except *Agave angustifolia* ssp.
96 *tequilana* Valenzuela-Zapata & Nabhan that was harvested on December 2007.
97 Capsules of *Agave asperrima* Jacobi, *Agave cupreata* Trelease & Berger and *Agave*
98 *salmiana* Otto ex Salm-Dick were gathered from wild populations located in Cerritos,
99 SLP, Chilapa, Gro. and La Mantequilla, SLP, respectively; and those of *Agave*
100 *lechuguilla* Torrey and *Agave striata* Zuccarini from Guadalcázar, SLP. *Agave*
101 *angustifolia* ssp. *tequilana*, *Agave americana* var. *marginata* Trelease, and *Agave*
102 *duranguesis* Gentry seeds came, the first one, from alive collections belonging to the
103 Instituto de Ciencias Agrícolas at the Universidad de Guanajuato and the Instituto de
104 Investigación de Zonas Desérticas at the Universidad Autónoma de San Luis Potosí (the
105 second two). Capsules of all *Agave* species were harvested from a single, vigorous, and
106 healthy plant, and then placed on laboratory table at low relative humidity and around
107 25°C for diminishing humidity. Finally, seeds were separated from the dehydrated fruits
108 and stored at 4±1 °C (during seven to nine months) until utilization.

109 **Seeds characterization**

110 For each species, seed humidity, volumetric weight and individual seed weight (size)
111 were obtained. Seed moisture content was determined by drying samples of 500 mg at
112 75 ± 5 °C until constant weight, and volumetric seed weight was obtained with the test-
113 tube method according to the International Seed Testing Association (ISTA 1999); in
114 both cases, five repetitions were included. Mean seed weight and frequency distribution
115 of seed weight were obtained using 300 seeds per species. Due to the seed weight
116 variability within species, only seeds within one standard deviation around the mean
117 weight for each species were used as a homogeneity criterion for germination trial. Seed
118 weight distribution of *A. angustifolia* ssp. *tequilana* and *A. duranguensis* grouped
119 around two modes. Preliminary evaluations demonstrated that seeds of both species
120 grouped around the smaller mode had very poor germination or did not germinate at all;
121 for these reason only larger seeds of both species were used.

122 **Imbibition and germination measurements**

123 Seed germination parameters were evaluated at constant temperature: 10, 15, 20, 25, 30,
124 35 and 40 °C, according to the methodology described by the Association of Official
125 Seed Analysis (AOSA 1983) and modified by Peña-Valdivia *et al.* (2002). Observations
126 were made every 12 or 24 h along 312 h; after this time, ungerminated seeds were
127 transferred to 25 °C, except *A. angustifolia* ssp. *tequilana* which after 600 h was
128 transferred to 30 °C, until they germinated or appeared contaminated.

129 Imbibition was expressed as the mean individual seed weigh increase
130 (percentage respect to the initial one) due to water absorption. Initial imbibition was that
131 corresponding to the first 12 h (IIB) and maximum imbibition (MI) was that necessary
132 for seed germination or that when imbibition rate started to decline. Also the onset of

1
2
3
4 133 germination, cumulative germination (CG) and mean germination rate (MGR) were
5
6
7 134 measured; the later was calculated using the following expression:
8

9
10
11 135
$$MGR (\text{percentage of germinated seeds } h^{-1}) = \frac{\text{Germinated seeds } (\%)/12 h}{\text{Number of 12 h periods}}$$

14 136 **Experimental design and statistical analysis**

15
16
17 137 The experiment was conducted according to a completely random design with a
18
19 138 factorial arrange of treatments. Factors and levels were: *Agave* species (*A. americana*
20
21 139 var. *marginata*, *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A.*
22
23 140 *duranguensis*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* and *A. striata*) and constant temperature of
24
25
26 141 germination (10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 °C). The experimental unit was represented
27
28 142 by a 10 seeds group and the experiment was replicated five times. Normality analysis
29
30
31 143 based on residual graphical analysis and Shapiro-Wilks test was carried out; data were
32
33 144 transformed when the assumption was not fulfilled. Statistical data treatment was
34
35 145 analysis of variance and mean multiple comparisons, and canonical correlation test
36
37
38 146 between seed and germination variables only for reactions at 25 °C, using GLM and
39
40 147 Cancorr procedures, respectively, with the SAS software for PC (SAS Institute 1999-
41
42 148 2000, version 8.1). Graphic representation of the imbibition and germination processes
43
44
45 149 against time and temperature and the selection of the best fit models were made using
46
47
48 150 SigmaPlot Jandel Scientific software (Version 10) for PC.
49

51 151 **Results and Discussion**

54 152 **Seed characteristics**

55
56
57 153 Seed humidity and seed weight differences were significant among species and they
58
59 154 seemed species dependent (Table 2). Species were grouped in four sets according to
60

1
2
3
4 155 seed humidity. *Agave asperrima*, *A. lechuguilla*, and *A. striata* had on average 2.8% less
5
6
7 156 humidity ($p > 0.05$) than *A. salmiana* and *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, with the greatest
8
9 157 humidity among all species. On the other hand, volumetric weight and seed weight
10
11 158 showed an opposite gradient. Hence, it was evident that bigger seeds had smaller
12
13 159 volumetric weights. *Agave cupreata* was the exception, since seed weight and
14
15 160 volumetric seed weight were among the higher values in the entire group. Among the
16
17 161 *Agave* species studied, seeds of *A. angustifolia* ssp. *tequilana* were the biggest, they
18
19 162 were 6.5 times greater than those of *A. striata*, which were the smallest ones (Table 2).
20
21 163 These results show the wide seed size variability among *Agave* species. Seed humidity
22
23 164 and seed weight are commonly affected by the environment (Gutterman 2000) and
24
25 165 species (Loha *et al.* 2008) interaction.
26
27
28
29
30

31 166 **Imbibition**

32
33
34 167 In spite of seed differences among species, only the first couple of canonical variables
35
36 168 including seed characteristics and seed germination parameters at 25 °C, was positive
37
38 169 and significant; among these variables, seed weight and initial imbibition had the
39
40 170 highest standardized canonical coefficients (Table 3). Thus, a positive and significant
41
42 171 correlation between seed weight and IIB was found (Fig. 1). Similar results have been
43
44 172 obtained with *Lens culinaris* (Al-Karaki 1998) and *Acacia* (Wilson & Witkowski 1998)
45
46 173 seeds; but, higher initial water uptake rates of small-seeded species, including 14
47
48 174 species, was observed (Kikusawa & Koyama 1999). These results suggest that initial
49
50 175 seed imbibition rate of *Agave* spp. could be mainly attributed to seed coat characteristics
51
52 176 (Nonogaki *et al.* 2007; Pascualides & Planchuelo 2007) and endosperm thickness
53
54 177 instead of seed size (Pascualides & Planchuelo 2007). Nonetheless, seed water uptake
55
56 178 depends also on interactions of several characteristics as seed morphology, composition,
57
58
59
60

1
2
3
4 179 and humidity; hence, it is difficult to model these relationships, and some apparently
5
6
7 180 contradictory results occur by complex interactions inside the seed (Bewley & Black
8
9 181 1994).

10
11 182 *Agave* spp. seed coats are permeable to water. Imbibition by the seeds was
12
13
14 183 common in all eight *Agave* species at temperatures between 10 and 40 °C (Fig. 2). An
15
16 184 accelerated initial phase was followed by a plateau or a decrease of water uptake. High
17
18 185 differences between water potential of seminal tissues and germination environment
19
20
21 186 drives the influx of water into the cells of dry seeds (Table 2) (Bewley & Black 1994).
22
23 187 The rate of water uptake increased with temperature. Accelerate imbibition happened
24
25
26 188 during the first 48 h at 30 °C or higher temperature. In contrast, the lowest temperatures
27
28 189 slowed down the imbibition rate; therefore, accelerated phase lasted 100 or more hours
29
30
31 190 (Fig. 2). The relationship between water uptake rate and temperature was documented
32
33 191 and modelled by Vertucci and Leopold (1987); these researchers stressed that the rate of
34
35 192 water diffusion into the seed depends of water viscosity, and that water viscosity is
36
37 193 inversely related to temperature (Vertucci & Leopold 1983).

38
39
40 194 Initial seed imbibition increased linearly with temperature in all species, the
41
42 195 exception was *A. striata* which followed a sigmoid trend. Temperature effect on the
43
44 196 initial imbibition was highest in *A. asperrima* and *A. lechuguilla*, and was lowest in *A.*
45
46 197 *angustifolia* ssp. *tequilana*. The initial imbibition of *A. striata* was constant, with values
47
48 198 around 40% between 10 and 30 °C, but increased significantly at 35 °C and reached
49
50 199 73% at 40 °C (Fig. 3). Some differences on initial imbibition among species can also be
51
52 200 explained by the initial seed water content (Bewley & Black 1994). However, some
53
54 201 contrasts were observed; *A. lechuguilla* had significantly lower initial imbibition to *A.*
55
56 202 *striata* even to the similar humidity, and a similar contrast between *A. angustifolia* ssp.
57
58
59
60

1
2
3
4 203 *tequilana* and *A. salmiana* was observed (Fig. 3). Nevertheless, at least partially, the
5
6 204 imbibition rate, expressed as initial imbibition, was seed size dependent, as was pointed
7
8
9 205 out by Kikusawa and Koyama (1999), was modified by temperature (Leopold 1983) and
10
11 206 varied as the significant contribution of the interaction between species and temperature.
12

13
14 207 Mean maximum imbibition was significantly different among species and within
15
16 208 species, and it was temperature dependent. However, it is possible to group the *Agave*
17
18 209 spp. in three according to this variable: highest MI (*A. asperrima* and *A. duranguensis*)
19
20 210 with 128%; middle MI (*A. angustifolia* ssp. *tequilana*, *A. cupreata*, *A. salmiana* and *A.*
21
22 211 *striata*) with 113%; and lower MI (*A. americana* and *A. lechuguilla*) with 98% (Fig. 2).
23
24

25
26 212 Maximum imbibition of *A. americana*, *A. cupreata* and *A. duranguensis* was
27
28 213 significantly similar between 15 and 35 °C. In contrast, seeds of the other five species
29
30 214 achieved MI significantly different among all temperatures (e.g. between 10 and 40 °C)
31
32 215 (Fig. 2). Peña-Valdivia *et al.* (2006) observed in *A. salmiana* that seed size was
33
34 216 negatively related to maximum imbibition. Nevertheless, in the present investigation,
35
36 217 including a wider gradient of seed size (Table 2), a similar relationship was not
37
38 218 observed. Genetic differences (Triboi & Triboi-Blonde 2002) and the interactions with
39
40 219 these and temperature (Leopold 1983) could explain the water uptake differences
41
42 220 between species.
43
44
45
46
47

48 221 **Germination**

49
50 222 It was observed that *A. americana*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A. duranguensis*, *A.*
51
52 223 *lechuguilla*, *A. salmiana* and *A. striata* lack seed dormancy (Fig. 4). Similar results have
53
54 224 been reported in *A. lechuguilla* (Freeman *et al.* 1977), *A. americana* (Pritchard & Miller
55
56 225 1995), *A. attenuate*, *A. jarcia* and *A. victoria-reginae* (Maiti *et al.* 2005), and three *A.*
57
58 226 *salmiana* variants (Peña-Valdivia *et al.* 2006). Lack of dormancy contrasts with the
59
60

1
2
3
4 227 widespread vegetative reproduction of these species, the huge reproductive effort
5
6
7 228 expressed by semelparity and the great number of small seeds produced (Arizaga &
8
9 229 Ezcurra 2002). However, the lack of dormancy and massive seed production of viable
10
11 230 small seeds encourage seedling emergence in large numbers of individuals, and provide
12
13
14 231 a strategy to maximize the successful regeneration of sexually propagated plants.

15
16 232 The germination time course of all *Agave* species at each constant temperature
17
18 233 increased with the logistic model as the best fitted trend (Fig. 4), with r^2 between 0.7305
19
20 234 and 0.9839. Most species at 10 and 40 °C, and *A. salmiana* also at 35 °C, were the
21
22 235 exceptions to this trend. Similarly, Peña-Valdivia *et al.* (2006) reported that cumulative
23
24 236 germination of three *A. salmiana* variants, *e.g.* Blanco, Chino, and Liso, also fitted best
25
26 237 to a logistic model. Besides, Weibull model fitted best ($r^2=0.9467$) germination time
27
28 238 course of *A. americana* at 20 and 25 °C, *A. lechuguilla* at 15 and 20 °C, *A. salmiana* at
29
30 239 20 °C, *A. striata* at 20 and 25 °C, and *A. cupreata* at 30 °C. Empirical models, like
31
32 240 logistic and Weibull, have been used for describing biological processes, like
33
34 241 germination. Both models include parameters that could represent CG, the MGR, and
35
36 242 the onset of germination. Besides, the Weibull model includes another parameter related
37
38 243 with the asymmetric trend, which shows this a more flexible model than the symmetric
39
40 244 logistic distribution (Brown & Meyer 1988).

41
42 245 The maximum CG percentage of seeds of all *Agave* species reached 91% at 25
43
44 246 °C except for *A. angustifolia* ssp. *tequilana*. Seeds of *A. lechuguilla* and *A. striata*
45
46 247 reached the maximum CG in 90 h, *A. americana* and *A. salmiana* in 120 h, and *A.*
47
48 248 *asperima*, *A. cupreata* and *A. duranguensis* in 150 h (Fig. 4). Then, *Agave* seeds
49
50 249 germination in the natural habitat could occur at around 25 °C. Indeed, it has been
51
52 250 documented that *Agave* seeds germination occurs in protected microhabitats, during
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 251 rainy and cloudy periods, with adequate soil water retention and soil temperature around
5
6 252 25 °C (Freeman *et al.* 1977; Jordan & Nobel 1979). In contrast to the other seven
7
8 253 species, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* did not germinate at low (10-20 °C) or high (40
9
10 254 °C) temperature, and the cumulative germination reached only 7-26% after 320 h
11
12 255 between 25 and 35 °C (Fig. 4). One possible reason for low seed germination of this
13
14 256 *Agave* species is that it seems to be a sterile polyploid that rarely or never set viable
15
16 257 seeds (Gentry 1982) due to a high proportion of sterile pollen (Ruvalcaba & Rodriguez
17
18 258 2002). Seed dormancy could be another reason of low seed germination, including
19
20 259 differences in embryo maturity (Murdoch & Ellis 2000).

21
22
23
24
25
26 260 In general, according to the curve model main changes recorded the cumulative
27
28 261 germination pattern of *Agave* seeds was altered by temperature, at higher and lower
29
30 262 temperatures, and at 35 °C. According to species, germination was partially inhibited at
31
32 263 10 and 40 °C. Thus at 10 °C, *A. asperrima*, *A. lechuguilla* and *A. striata*, and at 40 °C, *A.*
33
34 264 *cupreata*, *A. duranguensis* and *A. salmiana* had cumulative germination curves with a
35
36 265 very short lag phase. Beside, the former group did not germinate at 40 °C, the last group
37
38 266 at both 10 °C and 40 °C (Fig. 4). These results allow postulating that each *Agave* species
39
40 267 has a thermal window, in which seeds are capable of full germination, and, in general,
41
42 268 lower and higher temperatures totally inhibit the germination.

43
44
45
46
47 269

50 270 **Onset of germination**

51
52
53 271 Three different patterns of the onset of germination depending on the temperature were
54
55 272 obtained among the species: (1) as a inverted parabolic shape for *A. angustifolia* ssp.
56
57 273 *tequilana*, with a minimum of 206 h at 30 °C and two maximum (280 h in average) at
58
59 274 25 and 35 °C to the onset of germination; (2) as a linear trend with negative slope for *A.*

1
2
3
4 275 *duranguensis*, with the onset of germination diminishing from 158 h at 15 °C to 84 h at
5
6 276 35 °C; and (3) as an inverted bell-shaped curve with 77 h to the onset of germination
7
8 277 which was doubled at 15 and 35 °C. Two subgroups were identified in the last group,
9
10 278 one (*A. asperrima*, *A. cupreata*, *A. lechuguilla* and *A. salmiana*) with a specific
11
12 279 temperature and another (*A. americana* and *A. striata*) with a range of temperature
13
14 280 between 25 °C and 30 °C to the onset of germination. Thus, a gradient of temperature
15
16 281 between species to start germination was evident; *e.g.* 23 °C for *A. salmiana*, 26 °C for
17
18 282 *A. asperrima*, *A. cupreata* and *A. lechuguilla*, 28 °C for *A. americana* and *A. striata*, and
19
20 283 30 and 35 °C for *A. angustifolia* ssp. *tequilana* and *A. duranguensis*, respectively (Fig.
21
22 284 5A).

285 **Mean germination rate (MGR)**

286 The relationship between temperature and MGR in *Agave* seeds followed bell-shaped
287 trend with maximum around 25 °C and minimum, near to zero, at 10 and 40 °C except
288 *A. angustifolia* ssp. *tequilana* that had MGR at 30 °C. The MGR varied significantly
289 among species, it ranged from 0.15 to 1.0 seeds per h at the optimal temperature.
290 However, most differences disappeared at 10 °C and 40 °C. The results demonstrated
291 that MGR of *A. asperrima*, *A. cupreata* and *A. duranguensis* were significantly similar
292 (0.5 seeds h⁻¹) and it was an a half of MGR of *A. americana* ($p < 0.05$). Germination of
293 *A. lechuguilla*, *A. salmiana*, *A. asperrima* and *A. striata* was more affected by heat than
294 cold, since MGR dropped drastically at temperatures higher than 25-35 °C but slightly
295 at 25-15 °C. Temperature for maximum MGR of *A. cupreata*, *A. duranguensis*, *A.*
296 *lechuguilla*, *A. salmiana* and *A. asperrima* was around 25°C; whereas, for *A. americana*
297 was warmer (25 to 30 °C) and for *A. striata* was cooler (20 to 25 °C). *Agave lechuguilla*,
298 *A. americana*, *A. striata*, and *A. salmiana* had similar ($p > 0.05$) MGR (0.83%

1
2
3
4 299 germinated seeds h⁻¹) at 25 °C, but significantly higher than those of the other four
5
6
7 300 species, while, *A. angustifolia* ssp. *tequilana* had the lowest MGR value among all
8
9 301 species (0.1% germinated seeds h⁻¹) (Fig. 5B).

10
11 302 *Agave striata* reacted differently to temperature than the other seven species. The
12
13 303 MGR was similar ($p>0.05$) in a wide range (15-30 °C) of temperature; in contrast, the
14
15 304 MGR of the other seven species changed drastically in the same range (Fig. 5B). Small
16
17 305 seed size could be in part the reason for successfully germination of *A. striata* in the
18
19 306 laboratory conditions (Table 2). According to Leishman *et al.* (2000) the probability of
20
21 307 seedling establishment is inversely related with seed size. Therefore, a small seeded
22
23 308 species, as *A. striata*, increase seedling production to assure its survivorship (Smith &
24
25 309 Fretwell 1974). Differences between germination characteristics of *A. striata* and the
26
27 310 other seven *Agave* species (Fig. 3 and Fig. 5B) seems to be related with genetic
28
29 311 differences identified using molecular DNA analysis (Gil-Vega *et al.* 2007). In fact, *A.*
30
31 312 *striata* is one of the primitive species of the *Littaea* subgenus and its current
32
33 313 classification is questioned because is a polycarpic species and generates shoots by
34
35 314 axillary branching (Gentry, 1982).

315 **Cumulative germination (CG)**

316 Differences on CG among species could be effect of seeds maturity under
317
318 contrasting environmental conditions (Gutterman 2000). Some levels of seed water
319
320 content can generate dormancy (Bewley & Black 1994). In the present study *A.*
321
322 *angustifolia* ssp. *tequilana* and *A. salmiana* had the highest seed water content (Table
2), but the later did not show dormancy. Low germination can be one of the reasons
why *A. angustifolia* ssp. *tequilana* is propagated mainly by bulbils and rhizomatous
suckers (Valenzuela-Zapata & Nabhan 2003). In our experimental conditions, 30 °C was

1
2
3
4 323 the optimal temperature for *A. angustifolia* ssp. *tequilana* germination (Fig. 5). The high
5
6 324 economic importance of this species allows recommending continuing studying it to
7
8 325 recognize optimal conditions for germination and multiplication, as well as to contrast
9
10 326 samples with diverse geographic origin, ripeness, or pre-germinative treatments.
11
12

13
14 327 Each species had an optimal temperature or an optimum temperature interval to
15
16 328 reach CG. At each optimal temperature CG reached more than 90% and it was
17
18 329 significantly similar between species, except *A. angustifolia* ssp. *tequilana*. Besides,
19
20 330 germination of all species was partially or totally inhibited at the lowest and highest
21
22 331 temperatures. This means that CG in *A. americana*, *A. salmiana*, *A. lechuguilla* and *A.*
23
24 332 *striata* occurred with a symmetrical bell-shaped trend and in a wide temperature range;
25
26 333 in *A. cupreata*, *A. duranguensis* and *A. angustifolia* ssp. *tequilana* occurred also with a
27
28 334 symmetrical bell-shaped trend but with only a specific optimal temperature; and in *A.*
29
30 335 *asperrima* occurred with an asymmetrical bell-shaped trend with a wide range of
31
32 336 temperature (14-32 °C). This later interval, and those of *A. americana* and *A. salmiana*,
33
34 337 from 17 to 32 °C and 17 to 27 °C, respectively, overlap or include the CG optimal
35
36 338 temperature for some of the other species. Among all eight species, *A. asperrima* clearly
37
38 339 reached the CG at a low temperature (25 °C) than *A. cupreata* (30 °C) (Fig. 5C).
39
40
41
42
43

44 340 These results indicate that seeds of some *Agave* species reach the maximum
45
46 341 cumulative germination (CG) in a very narrow thermal window or even a single specific
47
48 342 temperature; while, other *Agave* species are cosmopolite, and reach maximum CG at a
49
50 343 very wide thermal window. The existence of thermal window for several crop species
51
52 344 (Bewley & Black 1994) and *Agave* spp. (Freeman *et al.* 1977; Pritchard & Miller 1995;
53
54 345 Peña-Valdivia *et al.* 2006) has been described. Optimal thermal range to maximum CG
55
56 346 could be related with the ecological and geographic distribution of the *Agave* species,
57
58
59
60

1
2
3
4 347 level of “humanization” and some cytogenetic characteristics. Thus, *A. americana*, *A.*
5
6 348 *lechuguilla*, *A. salmiana* and *A. striata* reached the maximum CG within different
7
8 349 ranges of temperature, between 15 and 33 °C. These results indicates, that among the
9
10 350 eight species, seeds of *A. lechuguilla* seems to have the highest adaptation and reach
11
12 351 high percentage of germination independently of environment temperature, within the
13
14 352 range of 25 and 37 °C. Remarkably, *A. lechuguilla* is one of the *Agave* species with the
15
16 353 widest geographic distribution and abundance in its own communities(Gentry 1982),
17
18 354 and it is adapted to an ample range of temperatures (Reyes-Agüero *et al.* 2000) (Table
19
20 355 1). Probably, humanization (Gentry 1982; Aguirre *et al.* 2001; CONABIO 2006) and
21
22 356 polyploidy (Granick 1944; García-Mendoza 2007) of *A. americana* and *A. salmiana* can
23
24 357 amplify adaptation capability of these species. Thus, *A. americana* grows in dry or cool
25
26 358 climates and on different types of soils, where it has been dispersed by man (Gentry
27
28 359 1982; CONABIO 2006). Besides, the maximum CG of *A. salmiana* seeds occurred at
29
30 360 temperatures relatively low (17 to 26 °C) (Fig. 5C), in the range of mean annual
31
32 361 temperature of temperate and semi-warm environment where this species is distributed
33
34 362 (Aguirre *et al.* 2001). Similarly, the optimum temperature to reach maximum CG in *A.*
35
36 363 *asperrima* and *A. cupreata* (Fig. 5C) was coincident with the mean annual temperature
37
38 364 of the characteristic climatic on their distribution region, 12-18 °C and >18 °C,
39
40 365 respectively (Table 1). *Agave asperrima* is commonly located in valleys, plains and
41
42 366 slopes in Durango and San Luis Potosí, México (Gentry 1982); regionally is named
43
44 367 “maguey de cerro” or “maguey serrano” (Gentry, 1982; Aguirre *et al.*, 2001), which
45
46 368 seems to be related with this species distribution at high altitudes and temperate
47
48 369 environments; in contrast *A. cupreata* is most commonly distributed in warm zones
49
50 370 (Table 1).
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5 371 Genetic characteristics could help explain differences in seed germination of
6
7 372 *Agave* species. Gene activation codifying for enzymes related with the weakening of
8
9 373 structures to allow emergency and embryo expansion has been suggested (Bradford *et*
10
11 374 *al.* 2000). On this matter, Cantliffe *et al.* (2000) found that endo- β -mananase, an
12
13 375 enzyme involved in relaxing endosperm to embryo penetration during germination, was
14
15
16 376 abundantly and scarcely produced in heat tolerant and heat susceptible lettuce
17
18 377 genotypes, respectively. A similar result of whole seed germination, as a reaction to
19
20
21 378 experimental environment could happen among *Agave* species.

22 23 24 379 **Inhibition of Germination**

25
26
27 380 Cold and heat inhibited germination, including 15 and 35 °C, although germination was
28
29 381 drastically inhibited at 10 and 40 °C in different proportion between species (Fig. 6).
30
31 382 Nevertheless, cold and heat did not damage the *Agave* seeds under germination
32
33 383 conditions; seeds which did not germinate after 310 h at extreme temperatures were
34
35 384 transferred at 25 °C, or at 30 °C for *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, and the CG of six
36
37
38 385 species reached maximum values (Fig. 6). These results confirm that embryo in most
39
40 386 seeds of *Agave* species tolerates combination of extreme temperature and high humidity
41
42 387 for several days and they remain quiescent (Murdoch & Ellis 2000). Peña-Valdivia *et*
43
44 388 *al.* (2006) reported similar results in several *A. salmiana* variants; and it has also been
45
46
47 389 documented for some other species (Bewley & Black 1994; Probert 2000). Besides, the
48
49 390 results corroborate the temperature importance as an environmental factor regulating
50
51 391 germination and dormancy (Baskin & Baskin 1988; Hilhorst 1998). Such regulation of
52
53 392 germination has ecological repercussion at the beginning of seedling establishment
54
55
56 393 because suitable environmental conditions are required (Probert 2000).
57
58
59
60

1
2
3
4 394 Extreme temperatures were somewhat lethal for *A. asperrima*, *A. duranguensis*
5
6
7 395 and *A. salmiana* seeds; the second one was damaged by cold and heat, while *A.*
8
9 396 *asperrima* and *A. salmiana* were affected only by heat (Fig. 6). Bewley and Black
10
11 397 (1994) indicated that seed damage due to extreme temperatures results of modifications
12
13 398 of seed water absorption during germination, as it was observed in lettuce seeds (Hall,
14
15 399 2001). This effect resulted, in part, because low temperatures increased rigidity of cell
16
17 400 membranes (Öpik & Rolfe 2006), on the contrary high temperatures increase cell
18
19 401 membrane fluidity, modifying membranes permeability and taking place solute leakage
20
21 402 (Murphy & Noland 1981). In both cases, cells undergo deterioration; however, tolerance
22
23 403 to any of these conditions can be related to genetic differences among species. Seed
24
25 404 death also occurred as a result of proteins denaturalization due to high temperatures,
26
27 405 conducting to cellular disturbances and metabolic abnormalities (Öpik & Rolfe 2006).
28
29
30
31
32
33

34 406 **Conclusions**

35
36 407 *Agave* seeds are water permeable. Seed imbibition speed correlates positively with seed
37
38 408 weight and is stimulated by temperature at different rates among species. Water for the
39
40 409 germination starting (maximum imbibition) fluctuates between *Agave* species and is
41
42 410 affected by temperature.
43
44

45
46 411 In general, *Agave* species lack dormancy; although, some exceptions could exist,
47
48 412 like *A. angustifolia* ssp. *tequilana*. Germination occurs mostly at one temperature or at
49
50 413 an optimal thermal range apparently related to the origin environment of each species.
51
52 414 Seeds at chilling and hot temperatures express quiescence; besides, some species, like
53
54 415 *A. duranguensis*, *A. salmiana* and *A. asperrima* are more affected by extreme
55
56 416 temperatures and embryo mortality may occur.
57
58
59
60

1
2
3
4 417 **Acknowledgments**
5

6
7 418 The Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (México) provided a grant for first
8
9 419 author in order to carry out doctoral studies.
10

11
12
13 420 **References**
14

- 15 421 Aguirre J. R., Charcas H. & Flores J. L. (2001) *El Maguey Mezcalero Potosino*.
16
17 Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología-Universidad Autónoma de San Luis
18 422 Potosí, San Luis Potosí, México.
19
20 423
21
22 424 Al-Karaki G. N. (1998) Seed size and water potential effects on water uptake,
23
24 germination and growth of lentil. *Journal of Agronomy & Crop Science* **181**: 237-
25 425 242.
26
27
28
29 427 Anonymous. (1988) *El Maguey: Árbol de las Maravillas*. Museo Nacional de Culturas
30
31 Populares, México.
32 428
33
34 429 AOSA. (1983) *Seed Vigor Testing Handbook*. Contribution No. 32. Association of
35
36 Official Seed Analysis.
37 430
38
39 431 Arizaga S. & Ezcurra E. (2002) Propagation mechanisms in *Agave macroacantha*
40
41 (Agavaceae), a tropical arid land succulent rosette. *American Journal of Botany*
42 432 **89**: 63-641.
43
44
45
46 434 Barrientos F. P., Villegas M. A. & Vázquez R. A. (1985) Métodos de propagación de
47
48 agaves. In: Cruz C., Castillo L., Robert M. & Ondarza R. N. (eds). *Biología y*
49 435 *Aprovechamiento Integral del Henequén y otros Agaves*. Centro de Investigación
50 436 Científica de Yucatán, A.C., Mérida, México, pp. 91–96.
51
52
53 437
54
55 438 Baskin C. C. & Baskin J. M. (1988) Germination ecophysiology of herbaceous plant
56
57 species in a temperate region. *American Journal of Botany* **75**: 286-305.
58
59
60

- 1
2
3
4 440 Bewley J. D. & Black M. (1994) *Seeds. Physiology of Development and Germination*.
5
6
7 441 2nd edition. Plenum press, New York.
8
9 442 Bradford K. J. (1990) A water relations analysis of seed germination rates. *Plant*
10
11 443 *Physiology* **94**: 840-849.
12
13 444 Bradford K. J., Chen F., Cooley M. B., Dahal P., Downie B., Fukunaga K. K., Gee O.
14
15 445 H., Gurusinge S., Mella R. A., Nonogaki H., Wu C-T., Yang H. & Yim K-O.
16
17 446 (2000) Gene expression prior to radicle emergence in imbibed tomato seeds. In:
18
19 447 Black M., Bradford K. J. & Vazquez-Ramos J. (eds). *Seed biology: Advances and*
20
21 448 *Applications*. CABI, Wallingford, UK, pp. 231-251.
22
23 449 Brown R. F. & Mayer D. G. (1988) Representing cumulative germination. 2. The use of
24
25 450 weibull function and other empirically derived curves. *Annals of Botany* **61**: 127-
26
27 451 138.
28
29 452 Cantliffe D. J., Nascimento W. M. & Huber S. D. J. (2000) Lettuce endosperm
30
31 453 weakening: a role for endo- β -mannanase in seed germination at high temperature.
32
33 454 In: Black M., Bradford K. J. & Vazquez-Ramos J. (eds). *Seed biology: Advances*
34
35 455 *and Applications*. CABI, Wallingford, UK, pp. 277-286.
36
37 456 Charlton T.H., Nichols D.L. & Charlton C.O. 1991. Aztec craft production and
38
39 457 specialization: archeological evidence from the city-state of Otumba, Mexico.
40
41 458 *World Archeology* **23**: 98-114.
42
43 459 Colunga-GarcíaMarín P., Zizumbo-Villareal D. & Martínez-Torres J. (2007)
44
45 460 Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: una aportación a la
46
47 461 protección legal y conservación de su diversidad biológica y cultural. In: Colunga-
48
49 462 GarcíaMarín P, Larqué S. A., Eguiarte L. E. & Zizumbo-Villareal D. (eds). *En lo*
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 463 *Ancestral hay Futuro: del Tequila, los Mezcales y otros Agaves*. Centro de
5
6
7 464 Investigación Científica de Yucatán, AC. Mérida, Yucatán, México, pp. 229-248.
8
9 465 CONABIO. (2006) *Mezcales y Diversidad*. 2nd edition. Comisión Nacional para el
10
11 466 Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.
12
13
14 467 Freeman C. E., Tiffany R. S. & Reid W. H. (1977) Germination responses of *Agave*
15
16 468 *lechuguilla*, *A. parryi*, and *Fouquieria splendens*. *Southwestern Naturalist* **22**: 195-
17
18 469 204.
19
20
21 470 García E. (2004) *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*. 5th
22
23 471 edition. Instituto de Geografía-UNAM, México.
24
25
26 472 García-Mendoza A. (2007) Los agaves de México. *Ciencias* **87**:15-23.
27
28 473 Gentry H. S. (1982) *Agaves of Continental North America*. The University of Arizona
29
30 474 Press, Tucson.
31
32
33 475 Gil-Vega K., Díaz-Quezada C. E., Nava-Calvillo A., García-Mendoza A. & Simpson J.
34
35 476 (2007) Análisis AFLP del género *Agave* refleja la clasificación taxonómica basada
36
37 477 en caracteres morfológicos y otros métodos moleculares. In: Colunga-
38
39 478 GarcíaMarín P., Larqué A., Eguiarte L.E. & Zizumbo-Villareal D. (eds). *En lo*
40
41 479 *Ancestral hay Futuro: del Tequila, los Mezcales y otros Agaves*. Centro de
42
43 480 Investigación Científica de Yucatán, AC Mérida, México, pp. 23-39
44
45
46
47 481 González L. (1978) Origen de la domesticación de los vegetales en México. In Lorenzo
48
49 482 J.L. (coord). *Historia de México, Tomo 1, Medio Ambiente y Primeras Etapas*.
50
51 483 Salvat, México, pp. 77-92.
52
53
54 484 Granick E. B. (1944) A karyosystematic study of the genus *Agave*. *American Journal of*
55
56 485 *Botany* **31**: 283-298.
57
58
59
60

- 1
2
3
4 486 Gutterman Y. (2000) Maternal effects on seeds during development. In Fenner M. (ed).
5
6
7 487 *Seeds: the Ecology of Regeneration in Plant Communities*. 2nd edition. CABI
8
9 488 Publishing, New York, pp. 59-84.
10
11 489 Hall A. E. (2001) *Crop Responses to Environment*. CRC Press LLC, New York.
12
13 490 Hilhorst H. W. M. (1998) The regulation of secondary dormancy: the membrane
14
15 491 hypothesis revised. *Seed Science Research* **8**: 77-90.
16
17 492 Illsley C., Vega E., Pisanty I., Tlacotempa A., García P., Montes P., Rivera G., García
18
19 493 J., Jiménez V., Castro F. & Calzada M. (2007) Maguey papalote: hacia el manejo
20
21 494 sustentable de un recurso colectivo en el trópico seco de Guerrero. In: Colunga-
22
23 495 GarcíaMarín P., Larqué A., Eguiarte L.E. & Zizumbo-Villareal D. (eds). *En lo*
24
25 496 *Ancestral hay Futuro: del Tequila, los Mezcales y otros Agaves*. Centro de
26
27 497 Investigación Científica de Yucatán, AC. Mérida, México, pp. 319-338.
28
29 498 ISTA. (1999) *International Rules for Seed Testing*. International Seed Testing
30
31 499 Association, Zurich, Switzerland.
32
33 500 Jordan P.W. & Nobel P.S. (1979) Infrequent establishment of seedlings of *Agave deserti*
34
35 501 (Agavaceae) in the northwestern Sonoran desert. *American Journal of Botany* **66**:
36
37 502 1079-1084.
38
39 503 Kikusawa K. & Koyama H. (1999) Scaling soil water absorption by seeds: an experiment
40
41 504 using seed analogues. *Seed Science Research* **9**: 171-178.
42
43 505 Leishman M. R., Wright I. J., Moles A. T. & Westoby M. (2000) The evolutionary
44
45 506 ecology of seed size. In: Fenner M. (ed). *Seeds: the Ecology of Regeneration in*
46
47 507 *Plant Communities*. 2nd edition. CABI Publishing, New York, pp. 31-58.
48
49 508 Leopold C. A. (1983) Volumetric components of seed imbibition. *Plant Physiology* **73**:
50
51 509 677-680.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 510 Loha A., Tigabu M. & Fries A. (2008) Genetic variation among and within populations
5
6
7 511 of *Cordia africana* in seed size and germination responses to constant
8
9 512 temperatures. *Euphytica* **165**:189–196
10
11 513 Maiti R. K., Sanchez-Arreola E., Wesche-Ebeling P. & Ramirez-Bravo O. E. (2005)
12
13 514 Effects of different light-temperature treatments over germination responses and
14
15 515 seedling development of some *Agave* species. *Research on Crops* **6**: 587-595.
16
17 516 Murdoch A. J. & Ellis R. H. (2000) Dormancy, viability and longevity. In: Fenner M.
18
19 517 (ed). *Seeds: the Ecology of Regeneration in Plant Communities*. 2nd edition.
20
21 518 CABI Publishing, New York, pp. 183-214.
22
23 519 Murphy J. B. & Noland T. L. (1981) Temperature effects on seed imbibition and
24
25 520 leakage mediated by viscosity and membranes. *Plant Physiology* **69**: 428-431.
26
27 521 Nobel P. S. (1988) *Environmental biology of agaves and cacti*. Cambridge University
28
29 522 Press, New York.
30
31 523 Nonogaki H., Chen F. & Bradford K. J. (2007) Mechanisms and genes involved in
32
33 524 germination *sensu stricto*. In Bradford K. J. & Nonogaki H. (eds). *Seed*
34
35 525 *development, dormancy and germination*. Blackwell Publishing Ltd, Ames, USA,
36
37 526 pp. 264-304.
38
39 527 Öpik H. & Rolfe S. A. (2006) *The physiology of flowering plants*. 4th edition.
40
41 528 Cambridge University Press, Cambridge, UK.
42
43 529 Pascualides A. L. & Planchuelo A. M. (2007) Seed morphology and imbibition pattern
44
45 530 of *Crotalaria juncea* L. (Fabaceae). *Seed Science & Technology* **35**: 760-764(5).
46
47 531 Peña-Valdivia C. B., Sánchez-Urdaneta A. B., Aguirre J. R., Trejo C., Cárdenas E. &
48
49 532 Villegas A. (2006) Temperature and mechanical scarification on seed germination
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3
4 533 of 'maguey' (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). *Seed Science & Technology*
5
6 534 **34**: 47-56.
7
8
9 535 Peña-Valdivia C. B., García R., Aguirre J. R. & Trejo C. (2002) The effects of high
10
11 536 temperature on dormancy and hypocotyl-root growth of wild common bean
12
13 537 (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Science & Technology* **30**: 231-248.
14
15
16 538 Pritchard H. W. & Miller A. P. (1995) The effects of constant temperatures, light and
17
18 539 seed quality on the germination characteristics of *Agave americana*. *Boletín de la*
19
20 540 *Sociedad Botánica de México* **57**: 11-14.
21
22
23 541 Probert R. J. (2000) The role of temperature in the regulation of the seed dormancy and
24
25 542 germination, In: Fenner M. (ed). *Seeds: the Ecology of Regeneration in Plant*
26
27 543 *Communities*. 2nd edition. CABI Publishing, New York, pp. 261-292.
28
29
30 544 Reyes-Agüero J. A., Aguirre J. R., & Peña-Valdivia C. B. (2000) Biología y
31
32 545 aprovechamiento de *Agave lechuguilla* Torrey. *Boletín de la Sociedad Botánica*
33
34 546 *de México* **67**: 57-88.
35
36
37 547 Ruiz-Corral J. A., Pimienta-Barrios E. & Zañudo-Hernández J. (2002) Optimal and
38
39 548 marginal thermal regions for the cultivation of *Agave tequilana* on the Jalisco
40
41 549 state. *Agrociencia* **36**: 41-53.
42
43
44 550 Ruvalcaba D. & Rodríguez B. (2002) Aberrant meiotic behavior in *Agave tequilana*
45
46 551 Weber var. Azul. *BMC Plant Biology* **2**: 10-14.
47
48
49 552 Sanchez E., Heredia N. & García S. (2005) Inhibition of growth and mycotoxin
50
51 553 production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of *Agave*
52
53 554 species. *International Journal of Food Microbiology* **98**: 271-279.
54
55
56 555 SAS. (1999-2000) *SAS User's Guide: Statistics*. Version 6. SAS Institute Inc, Cary,
57
58 556 USA.
59
60

- 1
2
3
4 557 Smith C. C. & Fretwell S. D. (1974) The optimal balance between size and number of
5
6
7 558 offspring. *American Naturalist* **118**: 860-864.
8
9 559 Triboi E. & Triboi-Blonde A. M. (2002) Productivity and grain or seed composition: a
10
11 560 new approach to an old problem -invited paper-. *European Journal of Agronomy*
12
13 561 **16**: 163-186.
14
15
16 562 Valenzuela-Zapata A. G. & Nabhan G. P. (2003) *Tequila: a Natural and Cultural*
17
18 563 *History*. The University of Arizona Press, Tucson.
19
20
21 564 Vertucci C. W. & Leopold A. C. (1983) Dynamics of imbibition by soybean embryos.
22
23 565 *Plant Physiology* **72**: 190-193.
24
25
26 566 Vertucci C. W. & Leopold A. C. (1987) Water binding in legume seeds. *Plant*
27
28 567 *Physiology* **85**: 224-231.
29
30
31 568 Wilson T. B. & Witkowski E. T. F. (1998) Water requirements for germination and
32
33 569 early seedling establishment in four African savanna woody plant species. *Journal*
34
35 570 *of Arid Environments* **38**: 541-550.
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Tables

Table 1. Reproduction, average temperatures from the origin climate and vegetation plant community of *Agave* species included in the present study†

| Subgenus | Group | Species | Main reproduction forms | Temperature (°C) | | | Vegetation type |
|----------------|-------------------|---|-----------------------------------|--|------------------|---------------------|--|
| | | | | AA [§] | ACM [¶] | AHM [□] | |
| <i>Littaea</i> | <i>Marginatae</i> | <i>A. lechuguilla</i> | Rhizomatous offshoots and seeds | -3 to 22 | > -3 | w.e.l. [□] | Xerophytic rosette shrubland |
| | <i>Striatae</i> | <i>A. striata</i> | Seeds and axillary branching | 18 to 22 | <18 | w.e.l. | Xerophytic rosette shrubland |
| <i>Agave</i> | <i>Americanae</i> | <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> | Rhizomatous offshoots and seeds | Diverse ranges of temperature due to dispersion of man | | | Artificial habitats and ornamental |
| | <i>Americanae</i> | <i>A. asperrima</i> | Rhizomatous offshoots and seeds | 12 to 18 | -3 to 18 | <18 | Piedmont scrub and xerophytic shrubland |
| | <i>Crenatae</i> | <i>A. cupreata</i> | Seeds | 18 to 22 | >18 | w.e.l. | Pine and oak forest |
| | <i>Ditpetalae</i> | <i>A. durangensis</i> | Rhizomatous offshoots and seeds | 12 to 18 | -3 to 18 | <18 | Xerophytic shrubland, open pine, and oak forest |
| | <i>Rigidae</i> | <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> [‡] | Bulbils and rhizomatous offshoots | >18 | <18 | >22 | Tropical deciduous forest and plantations |
| | <i>Salmianae</i> | <i>A. salmiana</i> Chino variant | Rhizomatous offshoots and seeds | 12 to 22 | -3 to 18 | >18 | Succulent shrubland and mycophyllous dry shrubland |

† Based on: Gentry (1982); Aguirre *et al.* (2001); Ruiz-Corral *et al.* (2002); Valenzuela-Zapata and Nabhan (2003); García (2004); CONABIO (2006); Illsley *et al.* (2007). ‡ Denomination according to Valenzuela-Zapata and Nabhan (2003). § AA: Average annual temperature. ¶ ACM: Average temperature of the coldest month. □ AHM: Average temperature of the hottest month. □ w.e.l.: Without a specific limit.

Table 2. Seed characteristics of the *Agave* species studied.

| Species | Seed humidity (%) | Volumetric weight (g l ⁻¹) | Seed weight (mg) |
|--|----------------------|---|---------------------|
| <i>A. lechuguilla</i> | 6.4 e | 415 a | 4.30 f |
| <i>A. striata</i> | 6.5 de | 172 d | 2.26 g |
| <i>A. americana</i> var. <i>marginata</i> | 7.2 cd | 137 e | 11.11 b |
| <i>A. asperrima</i> | 7.2 cde | 183 d | 5.62 e |
| <i>A. cupreata</i> | 8.3 b | 283 b | 11.14 b |
| <i>A. duranguensis</i> | 7.5 bc | 169 d | 9.50 c |
| <i>A. angustifolia</i> ssp. <i>tequilana</i> | 9.2 a | 113 f | 14.56 a |
| <i>A. salmiana</i> Chino variant | 9.8 a | 227 c | 7.17 d |

* Different letters within columns mean statistical differences (Tukey 0.05).

Table 3. Standardized canonical coefficients (Seed¹ and Germination¹) for the first pair of canonical variables, and correlation coefficients (Seed² and Germination²) for the first pair of canonical variables with the original variables.

| Seed characteristics | Seed ¹ | Seed ² |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Water content | 0.3336 | 0.6775 |
| Individual weight | 0.8319 | 0.9430 |
| Volumetric weight | 0.1612 | -0.0648 |
| Germination attributes* | Germination ¹ | Germination ² |
| MI | -0.2944 | 0.2023 |
| IIB | 1.0300 | 0.8598 |
| TSG | 0.1280 | 0.4185 |
| CG | 0.4319 | 0.2756 |
| MGR | -0.2049 | -0.0067 |

*MI: Maximum imbibition; IIB: imbibition during the first 12 h; TSG: Onset of the germination; CG: cumulative germination; MGR: mean germination rate.

Figures

Fig. 1. Association between *Agave* spp. seed size and seed imbibition after the first 12 hours of germination on 25 °C and darkness ($r^2=0.4119$; $p< 0.001$). *Agave americana*, *A. asperrima*, *A. cupreata*, *A. duranguensis*, *A. lechuguilla*, *A. salmiana* and *A. striata* were included.

Fig. 2. Seed imbibition dynamics of eight *Agave* species at constant temperature (● 10, ■ 15, ▲ 20, ▼ 25, ◆ 30, ◈ 35 and ■ 40°C) and in the darkness. The symbols indicate the mean observed data as a percentage of the initial seed weight, and the lines exhibit the water uptake dynamic. Vertical bars indicate the standard error.

Fig. 2. Temperature effect on the seed imbibition at the first 12 h of germination of eight *Agave* species (■ *A. americana* var. *marginata*, ▲ *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, ◆ *A. asperrima*, ▼ *A. cupreata*, ★ *A. duranguensis*, ● *A. lechuguilla*, ■ *A. salmiana* and ◈ *A. striata*). The symbols indicate the mean observed data as percentage of the initial seed weight, and lines show the predicted temperature effect. Vertical bars indicate the standard error, $n=5$.

Fig. 3. Curve of seed cumulative germination of eight *Agave* species in seven constant temperatures and darkness, during 312 h. (Ame: *A. americana* var. *marginata*, Ang: *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, Asp: *A. asperrima*, Cup: *A. cupreata*, Dur: *A. duranguensis*, Lec: *A. lechuguilla*, Sal: *A. salmiana* and Str: *A. striata*; ● 10, ■ 15, ▲ 20, ▼ 25, ◆ 30, ◈ 35 and ■ 40 °C). The symbols indicate the mean observed cumulative

germination, and the lines show the cumulative germination dynamic described for a logistic or Weibull model. Bars indicate the standard error, n= 5.

Fig. 4. Temperature effect on the time to the onset of the germination (A), on the mean germination rate (B) and on the cumulative germination (C), for seeds of eight *Agave* species during 312 h and darkness. (■ *A. americana* var. *marginata*, ▲ *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, ◆ *A. asperrima*, ▼ *A. cupreata*, ★ *A. duranguensis*, ● *A. lechuguilla*, ■ *A. salmiana* and ● *A. striata*). The symbols indicate the mean of five replicates and vertical bars indicate the standard error. Lines indicate the temperature effect on the evaluated attributes, predicted mostly by non-linear functions.

Fig. 5. Inhibition of seed germination of eight *Agave* species by four constant temperatures during 312 h and darkness, and breaking quiescent after being transferred to 25 °C (shaded area). For *A. angustifolia* ssp. *tequilana* the time of inhibition was 600 h and the subsequent temperature was 30 °C. (■ *A. americana* var. *marginata*, ▲ *A. angustifolia* ssp. *tequilana*, ◆ *A. asperrima*, ▼ *A. cupreata*, ★ *A. duranguensis*, ● *A. lechuguilla*, ■ *A. salmiana* and ● *A. striata*).

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

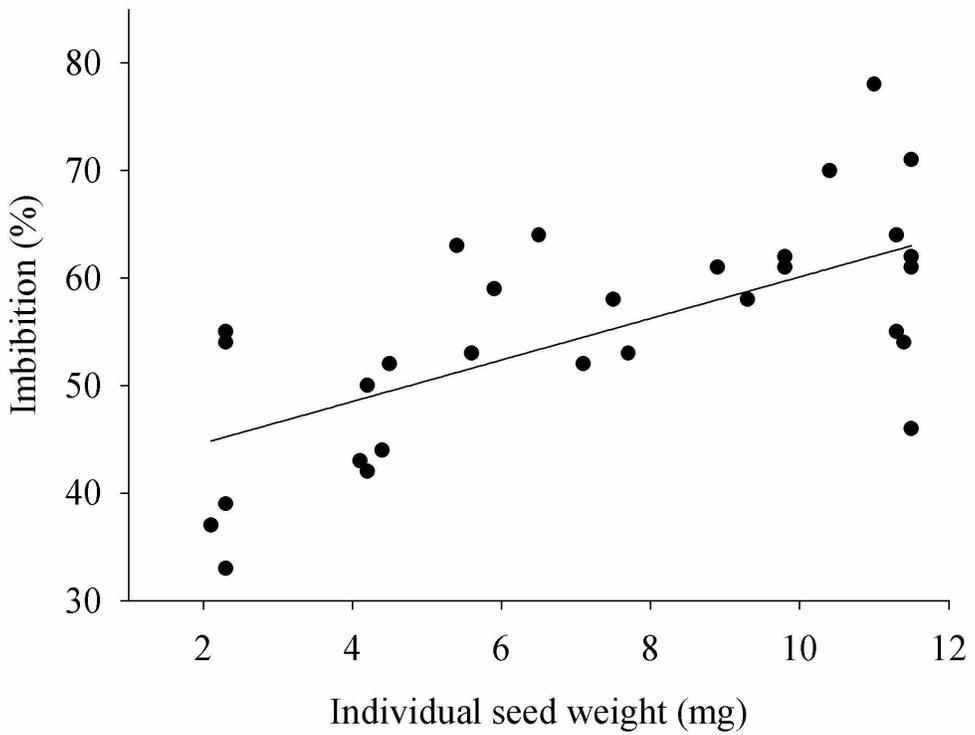


Figure 1
80x65mm (600 x 600 DPI)

Only

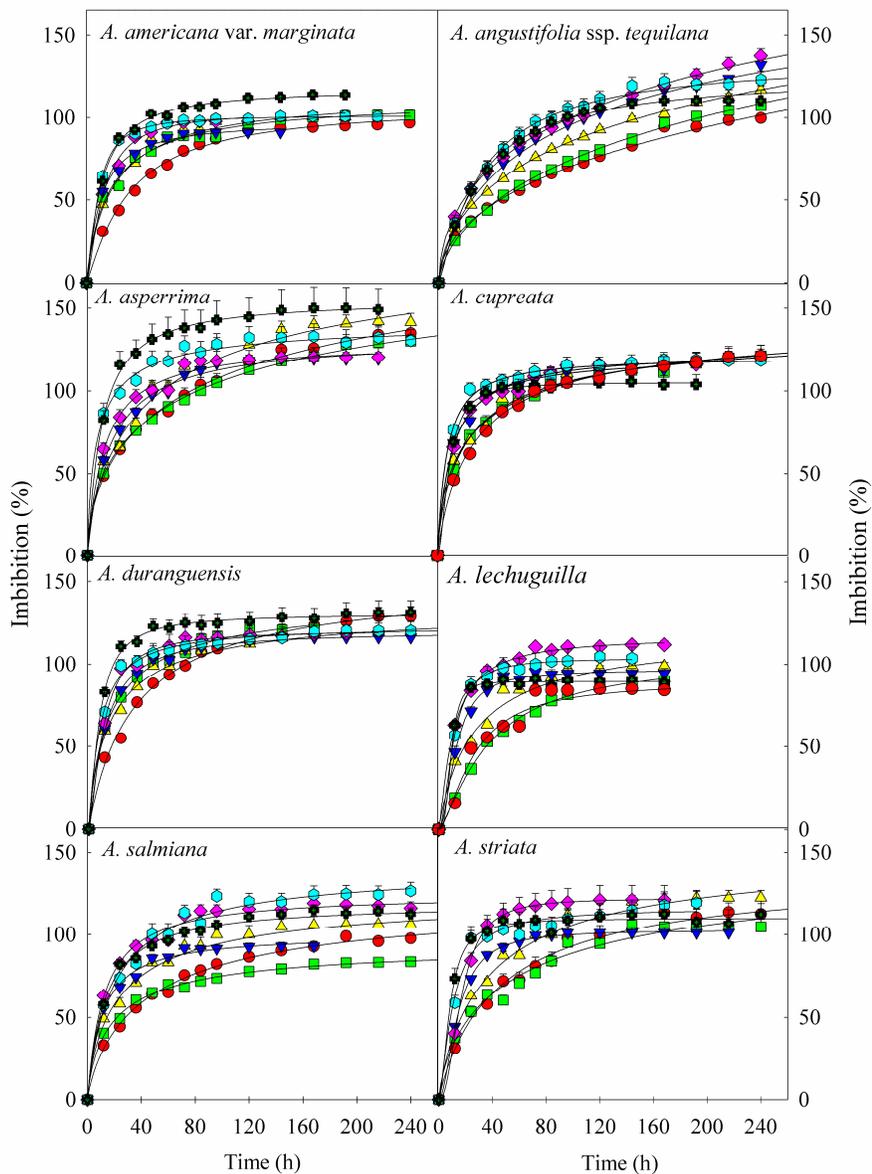


Figure 2
170x207mm (600 x 600 DPI)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

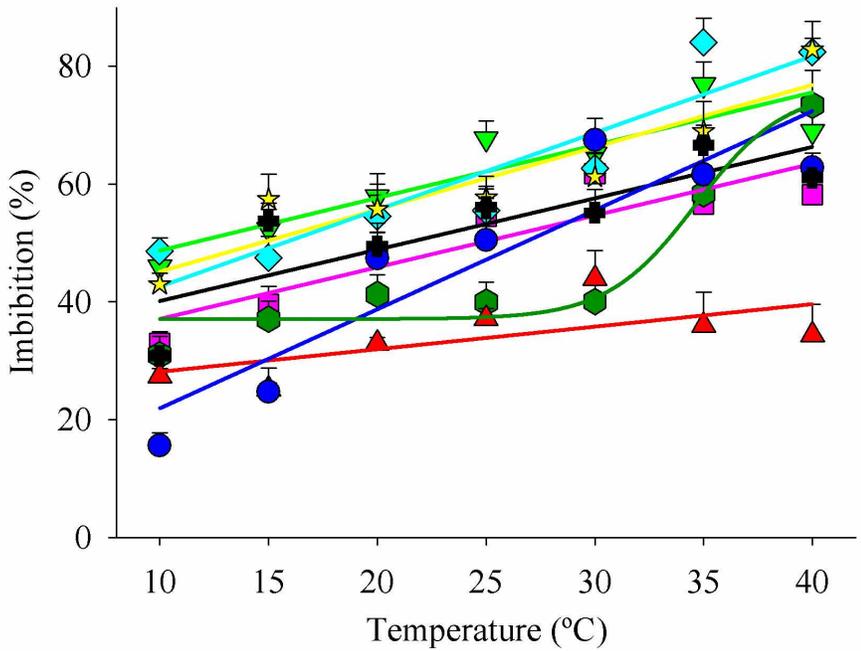


Figure 3
80x55mm (600 x 600 DPI)

www.Only

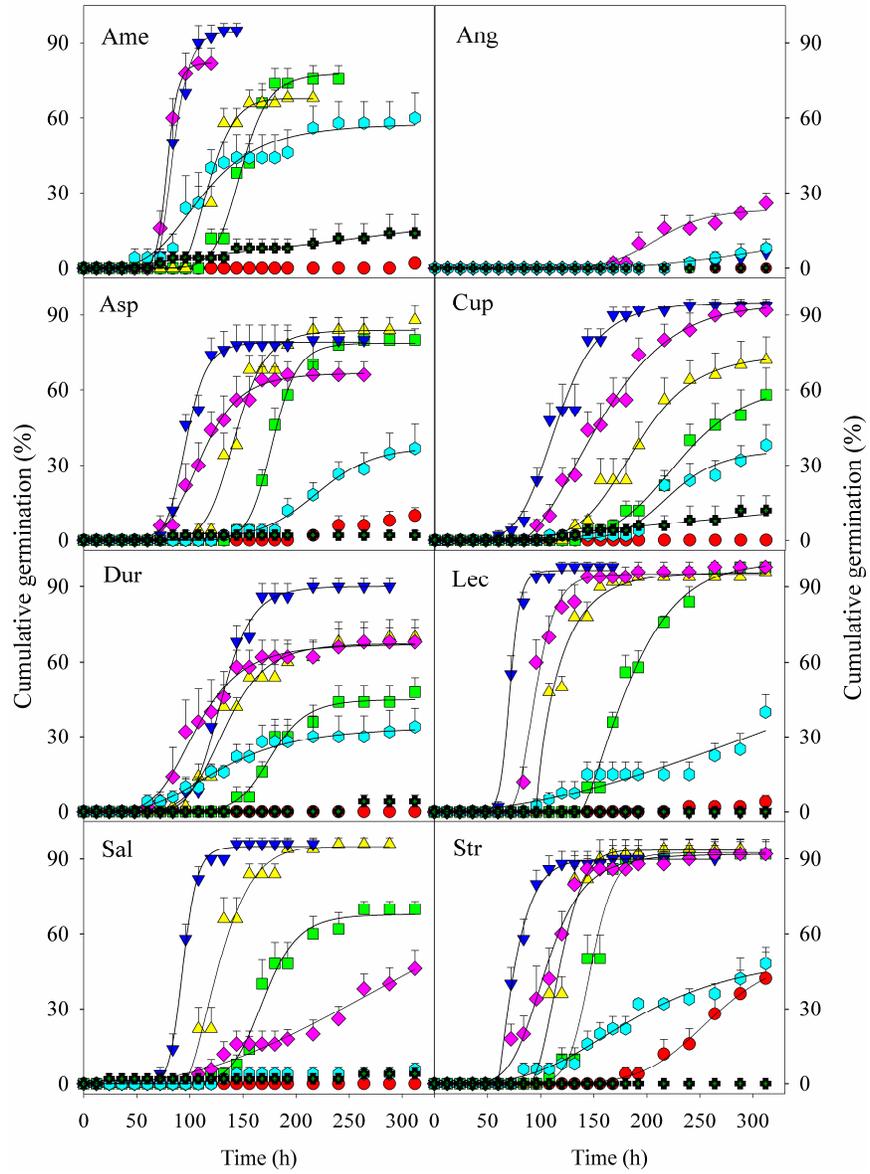


Figure 4
170x236mm (600 x 600 DPI)

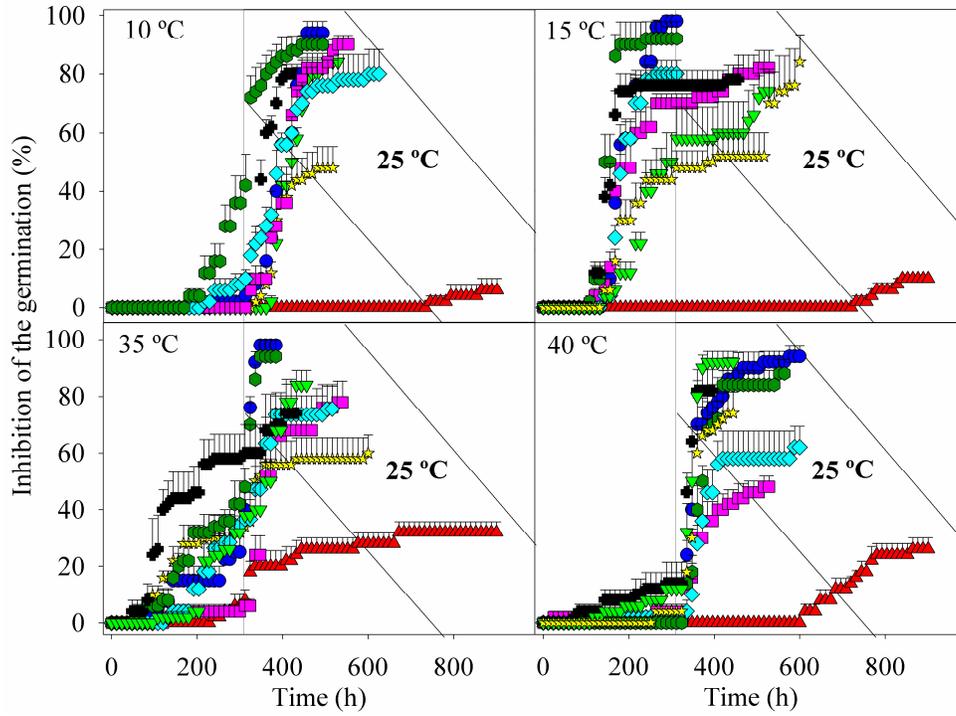


Figure 6
170x126mm (600 x 600 DPI)

Only

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60