



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

PRODUCCIÓN DE SEMILLAS

PROPAGACIÓN SEXUAL Y TOLERANCIA A LA DESECACIÓN EN NANCHE

(*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth

CAMELIA JAIMES ALBÍTER

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

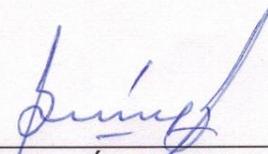
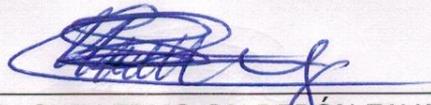
MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2013

La presente tesis, titulada: **Propagación sexual y tolerancia a la desecación en nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth**, realizada por la alumna: **Camelia Jaimes Albiter**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
PRODUCCIÓN DE SEMILLAS

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO	 _____
	DR. GABINO GARCÍA DE LOS SANTOS
ASESOR	 _____
	DR. AQUILES CARBALLO CARBALLO
ASESOR	 _____
	DR. GUILLERMO CALDERÓN ZAVALA
ASESOR	 _____
	DR. FERMÍN JAIMES ALBITER
ASESOR	 _____
	DR. JESÚS AXAYACATL CUEVAS SÁNCHEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Diciembre de 2013

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico para estudiar mi Doctorado.

Al Colegio de Postgraduados y al Postgrado de Recursos Genéticos y Productividad-Producción de Semillas, por aceptarme como miembro de su comunidad, y por las facilidades para continuar con mi superación académica.

A los Doctores: **Gabino García de los Santos, Aquiles Carballo Carballo, Guillermo Calderón Zavala, Fermín Jaimes Albíter y Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez**, integrantes de mi Consejo Particular, por su apoyo incondicional, tiempo, dedicación y sugerencias para llevar este trabajo de investigación a buen término en tiempo y forma.

A la M. C. Paola Elena Morelos Suet, excepcional amiga; por su invaluable apoyo y respaldo en todo momento.

Al Dr. Alejandro Romero Bautista, por su permanente apoyo para la realización de la investigación y la elaboración del presente documento.

Al Biólogo Galdino Jaimes Albíter y a Jorge Osmin Jaramillo Benítez, por el apoyo en las arduas jornadas de trabajo en campo.

A la familia Hernández Condado del ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca, por su hospitalidad, apoyo invaluable y cariño.

Al Personal Académico y Administrativo del Postgrado de Recursos Genéticos y Productividad-Producción de Semillas, por su amistad y finas atenciones.

A mis Compañer@s, con los que tuve el placer de convivir; con especial gratitud a: **Juan Manuel Ruiz Nieves, María de los Ángeles Maldonado Peralta, Arturo Mancera Rico y César del Ángel Hernández Galeno**; por su solidaridad y apoyo cuando más lo necesité.

A **Manuel**, auxiliar del BANGEV; por su invaluable apoyo durante la investigación.

DEDICATORIA

A mis hijos: **Luis Alejandro y Sonia**, por ser el tesoro más preciado que la vida pudo darme y el máximo aliciente para recobrar la energía en los momentos difíciles; por su comprensión y apoyo durante esta etapa que significó privaciones y sacrificios.

A mi esposo **Alejandro**, por su invaluable apoyo, amor, solidaridad, paciencia, comprensión, y por ser mi compañero de vida.

A mis padres: **Bertín Jaimes López[†] y Consuelo Albíter Gómez[†]**, que con amor, gran sacrificio, trabajo incansable, honestidad y humildad, hicieron posible mi desarrollo personal y profesional.

A mis hermanos: **Galdino, Demetrio, Fermín, Herlinda[†] y Diana**, por su cariño, apoyo y respaldo para lograr las metas que me he planteado.

A mis **Sobrin@s y Cuñad@s**, por su apoyo incondicional para recorrer este complejo pero satisfactorio camino.

De manera especial a mis sobrinos: **Norma Patricia y Raúl García Jaimes**, por continuar por el camino del bien y el éxito, pese a las circunstancias.

A **Ángel Rebollar Alvíter**. *Hermano*, tienes y tendrás un lugar especial en mi corazón; gracias por compartir tu niñez, momentos difíciles y éxitos conmigo, pero sobre todo, por ser uno de mis mejores ejemplos.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN GENERAL	xii
GENERAL ABSTRACT	xiii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Planteamiento del problema	1
1.2. Objetivo general	3
1.3. Objetivos particulares	3
1.4. Hipótesis.....	3
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Generalidades	5
2.2. Descripción botánica de <i>Byrsonima crassifolia</i> L.....	6
2.3. Clasificación taxonómica	8
2.4. Calidad de las semillas.....	8
2.5. Almacenamiento, conservación y deterioro de la semilla	9
2.5.1. Factores que favorecen el deterioro de las semillas	10
2.5.2. Cambios que ocurren durante el almacenamiento de las semillas	11
2.6. El proceso de germinación	12
2.6.1. Factores que influyen en la germinación	12
2.6.2. Efecto del estrés hídrico en la germinación	14
2.7. Latencia de semillas	16
2.7.1. Clasificación de la latencia.....	17

2.7.2. Regulación endógena de la latencia	18
2.7.3. Control exógeno de la latencia.....	18
2.8. Los bancos de semillas del suelo	19
2.9. Tolerancia a la desecación de semillas	24
2.9.1. Factores que propician la tolerancia y/o susceptibilidad a la desecación.....	24
2.9.2. Aspectos a considerar para clasificar correctamente el comportamiento de las semillas en el almacén	26
2.10. LITERATURA CITADA	30
CAPÍTULO III. DINÁMICA GERMINATIVA DEL NANCHE (<i>Byrsonima crassifolia</i> L.) Kunth, EN EL BANCO DE SEMILLAS DEL SUELO	46
3.1. INTRODUCCIÓN.....	47
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	50
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
3.4. CONCLUSIONES.....	72
3.5. LITERATURA CITADA.....	73
CAPÍTULO IV. DISPONIBILIDAD DE AGUA EN EL SUELO Y SU RELACIÓN CON LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA DE NANCHE (<i>Byrsonima crassifolia</i> L.) Kunth, EN INVERNADERO.....	80
4.1. INTRODUCCIÓN.....	81
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	83
4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	89
4.4. CONCLUSIONES.....	113
4.5. LITERATURA CITADA.....	114
CAPÍTULO V. TOLERANCIA A LA DESECACIÓN DE LAS SEMILLAS DE NANCHE (<i>Byrsonima crassifolia</i> L.) Kunth.....	121

5.1. INTRODUCCIÓN.....	122
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS	125
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	132
5.4. CONCLUSIONES.....	146
5.5. LITERATURA CITADA	147
CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN GENERAL	158
6.1. LITERATURA CITADA.....	160
CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES GENERALES.....	161
VIII. ANEXOS	162
8.1. ANEXO A. TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO DIARIA, REGISTRADA CON UN DATALOGGER EN INVERNADERO, DURANTE 15 MESES, PARA EL EXPERIMENTO CON SEMILLAS DE NANCHE DE TUXTEPEC, OAXACA.	162
8.2. ANEXO B. TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO DIARIA, REGISTRADA CON UN DATALOGGER EN INVERNADERO, DURANTE 25 MESES, PARA EL EXPERIMENTO CON SEMILLAS DE NANCHE DE TEJUPILCO, ESTADO DE MÉXICO.	169

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
Cuadro 3.1.	Viabilidad y contenido de humedad inicial de las semillas y endocarpios de Tuxtepec, Oaxaca y Tejupilco, Estado de México.....	57
Cuadro 3.2.	Cuadrados medios y significancia estadística de las variables evaluadas en el banco de semillas del suelo, en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.....	59
Cuadro 3.3	Comportamiento promedio de las variables evaluadas en el banco de semillas del suelo, en el ejido El esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.....	60
Cuadro 3.4.	Cuadrados medios y significancia estadística de las variables evaluadas en el banco de semillas del suelo, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México.....	65
Cuadro 3.5.	Comportamiento promedio de las variables evaluadas en el banco de semillas del suelo, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México.....	66
Cuadro 4.1.	pH del suelo, viabilidad inicial y contenido de humedad de las semillas y endocarpios de Tuxtepec, Oaxaca y Tejupilco, Estado de México.....	89
Cuadro 4.2.	Temperatura, humedad relativa y niveles de humedad a los que estuvieron expuestas las semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, en invernadero	91
Cuadro 4.3.	Cuadrados medios y significancia estadística de las variables evaluadas en germoplasma de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, en invernadero.....	93
Cuadro 4.4.	Comportamiento promedio de las variables evaluadas en germoplasma de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, en invernadero.....	94
Cuadro 4.5.	Temperatura, humedad relativa y niveles de humedad, a los que estuvieron expuestas las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México, en invernadero.	102
Cuadro 4.6.	Cuadrados medios y significancia estadística de las variables evaluadas, en germoplasma de nanche de Tejupilco, Estado de México , en invernadero.	104
Cuadro 4.7	Comportamiento promedio de las variables evaluadas en germoplasma de nanche de Tejupilco, Estado de México, en invernadero.....	105

Cuadro 5.1	Cuadrados medios y significancia estadística para las variables fisiológicas evaluadas en las semillas de nanche, de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, con diferente contenido de humedad y períodos de almacenamiento a -20 °C.....	135
Cuadro 5.2.	Promedios de las variables fisiológicas evaluadas en las semillas de nanche, de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, con diferente contenido de humedad y períodos de almacenamiento a -20 °C.	137
Cuadro 5.3	Cuadrados medios y significancia estadística para las variables fisiológicas evaluadas en las semillas de nanche, con diferente contenido de humedad, período y ambiente de almacenamiento.....	142
Cuadro 5.4.	Promedios de las variables fisiológicas evaluadas en las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, almacenadas durante tres períodos en dos ambientes distintos.	143

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 3.1. Germinación acumulada obtenida en el banco de semillas del suelo, en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.....	60
Figura 3.2. Dinámica germinativa del nanche en el banco de semillas del suelo, en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca, con dos tipos de semilla.....	62
Figura 3.3. Evolución de la viabilidad de las semillas de nanche en el banco del suelo en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.....	63
Figura 3.4. Germinación acumulada, obtenida en el banco de semillas del suelo en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México.....	67
Figura 3.5. Dinámica germinativa del nanche en el banco de semillas del suelo, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México, con dos tipos de semilla	68
Figura 3.6. Evolución de la viabilidad de las semillas de nanche en el banco del suelo, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México.	69
Figura 4.1. Temperatura y humedad relativa diaria, registrada durante 379 días con un HOBO U14 LCD Data logger, en invernadero.	92
Figura 4.2. Germinación acumulada obtenida en semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, con la aplicación de los distintos tratamientos.	95
Figura 4.3. Evolución de la viabilidad de las semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, con la aplicación de los tratamientos.....	100
Figura 4.4. Temperatura y humedad relativa diaria, registrada durante 738 días con un HOBO U14 LCD Data logger, en invernadero.	103
Figura 4.5. Germinación acumulada de las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México, con la aplicación de los tratamientos.....	106
Figura 4.6. Dinámica germinativa de las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México, en invernadero.	107
Figura 4.7. Evolución de la viabilidad de las semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, con la aplicación de los tratamientos.....	111
Figura 5.1. Protocolo para determinar el comportamiento de las semillas en el almacén (Hong y Ellis, 1996).....	129

Figura 5.2	Comportamiento de la conductividad eléctrica antes y después de la desecación de las semillas de nanche, de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca.	133
Figura 5.3	Comportamiento de las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, durante el proceso de desecación.....	134

PROPAGACIÓN SEXUAL Y TOLERANCIA A LA DESECACIÓN EN NANCHE

(*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth

Camelia Jaimes Albíter, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2013

RESUMEN GENERAL

El nanche es una especie forestal frutícola de amplio espectro utilitario, pero la germinación de sus semillas es compleja; por ello, el objetivo de la investigación fue conocer la dinámica germinativa de las semillas de clima cálido húmedo y clima semicálido, en el banco del suelo y en condiciones de invernadero; así como clasificarlas fisiológicamente, y proponer alternativas adecuadas para conservar este recurso fitogenético.

Se encontró que las semillas de clima cálido húmedo forman un banco de tipo transitorio, en tanto que, para las de clima semicálido fue persistente de corto plazo. Por otro lado, en invernadero se observó que la humedad del suelo no representa inconveniente para la germinación de las semillas de ambos climas, si no que esto depende del grado de domesticación, la latencia mecánica y fisiológica, calidad física, fisiológica y sanitaria de las semillas. Respecto a la clasificación fisiológica de las semillas, se observó que las de clima semicálido son más tolerantes a la desecación que las de clima cálido húmedo; sin embargo, ninguna conserva su viabilidad durante el almacenamiento, por lo que se concluye que ambas son de tipo recalcitrante, y la mejor estrategia para conservar el nanche es *in situ* o *ex situ*: en colecciones de campo, jardines botánicos, cultivo de tejidos o mediante crioconservación.

Palabras clave: *Byrsonima crassifolia*, latencia, recalcitrante, conservación *in situ*, conservación *ex situ*.

SEXUAL PROPAGATION AND DRYING TOLERANCE IN nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth

Camelia Jaimes Albíter, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2013

GENERAL ABSTRACT

The nanche fruit is a forest of broad utility, but seed germination is complex, hence, the aim of the research was to understand the dynamics of seed germination warm humid and semiwarm climate, respectively, in the soil bank, and greenhouse conditions as well as physiologically classify, and propose adequate alternatives of this plant genetic resource conservation.

It was found that warm and humid climate, seeds form a transitional bank, while for the semiwarm climate is of persistent short term type. On the other hand, in the greenhouse it was observed that the soil moisture is not inconvenient for to seed germination in both climates, but rather it depends on the the degree of domestication, mechanical and physiological dormancy, physical quality, physiological and sanitary quality of seeds. About the physiological classification of seeds, it was observed that those from semiwarm climate are more desiccation tolerant than those from warm humid climate, however, its viability its not retained during storage, so it was concluded that both are of recalcitrant type, and the best strategy to conserve nanche is *in situ* or *ex situ*: in field collections, botanical gardens, tissue culture or by cryopreservation.

Keywords: *Byrsonima crassifolia*, dormancy, recalcitrant, *in situ* conservation, *ex situ* conservation.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1 Planteamiento del problema

Algunos frutales perennes presentan un proceso incipiente de domesticación, ya que han pasado de ser plantas silvestres a cultivadas, pero sin ser sujetos de modificaciones en el genoma (Gepts, 2002).

Lo anterior da lugar a considerar la posibilidad de que las semillas exhiban latencia, concebida ésta como la incapacidad para germinar, aun cuando la semilla sea viable y se encuentre en condiciones ambientales adecuadas para ello (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006; Bradford y Nonogaki, 2007). La latencia permite a las semillas conservar la viabilidad y germinar cuando las condiciones ambientales prevalentes en un determinado ecosistema, son apropiadas para el establecimiento y sobrevivencia de las plantas de una nueva generación (Baskin y Baskin, 2001; Fenner y Thompson, 2005). Está relacionada con los atributos de la semilla, que determinan las condiciones requeridas para que proceda la emergencia de la radícula (Fenner y Thompson, 2000); por su parte, Koornneef *et al.* (2002) argumentan que la latencia y la germinación son determinadas por la interacción entre el potencial de crecimiento del embrión y las restricciones impuestas por los tejidos que lo rodean.

La germinación de las semillas de nanche es compleja, ya que la presencia de un endocarpio leñoso y grueso que las contiene, así como el posible desbalance entre las sustancias inhibitoras y promotoras, dificultan en gran medida el crecimiento del embrión, provocando que la germinación ocurra en un periodo amplio y que los porcentajes sean bajos (Villachica, 1996; García-Núñez *et al.*, 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Jaimes, 2006; Jaimes, 2009; Carvalho y Nascimento, 2008).

Como especie forestal frutícola, el nanche es poco conocido en México y en el mundo. En nuestro país, por lo general, se le encuentra en forma silvestre y en algunas zonas geográficas como cultivo; se adapta a un amplio rango de

condiciones ambientales y ha adquirido considerable importancia en los estados de la República Mexicana donde se cultiva, por ser una especie con amplio espectro utilitario: alimento, medicina, ornamental, combustible, curtiente, colorante, apícola, elemento reforestador y componente de sistemas agrosilvopastoriles (Love y Spaner, 2005; Peraza-Sánchez *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2008).

En el aspecto nutricional, se reporta que los frutos poseen contenidos elevados de: aminoácidos (25.86 mg), vitamina C (7.27 mg), Fósforo (17-20 mg), Calcio (29-80 mg) y Ácido ascórbico (71 mg), entre otros, todos ellos elementos esenciales en la dieta humana (Villachica, 1996; Muñoz *et al.*, 1996).

Como frutal, *B. crassifolia* es conocido a nivel local y regional, tiene potencial productivo, y contribuye a generar ingresos económicos importantes a la población de las zonas donde prospera; al respecto Raya *et al.* (2010) reportan que en Charapendo, Michoacán, algunos agricultores han cambiado el cultivo de maíz por el de nanche, por ser más redituable este último.

Si bien, como frutal actualmente sólo es reconocido a nivel local y regional, para el año 2012, se reporta que existían 1,377.20 hectáreas plantadas en el territorio nacional, se cosechó una superficie de 1,344.45 ha, cuya producción total fue de 6,367.11 toneladas, con un rendimiento promedio de 4.74 t ha⁻¹, el precio por tonelada fue de \$4,691; por lo que el valor de la producción fue de \$29, 868.770 millones de pesos. Los estados productores fueron: Guerrero, Nayarit, Campeche, Veracruz, Morelos, Michoacán, Yucatán, Chiapas, Oaxaca, Sinaloa y Jalisco; ordenados de mayor a menor producción (SIAP, 2012).

El potencial de los frutales subutilizados como es el caso del nanche, radica también en la posibilidad de ser empleados como portainjertos para adaptar a aquellas especies del mismo género a las condiciones climáticas y edáficas aprovechando la compatibilidad vegetativa, e incluso se podrían emplear en programas de mejoramiento genético (Bayuelo-Jimenez *et al.*, 2006; Jaimes 2009).

Sin embargo, pese a las bondades expresadas, son escasas las investigaciones científicas publicadas sobre la propagación sexual tanto en su medio natural como fuera de él, las relacionadas con la persistencia de las semillas en el banco del suelo, y la determinación del comportamiento de sus semillas durante el almacenamiento. Por lo anterior, la investigación tuvo los siguientes objetivos e hipótesis:

1.2. Objetivo general

Conocer la dinámica germinativa de las semillas de nanche de clima cálido húmedo y clima semicálido en el banco del suelo, y en condiciones de invernadero; así como clasificarlas fisiológicamente, y proponer opciones adecuadas para conservar este recurso fitogenético.

1.3. Objetivos particulares

- Determinar la naturaleza del banco de semillas del suelo, en dos localidades de México, con base en la dinámica germinativa y en la persistencia de la semilla en el suelo.
- Conocer la influencia de la humedad del suelo en la germinación de las semillas de nanche, originarias de dos sitios ecológicos con condiciones climáticas contrastantes.
- Determinar la tolerancia a la desecación de semillas de nanche de dos localidades de México, para definir la estrategia de conservación más apropiada.

1.4. Hipótesis

- Las semillas de nanche de clima cálido húmedo pierden rápido su viabilidad y forman un banco en el suelo de tipo transitorio; mientras que las de clima semicálido son más longevas y presentan dos picos de germinación, por lo que forman un banco de tipo persistente.

- Las láminas de riego mayores favorecen la germinación de las semillas de clima semicálido, en tanto que la germinación de las de clima cálido húmedo, tienen mejor comportamiento con una lámina de riego menor.
- Las semillas de clima semicálido son más tolerantes a la desecación que las de clima cálido húmedo.

CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades

El nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth pertenece a la familia Malpighiaceae (Pennington y Sarukán, 2005); comprende 63 géneros y 1100 especies aproximadamente (Campbell, 1996; Cordovil y Pezóni, 2006). El nanche es originario de América Tropical y nativo del sureste de México (Cavalcante, 1996; Vázquez-Yáñez *et al.*, 1999). El vocablo nanche proviene del náhuatl Nantzincoyotl que significa fruto ácido de las madres o ancianas (Moreno, 2000).

Aproximadamente 80 % de los géneros y 90 % de las especies se localizan en el Nuevo Mundo (Indias Occidentales y de la parte sureste de Estados Unidos hasta Argentina), concentrándose 14 o 15 géneros en América Central (Williams, 1981). El género *Byrsonima* comprende 159 especies aceptadas taxonómicamente (<http://www.theplantlist.org/>), todas distribuidas en América (Stevens *et al.*, 2001). La más conocida es *B. crassifolia* que prospera en las regiones tropicales y subtropicales de México; además, en la península de Yucatán, también es posible encontrar a *B. bucidaefolia* (García y García, 1992).

Williams (1981) indica que en México, principalmente en el sureste, se encuentran las especies *B. bucidaefolia* Standl y *B. crassifolia* (L.) H.B.K., así como otras especies de la familia Malpighiaceae, nativas de Mesoamérica de importancia económica, que se distribuyen en la misma región: *Malpighia glabra* L. y *Malpighia puniceifolia* L. A; a su vez, Guízar y Sánchez (1991), en un estudio de la región Alto Balsas, señalan que además de *B. crassifolia*, se distribuyen otras especies de dicha familia, y que regionalmente tienen nombres comunes similares al nanche: *Malpighia mexicana* Jussie y *Bunchosia lanceolata* Turcz.

Por su parte, Niembro *et al.* (2004) señalan que el nanche en México presenta una amplia distribución geográfica, pues se le encuentra en toda la zona tropical que va desde el sur de Tamaulipas y este de San Luís Potosí, Veracruz, Tabasco,

Yucatán y Quintana Roo, en la vertiente del Golfo, hasta Sinaloa, Nayarit, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, en la vertiente del Pacífico. Medina-Torres *et al.* (2004) reportan importantes áreas cultivadas con nanche a lo largo de la costa de Nayarit, México, en municipios con vegetación de sabana como: Acajoneta, Compostela, Santiago Ixcuintla, Rosamorada, Ruíz y San Blas.

Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006) refieren que se encuentra de manera natural en las zonas de transición de los climas templados y subtropicales del estado de Michoacán, México; mientras que, Martínez-Moreno *et al.* (2006) señalan su existencia natural y semicultivada en la región Sierra del estado de Tabasco, México.

2.2. Descripción botánica de *Byrsonima crassifolia* L.

Árbol caducifolio o perenifolio de 2 a 15 m de altura, con copa abierta, redonda o extendida, a veces irregular; el tronco es cilíndrico con diámetro normal de 30 a 40 cm, con ramas ascendentes; la parte externa de la corteza tiene escamas, que se desprenden en fracciones rectangulares, es de color café oscuro a moreno claro; corteza interna de color crema rosado, que cambia a pardo rosado, fibrosa y amarga; grosor total de corteza de 12 a 25 mm y de madera dura, rojiza, flexible, fuerte y pesada; la albura es de color más claro (crema amarillento) con vasos grandes, radios numerosos y estrechos; no toma un acabado liso y natural (Pennington y Sarukhan, 2005).

Las ramas jóvenes, son de color gris pardo, con cicatrices anulares de las hojas y estípulas caídas; lenticelas escasas, pubescentes en las hojas más jóvenes. Las hojas generalmente son alargadas, decusadas, simples; láminas de 5 por 2 hasta 15 por 7.5 cm, de forma elíptica, margen entero, ápice agudo o redondeado y base aguda, color verde oscuro y casi glabras en el haz y verde amarillento grisáceo con abundantes tricomas en el envés; peciolos pubescentes de 5 a 25 mm de largo; las yemas miden de 3 a 7 mm, agudas y cubiertas por dos estípulas ferruginosas (Vázquez-Yáñez *et al.*, 1999). Presenta flores en racimos terminales de hasta 12 cm de largo; cáliz con cinco sépalos pubescentes, de forma oval-

triangular (Moreno, 2000), cada uno con dos prominentes glándulas en la base; los pedicelos de 7 a 15 mm de largo. Las flores son de 1.5 cm de diámetro con cáliz de 5 mm de largo, cupular en la base, con cinco lóbulos ovados, agudos o redondeados, pubescentes en la superficie externa, con 10 glándulas grandes, oblongas, glabras en la base de la superficie externa. La corola consta de cinco pétalos amarillo-anaranjados, libres, alternos respecto a los lóbulos del cáliz, de 1 cm de largo, orbiculares o reniformes, con la parte superior cóncava, con márgenes ondulados o dentados, unguiculados y glabros (Cordero y Boshier, 2003). El limbo circular, cóncavo, con la base unguiculada. Gineceo con ovario súpero, formado por tres carpelos, lóbulos uniovulares, ovoides y glabros. Presenta tres estilos de 3 a 4 mm. El androceo consta de 10 estambres de 5 mm de largo, filamentos amarillos, vilosos en la parte inferior. Anteras pardas, alargadas, basifijas con los filamentos glabros, insertados en un torus hirsuto (Pennington y Sarukhan, 2005).

Los frutos se presentan en infrutescencias péndulas de 10 a 15 cm de largo; son drupas globosas de 1.2 a 2 cm de diámetro, con todas las partes florales persistentes (menos los pétalos), amarillentas a ligeramente anaranjadas, con abundante pulpa agrídulce que rodea al endocarpio y que contiene de 1 a 3 semillas blancas rodeadas por una testa delgada. El exocarpio es delgado, de color amarillo, verde o rojizo cuando el fruto está maduro; el mesocarpio (la parte comestible) es de consistencia pastosa, de color amarillo y de unos 5 mm de espesor. El endocarpio es redondeado u oval, rígido y reticulado (Moreno, 2000). La semilla se encuentra encerrada en el endocarpio que es duro y leñoso; de forma ovoide o subglobosa arrugada, gruesa o ligeramente comprimida, de 4 a 4.5 mm de diámetro; la testa es de color café claro, lisa, lustrosa, membranosa, muy delgada. El embrión es curvo, enrollado, color amarillo verdoso y ocupa toda la cavidad de la semilla. Las semillas contienen dos cotiledones grandes, largos, planos, carnosos, frecuentemente desiguales, enrollados a manera de espiral; la radícula es corta, superior, oblonga; endospermo nuclear escaso o ausente (Juárez, 1998).

2.3. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de acuerdo con Avitia y Castillo (2001), es la siguiente:

Reino _____ Plantae
Subreino _____ Embryobionta
División _____ Magnoliophyta
Clase _____ Magnoliopsida
Orden _____ Polygalales
Familia _____ Malpigiaceae
Género _____ *Byrsonima*
Especie _____ *Byrsonima crassifolia*
N.científico _____ *Byrsonima crassifolia* L.
N.común _____ Nanche

2.4. Calidad de las semillas

La calidad de las semillas se define como la suma de múltiples atributos referidos a la aptitud de éstas para germinar (Hampton, 2002), tales como: pureza genética, ausencia de daño mecánico, capacidad de germinación y vigor, tamaño y uniformidad de la semilla, contenido de humedad, presencia de contaminantes y ausencia de fitopatógenos e insectos transmisibles (Flores, 2004); dichos atributos son útiles para diferenciar a un lote de semillas de los demás (Zorato, 2005) y contribuyen al rendimiento final de un cultivo (Basra, 1995). La mayor calidad de una semilla se obtiene cuando ésta alcanza su madurez fisiológica (Copeland y McDonald, 2001), por ello, es importante conocer indicadores visuales que permitan efectuar la cosecha en el momento apropiado, para evitar el deterioro en el campo (Dias, 2001). El deterioro inicia después de que la semilla

alcanza la madurez fisiológica y continúa hasta perder su capacidad para germinar (Delouche, 2002).

De acuerdo con Bishaw *et al.* (2007) la calidad contempla cuatro atributos:

1. Calidad genética. Características propias que dan identidad a una variedad específica, responsables del buen rendimiento, calidad y mayor tolerancia al estrés biótico y abiótico.

2. Calidad fisiológica. Relacionada con la viabilidad, germinación y vigor de la semilla, lo que determina el potencial de una semilla para germinar, emerger y establecerse en el campo, en condiciones favorables.

3. Calidad física. Contempla el tamaño, contenido de humedad, uniformidad de las semillas y pureza, esta última referida a la ausencia de materiales extraños y semillas de otras variedades.

4. Calidad sanitaria. Se evalúa por la ausencia de fitopatógenos como hongos, bacterias, virus, insectos, etc, que puedan ser agentes causales de infestaciones o infecciones de la semilla.

2.5. Almacenamiento, conservación y deterioro de la semilla

El almacenamiento se define como el proceso mediante el cual las semillas se conservan viables desde la recolección hasta el momento en el que las condiciones ambientales son favorables para garantizar el establecimiento de su descendencia (Copeland y McDonald, 2001). El almacenamiento debe garantizar la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas, ya que las condiciones de humedad y temperatura de la atmósfera circundante, disminuyen la actividad metabólica, lo que a su vez minimiza el nivel de deterioro, y por otra parte, también contribuye a eliminar o disminuir la proliferación de insectos y microorganismos (Amaral, 2009).

El deterioro inicia después de que la semilla alcanza la madurez fisiológica y continúa hasta perder su capacidad para germinar (Delouche, 2002; Wang *et al.*, 2012).

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

Factores como la composición química de las semillas, están íntimamente relacionadas con la velocidad de deterioro. Así, semillas en las que los lípidos constituyen la mayor sustancia de reserva, se deterioran con mayor rapidez; en cambio, aquellas cuyas reservas están constituidas principalmente por carbohidratos o proteínas, son más longevas (Nagel y Börner, 2010).

2.5.1. Factores que favorecen el deterioro de las semillas

En el deterioro de las semillas intervienen varios factores del entorno del almacén, tales como: humedad relativa, temperatura, contenido de humedad de la semilla, período de almacenamiento, presencia de insectos vectores de enfermedades y calidad inicial de la semilla, entre otros (Abramson *et al.*, 2005). Las condiciones ambientales del almacén especialmente la humedad relativa y la temperatura, ejercen una importante influencia en el contenido de humedad de las semillas y la actividad de los microorganismos, lo que repercute directamente en el vigor, cuando se almacenan en condiciones de elevada humedad y temperatura (Sveinsdottir *et al.*, 2009).

La humedad es un factor abiótico de gran relevancia, ya que es el más importante en la conservación de las semillas, pues mientras mayor sea, más se favorece el desarrollo principalmente de hongos que conducen a la pérdida de vigor y viabilidad de la semilla (Copeland y McDonald, 2001).

Por su parte, la temperatura, tiene un papel primordial en la proliferación de insectos en el almacén. La temperatura óptima para su desarrollo es de aproximadamente 30 °C. A 20 °C, disminuye notablemente su desarrollo y reproducción y a 10 °C cesan su actividad, y si esta temperatura persiste, los insectos mueren. Por lo anterior, el almacenamiento de las semillas a baja temperatura permite conservar su viabilidad (Moreno, 1996).

2.5.2. Cambios que ocurren durante el almacenamiento de las semillas

Durante el deterioro de las semillas se presentan cambios físicos, bioquímicos y fisiológicos. Dentro de los principales cambios físicos se encuentran: cambios en el color y daño en la estructura externa e interna de las semillas (Delouche, 2002).

En lo relativo a los cambios bioquímicos, las enzimas, lípidos, proteínas, enzimas, membranas de mitocondrias y ribosomas, son los sitios más vulnerables al envejecimiento propiciado por las condiciones inadecuadas del ambiente del almacén. Los daños ocurridos durante el almacenamiento, probablemente se deben a la presencia de radicales libres y productos originados por la peroxidación de los lípidos de las membranas y de las sustancias de reserva, que ocasionan el envejecimiento en seco o bien, interfieren en las reacciones que se producen en los primeros momentos de la imbibición de las semillas (Besnier, 1989; Walters *et al.*, 2010).

La reparación de los daños causados en las semillas durante el envejecimiento, si es posible, ocurre después de la imbibición, motivo por el que se retrasa la germinación y causa la pérdida de vigor. Si el daño es de gran magnitud o las enzimas que intervienen en la reparación también se deterioraron, la germinación no tiene lugar, o en su defecto, la plántula muere (Rao *et al.*, 2006).

Dentro de los cambios fisiológicos, el más relevante es la germinación, ya que mediante ésta se evalúa la calidad de las semillas almacenadas. En especial la velocidad de germinación disminuye si durante el almacenamiento la temperatura fue alta y el período de almacenamiento prolongado (Nithia *et al.*, 2011).

El almacenamiento inadecuado de las semillas incrementa la velocidad de envejecimiento de éstas. El envejecimiento provoca deterioro que se expresa en la pérdida de vigor y/o viabilidad (Kibinza *et al.*, 2011). La disminución del vigor se expresa en la producción de plántulas débiles que no tienen la capacidad de sobrevivir en determinado ecosistema (Atici *et al.*, 2007)

2.6. El proceso de germinación

La germinación se define como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una plántula normal, en condiciones favorables (Moreno, 1996; Copeland y McDonald, 2001; Bishaw *et al.*, 2007). Es un proceso complejo durante el cual la semilla debe recuperarse del secado para reanudar el metabolismo y llevar a cabo los procesos celulares y bioquímicos esenciales que conducen al desarrollo del embrión (Nonogaki *et al.*, 2010).

La germinación inicia con la absorción de agua por la semilla y termina con el alargamiento del eje embrionario (Bewley, 1997), aunque el signo visible de que ésta ha concluido, aparece cuando la radícula traspasa las estructuras que rodean al embrión (Bradford y Nonogaki, 2007), posteriormente, continúan eventos relacionados con la movilización de reservas, para finalizar con el crecimiento de la plántula, momento en el que los tejidos de almacenamiento dejan de intervenir en las actividades metabólicas (Salisbury y Ross, 2000).

2.6.1. Factores que influyen en la germinación

La germinación de las semillas depende de factores internos y externos (Bradford y Nonogaki, 2007). Los factores internos que favorecen la germinación son: madurez morfológica y fisiológica de la semilla, viabilidad y ausencia de latencia. Por otra parte, la contribución de los factores externos como la humedad, temperatura e intercambio gaseoso, son indispensables para que la germinación se lleve a cabo.

2.6.1.1. Humedad

El agua es esencial para la germinación de las semillas, ya que mediante la rehidratación se reactiva la actividad metabólica que conduce al crecimiento del embrión. La absorción de agua por la semilla se manifiesta de manera diferenciada; en la primera fase (imbibición o hidratación) ocurre una absorción rápida e intensa, le sigue un período de absorción baja o nula (segunda fase) y la tercera fase se caracteriza por el aumento en la absorción de agua, la que terminará con la emisión de la radícula (Azcon-Bieto y Talón, 2008).

La entrada de agua al interior de la semilla, obedece exclusivamente a la diferencia de potencial hídrico entre la semilla y el medio que la rodea. Aunque el agua es necesaria para la rehidratación de la semilla, el exceso actuaría desfavorablemente para la germinación, pues dificultaría la llegada de oxígeno al embrión (Salisbury y Ross, 2000). El exceso de agua en el sustrato, generalmente es perjudicial cuando la semilla está muy seca y el suelo demasiado húmedo; pues esto propicia que la imbibición sea rápida, ocasionando ruptura de membranas celulares y en consecuencia, pérdida de solutos, con lo que se reduce el vigor e incluso el embrión puede morir (Azcon-Bieto y Talón, 2008). Por su parte, Pardos (2004) menciona que el exceso de agua produce asfixia al embrión por la falta de oxígeno, tanto porque impide el ingreso de aire como porque se queda atrapada el agua entre los tejidos de la semilla durante la imbibición. Esto generalmente impide la germinación, o en algunos casos, aunque la radícula emerja, la plántula muere inmediatamente.

De acuerdo con Peske y Peske (2013) el contenido de humedad de la semilla al momento de la siembra, es un factor importante en la tolerancia a los efectos dañinos por excesos de humedad en el sustrato. Reporta que semillas de soya sembradas con 11 % de humedad presentaron sólo 50 % de germinación, en tanto que, las semillas que se sembraron con 25 % de humedad, lograron 75 %, aun después de que el suelo tuviera exceso de humedad, como consecuencia de lluvias torrenciales. Concluyen que, en condiciones de estrés hídrico (déficit o exceso), el tratamiento de las semillas con fungicidas aumenta el potencial de

germinación de éstas, principalmente en las semillas que presentan tegumentos gruesos o con menos poros.

2.6.1.2. Temperatura

La temperatura es factor decisivo para la germinación, ya que influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla después de la rehidratación (Bewley y Black, 1994; Taiz y Zeiger, 2006). La actividad de cada enzima tiene lugar entre un máximo y un mínimo de temperatura (Azcon- Bieto y Talón, 2008).

Las semillas de especies tropicales suelen germinar mejor a temperaturas elevadas, superiores a 25 °C. Las máximas se sitúan entre 40 y 50 °C (*Cucumis sativus* 48 °C); sin embargo, las semillas de las especies de zonas frías, germinan mejor a temperaturas entre 5 y 15 °C (*Fagus sylvatica* y *Trifolium repens*) (Fenner y Thompson, 2005).

Por otro lado, la alternancia de temperaturas entre el día y la noche actúa positivamente en la germinación, por lo que el óptimo térmico de la fase de germinación y de la de crecimiento, no tienen por qué coincidir (Bewley y Black, 1994; Moreno-Casasola, 1996).

2.6.1.3. Gases

La mayoría de las semillas requieren para su germinación un sustrato suficientemente aireado que permita la adecuada disponibilidad de O₂ y CO₂; de esta manera el embrión obtiene la energía necesaria para mantener su actividad metabólica (Taiz y Zeiger, 2006).

2.6.2. Efecto del estrés hídrico en la germinación

Como se mencionó anteriormente, el estrés hídrico incluye tanto el déficit o exceso de agua en el sustrato. Los efectos negativos que puede causar en la semilla son diversos:

Turk *et al.* (2004) reportan que al disminuir el potencial osmótico de 0 a -0.33 MPa, se redujo de manera significativa la germinación en cultivares de lenteja (*Lens culinaris* Medic), excepto en FLIP8616, un cultivar tolerante a la sequía. La reducción en el porcentaje de germinación la atribuyeron a la posibilidad de que la difusión del agua a través de las cubiertas haya disminuido.

Cornaglia *et al.* (2005) evaluaron cuatro niveles de humedad: capacidad de campo continua y tres frecuencias de riego, cada 2, 4 y 7 días, en la germinación de semillas de Dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.). Concluyeron que el patrón de la disponibilidad de agua en el suelo reduce el establecimiento exitoso de esta especie.

Gazanchian *et al.* (2006) estudiaron la influencia de cuatro niveles de humedad en el suelo: -0.03 ; -0.2 ; -0.6 y -15 MPa (cerca al punto de marchitez permanente) respectivamente, en la emergencia de plántulas de 36 poblaciones de gramíneas nativas, en los géneros: *Elymus*, *Agropyron*, *Secale*, *Hordeum*, *Bromus*, *Festuca* y *Dactylis*, colectadas en diferentes localidades de Irán. Reportan que, como consecuencia de los bajos niveles de humedad en el suelo, la emergencia mostró diversidad, además de que la germinación fue baja.

Tsougkrianis *et al.* (2009) caracterizaron en laboratorio el efecto del potencial de agua del sustrato en la germinación de maíces tolerantes y sensibles a la sequía. Aplicaron diversos niveles de humedad: -0.03 (bien hidratada), -1.28 , -1.41 , -1.58 y -2.05 MPa (con 6 % de humedad); evaluaron el porcentaje de agua embebida y la germinación. Reportan que, en los siete cultivares, la máxima imbibición se obtuvo cuando el sustrato se mantuvo bien hidratado (-0.03 MPa); por lo que al respecto concluyeron que un factor importante para que la semilla absorba agua, es la disponibilidad de ésta en el sustrato. En lo que a germinación se refiere, los mejores porcentajes se obtuvieron en los cultivares sensibles a sequía con condiciones medias de humedad, y, para los cultivares resistentes a la sequía, la germinación fue mejor cuando el sustrato tuvo menor humedad.

Por su parte, Pliego-Marín *et al.* (2013) investigaron la influencia de diferentes niveles de estrés hídrico (déficit de humedad) en la capacidad germinativa de colectas de frijol de los Valles Centrales de Oaxaca. Reportan que en ausencia de estrés hídrico, obtuvieron porcentajes de germinación que fluctuaron entre 77 y 100 %, pero conforme aumentó el nivel de estrés, el porcentaje de germinación disminuyó notablemente.

Varela y Albornoz (2013) describieron la morfología y anatomía de la cubierta seminal de Cebil (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil* Griseb) Altschul, y la relacionaron con el comportamiento de la viabilidad, imbibición y germinación de semillas recién cosechadas y semillas almacenadas por cinco meses. Concluyeron que, la morfología y anatomía de las semillas juegan un papel importante en la imbibición y germinación y que las características evaluadas contribuyen a la predicción de la longevidad de las semillas de *Colubrina* var. *Cebil*.

2.7. Latencia de semillas

Se denomina latencia al fenómeno por el cual una semilla viable no germina cuando se coloca en un sustrato húmedo, aireado y a temperatura adecuada para que ocurran los procesos metabólicos que conducen a la germinación (Bradford y Nonogaki, 2007; Camacho, 2011).

La latencia es una fase de la vida de la semilla, después de la maduración, en la que su desarrollo se detiene por factores estructurales o fisiológicos, dependiendo de la propia semilla. A la fase de latencia se contraponen la de reposo o quiescencia, en la que la actividad metabólica de la semilla se detiene, debido a que alguno de los factores ambientales no es favorable para la germinación (Bewley y Black, 1994).

La mayoría de las semillas de plantas cultivadas, maduras, secas y sanas, germinan rápida y uniformemente cuando se siembran en condiciones adecuadas y en el momento apropiado, sin embargo, en plantas silvestres, se presentan una

serie de anomalías, por lo que la germinación rápida y uniforme es una rara excepción (Fenner y Thompson, 2005).

La latencia ha contribuido al desarrollo de nuevas especies y a la dispersión de las ya existentes. Como parte del mecanismo para sobrevivir a las condiciones adversas, ésta, ofrece una estrategia para distribuir la germinación en el tiempo y el espacio con el fin de disminuir el riesgo de muerte prematura por una catástrofe ambiental (Fenner, 2000).

2.7.1. Clasificación de la latencia

En función de su origen, de manera general se reconocen dos tipos: latencia primaria o innata y latencia secundaria o adquirida (Baskin y Baskin, 2004; Camacho 2011).

La latencia primaria o innata, se establece durante el desarrollo y maduración de la semilla y ocurre principalmente por embriones rudimentarios y/o fisiológicamente inmaduros, cubiertas impermeables o mecánicamente resistentes e inhibidores de la germinación, como los taninos entre otros (Moreno-Casasola, 1996; Fenner, 2000; Bradford y Nonogaki, 2007); la latencia secundaria, se presenta cuando las semillas están expuestas a condiciones ambientales desfavorables para la germinación (Bewley y Black, 1994).

La presencia de latencia en la semilla independientemente de la causa que la origine, depende de las condiciones ambientales que predominan durante su desarrollo, y de su constitución genética (Copeland y McDonald, 2001). Las condiciones ambientales, influyen más en la latencia impuesta por el endocarpio, que en la latencia del embrión (Besnier, 1989).

En frutales, Díaz-Montenegro (2002) menciona que las semillas provenientes de frutales tropicales y subtropicales, no requieren tratamientos específicos para germinar, ya que sólo presentan paradormancia, ecodormancia o ambas, sin embargo, las semillas de frutales caducifolios, necesitan exposición al frío, para disminuir o eliminar las concentraciones de Ácido Abscísico.

2.7.2. Regulación endógena de la latencia

Internamente la latencia puede originarse por falta de nutrientes en el embrión, así como por cambios de tipos de proteínas, y se ha observado que, por ejemplo, cuando se estratifican en húmedo endocarpios de durazno, hay una reducción de proteínas grandes con la consecuente germinación (Salisbury y Ross, 2000). De igual manera, las hormonas desempeñan un rol importante en la germinación de semillas de frutales, pues si no existe suficiente cantidad o actividad de hormonas estimulantes o bien el contenido y actividad de los inhibidores es alto, la germinación no ocurre (Azcon-Bieto y Talón, 2008).

Las giberelinas, en especial el Ácido Giberélico (AG) es necesario en la iniciación de la germinación, y puede también influenciar el tiempo de la emergencia foliar. El incremento más notable en los niveles de AG durante la germinación por lo general ocurre antes de la protrusión de la radícula, ya que uno de los efectos de esta hormona, es el estímulo de la elongación celular, que en este caso, permite que la radícula pueda empujar a través del endospermo la cubierta de la semilla o la cubierta del fruto, que restringen su crecimiento (Salisbury y Ross, 2000).

En contraparte, el Ácido Abscísico impone la latencia a las semillas, ya que frena el metabolismo del embrión, e impide su crecimiento. En cultivares de *Arabidopsis*, se reporta que el frío induce la destrucción de esta hormona, y favorece la síntesis de Ácido Giberélico, aumentando así el potencial germinativo del embrión (Audesirk *et al.*, 2003).

2.7.3. Control exógeno de la latencia

Las semillas de los frutales caducifolios requieren temperaturas bajas entre 5 y 7 °C para germinar, la germinación ocurre con mayor rapidez si las semillas permanecen en la oscuridad, pero en general, no se conoce que la latencia esté regulada por la cantidad o tipo de luz (Díaz-Montenegro, 2002). Por otro lado, se ha observado que la aplicación de biorreguladores como el Ácido Giberélico a 200 ppm, reduce el periodo de estratificación y acelera el proceso de germinación; no

obstante, el efecto y la concentración requerida, es variable para cada especie (Copeland y McDonald, 2001).

2.8. Los bancos de semillas del suelo

El banco de semillas del suelo, es el reservorio o almacén de semillas viables que permanecen aquí por periodos de tiempo variables, ya sea enterradas, sobre la superficie, o mezcladas en la capa de hojarasca y humus (Figuroa y Jasick, 2004).

Las semillas recién diseminadas sobre el suelo, tienen tres destinos diferentes (De Souza *et al.*, 2006):

- 1) Germinar inmediatamente después de su llegada al suelo
- 2) Entrar en un periodo de quiescencia hasta que las condiciones ambientales sean apropiadas para la germinación y,
- 3) Morir por envejecimiento natural o por la acción de parásitos o depredadores

En el primer caso, se forman solamente bancos de semillas relativamente efímeros, correspondientes a la época de diseminación de las semillas de cada especie. En el segundo, se forma un reservorio de semillas de mayor duración, que permanece en el suelo, hasta que un cambio ambiental interrumpe la acción del mecanismo que induce la ausencia de germinación. Otra situación en la que se forman bancos de semillas permanentes se debe a la llegada continua al suelo de semillas de especies que presentan producción continua (Fenner y Thompson, 2005).

La longevidad ecológica y potencial de la semilla en el banco del suelo, está relacionada con distintos factores: historia de vida de la planta, estacionalidad climática y separación entre el periodo de fructificación y el de germinación y establecimiento (climas marcadamente estacionales favorecen especies con mayor longevidad), grado de discontinuidad en el hábitat, agente dispersor de las

semillas, presión de depredadores antes y durante la germinación y niveles de estrés ambiental (De Souza *et al.*, 2006).

Por otro lado, también la estructura, composición y fisiología de las semillas, determinan la variabilidad en la longevidad ecológica y potencial. Algunas características importantes son: dureza e impermeabilidad de la testa o cubiertas de la semilla; contenido de humedad con el que se disemina la semilla y el grado de tolerancia a la desecación, tolerancia a la temperatura de congelación del agua, naturaleza de la latencia, tasa metabólica o respiración mínima o interrumpida que se pueda alcanzar sin afectar la viabilidad; tipo de reservas y su propensión al deterioro químico, disposición del agua subcelular, composición de los lípidos de las membranas celulares, resistencia a la invasión de microorganismos y resistencia al deterioro del material genético (Bewley y Black, 1994).

La sobrevivencia de las semillas, así como el tamaño del banco de semillas en el suelo, dependen de las condiciones de enterramiento y hábitat, edad de la semilla, densidad y predación, que afectan el flujo de entrada en el suelo (Milberg *et al.*, 2000).

El contenido de agua en el suelo puede afectar la sobrevivencia de las semillas, (Maia *et al.*, 2004). La sobrevivencia de especies de plantas de hábitat terrestre, disminuye drásticamente en suelos saturados y es bien tolerada en especies que crecen en sustratos saturados (Van der Valk y Davis, 1976). Por su parte, Lokeshia *et al.* (1992) mencionan que la composición química de las semillas interviene tanto en la dispersión como en la persistencia, ya que la acumulación de lípidos parece favorecer la dispersión anemocórica, debido a una reducción gravimétrica y a la mayor disponibilidad de energía por unidad de peso, respecto al aporte de las proteínas y carbohidratos.

Además de la acción de los factores bióticos, la persistencia de las semillas en el banco del suelo, también está influida por efectos climáticos; entre ellos, la acción de la temperatura, humedad del suelo y luz (Funes *et al.*, 2003); así como también

la ocurrencia de incendios y el pastoreo, entre otros disturbios, son responsables de la longevidad de las semillas en el banco del suelo (Álvarez, *et al.*, 2005).

Por su parte, Cavieres y Arroyo (2001) establecen que, en la persistencia de las semillas en el banco del suelo, existe una compleja interacción genético-ambiental, ya que si bien es una característica de la especie, puede ser modificada por las condiciones ambientales a las cuales la semilla está expuesta (Fenner y Thompson, 2005).

Existen múltiples investigaciones respecto a la persistencia de las semillas en el banco del suelo, de varias especies; se citan algunas que aportan elementos diversos para explicar y contrastar los resultados de esta investigación.

Caver (1995) estudió la germinación en semillas enterradas de 12 especies de pastos. Reporta que la mayoría germinaron a una profundidad de 1 cm, mientras que la germinación disminuyó a 20 cm de profundidad; también menciona que, las semillas que lograron germinar a mayor profundidad fueron las de mayor tamaño; concluyó que la habilidad de las semillas de emerger a diferentes profundidades, depende de las características físicas del suelo y del tamaño de las semillas, ya que las más grandes poseen mayor cantidad de reservas.

Narbona *et al.* (2003) evaluaron el efecto de algunos factores ecológicos (fuego, escarificación a través del paso del tracto digestivo de los animales dispersores de las semillas) que pueden afectar la germinación de las semillas de madroño (*Arbutus unedo* L.). Concluyeron que el fuego afecta la germinación de las semillas y que el paso por el tracto digestivo de los animales favorece la germinación, al funcionar la secreción de ácidos gástricos como agente escarificador; de igual manera, encontraron que la pulpa del fruto inhibe la germinación.

Schutte *et al.* (2008) en poblaciones de *Ambrosia trifida* L. (Asteraceae), estudiaron la relación entre el tamaño de la semilla y la persistencia en el banco de semillas del suelo (longevidad). Reportan que existe una relación inversa entre el tamaño de la semilla y la longevidad; sin embargo, con fines de éxito en el

establecimiento de las plántulas en el banco del suelo, el menor tamaño es desventajoso, ya que posee menor cantidad de reservas y en consecuencia, la plántula se ve afectada por las condiciones ambientales.

Chaideftou *et al.* (2009) estudiaron la composición del banco de semillas persistente y la vegetación existente en respuesta al pastoreo en los bosques de roble del área submediterránea de Grecia. Reportan que el tamaño del banco de semillas es mucho mayor que la vegetación prevaleciente en el área, por lo que concluyen que, el pastoreo constituye un factor negativo en la conservación de los ecosistemas vegetales.

Rodríguez y García (2009) estudiaron la importancia de los depredadores y patógenos en la pérdida de semillas del banco del suelo, en *Sida rhombifolia*, una hierba tropical que crece en las áreas perturbadas en Sao Paulo, Brasil. Sembraron semillas a cinco diferentes profundidades y monitorearon el experimento por dos años. Reportan que, los depredadores y patógenos fueron responsables de la pérdida de 40 % de semillas, durante el primer año. El efecto de la depredación disminuyó con la profundidad de la siembra y el ataque de hongos tuvo el mismo comportamiento a cualquier profundidad, a excepción de las semillas colocadas en la superficie del suelo, donde fue insignificante. Sin embargo, las plántulas no emergieron a profundidades mayores a cinco centímetros. Concluyeron que, la emergencia de plántulas y la muerte de semillas, son pérdidas (salidas) importantes en el banco de semillas en el suelo.

Gardarin *et al.* (2010) analizaron la relación del tamaño, forma, contenido de proteínas, lípidos y el grosor de la cubierta de las semillas de 13 especies de malezas con la persistencia en el suelo. Reportan que la única característica que tiene influencia en la conservación de la viabilidad de las semillas en el banco del suelo, es el espesor de la cubierta, por lo que concluyeron que la mortalidad de la semilla disminuye a medida que el espesor de la cubierta aumenta, ya que puede protegerla de ataques de microorganismos en el suelo. Este carácter, puede medirse fácilmente a través de rayos X, y puede emplearse como parámetro para predecir la tasa de mortalidad de las semillas de otras especies.

Ferrandis *et al.* (2011) evaluaron los patrones de germinación en *Podocarpus angustifolius* y la naturaleza del banco de semillas del suelo. Usaron semillas recién colectadas y semillas que obtuvieron de muestras de suelo, ambas fueron pretratadas con remojo en agua por 48 horas. Reportan que la germinación inició 30 días después de la siembra en ambos orígenes, lo que sugiere presencia de latencia morfofisiológica poco profunda. Los mejores porcentajes de germinación los obtuvieron en las semillas recién colectadas (70 %), esto probablemente obedeció al envejecimiento natural de las semillas que se tomaron de las muestras de suelo, en las que sólo hubo 15 % de germinación. Indican que la naturaleza del banco de semillas en el suelo, de *P. angustifolius*, es de tipo persistente, fenómeno poco común en especies recalcitrantes.

O'Farrill *et al.* (2011) estudiaron la posible relación entre la germinación y la consecuente persistencia de las plántulas de zapote (*Manilkara zapota*) con el origen de la semilla, y la distancia a la que haya sido dispersada. Reportan que los factores estudiados tienen efecto sobre la germinación de las semillas y sobre la probabilidad de establecimiento de las plántulas; sin embargo, mencionan que el desplazamiento de la semilla lejos del árbol padre, si bien reduce la competencia intraespecífica, no asegura la supervivencia, por lo que es preferible que las semillas sean depositadas en micrositos dentro de su tolerancia ambiental, para que la dispersión tenga éxito.

Wang *et al.* (2011) analizaron la persistencia de las semillas en el banco del suelo y correlacionaron la longevidad con el tamaño de la semilla y forma e historia de vida de la especie. Reportan que la persistencia está directamente relacionada con el tamaño pequeño de la semilla y con especies anuales y bianuales, por lo que las semillas de especies perennes, es poco probable que logren persistir en el banco del suelo. También reportan que, la forma de la semilla no está relacionada con la persistencia en el suelo.

De Jong *et al.* (2013) estudiaron la relación entre el grado de domesticación y la capacidad para formar un banco de semillas persistente en el suelo, en semillas de *Brasica napus* cultivada y *Brasica rapa* que es silvestre. Reportan que en el

primer año en el que observaron la germinación, ésta fue superior en las semillas silvestres que en las cultivadas, por lo que el estatus de una especie, puede ser indicativo para predecir el comportamiento de las semillas en el banco del suelo.

2.9. Tolerancia a la desecación de semillas

La desecación es una cualidad importante que confiere protección a los tejidos de las semillas que pueden sufrir daños durante la deshidratación (Vertuci y Farrant, 1995); sin embargo, aun cuando es necesaria para completar el desarrollo de la semilla, también causa daños cuando el agua removida llega a niveles críticos que ponen en riesgo la sobrevivencia de la semilla (Walters *et al.*, 2001).

De acuerdo con Roberts (1973) las semillas con base en su grado de tolerancia se clasifican en tres categorías:

1. Ortodoxas. Aquellas que toleran disminuciones del orden de 5 % o inferior y que pueden almacenarse a temperaturas inferiores a 0 °C, sin afectar sustancialmente la viabilidad.
2. Recalcitrantes. Son las semillas que no toleran la desecación al nivel de las ortodoxas, lo que dificulta su almacenamiento a mediano y largo plazo.
3. Intermedias. De acuerdo con Hong y Ellis (1990), esta categoría incluye a las semillas que toleran los niveles de desecación más bajos en el grupo de las recalcitrantes, pero no al grado de las semillas ortodoxas.

2.9.1. Factores que propician la tolerancia y/o susceptibilidad a la desecación

2.9.1.1. Madurez de la semilla

Para el caso de la categoría intermedia (Ellis *et al.*, 1991a; Vertuci *et al.*, 1994), mencionan que la madurez de la semilla tiene un efecto negativo en la tolerancia a la desecación; tal es el caso observado en semillas de café arábica y robusta, donde las semillas extraídas de frutos con madurez intermedia que presentaban

color amarillo, toleraron un mayor grado de desecación que cuando se colectaron demasiado maduros o inmaduros (Ellis *et al.*, 1995).

2.9.1.2. Método de extracción y procesamiento de las semillas

El método de extracción y procesamiento de las semillas, también influye en el grado de tolerancia a la desecación y longevidad. Las semillas de café arábica embebidas a 30 °C durante 3-10 días mostraron mayor sensibilidad a la desecación. Lo mismo ocurre con los demás métodos que involucran un alto contenido de humedad como: remojo, fermentación, almacenamiento en húmedo, entre otros (Ellis *et al.*, 1991a).

2.9.1.3. Procedencia geográfica

Al respecto, Daws *et al.* (2004b; 2006b) reportan que la procedencia geográfica, tiene un efecto significativo en el desarrollo y grado de deshidratación tolerado por las semillas de las diferentes especies.

2.9.1.4. Calidad de semillas

La mala calidad de las semillas cosechadas al final de la temporada, que a menudo se encuentran infectadas por hongos situados dentro de los tejidos de éstas, aceleran el proceso de deterioro después de la deshidratación (Chien y Lin, 1997).

2.9.1.5. El período de sequía del sitio de procedencia

Dussert *et al.* (2000) encontraron una correlación negativa entre la sensibilidad a la desecación y el número de meses secos, en los diferentes hábitats de procedencia, es decir, a mayor número de meses secos, menor sensibilidad a la desecación y viceversa.

2.9.1.6. El número de meses secos entre la dispersión y el inicio de la siguiente temporada de lluvias

Farnsworth (2000); Dussert *et al.* (2000) evaluaron la tolerancia a la desecación de nueve especies de *Coffea*, y encontraron que el grado de tolerancia a la desecación se relaciona con el número de meses secos entre la dispersión y el inicio de la siguiente temporada de lluvias; por lo que puede argumentarse que, comúnmente las semillas de especies recalcitrantes se dispersan durante la estación húmeda. En concordancia relativa con Dussert *et al.* (2000), Tweddle *et al.* (2003) aseveran que, la proporción de especies productoras de semillas recalcitrantes, disminuye a medida que el hábitat se vuelve más seco, o muestra una estacionalidad con una estación seca prolongada. Así también encontraron que la sensibilidad a la desecación está relacionada con la ausencia de dormancia en las semillas.

La variabilidad en la sensibilidad a la desecación no sólo ocurre entre especies distintas, también se presenta en las semillas de un mismo lote; dicho fenómeno puede atribuirse en gran parte a la variación en tamaño de las semillas dentro de la muestra; esto porque en las semillas más pequeñas la pérdida de humedad es más rápida que en las más grandes (Berjak y Pammenter, 2008), lo que implica que probablemente las únicas que sobreviven al secado son estas últimas.

2.9.2. Aspectos a considerar para clasificar correctamente el comportamiento de las semillas en el almacén

2.9.2.1. Madurez de la semilla

Emplear semillas maduras y preferentemente de un mismo árbol o de árboles vecinos para que la madurez sea homogénea; sobre todo en especies silvestres es común que haya disparidad en el grado de madurez, por lo que una desecación rápida reduce severamente la calidad de las semillas (Fisher *et al.*, 1988; Hong y Ellis, 1990; Ellis *et al.*, 1995).

El remojo prolongado, fermentación de frutos carnosos, períodos prolongados de almacenamiento en húmedo y/o semillas recién extraídas, pueden dañar la viabilidad (Hong y Ellis, 1990).

2.9.2.2. Métodos de secado inapropiados

Ocasionan pérdida considerable de la viabilidad, sobre todo el uso de temperaturas elevadas cuando la semilla se recolectó con alto contenido de humedad (Jara, 1997); cuando no se dispone de equipo de secado, el Gel de Sílice es una buena opción, especialmente cuando se desea disminuir el contenido de humedad en la semilla a 8 % o menos, aún en semillas con elevados contenidos de almidón (Hanson, 1985).

Para determinar si las semillas han logrado el contenido de humedad deseado (CHD %), usando Sílica gel, puede aplicarse la siguiente fórmula propuesta por Hong y Ellis (1996):

$$\text{Peso de la semilla (g) al CHD \%} = \frac{[100 - \text{CHi (\%)}]}{[100 - \text{CHD (\%)}] } [\text{Pi (g)}]$$

Donde:

CHi = Contenido de humedad inicial en porcentaje

Pi = Peso inicial en gramos

CHD = Contenido de humedad deseado en porcentaje.

2.9.2.3. Duración de la prueba de germinación

El tiempo necesario para germinar es variable entre las especies, algunas requieren un año o más; es importante considerar que el secado puede provocar latencia y ocasionar errores en la clasificación (Tompsett y Pritchard, 1993; Tompsett y Pritchard, 1998; Pritchard y Dickie, 2003).

2.9.2.4. Transporte

En semillas cuyo comportamiento en el almacén se desconoce, es conveniente mantenerlas a temperaturas de 15 a 20 ° C, en bolsas de polietileno perforadas, por períodos breves (Hong y Ellis, 1996).

4.9.3. Enfoques para predecir el comportamiento de las semillas en el almacén.

4.9.3.1. Asociación entre la ecología vegetal y el comportamiento en el almacén

King y Roberts (1979) mencionan que las especies que producen semillas ortodoxas y/o intermedias, en la mayoría de los casos provienen de ambientes sometidos a sequías ocasionales o de temporada, por lo que la tolerancia de las semillas a la desecación es necesaria para la supervivencia y continuidad de la especie. En cambio las especies con semillas recalcitrantes, por lo general proceden de ambientes con disponibilidad de humedad durante el proceso de desarrollo, maduración y dispersión de las semillas; sin embargo, no se puede generalizar, ya que especies nativas de ambientes húmedos pueden producir semillas de las tres categorías (Hong y Ellis, 1996).

4.9.3.2. Clasificación taxonómica

Especies correspondientes a las familias: Chenopodiaceae, Combretaceae, Compositae, se comportan como ortodoxas, mientras que las especies de Rhizophoraceae en las que predomina la viviparidad, son recalcitrantes (Hong y Ellis, 1996); sin embargo, el comportamiento también puede diferir entre las especies de un mismo género (Tompsett, 1984).

4.9.3.3. Características de planta, fruto o semilla

Las especies con semillas ortodoxas producen aquenios, bayas, cápsulas, silículas, cariósides; sin embargo, no se puede generalizar y es posible encontrar estas características en semillas de las tres categorías (Tompsett, 1992).

4.9.3.4. Contenido de humedad en la madurez o desprendimiento

Aquellas que presentan entre 20 y 50 %, se relacionan con comportamiento ortodoxo; aquellas con 23 a 55 % se espera que sean intermedias en tanto que las recalcitrantes pueden presentar contenidos de humedad del orden de 36 a 90 %.

4.9.3.5. Efectos parentales y anuales.

En la recolección de semillas la cantidad y calidad van a la par. El porcentaje de viabilidad de las semillas de un árbol altamente productivo suele ser mayor que en un árbol de escasa producción. Por otro lado, un árbol padre mostrará un porcentaje de viabilidad de sus semillas mayor en el año de alta producción que en el de baja producción. A su vez, las semillas recolectadas en el año de alta producción serán más longevas que las recolectadas en el año de baja producción (Jara, 1997).

4.9.3.6. Viabilidad inicial.

Los lotes de semillas que inicialmente tienen un alto porcentaje de viabilidad, en el almacenamiento presentan una longevidad mayor que aquellos cuya viabilidad inicial fue baja (Jara, 1997).

2.10. LITERATURA CITADA

- Abramson, D.; R. Hulasar; R. K. York; N. D. G. White y D. S. Joyas. 2005.** Mycotoxins, ergosterol and odor volátiles indurum wheat during granary storage at 16 % and 20 % moisture content. *Journal of Stored Products Research*. 41: 67-76.
- Álvarez, A.; C. L., Williams, y A. C., Newton. 2005.** Disturbance effects on the seed bank of Mexican cloud forest fragments. *Biotropica*, 37 (3): 337-342.
- Amaral, V. F. 2009.** Seed storage potential. *Seed News*. XIII (4) www.seednews.inf.br Consultado el 13 de octubre de 2013.
- Atici, O.; G. Agar y O. Battal. 2007.** Influence of long term storage on plant growth substance levels, germination and seedling growth in legume seed stored for 37 years. *Indian Journal of Plant Physiology*. 12:1-5.
- Audesirk, T. G.; Audesirk; B. E. Byers; H. J. Escalona G. y R. L. Escalona G. 2003.** *Biología: La vida en la tierra*. 6ª Edición. Pearson Educación. 889 p. [http://books.google.com.mx/books?id=uO48-
=book_result&ct=result&resnum=6](http://books.google.com.mx/books?id=uO48-
=book_result&ct=result&resnum=6) . Consultado el 16 de octubre de 2013.
- Avitia, G. E. y A. M. Castillo G. 2001.** *Taxonomía y nomenclatura de especies frutícolas*. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 61 p.
- Azcon-Bieto J. y M. Talón. 2000.** *Fundamentos de Fisiología vegetal*. Ediciones Universitarias de Barcelona. Barcelona, España. 522 p.
- Azcon-Bieto, J. y Talón, M. 2008.** *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. 2ª ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 522 p.
- Baskin, J. and C. Baskin. 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*. 14:1-6.

- Basra, A. S. 1995.** Seed quality: basic mechanism and agricultural implications. Food products Press. New York, USA. 83 p.
- Bayuelo-Jiménez, J. S.; J. C. Lozano R. and I. E. Ochoa. 2006.** Caracterización morfológica de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth nativa de Churumuco, Michoacán, México. Revista Fitotecnia Mexicana. 29(2): 31-36.
- Bejar, E. and M. H. Malone. 1993.** Farmacological and chemical screening of *Byrsonima crassifolia*, a medical tree of Mexico. Journal of Ethnopharmacology 39(2): 141-158.
- Berjak, P. and N. M., Pammenter. 1994.** Recalcitrance is not an all-or-nothing situation. Seed Science Research 4: 263–264.
- Berjak, P., Vertucci, C. W. and N. M., Pammenter. 1993.** Effects of developmental status and dehydration rate on characteristics of water and desiccation-sensitivity in recalcitrant seeds of *Camellia sinensis*. Seed Science Research 3: 155–166.
- Berjak, P. and N. W. Pammenter. 2008.** Review from Avicennia to Zizania: Seed recalcitrance in perspective. Annals of Botany 101: 213-228.
- Besnier, R. F. 1989.** Semillas Biología y Tecnología. Mundi-Prensa. Madrid, España. 637 p.
- Bishauw, Z.; A. A., Niane y Y. Gan. 2007.** Quality seed production. *In*: Lentil: An ancient crop for modern times. Yadav, S. S.; D. McNiel y P. C. Stevenson (eds). Springer Verlag, pp 349-383.
- Bewley, J. D. and M. Black. 1994.** Seeds: Physiology of Development and germination Second Ed. Plenum Press. New York, USA. 445 p.
- Bewley, J. D. 1995.** Physiological aspects of desiccation tolerance – a retrospect. International Journal of Plant Sciences 156: 393–403.

- Bewley, J. D. 1997.** Seed germination and dormancy. *The plant cell*. 9 (7): 1055-1066.
- Bradford, K. and H. Nonogaki. 2007.** Seed Development, Dormancy and Germination. *Annual Plant Review*. Vol. 27. Editorial Blackwell Publishing LTD. Oxford, UK. 392 p.
- Camacho, M. F. 2011.** Dormición de semillas: causas y tratamientos. Trillas. México, D. F. 232 p.
- Campbell, R. J. 1996.** South American fruits deserving further attention. *In*: J. Janick (ed.), *Progress in new crops*. ASHS Press. Arlington, VA. USA. pp. 431-439.
- Chin, H. F. 1978.** Production and storage of recalcitrant seeds in the tropics: seed problems” *In*: *Acta Hort.*, 83:17-21.
- Chin, H. F. y E. H. Roberts, 1980.** Recalcitrants Crops Seeds. Tropical Press. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Chin, H. F.; Y. L. Hor y M. B. Mohdlassim. 1984.** Identification of recalcitrant seeds. *Seed Science and Technology*, 12:429-436.
- Chien, C. T. y P. Lin. 1997.** Effects of harvest date on the storability of desiccation-sensitive seeds of *Machilus kusanoi* Hay. *Seed Science and Technology* 25: 361–371.
- Cavalcante, P. B. 1996.** Frutas Comestíveis da Amazonia. Museu Paraense Emilio Goeldi. Colecao Adolpho Ducke. Belem-Pará, Brasil. 279 p.
- Caver, P. B. 1995.** Seed Bank: memory in soil. *Canadian Journal Soil Science*. 75: 11-13.
- Cavieres, L. A. and M. T. K., Arroyo. 2001.** Persistent soil seed banks in *Phacelia secunda* (Hydrophyllaceae): experimental detection of variation

along an altitudinal gradient in the Andes of central Chile (33 degrees S).
Journal of Ecology. 89: 31-39.

Copeland, O. L. and M. B. McDonald. 2001. Principles of Seed Science and
Tecnology. 4th edition. Kluwer Press. New York. USA. 488 p.

Cordero, J. y H. Boshier (eds.). 2003. Árboles de Centroamérica. Un Manual
para Extensionistas. Instituto Forestal de Oxford-CATIE. San José, Costa
Rica. 1079 p.

Cordovil, B. R. M. e L. A. Pezóni. 2006. Biología floral e sistema reproductivo de
Byrsonima coccolobifolia (Kunth) em uma savana amazonica. Acta
amazonica 36(2): 159-168.

Cornaglia, P.; G. Schrauf; M. Nardi y V. Deregibus. 2005. Emergence of
Dallisgrass as affected by soil wáter availability. Rangeland Ecology
Management 58:35–40

**Chaideftou, E.; T. A. Costas; E. Bergmeier; A. Kallimanis y P. Dimopoulos.
2009.** Seed bank composition and above-ground vegetation in response to
grazing in sub-Mediterranean oak forests (NW Greece). Plant Ecology.
201:255-265.

De Jong, J. T.; M. Tudela I. and E. Hesse. 2013. Comparison of the crop species
Brassica napus and wild *B. napa*: characteristics relevant for building up a
persistent seed bank in the soil. Seed Science Research. 23 (03): 169-179.

Delouche, C. J. 2002. Germinación, deterioro y vigor de semillas. En línea:
<http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml>. Consultado el 15 de
octubre de 2013.

Delouche, C. J. 2005. Calidad y desempeño de la semilla. En línea:
<http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml>. Consultado el 15 de
octubre de 2013.

- Dias, D. C. F. S. 2005.** Dormancia en semillas. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml>. Consultado el 17 Octubre de 2013.
- Dias, D. C. F. S. 2001.** Maduración de la semilla. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml>. Consultado el 17 de octubre de 2013.
- Díaz-Montenegro, D. H. 2002.** Fisiología de árboles frutales. AGT. Editor. México, D.F. 390 p.
- Daws, M. I.; C. S., Gaméné; S. M., Glidewell and H. W. Pritchard. 2004a.** Seed mass variation masks a single critical water content in recalcitrant seeds. *Seed Science Research* 14:185-195.
- Daws, M. I.; E. Lydall; P., Chmielarz; O., Leprince; S., Matthews; C. A., Thanos and H. W., Pritchard. 2004b.** Developmental heat sum influences recalcitrant seed traits in *Aesculus hippocastanum* across Europe. *New Phytologist* 162: 157–166.
- Daws, M. I.; H., Cleland; P., Chmielarz; F., Gorian; O., Leprince y C. E., Mullins 2006b.** Variable desiccation tolerance in *Acer pseudoplatanus* seeds in relation to developmental conditions: a case of phenotypic recalcitrance? *Functional Plant Biology* 33: 59–66.
- De Souza, M. M.; F. C., Maia y M. A., Pérez. 2006.** Bancos de semillas en el suelo. *Agriscientia*. 23: 33-44.
- Dussert, S.; N., Chabrillange; F., Engelmann; F., Anthony; J., Louarn and S., Hamon. 2000.** Relationship between seed desiccation sensitivity, seed water content at maturity and climatic characteristics of native environments of nine *Coffea* L. species. *Seed Science Research* 10: 293–300.

- Ellis, R. H.; T. D., Hong and E. H., Roberts. 1990.** Effect of moisture content and method of rehydration on the susceptibility of pea seeds to imbibitional damage. *Seed Science and Technology* 18: 131–137.
- Ellis, R. H., T. D., Hong and E. H., Roberts. 1991.** An intermediate category of seed storage behaviour? I Coffee. *Journal of Experimental Botany* 41: 1167–1174.
- Ellis, R. H., T. D., Hong and E. H., Roberts. 1991a.** An intermediate category of seed storage behaviour? II. Effects of provenance, immaturity, and imbibition on desiccation-tolerance in coffee. *J. Exp. Bot.* 42:653-657.
- Ellis, R. H. and T. D., Hong. 1994.** Desiccation tolerance and potential longevity of developing seeds of rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany* 73: 501-506.
- Ellis, R. H.; T. D., Hong and E. H., Roberts. 1995.** Survival and vigour of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds stored at low and very-low moisture contents. *Ann. Bot.* 76:521-534.
- Farnsworth, E. 2000.** The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:107–138.
- Fenner, M. (ed). 2000.** Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. 2^a edition. CAB International. Oxon, UK. 410 p.
- Fenner, M. and K., Thompson. 2005.** The ecology of seeds. Cambridge. University Press, 250 p.
- Ferrandis, P.; M., Bonilla y L. D., Osorio. 2011.** Germination and soil seed bank traits of *Podocarpus angustifolius* (Podocarpaceae): an endemic tree species from Cuban rain forests. *Journal Tropical Biology.* 59 (3): 1061-1069.

- Figuroa, J. A. y F. M., Jaksic. 2004.** Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista Chilena Historia Natural*. 77:201-2015.
- Fisher, W; R., Bergfeld; R., Plachy and P., Schopfer. 1988.** Accumulation of storage materials, precocious germination and development of desiccation tolerance in mustard (*Sinapis alba* L.). *Bot. Acta* 101:344-354.
- Flores, H. A. 2004.** Introducción a la tecnología de las semillas. Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional de Zonas Áridas. Chapingo, México. 160 p.
- Funes, G.; S., Basconcelo; S., Díaz and M., Cabido. 2003.** Seed bank dynamics in tall-tussock grasslands along an altitudinal gradient. *Journal of Vegetation Science*. 14: 253-258.
- García-Núñez, C.; A., Azócar and J. F., Silva. 2001.** Seed production and soil seed bank in three evergreen woody species from a neotropical savanna. *Journal of Tropical Ecology* 17: 563-576.
- García-Núñez, C. y A., Azócar. 2004.** Ecología de la regeneración de árboles de la sabana. *Ecotropicos* 17(1-2): 1-24.
- García, R. M. A. y C. J. M., García. 1992.** “Contribución al estudio etnobotánico del nanche *Byrsonima* spp., distribución geográfica y alternativas de conservación de su plasma germinal”. Tesis de Licenciatura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 139 p.
- Gardarin, A.; C. Dürr; M. R., Mannino; H., Busset and N., Colbach. 2010.** Seed mortality in the soil is related to seed coat thickness. *Seed Science Research*. 20 (04): 243-256.
- Gazanchian, A.; S., Khosh; K. N., Malboobi; M. y M. Heravan, E. 2006.** Relationships between emergence and soil water content for perennial cool-season grasses native to Iran. *Crop Science* 46:544–553.

- Gepts, P. 2002.** A comparison between crop domestication, classical plant breeding and genetic engineering. *Crop Sci.* 42:1780-1790.
- Greggains, V., W. E. Finch-Savage; W. P Quick and N. M Atherton. 2000.** Putative desiccation tolerance mechanisms in orthodox and recalcitrant seeds of the genus *Acer*. *Seed Science Research* 10: 317–327.
- Guízar, N. E. y A., Sánchez V. 1991.** Guía para el conocimiento de los principales árboles del Alto Balsas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 207 p.
- Gold, K. and F., Hay. 2007.** Equilibrating seeds to specific moisture levels. Technical Information Sheet 09. Millennium Seed Bank project. Kew. U.K.
- Hampton, J. G. 2001.** ¿Que significa calidad de semillas?. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml>. Consultado el 15 octubre de 2013.
- Hampton, J. G. 2002.** What is seed Quality? *Seed Science. and Technology.* 30: 1-10.
- Hanson, J. 1984.** “The storage of seeds of tropical tree fruits”. *In:* Holden, J.H.W. y Williams, J.T. (eds.) *Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation.* George Allen & Unwin, London. pp. 53-62.
- Hanson, J. 1985.** Procedures for Handling Seeds in Genebanks. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.
- Hay, F. R. y R. J., Probert. 1995.** Seed maturity and the effect of different drying conditions on desiccation tolerance and seed longevity in foxglove (*Digitalis purpurea* L). *Annals of Botany* 76: 639-647.
- Hong, T. D. and R. H., Ellis. 1990.** A comparison of maturation drying, germination, and desiccation tolerance between developing seeds of *Acer pseudoplatonus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytologist* 116: 589–596.

- Hong, T. D. and R. H., Ellis. 1996.** A protocol to determine seed storage behavior. IPGRI. Technical Bulletin No. 1 (J. M. M. Engels and J. Toll, vol. eds). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Jara, N. L. F. 1997.** Secado, Procesamiento y Almacenamiento de semillas forestales. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 139 p. disponible en http://www.google.com.mx/search?hl=es&q=contenido+de+humedad+de+la+s+semillas&meta=&rlz=1R2GGLL_es&aq=f&oq=. Consultado el 30 agosto de 2013.
- Juárez, D. J. C. 1998.** La familia Malpighiaceae en el estado de Morelos. Tesis profesional. Universidad Autónoma del estado de Morelos. Facultad de Ciencia Biológicas. Cuernavaca, Morelos. 90 p.
- Kibinza, S.; J. Bazin; C. Bailly; J. M. Farrant; F. Corbineau y H. El – Marouf – Bouteau. 2011.** Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Science*. 181: 309-315.
- King, M. W. y E. H., Roberts. 1979.** The Storage of Recalcitrant Seeds. Achievements and Possible Approaches. IBPGR, Rome. Italy.
- León, J. 2000.** Botánica de los cultivos tropicales. Tercera edición. Colección Libros y materiales Educativos núm., 84. IICA. San José, Costa Rica. 523 p.
- León, L. P. and R. H. Ellis. 2002.** Seed storage behavior of *Fagus sylvatica* and *Fagus crenata*. *Seed Science Research*.12:31-37.
- Liang, Y. and W. Q. Sun. 2000.** Desiccation tolerance of recalcitrant *Theobroma cacao* embryonic axes: the optimal drying rate and its physiological basis. *Journal of Experimental Botany* 51: 1911–1919.
- Loksha, R.; S. G. Hedge; R. Uma, Shaanker and K. N. Ganeshiah. 1992.** Dispersal mode as a selective force in shaping the chemical composition of seeds. *American Naturalist*. 140: 520-525.

- Love, B. and D. Spaner. 2005.** A survey o small-scale farmers using trees in pastures in Herrera Province, Panama. *Journal of Sustainable Forestry* 20(3): 37-65.
- Maia, F. C.; R. B. Medeiros; V. P. Pillar and T. Focht. 2004.** Soil seed bank variation patterns according to environmental factors in a natural grassland. *Revista Brasileira de Sementes.* 26 (2): 26-137.
- Martínez-Moreno, E.; T. Corona-Torres; E. Avitia-García; A. M. Castillo-González; T. Terrazas-Salgado y M. T. Colinas-León. 2006.** Caracterización morfométrica de frutos y semillas de nanche [(*Byrsonima crassifolia* L.)H.B.K.]. *Revista Chapingo. Serie Horticultura* 12(1): 11-17.
- Martínez, M. E.; H. J. Santiaguillo, F. y J. A. Cuevas, S. 2008.** Principales usos del nanche [(*Byrsonima crassifolia* L.) H.B.K.]. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 57 p.
- Medina-Torres, R.; S. Salazar-García y J. R. Gómez-Aguilar. 2004.** Fruit quality indices in eight nance [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.] selections. *HortScience* 39(5): 1070-1073.
- Milberg, P.; L. Andersson and K. Thompson, 2000.** Largeseeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research* 10: 99-104.
- Moreno, M. E. 1996.** Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 3ª edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 393 p.
- Moreno- Casasola, P. 1996.** Vida y obra de granos y semillas. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 437 p.
- Moreno, G. M. N. 2000.** “El nance [(*Byrsonima crassifolia* L) H.B.K.] como recurso natural antimicrobiano en enfermedades gastrointestinales y respiratorias”.

- Muñoz, de Ch. M.; Chávez V., A.; Roldán A., J. A.; Ledesma S., J. A.; Mendoza M., E.; Pérez-Gil R., F. 1996.** Tablas de valor nutritivo de los alimentos. Tercera reimpresión. Instituto Nacional de la Nutrición “Salvador Zubirán”. Editorial Pax. México. D.F. 132 p.
- Nagel, M. y A. Börner. 2010.** The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. *Seed Science Research*. 20:1-12.
- Narbona, E.; M. Arista y P. L. Ortiz. 2003.** Germinación de las semillas de madroño (*Arbutus unedo* L., Ericaceae). *Acta Botánica Malacitana*. 28: 73-78.
- Niembro, R. A.; I. Morato y J. A. Cuevas-Sánchez. 2004.** Catálogo de Frutos y Semillas de Árboles y Arbustos de Valor Actual y Potencial para el Desarrollo Forestal de Veracruz y Puebla. Instituto de Ecología, A. C. Xalapa, Veracruz, México. 928 p.
- Nithya, U.; V. Chelladurai; D. S. Jayas y N. D. G. White. 2011.** Safe storage guidelines for durum wheat. *Journal of Stored Products Research*. 47: 328-333.
- Nonogaki, H.; G. W. Bassel y J. D. Bewley. 2010.** Germination – Still a mystery. *Plant Science*. 179: 574-581.
- O’Farrill, G.; A. Colin, C. and A. Gonzalez. 2011.** Origin and deposition sites influence seed germination and seedling survival of *Manilkara zapota*: implications for long-distance, animal-mediated seed dispersal. *Seed Science Research*. 21(04):305-313.
- Pardos, J. A. 2004.** Respuestas de las plantas al anegamiento del suelo. *Invest. Agrar: Sist. Recur. For.* 101-107.
- Pennington, T. D. y J. Sarukhán. 2005.** Árboles Tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. Universidad Nacional

Autónoma de México. Instituto de Ecología. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. pp: 304-305.

Peraza-Sánchez, S. R.; S. Poot-Kantun; L. W. Torres-Tapia; F. May-Pat; P. Sima-Polanco and R. Cedillo-Rivera. 2005. Screening of native plants from Yucatán for anti-*Giardia lamblia* activity. *Pharmaceutical Biology* 43(7): 594-598.

Peske, S. T. y F. B. Peske. 2013. Absorción de agua bajo estrés. *Seed News*. Consultado en línea el 11 de octubre de 2013. http://www.seednews.inf.br/html/site_es/content/reportagem_capa/?edicao=49.

Pliego-Marín, L.; J. López-Baltazar y E. Aragón-Robles. 2013. Características físicas, nutricionales y capacidad germinativa de frijol criollo bajo estrés hídrico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4(6):1197-1209.

Pritchard, H. W. y J. B. Dickie. 2003. Predicting seed longevity: use and abuse of seed viability equations. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard & R.J. Probert (eds). *Seed Conservation: Turning Science into Practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 653-722. http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_35.pdf.

Rao, R. G. S.; P. M., Singh y M., Rai. 2006. Storability of onion seeds and effects of packaging and storage conditions on viability and vigour. *Scientia Horticulturae*. 110: 1- 6.

Raya-Pérez, J. C. ; C. L. Aguirre-Mancilla; K. Gil-Vega y J. Simpson. (2010). La domesticación de plantas en México: comparación de la forma cultivada y silvestre de *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae). *Polibotánica*. 30: 239-256.

Roberts, E. H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology*. 1: 499-514.

- Roberts, E. H., M. W., King y R. H., Ellis. 1984.** “Recalcitrant seeds: their recognition and storage”. *In*: Holden, J.H.W. y Williams, J.T. (eds.) Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation. Allen & Unwin, London. pp. 38-52.
- Rodríguez, C. y M. A., García. 2009.** Seed-bank dynamics of the tropical weed *Sida rhombifolia* (Malvaceae): incidence of seedling emergence, predators and pathogens. *Seed Science Research*. 19 (04): 241-248.
- Salisbury, F. B. y C., Ross. 2000.** Fisiología de las plantas 3. Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental. Paraninfo. Madrid, España. 765 p.
- Schutte, B. J.; E. E., Regnier and S. K., Harrison. 2008.** The association between seed size and seed longevity among maternal families in *Ambrosia trifida* L. populations. *Seed Science Research*. 18 (04): 201-211.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2012.** http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351 Consultado el 20 de agosto de 2013.
- Stevens, W. D; C., Ulloa; A. Pool y M., Montiel. 2001.** Flora de Nicaragua. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis Missouri, U. S. A. 720 p.
- Sveinsdóttir, H.; F. Yan; Y. Zhu; T. Peiter-Volk y S. Schubert. 2009.** Seed ageing – induced inhibition of germination and post-germination root growth is related to lower activity of plasma membrane H⁺-ATPase in maize roots. *Journal of Plant Physiology*. 166: 128- 135.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2006.** Plant Physiology. Fourth ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, M A. 705 p.
- Tompsett, P. B. 1984.** Desiccation studies in relation to the storage of *Araucaria* seed. *Ann. Appl. Biol*. 105:581-586.

- Tompsett, P. B. 1992.** A review of the literature on storage of *Dipterocarpus* seeds. *Seed Sci. and Technol.* 20:251-267.
- Tompsett, P. B. and H. W. Prichard. 1993.** Water status changes during development in relation to the germination and desiccation tolerance of *Aesculus hippocastanum* L. seeds. *Annals of Botany* 71: 107–116.
- Tompsett, P. B. and H. W. Pritchard. 1998.** The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastanum* L. seed. *Annals of Botany* 82: 249–261.
- Tsougkrianis, N.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo, L. y J. D. Molina G. 2009.** El potencial de agua en el sustrato en la germinación de maíces con tolerancia y sensibilidad a la sequía. *Agricultura Técnica en México.* 35(4): 363-369.
- Turk, M.; A. Rahman; M. Tawaha y K. Lee. 2004.** Seed germination and seedling growth of three lentil cultivars under moisture stress. *Asian Journal of Plant Sciences* 3(3):394-397.
- Tweddle, J. C.; J. B. Dickie; C. C. Baskin and J. M. Baskin. 2003.** Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. *Journal of Ecology* 91:294–304.
- Van der Valk, A. G. y C. B. Davis. 1976.** The seed banks of prairie glacial marshes. *Canadian Journal of Botany* 54: 1832-1838.
- Varela, R. O. y P. L., Albornoz. 2013.** Morpho-anatomy, imbibition, viability and germination of the seed of *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Fabaceae). *Journal Tropical Biology.* 61 (3): 1109-1118.
- Vázquez-Yañez, C.; A. I. Bátiz-Muñoz; M. I. Alcocer-Silva; M. Gual-Díaz y C. Sánchez-Dirzo. 1999.** Árboles y Arbustos Potencialmente Valiosos para la Restauración Ecológica y la Reforestación. CONABIO. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F., México. 311 p.

- Vertucci, C. W. and J. M. Farrant. 1994.** Acquisition and Loss of Desiccation Tolerance. In: J. Kigel and G. Galili (eds). Seed development and germination. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp. 237–271.
- Walters, C. 1998.** Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Science Research* 8: 223–256.
- Walters, C. 1999.** Levels of recalcitrance in seeds, In: M. Marzalina, K.C. Khoo, N. Jayanthi, F.Y. Tsan, B. Krishnapillay (eds). Recalcitrant seeds: IUFRO Seed Symposium 1998. Forest Research Institute Malaysia, Kuala Lumpur, Malaysia. pp. 1–13.
- Walters, C.; N. M., Pammenter; P., Berjak and J., Crane. 2001.** Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. *Seed Science Research* 11: 135–148.
- Walters, C.; L. Wheeler y P. C., Stanwood. 2004.** Longevity of cryogenically stored seeds. *Cryobiology* 48:229-244.
- Walters, C.; D., Ballesteros y V. A. Vertucci. 2010.** Structural mechanics of seed deterioration: Standing the test of time. *Plant Science*. 179: 565-573.
- Wang, N.; J. Ju-Ying; J. Yan-Feng and W. Dong-Li. 2011.** Seed persistence in the soil on eroded slopes in the hilly-gullied Loess Plateau region, China. *Seed Science Research*. 21 (04): 295-304.
- Wang, L.; H. Ma; L. Song; Y. Shu y W. Gu. 2012.** Comparative proteomics analysis reveals the mechanism of pre-harvest seed deterioration of soybean under high temperature and humidity stress. *Journal of Proteomics*. 75: 2109-2127.
- Williams, L. O. 1981.** The useful plants of Central America. *Ceiba* 24(1-4): 203-204.

Zorato, F. 2005. Evolución del Laboratorio de Análisis de Semillas. En línea:
<http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml>. Consultado el 15
octubre de 2013.

CAPÍTULO III. DINÁMICA GERMINATIVA DEL NANCHE (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth, EN EL BANCO DE SEMILLAS DEL SUELO

RESUMEN

La persistencia de las semillas en el banco del suelo, depende de su capacidad para conservar la viabilidad y sobrevivir en condiciones ambientales adversas. El objetivo de esta investigación fue determinar la naturaleza del banco de semillas de nanche, de clima cálido húmedo y de clima semicálido, con base en la dinámica germinativa de éstas. Se evaluó el efecto del tipo de semilla sembrada (fruto completo o endocarpio), en la viabilidad y germinación en dos sitios ecológicos distintos. Las semillas de clima cálido húmedo perdieron rápidamente la viabilidad y presentaron porcentajes de germinación del orden de 8.5 % con fruto completo y 15.3 % con endocarpio, respectivamente; además, la germinación ocurrió inmediata a la siembra. En cambio, en las de clima semicálido, las semillas conservaron la viabilidad por 24 meses, los porcentajes de germinación fueron de 38.8 % en fruto completo y de 46 % en endocarpios, y presentaron dos picos de germinación. Por lo anterior, se concluye que, el banco de semillas del suelo en clima cálido húmedo, es transitorio, mientras que en el semicálido es persistente de corto plazo. Como los tratamientos estadísticamente no mostraron efecto significativo en las variables respuesta; los resultados se atribuyen a las características fisiológicas de las semillas de la especie, grado de domesticación y a las condiciones ambientales contrastantes de los sitios donde se realizó la investigación.

Palabras clave: *Byrsonima crassifolia*, banco de semillas en el suelo, dinámica germinativa, banco transitorio, banco persistente de corto plazo.

3.1. INTRODUCCIÓN

La regeneración de comunidades vegetales a partir de semillas, depende en gran medida de la capacidad de éstas, para reconocer si el ambiente en el que se encuentran es favorable para la sobrevivencia de su descendencia (Warwick y Brock, 2003); así, el proceso de sucesión ecológica ocurre gracias a la capacidad de las semillas para esperar el momento propicio para germinar, y ese momento, lo esperan en el banco de semillas del suelo; entendido éste como el reservorio o almacén de semillas viables que permanecen aquí por períodos de tiempo variables, ya sea enterradas, sobre la superficie, o mezcladas en la capa de hojarasca y humus (Figuroa y Jasick, 2004).

El período de permanencia de las semillas en el banco del suelo, depende de la capacidad para conservar la viabilidad y tolerancia a las condiciones ambientales, mediante los mecanismos de latencia y/o quiescencia (Gioria y Osborne, 2009). De acuerdo con Finch-Savage y Leubner-Metzger (2006), los bancos de semillas de zonas templadas poseen latencia fisiológica.

En los ecosistemas, excepto en los desiertos desprovistos de vegetación, existe en el suelo un banco de semillas localizadas por lo general en los primeros dos o tres cm, y menos del uno por ciento de las especies se encuentran a 10 cm de profundidad (Baker, 1989).

La formación del banco inicia con la dispersión y finaliza con la germinación o muerte de las semillas (Jeffrey *et al.*, 2005). La agregación de las semillas en el suelo depende de varios factores: altura, distancia y distribución de la fuente de semillas, agentes de dispersión y capacidad de dispersión de las semillas (Harper, 1977).

Además de las estrategias de dispersión, otro mecanismo que contribuye a la sobrevivencia de las especies y establecimiento de bancos de semillas, es la distribución de la germinación en el tiempo (Fenner y Thompson, 2005). De esta manera, todas las semillas producidas y dispersadas en un determinado año no

necesariamente germinarán al año siguiente. Muchas de ellas pueden permanecer en estado de latencia o presentar inhibición de la germinación después de caer al suelo (Camacho, 2011).

Las semillas de las especies que forman el banco del suelo, a menudo entran en un periodo de latencia una vez que son liberadas de la planta madre; lo que les permite tolerar la variación climática, las fluctuaciones en la disponibilidad de nutrientes y sobrevivir a periodos desfavorables prolongados (Warwick y Brock, 2003).

La tolerancia a la variación de condiciones ambientales es la que finalmente influye en la diversidad de especies y en el patrón espacial que adopte la vegetación (Peterson y Baldwin, 2004).

Los bancos de semillas, de manera general se clasifican en transitorios y persistentes (Jeffrey *et al.*, 2005). Los transitorios, se caracterizan porque las semillas que lo integran poseen una viabilidad inferior a un año, presentan un único evento de germinación y se encuentran en la vegetación o en el nivel superior del suelo, ya que, generalmente, las semillas son grandes, aplanadas o alargadas y con apéndices, lo que dificulta la penetración a mayores profundidades (Baskin y Baskin, 2001); en cambio, los bancos de tipo persistente están formados por semillas que conservan su viabilidad por períodos que varían de un año hasta siglos, presentan más de un evento de germinación y se encuentra en los niveles intermedios y profundos del suelo; además, las semillas tienden a ser pequeñas y compactas, lo que les facilita la penetración a mayores profundidades (Ferri *et al.*, 2009).

Los bancos persistentes pueden ser de corto y/o largo plazo; los de corto plazo, se caracterizan por que las semillas que los integran se conservan viables por períodos de uno a cinco años, y los de largo plazo, son aquellos cuya salida de las diásporas que los constituyen ocurre después de cinco años (Figueroa y Jasick, 2004; De Souza *et al.*, 2006).

Para el caso específico del Género *Byrsonima*, García-Núñez *et al.* (2001) evaluaron en la sabana venezolana la producción de semillas de *B. crassifolia* y la función del suelo como banco de semillas para la producción de plántulas de manera natural; encontraron un pico de germinación en la primera temporada y el resto en la siguiente estación lluviosa, por lo que reportaron la existencia de un banco de semillas persistente cuya densidad fue de 2.5–3.3 semillas viables/m² respectivamente, para cada periodo evaluado.

Por su parte, García-Núñez y Azocar (2004) estudiaron la ecología de la regeneración de árboles de distintas especies, entre ellas el nanche, y señalan que la especie, produce anualmente gran cantidad de propágulos viables, con atributos para germinar en condiciones de campo, lo que sugiere la importancia de la reproducción sexual para mantener a largo plazo sus poblaciones.

Por lo anterior, la investigación tuvo como objetivos: evaluar la dinámica de la germinación del nanche en el banco de semillas del suelo, en dos sitios geográficos de la República Mexicana, con condiciones climáticas y edáficas, contrastantes; determinar la naturaleza del banco del suelo con base en la persistencia de las semillas en éste y conocer la relación entre el tipo de semilla (fruto completo y/o endocarpio) usado, con la longevidad y germinación de las semillas.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se establecieron dos experimentos en campo; el primero en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca, y el segundo en el rancho Pisiotepec en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México.

En el primer sitio, la especie se encuentra con distintos grados de manejo: silvestre, tolerada y/o fomentada, mientras que, en el segundo, sólo como planta silvestre.

3.2.1. Banco de semillas del suelo en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca

3.2.1.1. Descripción del sitio

El ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca, se localiza al noreste de la entidad, en la cuenca del río Papaloapan, antes de su confluencia con el río Tonto, en el límite con el estado de Veracruz; sus coordenadas geográficas extremas son: 18° 02' 36" latitud Norte 96° 06' 49" de longitud Oeste, a 52 m de altitud (INEGI, 1998).

El clima corresponde al tipo Am; tropical húmedo, con temperatura media anual de 24.9 °C y precipitación media anual de 2304.3 mm (García, 1988). La orografía está constituida básicamente por lomeríos suaves, por ubicarse en la subprovincia fisiográfica Planicie Costera del Golfo de México. Presenta vegetación de tipo secundario constituida por plantaciones de árbol del hule (*Hevea brasiliensis*), palma coyol (*Acrocomia mexicana*), así como pastizal inducido. La hidrología del lugar está constituida principalmente por la corriente permanente del río Papaloapan. El suelo es de tipo Luvisol y se caracteriza por ser profundo, de color café, arcilloso, ácido y pierde rápido la fertilidad, pero es apto para la agricultura.

3.2.1.2. Colecta y acondicionamiento de los frutos

Se colectaron frutos de nanche amarillo, de los árboles que de manera tolerada y/o fomentada, crecen en áreas cercanas al terreno donde se estableció el experimento. Para tratar de homogeneizar el grado de madurez, se eligieron los frutos que de manera natural se habían desprendido del árbol. Posteriormente,

para obtener los endocarpios, se eliminó el mesocarpio de 800 frutos, mediante fricción en un tamiz metálico y enjuagues abundantes con agua; en tanto que, 800 frutos más, se conservaron intactos.

De manera adicional, algunos frutos se depositaron en bolsas de plástico con agrolita húmeda y se trasladaron al Laboratorio de Análisis de Semillas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, donde se hicieron algunas determinaciones preliminares.

3.2.1.3. Determinaciones preliminares

En primer lugar, en campo se determinó el pH del suelo con tiras indicadoras con color. Para ello, se usaron 5 g de suelo del sitio donde se estableció el experimento; el suelo se depositó en un vaso de precipitados, se le agregaron 12.5 ml de agua destilada (1:2.5), se agitó durante 10 minutos la solución, se filtró, y dejó reposar durante 10 minutos y se introdujeron las tiras reactivas para evaluar la acidez, neutralidad o alcalinidad del suelo, misma que se determinó mediante comparación de la coloración que tomaron las tiras con la escala de colores que contiene el Kit, se hicieron tres repeticiones de la determinación y después se sacó el promedio (Quiroga y Bono, 2012).

Posteriormente, mediante el método de la estufa (ISTA, 2005) se determinó el contenido de humedad de la semilla botánica y del endocarpio de manera independiente. Se usaron dos repeticiones de cuatro gramos cada una, tanto de semilla como de endocarpio para cada sitio de colecta; se secaron durante 17 horas a 103 °C y el resultado se reportó en porcentaje.

Los cálculos se realizaron aplicando la siguiente fórmula sugerida por Moreno (1996):

$$\% \text{ de humedad (con base en peso humedo)} = \left[\frac{(P2 - P3)}{(P2 - P1)} \right] * 100$$

En donde:

P₁ = Peso de la caja y su tapa

P_2 = Peso de la caja, tapa y semilla

P_3 = Peso de la caja, tapa y semilla después del secado en la estufa.

A la par, se determinó la viabilidad de la semilla botánica con 2, 3, 5, Cloruro de Trifenil Tetrazolio al 1 % (ISTA, 2005). Previo a la tinción, las semillas se remojaron en agua destilada durante 24 horas, se eliminó la testa y se sumergieron en la solución de Tetrazolio durante 24 horas. Se enjuagaron con agua destilada e hicieron cortes longitudinales para observar al microscopio las estructuras del embrión y evaluar la viabilidad. Como el nanche es una especie para la que no existen protocolos en las normas de la ISTA respecto a esta prueba, se llevó a cabo con base en observaciones cuidadosas y aplicando criterios definidos para otras especies. La prueba constó de cuatro repeticiones de 25 semillas cada una. Se calificaron como viables y de alto vigor las semillas que presentaron coloración rosa intenso y con la tinción cubriendo la totalidad de la superficie del tejido o la mayor parte de él; de baja viabilidad aquellas cuya coloración fue de un tono rosa pálido pero con tejido teñido casi en su totalidad; y como no viables, las que no presentaron ninguna coloración, o bien, aquellas en donde las estructuras de la semilla como la radícula y/o los cotiledones no se tiñeron; ya que esto indica que la semilla no dará origen a una plántula normal, pues carecerá de la raíz (ausencia de tinción en la radícula) o la plúmula (ausencia de tinción en los cotiledones) según el caso. El resultado se reportó en porcentaje.

3.2.1.4. Establecimiento y conducción del experimento

El experimento se estableció el 26 de julio de 2010, en un terreno de uso forestal y ganadero; para ello, previamente se circuló con malla ciclónica una superficie de 16 m² donde se colocaron las unidades experimentales. Considerando que la superficie donde se estableció es muy pequeña, lo que permite presuponer condiciones homogéneas o con mínima variabilidad (Castillo, 2000), se usó un Diseño Experimental Completamente al Azar con ocho repeticiones de 100 propágulos (fruto completo o endocarpio, según correspondió) cada una. Se

evaluó el efecto del tipo de semilla en dos variables respuesta (germinación y viabilidad) de las semillas en el banco del suelo, lo que dio como resultado dos tratamientos: 1) Testigo (fruto completo, que es como ocurre en la naturaleza) y 2) Endocarpio (tratando de simular el proceso de dispersión por animales silvestres). La asignación de los tratamientos a las 16 unidades experimentales y su distribución en el área experimental, se hizo de acuerdo con el diseño empleado. Se usaron como unidades experimentales, contenedores de plástico de 60 x 40 cm, con una capa de 35 cm de suelo del mismo sitio donde se estableció el experimento. Los propágulos se sembraron a dos centímetros de profundidad.

De las ocho repeticiones de cada tratamiento, cuatro se destinaron a evaluar el comportamiento de la viabilidad en el tiempo y las cuatro restantes, a evaluar el patrón de germinación.

En las unidades experimentales destinadas a evaluar la viabilidad, cada cuatro meses, se sacaron 25 frutos y/o endocarpios, según correspondió, se extrajeron las semillas y se les practicó la prueba de viabilidad con Tetrazolio.

Aunque en los inicios de la investigación se proyectó observar y evaluar el comportamiento de las variables respuesta, durante 16 meses, sólo se hizo por 12 meses ya que la viabilidad de las semillas se agotó, así que no tenía objeto continuar.

3.2.1.5. Variables evaluadas

Viabilidad con Tetrazolio. Se hicieron varias determinaciones de manera indirecta mediante la prueba de 2, 3, 5, Cloruro de Trifenil Tetrazolio al 1 %. La primera antes de la siembra, y después, tres más, una cada cuatro meses. El resultado se expresó en porcentaje. Se calificaron como viables todas las semillas que presentaron coloración rosa intenso y con la tinción cubriendo la totalidad del tejido o la mayor parte de él; como de baja viabilidad aquellas cuya coloración fue de un tono rosa ligeramente pálido pero con tejido teñido casi en su totalidad; y finalmente se clasificaron como semillas no viables, las que no presentaron ninguna coloración o bien aquellas en donde las estructuras de la semilla como la

radícula o los cotiledones no se tiñeron; ya que esto indica que dicha semilla no dará origen a una plántula normal, pues carecerá de la raíz (ausencia de tinción en la radícula) o la plúmula (ausencia de tinción en los cotiledones) según el caso.

Germinación. Se determinó al finalizar el experimento, contando el total de semillas germinadas y el resultado se expresó en porcentaje.

3.2.1.6. Análisis estadístico

Los resultados se transformaron mediante la función Arcoseno para disminuir la varianza de los datos (Castillo, 2000; Box *et al.*, 2001); después, se realizó el análisis de varianza para cada variable con $\alpha \leq 0.05$, mediante el paquete estadístico SAS para Windows Versión 9.0 (2001).

3.2.2. Banco de semillas del suelo en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México

3.2.2.1. Descripción del sitio experimental

El experimento se desarrolló en el rancho Pisotepec, perteneciente a la comunidad de Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México; se localiza al suroeste de la entidad, en los límites con los estados de Guerrero y Michoacán, enclavado en la Depresión del río Balsas. Sus coordenadas geográficas extremas son: 18° 59' 57" de latitud Norte y 100° 08' 09" de longitud Oeste, a 1626 m de altitud.

El clima corresponde al tipo (A) C (w_2); semicálido del grupo C, con temperatura y precipitación media anual de 19 °C y 1338.9 mm, respectivamente (García, 1988). Su relieve es muy accidentado por situarse en la provincia fisiográfica de la Sierra Madre del Sur, en la subprovincia fisiográfica Depresión del río Balsas, la vegetación predominante corresponde a la selva baja caducifolia, bosque de pino (*Pinus oocarpa*) y pastizal inducido. La hidrología se constituye por algunas corrientes temporales y permanentes; y los suelos corresponden al tipo Regosol y Acrisol, presentan textura arcillosa, profundidad entre 15 y 50 cm, pedregosos, con problemas de acidez (pH de 5 a 6.5) y erosionados (INEGI, 1998).

3.2.2.2. Colecta y acondicionamiento de los frutos

Se colectaron frutos de nanche amarillo, de las poblaciones silvestres cercanas al área donde se estableció el experimento. Con la finalidad de homogeneizar el grado de madurez, se eligieron sólo los frutos que se encontraban en el suelo, que de manera natural se separaron de la planta madre.

Posteriormente, para obtener los endocarpios, se eliminó el mesocarpio de 800 frutos mediante fricción en un tamiz metálico y enjuagues abundantes con agua; en tanto que, 800 frutos más, se conservaron intactos.

Adicionalmente, 200 frutos se depositaron en bolsas de plástico con agrolita húmeda, y se trasladaron al Laboratorio de Análisis de Semillas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo donde se hicieron algunas determinaciones preliminares.

3.2.2.3. Determinaciones preliminares

Con la misma metodología descrita en el experimento anterior, se determinó el pH del suelo en campo y en laboratorio se determinaron el contenido de humedad de las semillas y endocarpios y la viabilidad de las semillas de nanche de este sitio geográfico.

3.2.2.4. Establecimiento y conducción del experimento

Se estableció el 17 de septiembre de 2010, en un terreno de uso agrícola y ganadero; para ello, previamente se circuló con malla ciclónica una superficie de 16 m² donde se colocaron las unidades experimentales. Considerando que la superficie donde se estableció es pequeña, lo que permite presuponer condiciones homogéneas o con mínima variación (Castillo, 2000), se usó un Diseño Experimental Completamente al Azar con 8 repeticiones de 100 propágulos (fruto o endocarpio, según correspondió) cada una. Se evaluó el efecto del tipo de semilla en dos variables respuesta (germinación y viabilidad) de las semillas en el banco del suelo, lo que dio como resultado dos tratamientos: 1) Testigo (fruto completo, que es como ocurre en la naturaleza) y 2) Endocarpio (tratando de simular el proceso de dispersión por animales silvestres). La

asignación de los tratamientos a las 16 unidades experimentales y su distribución en el área experimental, se hizo de acuerdo con el diseño empleado. Se usaron como unidades experimentales, contenedores de plástico de 60 x 40 cm, con una capa de 35 cm de suelo del mismo sitio donde se estableció el experimento. Los propágulos se sembraron a dos centímetros de profundidad

De las ocho repeticiones de cada tratamiento, cuatro se destinaron a evaluar el comportamiento de la viabilidad en el tiempo y las cuatro restantes, a evaluar el patrón de germinación.

En las unidades experimentales destinadas a evaluar la viabilidad, cada cuatro meses se sacaron 25 frutos y/o endocarpios, según correspondió, se extrajeron las semillas y se les practicó la prueba de viabilidad con Tetrazolio.

Aunque en los inicios de la investigación se proyectó observar y evaluar el comportamiento de las variables respuesta durante 16 meses, como en el último monitoreo la viabilidad se conservó en buen nivel, y en las unidades experimentales destinadas a evaluar la germinación había semillas sin germinar aún, se decidió continuar con el experimento por 12 meses adicionales, de manera que, en este sitio se hicieron monitoreos por 28 meses. En el periodo adicional sólo se registró la germinación, puesto que ya no se disponía de semillas en las unidades experimentales destinadas a evaluar la viabilidad.

3.2.2.5. Variables evaluadas y análisis estadístico

Se evaluaron: la viabilidad con Tetrazolio y la germinación, mediante la misma metodología del experimento anterior. El análisis estadístico de los resultados se hizo de la misma forma que para el experimento establecido en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Determinaciones preliminares para ambos experimentos

En el Cuadro 3.1 se concentran los resultados de contenido de humedad de semillas y endocarpios, así como de la viabilidad de las semillas de Tuxtepec, Oaxaca y Tejupilco, Estado de México.

Cuadro 3.1. Viabilidad y contenido de humedad inicial de las semillas y endocarpios de Tuxtepec, Oaxaca y Tejupilco, Estado de México.

Origen del germoplasma	pH del suelo	Viabilidad inicial (%)	Contenido de humedad (%)	
			Semillas	Endocarpios
Tuxtepec, Oaxaca	6.0	84	12.05	20.1
Tejupilco, México	6.0	71	7.3	12.5

3.3.1.1. Viabilidad y contenido de humedad en semillas y endocarpios

Se observan diferencias importantes en las variables preliminares evaluadas (Cuadro 3.1). Esto puede ser consecuencia, en primer lugar, de las condiciones climáticas que prevalecen en los sitios donde se colectaron los frutos. Para Tuxtepec, Oaxaca, se reporta una precipitación promedio de 2304 mm, distribuidos en la mayor parte del año, en cambio, en Tejupilco, Estado de México sólo precipitan 1338 mm, concentrados por lo general en los meses de mayo-junio a septiembre-octubre, y además, presenta una marcada estación seca (García, 1988), pudiendo esta última ser la explicación a los bajos valores en ambas variables, con respecto a los de Tuxtepec, Oaxaca. En segundo término, atendiendo a lo que menciona Cubero (2003) posiblemente las diferencias se acentúen más por los distintos grados de manejo de la especie. En Tuxtepec, al

menos se realizan deshierbes en las áreas donde se encuentran los árboles de nanche; sobre todo, en aquellos cuyo estatus obedece al de planta fomentada que se encuentran en los solares de las casas, además, se les incorpora abono orgánico producto de los desperdicios domésticos. En cambio, los nanches de Tejupilco, son silvestres y no reciben el más mínimo grado de intervención del hombre para favorecer su permanencia en el ecosistema.

Por otro lado, los datos de viabilidad de las semillas de Tuxtepec, Oaxaca, de acuerdo con Moreno (1996), quien indica que el porcentaje de viabilidad y germinación guardan cierta semejanza, permiten pensar en la posibilidad de que la germinación en el banco del suelo, será mayor en el experimento establecido en aquel Estado, en comparación con lo que podría esperarse que ocurriera en el banco de semillas del suelo de Tejupilco, por supuesto, si las semillas no presentan latencia que impida la expresión de su potencial germinativo. También es importante mencionar que, el hecho de que las semillas de Tejupilco posean menor contenido de humedad y que provengan de clima con una marcada estación seca (García, 1988), según Tweddle *et al.* (2003) indica que pueden conservar la viabilidad durante un período mayor que las de Oaxaca, y en consecuencia, permanecer en el suelo por un período más amplio, contribuyendo de esta manera a que el banco del suelo tenga un comportamiento de tipo persistente (Figuroa y Jasick, 2004); ésto representa una ventaja, si de la conservación, regeneración y patrón de distribución de la especie, se trata (Peterson y Baldwin, 2004).

3.3.1.2. pH del suelo de los sitios donde se establecieron los experimentos

En el Cuadro 3.1 se aprecia que el pH del suelo de ambos sitios, es ligeramente ácido (Quiroga y Bono, 2012), esto significa que existen iones de aluminio en la solución del suelo (Al^{3+}), que pueden generar problemas durante la germinación de las semillas, como lo observaron Casierra-Posada *et al.* (2008), en semillas de trigo y maíz; reportan que existe una relación inversa entre la germinación y la concentración de Al^{3+} , es decir, al aumentar la concentración del metal, disminuye

la germinación. Por otro lado, mencionan que el aluminio aumenta la rigidez de las membranas celulares, y de esta manera inhibe la división y alargamiento celular, lo que puede limitar el crecimiento del eje embrionario (Marienfield *et al.*, 2000).

3.3.2. Banco de semillas del suelo, en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca

En el Cuadro 3.2 se muestra el comportamiento estadístico de las variables fisiológicas evaluadas.

Cuadro 3.2. Cuadrados medios y significancia estadística de las variables evaluadas en el banco de semillas del suelo, en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.

F.V.	G.L.	Germinación (%)	Viabilidad 4 meses DS (%)	Viabilidad 8 meses DS (%)
Tipo de semilla	1	4.0427 ^{ns}	0.0021 ^{ns}	0.0091 ^{ns}
Error	6	2.3308	0.1614	0.0099
C.V. (%)		43.7	27.6	8.3

DDS = Después de después de la siembra; C. V. = Coeficiente de Variación; ns = No significativo.

No hubo diferencia estadística significativa en las variables evaluadas como se observa en el Cuadro 3.2; lo que indica que los tratamientos aplicados, causaron el mismo efecto en las variables respuesta.

Al no existir efecto significativo, se prescindió de la prueba de comparación de medias y sólo se analizaron los efectos principales de los niveles del factor tipo de semilla (Cuadro 3.3), de manera independiente.

3.3.2.1. Germinación

Aun cuando estadísticamente no hubo efecto significativo del tipo de semilla empleado en la germinación de nanche en el banco del suelo; numéricamente, tanto en el Cuadro 3.3 como en la Figura 3.1, se aprecia una diferencia

considerable en el porcentaje de germinación obtenido cuando se sembraron sólo endocarpios (15.3 %), ya que superó en 55.6 % la germinación que se obtuvo cuando se sembró el fruto completo (8.5 %). Este comportamiento puede atribuirse en primer término, a la posible remoción de frutos completos por las hormigas, como lo reportan García-Nuñez *et al.* (2001) precisamente en *Byrsonima crassifolia*, en un ensayo realizado en la sabana Venezolana.

Cuadro 3.3. Comportamiento promedio de las variables evaluadas en el banco de semillas del suelo, en el ejido El esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.

Tipo de semilla	Germinación (%)	Viabilidad 4 meses DS (%)	Viabilidad 8 meses DS (%)	Viabilidad 12 meses DS (%)
T ₁ Fruto completo (Testigo)	8.5	39.00	17.00	0.00
T ₂ Endocarpio	15.3	30.00	17.00	0.00

DS = Después de la siembra

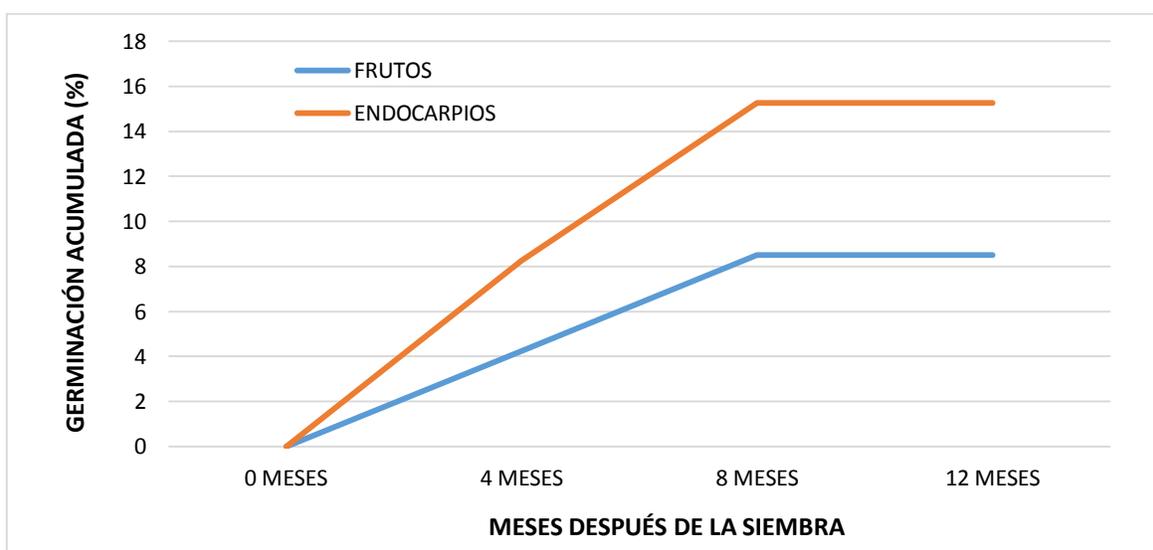


Figura 3.1. Germinación acumulada, obtenida en el banco de semillas del suelo en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.

También puede obedecer al efecto del ingreso de iones de aluminio a la semilla durante el proceso de imbibición, cuya concentración pudo incrementarse al aumentar la acidez de la solución, por la acidez del mesocarpio del fruto.

De acuerdo con Marienfeld *et al.* (2000), los iones de aluminio (Al^{3+}) se adhieren a las paredes celulares en especial en semillas de especies dicotiledóneas, como es el caso del nanche, y provocan rigidez, lo que impide la división y elongación celular, dificultando e incluso inhibiendo la protrusión de la radícula (Casierra-Posada *et al.*, 2008). Además, en caso de que la radícula logre emerger queda en contacto directo con los iones de aluminio que se encuentran en la solución del suelo, y provocan disminución o inhibición de la absorción de agua por la raíz, lo que ocasiona lento crecimiento y establecimiento de las plántulas que logran tolerar la toxicidad del metal, como lo observaron Iqbal y Shafiq (2005) en dos cultivares de trigo.

Por otro lado, es probable que con el exceso de humedad en el suelo y las altas temperaturas del verano en la zona (García, 1988), se propició un proceso de fermentación del mesocarpio, que, atendiendo a lo reportado por Tweddle *et al.* (2003) origina la pérdida de viabilidad de las semillas; de igual manera, dichas condiciones pudieron aceleraron el envejecimiento de la semillas (Nithya, 2011), propiciar la pérdida de vigor (Kibinza, 2011) y generar mayor susceptibilidad al ataque por hongos; por lo que, quizá algunas semillas contenidas en el fruto hayan germinado, pero antes de emerger a la superficie del suelo, murieron; esto fue observado por Rodríguez y García (2009) en semillas de *Sida rhombifolia*; Ellos reportan que los depredadores y patógenos fueron responsables de la pérdida de 40 % de las semillas de esta especie en el banco del suelo.

Por último, también es posible que este comportamiento se relacione con condiciones ambientales que, de manera inusual, se presentaron en la región en mayo y junio de 2010 (periodo de la floración y formación de la semilla, del nanche) en Tuxtepec, Oaxaca; pues sólo precipitaron 11.4 y 150 mm, respectivamente, cuando el histórico ha sido de 150.9 y 375 mm, respectivamente; además, se registraron temperaturas máximas de 45 y 48 °C, en los citados meses. (<http://clima.inifap.gob.mx/redinifap/estaciones.aspx>); lo que de

acuerdo con Avitia y Marck (1998) pudo contribuir en buena medida al aborto de los óvulos, y en consecuencia a la presencia de un importante número de semillas vanas, malformadas o infestadas por hongos, que indudablemente repercute en los bajos porcentajes de germinación obtenidos, tanto en fruto completo como en endocarpio (Figura 3.1).

La dinámica germinativa en el banco de semillas del suelo, mostró un solo evento de germinación y ocurrió antes de que transcurriera un año después de la siembra (Figura 3.2). La explicación estriba en que, posiblemente estas semillas por poseer un mayor grado de domesticación han perdido el mecanismo de latencia (Cubero, 2003), lo que les impide permanecer depositadas en el suelo sin afectar sustancialmente su poder germinativo (Bradford y Nonogaki, 2007).

Este comportamiento de acuerdo con De Souza *et al.* (2006), es característico de las especies que tienden a formar bancos de semillas en el suelo de tipo transitorio.

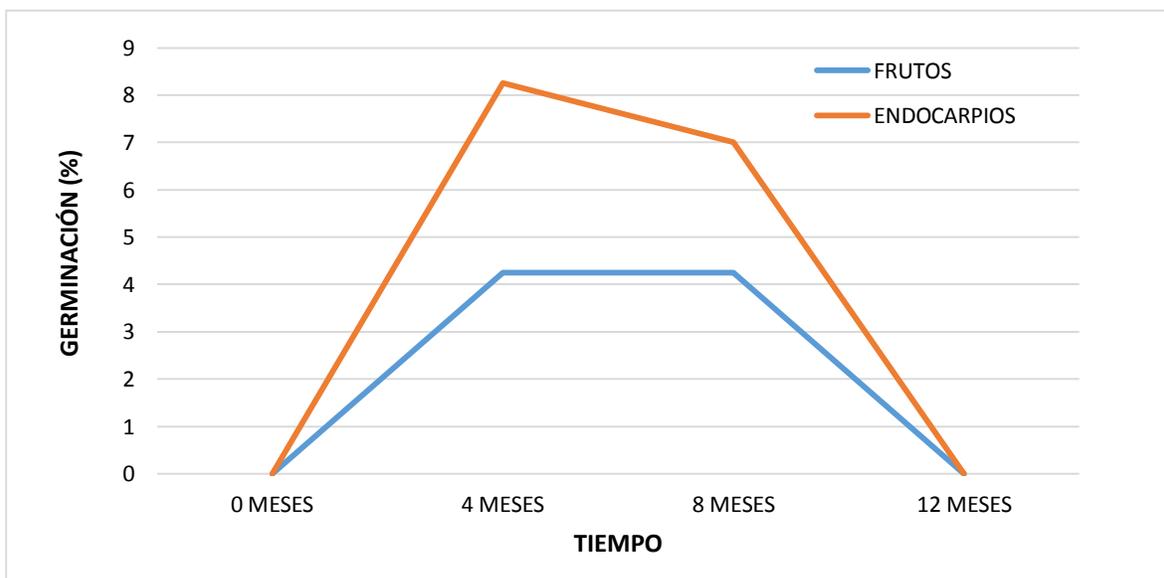


Figura 3.2. Dinámica germinativa del nanche en el banco de semillas del suelo, en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca, con dos tipos de semilla.

3.3.2.2. Viabilidad

Al momento de la siembra, la viabilidad fue de 84 % (Cuadro 3.1) y como se observa en el Cuadro 3.3 y la Figura 3.3, cuatro meses después descendió en 54 % en las unidades experimentales que se sembraron con endocarpios, y en 45 % en las que se sembraron con fruto completo; posteriormente, continuó la pérdida drástica, y a los 12 meses, ya no se encontraron semillas viables, por lo que se decidió concluir el experimento, aun cuando al inicio de la investigación se planteó el monitoreo de éste durante 16 meses.

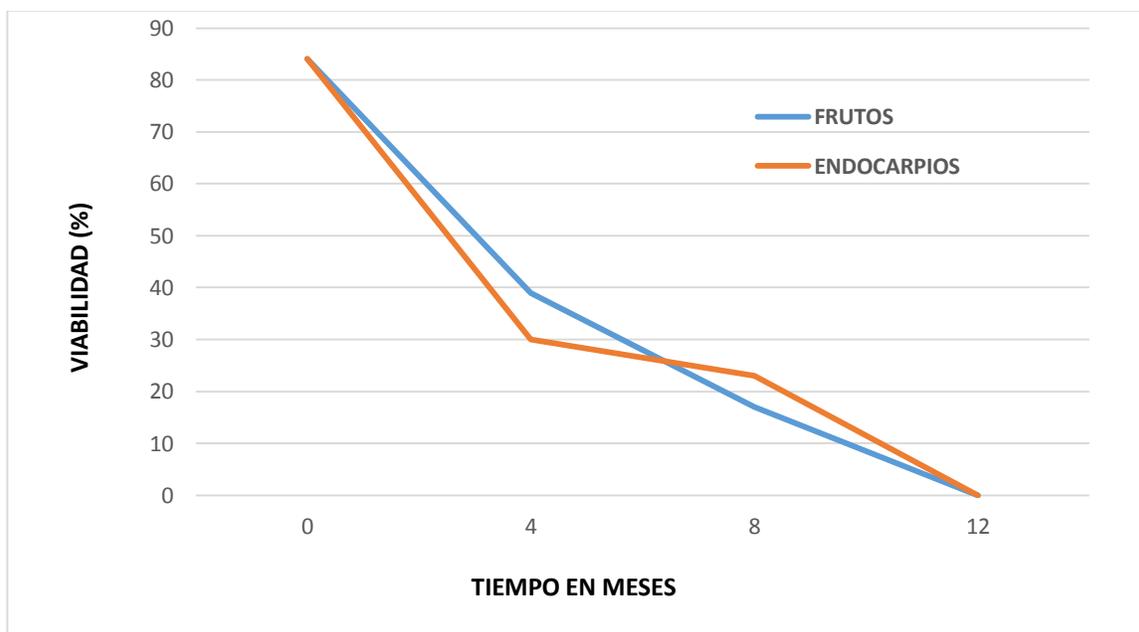


Figura 3.3. Evolución de la viabilidad de las semillas de nanche en el banco del suelo, en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.

La pérdida acelerada de la viabilidad puede obedecer a las características fisiológicas de las semillas, ya que se reportan como de tipo recalcitrante (Guignard,1991), y a la interacción de esta característica con las condiciones climáticas poco apropiadas para permanecer depositadas en el banco del suelo por períodos más prolongados (Fenner y Thompson, 2005); ya que dos de los principales factores abióticos que demeritan la viabilidad de la semilla son la

humedad y temperatura elevadas en el ambiente de almacén (Copeland y McDonald, 2001; Maia *et al.*, 2004; Nithya *et al.*, 2011), condiciones presentes en el sitio donde se desarrolló el experimento (García, 1988).

Por otro lado, la diferencia numérica que se aprecia en el primer monitoreo de la viabilidad a favor del empleo del fruto (Cuadro 3.3 y Figura 3.3), puede ser consecuencia de que el mesocarpio protegió a la semilla del ingreso brusco de agua y en consecuencia, evitó el daño de membranas celulares (Azcon-Bieto y Talón, 2008), lo que contribuyó a conservar en mayor proporción el poder germinativo de las semillas. En cambio, aquellas unidades experimentales que fueron sembradas con endocarpios, la diferencia de humedad entre la semilla (Cuadro 3.1) y el suelo saturado de agua, propició un proceso de imbibición rápido que dañó de manera irreversible la integridad de las membranas celulares de las semillas (Rao *et al.*, 2006), ocasionando la disminución de la viabilidad de las mismas (Peske y Peske, 2013). También es conveniente mencionar que de acuerdo con Jaimes (2009), los endocarpios de los nanches de este origen geográfico, son más blandos y delgados que los de frutos silvestres; de tal manera que, en este caso, el espesor del endocarpio pudo ser determinante en los resultados obtenidos, esto coincide con lo que reporta Gardarin (2010), en el sentido de que la cubierta de la semilla desempeña un papel protector importante y está relacionado con la persistencia de ésta en el banco del suelo.

En la prueba de viabilidad con Tetrazolio, realizada cuatro meses después de la siembra, se observó que las semillas viables presentaron coloración rosa pálido, lo que indica que poseían poco vigor (Moreno, 1996; Atici, 2007; Kibinza *et al.*, 2011); situación que las vuelve más susceptibles al ataque por microorganismos (Bewley y Black, 1994), lo que pudo ser un factor determinante para explicar los bajos porcentajes de germinación obtenidos.

3.3.3. Banco de semillas del suelo, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México

No hubo diferencia estadística significativa en ninguna de las variables evaluadas (Cuadro 3.4) para el factor tipo de semilla; esto indica que los tratamientos

aplicados, causaron el mismo efecto en las variables respuesta. Por lo anterior, no se hizo la prueba de comparación de medias y sólo se analizaron los efectos principales de los niveles del factor tipo de semilla (Cuadro 3.5), de manera independiente.

Cuadro 3.4. Cuadrados medios y significancia estadística de las variables evaluadas en el banco de semillas del suelo, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México.

F.V.	G.L.	Germinación (%)	Viabilidad 4 meses DS (%)	Viabilidad 8 meses DS (%)	Viabilidad 12 meses DS (%)	Viabilidad 16 meses DS (%)
Tratamiento	1	0.0059 ns	0.0003 ns	0.0001 ns	0.0006ns	0.001 ns
Error	6	0.0053	0.0008	0.0011	0.0013	0.0004
C.V. (%)		11.2	4.4	5.5	6.5	4.6

DDS = Después de la siembra; C. V. = Coeficiente de Variación; ns = No significativo

3.3.3.1. Germinación

Aun cuando estadísticamente no hubo efecto significativo (Cuadro 3.4) del tipo de semilla empleado; numéricamente, existe diferencia en la germinación (Cuadro 3.5 y Figura 3.4) cuando se sembraron sólo endocarpios (46 %) y cuando se sembraron frutos (38.8 %). Aunque comparado con el comportamiento de la germinación obtenida en Tuxtepec, Oaxaca, para Tejupilco, la diferencia es mínima (15.6 %).

Los resultados pueden atribuirse, en primer lugar, a la posibilidad de que las semillas de nanche de Tejupilco presenten latencia fisiológica, que es la más prevalente en bancos de semillas en climas más templados, como lo señalan Finch-Savage y Leubner-Metzger (2006), misma que, probablemente esté regulada por el efecto antagónico entre el ácido abscísico y las giberelinas (Hilhorst, 2007). A su vez, presentar este tipo de inhibición de la germinación les

permitió sobrevivir a las condiciones adversas del clima (Warwick y Brock, 2003), y germinar cuando logró el balance necesario entre el ácido abscísico y las giberelinas, que, posiblemente, se logró por la exposición a temperaturas alternantes a las que de manera natural estuvieron expuestas las semillas (Baskin y Baskin, 2004; Camacho, 2011).

Además esta inhibición fisiológica probablemente contribuyó a detectar el momento en el que las condiciones ambientales fueron propicias para germinar (Gioria y Osborne, 2009) y garantizar la supervivencia de su descendencia (Fenner y Thompson, 2005; Bradford y Nonogaki, 2007).

Cuadro 3.5. Comportamiento promedio de las variables evaluadas en el banco de semillas del suelo, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México.

Tipo de semilla	Germinación (%)	Viabilidad 4 meses DS (%)	Viabilidad 8 meses DS (%)	Viabilidad 12 meses DS (%)	Viabilidad 16 meses DS (%)
Fruto completo	38.8	65.0	60.5	54	40.25
Endocarpio	46	66.25	61.25	55.75	42.5

DS = Después de la siembra

Por otro lado, al igual que en el experimento anterior, también en este, conviene considerar el efecto que los iones de aluminio (Al^{3+}) pudieron provocar al ingresar a la semilla durante el proceso de imbibición, ya que la concentración de éstos pudo aumentar aun más que en el ejido el Esfuerzo, pues por el estatus silvestre de la especie, el mesocarpio del fruto es más ácido, lo que pudo contribuir a disminuir el pH y con ello aumentar la disponibilidad del Aluminio. Esto produce mayor adherencia de los iones en las paredes celulares, y en consecuencia, aumento en la rigidez de las mismas (Marienfeld *et al.*, 2000) lo que inhibe la división y elongación celular y evita o dificulta la protrusión de la radícula (Casierra-Posada *et al.*, 2008)). Por otro lado, si la radícula emerge, queda en contacto directo con los iones de aluminio que se encuentran en la solución del

suelo y provocan disminución o inhibición de la absorción de agua por la raíz, y el crecimiento y establecimiento de las plántulas que logran tolerar la toxicidad del metal, como lo observaron Igbal y Shafiq (2005) en dos cultivares de trigo.

Otro aspecto que pudo influir en la baja germinación que en general se obtuvo, pudo ser la calidad fisiológica de las semillas, pues la viabilidad inicial fue de 71 % (Cuadro 3.1). También es posible que la calidad sanitaria de las semillas no haya sido apropiada; como en Tejupilco la especie existe de manera silvestre, es común que haya prevalencia de plagas y enfermedades. Al respecto, durante el proceso de acondicionamiento de frutos, se eliminó una cantidad importante porque presentaban daños por insectos, por lo que no se puede garantizar que al interior de la semilla haya existido algún tipo de infección, sobre todo por hongos (Bewley y Black, 1994; Bradford y Nonogaki, 2007), esto pudo disminuir la disponibilidad de semillas con capacidad para germinar; ya que lamentablemente, por encontrarse dentro del endocarpio no es posible detectar; para ello, sería necesario examinar previo a la siembra, cada uno de los endocarpios mediante Rayos X, para tener la certeza de que los propágulos sembrados poseen semillas viables y sanas.

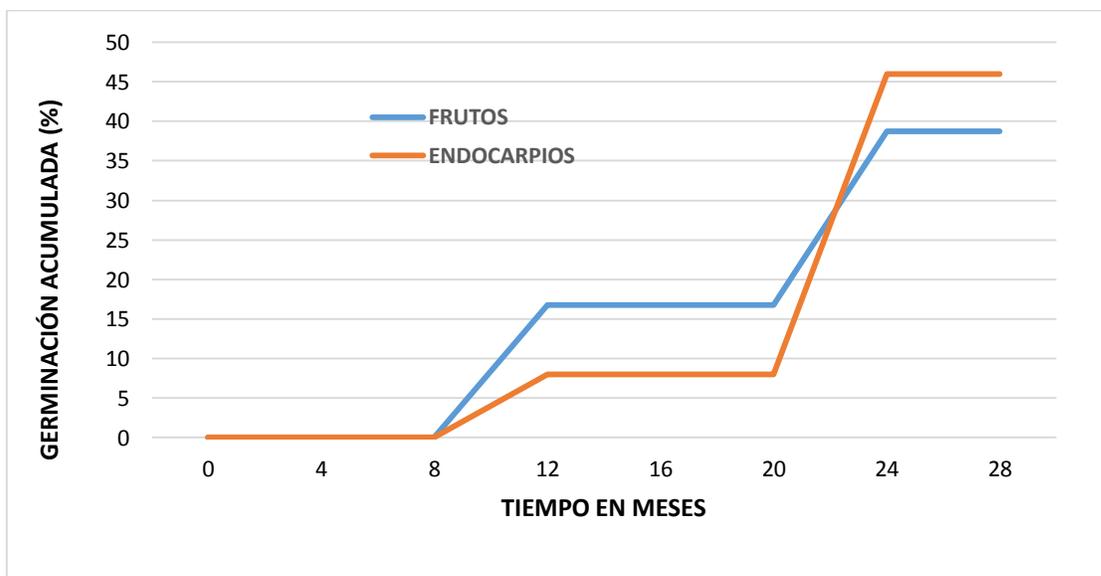


Figura 3.4. Germinación acumulada, obtenida en el banco de semillas del suelo en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México.

Por último, al igual que ocurrió para Tuxtepec, Oaxaca, la dinámica germinativa de las semillas en este banco del suelo (Figura 3.5), es la que se esperaba y de acuerdo con (Figuroa y Jasick, 2004; De Souza *et al.*, 2006) corresponde a los bancos de semillas persistentes de corto plazo.

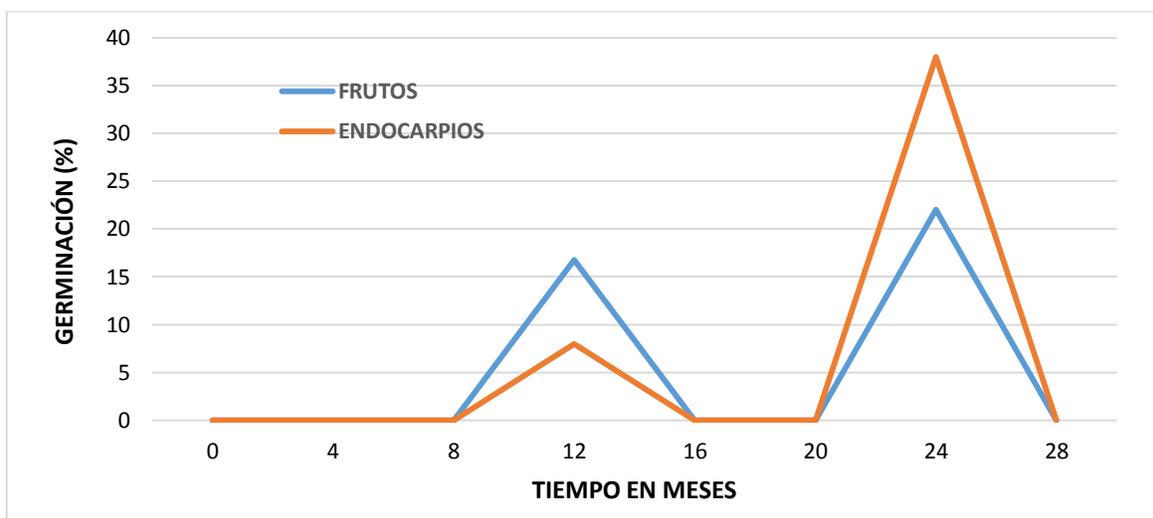


Figura 3.5. Dinámica germinativa del nanche en el banco de semillas del suelo, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México, con dos tipos de semilla.

3.3.3.2. Viabilidad

En la Figura 3.6 se aprecia que la viabilidad de las semillas en el tiempo, en general se conservó. La diferencia numérica de los efectos causados por los tratamientos en la variable respuesta, como se muestra en el Cuadro 3.5, son casi imperceptibles. Se inició con 71 % de semillas vivas (Cuadro 3.1) y después de cuatro meses solo disminuyó en endocarpios en 4.75 puntos porcentuales (66.25 %) y en 6 puntos porcentuales (65 %) cuando se sembraron los frutos completos; en los siguientes monitoreos la pérdida conservó la tendencia anterior. A los 16 meses después de la siembra, solo había perdido 28.5 puntos porcentuales en endocarpios y en 30.75 cuando se usaron los frutos completos.

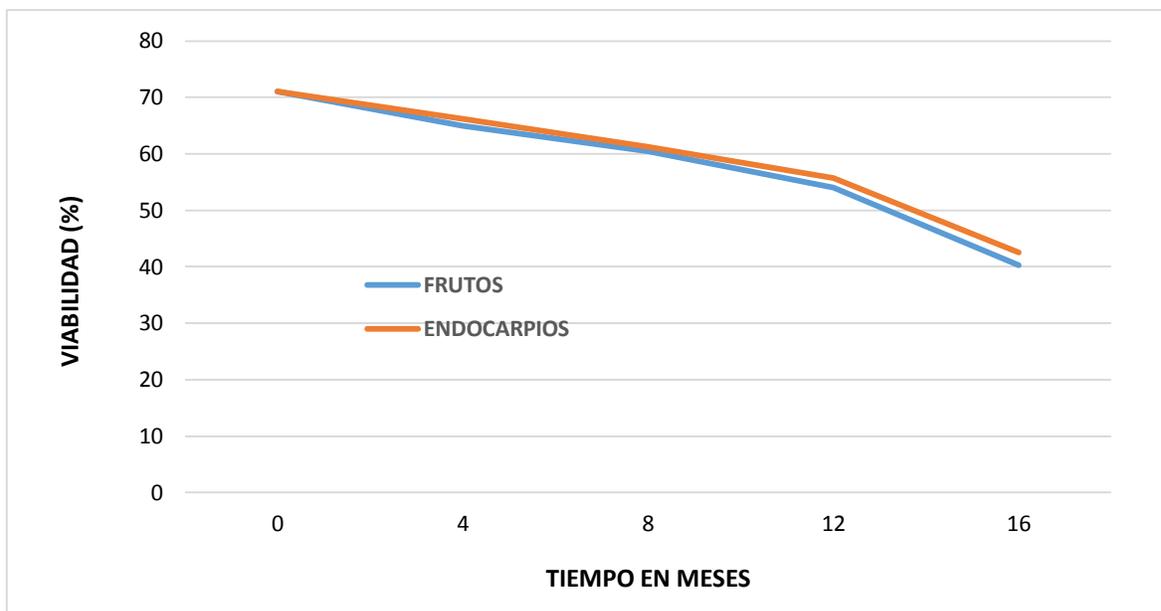


Figura 3.6. Evolución de la viabilidad de las semillas de nanche en el banco del suelo, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México.

La pérdida lenta de la viabilidad en este banco de semillas, puede ser consecuencia del déficit de humedad en el suelo (Maia *et al.*, 2004), condición que, al menos durante seis meses prevalece en el área, debido a que el clima presenta una marcada estación seca con altas temperaturas (García, 1988); por otro lado, la presencia de un endocarpio de mayor dureza y espesor (Jaimes, 2009) que el de los nanches de Tuxtepec, Oaxaca, protegió eficientemente a la semilla del ataque de microorganismos (Gardarini, 2010), especialmente hongos (Funes *et al.*, 2003), pues como reportan Rodríguez y García (2009), la presencia de microorganismos y depredadores, causan pérdidas importantes (40 %) de semillas en el banco del suelo.

Otro aspecto que pudo ser de importancia, es el relacionado con el contenido de humedad del suelo y el de la semilla cuando ésta se depositó en el banco del suelo; si bien es cierto, el contenido de humedad de las semillas fue muy bajo: 7.3 y 12.5 % en semillas y endocarpios, respectivamente (Cuadro 3.1); pero como la disponibilidad de agua en el suelo no fue excesiva, a consecuencia de que la precipitación no es abundante, y además, el endocarpio es grueso, es probable que la imbibición de las semillas haya sido lenta, por lo que no se produjo

deterioro de membranas celulares (Azcon-Bieto y Talón, 2008); o bien los daños no fueron graves y se repararon después de la imbibición (Rao *et al.*, 2006) y en consecuencia, se favoreció la persistencia de la semilla en el banco del suelo.

De igual manera, el vigor de las semillas pudo influir de manera importante en su capacidad para persistir en el suelo; en todas las pruebas de viabilidad, la tinción fue rosa intenso en la mayoría de las semillas, lo que indica que conservaron buen vigor (Moreno, 1996; Atici *et al.*, 2007) y con ello, cierta resistencia al ataque por fitopatógenos, lo que pronostica capacidad para persistir en el banco de del suelo por un período mayor que las semillas que son menos vigorosas, como se observó en las de Tuxtepec, Oaxaca (Bewley y Black, 1994).

También es conveniente resaltar el efecto que el estatus de la especie pudo ejercer en la persistencia de las semillas en el suelo; pues de acuerdo con De Jong *et al.* (2013), las especies silvestres presentan mayor persistencia en el banco del suelo que aquellas con un grado más avanzado de domesticación, como es el caso de los nanches de Tuxtepec, Oaxaca.

Por otra parte, es relevante considerar algunos factores relacionados con la persistencia de las semillas en el banco del suelo, entre los que figuran: la forma de vida de la planta (O'Farrill *et al.*, 2011), el tamaño de la semilla (Ferri *et al.*, 2009) y el nivel de estrés del ambiente donde se desarrollaron (Magnitskiy y Plaza, 2007); por lo que, considerando que las semillas que tienden a conservar su longevidad ecológica y potencial durante períodos más prolongados, son las especies anuales y bianuales y el nanche es una especie perene, es lógico el comportamiento mostrado. Así también, si se considera que existe una relación inversa entre el tamaño de la semilla y la longevidad (Schutte *et al.*, 2008) posiblemente a ello obedece que las semillas de Tejupilco hayan sido más persistentes que las de Tuxtepec; pues las de Tejupilco son más pequeñas (Jaimes, 2009).

Otro factor a favor de la persistencia de las semillas de Tejupilco en el banco del suelo, por un lado, lo constituyen las condiciones ambientales en las que se

desarrolló la semilla, ya que el clima presenta una marcada estación seca (García, 1988) lo que al parecer le confiere la capacidad de persistir por un período mayor (Magnitskiy y plaza, 2007) que las de Tuxtepec, Oaxca; por otro lado, la humedad y temperatura del suelo en el que estuvieron almacenadas las semillas, son menores en clima semicálido que en clima cálido húmedo, lo que contribuyó a disminuir el proceso de envejecimiento y deterioro (Kibinza *et al.*, 2011) y en consecuencia a conservar el poder germinativo por un período más amplio.

El comportamiento de la viabilidad en general, permite reafirmar lo expresado anteriormente en el sentido de que las semillas de nanche de Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México, tienden a formar un banco en el suelo de tipo persistente de corto plazo (Figuroa y Jasick, 2004; De Souza *et al.*, 2006). Esto se sustenta en que las semillas conservaron su longevidad por un período de al menos 24 meses, momento en el que aun germinaron como se aprecia en la Figura 3.5.

3.4. CONCLUSIONES

1. La dinámica germinativa del nanche en el banco de semillas del suelo de clima cálido húmedo (ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca), presentó un solo evento de germinación en tanto que para el clima semicálido (Tejupilco, Estado de México) fueron dos, separados por un claro período de reposo.
2. El banco de semillas del suelo en el clima cálido húmedo, fue de tipo transitorio, mientras que en el semicálido, fue persistente de corto plazo.
3. La longevidad o persistencia y germinación de las semillas de nanche en el banco del suelo de ambos climas, no está determinada por el tipo de semilla.

3.5. LITERATURA CITADA

- Atici, O.; G., Agar y O., Battal. 2007.** Influence of long term storage on plant growth substance levels, germination and seedling growth in legume seed stored for 37 years. *Indian Journal of Plant Physiology*. 12:1-5.
- Avitia, G. E. y E. E., Mark. 1998.** Aborto de óvulos y semillas en una población de *Spondia purpurea* L. (Anacardiaceae). *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 4 (2): 101-107.
- Azcon-Bieto, J. y M., Talón. 2008.** *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. 2ª ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 522 p.
- Baker, H. G., 1989.** Some aspects of the natural history of the seed banks: 9-21 (en) Leck, M.A.; Parker, V. y Simpson R.L. (eds). *Ecology of soil seed banks*. Academic Press INC., San Diego, California.
- Baskin, C. B. y M. B., Baskin. 2001.** *Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press. 666 p.
- Baskin, J. M. y C. C., Baskin. 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*. 14:1-16.
- Bewley, J. D. and M., Black. 1994.** *Seeds: Physiology of Development and germination* Second Ed. Plenum Press. New York, USA. 445 p.
- Box, G. E. P.; W. G., Hunter y J. S., Hunter. 2001.** *Estadística para investigadores, Introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y construcción de modelos*. 2ª reimpresión. Reverte. Barcelona, España. 675 p.
- Bradford, K. and H., Nonogaki. 2007.** *Seed Development, Dormancy and Germination*. *Annual Plant Review*. Vol. 27. Editorial Blackwell Publishing LTD. Oxford, UK. 392 p.

- Camacho, M. F. 2011.** Dormición de semillas: causas y tratamientos. Trillas. México, D. F. 232 p.
- Casierra-Posada, F.; J. F., Cárdenas-Hernández; H. A., Roa. 2008.** Efecto del aluminio sobre la germinación de semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y de maíz (*Zea mays* L.). Orinoquia. 12:45-56.
- Castillo, M. L. E. 2000.** Introducción a la Estadística Experimental. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, México. 263 p.
- Cavieres, L. A. 1999.** Bancos de semillas persistentes: modelos de germinación retardada y su aplicación en ambientes alpinos. Revista Chilena de Historia Natural. 72: 457- 466.
- Caver, P. B. 1995.** Seed Bank: memory in soil. Canadian Journal Soil Science. 75: 11-13.
- Cavieres, L. A. and M. T. K., Arroyo. 2001.** Persistent soil seed banks in *Phacelia secunda* (Hydrophyllaceae): experimental detection of variation along an altitudinal gradient in the Andes of central Chile (33 degrees S). Journal of Ecology. 89: 31-39.
- Chaideftou, E.; T. A., Costas; E., Bergmeier; A., Kallimanis y P., Dimopoulos. 2009.** Seed bank composition and above-ground vegetation in response to grazing in sub-Mediterranean oak forests (NW Greece). Plant Ecology. 201:255-265.
- Copeland, O. L. and M. B. McDonald. 2001.** Principles of Seed Science and Technology. 4th edition. Kluwer Press. New York. USA. 488 p.
- Cubero, J. I. 2003.** Introducción a la mejora genética vegetal. 2^a. Edición. Mundi-Prensa. México, D. F. 567 p.

- De Jong, J. T.; M., Tudela I. and E., Hesse. 2013.** Comparison of the crop species *Brassica napus* and wild *B. rapa*: characteristics relevant for building up a persistent seed bank in the soil. *Seed Science Research*. 23 (03): 169-179.
- De Souza, M. M.; F. C., Maia y M. A., Pérez. 2006.** Bancos de semillas en el suelo. *Agriscientia*. 23: 33-44.
- Fenner, M. and K., Thompson. 2005.** The ecology of seeds. Cambridge. University Press, 250 p.
- Ferrandis, P.; M., Bonilla y L. D., Osorio. 2011.** Germination and soil seed bank traits of *Podocarpus angustifolius* (Podocarpaceae): an endemic tree species from Cuban rain forests. *Journal Tropical Biology*. 59 (3): 1061-1069.
- Ferri, R., C., Maximiliano; V., Norma; H., Evelina and O., Antonia. 2009.** Banco de semillas de un relicto de Espinal, Cordoba, Argentina. *IHERINGIA, Sér. Bot.*, Porto Alegre. 4:93-100.
- Figuroa, J. A. y F. M., Jaksic. 2004.** Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista Chilena Historia Natural*. 77:201-2015.
- Finch-Savage, W. E. y G., Leubner-Metzger. 2006.** Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171, 501-523.
- Funes, G.; S. Basconcelo; S., Díaz and M., Cabido. 2003.** Seed bank dynamics in tall-tussock grasslands along an altitudinal gradient. *Journal of Vegetation Science*. 14: 253-258.
- García, E. 1988.** Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. Universidad Nacional autónoma de México. México, D. F. 217

- García-Núñez, C.; A., Azócar and J. F., Silva. 2001.** Seed production and soil seed bank in three evergreen woody species from a neotropical savanna. *Journal of Tropical Ecology* 17: 563-576.
- García-Núñez, C.; y A., Azocar. 2004.** Ecología de la regeneración de árboles de la sabana. *Ecotrópicos*. 17(1-2): 1-24.
- Gardarin, A.; C., Dürr; M. R., Mannino.; H., Busset and N., Colbach. 2010.** Seed mortality in the soil is related to seed coat thickness. *Seed Science Research*. 20 (04): 243-256.
- Gioria, M. and B., Osborne. 2009.** The impact of *Gunnera tinctoria* (Molina) Mirbel invasions on soil seed bank communities. *Journal of Plant Ecology Advance*. 2(3): 153-165.
- Guignard, L. M. 1991.** Almacenamiento de semillas y descripción sistemática de 42 genotipos de Nance (*Byrsonima crassifolia* L.) de la colección del CATIE. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE. Turrialba, Costa Rica.
- Harper, J. L. 1977.** Population Biology of Plants. London: Academic Press. pp. 33-111.
- Hilhorst, H. W. M. 2007.** Definition and hypotheses of seed dormancy. *In*: Bradford K, Nonogaki H (eds) Seed development, dormancy and germination, vol 27. Blackwell, Oxford, pp 50–71.
- Igbal, M. Z. y M., Shafiq. 2005.** Effects of aluminium en germination and growth on two diferent wheat cultivars. *Acta Botanica Hung*. 49(3): 315-321.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1998.** Cartas temáticas 14A56 “Tejupilco de Hidalgo, Estado de México”; escala 1:50,000.

- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1998.** Cartas temáticas E14B89 “San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca”; escala 1:50,000.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2005.** International rules for seed testing. Rules 2005. Zurich, Suiza. 300 p.
- Jaimes, A. C. 2009.** Caracterización morfológica de fruto y semilla de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth y su relación con la capacidad germinativa. Tesis de Maestría. Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 107 p.
- Kibinza, S.; J., Bazin; C., Bailly; J. M., Farrant; F., Corbineau y H., El – Marouf – Bouteau. 2011.** Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Science*. 181: 309-315.
- Loksha, R.; S. G., Hedge; R., Uma Shaanker and K. N., Ganeshiah. 1992.** Dispersal mode as a selective force in shaping the chemical composition of seeds. *American Naturalist*. 140: 520-525.
- Magnitskiy, S. V. y A. G., Plaza. 2007.** Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana*. 25: 96-103.
- Maia, F. C.; R. B., Medeiros; V. P., Pillar and T., Focht. 2004.** Soil seed bank variation patterns according to environmental factors in a natural grassland. *Revista Brasileira de Sementes*. 26 (2): 26-137.
- Marienfeld, S.; N., Schmohl; M., Klein; W. H. Schröder; A. J. Kuhn y W. J., Horst. 2000.** Localisation of aluminium in root tips of *Zea mays* and *Vicia faba*. *Journal of Plant Physiology*. 156:666-671.
- Milberg, P.; L., Andersson and K., Thompson. 2000.** Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research* 10: 99-104.

- Moreno, M. E. 1996.** Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 3ª edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 393 p.
- Narbona, E.; M., Arista y P. L., Ortiz. 2003.** Germinación de las semillas de madroño (*Arbutus unedo* L., Ericaceae). Acta Botánica Malacitana. 28: 73-78.
- Nithya, U.; V. Chelladurai; D. S., Jayas y N. D. G., White. 2011.** Safe storage guidelines for durum wheat. Journal of Stored Products Research. 47: 328-333.
- O'Farrill, G.; A., Colin, C., and A., Gonzalez. 2011.** Origin and deposition sites influence seed germination and seedling survival of *Manilkara zapota*: implications for long-distance, animal-mediated seed dispersal. Seed Science Research. 21(04):305-313.
- Peske, S. T. y F. B., Peske. 2013.** Absorción de agua bajo estrés. Seed news. Consultado en línea el 11 de octubre de 2013.
http://www.seednews.inf.br/html/site_es/content/reportagem_capa/?edicao=49
- Peterson, J. E. y A. H., Baldwin. 2004.** Seedling emergence from seed banks of tidal freshwater wetlands: response to inundation and sedimentation Aquat. Bot. 78:243-254.
- Piudo, M. J. y R. Y., Cavero 2005.** Banco de semillas: Comparación de metodologías de extracción, densidad y profundidad de muestreo. Publicaciones de Biología, Universidad de Navarra, Serie Botánica. 16:71-85.
- Quiroga, A. y A., Bono (eds). 2012.** Manual de fertilidad y evaluación de suelos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Anguil. Argentina. 162 p.

- Rao, R. G. S.; P. M., Singh y M., Rai. 2006.** Storability of onion sedes and effects of packaging and storage conditions on viability and vigour. *Scientia Horticulturae*. 110: 1- 6.
- Rodríguez, C. y M. A., García. 2009.** Seed-bank dynamics of the tropical weed *Sida rhombifolia* (*Malvaceae*): incidence of seedling emergence, predators and pathogens. *Seed Science Research*. 19 (04): 241-248.
- SAS. Institute Inc. 2001.** Statical Analysis System Versión 9.0. North Carolina, USA.1289 p.
- Schutte, B. J.; E. E., Regnier and S. K., Harrison. 2008.** The association between seed size and seed longevity among maternal families in *Ambrosia trifida* L. populations. *Seed science Research*. 18 (04): 201-211.
- Tweddle, J. C.; J. B., Dickie; C. C., Baskin and J. M., Baskin. 2003.** Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. *Journal of Ecology*. 91: 294–304.
- Van der Valk, A. G. y C. B., Davis. 1976.** The seed banks of prairie glacial marshes. *Canadian Journal of Botany* 54: 1832-1838.
- Wang, N.; J. Ju-Ying; J. Yan-Feng and W. Dong-Li. 2011.** Seed persistence in the soil on eroded slopes in the hilly-gullied Loess Plateau region, China. *Seed Science Research*. 21 (04): 295-304.
- Warwick, N. M. M. y M. A., Brock. 2003.** Plant reproduction in temporary wetlands: the effects of seasonal timing, depth an duration of flooding. *Aquatic Botany*. 77 153–167.

CAPÍTULO IV. DISPONIBILIDAD DE AGUA EN EL SUELO Y SU RELACIÓN CON LA GERMINACIÓN DE LA SEMILLA DE NANCHE (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth, EN INVERNADERO

RESUMEN

El agua es indispensable para reanudar los procesos metabólicos que conducen a la germinación de la semilla y el establecimiento de las plántulas; sin embargo, el estrés hídrico por déficit o exceso de humedad en el sustrato, puede retrasar, reducir o inhibir la germinación. La investigación tuvo como objetivo, determinar el efecto combinado de dos tipos de semilla (fruto completo y endocarpio) con tres niveles de humedad en el suelo (ERIC III o Testigo, ERIC III + 25 % y ERIC III - 25 %) en el comportamiento de la viabilidad, la germinación y la velocidad de emergencia de semilla de nanche, de clima cálido húmedo y clima semicálido, respectivamente. En las semillas de clima cálido húmedo, en sólo ocho meses la viabilidad disminuyó de 84 a 2.5 % tanto en fruto como en endocarpio (Fruto + ERIC III - 25 %; Endocarpio + ERIC III); mientras que, la germinación y la velocidad de emergencia lograron su mejor desempeño (36.5 % y 0.293 plántulas por día, respectivamente) con la combinación Fruto + (ERIC III - 25 %). Sin embargo, considerando que estadísticamente los tratamientos causaron el mismo efecto en las variables evaluadas; se concluye que, la disponibilidad de agua en el suelo y el tipo de semilla, son factores importantes para la germinación de nanche, pero actúan en combinación con otros factores como: el grado de domesticación, la latencia mecánica y fisiológica de las semillas de esta especie.

Palabras clave: *Byrsonima crassifolia*, estrés hídrico, germinación, velocidad de emergencia y viabilidad de las semillas.

4.1. INTRODUCCIÓN

El agua disponible en el suelo para la producción de los cultivos, depende de la cantidad de humedad que permanece en él después de las pérdidas por escorrentía, evaporación y drenaje profundo (Porta *et al.*, 2003), y está en función de la textura y estructura del suelo, el contenido de materia orgánica y la profundidad de enraizamiento. La materia orgánica del suelo es particularmente importante ya que incrementa considerablemente la retención de agua (Ciro y Fundora, 2007). Los suelos orgánicos y los suelos francos de textura media con altos contenidos de arena muy fina y sedimentos, tienen la más alta capacidad de disponibilidad de agua, los suelos arcillosos tienen valores intermedios y los suelos con contenido de arena gruesa tienen la más baja capacidad de disponibilidad de agua (Ortiz y Ortiz, 1990; Porta *et al.*, 2003).

La disponibilidad de agua en el suelo para que la semilla germine, está determinada por el potencial hídrico o la fuerza con la que ésta es retenida por el suelo. Así, un suelo rico en arcilla, retiene más el agua que un suelo arenoso. La disponibilidad se mide mediante su potencial hídrico (Ψ_A), cuyos valores varían entre 0 y $-\infty$, y sus unidades son el Megapascal (MPa). El potencial hídrico del suelo se calcula como la suma del potencial osmótico y el potencial mátrico: $\Psi_A = \Psi_{\pi} + \Psi_m$ (Ciro y Fundora, 2007).

El potencial matricial se debe a las fuerzas de adsorción y de capilaridad de las partículas sólidas del suelo (es el responsable de que el papel secante absorba el agua). Sus valores varían entre 0 y $-\infty$ y su unidad es el Megapascal (MPa). El potencial osmótico (Ψ_{π}), se debe a los solutos (sales) disueltos en el agua del suelo. Al igual que el potencial matricial, varía entre 0 y $-\infty$ y su unidad es el MPa; indica la tendencia del agua a pasar de una solución menos concentrada (con potencial osmótico más alto o menos negativo) a otra más concentrada (potencial más bajo o más negativo) para igualar los potenciales. Si la disolución del suelo tiene una concentración de solutos más alta que la semilla, entonces Ψ_{π} de la semilla es mayor que el Ψ_{π} del suelo y la semilla no solo no podrá absorber agua

sino que podrá perderla. Por tanto, la presencia de solutos osmóticamente activos como las sales en elevada concentración en el suelo, dificultará la germinación. Sin embargo, la capacidad de las semillas de absorber agua del suelo varía entre especies y con el contenido de agua del suelo. Cuanto más negativo es el potencial hídrico del suelo, menos agua libre disponible para las plantas contiene (Ortiz y Ortiz, 1990).

El estrés hídrico puede retrasar, reducir o inhibir completamente la germinación de las semillas, sea por déficit o por exceso de humedad en el sustrato (Turk *et al.*, 2004). Cuando la disponibilidad de humedad en suelo, no es suficiente para que la semilla absorba el agua necesaria para germinar (aumentar al menos 50 % su peso seco), sólo incrementa el contenido de humedad de ésta, que, aunado a la alta temperatura del suelo, induce al deterioro (Kibinza *et al.*, 2011) ya que, en estas circunstancias, el suelo sólo funge como un almacén, donde las condiciones no son apropiadas para la conservación de la calidad fisiológica de las semillas; en cambio, sí son idóneas para el desarrollo y ataque de microorganismos (hongos) y en consecuencia, para el deterioro (Bradford y Nonogaki, 2010).

Atendiendo a la información previa, y al comportamiento germinativo del nanche, reportado por varios autores en relación a que sus semillas se encuentran en el interior de un endocarpio leñoso y grueso, que los porcentajes de germinación son bajos y además la velocidad de emergencia es lenta (Villachica, 1996; García-Núñez *et al.*, 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Jaimes, 2006; Jaimes, 2009; Carvalho y Nascimento, 2008), la investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto combinado de dos tipos de semilla (fruto completo y/o endocarpio conteniendo a la semilla) con tres niveles de humedad en el suelo, en la viabilidad, germinación y velocidad de emergencia de las semillas de nanche de clima cálido húmedo y clima semicálido, en condiciones de invernadero.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Información geográfica, edafológica y climática de los sitios de colecta de frutos de nanche

4.2.1.1. El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca

El ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca, se localiza al noreste de la entidad, en la cuenca del río Papaloapan, antes de su confluencia con el río Tonto, en el límite con el estado de Veracruz; sus coordenadas geográficas extremas son: 18° 02' 36" latitud Norte 96° 06' 49" de longitud Oeste, a 52 m de altitud (INEGI, 1998).

El clima corresponde al tipo Am; Tropical húmedo, con temperatura media anual de 24.9 °C y precipitación media anual de 2304.3 mm (García, 1988). La orografía está constituida básicamente por lomeríos suaves, por ubicarse en la subprovincia fisiográfica Planicie Costera del Golfo de México. Presenta vegetación de tipo secundario constituida por palma coyol (*Acrocomia mexicana*), plantaciones de árbol del hule (*Hevea brasiliensis*) y pastizal inducido. La hidrología del lugar está constituida principalmente por la corriente permanente del río Papaloapan. El suelo es de tipo Luvisol y se caracteriza por ser profundo, de color café, arcilloso y pierde rápido la fertilidad, pero es apto para la agricultura.

4.2.1.2. Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México

Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado, de México; se localiza al suroeste de la entidad, en los límites con los estados de Guerrero y Michoacán, enclavado en la depresión del río Balsas. Sus coordenadas geográficas extremas son: 18° 59' 57" de latitud Norte y 100° 08' 09" de longitud Oeste, a 1626 m de altitud (INEGI, 1998).

El clima corresponde al tipo (A) C (w₂); semicálido del grupo C, con temperatura y precipitación media anual de 19 °C y 1338.9 mm, respectivamente (García, 1988). Su relieve es muy accidentado por situarse en la provincia fisiográfica de la Sierra Madre del Sur, en la subprovincia fisiográfica Depresión del río Balsas, la vegetación predominante corresponde a la selva baja caducifolia, bosque de pino

(*Pinus oocarpa*) y pastizal inducido. La hidrología se constituye por algunas corrientes temporales y permanentes; y los suelos corresponden al tipo Regosol y Acrisol, presentan textura arcillosa, profundidad entre 15 y 50 cm, pedregosos, con problemas de acidez (pH de 5 a 6.5) y erosionados (INEGI, 1998).

4.2.2. Colecta y acondicionamiento de los frutos

Para realizar la investigación se usaron frutos de nanche amarillo colectados en julio de 2010, en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca y en septiembre del mismo año, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México; dos localidades con climas diferentes, en los que el estatus de la especie difiere también; mientras en la primera prevalece el clima Am (Tropical húmedo), con temperatura media anual de 24.9 °C, precipitación media anual de 2304.3 mm, y la especie existe como planta tolerada o fomentada, en la segunda, el clima es (A) C (w2) (Semicálido del grupo C), con temperatura y precipitación media anuales de 19 °C y 1338.9 mm (García, 1988) y el estatus de la especie es silvestre.

Con el fin de que el grado de madurez fuera homogéneo, se colectaron frutos que de manera natural se desprendieron del árbol. Se depositaron en bolsas de plástico perforadas que contenían aserrín húmedo y se trasladaron al Laboratorio de Análisis de Semillas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, donde se acondicionaron. Como el mesocarpio del fruto conservó su firmeza durante el traslado, para facilitar el despulpado, los frutos se depositaron por cinco días en cestos de plástico que permitían la aireación, sin embargo, hubo cierto grado de fermentación; después, el mesocarpio se eliminó mediante fricción en un tamiz metálico y enjuagando con abundante agua.

4.2.3. Determinaciones previas

En campo se determinó el pH del suelo con tiras indicadoras con color para ambos sitios. Para ello, se usaron 5 g de suelo del sitio donde se estableció el experimento; el suelo se depositó en un vaso de precipitados, se le agregaron 12.5 ml de agua destilada (1:2.5), se agitó durante 10 minutos la solución, se filtró y dejó reposar durante 10 minutos y se introdujeron las tiras reactivas para

evaluar la acidez, neutralidad o alcalinidad del suelo, misma que se determinó mediante comparación de la coloración que tomaron las tiras con la escala de colores que contiene el Kit, se hicieron tres repeticiones de la determinación y después se sacó el promedio (Quiroga y Bono, 2012).

Después, mediante el método de la estufa ISTA (2005), se determinó el contenido de humedad de la semilla botánica y del endocarpio de manera independiente. Se usaron dos repeticiones de cuatro gramos cada una tanto de semilla como de endocarpio, para cada sitio de colecta; se secaron durante 17 horas a 103 °C y el resultado se reportó en porcentaje.

Los cálculos se realizaron aplicando la siguiente fórmula sugerida por Moreno (1996):

$$\% \text{ de humedad (con base en peso humedo)} = \left[\frac{(P2 - P3)}{(P2 - P1)} \right] * 100$$

En donde:

P₁ = Peso de la caja y su tapa

P₂ = Peso de la caja, tapa y semilla

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

A la par, se determinó la viabilidad de las semillas botánicas con 2, 3, 5, Cloruro de Trifenil Tetrazolio al 1 % (ISTA, 2005) previa extracción manual de los endocarpios; se remojaron en agua destilada durante 24 horas, se eliminó la testa y se sumergieron en la solución de Tetrazolio durante 24 horas. Se enjuagaron con agua destilada e hicieron cortes longitudinales para observar al microscopio las estructuras del embrión y evaluar la viabilidad; en la evaluación se consideraron como covariables la superficie e intensidad de tinción de las estructuras vitales para el establecimiento de una plántula normal. Como el nanche es una especie para la que no existen protocolos de tetrazolio en las normas de la ISTA, esta se llevó a cabo con base en observaciones cuidadosas y aplicando criterios definidos para otras especies. La prueba constó de 25 semillas.

Se calificaron como viables y de alto vigor las semillas que presentaron coloración rosa intenso y con la tinción cubriendo la totalidad de la superficie del tejido o la mayor parte de él; de baja viabilidad aquellas cuya coloración fue de un tono rosa pálido pero con tejido teñido casi en su totalidad; y como no viables, las que no presentaron ninguna coloración o bien aquellas en donde las estructuras de la semilla como la radícula y/o los cotiledones no se tiñeron; ya que esto indica que la semilla no dará origen a una plántula normal, pues carecerá de la raíz (ausencia de tinción en la radícula) o la plúmula (ausencia de tinción en los cotiledones) según el caso. El resultado se reportó en porcentaje.

4.2.4. Establecimiento y conducción de los experimentos

Se establecieron dos experimentos independientes en invernadero, en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en Montecillo, Texcoco, Estado de México; el primero el 01 de agosto de 2010 con germoplasma de nanche de Tuxtepec, Oaxaca (clima cálido húmedo) y el segundo el 26 de septiembre del mismo año, con material genético de Tejupilco, Estado de México (clima semicálido).

Se usó un Diseño Experimental Completamente al Azar con arreglo factorial de tratamientos (2 X 3), los factores y niveles fueron: tipo de semilla (fruto completo y/o endocarpio conteniendo a la semilla botánica) y régimen o nivel de humedad del suelo (Testigo (ERIC III), ERIC III + 25 % y ERIC III – 25 %) obteniéndose seis tratamientos con ocho repeticiones de 100 frutos y/o endocarpios cada una, según correspondió. De éstas, cuatro repeticiones se destinaron a evaluar el comportamiento germinativo del nanche y las otras cuatro a evaluar la evolución (pérdida) de la viabilidad de las semillas, en el tiempo; para ello, de las unidades experimentales que correspondió, cada cuatro meses se sacaron del sustrato 25 frutos y/o endocarpios, se extrajeron las semillas botánicas y se les practicó la prueba de viabilidad con Tetrazolio. La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales y su ubicación en el invernadero, se hizo de acuerdo con el diseño empleado. Se utilizaron como unidades experimentales 48

contenedores de plástico de 60 x 40 cm, con una capa de suelo de 20 cm, proveniente de cada sitio de colecta.

Para calcular las diferentes láminas de riego y su distribución en el tiempo para cada ambiente, se consideraron datos de la precipitación histórica diaria de 20 años, de la estación más cercana a los sitios de colecta; se realizó mediante el Extractor Rápido de Información Climatológica (ERIC III) del Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMPTA, 2006); una vez teniendo los datos de la precipitación promedio diaria, se calculó el área del recipiente empleado como unidad experimental, y de esa manera se determinó la lámina de riego que correspondió a cada unidad experimental Testigo (ERIC III); para los dos tratamientos restantes sólo se aumentó o disminuyó en 25 % la lámina de riego según el caso. La lámina que correspondió a cada unidad experimental se aplicó cada tercer día.

La temperatura ambiente y humedad relativa (H.R.) se mantuvieron en 20.6 °C y 60.3 %, respectivamente, para el experimento con nanche de Tuxtepec, Oaxaca y en 21.4 °C y 55.8 % para el de Tejupilco, Estado de México. Se monitorearon con un HOBO U14 LCD Data logger, por 15 meses para Tuxtepec, Oaxaca y durante 25 meses para el de Tejupilco, Estado de México.

4.2.5. Variables evaluadas.

Viabilidad con Tetrazolio. Se hicieron varias determinaciones de manera indirecta mediante la prueba de 2, 3, 5, Cloruro de Trifenil Tetrazolio al 1 %. La primera antes de la siembra, y después, dos más, una cada cuatro meses. El resultado se expresó en porcentaje. Se calificaron como viables todas las semillas que presentaron coloración rosa intenso y con la tinción cubriendo la totalidad del tejido o la mayor parte de él; como de baja viabilidad aquellas cuya coloración fue de un tono rosa ligeramente pálido pero con tejido teñido casi en su totalidad; y finalmente se clasificaron como semillas no viables, las que no presentaron ninguna coloración o bien aquellas en donde las estructuras de la semilla como la radícula o los cotiledones no se tiñeron; ya que esto indica de que dicha semilla no dará origen a una plántula normal, pues carecerá de la raíz (ausencia de

tinción en la radícula) o la plúmula (ausencia de tinción en los cotiledones) según el caso.

Germinación. Se determinó al finalizar el experimento, contando el total de semillas germinadas y el resultado se expresó en porcentaje.

Velocidad de emergencia. Se evaluó realizando conteos periódicos del número de plántulas emergidas; se inició a los 50 días después de la siembra para el experimento de Tuxtepec, Oaxaca y a los 242 días para el de Tejupilco, Estado de México. Se consideró plántula emergida, aquella que mostró los cotiledones sobre la superficie del suelo. Los experimentos se monitorearon durante 379 días para el caso del germoplasma de Oaxaca y, 738 días para el de Tejupilco, Estado de México. La VE se calculó mediante la siguiente fórmula, propuesta por Maguire (1962):

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

En donde:

VE = Velocidad de emergencia

X_i = Número de plántulas emergidas en el i -ésimo conteo

N_i = Número de días después de la siembra en el i -ésimo conteo

n = Número de conteos; 1,2,..., n conteos

4.2.6. Análisis estadístico

Los resultados se transformaron mediante la función Arcoseno para disminuir la varianza de los datos (Castillo, 2000; Box *et al.*, 2001); posteriormente, se realizó el análisis de varianza para cada variable con $\alpha \leq 0.05$, mediante el paquete estadístico SAS para Windows Versión 9.0 (2001).

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1. Determinaciones preliminares

En el Cuadro 4.1. Se muestran los datos de las condiciones fisiológicas y físicas de las semillas de nanche de ambos orígenes, mismas que pudieron influir en el comportamiento de las variables evaluadas.

Cuadro 4.1. pH del suelo, viabilidad inicial y contenido de humedad de las semillas y endocarpios de Tuxtepec, Oaxaca y Tejupilco, Estado de México.

Origen del germoplasma	pH del suelo	Viabilidad inicial (%)	Contenido de humedad (%)	
			Semillas	Endocarpios
Tuxtepec, Oaxaca	6.0	84	12.05	20.1
Tejupilco, México	6.0	71	7.3	12.5

4.3.1.1. Viabilidad

Se observa que la viabilidad (Cuadro 4.1) es mayor en las semillas de Tuxtepec, Oaxaca, que en las de Tejupilco, Estado de México; esto posiblemente obedece a las diferencias ambientales que prevalecen en los sitios donde se colectaron los frutos. En Tuxtepec, Oaxaca se reporta una precipitación promedio de 2304.3 mm, distribuida durante todo el año; en cambio en Tejupilco, Estado de México, sólo precipitan en promedio 1338.9 mm, concentrados principalmente en los meses de julio a octubre; y en la etapa de floración y formación del fruto abril-junio, por lo general no hay precipitaciones (Servicio Meteorológico Nacional, 2013).

4.3.1.2. Contenido de humedad de semillas y endocarpios

Al igual que en la viabilidad, también el contenido de humedad de las semillas fue diferente; las de Tuxtepec tuvieron 60.6 % más que las de Tejupilco; en los endocarpios se observa el mismo comportamiento; los de Oaxaca superan a los de Tejupilco en 62.2 %. Esto, como se mencionó, está relacionado con las condiciones ambientales de los sitios donde se desarrolla el frutal. Las considerables diferencias en los contenidos de humedad de la semilla que se muestran en el Cuadro 4.1, permiten pensar en la posibilidad de que en el germoplasma de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, la viabilidad se pierda rápidamente y en consecuencia, la germinación disminuya. Cabe la posibilidad de que las semillas de nanche de este origen, se estén comportando como de tipo recalcitrante, que, entre otras características, se distinguen por dispersarse en la época húmeda, y las semillas botánicamente deben considerarse como frutos ya que están cubiertas por el endocarpio, y con frecuencia se separan de la planta madre con grados de maduración heterogéneos (Cuevas, 2008). Este tipo de semillas conservan su viabilidad durante un período breve que puede ser de días, meses (Bewley, 1995) y en algunos casos uno o dos años, si provienen de ambiente templado y toleran temperaturas bajas (Chin y Roberts, 1980).

4.3.1.3. pH del suelo empleado en las pruebas de germinación

En el Cuadro 3.1 se aprecia que el pH del suelo de ambos sitios, es moderadamente ácido (Quiroga y Bono, 2012), esto significa que existen iones de aluminio en la solución del suelo (Al^{3+}), que pueden generar problemas durante la germinación de las semillas, como lo observaron Casierra-Posada *et al.* (2008) en semillas de trigo y maíz; reportan que existe una relación inversa entre la germinación y la concentración de Al^{3+} , es decir, al aumentar la concentración del metal, disminuye la germinación. También mencionan que el aluminio aumenta la rigidez de las membranas celulares, y de esta manera inhibe la división y alargamiento celular, lo que puede limitar el crecimiento del eje embrionario (Marienfeld *et al.*, 2000).

4.3.2. Experimento con germoplasma de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, en invernadero

En el Cuadro 4.2, se muestran los datos promedio mensuales de temperatura y humedad relativa, así como las distintas láminas de riego (litros/unidad experimental/mes), aplicadas cada tercer día, en el período comprendido del 01 de agosto de 2010 al 03 de octubre de 2011.

Cuadro 4.2. Temperatura, humedad relativa y niveles de humedad a los que estuvieron expuestas las semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, en invernadero.

Mes	Temperatura promedio mensual °C	Humedad relativa promedio mensual %	ERIC III (Testigo)	ERIC III + 25 %	ERIC III - 25 %
AGO-2010	19.8	74.9	36.2	45.2	27.1
SEP-2010	20.2	77.3	35.0	43.8	26.3
OCT-2010	18.8	71.5	16.4	20.6	12.3
NOV-2010	16.4	69.4	8.2	10.2	6.1
DIC-2010	14.1	61.8	4.4	5.5	3.3
ENE-2011	19.6	39.6	2.9	3.6	2.1
FEB-2011	20.4	40.1	2.9	3.6	2.1
MZO-2011	21.2	44.9	2.4	2.9	1.8
ABR-2011	24.5	47.9	2.7	3.3	2.0
MAY-2011	24.8	50.5	8.6	10.8	6.5
JUN-011	23.5	59.7	32.9	41.1	24.7
JUL-2011	23.3	72.5	41.5	51.8	31.1
AGO-2011	20.0	72.1	36.2	45.2	27.1
SEP-2011	21.2	65.5	35.0	43.8	26.3
OCT-011	20.5	57.6	16.4	20.6	12.3
PROMEDIO	20.6	60.4	18.8	23.5	14.1

ERIC III= Lámina de riego en litros por unidad experimental por mes, calculada con base en los datos de precipitación histórica diaria de 20 años, registrados en la estación meteorológica de San Juan Tuxtepec, Oaxaca.

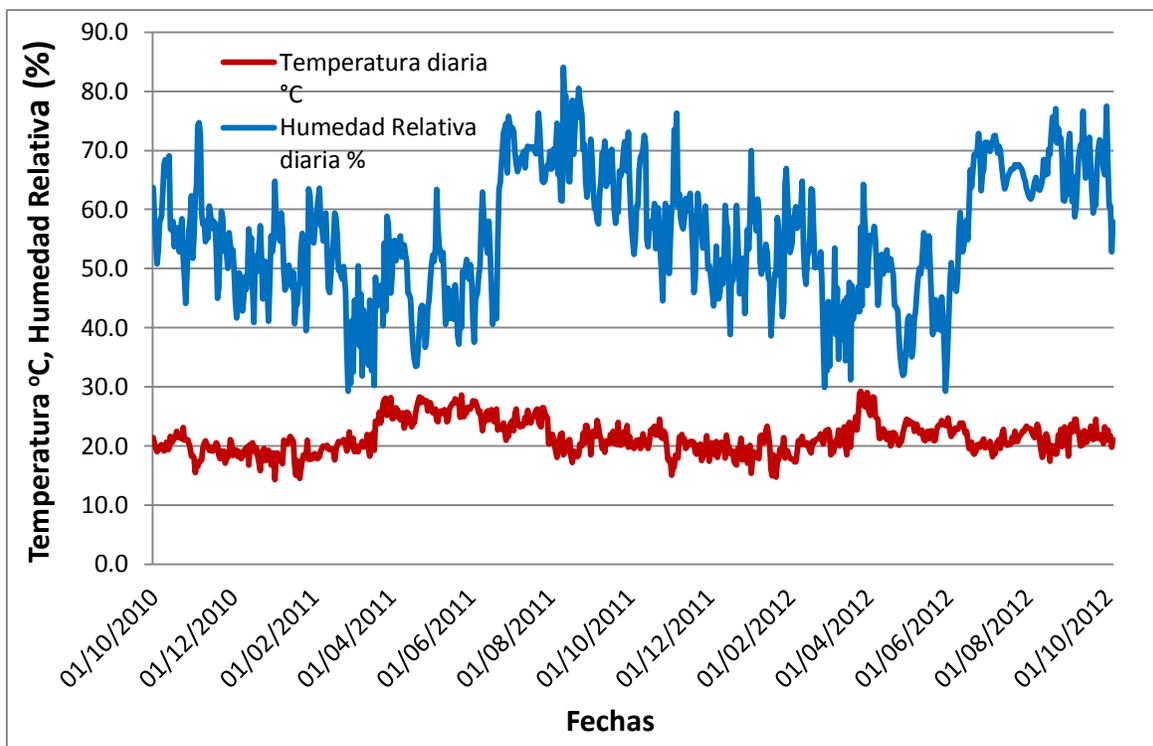


Figura 4.1. Temperatura y humedad relativa diaria, registrada durante 379 días con un HOBO U14 LCD Data logger, en invernadero.

En el Cuadro 4.3 se muestra el comportamiento de la germinación, velocidad de emergencia y la viabilidad de las semillas de nanche después de cuatro y ocho meses de la siembra, en suelo del mismo sitio donde se colectó el material genético empleado en el experimento realizado en invernadero, durante el período comprendido del 01 de agosto de 2010 al 03 de octubre de 2011, en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en Montecillo, Texcoco, Estado México, en semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca.

Cuadro 4.3. Cuadrados medios y significancia estadística de las variables evaluadas en germoplasma de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, en invernadero.

F.V.	G.L.	Germinación (%)	Velocidad de emergencia[†]	Viabilidad cuatro meses DS (%)	Viabilidad ocho meses DS (%)
Tipo de semilla (TS)	1	0.5400 *	3.0104 *	0.0535 ^{ns}	0.0693 ^{ns}
Nivel de humedad (NH)	2	0.0279 ^{ns}	0.2879 ^{ns}	0.0037 ^{ns}	0.0768 ^{ns}
TS * NH	2	0.0488 ^{ns}	0.1354 ^{ns}	0.0077 ^{ns}	0.0779 ^{ns}
Error	23	0.0356	0.3946	0.0348	0.0316
C.V. (%)		14.32	24.92	14.43	10.95

* = $P \leq 0.05$, † = Número de plántulas emergidas por día, DS = Después de la siembra; ns= No significativo

En la germinación (Cuadro 4.3) la interacción tipo de semilla * nivel de humedad no mostró significancia estadística; por lo que las diferencias de comportamiento de los tratamientos estriban exclusivamente en el efecto significativo ($P \leq 0.05$) principal, del factor tipo de semilla empleada en la prueba (fruto completo o endocarpio); lo que implica que para este factor, al menos uno de los niveles evaluados causó un efecto diferente, en la variable respuesta. En lo que respecta a la velocidad de emergencia, se comportó de manera similar a la germinación, ya que sólo el factor tipo de semilla tuvo efecto significativo ($P \leq 0.05$).

La viabilidad evaluada a los cuatro y ocho meses después de la siembra; no mostró efecto significativo de los tratamientos, esto quiere decir que no se rechaza la hipótesis nula, y en consecuencia, se acepta que, estadísticamente los tratamientos aplicados causaron el mismo efecto en la viabilidad, y su pérdida, no estuvo en función de la aplicación de éstos.

Como las interacciones de los factores tipo de semilla * nivel de humedad no fueron significativos en las variables evaluadas; se prescindió de la prueba de comparación de medias y sólo se analizaron los efectos principales de los niveles de los factores estudiados (Cuadro 4.4).

Cuadro 4.4. Comportamiento promedio de las variables evaluadas en el germoplasma de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, en invernadero.

Tipo de semilla	Nivel de humedad	Germinación (%)	Velocidad de emergencia†	Viabilidad 4 meses DS (%)	Viabilidad 8 meses DS (%)
Fruto completo	ERIC III (Testigo)	28	0.228	28.75	23.75
	ERIC III + 25 %	31.75	0.257	27.50	15.00
	ERIC III - 25 %	36.5	0.293	30.00	2.50
Endocarpio	ERIC III (Testigo)	13.5	0.117	37.50	2.50
	ERIC III + 25 %	20.25	0.137	37.50	11.25
	ERIC III - 25 %	14.75	0.145	35.00	5.00

† = Número de plántulas emergidas por día; DS = Después de la siembra

4.3.2.1. Germinación

En el Cuadro 4.4 y la Figura 4.2, se observa que la germinación logró su máximo porcentaje (36.5 %) cuando se sembró el fruto completo combinado con el menor nivel de humedad, esto puede obedecer a que el mesocarpio del fruto impidió la entrada violenta del agua a las semillas, protegiéndolas de las rupturas celulares que provocan disminución del vigor e incluso la muerte del embrión (Azcon-Bieto y Talón, 2008). En cambio en los tratamientos donde la lámina de riego fue más abundante (Testigo y ERIC III + 25 %), como ocurrió en el período de agosto a octubre de 2010 y de junio a octubre de 2011 (Cuadro 4.2 y Figura 4.1), existe la posibilidad de que el exceso de agua en el suelo haya obstaculizado el intercambio gaseoso durante la imbibición de la semilla (Pardos, 2004) y ocasionado la muerte del embrión. Esta situación de anaerobiosis por exceso de

agua en el sustrato, pudo acentuarse por las características físicas del suelo (Porta *et al.*, 2003; Fenner y Thompson, 2005), ya que tiene textura arcillosa y capacidad media de retención de agua (Ciro y Fundora, 2007).

Posiblemente, también influyó el grado de retención de calor por parte del tipo de semilla empleada; en el fruto, la presencia del mesocarpio pudo haber provocado un incremento térmico y generar un ambiente ácido que ablandó el endocarpio más rápido; en contraparte, las unidades experimentales en las que se sembraron endocarpios, perdieron el calor más rápido cuando la temperatura descendía durante la tarde, y quizá, por ello, la germinación fue menor en este caso. La temperatura es un factor muy importante ya que influye sobre las enzimas que regulan las reacciones bioquímicas que ocurren después de la imbibición (Bewley y Black, 1994; Taiz y Zeiger, 2006; Azcon-Bieto y Talón, 2008).

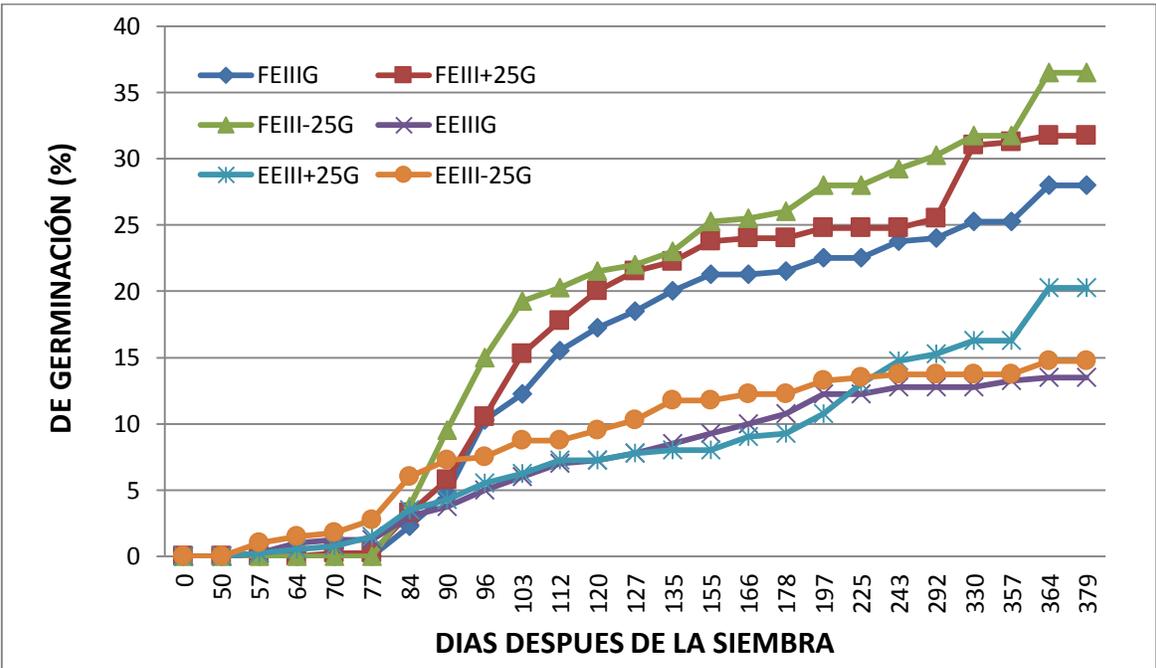


Figura 4.2. Germinación acumulada obtenida en semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, con la aplicación de los distintos tratamientos.

Otro aspecto conveniente de resaltar, es el hecho de que la excesiva humedad del suelo (ERIC III y ERIC III + 25 %), en combinación con temperaturas diarias

superiores a 20 ° C, que se presentaron en algunos meses (Cuadro 4.2 y Figura 4.1), pudieron propiciar la proliferación de hongos y dañar la calidad fisiológica de la semilla, lo que se reflejó en la baja germinación obtenida (Bradford y Nonogaki, 2007; Peske y Peske, 2013).

Si se analiza el comportamiento de la germinación cuando se sembraron endocarpios conteniendo a la semilla, se aprecia una disminución considerable en los porcentajes obtenidos, con respecto a los que se lograron al sembrar el fruto completo (Cuadro 4.4 y Figura 4.2); ya que entre la germinación más baja obtenida al sembrar frutos completos (28 %) y la más alta cuando se sembraron endocarpios (20.25 %), existe una diferencia de 7.75 puntos porcentuales; esto permite reiterar el argumento anterior de que el rápido ingreso de agua a la semilla con bajo contenido de humedad (12.05 %) durante la imbibición, que a su vez es propiciado por la diferencia de potenciales hídricos entre el suelo y la semilla (Cornaglia, 2005), pudieron deteriorar en gran medida la capacidad germinativa de las semillas, mediante el daño en la integridad de las membranas celulares (Rao, *et al.*, 2006; Azcon-Bieto y Talón, 2008).

Otro factor que puede contribuir a explicar el bajo porcentaje de germinación que en general se obtuvo, es la temperatura promedio que se mantuvo en el invernadero, que fue de 20.6 °C (Cuadro 4.2) por lo que, atendiendo a lo mencionado por Fenner y Thompson (2005), no fue la óptima para el mejor desempeño de la germinación, ya que los autores indican que las semillas de especies tropicales germinan mejor a temperaturas superiores a 25 °C.

También debe tenerse en cuenta que la morfología y anatomía de la cubierta, que en este caso corresponde a un endocarpio leñoso y grueso, puede representar un obstáculo para el desarrollo del embrión, y en parte, a ello obedecer los bajos porcentajes de germinación (García-Nuñez *et al.* 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Jaimes, 2006; Jaimes, 2009; Carvalho y Nascimento, 2008; Varela, 2013). Por otro lado, es relevante mencionar que, a diferencia de 2008, en 2010 se encontró una cantidad considerable de semillas vanas, y otras con presencia de hongos; cuando por lo general en el germoplasma de esta región, cada

endocarpio contiene al menos dos semillas de buena calidad fisiológica. Esto posiblemente se relacione con condiciones ambientales que de manera inusual se presentaron en la región en mayo y junio de 2010 (periodo de la floración y formación de la semilla, del nanche). En Tuxtepec, Oaxaca, sólo precipitaron 11.4 y 150 mm, respectivamente, cuando el histórico ha sido de 150.9 y 375 mm, respectivamente; además, se registraron temperaturas máximas de 45 y 48 °C, en los citados meses. (<http://clima.inifap.gob.mx/redinifap/estaciones.aspx>).

Los bajos porcentajes de germinación que en general se obtuvieron con ambos tipos de semilla, además de lo que se ha mencionado, pueden relacionarse con altas concentraciones de iones de aluminio (Casierra-Posada *et al.*, 2008), típicas de suelos ácidos (Cuadro 4.1); estos iones ingresan a la semilla durante la imbibición y se adhieren a las paredes celulares (Marienfeld *et al.*, 2000) provocando rigidez en ellas lo que inhibe la división y elongación celular, y por lo tanto disminuye la germinación de las semillas; además, las semillas en las que emerge la radícula quedan en contacto directo con la solución del suelo y sufren toxicidad por la presencia de elevadas concentraciones de Aluminio por lo que el crecimiento y establecimiento de las plántulas es limitado (Igbal y Shagib, 2005).

De igual manera, es conveniente considerar en el comportamiento de la germinación de las semillas, algunos factores adicionales como: el genético (Wu *et al.*, 2001), y aspectos hormonales, especialmente la actividad antagónica entre las giberelinas y el ácido abscísico (Koorneef *et al.*, 2002; Laskowski y Bautista, 2002; Carvalho y Nascimento, 2008; Jaimes, 2009; Camacho, 2011).

Por último, es preciso mencionar que los resultados obtenidos difieren de lo que menciona Moreno (1996), en el sentido de que, los resultados de la prueba de germinación y de viabilidad debieran ser similares; aunque por lo general siempre son menores los de la germinación, ya que en esta última intervienen factores bióticos y abióticos que influyen en el resultado final; además, la prueba de viabilidad detecta también el potencial de las semillas latentes, si fuese el caso; en tanto que éstas probablemente no germinarán, lo que se refleja en el porcentaje de germinación total. Sin embargo, en este caso, los resultados

obtenidos en ambas pruebas difieren considerablemente. La viabilidad inicial fue de 84 % (Cuadro 4.1), en tanto que la germinación máxima fue de 36.5 % (Cuadro 4.4); esto puede ser el resultado de una serie de factores mencionados con antelación, y además, a que la prueba de viabilidad se practicó en un lote de semillas independiente que pudo estar azarosamente integrado por semillas con calidad fisiológica diferente. Para tener la seguridad de que todas las semillas empleadas en el ensayo tuvieran la calidad deseada, habría sido necesario examinar cada uno de los endocarpios usando Rayos X, para tener la certeza de que los embriones tenían la madurez morfológica, entre otras características; situación que es poco conveniente, dada la gran cantidad de endocarpios que se emplearon en la investigación.

4.3.2.2. Velocidad de emergencia

Esta variable mostró un comportamiento concordante con la germinación, ya que la mayor cantidad de plántulas emergidas por día, se obtuvo cuando se sembraron los frutos completos (Cuadro 4.4). Esto puede obedecer a que la temperatura promedio que se tuvo en el invernadero, en algunos meses (Cuadro 4.2 y Figura 4.1), favoreció los procesos metabólicos que conducen a la germinación (Bewley y Black, 1994; Taiz y Zeiger, 2006, Azcon-Bieto y Talón, 2008). Como se mencionó anteriormente, esto puede estar relacionado en primer lugar, con el grado de retención de calor por parte del tipo de semilla empleada (fruto completo o endocarpio); en el fruto completo, la presencia del mesocarpio mediante la fermentación, pudo haber provocado un incremento térmico y generar un ambiente ácido que posiblemente, funcionó como agente escarificador del endocarpio y propició mayor velocidad de emergencia, y en segundo término, con el efecto protector, por así llamarle, que ejerció el mesocarpio del fruto a la entrada rápida del agua a la semilla seca (12.05 % de humedad), contribuyó a disminuir o evitar el daño a las membranas celulares de las semillas durante el período de imbibición (Rao *et al.*, 2006; Azcon-Bieto y Talón, 2008), y de esta manera, conservar el vigor suficiente para producir una plántula normal (Bewley y Black, 1994; Copeland y McDonald, 2001). Todo lo contrario ocurrió cuando se

sembraron endocarpios conteniendo a la semilla, donde la diferencia entre el índice de velocidad de emergencia más bajo obtenido en la siembra con frutos completos, fue de 0.228 y el mayor índice que se obtuvo al sembrar endocarpios fue de 0.145 plántulas emergidas por día (Cuadro 4.4); aunque ambas cifras son bajas, lo que es típico de esta especie (Villachica, 1996; García-Núñez *et al.*, 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Jaimes, 2006; Jaimes, 2009; Carvalho y Nascimento, 2008), la diferencia entre ellos es de gran magnitud. Esto demuestra que el tipo de semilla (fruto completo o endocarpio) empleado en el experimento fue determinante en el comportamiento de la variable respuesta. La velocidad de emergencia puede relacionarse con la temperatura, ya que como se mencionó anteriormente, la pérdida de calor en los endocarpios cuando la temperatura del ambiente desciende, es más notoria, debido a que éste se encuentra en contacto directo con el suelo. Esta atmósfera circundante, con menor temperatura que tuvo la semilla, pudo ser la responsable de la baja velocidad de emergencia obtenida (Fenner y Thompson, 2005, Taiz y Zeiger, 2006; Azcon-Bieto y Talón, 2008).

4.3.2.3. Viabilidad

Aun cuando estadísticamente el comportamiento de esta variable no estuvo relacionado con el efecto de los tratamientos aplicados, la información del Cuadro 4.4 y la Figura 4.3, muestran que las semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, pierden la viabilidad rápidamente. Se inició con 84 % (Cuadro 4.1) y en tan sólo cuatro meses disminuyó a 35 %, es decir, hubo un decremento de 49 puntos porcentuales, cuando se sembraron sólo los endocarpios con el menor nivel de humedad (ERIC III menos 25 %); esto ocurrió en el mejor de los casos.

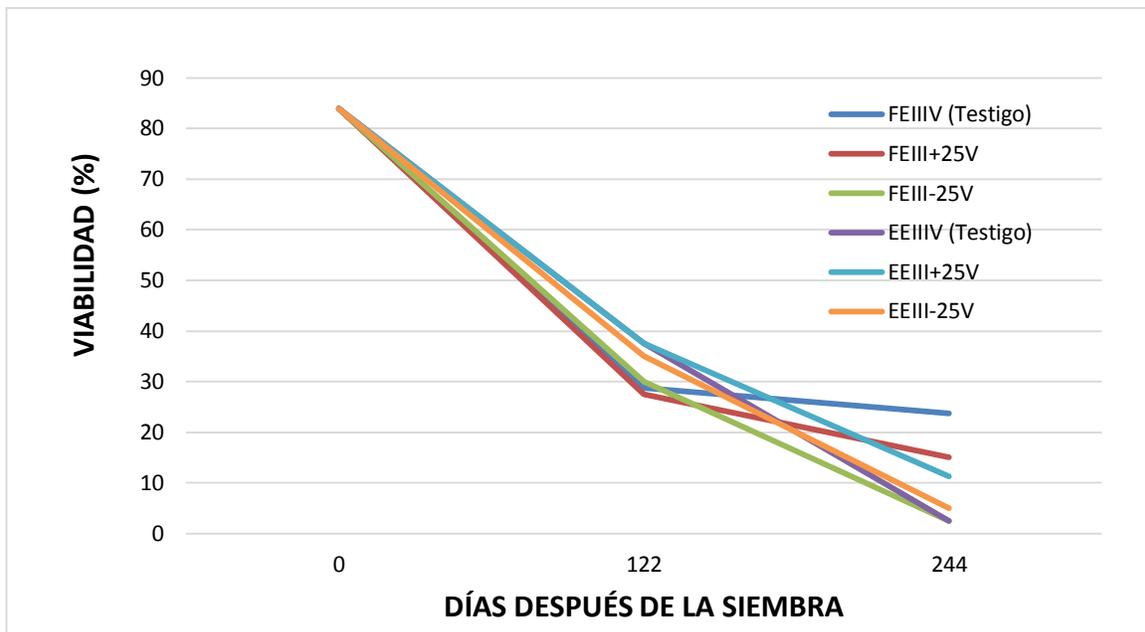


Figura 4.3. Evolución de la viabilidad de las semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, con la aplicación de los tratamientos.

Por otro lado, cuando se sembraron los frutos completos en combinación con el mayor nivel de humedad (ERIC III más 25), la viabilidad disminuyó en 56.5 puntos porcentuales, es decir, descendió de 84 a 27.5 %, en sólo cuatro meses, y en los cuatro meses subsiguientes ésta disminuyó en ambos casos hasta 2.5 %; por este motivo, la evaluación de la variable respuesta se suspendió en este momento, aun cuando inicialmente se proyectó observar su comportamiento por 16 meses.

El comportamiento anterior puede relacionarse, en primer lugar, con las condiciones de elevada humedad y temperatura del sustrato que prevalecieron algunos días (Cuadro 4.2 y Figura 4.1) ya que son los factores principales que propician el deterioro de las semillas en el almacén, y en este caso, el suelo fungió como tal (Bewley y Black, 1994; Basu, 1995; Copeland y MacDonald, 2001; kibinza *et al.*, 2011). En segundo término, según Guignard (1991) este comportamiento en nanche es normal, ya que sus semillas son recalcitrantes, y en tercer lugar, es factible resaltar que el detrimento más notorio que se aprecia

cuatro meses después de la siembra, en los tratamientos que combinaron frutos completos con el máximo nivel de humedad, puede ser consecuencia de que, el exceso de humedad del sustrato (ERIC III + 25 %, en los meses de junio a septiembre, que se aprecian en el Cuadro 4.2) mantuvo los frutos en remojo, y con las altas temperaturas de algunos meses, provocaron la fermentación y por lo tanto, mayor incremento en la temperatura de la atmósfera circundante a la semilla, acontecimientos que, de acuerdo con Tweddle *et al.* (2003), contribuyen a la pérdida de viabilidad de las semillas.

4.3.3. Experimento con germoplasma de nanche Tejupilco, Estado de México

En el siguiente cuadro se muestran los promedios mensuales de temperatura y humedad relativa, así como las distintas láminas de riego (litro/unidad experimental/mes) aplicadas cada tercer día, durante el período del 26 de septiembre de 2010 al 03 de octubre de 2012.

Cuadro 4.5. Temperatura, humedad relativa y niveles de humedad, a los que estuvieron expuestas las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México, en invernadero.

Mes	Temperatura promedio mensual °C	Humedad relativa promedio mensual %	ERIC III (Testigo)	ERIC III + 25 %	ERIC III - 25 %
OCT-2010	20.5	57.6	16.1	20.1	12.1
NOV-2010	18.8	57.6	4.0	5.0	3.0
DIC-2010	18.6	48.9	1.1	1.4	0.8
ENE-2011	18.3	51.8	0.8	1.0	0.6
FEB-2011	19.6	51.9	0.7	0.9	0.5
MZO-2011	22.2	42.6	0.3	0.3	0.2
ABR-2011	25.8	45.5	1.4	1.7	1.0
MAY-2011	26.1	47.9	9.6	12.0	7.2
JUN-2011	24.6	55.2	27.5	34.4	20.6
JUL-2011	24.4	69.5	21.4	26.8	16.1
AGO-2011	20.3	71.0	24.5	30.6	18.3
SEP-2011	21.2	65.5	22.6	28.3	17.0
OCT-2011	21.1	59.2	16.1	20.1	12.1
NOV-2011	19.4	59.0	4.0	5.0	3.0
DIC-2011	19.1	50.1	1.1	1.4	0.8
ENE-2012	19.0	53.7	0.8	1.0	0.6
FEB-2012	20.1	52.3	0.7	0.9	0.5
MZO-2012	23.0	44.1	0.3	0.3	0.2
ABR-2012	22.9	46.8	1.4	1.7	1.0
MAY-2012	22.8	44.1	9.6	12.0	7.2
JUN-2012	21.4	59.0	27.5	34.4	20.6
JUL-2012	20.9	67.8	21.4	26.8	16.1
AGO-2012	21.1	66.9	24.5	30.6	18.3
SEP-2012	21.9	67.6	22.6	28.3	17.0
OCT-2012	21.3	59.9	16.1	20.1	12.1
PROMEDIO	21.4	55.8	11.0	13.8	8.3

En la Figura 4.4 se muestra el registro de la temperatura y humedad relativa que se presentó en el invernadero durante el período comprendido del 26 de septiembre de 2010 al 03 de octubre de 2012.

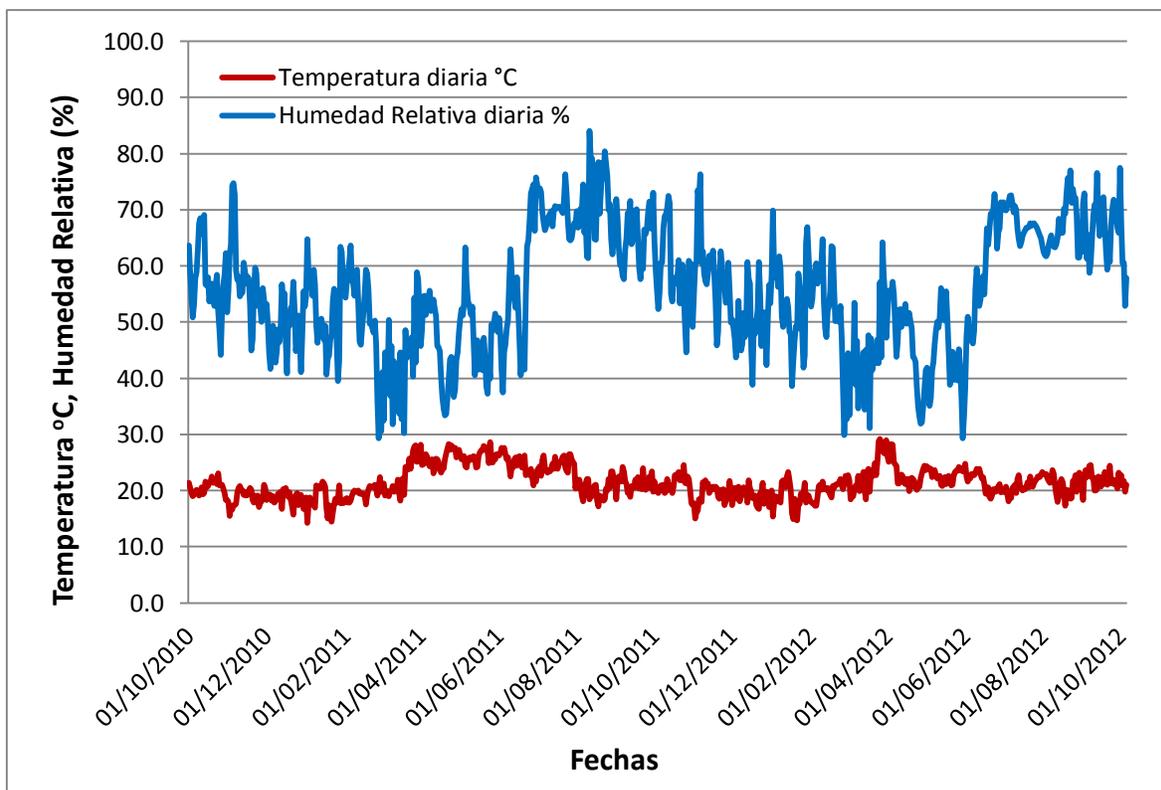


Figura 4.4. Temperatura y humedad relativa diaria, registrada durante 738 días con un HOBO U14 LCD Data logger, en invernadero.

En el Cuadro 4.6 se muestra el comportamiento de la germinación, velocidad de emergencia y evolución de la viabilidad en semillas de nanche, de Tejupilco, Estado de México, después de cuatro y ocho meses de la siembra en invernadero, en suelo del mismo sitio donde se colectó el material genético empleado, en el período comprendido del 26 de septiembre de 2010 al 03 de octubre de 2012, en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en Montecillo, Texcoco, Estado México.

Cuadro 4.6. Cuadrados medios y significancia estadística de las variables evaluadas, en germoplasma de nanche de Tejupilco, Estado de México, en invernadero.

F.V.	G.L.	Germinación (%)	Velocidad de emergencia [†]	Viabilidad 4 meses DDS (%)	Viabilidad 8 meses DDS (%)
Tipo de semilla (TS)	1	0.735 ^{ns}	1.4017 *	0.4004 ^{ns}	0.0417 ^{ns}
Nivel de humedad (NH)	2	0.1463 ^{ns}	0.4088 ^{ns}	0.3229 ^{ns}	0.1454 ^{ns}
TS * NH	2	0.3463 ^{ns}	0.0429 ^{ns}	0.0879 ^{ns}	0.0079 ^{ns}
Error	23	0.4936	0.1789	1.0776	0.4706
C.V. (%)		10.07	14.21	12.54	8.62

* = $P \leq 0.05$, † = Número de plántulas emergidas por día, DS = después de la siembra después de la siembra; ns = No significativo.

Los datos del Cuadro 4.6 evidencian que para la germinación de las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México, estadísticamente, no hubo diferencias significativas en los efectos simples de los factores: tipo de semilla, nivel de humedad, ni en la interacción de ambos. Por otra parte, la velocidad de emergencia mostrada, sí fue significativa ($P \leq 0.05$) con respecto al tipo de semilla empleado en la prueba; en tanto que la evolución de la viabilidad después de cuatro y ocho meses posteriores a la siembra, estadísticamente, no tuvo efecto significativo para alguno de los factores o de su interacción.

Como no hubo efecto significativo de la interacción tipo de semilla*nivel de humedad en las variables evaluadas, se prescindió de la prueba de comparación de medias y sólo se analizaron los efectos simples de los niveles de cada factor (Cuadro 4.7), de manera independiente.

Cuadro 4.7. Comportamiento promedio de las variables evaluadas en el germoplasma de nanche de Tejupilco, Estado de México, en invernadero.

Tipo de semilla	Nivel de humedad	Germinación (%)	Velocidad de emergencia†	Viabilidad 4 meses DDS (%)	Viabilidad 8 meses DDS (%)
Fruto completo	ERIC III (Testigo)	48.75	0.098	65.00	63.75
	ERIC III + 25 %	45.25	0.121	67.50	62.50
	ERIC III - 25 %	47.25	0.092	70.00	66.25
Endocarpio	ERIC III (Testigo)	50.50	0.145	66.25	61.25
	ERIC III + 25 %	56.50	0.156	75.00	61.25
	ERIC III - 25 %	47.00	0.110	72.50	66.25

† = Número de plántulas emergidas por día, DDS = Después de la siembra

4.3.3.1. Germinación

Aunque estadísticamente los seis tratamientos produjeron el mismo efecto en la germinación de las semillas, numéricamente, en el Cuadro 4.7 y la Figura 4.5, se aprecia que logró su mejor desempeño (56.5 %) cuando se sembró sólo el endocarpio conteniendo a las semillas en combinación con el máximo nivel de humedad (ERIC III más 25 %), tal como se previó que podía ocurrir, lo que puede obedecer a que aun aplicando la máxima lámina de riego, la disponibilidad de humedad en el suelo no fue excesiva, ya que para el cálculo de las mismas, se emplearon datos climatológicos de las estaciones meteorológicas cercanas a los sitios de colecta, esto permite que haya relativa semejanza con lo que ocurre en la realidad; por lo que, aun cuando el contenido de humedad de las semillas de Tejupilco fue de sólo 7.3 %, a diferencia de lo ocurrido en las semillas de Tuxtepec, Oaxaca (Cuadro 4.4), en este caso, la absorción de agua durante la fase de imbibición, no causó daños a las membranas celulares, y en

consecuencia, se conservó la capacidad germinativa de las semillas; suceso que coincide con lo reportado por Peske y Peske (2013) en semillas de soya.

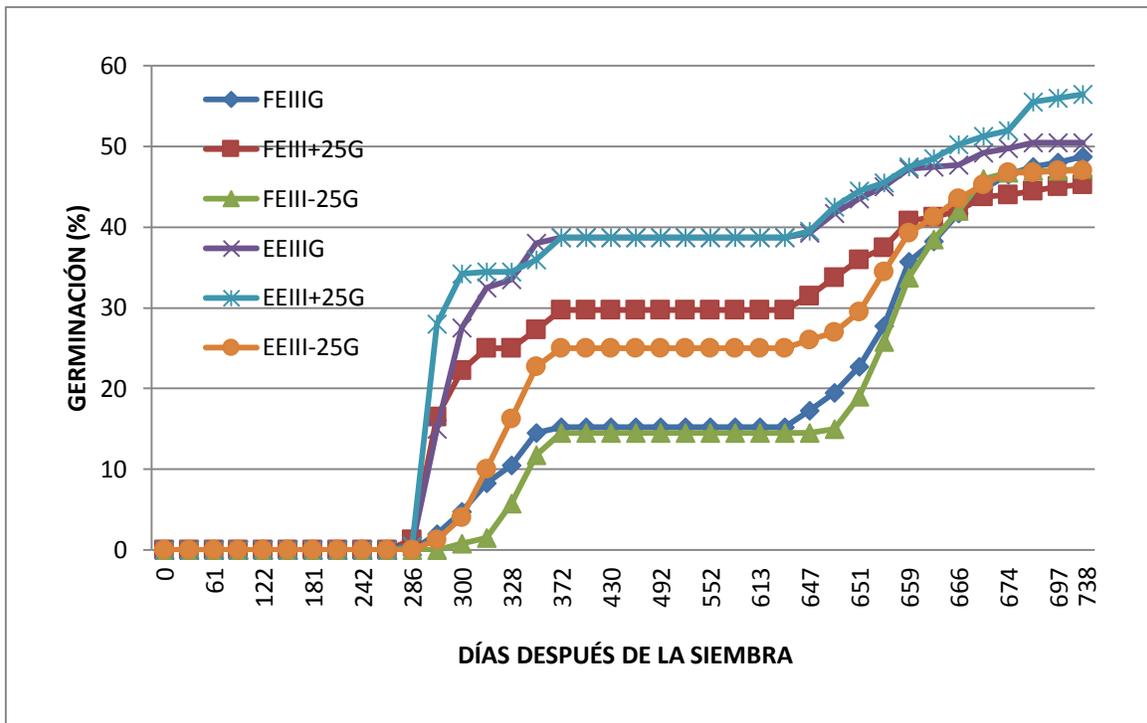


Figura 4.5. Germinación acumulada de las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México, con la aplicación de los tratamientos.

Es importante mencionar que la germinación de las semillas de este origen inició en julio de 2011, es decir, 242 días después de la siembra (Figura 4.5); este momento coincidió con el incremento tanto de la lámina de riego como de la temperatura (Cuadro 4.5, Figura 4.4), factores que posiblemente, indujeron a la semilla a salir del período de latencia secundaria (Baskin y Baskin, 2004; Camacho, 2011) en la que habían entrado en noviembre-diciembre de 2010, a consecuencia de la disminución en la lámina de riego, principalmente; pues como se aprecia en el Cuadro 4.5, hubo un cambio brusco en la lámina de riego aplicada en octubre de 2010 a noviembre y diciembre del mismo año; de 20.1 litros al mes aplicados en el tratamiento de mayor humedad, disminuyó a sólo 5 litros en noviembre y un litro en diciembre; condición inadecuada para garantizar la sobrevivencia de su descendencia (Fenner y Thompson, 2005).

El comportamiento de las semillas de este origen, permitió observar dos eventos de germinación (Figura 4.6) separados por un marcado período de reposo de siete meses que coincide con la estación seca del clima de la región de colecta (García, 1988). El primer pico de germinación, se presentó en los meses de julio a inicios de octubre de 2011; posteriormente, la germinación se detuvo completamente por la disminución notable en la lámina de riego (Cuadro 4.5) y se reanudó en junio de 2012, cuando incrementó la disponibilidad de humedad en el suelo, pues las láminas de riego aumentaron de 7.2 litros por mes aplicados en mayo, a 20.6 litros mensuales, que correspondió aplicar en el tratamiento de menor humedad (ERIC III – 25 %) en junio; este segundo período concluyó en octubre del mismo año. En ese momento se practicó la prueba de viabilidad a los pocos endocarpios que se rescataron, de algunas unidades experimentales, pero ya no estaban viables.

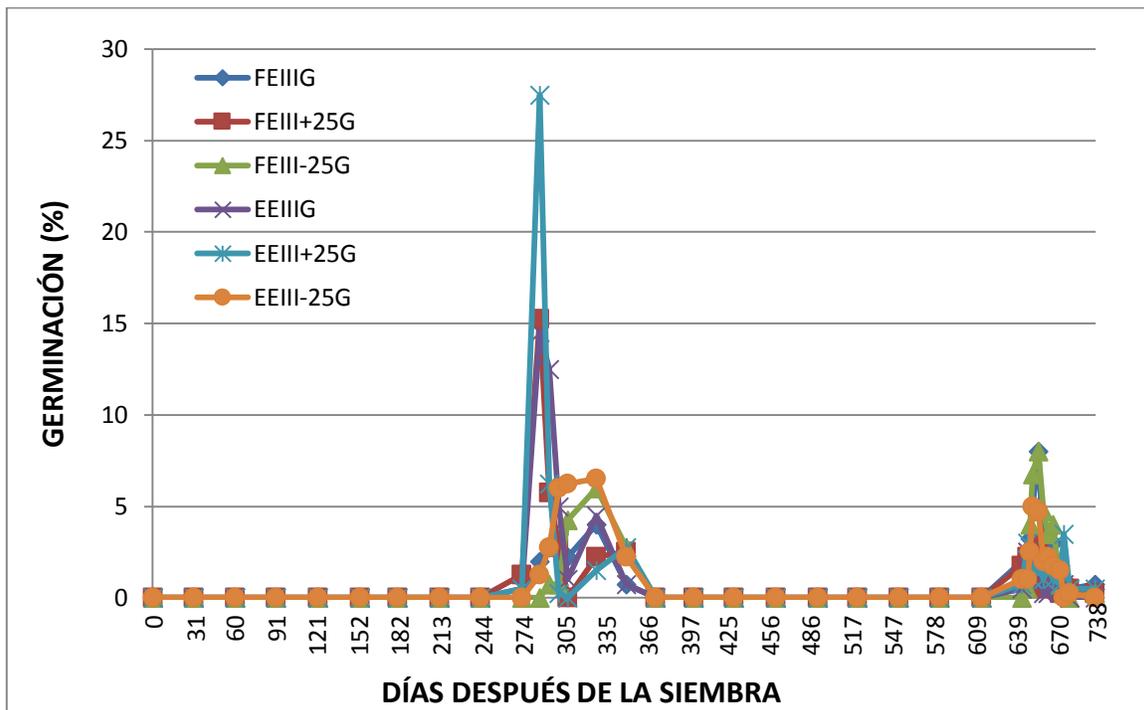


Figura 4.6. Dinámica germinativa de las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México, en invernadero.

Para las semillas de este origen, contrario a lo que ocurrió para Tuxtepec, Oaxaca, la presencia de mesocarpio fungió como una barrera negativa para que el agua disponible en el suelo llegara hasta la semilla, y posiblemente a ello obedeció la menor germinación obtenida en las unidades experimentales en las que se sembraron los frutos completos; incluso, pudo ser causa de deterioro, pues como lo mencionan Peske y Peske (2013), si la semilla no absorbe agua suficiente para germinar, inicia el deterioro y este conduce a la disminución y/o pérdida completa del vigor (Atici *et al.*, 2007; Kibinza, 2011).

Los resultados de germinación obtenidos con el tratamiento testigo (ERIC III) y el nivel de menor humedad (ERIC III menos 25 %) permiten concluir que a mayor déficit de humedad en el suelo, menor germinación (Cuadro 4.7, Figura 4.5). Al igual que la temperatura, la humedad es un factor indispensable para que se reinicie la actividad metabólica que conduce a la germinación, por lo que, en este caso, el déficit de humedad, redujo e incluso inhibió (Turk, *et al.*, 2004) de manera temporal la germinación de las semillas de nanche. Los resultados coinciden con lo reportado por diversos autores (Cornaglia *et al.*, 2005; Tsoukrianis *et al.*, 2009; Pliego y Marín, 2013; Varela, 2013).

La dinámica de germinación, coincide con la que se obtuvo en el capítulo anterior en el banco de semillas del suelo en Almoloya de las Granadas, por lo que se reitera que las semillas de nanche de este origen, presentan latencia de tipo fisiológico (Bakin y Baskin, 2004; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006; Camacho, 2011), lo que puede estar relacionado con su estatus silvestre (Cubero, 2003), y con el papel antagónico del ácido abscísico y las giberelinas reportado en esta especie por varios autores (Villachica, 1996; García-Núñez *et al.*, 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Jaimes, 2006; Jaimes, 2009; Carvalho y Nascimento, 2008).

Por lo anterior, es posible que el prolongado almacenamiento en seco al que estuvieron expuestas las semillas en el suelo, así como la variación de temperaturas, hayan favorecido la postmaduración del embrión (Ellis *et al.* 1991a; Vertuci *et al.*, 1994), pues cabe la posibilidad de que por el estatus silvestre (Hong

y Ellis, 1990; Ellis y Hong, 1994) de la especie en esta región, la madurez del embrión haya sido heterogénea (Cuevas, 2008); a la vez, las variaciones de temperatura (Figura 4.4) posiblemente fracturaron el endocarpio leñoso y duro (Jaimes, 2009) que envuelve a las semillas, y que representa una barrera mecánica para el crecimiento del embrión (Camacho, 2011), favoreciendo con ello la emergencia de la radícula en cuanto las condiciones de disponibilidad de agua en el suelo y temperatura, fueron favorables para que la germinación ocurriera (Fenner y Thompson, 2005).

Si bien es cierto, la germinación obtenida al sembrar solo el endocarpio conteniendo a las semillas, fue mayor que cuando se sembró el fruto completo, debe reconocerse que este último alcanzó cifras importantes (Cuadro 4.6), si se comparan con los obtenidos con el germoplasma de nanche de Oaxaca (Cuadro 4.4) y con los reportados por varios autores en investigaciones similares (Villachica, 1996; García-Núñez *et al.*, 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Carvalho y Nascimento, 2008), que son del orden de 30 a 40 %; por lo que, la información generada es valiosa y puede retomarse en futuras investigaciones.

Es relevante mencionar que los resultados obtenidos principalmente estuvieron en función de la disponibilidad de humedad en el suelo, misma que durante la mayor parte del tiempo fue restrictiva (Cuadro 4.5).

En lo que se refiere a la temperatura (Cuadro 4.5 y Figura 4.4), en general, no fue un factor restrictivo para la germinación, ya que el promedio en su hábitat natural es de 19 °C (García, 1988) y en invernadero fue de 21.4 °C, por lo que, incluso, ésta última, pudo favorecer los procesos metabólicos que conducen a la emergencia de la radícula (Bewley y Black, 1994; Taiz y Zeiger, 2006; Azcon-Bieto y Talón, 2008).

4.3.3.2. Velocidad de emergencia

Esta variable mostró un comportamiento concordante con la germinación, ya que la mayor cantidad de plántulas emergidas por día, se obtuvieron cuando se sembraron endocarpios en combinación con el máximo nivel de humedad en el

suelo (ERIC III más 25 %). Esto obedeció por una parte, a la temperatura promedio que tuvo en el invernadero (21.4 °C) que posiblemente estimuló los procesos bioquímicos que conducen a la germinación (Taiz y Zeiger, 2006; Azcon-Bieto y Talón, 2008) y por el otro, a que la disponibilidad de humedad en el suelo no fue excesiva ni aún en los meses de junio a octubre de 2011, período en el que fue más abundante la lámina de riego (Cuadro 4.5) esto, como se discutió anteriormente, evitó el deterioro de las membranas celulares de las semillas o si existieron no fueron graves y se repararon los daños después de la imbibición de las semillas (Rao *et al.*, 2006). También es posible que la alternancia de temperaturas a las que los endocarpios estuvieron expuestos (Figura 4.4), hayan provocado fracturas en éstos, y con ello, se facilitó la protrusión de la radícula (Bewley y Black, 1994; Moreno-Casasola, 1996; Fenner y Thompson, 2005).

En general, la velocidad de emergencia fue baja (Cuadro 4.7), pero mejor que la obtenida con germoplasma de Tuxtepec, Oaxaca (Cuadro 4.4), lo que es característico de esta especie (Villachica, 1996; García-Núñez *et al.*, 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Jaimes, 2006; Jaimes, 2009; Carvalho y Nascimento, 2008).

4.3.3.3. Viabilidad

Al igual que en el experimento realizado con germoplasma de Tuxtepec, Oaxaca, en el de Tejupilco, Estado de México, el comportamiento de la viabilidad en el tiempo, no estuvo influido estadísticamente de manera significativa por el efecto de ninguno de los tratamientos aplicados (Cuadro 4.6). Sin embargo, en el Cuadro 4.7 y la Figura 4.7, se observa que las semillas de este origen no perdieron de manera notoria su capacidad para germinar. Contemplando que la viabilidad inicial fue de 71 % (Cuadro 4.1), se observa que, después de cuatro meses de permanecer almacenadas en el suelo, solo perdieron 6 % de su viabilidad, en el caso de la siembra con frutos completos, y ocho meses después de la siembra, sólo descendió en 9.75 puntos porcentuales (Cuadro 4.7). El comportamiento de la viabilidad de las semillas de nanche de Tejupilco, corresponde al tipo recalcitrantes que son más longevas por su origen ecológico, donde las

temperaturas ambientales son menores que en Tuxtepec, Oaxaca y donde existe una marcada estación seca; esto les confiere la característica de conservar la viabilidad por un período de tiempo mayor que las de clima cálido húmedo, donde por lo general permanece un ambiente húmedo la mayor parte del año (Tweedle *et al.*, 2003; Magnitskiy y Plaza, 2007).

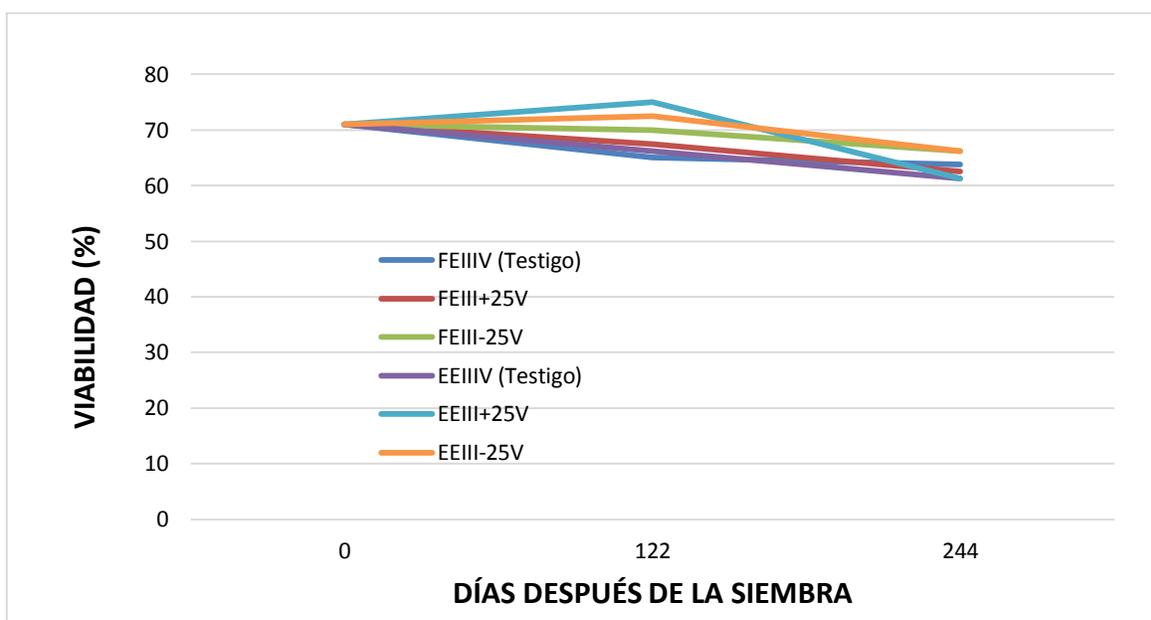


Figura 4.7. Evolución de la viabilidad de las semillas de nanche de Tuxtepec, Oaxaca, con la aplicación de los tratamientos.

Por otro lado, las condiciones de mínima humedad en el suelo que prevalecieron durante al menos siete meses en el invernadero (Cuadro 4.5), contribuyeron a evitar el envejecimiento de la semilla y en consecuencia a conservar su viabilidad (Kibinza *et al.*, 2011).

Aunque inicialmente se planteó monitorear la pérdida de viabilidad de las semillas durante 16 meses, también en este caso, a los ocho meses se suspendió, debido a que 50 % de las semillas que se destinaron a la evaluación de esta variable,

germinaron cuando las condiciones de temperatura y humedad en el suelo fueron apropiadas, por lo que ya no se dispuso de material genético para continuar con la recopilación de datos.

4.4. CONCLUSIONES

1. Los diferentes regímenes de humedad en el suelo, no influyen en la germinación de las semillas de nanche de clima Tropical húmedo y de clima semicálido.
2. Las semillas de nanche de ambos climas, son más longevas cuando permanecen almacenadas en el suelo con el menor régimen de humedad.
3. La germinación de las semillas de nanche, no depende del tipo de semilla (fruto completo o endocarpio) que se siembre.
4. La velocidad de emergencia de las semillas de nanche de clima Tropical húmedo y clima semicálido, depende del tipo de semilla empleado (fruto completo o endocarpio). Para el primer tipo climático, es mejor emplear el fruto completo, mientras que para el segundo, es preferible usar el endocarpio.

4.5. LITERATURA CITADA

- Atici, O.; G., Agar y O., Battal. 2007.** Influence of long term storage on plant growth substance levels, germination and seedling growth in legume seed stored for 37 years. *Indian Journal of Plant Physiology*. 12:1-5.
- Azcon-Bieto J. y M., Talón. 2000.** Fundamentos de Fisiología vegetal. Ediciones Universitarias de Barcelona. Barcelona, España. 522 p.
- Azcon-Bieto, J. y M., Talón. 2008.** Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2ª ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 522 p.
- Baskin, C. C. y J. M., Baskin. 2001.** Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego, California. 666 p.
- Baskin, J. M. y C. C., Baskin. 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 14, 1-16.
- Basu, R. N. 1995.** Seed viability. *In: Seed quality; basic mechanism and agricultural implications.* A. S. Basra. (ed.). Food Products Press, New York, USA. pp: 1-44
- Bradford, K. and H. Nonogaki. 2007.** Seed Development, Dormancy and Germination. *Annual Plant Review*. Vol. 27. Editorial Blackwell Publishing LTD. Oxford, UK. 392 p.
- Bewley, J. D. and M., Black. 1994.** Seeds: Physiology of Development and germination Second Ed. Plenum Press. New York, USA. 445 p.
- Bewley, J. D. 1995.** Physiological aspects of desiccation tolerance – a retrospect. *International Journal of Plant Sciences* 156: 393–403.
- Box, G. E. P.; W. G., Hunter y J. S., Hunter. 2001.** Estadística para investigadores, Introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y

construcción de modelos. 2ª reimpresión. Reverte. Barcelona, España. 675 p.

Bradford, K. and H., Nonogaki. 2007. Seed Development, Dormancy and Germination. Annual Plant Review. Vol. 27. Editorial Blackwell Publishing LTD. Oxford, UK. 392 p.

Camacho, M. F. 2011. Dormición de semillas: causas y tratamientos. Trillas. México, D. F. 232 p.

Carvalho, José Edmar Urano de y Nascimento, Walnice Maria Oliveira do 2008. Caracterização dos pirênios e métodos para acelerar a germinação de sementes de muruci do clone Açú. Rev. Bras. Frutic. [En línea]., vol.30, n.3 pp. 775-781. Disponible en: <<http://www.scielo.br/scielo.php?> Consultado el 27 de mayo de 2013.

Casierra-Posada, F.; J. F., Cárdenas-Hernández; H. A., Roa. 2008. Efecto del aluminio sobre la germinación de semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y de maíz (*Zea mays* L.). Orinoquia. 12:45-56.

Chin, H. F. y E. H., Roberts. 1980. Recalcitrants Crops Seeds. Tropical Press. Kuala Lumpur, Malaysia

Castillo, M. L. E. 2000. Introducción a la Estadística Experimental. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, México. 263 p.

Ciro, C. P. y O., Fundora, H. 2007. La edafología. 4a ed. Félix Varela. La Habana, Cuba. 456 p.

Copeland, O. L. and M. B. McDonald. 2001. Principles of Seed Science and Technology. 4th edition. Kluwer Press. New York. USA. 488 p.

Cornaglia, P.; G., Schrauf; M., Nardi y V., Deregibus. 2005. Emergence of Dallisgrass as affected by soil water availability. Rangeland Ecology Management 58:35–40

- Cubero, J. I. 2003.** Introducción a la mejora genética vegetal. 2ª. Edición. Mundi-Prensa. México, D. F. 567 p.
- Cuevas, S. J. A. 2008.** Semillas recalcitrantes: importancia, características y alternativas para su conservación. Publicaciones del Programa Nacional de Etnobotánica. Serie: Lecturas de Etnobotánica: Conservación del germoplasma vegetal. Número: 25. Chapingo, México. 12 p.
- Ellis, R. H., T. D., Hong and E. H., Roberts. 1991a.** An intermediate category of seed storage behaviour? II. Effects of provenance, immaturity, and imbibition on desiccation-tolerance in coffee. *J. Exp. Bot.* 42:653-657.
- Ellis, R. H. and T. D., Hong. 1994.** Desiccation tolerance and potential longevity of developing seeds of rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany* 73: 501-506.
- Fenner, M. y K., Thompson. 2005.** The ecology of seeds. Cambridge University Press, Cambridge.
- Finch-Savage, W. E., y G., Leubner-Metzger. 2006.** Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171, 501-523.
- García, E. 1988.** Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. Universidad Nacional autónoma de México. México, D. F. 217
- García-Núñez, C.; A., Azócar and J. F., Silva. 2001.** Seed production and soil seed bank in three evergreen woody species from a neotropical savanna. *Journal of Tropical Ecology* 17: 563-576.
- Gazanchian, A.; S., Khosh, K. N., Malboobi, M. y M., Heravan, E. 2006.** Relationships between emergence and soil water content for perennial cool-season grasses native to Iran. *Crop Science* 46:544–553.
- Gepts, P. 2002.** A comparison between crop domestication, classical plant breeding and genetic engineering. *Crop Sci.* 42:1780-1790.
- Guignard, L. M. 1991.** Almacenamiento de semillas y descripción sistemática de 42 genotipos de Nance (*Byrsonima crassifolia* L.) de la colección del

CATIE. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE. Turrialba, Costa Rica.

Hong, T. D. and R. H., Ellis. 1990. A comparison of maturation drying, germination, and desiccation tolerance between developing seeds of *Acer pseudoplatonus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytologist* 116: 589–596.

Igbal, M. Z. y M., Shafiq. 2005. Effects of aluminium en germination and growth on two diferent wheat cultivars. *Acta Botanica Hung.* 49(3): 315-321.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1998. Cartas temáticas 14A56 “Tejupilco de Hidalgo, Estado de México”; escala 1:50,000.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1998. Cartas temáticas E14B89 “San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca”; escala 1:50,000.

Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA) 2006. ERIC III. Extractor Rápido de Información Climatológica. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. México.

International Seed Testing Association (ISTA). 2005. International rules for seed testing. Rules 2005. Zurich, Suiza. 300 p.

Jaimes, A. C. 2006. Tratamiento pregerminativo a la semilla de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) y su efecto en la germinación. Tesis de licenciatura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 46 p.

Jaimes, A. C. 2009. Caracterización morfológica de fruto y semilla de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth y su relación con la capacidad germinativa. Tesis de Maestría. Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 107 p.

Kelly, K. M.; J., Van Staden y W. E., Bell. 1992. Seed coat structure and dormancy. *Plant Growth Regulat.* 11: 201-209.

- Kibinza, S.; J. Bazin; C., Bailly; J. M., Farrant; F., Corbineau y H., El – Marouf – Bouteau. 2011.** Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Science*. 181: 309-315.
- Koornneef, M.; L., Bentsink y H., Hilhorst. 2002.** Seed dormancy and germination. *Current Opinion. Plant Biol.* 5, 33-36.
- Laskowski, L. y D., Bautista. 2002.** Efecto de la escarificación y profundidad de siembra sobre la germinación y emergencia de *Malpighia emarginata* D C. *Bioagro* 14(2): 77-83.
- Magnitskiy, S. V. y A. G., Plaza. 2007.** Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana*. 25: 96-103
- Maguire, J. D. 1962.** Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2:176-177.
- Marienfeld, S.; N., Schmohl; M., Klein; W. H. Schröder; A. J. Kuhn y W. J., Horst. 2000.** Localisation of aluminium in root tips of *Zea mays* and *Vicia faba*. *Journal of Plant Physiology*. 156:666-671.
- Moreno, M. E. 1996.** Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 3ª edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 393 p.
- Moreno- Casasola, P. 1996.** Vida y obra de granos y semillas. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 437 p.
- Ortiz, V. G. B. y C. A., Ortiz, S. 1990.** Edafología. 7ª Ed. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Suelos. Chapingo, Estado de México. 394 p.
- Pardos, J. A. 2004.** Respuestas de las plantas al anegamiento del suelo. *Invest. Agrar: Sist. Recur. For.* 101-107.
- Peske, S. T. y F. B., Peske. 2013.** Absorción de agua bajo estrés. *Seed News*. Consultado en línea el 11 de octubre de 2013. http://www.seednews.inf.br/html/site_es/content/reportagem_capa/?edicao=49.

- Pinto, R. H. 2000.** Manual de edafología. 4ª ed. Alfaomega, México, Distrito Federal. 267 p.
- Pliego-Marín, L.; J., López-Baltazar y E., Aragón-Robles. 2013.** Características físicas, nutricionales y capacidad germinativa de frijol criollo bajo estrés hídrico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4(6):1197-1209.
- Porta, C. J.; M., López-Acevedo, R. y C., Roquero, L. 2003.** Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Mundi-Prensa. Madrid, España. 929 p.
- Rui Guo; Ji Zhou; WeiPing Hao; DaoZhi Gong; XiuLi Zhong; FengXue Gu; Qi Liu; Xu Xia; JiaNi Tian and HaoRu Li. 2011.** Germination, growth, photosynthesis and ionic balance in *Setaria viridis* seedlings subjected to saline and alkaline stress. *Can. J. Plant Sci.* 91: 1077-1088.
- SAS. Institute Inc. 2001.** SAS/STAT User' Guide. Release 9.0 edition. North Carolina, USA.1289 p.
- Servicio Meteorológico Nacional. 2013.** Normales Climatológicas. Consultado en línea el día 21 de noviembre de 2013. http://smn.conagua.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=23&Itemid=28
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2006.** Plant Physiology. Fourth ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, M A. 705 p.
- Thompson, K. 2000.** The functional ecology of soil seed banks. pp. 215 235. En: Fenner, M. (ed.). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford.
- Tsougkrianis, N.; C. B., Peña-Valdivia; C., Trejo, L. y J. D., Molina, G. 2009.** El potencial de agua en el sustrato en la germinación de maíces con tolerancia y sensibilidad a la sequía. *Agricultura Técnica en México*. 35(4): 363-369.

- Turk, M.; A. Rahman; M. Tawaha y K. Lee. 2004.** Seed germination and seedling growth of three lentil cultivars under moisture stress. *Asian Journal of Plant Sciences* 3(3):394-397.
- Tweddle, J. C.; J. B., Dickie; C. C., Baskin and J. M., Baskin. 2003.** Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. *Journal of Ecology* 91:294–304
- Varela, R. O. y P. L., Albornoz. 2013.** Morpho-anatomy, imbibition, viability and germination of the seed of *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Fabaceae). *Journal Tropical Biology*. 61 (3): 1109-118.
- Vásquez-Yanes, C. y A., Orozco-Segovia. 1993.** Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annu. Rev. Ecol. System.* 24, 69-87.
- Vertucci, C. W. y J. M., Farrant. 1995.** Acquisition and Loss of Desiccation Tolerance. In: J. Kigel and G. Galili (eds). *Seed development and germination*. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp. 237–271.
- Villachica, H. 1996.** Frutales y hortalizas promisorias de la Amazonia. *Tratado de cooperación Amazónica*. Secretaría Pro Tempore. Lima, Perú. 367 p.
- Zeid, I. y N. El-Semary. 2001.** Response of two differentially drought tolerant varieties maize to drought stress. *Pakistan Journal of Biological Sciences* (7):779-784.
- Wu, C. T.; G. Leubner-Metzge; F, Meins and K. J, Bradford. 2001.** Class I β -1,3-glucanase and chitinase are expressed in the micropylar endosperm of tomato seeds prior to radicle emergence. *Plant Physiology* 126:1299-1313.

CAPÍTULO V. TOLERANCIA A LA DESECACIÓN DE LAS SEMILLAS DE NANCHE (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth

Los recursos fitogenéticos, deben resguardarse; por ello el objetivo de esta investigación fue determinar el comportamiento en almacén, de las semillas (endocarpios) de nanche de clima semicálido y cálido húmedo, para clasificarlas en la categoría que corresponda y proponer la estrategia de conservación apropiada. Se utilizó el protocolo de Hong y Ellis (1996). Los endocarpios de ambos climas se secaron y almacenaron con los contenidos de humedad: testigo (10.1 y 18.9 %, respectivamente), 10 y 5 %, durante tres y seis meses en frascos de vidrio herméticos a -20 °C, en el Banco Nacional de Germoplasma Vegetal ubicado en la Universidad Autónoma Chapingo. Las variables evaluadas fueron: viabilidad, germinación y velocidad de emergencia. El mejor comportamiento promedio se obtuvo cuando las semillas no se almacenaron, y sólo se desecaron. Por otro lado, para evaluar la supervivencia en diferentes ambientes, se almacenaron semillas con los contenidos de humedad antes mencionados, a 5 °C en un cuarto frío, en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo y a 19 °C en Tejupilco, Estado de México, durante tres y seis meses; posteriormente, se evaluaron las mismas variables anteriores. Se confirmó que el mejor comportamiento se obtuvo cuando las semillas no se almacenaron. Se concluyó que las semillas de clima semicálido son más tolerantes a la desecación, sin embargo, al igual que las de clima cálido húmedo, son recalcitrantes. Se sugiere conservar este recurso *in situ* o *ex situ*: en colecciones de campo, jardines botánicos, cultivo de tejidos o crioconservación.

Palabras clave: *Byrsonima crassifolia*, conservación *ex situ*, conservación *in situ*, recalcitrante.

5.1. INTRODUCCIÓN

La conservación y uso sustentable de los recursos fitogenéticos, es urgente e indispensable (Nieto, 2007), ya sea *in situ* o *ex situ*. Esta última, requiere el uso de cuartos fríos donde las temperaturas varían entre 5 y - 20 °C; para ello, es preciso disminuir el contenido de humedad de las semillas a 7 ó 5 %, e incluso inferior a 5 %, sin embargo, no todas las semillas sobreviven en estas condiciones. Por lo anterior, es pertinente conocer el grado de tolerancia a la desecación y el ambiente de almacenamiento apropiado para preservar la viabilidad de las semillas de las diferentes especies vegetales (Hong y Ellis, 1996). La desecación es una cualidad importante que confiere protección a los tejidos de las semillas que pueden sufrir daños durante la deshidratación (Vertuci y Farrant, 1995); sin embargo, aun cuando es necesaria para completar el desarrollo de la semilla (Koster y Leopold, 1988; Kermodé, 1995), también causa daños cuando el agua removida llega a niveles críticos que ponen en riesgo la sobrevivencia de la semilla (Walters *et al.*, 2001).

Con base en el grado de tolerancia a la desecación, las semillas se dividen en tres categorías: ortodoxas o “tolerantes” a la deshidratación, recalcitrantes o “susceptibles” a la deshidratación (Roberts, 1973; Hanson, 1984) e intermedias (Chin *et al.*, 1984; Ellis, 1990). Las ortodoxas son aquellas que pueden deshidratarse hasta contenidos de humedad muy bajos, del orden de 5 % sin causar daños sustanciales en la viabilidad y en las que, además, la longevidad aumenta con la disminución de la temperatura de almacenamiento; en cambio, las recalcitrantes son susceptibles a la deshidratación excesiva y presentan un amplio rango en la constitución morfológica y estructural; pertenecen a la clase dicotiledóneas, por lo general son esféricas u ovals y en algunos casos poseen endospermo. Algunas “semillas”, botánicamente deben considerarse como frutos, ya que están cubiertos por endocarpios (Cuevas, 2008). Otra característica de esta categoría de semillas, es que sus frutos son altamente perocederos y, con frecuencia se separan de la planta madre con grados de maduración

heterogéneos (Cuevas, 2008). A diferencia de las semillas ortodoxas, la mayoría de las recalcitrantes mueren cuando el contenido de humedad se ubica entre 16 y 30 % sobre el peso húmedo, además de requerir un ambiente de almacén con alta humedad relativa para mantener su viabilidad, que sólo se conserva algunos días o meses (Bewley, 1995), o bien, uno o dos años si provienen de ambientes templados y toleran las bajas temperaturas (Chin y Roberts, 1980).

Por su parte, las semillas intermedias, toleran la desecación más que las recalcitrantes (7- 10 %) pero no al grado de las ortodoxas. En esta categoría existe una amplia variabilidad de comportamientos dependiendo del origen del germoplasma; la longevidad de las de origen tropical se reduce al disminuir la temperatura de almacenamiento por debajo de 10 °C (Ellis *et al.*, 1990a); en tanto que las de origen templado, toleran el mismo nivel de desecación que la tropicales, pero requieren temperaturas más frías que varían de 5 a -20 °C (Oelke y Stanwood, 1988; Oelke *et al.*, 1990; Berjak *et al.*, 1994).

Se han hecho numerosas investigaciones para determinar el comportamiento de las semillas de diversas especies durante el almacén; sin embargo, para el género *Byrsonima* la información disponible al respecto, es limitada e imprecisa:

Vega *et al.* (1981) reportan que las semillas de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) conservan su viabilidad durante seis meses y que logran porcentajes de germinación del orden de 30 % en 22 días. Por otro lado, Francis (1990) menciona que las semillas de *Byrsonima spicata*, conocido comúnmente como maricao almacenadas por varios meses a temperatura ambiente, germinaron mejor que las semillas recién cosechadas.

Guignard (1991) evaluó el comportamiento en almacén de semillas de 42 genotipos de nance (*Byrsonima crassifolia* L.) de la colección del CATIE, en Costa Rica. Usó frutos maduros, los dejó fermentar sin agua durante tres semanas y posteriormente los despulpó y limpió manualmente para extraer las semillas (endocarpios). Estudió el efecto de tres temperaturas de almacenamiento (-17, 5 y 22 °C), dos ambientes de secado (en cuarto seco a 24 °C y 27 % de humedad relativa y secado al aire libre en ambiente sombreado a 24 °C y 87 % de

humedad relativa) y dos tipos de envase (bolsas dobles de papel y bolsas de aluminio selladas). Los almacenó por seis meses; durante este período realizó pruebas de germinación mensualmente y reporta que el ambiente más favorable fue el que combinó temperatura ambiente (22 - 24 °C), bolsa doble de papel y 13.4 % de contenido de humedad en la semilla. Obtuvo 11 % de germinación después de seis meses de almacenamiento. Por el contrario, al combinar 5 °C de temperatura con bolsa de papel y 13.4 % de contenido de humedad, ninguna semilla germinó. Concluyó que las semillas de nance mostraron un comportamiento típicamente recalcitrante.

Por su parte, Villachica (1996) menciona que las semillas de indano o murici (*Byrsonima crassifolia* L.) Rich, soportan el secado y congelamiento y son conservadas normalmente en el almacén.

Camino (1998) enuncia que las semillas de *Byrsonima spp*, germinan mejor cuando se someten a tratamientos que combinan dos meses de secado a la sombra y almacenamiento por dos años. Concluye que el nance requiere un periodo de desecación que favorece la postmaduración de la semilla.

Por lo anterior, el objetivo de la investigación fue determinar la tolerancia a la desecación de las semillas de nanche de dos sitios ecológicos diferentes, para ubicarlas en la categoría que corresponda y sugerir el método de conservación más apropiado.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Descripción de los sitios de colecta

Para el desarrollo de la investigación, se colectaron frutos de nanche en dos localidades de la república mexicana: Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México y el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca. La primera se localiza al suroeste de la entidad, en los límites con los estados de Guerrero y Michoacán, enclavada en la Depresión del río Balsas. Sus coordenadas geográficas extremas son: 18° 58' 25" de latitud norte y 100° 08' 00" de longitud oeste, a una altitud de 1545 m y su clima corresponde al tipo (A) C (w2); semicálido del grupo C, con temperatura y precipitación media anuales de 19 °C y 1338.9 mm, respectivamente (García, 1988). En contraparte, la segunda se ubica al noreste de la entidad, en la cuenca del río Papaloapan, antes de su confluencia con el río Tonto, en el límite con el estado de Veracruz; sus coordenadas geográficas extremas son: 18° 02' 39" de latitud norte y 96° 07' 00"; de longitud oeste, a 45 m de altitud y su clima corresponde al tipo Am; Tropical húmedo, con temperatura media anual de 24.9 °C y precipitación media anual de 2304.3 mm (García, 1988). La colecta de frutos se hizo en los meses de julio a septiembre de 2011.

5.2.2. Material genético

Se usaron frutos de nanche amarillo que de manera natural se desprendieron del árbol, con el fin de que el grado de madurez fuera homogéneo. Se depositaron en bolsas de plástico perforadas que contenían aserrín húmedo y, en esa condición, se trasladaron al Laboratorio de Análisis de Semillas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, para su acondicionamiento.

5.2.3. Acondicionamiento de frutos y semillas.

La semilla empleada corresponde a un endocarpio, por lo que para disponer de ellas, se eliminó la pulpa o mesocarpio del fruto. Como el mesocarpio conservó su firmeza durante el traslado, para facilitar el despulpado se depositaron los frutos por cinco días en cestos de plástico que permitían la aireación, sin embargo, no

fue posible evitar cierto grado de fermentación. La pulpa se eliminó mediante fricción en un tamiz metálico y enjuagando con abundante agua.

5.2.4. Determinaciones previas a la desecación

Mediante el método de la estufa, ISTA (2005) se determinó el contenido de humedad de los propágulos (endocarpios conteniendo a las semillas). Se usaron dos repeticiones de cuatro gramos cada una de endocarpios triturados para cada sitio de colecta; se secaron durante 17 horas a 103 °C y el resultado se reportó en porcentaje.

A la par, se determinó la viabilidad de las semillas botánicas con 2, 3, 5, Cloruro de Trifenil Tetrazolio al 1 % (ISTA, 2005). Previo a la tinción, las semillas se remojaron en agua destilada durante 24 horas, se eliminó la testa y se sumergieron en la solución de Tetrazolio durante 24 horas. Se enjuagaron con agua destilada e hicieron cortes longitudinales para observar al microscopio las estructuras del embrión y evaluar la viabilidad; en la evaluación se consideraron como covariables la superficie e intensidad de tinción de las estructuras vitales para el establecimiento de una plántula normal. Como el nanche es una especie para la que no existen protocolos en las normas de la ISTA respecto a esta prueba, se llevó a cabo con base en observaciones cuidadosas y aplicando criterios definidos para otras especies. La prueba constó de tres repeticiones con 10 semillas cada una. Se calificaron como viables y de alto vigor todas las semillas que presentaron coloración rosa intenso y con la tinción cubriendo la totalidad de la superficie del tejido o la mayor parte de él; de baja viabilidad aquellas cuya coloración fue de un tono rosa pálido pero con tejido teñido casi en su totalidad; y como no viables, las que no presentaron ninguna coloración o bien aquellas en donde las estructuras de la semilla como la radícula y/o los cotiledones no se tiñeron; ya que esto indica que la semilla no dará origen a una plántula normal, pues carecerá de la raíz (ausencia de tinción en la radícula) o la plúmula (ausencia de tinción en los cotiledones) según el caso. La determinación se hizo antes de iniciar la desecación, posterior a ésta y a cada período de

almacenamiento a los que se sometieron las semillas. El resultado se reportó en porcentaje.

Por otro lado, con la finalidad de evaluar indirectamente el daño de las estructuras celulares de la semilla, se realizó la prueba de conductividad eléctrica antes y después de cada período de desecación (Pandey, 1992). Por déficit de semillas, no se hizo después de cada periodo de almacenamiento; pues además de que el nanche es una especie alternante y 2011 fue año de baja producción, aproximadamente 40 % de los endocarpios disponibles presentaron daños por insectos. Para esta prueba se usaron tres repeticiones de 10 endocarpios conteniendo a las semillas cada una, se colocaron durante 24 horas en vasos de precipitados con 75 ml de agua desionizada a 20 °C; los vasos se cubrieron con papel aluminio y, transcurrido el tiempo de inmersión, se determinó la conductividad con un conductímetro marca Oacton PC 300, que reporta los valores en micro siemens por centímetro por gramo ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$).

5.2.5. Determinación de la tolerancia a la desecación

La determinación de la tolerancia a la desecación (Figura 5.1), como primer paso para clasificar correctamente el comportamiento de las semillas en almacén, se hizo conforme al protocolo sugerido por Hong y Ellis (1996).

Tomando en cuenta el contenido de humedad con el que llegaron las semillas del campo, el proceso de desecación para las semillas de Tuxtepec, Oaxaca, cuyo contenido de humedad fue mayor (18.9 %) que las de Tejupilco, Estado de México (10.1 %), inició con secado natural a la sombra a temperatura aproximada de 25-27 °C y 60 -70 % de humedad relativa, durante 38 horas, tiempo en el que su contenido de humedad disminuyó a 10 %; para ello, los endocarpios se extendieron en capa fina sobre recipientes de plástico que permitieron la aireación y permanecieron en esa condición hasta lograr la humedad deseada.

Posteriormente, para disminuir la humedad de las semillas de ambos sitios a 5 %, se usó Sílica gel con indicador de humedad, en proporción 1:2 (v/v) semilla-Sílica gel. El desecante se depositó en bolsas de tul dentro de frascos de vidrio con tapa

hermética y sobre éste las semillas (Rao, *et al.*, 2007) y permanecieron en esta condición por 18 horas, período en el que se logró la humedad deseada. La pérdida de humedad se monitoreó periódicamente mediante el método gravimétrico (Hong y Ellis 1996). Como las semillas de ambos sitios toleraron la deshidratación a 5 %, se almacenaron durante tres y seis meses a -20 °C en el Banco Nacional de Germoplasma Vegetal (BANGEV) ubicado en la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, Estado de México.

5.2.5.1. Diseño experimental

Se usó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos (2 x 3 x 3), los factores y niveles fueron: origen del germoplasma (Tuxtepec, Oaxaca y Tejupilco, Estado de México), contenido de humedad de la semilla (Testigo, fue el contenido de humedad inicial con el que llegaron las semillas recién colectadas, 10 y 5 %, respectivamente) y período de almacenamiento (cero, tres y seis meses) obteniéndose 18 tratamientos con tres repeticiones de 25 semillas cada una. La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales y su ubicación en el cuarto frío a -20 °C, se hizo de acuerdo con el diseño empleado. Se utilizaron 54 frascos de vidrio con tapa hermética como unidades experimentales. Aunque el protocolo indica almacenar las semillas sólo por tres meses, con el objeto de obtener información adicional, se almacenó también durante seis meses. Después del almacenamiento, se hicieron las pruebas siguientes: 1) viabilidad con Tetrazolio. Se usaron tres repeticiones de 10 semillas cada una para cada tratamiento y 2) Prueba de germinación. Se realizó en invernadero, a 25 °C de temperatura aproximadamente. Se usaron domos de plástico de 15 x15 cm, con una mezcla de agrolita y musgo como sustrato en proporción 1:2 v/v; en cada unidad experimental se sembraron 15 semillas. El proceso de germinación se monitoreó durante 129 días.

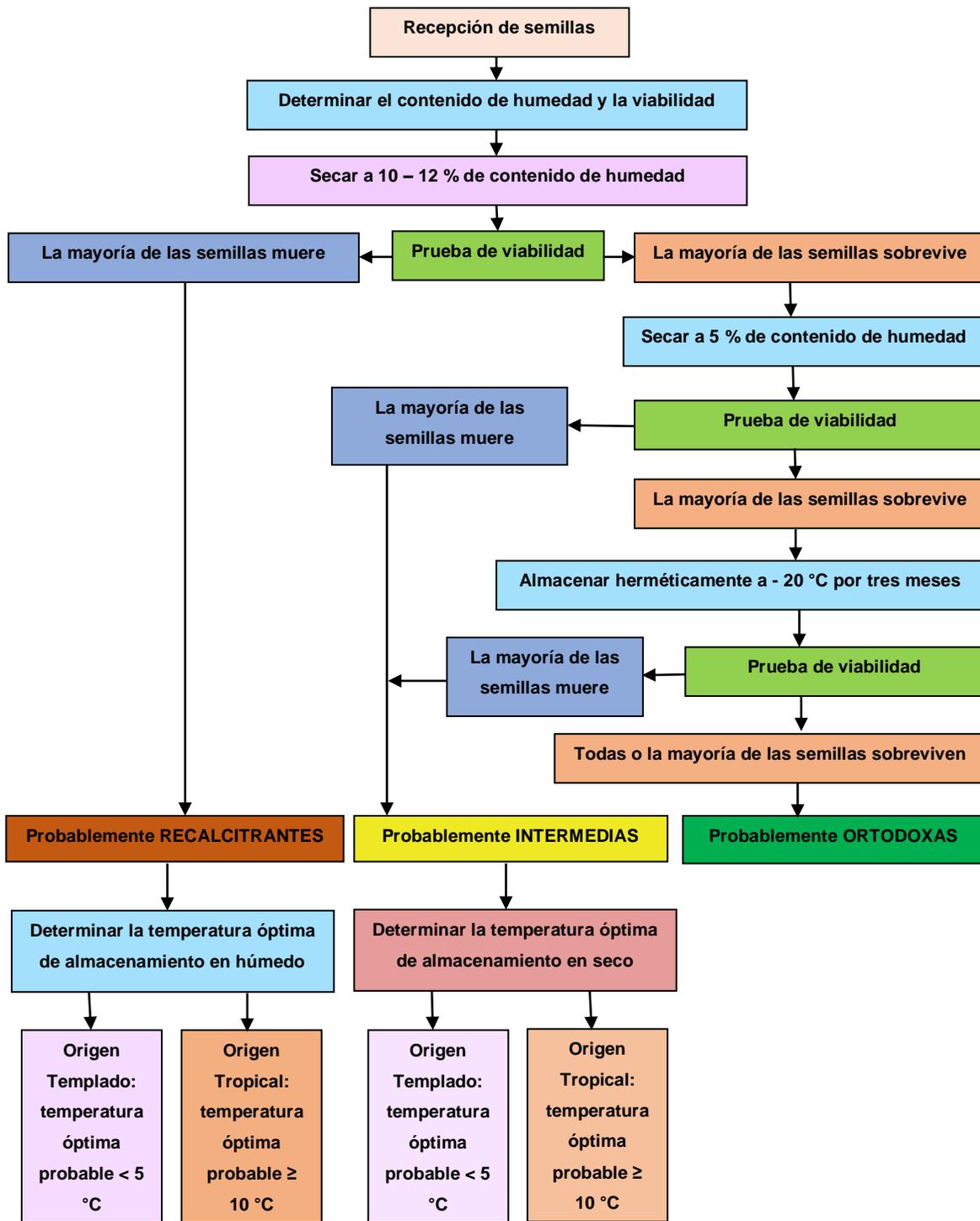


Figura 5.1. Protocolo para determinar el comportamiento de las semillas durante el almacenamiento (Hong y Ellis, 1996).

5.2.5.2. Variables evaluadas.

Viabilidad con Tetrazolio. Se determinó de manera indirecta mediante la prueba de 2, 3, 5, Cloruro de Trifenil Tetrazolio al 1 %, y el resultado se expresó en porcentaje.

Germinación. Se determinó al finalizar el experimento, contando el total de plántulas en cada unidad experimental y el resultado se expresó en porcentaje.

Velocidad de emergencia. Se evaluó realizando conteos periódicos del número de plántulas emergidas; se inició a los 35 días después de la siembra para las semillas que se almacenaron por tres meses y a los 20 días para las que se almacenaron durante seis meses. Se consideró como plántula emergida la que elevó sobre la superficie del sustrato los cotiledones y originó una plántula con todas sus estructuras. El último conteo se efectuó 129 días después de establecido el experimento. La VE se calculó mediante la siguiente fórmula, propuesta por Maguire (1962):

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

En donde:

VE = Velocidad de emergencia

X_i = Número de plántulas en el i-ésimo conteo

N_i = Número de días después de la siembra en el i-ésimo conteo

n = Número de conteos; 1,2,..., n conteos

5.2.5.3. Análisis estadístico

Previa transformación de los datos mediante la función Arcoseno (Castillo, 2000; Box *et al.*, 2001), se realizó el análisis de varianza para cada variable con $\alpha \leq 0.05$, y la comparación múltiple de medias, con la prueba de Tukey, mediante el paquete estadístico SAS para Windows Versión 9.0 (2001).

5.2.6. Determinación de la longevidad de las semillas

Este es el segundo paso del algoritmo para determinar el comportamiento de las semillas en el almacén (Hong y Ellis, 1996) (Figura 14); por lo que a la par de determinar la tolerancia a la desecación, se desarrolló otra prueba que consistió en almacenar semillas de ambos orígenes con los mismos contenidos de humedad que en la primera (Testigo, 10 y 5 %), en dos condiciones ambientales diferentes: 1) cuarto frío a 5 ± 2 °C, y 20 % de humedad relativa, en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo y 2) a 19 °C temperatura ambiente promedio y 58 % de humedad relativa, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México. Se usó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos (2 x 3 x 2 x 3). Los factores y niveles fueron: origen de la semilla (Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca), período de almacenamiento (cero, tres y seis meses), ambiente de almacenamiento (5 y 19 °C, respectivamente) y contenido de humedad (Testigo, 10 y 5 %, respectivamente). Se evaluó el efecto de 36 tratamientos con tres repeticiones de 25 semillas cada una, en cuanto a la viabilidad y vigor de las semillas; lo que dio un total de 108 unidades experimentales. La asignación de los tratamientos y su distribución en los ambientes de almacén, se hizo de acuerdo con el diseño empleado.

Las variables evaluadas fueron: viabilidad, germinación y velocidad de emergencia, ésta última como una prueba indirecta de vigor. Para su evaluación se empleó la misma metodología que se utilizó en el primer paso del algoritmo (tolerancia a la desecación).

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.3.1. Determinaciones preliminares

5.3.1.1. Contenido de humedad y viabilidad de la semilla.

El contenido de humedad y la viabilidad de las semillas de Tejupilco, Estado de México fue de 10.1 y 62.3 % respectivamente; mientras que en las de Tuxtepec, Oaxaca fue de 18.9 y 63.3 %, respectivamente.

Las semillas de Tuxtepec, Oaxaca, llegaron con 8.8 % más de humedad que las de Tejupilco, Estado de México. La diferencia obedece a las condiciones climáticas de los sitios de colecta; pues mientras el clima de Tuxtepec, Oaxaca es Tropical húmedo, el de Tejupilco es semicálido.

Por otro lado, la viabilidad de las semillas de ambos sitios fue similar, aunque baja, lo que de acuerdo con Jara (1997), indicaría menor tolerancia a la desecación y poca longevidad de las semillas.

5.3.1.2. Conductividad eléctrica

En la Figura 5.2 se ilustra el comportamiento de esta prueba, de las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, antes y después del secado. En ella se aprecia que La conductividad de las semillas de ambos sitios antes y después de los diferentes niveles de desecación a los que se sometieron (Figura 5.2), discrepa de lo que la teoría establece; se esperaba que a medida que el contenido de humedad disminuyera, la conductividad eléctrica aumentara (Asomaning, 2011), sin embargo, las semillas de Tejupilco, Estado de México, presentaron la tendencia inversa. Por su parte en las de Tuxtepec, inicialmente la conductividad fue menor, y aumentó cuando el contenido de humedad fue de 10 %, pero disminuyó al desecar a 5 %. El comportamiento se atribuye a que la semilla usada corresponde a un endocarpio, por lo que las lecturas en realidad no reflejaron el grado de integridad o deterioro de las membranas celulares de las semillas propiamente.

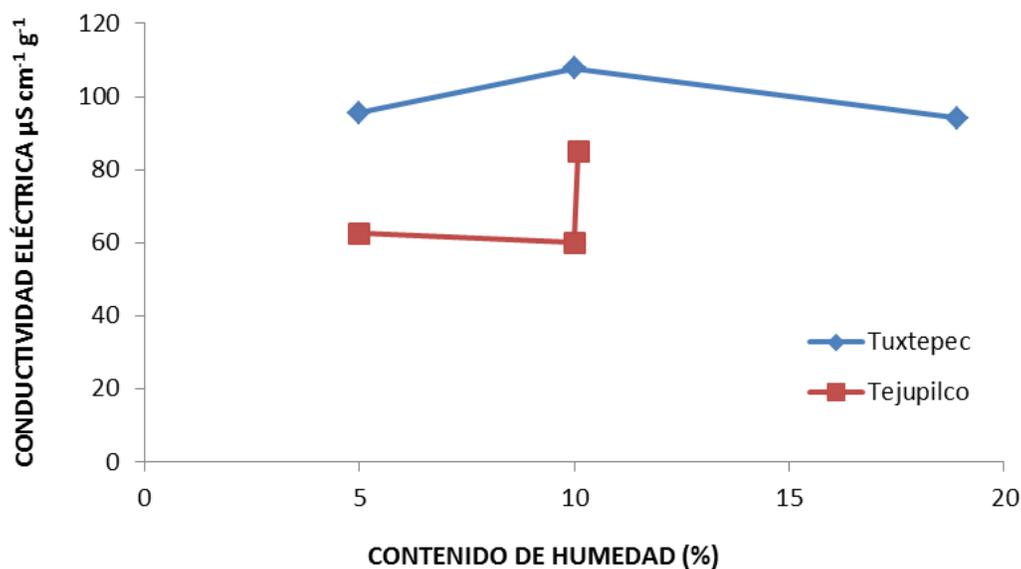


Figura 5.2. Comportamiento de la conductividad eléctrica antes y después de la desecación de las semillas de nanche, de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca.

5.3.1.3 Secado de endocarpios

En la Figura 5.3 se presenta el comportamiento de las semillas de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, durante el proceso de desecación.

Como las semillas de Tuxtepec, Oaxaca, llegaron del campo con más humedad que las de Tejupilco, Estado de México; las primeras requirieron 38 horas de secado natural a la sombra para disminuir su contenido de humedad a 10 %. La pérdida de humedad fue rápida, pues como menciona (Jara, 1997) el agua que se encuentra de manera libre en las semillas, se pierde con mayor rapidez y conforme disminuye, el proceso es más lento; además, como en este caso la semilla corresponde a un endocarpio y presenta cierta porosidad, el proceso se acelera. Posteriormente, para continuar con la pérdida de humedad, se usó Sílica gel con indicador de humedad (Hong y Ellis, 1996) y en 18 horas alcanzaron el contenido de humedad deseado (5 %). En contraparte, las semillas de Tejupilco

por su bajo contenido de humedad inicial (10.1 %), sólo se secaron con Sílica gel y de igual manera, 18 horas fueron suficientes para disminuir la humedad a 5 %.

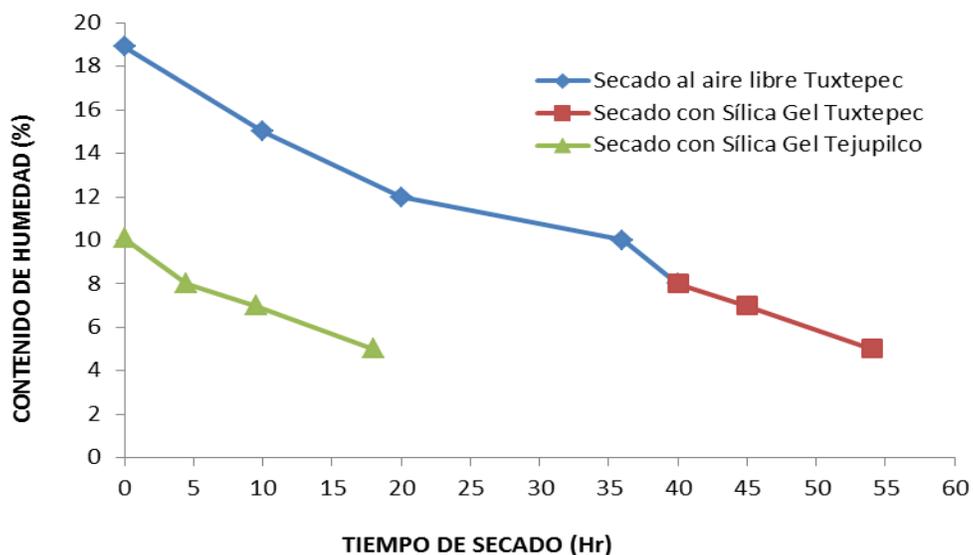


Figura. 5.3. Comportamiento de las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, durante el proceso de desecación.

5.3.2. Tolerancia a la desecación para las semillas de ambos orígenes

En el Cuadro 5.1 se muestra el comportamiento de las variables evaluadas, en las semillas de Tejupilco Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, empleadas en la investigación.

Cuadro 5.1. Cuadrados medios y significancia estadística para las variables fisiológicas evaluadas en las semillas de nanche, de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, con diferente contenido de humedad y períodos de almacenamiento a -20 °C.

F.V.	G.L.	Viabilidad (%)	Germinación (%)	Velocidad de emergencia [†]
ORI	1	0.0119	1.3065 ***	0.1799 ***
PA	2	1.8735 ***	0.1890 ***	0.0233 ***
CH	2	0.1083 *	0.3064 ***	0.0335 ***
ORI*PA	2	0.0806	0.1203 *	0.0132 *
ORI*CH	2	0.1582 *	0.1231 *	0.0153 *
PA*CH	4	0.0765 *	0.0592 *	0.0065 *
ORI*PA*CH	4	0.0575 *	0.0918 *	0.0101 *
ERROR	36	0.0282	0.0128	0.0016
TOTAL	53			
C.V. (%)		16.1902	18.4782	4.4709

* = $P \leq 0.05$; *** = $P \leq 0.0001$

[†] = Número de plántulas emergidas por día, ORI = Origen de la semilla, PA = Período de almacenamiento, CH = Contenido de humedad de la semilla, C.V. = Coeficiente de variación

Hubieron diferencias estadísticas entre las variables evaluadas: para la viabilidad, el período de almacenamiento (PA) resultó altamente significativo ($P \leq 0.0001$) y el contenido de humedad (CH) significativo ($P \leq 0.05$); en tanto que las interacciones origen*contenido de humedad (ORI*CH) y periodo de almacenamiento*contenido de humedad (PA*CH) también fueron significativas ($P \leq 0.05$), indicativo de que promovieron algún efecto en la variable respuesta.

La germinación y velocidad de emergencia, mostraron el mismo comportamiento, resultando influenciados de manera altamente significativa ($P \leq 0.0001$) por el efecto simple de los tres factores principales (ORI, PA Y CH) y, significativa ($P \leq$

0.05) por las interacciones de los tres factores principales; por lo anterior, puede decirse que para las tres variables fisiológicas evaluadas, al menos uno de los niveles de los factores promovió un efecto diferente a los demás. Como la significancia de las interacciones, resta importancia al estudio de los factores por separado, se realizó la comparación múltiple de medias empleando la prueba de Tukey (Cuadro 5.2), considerando las interacciones de los tres factores principales.

Los datos del Cuadro 5.2 permiten comparar de manera general el efecto que los diferentes períodos de almacenamiento y contenido de humedad de las semillas, causaron en las variables fisiológicas evaluadas para ambos orígenes.

5.3.3. Tolerancia a la desecación de las semillas de Tejupilco, Estado de México

5.3.3.1. Viabilidad

En el Cuadro 5.2 se observa que la viabilidad inicial fue baja (interacción 1) y que logró mejores resultados cuando se almacenó durante seis meses (96.34 %), sin embargo, la tinción de los tejidos fue rosa pálido, indicativo de poco vigor y probabilidades mínimas de éxito para su establecimiento en campo (Moreno, 1996); le siguió el promedio obtenido cuando las semillas no fueron almacenadas (62.75 %), en las que la tinción de los tejidos fue rosa intenso, y, el más bajo (40.55 %), se obtuvo cuando se almacenaron durante 3 meses a -20 °C. Considerando el vigor de la semilla, estimado mediante la intensidad de tinción, se puede observar que las semillas de Tejupilco, no toleran el almacenamiento a -20 °C, y que la desecación a 5 %, numéricamente, favorece la viabilidad de las semillas.

Cuadro 5.2. Promedios de las variables fisiológicas evaluadas en las semillas de nanche, de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, con diferente contenido de humedad y períodos de almacenamiento a -20 °C.

Interacción	Descripción	Viabilidad (%)	Germinación (%)	Velocidad de emergencia [†]
		Media	Media	Media
1	TJ 0M TES	62.33 abcd	11.11 e	0.04 d
2	TJ 0M 10 %	60.60 abcd	13.33 e	0.04 d
3	TJ 0M 5 %	65.33 abcd	28.89 bcde	0.11 bcd
	\bar{X} 0M	62.75	17.78	0.06
4	TJ 3M TES	36.33 d	8.89 e	0.04 d
5	TJ 3M 10 %	34.00 d	24.44 cde	0.09 cd
6	TJ 3M 5 %	51.33 bcd	8.89 e	0.04 d
	\bar{X} 3M	40.55	14.07	0.06
7	TJ 6M TES	100.00 a	13.33 e	0.04 d
8	TJ 6M 10 %	96.67 a	11.11 e	0.04 d
9	TJ 6M 5 %	92.33 ab	17.78 de	0.05 d
	\bar{X} 6M	96.34	14.07	0.04
10	TX 0M TES	63.33 abcd	64.44 a	0.23 a
11	TX 0M 10 %	70.67 abcd	62.22 a	0.23 a
12	TX 0M 5 %	68.00 abcd	62.22 a	0.22 ab
	\bar{X} 0M	67.33	62.96	0.23
13	TX 3M TES	36.33 d	4.44 e	0.01 d
14	TX 3M 10 %	46.33 cd	55.56 ab	0.20 abc
15	TX 3M 5 %	83.33 abc	57.78 ab	0.21 ab
	\bar{X} 3M	55.33	39.26	0.14
16	TX 6M TES	72.67 abcd	2.22 e	0.00 d
17	TX 6M 10 %	99.67 a	44.44 abcd	0.17 abc
18	TX 6M 5 %	96.67 a	48.89 abc	0.18 abc
	\bar{X} 6M	89.67	31.85	0.12
	DMS	43.50	30.18	0.11

Medias con la misma letra dentro de cada variable, no son estadísticamente diferentes (Tukey,0.05)

† = Número de plántulas emergidas por día, TJ = Tejupilco, TX = Tuxtepec; 0M = Sin almacenar, 3M = 3 meses de almacenamiento, 6M = 6 meses de almacenamiento; TES = Testigo, 10 % = Semillas con 10 % de humedad, 5 % = Semillas con 5 % de humedad; PROM.0 = Promedio de las variables, sin almacenar; PROM. 3M = Promedio después de 3 meses de almacenamiento y PROM. 6M=Promedio después de 6 meses de almacenamiento.

Lo anterior puede obedecer a que la disminución del contenido de humedad propició la postmaduración del embrión, como lo menciona Camino (1998), pues cabe la posibilidad de que por su estatus silvestre (Fisher *et al.*, 1988; Hong y Ellis, 1990; Hong y Ellis, 1992a; Ellis y Hong, 1994), las semillas hayan tenido diferente grado de madurez (Ellis *et al.*, 1991a; Vertuci *et al.*, 1994); aumenta la probabilidad de que eso haya ocurrido, el hecho de que los frutos se colectaron de varios arbustos que crecen de manera dispersa, en los que existe variabilidad en la forma y tamaño de los frutos; dicha variabilidad es producto de la reproducción sexual y polinización cruzada (Vega *et al.*, 1981). Por lo anterior, es probable que los lotes, en especial, aquellos donde la desecación provocó disminución en la viabilidad, se hayan constituido en su mayoría por endocarpios pequeños, que no toleraron la disminución de humedad porque se secaron más rápido que los de tamaño mayor, y, en consecuencia, sólo las semillas contenidas en los últimos, sobrevivieron (Berjak y Pammenter, 2008). Es posible, entonces, que, no sean extremadamente sensibles a la deshidratación, sino que el método de procesamiento de las semillas, esto es, despulpado, fermentado (Ellis *et al.*, 1991a), método y velocidad de secado, hayan sido determinantes en la respuesta obtenida (Hong y Ellis, 1996). Por otra parte, el nanche como especie forestal, puede tener efectos parentales y anuales, como lo menciona Jara (1997) y a ello obedecer la baja viabilidad inicial, ya que es una especie alternante, y, 2011 fue año de baja producción; lo que propició que en esta ocasión sus semillas coincidieran en una menor viabilidad y tolerancia a la desecación.

También es posible que las unidades experimentales que se almacenaron durante seis meses, en las que se aprecian altos porcentajes de viabilidad (interacciones 17 y 18), por azar estuvieron integradas por semillas con alta viabilidad, ya que como lo mencionan Berjak y Pammenter (2008), el grado de tolerancia a la desecación varía aun en semillas de un mismo lote; aunque se reitera que a pesar de ser viables, su bajo vigor proyecta pocas probabilidades de éxito (Bewley y Black, 1994).

5.3.3.2. Germinación y velocidad de emergencia

Estas variables se comportaron de manera similar entre sí. Se observa que los mejores promedios (Cuadro 5.2) se obtienen cuando la semilla solo se deseca pero no se almacena (17.78 %), a la vez, los valores de las variables respuesta se incrementan a medida que el contenido de humedad de la semilla disminuye (interacción 3), lo que apoya la idea de que el secado probablemente favorece la postmaduración (Camino, 1998) e incluso disminuye o elimina la latencia (Camacho, 2011) reportada en esta especie por varios autores (García-Núñez *et al.*, 2001; Laskoski y Bautista, 2002; Carvalho y Nascimento, 2008; Jaimes, 2009); de igual manera, se observa que cuando se almacenó por tres meses con 10 % de humedad, ambas variables conservaron relativamente buen comportamiento. Sin embargo, cuando se almacenaron por seis meses, aun cuando la viabilidad alcanzó los máximos valores (interacciones 7,8 y 9), no ocurrió lo mismo con las dos últimas variables (germinación y velocidad de emergencia). Esto, como se mencionó, puede ser consecuencia del bajo vigor de las semillas (Moreno, 1996), lo que impidió que germinaran o si lo hicieron, posiblemente fueron atacadas por hongos (Bewley y Black, 1994) y no lograron emerger a la superficie del sustrato. También es posible que como lo citan Chien y Lin (1997), las semillas hayan estado infectadas por hongos, lo que aceleró el deterioro después del secado, pues por el estatus de la especie, muchos individuos se encuentran en abandono y con graves problemas fitosanitarios; también es probable que en las semillas de Tejupilco, la latencia se haya inducido por la posible desecación excesiva que hayan sufrido los endocarpios ya que predominan los de tamaño pequeño, y esto pudo ser el origen del bajo porcentaje de germinación de las semillas (Roberts, 1980b; Poulsen, 1993; Tompset y Pritchard, 1993; Pritchard *et al.*, 1996; Wood *et al.*, 2000).

Los resultados obtenidos no concuerdan con lo que mencionan Dussert *et al.* (2000); se esperaba que las semillas de Tejupilco donde predomina una marcada estación seca (García 1988), que de acuerdo con ellos, se correlaciona con menor grado de recalcitrancia (Tweddle *et al.*, 2003; Magnitskiy y Plaza, 2007)

fueran más tolerantes a la desecación, sin embargo, no fue así. En cambio, en concordancia con Daws *et al.* (2004a; 2006b), es posible que el origen geográfico de las semillas repercuta en el grado de tolerancia a la deshidratación mostrada. Por lo anterior, las semillas de nanche amarillo originarias de Tejupilco, Estado de México, probablemente tienen comportamiento recalcitrante.

5.3.4. Tolerancia a la desecación de las semillas de Tuxtepec, Oaxaca

5.3.4.1. Viabilidad

Las semillas de Tuxtepec, Oaxaca, mostraron un comportamiento similar a las de Tejupilco Estado de México, en esta variable respuesta (Cuadro 5.2); la viabilidad inicial de las semillas sin almacenar mejoró a medida que el contenido de humedad disminuyó (interacciones 10, 11 y 12), aunque a diferencia de las de Tejupilco, numéricamente el nivel de humedad que más le favoreció fue el de 10 % (interacción 11); esto probablemente sea explicado por su origen tropical (Hong y Ellis, 1996). En cambio, cuando se almacenaron por tres meses a -20 °C, la viabilidad disminuyó con el contenido de humedad del testigo 18.9 y 10 %, respectivamente (interacciones 13 y 14), lo que pudo ser consecuencia de que con la baja temperatura el agua de la semilla se cristalizó causando deterioro de membranas celulares (Azcon-Bieto y Talón, 2008), y en consecuencia, dañó la viabilidad, esto coincide con el comportamiento de las semillas recalcitrantes (Chin *et al.*, 1984; Ellis, 1990), y aunque la viabilidad se incrementó considerablemente con el nivel de humedad más bajo, las semillas fueron poco vigorosas por lo que no darían origen a plántulas capaces de establecerse en campo (Moreno, 1996).

El comportamiento observado permite mencionar que las semillas de Tuxtepec, Oaxaca, no toleran el almacenamiento a bajas temperaturas y aunque toleran la desecación (Chin y Roberts, 1980), son menos tolerantes que las de Tejupilco; esto coincide con lo que reportan León y Ellis (2002); en consecuencia, las semillas de nanche de este origen geográfico probablemente son recalcitrantes.

5.3.4.2. Germinación y velocidad de emergencia

Ambas variables se comportaron de manera similar entre sí (Cuadro 5.2), observándose estadísticamente que, si las semillas solo se desecan pero no se almacenan, los valores de la germinación y la velocidad de emergencia se incrementan (interacciones 1, 2 y 3); aunque numéricamente los mayores valores de las variables se obtuvieron cuando la semilla no se desecó ni se almacenó (interacción 10). En general, el comportamiento apoya la posibilidad de que el secado favorece la postmaduración (Camino, 1998; Copeland y McDonald, 2001) e incluso disminuye o elimina el fenómeno de latencia (Baskin y Baskin, 2004) que está reportado en esta especie (García-Núñez *et al.*, 2001; Bautista y Laskowski, 2002; Carvalho y Nascimento, 2008; Jaimes, 2009).

Es conveniente mencionar que cuando las semillas se almacenaron durante seis meses a -20 °C con 10 y 5 % de contenido de humedad, respectivamente, lograron valores en la viabilidad cercanos a 100 %, sin embargo, la germinación y la velocidad de emergencia, mostraron los valores más bajos (Cuadro 5.2); esto demuestra lo mencionado anteriormente en el sentido de que, las semillas sometidas a este período de almacenamiento poseían bajo vigor, lo que impidió que germinaran y emergieran a la superficie del suelo (Moreno, 1996).

5.3.5. Longevidad de las semillas de nanche de ambos orígenes

En el Cuadro 5.3 se presenta el comportamiento de las variables evaluadas en el segundo paso del algoritmo (Figura 5.1), después del almacenamiento en diferentes ambientes.

Se observa que para la viabilidad sólo el periodo de almacenamiento fue significativo ($P \leq 0.05$), lo que implica que al menos uno de los niveles de éste, causó un efecto diferente de los demás, en la variable respuesta. En cambio, la germinación sí fue significativa ($P \leq 0.0001$) con el origen de las semillas (ORI); por otro lado, también hubo efectos significativos ($P \leq 0.05$) del período y ambiente de almacenamiento; por lo que el comportamiento de dicha variable se

atribuye exclusivamente a los efectos principales de al menos uno de los niveles de los factores antes mencionados.

Cuadro 5.3. Cuadrados medios y significancia estadística para las variables fisiológicas evaluadas en las semillas de nanche, con diferente contenido de humedad, período y ambiente de almacenamiento.

F.V.	G.L.	Viabilidad (%)	Germinación (%)	Velocidad de emergencia [†]
ORI	1	0.0043	6.8409 ***	0.9631 ***
PA	2	1.6741 *	0.1845 *	0.0036
AA	1	0.0565	0.1155 *	0.0283 *
CH	2	0.0699	0.0296	0.0042
ORI*PA	2	0.0384	0.0446	0.0009
ORI*AA	1	0.0323	0.0235	0.0002
ORI*CH	2	0.0188	0.0374	0.0052
PA*AA	2	0.0661	0.0289	0.0122
PA*CH	4	0.0271	0.0286	0.0035
AA*CH	2	0.0065	0.0090	0.0006
ORI*PA*AA	2	0.0082	0.0074	0.0016
ORI*PA*CH	4	0.0136	0.0265	0.0032
ORI*AA*CH	2	0.0159	0.0020	0.0013
PA*AA*CH	4	0.0269	0.0112	0.0005
ORI*PA*AA*CH	4	0.0109	0.0028	0.0006
ERROR	72	0.0417	0.0246	0.0053
TOTAL	107			
C.V. (%)		17.609	23.318	7.873

* = $P \leq 0.05$; *** = $P \leq 0.0001$

[†] = Número de plántulas emergidas por día, ORI = Origen de la semilla, PA = Período de almacenamiento, CH = Contenido de humedad de la semilla, C.V. = Coeficiente de variación

Por su parte, la velocidad de emergencia en concordancia con el porcentaje de germinación, fue altamente significativa ($P \leq 0.001$) por el factor origen (ORI) y también por el efecto significativo de alguno de los niveles del factor ambiente de almacenamiento (AA). Por lo anterior, se realizó el análisis de comparación de medias (Cuadro 5.4) de los efectos de los factores principales que resultaron significativos.

Cuadro 5.4. Promedios de las variables fisiológicas evaluadas en semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, almacenadas por tres períodos en dos ambientes distintos.

Factores	Viabilidad (%)	Germinación (%)	Velocidad de emergencia[†]
Ambiente de Almacenamiento			
Cuarto frío a 5 °C			0.11981 b
Tejupilco, Edo. Mex. 19 °C			0.14917 a
DMS			0.0227
Período de Almacenamiento			
Cero meses	65.044 c	40.371 a	
Tres meses	81.97 b	37.407 a	
Seis meses	92.361 a	28.333 b	
DMS	7.6461	7.2248	
Origen del germoplasma			
Tejupilco, Edo. de México			0.04604 b
Tuxtepec, Oaxaca			0.22294 a
DMS			0.0227

Letra diferente dentro de cada columna, indica diferencia significativa (Tukey $\alpha = 0.05$); DMS= Diferencia Mínima Significativa; [†] = Número de plántulas emergidas por día.

En el Cuadro 5.4 se muestra el efecto principal de algunos de los factores en las variables fisiológicas evaluadas para determinar la longevidad de las semillas de nanche de Tejupilco, Estado de México y Tuxtepec, Oaxaca, en dos ambientes distintos de almacén.

5.3.5.1. Viabilidad

El comportamiento de la viabilidad estuvo determinado por el período de almacenamiento, que, como se muestra en el Cuadro 5.4 el mejor porcentaje se obtuvo cuando se almacenó durante seis meses. Sin embargo, el resultado debe tomarse con reserva, ya que la tinción de los tejidos fue rosa pálido lo que indica que la semilla poseía poco vigor después del almacenamiento, y por lo tanto, baja probabilidad de establecimiento en campo (Moreno, 1996, Kibinza, 2011).

5.3.5.2. Germinación

La germinación que también estuvo determinada por el período de almacenamiento, estadísticamente fue mejor cuando las semillas se almacenaron por tres meses y cuando no se almacenaron; aunque numéricamente, el mejor porcentaje se obtuvo cuando las semillas no se almacenaron. Dicho comportamiento corresponde al de las semillas de tipo recalcitrante (Roberts, 1973; Hong, 1996). Esto coincide con lo que reportó Guignard (1991), en semillas de nanche de Costa Rica.

5.3.5.3. Velocidad de emergencia

Su comportamiento estuvo determinado estadísticamente por la influencia de los factores origen del germoplasma y ambiente de almacenamiento. En el Cuadro 5.4 se observa que las plántulas que emergieron con mayor velocidad fueron las de Tuxtepec, Oaxaca, cuando las semillas permanecieron almacenadas a 19 °C. Esto, en primer lugar obedece al comportamiento de las semillas recalcitrantes de origen tropical, que deben almacenarse a temperaturas superiores a 10 ° C (Hong y Ellis, 1996), y en segundo término, la mayor velocidad de emergencia en parte obedece a que el endocarpio del fruto de este origen geográfico es más delgado y blando que el del fruto de Tejupilco, Estado de México (Jaimes, 2009); probablemente la diferencia en espesor y dureza se deba al diferente estatus de la especie (Cubero, 2003), pues mientras en Tejupilco es silvestre, en Tuxtepec tiene un mayor grado de manejo (plantas toleradas y fomentadas).

Una vez evaluada la supervivencia durante el secado, posterior a éste en diferentes ambientes de almacén, y tomando en cuenta los resultados obtenidos, puede decirse que las semillas de ambos orígenes geográficos, se comportan como de tipo recalcitrante; esto coincide con lo observado por Guignard (1991).

5.4. CONCLUSIONES

1. Las semillas de Tejupilco, Estado de México, son más tolerantes a la disminución del contenido de humedad que las de Tuxtepec, Oaxaca; sin embargo, como ambas resultaron intolerantes al almacenamiento, se les clasificó como recalcitrantes.
2. La estrategia más apropiada para conservar el germoplasma de nanche es *in situ* y/o *ex situ*: en colecciones de campo, jardines botánicos, propagación *in vitro* o mediante crioconservación.

5.5. LITERATURA CITADA

- Asomaning, J. M., S. O., Nana y S., Moctar. 2011.** Desiccation sensitivity and germination of recalcitrant *Garcinia kola* Hekel Seeds. Res. J. Seed Sci. 4(1): 15-27.
- Azcon-Bieto, J. y M., Talón. 2008.** Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2ª ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 522 p.
- Bewley, J. D. and M., Black. 1994.** Seeds: Physiology of Development and germination Second Ed. Plenum Press. New York, USA. 445 p.
- Bewley, J. D. 1995.** Physiological aspects of desiccation tolerance – a retrospect. International Journal of Plant Sciences 156: 393–403.
- Berjak, P. y N. M., Pammenter. 1994.** Recalcitrance is not an all-or-nothing situation. Seed Science Research 4: 263–264.
- Berjak, P., C. W., Vertucci y N. M., Pammenter. 1993.** Effects of developmental status and dehydration rate on characteristics of water and desiccation-sensitivity in recalcitrant seeds of *Camellia sinensis*. Seed Science Research 3: 155–166.
- Berjak, P. y N. W., Pammenter. 2008.** Review from Avicennia to Zizania: Seed recalcitrance in perspective. Annals of Botany 101: 213-228.
- Box, G. E. P.; W. G., Hunter y J. S., Hunter. 2001.** Estadística para investigadores, Introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y construcción de modelos. 2ª reimpression. Reverte. Barcelona, España. 675 p.

- Camino, J. 1998.** Ensayos para mejorar la germinación del nance *Byrsonima spp.* Tesis de Licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras. 14 p.
- Camacho, M. F. 2011.** Dormición de semillas: causas y tratamientos. Trillas. México, D. F. 232 p.
- Carvalho, José Edmar Urano de y Nascimento, Walnice Maria Oliveira do 2008.** Caracterização dos pirênios e métodos para acelerar a germinação de sementes de muruci do clone Açú. *Rev. Bras. Frutic.* [En línea], vol.30, n.3 pp. 775-781. Disponible en: <<http://www.scielo.br/scielo.php?> Consultado el 27 de mayo de 2013.
- Castillo, M. L. E. 2000.** Introducción a la Estadística Experimental. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, México. 263 p.
- Chin, H. F. 1978.** Production and storage of recalcitrant seeds in the tropics: seed problems” *In: Acta Hortic.*, 83:17-21.
- Chin, H. F. y E. H. Roberts. 1980.** Recalcitrants Crops Seeds. Tropical Press. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Chin, H. F.; Y. L., Hor; y M. B. Mohdlassim. 1984.** Identification of recalcitrant seeds. *Seed Science and Technology*, 12:429-436.
- Chien, C. T. y P. Lin. 1997.** Effects of harvest date on the storability of desiccation-sensitive seeds of *Machilus kusanoi* Hay. *Seed Science and Technology* 25: 361–371.
- Copeland, O. L. y M. B. McDonald. 2001.** Principles of Seed Science and Technology. 4th edition. Kluwer Press. New York. USA. 488 p.

- Cuevas, S. J. A. 2008.** Semillas recalcitrantes: importancia, características y alternativas para su conservación. Publicaciones del Programa Nacional de Etnobotánica. Serie: Lecturas de Etnobotánica: Conservación del germoplasma vegetal. Número: 25. Chapingo, México. 12 p.
- Daws, M. I., C. S., Gaméné; S. M., Glidewell y H. W., Pritchard. 2004a.** Seed mass variation masks a single critical water content in recalcitrant seeds. *Seed Science Research* 14:185-195.
- Daws, M. I.; E., Lydall; P., Chmielarz; O., Leprince; S., Matthews; C. A., Thanos, y H. W., Pritchard, 2004a.** Developmental heat sum influences recalcitrant seed traits in *Aesculus hippocastanum* across Europe. *New Phytologist* 162: 157–166.
- Daws M. I., H., Cleland; P. Chmielarz; F., Gorian; O. Leprince; C. E., Mullins. 2006b.** Variable desiccation tolerance in *Acer pseudoplatanus* seeds in relation to developmental conditions: a case of phenotypic recalcitrance? *Functional Plant Biology* 33: 59–66.
- Dussert, S., Chabrilange, N., Engelmann, F., Anthony, F., Louarn, J. y Hamon, S. 2000.** Relationship between seed desiccation sensitivity, seed water content at maturity and climatic characteristics of native environments of nine *Coffea* L. species. *Seed Science Research* 10: 293–300.
- Ellis, R. H.; T. D., Hong y E. H., Roberts. 1990.** Effect of moisture content and method of rehydration on the susceptibility of pea seeds to imbibitional damage. *Seed Science and Technology* 18: 131–137.

- Ellis, R. H.; T. D., Hong y E. H., Roberts. 1991.** An intermediate category of seed storage behaviour? I Coffee. *Journal of Experimental Botany* 41: 1167–1174.
- Ellis, R. H.; T. D., Hong y E. H., Roberts. 1991a.** An intermediate category of seed storage behaviour? II. Effects of provenance, immaturity, and imbibition on desiccation-tolerance in coffee. *J. Exp. Bot.* 42:653-657.
- Ellis, R. H. y T. D., Hong. 1994.** Desiccation tolerance and potential longevity of developing seeds of rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany* 73: 501-506.
- Ellis, R. H., T. D., Hong y E. H., Roberts. 1995.** Survival and vigour of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds stored at low and very-low moisture contents. *Ann. Bot.* 76:521-534.
- Ellis, R. H. y T. D., Hong. 2007.** Seed longevity – moisture content relationships in hermetic and open storage. *Seed Science & Technology* 35: 423-431.
- Farnsworth, E. 2000.** The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:107–138.
- Francis, J. K. 1990.** [(*Byrsonima spicata* Cav.) H.B.K.] Maricao. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. New Orleans, LA: USA .5 p.
- Fisher, W.; R., Bergfeld; R., Plachy y P., Schopfer. 1988.** Accumulation of storage materials, precocious germination and development of desiccation tolerance in mustard (*Sinapis alba* L.). *Bot. Acta* 101:344-354.
- García, E. 1988.** Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 217 p.

- García-Núñez, C.; A., Azócar y J. F., Silva. 2001.** Seed production and soil seed bank in three evergreen woody species from a neotropical savanna. *Journal of Tropical Ecology* 17: 563-576.
- Gold, K. y F., Hay. 2007.** Equilibrating seeds to specific moisture levels. Technical Information Sheet 09. Millennium Seed Bank project. Kew. U.K.
- Greggains, V.; W. E., Finch-Savage; W. P., Quick y N. M., Atherton. 2000.** Putative desiccation tolerance mechanisms in orthodox and recalcitrant seeds of the genus *Acer*. *Seed Science Research* 10: 317–327.
- Guignard, L. M. 1991.** Almacenamiento de semillas y descripción sistemática de 42 genotipos de Nance (*Byrsonima crassifolia* L.) de la colección del CATIE. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE. Turrialba, Costa Rica.
- Hanson, J. 1984.** “The storage of seeds of tropical tree fruits”. *In*: Holden, J.H.W. y Williams, J.T. (eds.). *Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation*. George Allen & Unwin, London. pp. 53-62.
- Hanson, J. 1985.** Procedures for Handling Seeds in Genebanks. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.
- Hay, F. R. y R. J., Probert. 1995.** Seed maturity and the effect of different drying conditions on desiccation tolerance and seed longevity in foxglove (*Digitalis purpurea* L). *Annals of Botany* 76: 639-647.
- Hoekstra, F. A.; E. A., Golovina y J., Buitink. 2001.** Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in Plant Sciences* 5: 431–438.

- Hong, T. D. y R. H., Ellis, 1990.** A comparison of maturation drying, germination, and desiccation tolerance between developing seeds of *Acer pseudoplatonus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytologist* 116: 589–596.
- Hong, T. D. y R. H., Ellis. 1996.** A protocol to determine seed storage behavior. IPGRI. Technical Bulletin No. 1 (J. M. M. Engels and J. Toll, vol. eds). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Hong, T. D. y R. H., Ellis. 1998.** Contrasting seed storage behavior among different species of Meliaceae. *Seed Science and Technology* 26: 26-95
- International Seed Testing Association (ISTA). 2005.** International Rules for Seed Testing. Rules 2005. Zurich, Suiza. 300 p.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1998.** Cartas temáticas 14A56 “Tejupilco de Hidalgo, Estado de México”; escala 1:50,000.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1998.** Cartas temáticas E14B89 “San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca”; escala 1:50,000.
- Jaimes, A. C. 2009.** Caracterización morfológica de fruto y semilla de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) Kunth y su relación con la capacidad germinativa. Tesis de Maestría. Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 107 p.
- Jara, N. L. F. 1997.** Secado, Procesamiento y Almacenamiento de semillas forestales. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 139 p. disponible en <http://www.google.com.mx/search?hl=es&q=contenido+de+humedad+de+la>

[+semillas&meta=&riz=1R2GGLL_es&aq=f&og=](#). Consultado el 30 marzo de 2013

Kibinza, S.; J. Bazin; C., Bailly; J. M., Farrant; F., Corbineau y H., El – Marouf – Bouteau. 2011. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Science*. 181: 309-315.

King, M. W. y E. H., Roberts. 1979. The Storage of Recalcitrant Seeds. Achievements and Possible Approaches. IBPGR, Rome. Italy.

León, L. P. y R. H., Ellis. 2002. Seed storage behavior of *Fagus sylvatica* and *Fagus crenata*. *Seed Science Research*.12:31-37.

Leprince, O. y F. A., Hoekstra. 1998. The response of cytochrome redox state and energy metabolism to dehydration support a role for cytoplasmic viscosity in desiccation tolerance. *Plant Physiology* 118: 1253–1264.

Leprince, O.; G. A. F., Hendry y B. D., McKersie. 1993. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Science Research* 3: 231–246.

Leprince, O., C. W., Vertucci; G. A. F., Hendry y N. M., Atherton. 1995b. The expression of desiccation-induced damage in orthodox seeds is a function of oxygen and temperature. *Physiologia Plantarum* 94: 233–240.

Liang, Y. y W. Q., Sun. 2000. Desiccation tolerance of recalcitrant *Theobroma cacao* embryonic axes: the optimal drying rate and its physiological basis. *Journal of Experimental Botany* 51: 1911–1919.

Magnitskiy, S. V. y A. G., Plaza. 2007. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana*. 25: 96-103

Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*. 2: 176-177.

Martins, C. C., M. L. A., Bovi y J., Nakagawa. 2003. Desiccation effects on germination and vigor of king palm seeds. *Horticultura Brasileira*. 21:88-92.

Moreno, M. E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 3ª edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 393 p.

Moreno- Casasola, P. 1996. Vida y obra de granos y semillas. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 437 p.

Nieto, A. R. 2007. Frutales nativos, un recurso fitogenético de México. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 270 p.

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Guía para la manipulación de semillas forestales. Capítulo 7. Almacenamiento de las semillas <http://www.fao.org/docrep/006/AD232S/ad232s08.htm> consultado el 23 de marzo de 2013.

Pammenter, N. M. y P., Berjak. 1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. *Seed Science Research* 9: 13–38.

Pandey, D. K. 1992. Conductivity testing of seeds. In: *Seed Analysis. Molecular Methods of Plant Analysis*. H. F. Linskens and J. F. Jackson (Eds). New series Vol. 14. Springer –Verlag. London. pp 273-304.

Pritchard, H. W. y J. B., Dickie. 2003. Predicting seed longevity: use and abuse of seed viability equations. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W.

Pritchard & R.J. Probert (eds). Seed Conservation: Turning Science into Practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 653-722.
http://www.kew.org/msbp/scitech/publications/SCTSIP_digital_book/pdfs/Chapter_35.pdf

Roberts, E. H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology*. 1: 499-514.

Roberts, E. H.; M. W., King, y R. H., Ellis. 1984. "Recalcitrant seeds: their recognition and storage". *In*: Holden, J.H.W. y Williams, J.T. (eds.) *Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation*. Allen & Unwin, London. pp. 38-52.

SAS. Institute Inc. 2001. SAS/STAT User' Guide. Release 9.0 edition. North Carolina, USA.1289 p.

Stanwood, P. C. 1985. Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation. *In*: *Cryopreservation of Plant Cells and Organs*, Kartha K.K. (ed). pp. 199-226. Boca Raton: CRC Press.

Tompsett, P. B. 1984a. Desiccation studies in relation to the storage of *Araucaria* seed. *Ann. Appl. Biol.* 105:581-586.

Tompsett, P. B. 1984b. The effect of moisture content and temperature on the seed storage life of *Araucaria columnaris*. *Seed Sci. and Technol.* 12:801-816.

Tompesestt, P. B. 1986. The effect of temperature and moisture content on the longevity of seeds of *Ulmus carpinifolia* and *Terminalia brasii*. *Ann. Bot.* 57:875-883.

- Tompsett, P. B. 1987.** Desiccation and storage studies on *Dipterocarpus* seeds. Ann. Appl. Biol. 110:371-379.
- Tompsett, P. B. 1992.** A review of the literature on storage of *Dipterocarpus* seeds. **Seed Sci. and Technol.** 20:251-267.
- Tompsett, P. B. y H. W., Prichard. 1993.** Water status changes during development in relation to the germination and desiccation tolerance of *Aesculus hippocastanum* L. seeds. Annals of Botany 71: 107–116.
- Tompsett, P. B. y H. W., Pritchard. 1998.** The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastanum* L. seed. Annals of Botany 82: 249–261.
- Tweddle, J. C.; J. B., Dickie; C. C., Baskin y J. M., Baskin. 2003.** Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. Journal of Ecology 91:294–304.
- Vega, E. C.; B. F., Patiño y A. A., Rodríguez. 1981.** Viabilidad en semillas en 72 especies forestales tropicales almacenadas al medio ambiente. *In:* Reunión sobre problemas en semillas forestales tropicales. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales (INIF). San Felipe Bacalar, Quintana Roo, México. Publicación especial No. 35: Vol. 1. 325-345.
- Vertucci, C. W. y J. M., Farrant. 1995.** Acquisition and Loss of Desiccation Tolerance. In: J. Kigel and G. Galili (eds). Seed development and germination. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp. 237–271.
- Villachica, H. 1996.** Frutales y hortalizas promisorias de la Amazonia. Tratado de cooperación Amazónica. Secretaría Pro Tempore. Lima, Perú. 367 p.

- Walters, C. 1998.** Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. *Seed Science Research* 8: 223–256.
- Walters, C. 1999.** Levels of recalcitrance in seeds, In: M. Marzalina, K.C. Khoo, N. Jayanthi, F.Y. Tsan, B. Krishnapillay (eds). *Recalcitrant seeds: IUFRO Seed Symposium 1998*. Forest Research Institute Malaysia, Kuala Lumpur, Malaysia. pp. 1–13.
- Walters, C. N. M.; P., Pammenter; Berjak, y J., Crane. 2001.** Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. *Seed Science Research* 11: 135–148.
- Walters, C.; L. Wheeler y P. C., Stanwood. 2004.** Longevity of cryogenically stored seeds. *Cryobiology* 48:229-244.
- Wechsberg, G. E.; R. J., Probert y C. M., Bray. 1994.** The relationship between “dehydrin-like” proteins and seed longevity in *Ranunculus sceleratus* L. *Journal of Experimental Botany* 45: 1027–1030.
- Wood, C. B.; H. W., Pritchard y D., Amritphale. 2000.** Desiccation-induced dormancy in papaya (*Carica papaya* L.) seeds is alleviated by heat shock. *Seed Science Research* 10: 135–146.

CAPÍTULO VI. DISCUSIÓN GENERAL

La propagación sexual del nanche contribuye a conservar la variabilidad genética de la especie. Esto es importante porque representa una fuente de alelos que pueden ser útiles para impulsar programas de mejoramiento genético, tanto para incorporar caracteres deseables que contribuyan a mejorar la calidad de los frutos e incursionar en el mercado nacional e internacional, como para lograr resistencia a factores bióticos y abióticos que limiten la producción frutícola intensiva.

Por otra parte la reproducción mediante semilla, es el método más apropiado para producir patrones o portainjertos francos, cuya primordial característica es la resistencia a enfermedades virosas (Agusti, 2004), y sobre ellos injertar clones previamente seleccionados por sus caracteres sobresalientes; mismos que en un programa formal de mejoramiento genético, permitan obtener variedades con los atributos que demande el mercado, tales como: mayor tamaño de fruto y porcentaje de pulpa, grados brix, consistencia del mesocarpio y eliminación del aroma típico, que representa un aspecto negativo para su aceptación por un buen porcentaje de los consumidores. Incorporar las características mencionadas, sin duda, fomentará la producción y comercio a gran escala, y generará recursos económicos para los productores, contribuyendo así, al cambio favorable en el estilo de vida de muchas familias mexicanas.

Otro aspecto relevante de la reproducción sexual de esta especie, es el que se refiere a la conservación de los ecosistemas, ya que puede emplearse con éxito en programas de reforestación en áreas donde existan las limitantes edafoclimáticas mencionadas; pues aun cuando ocurran incendios en las áreas reforestadas, el nanche tiene la capacidad de regenerarse después de un evento de esta naturaleza (García *et al.*, 2001; García Núñez y Azocar, 2004); hecho que favorece la repoblación forestal sin la necesidad de reponer plantas, lo que significa ahorro de recursos económicos y humanos.

Por supuesto, tanto la generación de patrones para la producción frutícola, como la producción de planta para programas de reforestación, tendrían que hacerse mediante la germinación de semilla proveniente de árboles silvestres, que son las que confieren las características deseables. Esto pone de manifiesto la necesidad de conservar las poblaciones que en estado silvestre se encuentran con severos problemas fitosanitarios, afectadas por fenómenos naturales y por el pastoreo (Chaideftou *et al.*, 2009).

El experimento establecido en campo en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México, permite constatar que, al menos en aquella región, el pastoreo es un factor determinante que impide el incremento de las poblaciones de nanche. Antes de obtener resultados sobre la dinámica germinativa en el banco de semillas del suelo; se consideraba que las poblaciones de nanche en la region no aumentaban porque las condiciones edafoclimáticas, la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas, la latencia, y el estatus de la especie, eran los principales factores negativos para su regeneración; sin embargo, el conocimiento generado en esta investigación, permite afirmar que el principal factor por el cual no hay incremento de las poblaciones silvestres, o bien, es casi imperceptible, lo constituye el pastoreo. Esto coincide con lo que mencionan Chaideftou *et al.* (2009), respecto a que el pastoreo es un factor negativo para la conservación de las poblaciones vegetales en los ecosistemas. Los resultados obtenidos concuerdan con lo que mencionan García-Núñez *et al.* (2001), en el sentido de que el nanche anualmente produce propágulos suficientes y con la viabilidad requerida, para el mantenimiento de sus poblaciones en el ámbito natural.

Aunado a lo anterior, y habiéndose determinado que las semillas de nanche de ambos climas, se comportan como recalcitrantes, se confirma la necesidad urgente de conservar las poblaciones silvestres e impulsar el establecimiento de otras en áreas protegidas para disminuir el riesgo de extinción de la especie; que, si bien, hasta ahora no está reportado, posiblemente sea porque no se le ha dado la importancia necesaria como recurso fitogenético.

6.1. LITERATURA CITADA

- Agusti, M. 2004.** Fruticultura. Ediciones Mundi-prensa, México, D. F. 493 p.
- Chaideftou, E.; T. A., Costas; E., Bergmeier; A., Kallimanis y P., Dimopoulos. 2009.** Seed bank composition and above-ground vegetation in response to grazing in sub-Mediterranean oak forests (NW Greece). *Plant Ecology*. 201:255-265.
- García-Núñez, C.; A. Azócar y J. F. Silva. 2001.** Seed production and soil seed bank in three evergreen woody species from a neotropical savanna. *Journal of Tropical Ecology* 17: 563-576.
- García-Núñez, C.; y A. Azocar. 2004.** Ecología de la regeneración de árboles de la sabana. *Ecotrópicos*. 17(1-2): 1-24.

CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES GENERALES

La dinámica germinativa de las semillas de nanche en el banco del suelo, en general, depende de la fisiología de la semilla, de las condiciones edáficas y climáticas de la región, de la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas y del grado de domesticación de la especie.

La naturaleza del banco de semillas del suelo, puede ser de tipo transitorio en las zonas cálido húmedas, y persistente en las más templadas.

La germinación de las semillas de nanche de clima cálido húmedo y semicálido, en invernadero, se comporta de manera semejante a la que ocurre en la naturaleza.

El tipo de semilla utilizado para la siembra en combinación con la disponibilidad de humedad en el suelo, y la temperatura ambiente, determinan el comportamiento de la germinación en invernadero.

Las semillas de nanche de clima semicálido, son más tolerantes a la deshidratación que las de clima cálido húmedo.

Las semillas de nanche de ambos climas son de tipo recalcitrante, por lo que este recurso fitogenético puede conservarse *in situ* o *ex situ*: en colecciones de campo, Jardines botánicos, arboretos, cultivo *in vitro* o mediante crioconservación.

VIII. ANEXOS

8.1. ANEXO A. TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO DIARIA, REGISTRADA CON UN DATALOGGER EN INVERNADERO, DURANTE 15 MESES, PARA EL EXPERIMENTO CON SEMILLAS DE NANCHE DE TUXTEPEC, OAXACA.

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
1	07/08/2010	17.0	91.9	226	20/03/2011	23.0	51.1
2	08/08/2010	23.1	73.9	227	21/03/2011	22.6	45.9
3	09/08/2010	22.5	75.1	228	22/03/2011	22.7	46.7
4	10/08/2010	22.5	70.5	229	23/03/2011	24.5	46.8
5	11/08/2010	19.6	76.9	230	24/03/2011	22.7	47.3
6	12/08/2010	19.7	75.8	231	25/03/2011	24.1	49.9
7	13/08/2010	20.3	75.3	232	26/03/2011	25.9	42.4
8	14/08/2010	20.5	69.9	233	27/03/2011	26.5	57.2
9	15/08/2010	20.0	69.3	234	28/03/2011	26.7	45.1
10	16/08/2010	19.9	69.7	235	29/03/2011	24.0	62.0
11	17/08/2010	19.2	74.3	236	30/03/2011	25.2	60.7
12	18/08/2010	19.7	78.8	237	31/03/2011	24.1	55.0
13	19/08/2010	18.7	78.8	238	01/04/2011	26.8	48.2
14	20/08/2010	20.5	70.3	239	02/04/2011	23.4	51.2
15	21/08/2010	20.2	80.5	240	03/04/2011	23.4	57.4
16	22/08/2010	19.5	77.4	241	04/04/2011	24.8	57.6
17	23/08/2010	17.8	72.8	242	05/04/2011	25.2	54.0
18	24/08/2010	18.9	73.2	243	06/04/2011	24.8	55.7
19	25/08/2010	19.4	80.0	244	07/04/2011	23.6	57.2
20	26/08/2010	20.5	69.7	245	08/04/2011	23.2	58.5
21	27/08/2010	17.6	83.1	246	09/04/2011	24.3	54.7
22	28/08/2010	19.4	73.8	247	10/04/2011	24.3	55.5
23	29/08/2010	21.5	75.8	248	11/04/2011	21.9	56.8
24	30/08/2010	20.0	71.0	249	12/04/2011	22.6	55.1
25	31/08/2010	17.5	81.5	250	13/04/2011	24.5	53.8
26	01/09/2010	21.4	80.7	251	14/04/2011	24.3	48.2
27	02/09/2010	21.2	78.4	252	15/04/2011	23.9	48.0
28	03/09/2010	21.4	71.9	253	16/04/2011	22.6	47.2
29	04/09/2010	20.2	79.3	254	17/04/2011	22.1	42.2
30	05/09/2010	18.2	89.8	255	18/04/2011	22.7	38.5
31	06/09/2010	19.5	86.3	256	19/04/2011	22.8	36.4
32	07/09/2010	21.3	80.6	257	20/04/2011	24.4	35.2
33	08/09/2010	20.2	77.1	258	21/04/2011	25.3	35.4
34	09/09/2010	21.6	72.9	259	22/04/2011	26.2	38.4
35	10/09/2010	22.5	70.3	260	23/04/2011	26.9	42.0
36	11/09/2010	20.8	67.7	261	24/04/2011	26.0	45.6
37	12/09/2010	19.1	73.8	262	25/04/2011	26.7	46.1
38	13/09/2010	21.8	71.8	263	26/04/2011	26.1	45.6
39	14/09/2010	20.4	77.4	264	27/04/2011	26.3	38.6
40	15/09/2010	21.8	78.9	265	28/04/2011	26.3	40.1
41	16/09/2010	21.0	70.5	266	29/04/2011	24.7	45.5

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
42	17/09/2010	17.1	88.6	267	30/04/2011	25.4	47.0
43	18/09/2010	20.7	84.7	268	01/05/2011	26.0	50.7
44	19/09/2010	22.3	81.0	269	02/05/2011	25.1	53.3
45	20/09/2010	22.5	76.0	270	03/05/2011	24.4	55.1
46	21/09/2010	19.7	77.1	271	04/05/2011	24.6	53.9
47	22/09/2010	22.0	77.9	272	05/05/2011	24.9	56.1
48	23/09/2010	18.8	80.8	273	06/05/2011	23.2	66.7
49	24/09/2010	20.6	84.6	274	07/05/2011	22.9	60.1
50	25/09/2010	19.9	77.4	275	08/05/2011	24.4	56.7
51	26/09/2010	18.8	72.8	276	09/05/2011	24.7	55.4
52	27/09/2010	18.0	85.1	277	10/05/2011	24.2	54.1
53	28/09/2010	20.4	75.8	278	11/05/2011	24.5	55.5
54	29/09/2010	16.7	63.1	279	12/05/2011	24.9	49.3
55	30/09/2010	17.0	66.1	280	13/05/2011	24.4	42.7
56	01/10/2010	16.7	63.8	281	14/05/2011	23.0	46.9
57	02/10/2010	17.5	69.2	282	15/05/2011	23.1	49.2
58	03/10/2010	18.3	72.2	283	16/05/2011	25.0	43.7
59	04/10/2010	17.7	72.1	284	17/05/2011	25.6	47.4
60	05/10/2010	18.5	66.3	285	18/05/2011	25.9	48.6
61	06/10/2010	18.8	68.9	286	19/05/2011	25.9	43.6
62	07/10/2010	19.8	74.3	287	20/05/2011	26.7	49.7
63	08/10/2010	21.8	75.3	288	21/05/2011	26.0	46.2
64	09/10/2010	20.8	79.5	289	22/05/2011	26.4	40.6
65	10/10/2010	19.6	67.6	290	23/05/2011	25.8	39.2
66	11/10/2010	19.5	66.0	291	24/05/2011	23.7	45.6
67	12/10/2010	21.8	62.3	292	25/05/2011	27.2	42.1
68	13/10/2010	17.4	68.1	293	26/05/2011	24.8	52.2
69	14/10/2010	15.4	74.9	294	27/05/2011	23.8	51.1
70	15/10/2010	17.3	75.7	295	28/05/2011	24.5	52.5
71	16/10/2010	19.2	75.5	296	29/05/2011	24.3	54.2
72	17/10/2010	19.3	76.5	297	30/05/2011	25.3	51.3
73	18/10/2010	18.2	69.8	298	31/05/2011	25.2	50.8
74	19/10/2010	20.1	76.3	299	01/06/2011	25.0	53.4
75	20/10/2010	20.8	75.3	300	02/06/2011	25.4	50.5
76	21/10/2010	19.4	71.0	301	03/06/2011	26.3	43.5
77	22/10/2010	20.9	73.5	302	04/06/2011	25.7	39.5
78	23/10/2010	19.5	70.3	303	05/06/2011	26.2	47.1
79	24/10/2010	20.9	70.5	304	06/06/2011	25.3	48.4
80	25/10/2010	19.8	73.9	305	07/06/2011	24.4	51.4
81	26/10/2010	18.3	65.1	306	08/06/2011	24.7	53.0
82	27/10/2010	18.1	59.3	307	09/06/2011	23.2	60.4

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
83	28/10/2010	16.4	59.9	308	10/06/2011	21.5	66.3
84	29/10/2010	13.3	87.9	309	11/06/2011	23.2	61.7
85	30/10/2010	16.7	77.1	310	12/06/2011	22.9	60.1
86	31/10/2010	21.6	78.6	311	13/06/2011	24.4	56.7
87	01/11/2010	21.8	80.2	312	14/06/2011	24.7	55.4
88	02/11/2010	20.5	78.7	313	15/06/2011	23.2	61.1
89	03/11/2010	16.0	75.8	314	16/06/2011	24.5	55.5
90	04/11/2010	16.1	79.2	315	17/06/2011	24.9	49.3
91	05/11/2010	12.6	74.7	316	18/06/2011	24.4	42.7
92	06/11/2010	13.1	75.4	317	19/06/2011	23.0	46.9
93	07/11/2010	13.1	75.6	318	20/06/2011	23.1	49.2
94	08/11/2010	12.1	66.0	319	21/06/2011	25.0	43.7
95	09/11/2010	13.2	64.9	320	22/06/2011	21.6	78.5
96	10/11/2010	13.4	62.4	321	23/06/2011	22.3	77.4
97	11/11/2010	14.5	62.4	322	24/06/2011	21.9	78.5
98	12/11/2010	17.2	72.6	323	25/06/2011	21.7	77.0
99	13/11/2010	15.1	64.0	324	26/06/2011	22.8	76.8
100	14/11/2010	17.1	65.7	325	27/06/2011	21.4	77.6
101	15/11/2010	17.6	68.6	326	28/06/2011	19.9	78.5
102	16/11/2010	16.4	64.7	327	29/06/2011	21.0	69.7
103	17/11/2010	16.6	67.2	328	30/06/2011	20.5	79.8
104	18/11/2010	14.5	74.7	329	01/07/2011	22.5	78.3
105	19/11/2010	17.5	69.4	330	02/07/2011	22.8	76.5
106	20/11/2010	17.5	67.7	331	03/07/2011	23.2	77.7
107	21/11/2010	16.9	66.4	332	04/07/2011	21.5	77.0
108	22/11/2010	17.4	65.2	333	05/07/2011	24.3	73.2
109	23/11/2010	17.4	60.1	334	06/07/2011	25.0	71.3
110	24/11/2010	16.3	62.8	335	07/07/2011	23.0	69.8
111	25/11/2010	16.0	62.1	336	08/07/2011	22.5	70.6
112	26/11/2010	19.8	72.9	337	09/07/2011	22.1	71.9
113	27/11/2010	18.7	77.6	338	10/07/2011	22.5	72.5
114	28/11/2010	18.9	73.1	339	11/07/2011	22.3	73.0
115	29/11/2010	17.7	65.7	340	12/07/2011	22.8	73.5
116	30/11/2010	15.9	66.1	341	13/07/2011	23.6	70.6
117	01/12/2010	14.7	72.9	342	14/07/2011	22.7	73.6
118	02/12/2010	14.9	58.8	343	15/07/2011	24.8	74.4
119	03/12/2010	13.1	62.1	344	16/07/2011	23.1	73.9
120	04/12/2010	11.9	61.0	345	17/07/2011	22.8	74.2
121	05/12/2010	13.4	68.6	346	18/07/2011	23.5	74.3
122	06/12/2010	11.9	68.7	347	19/07/2011	23.8	74.0
123	07/12/2010	14.9	76.0	348	20/07/2011	24.2	73.6

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
124	08/12/2010	14.2	74.4	349	21/07/2011	24.7	73.1
125	09/12/2010	10.4	65.3	350	22/07/2011	25.0	71.3
126	10/12/2010	10.6	60.6	351	23/07/2011	23.0	69.8
127	11/12/2010	12.7	69.8	352	24/07/2011	22.5	70.6
128	12/12/2010	10.8	63.5	353	25/07/2011	22.1	71.9
129	13/12/2010	11.1	64.5	354	26/07/2011	25.2	68.2
130	14/12/2010	11.4	57.1	355	27/07/2011	25.2	67.9
131	15/12/2010	12.5	56.5	356	28/07/2011	24.3	68.4
132	16/12/2010	12.5	63.0	357	29/07/2011	23.9	70.0
133	17/12/2010	12.3	62.9	358	30/07/2011	23.6	71.2
134	18/12/2010	12.3	60.6	359	31/07/2011	19.4	71.0
135	19/12/2010	12.9	59.0	360	01/08/2011	20.9	73.5
136	20/12/2010	15.6	76.6	361	02/08/2011	19.5	70.3
137	21/12/2010	14.6	67.7	362	03/08/2011	20.9	70.5
138	22/12/2010	12.9	64.8	363	04/08/2011	19.8	73.9
139	23/12/2010	12.7	65.2	364	05/08/2011	18.3	73.5
140	24/12/2010	12.4	65.4	365	06/08/2011	17.2	78.5
141	25/12/2010	13.2	73.2	366	07/08/2011	19.1	69.3
142	26/12/2010	14.5	68.0	367	08/08/2011	20.3	71.5
143	27/12/2010	18.3	49.7	368	09/08/2011	21.0	64.8
144	28/12/2010	20.3	51.9	369	10/08/2011	21.0	64.6
145	29/12/2010	21.2	43.5	370	11/08/2011	18.5	84.1
146	30/12/2010	21.2	35.7	371	12/08/2011	19.0	79.0
147	31/12/2010	21.7	30.2	372	13/08/2011	19.0	79.2
148	01/01/2011	18.9	42.3	373	14/08/2011	20.3	71.5
149	02/01/2011	22.2	42.9	374	15/08/2011	21.0	64.8
150	03/01/2011	20.5	37.7	375	16/08/2011	21.0	64.6
151	04/01/2011	21.1	40.2	376	17/08/2011	18.3	73.5
152	05/01/2011	22.6	45.8	377	18/08/2011	17.2	78.5
153	06/01/2011	23.1	41.5	378	19/08/2011	19.1	69.3
154	07/01/2011	21.4	42.3	379	20/08/2011	18.8	73.5
155	08/01/2011	19.6	44.3	380	21/08/2011	18.9	78.3
156	09/01/2011	19.8	30.8	381	22/08/2011	18.2	75.6
157	10/01/2011	18.9	32.2	382	23/08/2011	18.5	80.5
158	11/01/2011	20.2	34.2	383	24/08/2011	20.3	78.2
159	12/01/2011	18.9	45.6	384	25/08/2011	20.0	76.0
160	13/01/2011	17.9	52.5	385	26/08/2011	22.1	70.0
161	14/01/2011	18.8	47.7	386	27/08/2011	20.5	71.1
162	15/01/2011	18.6	44.9	387	28/08/2011	23.4	64.8
163	16/01/2011	18.7	39.4	388	29/08/2011	23.5	62.1
164	17/01/2011	18.5	35.1	389	30/08/2011	22.0	64.8

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
165	18/01/2011	20.7	34.1	390	31/08/2011	22.3	65.9
166	19/01/2011	18.1	31.5	391	01/09/2011	18.5	71.9
167	20/01/2011	20.0	33.7	392	02/09/2011	21.6	68.8
168	21/01/2011	19.4	39.4	393	03/09/2011	22.5	63.2
169	22/01/2011	19.5	37.9	394	04/09/2011	21.9	60.1
170	23/01/2011	18.8	33.5	395	05/09/2011	21.6	60.2
171	24/01/2011	17.6	35.3	396	06/09/2011	24.2	58.2
172	25/01/2011	19.1	35.9	397	07/09/2011	23.4	57.6
173	26/01/2011	18.2	38.1	398	08/09/2011	21.7	62.8
174	27/01/2011	21.3	37.9	399	09/09/2011	21.2	64.9
175	28/01/2011	20.1	43.3	400	10/09/2011	19.6	69.5
176	29/01/2011	18.2	47.0	401	11/09/2011	19.9	68.9
177	30/01/2011	18.1	41.3	402	12/09/2011	18.9	71.6
178	31/01/2011	18.8	38.5	403	13/09/2011	20.9	63.9
179	01/02/2011	19.6	33.1	404	14/09/2011	20.6	64.7
180	02/02/2011	18.9	37.6	405	15/09/2011	20.4	69.9
181	03/02/2011	20.7	43.8	406	16/09/2011	21.9	65.6
182	04/02/2011	17.2	46.5	407	17/09/2011	20.6	70.2
183	05/02/2011	20.9	46.0	408	18/09/2011	22.4	65.0
184	06/02/2011	20.7	46.0	409	19/09/2011	20.4	59.7
185	07/02/2011	20.4	42.1	410	20/09/2011	20.5	57.6
186	08/02/2011	20.5	42.6	411	21/09/2011	20.2	61.1
187	09/02/2011	23.3	38.2	412	22/09/2011	24.0	59.5
188	10/02/2011	20.3	41.3	413	23/09/2011	21.1	66.5
189	11/02/2011	22.0	42.2	414	24/09/2011	20.1	65.7
190	12/02/2011	21.7	44.9	415	25/09/2011	20.3	66.5
191	13/02/2011	22.2	42.9	416	26/09/2011	20.4	69.4
192	14/02/2011	20.0	33.7	417	27/09/2011	22.5	71.5
193	15/02/2011	20.5	37.7	418	28/09/2011	21.4	70.3
194	16/02/2011	19.4	39.4	419	29/09/2011	23.4	66.6
195	17/02/2011	21.1	40.2	420	30/09/2011	19.8	73.1
196	18/02/2011	19.5	37.9	421	01/10/2011	21.4	63.7
197	19/02/2011	22.6	45.8	422	02/10/2011	20.5	58.7
198	20/02/2011	18.8	33.5	423	03/10/2011	19.5	54.5
199	21/02/2011	23.1	41.5	424	04/10/2011	19.0	50.8
200	22/02/2011	17.6	35.3	425	05/10/2011	19.2	53.0
201	23/02/2011	21.4	42.3	426	06/10/2011	19.9	57.7
202	24/02/2011	19.1	35.9	427	07/10/2011	20.2	58.8
203	25/02/2011	19.6	44.3	428	08/10/2011	19.8	62.9
204	26/02/2011	18.2	38.1	429	09/10/2011	19.1	67.6
205	27/02/2011	19.8	30.8	430	10/10/2011	19.6	68.5

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
206	28/02/2011	21.3	37.9	431	11/10/2011	20.6	65.7
207	01/03/2011	18.9	32.2	432	12/10/2011	19.3	67.2
208	02/03/2011	20.1	43.3	433	13/10/2011	19.6	69.0
209	03/03/2011	20.2	34.2	434	14/10/2011	21.6	56.7
210	04/03/2011	18.2	47.0	435	15/10/2011	20.6	56.5
211	05/03/2011	19.1	46.0	436	16/10/2011	20.9	58.0
212	06/03/2011	18.2	41.7	437	17/10/2011	21.4	53.6
213	07/03/2011	18.1	53.1	438	18/10/2011	21.7	55.4
214	08/03/2011	19.0	38.9	439	19/10/2011	22.5	56.9
215	09/03/2011	19.0	48.1	440	20/10/2011	21.4	56.0
216	10/03/2011	19.8	33.5	441	21/10/2011	21.6	52.8
217	11/03/2011	18.8	45.3	442	22/10/2011	21.8	56.6
218	12/03/2011	19.1	38.0	443	23/10/2011	21.2	58.5
219	13/03/2011	18.9	39.7	444	24/10/2011	23.1	51.9
220	14/03/2011	20.9	44.3	445	25/10/2011	21.0	48.5
221	15/03/2011	18.6	35.5	446	26/10/2011	21.0	44.1
222	16/03/2011	17.4	47.0	447	27/10/2011	21.0	51.8
223	17/03/2011	20.9	34.5	448	28/10/2011	20.4	56.5
224	18/03/2011	21.1	46.4	449	29/10/2011	19.6	58.4
225	19/03/2011	18.3	31.8	450	30/10/2011	18.3	62.3
				451	31/10/2011	18.4	51.8

8.2. ANEXO B. TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO DIARIA, REGISTRADA CON UN DATALOGGER EN INVERNADERO, DURANTE 25 MESES, PARA EL EXPERIMENTO CON SEMILLAS DE NANCHE DE TEJUPILCO, ESTADO DE MÉXICO.

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
1	01/10/2010	21.4	63.7	369	04/10/2011	19.5	52.3
2	02/10/2010	20.5	58.7	370	05/10/2011	20.0	55.1
3	03/10/2010	19.5	54.5	371	06/10/2011	20.9	60.6
4	04/10/2010	19.0	50.8	372	07/10/2011	20.8	60.6
5	05/10/2010	19.2	53.0	373	08/10/2011	21.0	66.7
6	06/10/2010	19.9	57.7	374	09/10/2011	19.5	68.9
7	07/10/2010	20.2	58.8	375	10/10/2011	19.8	69.2
8	08/10/2010	19.8	62.9	376	11/10/2011	22.0	70.3
9	09/10/2010	19.1	67.6	377	12/10/2011	20.9	72.5
10	10/10/2010	19.6	68.5	378	13/10/2011	20.2	71.1
11	11/10/2010	20.6	65.7	379	14/10/2011	21.0	55.0
12	12/10/2010	19.3	67.2	380	15/10/2011	19.5	53.7
13	13/10/2010	19.6	69.0	381	16/10/2011	20.7	57.4
14	14/10/2010	21.6	56.7	382	17/10/2011	22.7	56.9
15	15/10/2010	20.6	56.5	383	18/10/2011	22.7	58.1
16	16/10/2010	20.9	58.0	384	19/10/2011	23.0	58.0
17	17/10/2010	21.4	53.6	385	20/10/2011	23.4	61.0
18	18/10/2010	21.7	55.4	386	21/10/2011	21.8	53.4
19	19/10/2010	22.5	56.9	387	22/10/2011	22.8	59.4
20	20/10/2010	21.4	56.0	388	23/10/2011	21.8	60.2
21	21/10/2010	21.6	52.8	389	24/10/2011	24.5	55.0
22	22/10/2010	21.8	56.6	390	25/10/2011	21.4	49.4
23	23/10/2010	21.2	58.5	391	26/10/2011	21.2	44.6
24	24/10/2010	23.1	51.9	392	27/10/2011	22.5	55.4
25	25/10/2010	21.0	48.5	393	28/10/2011	22.0	61.0
26	26/10/2010	21.0	44.1	394	29/10/2011	20.2	60.2
27	27/10/2010	21.0	51.8	395	30/10/2011	17.8	60.4
28	28/10/2010	20.4	56.5	396	31/10/2011	17.4	49.2
29	29/10/2010	19.6	58.4	397	01/11/2011	17.8	54.9
30	30/10/2010	18.3	62.3	398	02/11/2011	15.0	60.1
31	31/10/2010	18.4	51.8	399	03/11/2011	16.1	60.7
32	01/11/2010	17.9	55.5	400	04/11/2011	16.4	73.5
33	02/11/2010	15.5	62.0	401	05/11/2011	18.4	72.2
34	03/11/2010	17.0	63.9	402	06/11/2011	18.3	76.3
35	04/11/2010	16.6	74.2	403	07/11/2011	18.0	60.5
36	05/11/2010	17.4	74.7	404	08/11/2011	21.4	62.7
37	06/11/2010	17.4	72.7	405	09/11/2011	20.6	58.7
38	07/11/2010	17.6	59.3	406	10/11/2011	21.9	57.3
39	08/11/2010	19.7	57.5	407	11/11/2011	20.8	56.7
40	09/11/2010	20.4	58.1	408	12/11/2011	21.2	58.5
41	10/11/2010	20.8	54.6	409	13/11/2011	19.6	61.8

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
42	11/11/2010	20.2	55.1	410	14/11/2011	20.0	59.7
43	12/11/2010	20.0	55.2	411	15/11/2011	20.5	60.8
44	13/11/2010	19.2	60.6	412	16/11/2011	20.7	62.7
45	14/11/2010	19.8	59.1	413	17/11/2011	20.2	58.3
46	15/11/2010	19.1	56.9	414	18/11/2011	20.7	53.5
47	16/11/2010	19.2	58.1	415	19/11/2011	20.5	45.9
48	17/11/2010	20.0	57.7	416	20/11/2011	18.9	48.2
49	18/11/2010	20.5	53.0	417	21/11/2011	18.5	57.3
50	19/11/2010	20.1	45.0	418	22/11/2011	20.1	62.7
51	20/11/2010	18.3	46.8	419	23/11/2011	18.9	60.4
52	21/11/2010	17.8	55.1	420	24/11/2011	20.3	56.1
53	22/11/2010	19.2	59.7	421	25/11/2011	17.5	56.7
54	23/11/2010	18.3	58.7	422	26/11/2011	18.1	53.5
55	24/11/2010	19.1	52.9	423	27/11/2011	19.3	53.5
56	25/11/2010	17.1	55.6	424	28/11/2011	19.9	60.5
57	26/11/2010	17.9	53.0	425	29/11/2011	21.7	55.7
58	27/11/2010	18.0	50.0	426	30/11/2011	19.8	49.9
59	28/11/2010	18.4	56.1	427	01/12/2011	17.4	50.5
60	29/11/2010	21.1	54.1	428	02/12/2011	18.8	49.1
61	30/11/2010	20.4	51.5	429	03/12/2011	20.5	47.2
62	01/12/2010	18.3	53.2	430	04/12/2011	20.1	43.7
63	02/12/2010	19.0	49.6	431	05/12/2011	18.5	46.0
64	03/12/2010	19.3	44.5	432	06/12/2011	20.8	53.8
65	04/12/2010	19.2	41.6	433	07/12/2011	18.0	47.3
66	05/12/2010	18.2	45.1	434	08/12/2011	19.0	44.9
67	06/12/2010	19.0	49.3	435	09/12/2011	19.4	46.1
68	07/12/2010	17.9	46.8	436	10/12/2011	20.6	51.6
69	08/12/2010	18.1	42.8	437	11/12/2011	19.8	47.4
70	09/12/2010	18.8	44.7	438	12/12/2011	20.0	49.3
71	10/12/2010	19.5	48.7	439	13/12/2011	17.9	60.7
72	11/12/2010	19.4	46.4	440	14/12/2011	21.8	57.7
73	12/12/2010	19.8	48.8	441	15/12/2011	20.3	56.8
74	13/12/2010	16.7	56.8	442	16/12/2011	19.9	45.3
75	14/12/2010	20.2	53.4	443	17/12/2011	18.7	38.9
76	15/12/2010	19.8	55.2	444	18/12/2011	18.7	50.2
77	16/12/2010	20.5	46.7	445	19/12/2011	19.1	47.9
78	17/12/2010	19.7	40.9	446	20/12/2011	17.4	49.9
79	18/12/2010	18.9	50.7	447	21/12/2011	17.0	52.2
80	19/12/2010	19.7	49.4	448	22/12/2011	16.7	60.7
81	20/12/2010	18.3	52.5	449	23/12/2011	19.6	54.7
82	21/12/2010	17.2	52.8	450	24/12/2011	19.7	45.8

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
83	22/12/2010	15.8	57.2	451	25/12/2011	21.3	51.1
84	23/12/2010	18.6	52.1	452	26/12/2011	17.6	51.7
85	24/12/2010	19.3	44.9	453	27/12/2011	19.0	49.2
86	25/12/2010	19.6	46.9	454	28/12/2011	19.8	42.3
87	26/12/2010	17.5	51.2	455	29/12/2011	19.7	50.5
88	27/12/2010	18.1	46.9	456	30/12/2011	17.1	56.6
89	28/12/2010	19.2	41.1	457	31/12/2011	17.4	53.3
90	29/12/2010	18.6	47.7	458	01/01/2012	20.1	58.4
91	30/12/2010	16.7	55.5	459	02/01/2012	15.4	69.9
92	31/12/2010	17.2	52.8	460	03/01/2012	17.8	59.0
93	01/01/2011	18.8	54.6	461	04/01/2012	19.0	58.0
94	02/01/2011	14.3	64.8	462	05/01/2012	18.0	59.3
95	03/01/2011	17.6	58.4	463	06/01/2012	18.7	56.3
96	04/01/2011	18.8	57.5	464	07/01/2012	18.1	61.7
97	05/01/2011	17.7	58.1	465	08/01/2012	17.8	59.5
98	06/01/2011	18.2	54.7	466	09/01/2012	21.6	51.0
99	07/01/2011	17.4	59.3	467	10/01/2012	21.9	49.1
100	08/01/2011	17.0	56.7	468	11/01/2012	21.2	50.1
101	09/01/2011	21.0	49.5	469	12/01/2012	20.6	50.3
102	10/01/2011	20.6	46.3	470	13/01/2012	22.6	54.1
103	11/01/2011	20.8	49.1	471	14/01/2012	23.3	52.7
104	12/01/2011	20.4	49.8	472	15/01/2012	21.9	48.3
105	13/01/2011	21.1	50.6	473	16/01/2012	20.1	47.9
106	14/01/2011	21.6	48.8	474	17/01/2012	16.0	38.6
107	15/01/2011	21.2	46.9	475	18/01/2012	14.9	43.0
108	16/01/2011	20.7	49.4	476	19/01/2012	18.5	46.7
109	17/01/2011	16.8	40.6	477	20/01/2012	17.0	49.2
110	18/01/2011	15.0	43.5	478	21/01/2012	14.7	48.8
111	19/01/2011	17.5	44.1	479	22/01/2012	17.5	58.7
112	20/01/2011	16.2	46.9	480	23/01/2012	17.7	56.5
113	21/01/2011	14.4	47.9	481	24/01/2012	19.4	53.5
114	22/01/2011	16.1	53.8	482	25/01/2012	18.4	48.1
115	23/01/2011	17.5	55.9	483	26/01/2012	19.5	41.9
116	24/01/2011	18.5	50.9	484	27/01/2012	21.4	44.1
117	25/01/2011	17.9	46.7	485	28/01/2012	17.9	64.1
118	26/01/2011	18.4	39.5	486	29/01/2012	19.2	66.9
119	27/01/2011	21.0	43.2	487	30/01/2012	19.1	61.9
120	28/01/2011	17.7	63.5	488	31/01/2012	18.4	56.7
121	29/01/2011	18.0	62.5	489	01/02/2012	18.0	52.8
122	30/01/2011	17.7	57.3	490	02/02/2012	17.7	54.2
123	31/01/2011	17.8	55.1	491	03/02/2012	17.7	58.5

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
124	01/02/2011	18.5	54.4	492	04/02/2012	17.3	59.1
125	02/02/2011	18.7	57.0	493	05/02/2012	17.3	60.4
126	03/02/2011	17.9	59.1	494	06/02/2012	18.9	56.8
127	04/02/2011	17.9	60.9	495	07/02/2012	20.8	60.2
128	05/02/2011	18.2	63.6	496	08/02/2012	21.0	57.4
129	06/02/2011	19.1	57.4	497	09/02/2012	20.2	60.1
130	07/02/2011	19.6	56.8	498	10/02/2012	21.6	64.7
131	08/02/2011	20.0	54.7	499	11/02/2012	20.3	53.7
132	09/02/2011	19.8	59.0	500	12/02/2012	20.4	48.9
133	10/02/2011	19.8	59.4	501	13/02/2012	20.1	47.3
134	11/02/2011	20.1	53.1	502	14/02/2012	20.5	52.0
135	12/02/2011	19.4	46.6	503	15/02/2012	19.9	52.7
136	13/02/2011	19.5	45.9	504	16/02/2012	19.3	55.5
137	14/02/2011	19.3	49.0	505	17/02/2012	18.8	63.5
138	15/02/2011	19.5	51.7	506	18/02/2012	20.8	63.3
139	16/02/2011	19.1	54.9	507	19/02/2012	20.4	56.2
140	17/02/2011	17.6	59.4	508	20/02/2012	21.0	50.2
141	18/02/2011	19.2	58.6	509	21/02/2012	21.0	51.1
142	19/02/2011	20.2	55.7	510	22/02/2012	21.3	50.3
143	20/02/2011	20.8	49.7	511	23/02/2012	21.5	50.1
144	21/02/2011	20.6	50.1	512	24/02/2012	22.1	52.8
145	22/02/2011	20.7	48.9	513	25/02/2012	20.9	47.5
146	23/02/2011	20.6	48.2	514	26/02/2012	20.3	38.3
147	24/02/2011	21.0	50.3	515	27/02/2012	21.2	29.9
148	25/02/2011	20.3	46.1	516	28/02/2012	22.6	36.4
149	26/02/2011	19.1	36.2	517	29/02/2012	21.2	32.7
150	27/02/2011	20.8	29.3	518	01/03/2012	22.8	44.4
151	28/02/2011	22.4	36.0	519	02/03/2012	21.9	33.4
152	01/03/2011	19.8	30.5	520	03/03/2012	18.5	43.3
153	02/03/2011	21.1	41.2	521	04/03/2012	19.0	41.5
154	03/03/2011	21.3	32.5	522	05/03/2012	19.0	39.2
155	04/03/2011	19.1	44.6	523	06/03/2012	20.1	53.4
156	05/03/2011	20.0	43.7	524	07/03/2012	21.0	38.8
157	06/03/2011	19.2	39.6	525	08/03/2012	20.3	46.6
158	07/03/2011	19.0	50.4	526	09/03/2012	22.6	34.7
159	08/03/2011	20.0	36.9	527	10/03/2012	20.0	43.5
160	09/03/2011	19.9	45.7	528	11/03/2012	21.1	37.9
161	10/03/2011	20.8	31.8	529	12/03/2012	20.5	38.9
162	11/03/2011	19.8	43.1	530	13/03/2012	23.3	44.6
163	12/03/2011	20.1	36.1	531	14/03/2012	20.0	34.4
164	13/03/2011	19.9	37.8	532	15/03/2012	18.4	45.1

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
165	14/03/2011	21.9	42.1	533	16/03/2012	23.5	35.0
166	15/03/2011	19.6	33.7	534	17/03/2012	23.9	47.7
167	16/03/2011	18.3	44.7	535	18/03/2012	19.8	31.1
168	17/03/2011	21.9	32.7	536	19/03/2012	23.4	47.1
169	18/03/2011	22.2	44.1	537	20/03/2012	22.5	41.4
170	19/03/2011	19.2	30.2	538	21/03/2012	23.6	44.0
171	20/03/2011	24.2	48.6	539	22/03/2012	24.9	43.2
172	21/03/2011	23.7	43.6	540	23/03/2012	22.7	42.7
173	22/03/2011	23.8	44.4	541	24/03/2012	25.0	46.9
174	23/03/2011	25.7	44.5	542	25/03/2012	28.8	42.7
175	24/03/2011	23.9	45.0	543	26/03/2012	29.3	57.0
176	25/03/2011	25.3	47.4	544	27/03/2012	28.6	43.7
177	26/03/2011	27.2	40.3	545	28/03/2012	27.4	64.2
178	27/03/2011	27.9	54.3	546	29/03/2012	26.7	58.3
179	28/03/2011	28.1	42.8	547	30/03/2012	26.5	54.9
180	29/03/2011	25.2	58.9	548	31/03/2012	29.0	47.2
181	30/03/2011	26.4	57.7	549	01/04/2012	26.1	51.6
182	31/03/2011	25.3	52.3	550	02/04/2012	25.1	55.7
183	01/04/2011	28.2	45.8	551	03/04/2012	26.3	55.3
184	02/04/2011	24.6	48.6	552	04/04/2012	28.3	54.9
185	03/04/2011	24.6	54.6	553	05/04/2012	28.1	57.2
186	04/04/2011	26.0	54.7	554	06/04/2012	25.0	54.9
187	05/04/2011	26.4	51.3	555	07/04/2012	24.7	49.4
188	06/04/2011	26.0	52.9	556	08/04/2012	24.4	43.8
189	07/04/2011	24.7	54.4	557	09/04/2012	21.3	46.6
190	08/04/2011	24.4	55.6	558	10/04/2012	21.3	52.2
191	09/04/2011	25.5	51.9	559	11/04/2012	22.5	52.4
192	10/04/2011	25.5	52.7	560	12/04/2012	22.9	49.1
193	11/04/2011	23.0	54.0	561	13/04/2012	22.6	50.6
194	12/04/2011	23.7	52.4	562	14/04/2012	21.4	52.0
195	13/04/2011	25.7	51.1	563	15/04/2012	21.1	53.2
196	14/04/2011	25.5	45.8	564	16/04/2012	22.1	49.7
197	15/04/2011	25.1	45.6	565	17/04/2012	22.1	50.5
198	16/04/2011	23.7	44.8	566	18/04/2012	19.9	51.7
199	17/04/2011	23.2	40.1	567	19/04/2012	20.5	50.1
200	18/04/2011	23.8	36.6	568	20/04/2012	22.3	48.9
201	19/04/2011	24.0	34.6	569	21/04/2012	22.1	43.8
202	20/04/2011	25.6	33.4	570	22/04/2012	21.8	43.6
203	21/04/2011	26.6	33.6	571	23/04/2012	20.6	42.9
204	22/04/2011	27.5	36.5	572	24/04/2012	20.1	38.4
205	23/04/2011	28.3	39.9	573	25/04/2012	20.6	35.0

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
206	24/04/2011	27.3	43.4	574	26/04/2012	20.8	33.1
207	25/04/2011	28.0	43.8	575	27/04/2012	22.2	32.0
208	26/04/2011	27.4	43.3	576	28/04/2012	23.0	32.2
209	27/04/2011	27.6	36.6	577	29/04/2012	23.8	34.9
210	28/04/2011	27.6	38.1	578	30/04/2012	24.5	38.2
211	29/04/2011	25.9	43.3	579	01/05/2012	23.6	41.5
212	30/04/2011	26.7	44.7	580	02/05/2012	24.3	41.9
213	01/05/2011	27.3	48.1	581	03/05/2012	23.7	41.4
214	02/05/2011	26.3	50.7	582	04/05/2012	23.9	35.1
215	03/05/2011	25.6	52.3	583	05/05/2012	23.9	36.4
216	04/05/2011	25.8	51.2	584	06/05/2012	22.4	41.4
217	05/05/2011	26.2	53.3	585	07/05/2012	23.1	42.7
218	06/05/2011	24.3	63.4	586	08/05/2012	23.6	46.0
219	07/05/2011	24.1	57.1	587	09/05/2012	22.8	48.5
220	08/05/2011	25.6	53.9	588	10/05/2012	22.2	50.1
221	09/05/2011	25.9	52.6	589	11/05/2012	22.3	49.0
222	10/05/2011	25.5	51.4	590	12/05/2012	22.7	51.0
223	11/05/2011	25.8	52.7	591	13/05/2012	21.1	56.1
224	12/05/2011	26.1	46.9	592	14/05/2012	20.8	54.6
225	13/05/2011	25.7	40.6	593	15/05/2012	22.2	51.6
226	14/05/2011	24.1	44.6	594	16/05/2012	22.5	50.3
227	15/05/2011	24.2	46.7	595	17/05/2012	21.1	55.5
228	16/05/2011	26.2	41.5	596	18/05/2012	22.3	50.5
229	17/05/2011	26.9	45.0	597	19/05/2012	22.6	44.9
230	18/05/2011	27.2	46.2	598	20/05/2012	22.2	38.8
231	19/05/2011	27.2	41.4	599	21/05/2012	20.9	42.7
232	20/05/2011	28.0	47.3	600	22/05/2012	21.0	44.7
233	21/05/2011	27.3	43.9	601	23/05/2012	22.7	39.8
234	22/05/2011	27.7	38.6	602	24/05/2012	23.3	43.0
235	23/05/2011	27.1	37.2	603	25/05/2012	23.5	44.2
236	24/05/2011	24.9	43.3	604	26/05/2012	23.6	39.6
237	25/05/2011	28.6	40.0	605	27/05/2012	24.2	45.2
238	26/05/2011	26.0	49.6	606	28/05/2012	23.6	42.0
239	27/05/2011	25.0	48.5	607	29/05/2012	24.0	37.0
240	28/05/2011	25.7	49.8	608	30/05/2012	23.4	29.3
241	29/05/2011	25.6	51.5	609	31/05/2012	23.9	32.9
242	30/05/2011	26.5	48.7	610	01/06/2012	24.8	38.3
243	31/05/2011	26.5	48.2	611	02/06/2012	22.5	47.4
244	01/06/2011	26.3	50.7	612	03/06/2012	21.6	51.0
245	02/06/2011	26.7	48.0	613	04/06/2012	22.3	47.7
246	03/06/2011	27.6	41.3	614	05/06/2012	22.1	49.3

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
247	04/06/2011	27.0	37.5	615	06/06/2012	23.0	46.6
248	05/06/2011	27.6	44.8	616	07/06/2012	22.9	46.2
249	06/06/2011	26.5	46.0	617	08/06/2012	22.8	48.5
250	07/06/2011	25.6	48.8	618	09/06/2012	23.1	55.9
251	08/06/2011	25.9	50.4	619	10/06/2012	23.9	59.5
252	09/06/2011	24.4	57.4	620	11/06/2012	23.3	55.9
253	10/06/2011	22.5	63.0	621	12/06/2012	23.9	52.8
254	11/06/2011	24.3	58.6	622	13/06/2012	23.0	54.0
255	12/06/2011	24.1	57.1	623	14/06/2012	22.2	56.7
256	13/06/2011	25.6	53.9	624	15/06/2012	22.5	58.2
257	14/06/2011	25.9	52.6	625	16/06/2012	21.1	54.9
258	15/06/2011	24.4	58.0	626	17/06/2012	19.5	60.3
259	16/06/2011	25.8	52.7	627	18/06/2012	19.5	66.7
260	17/06/2011	26.1	46.9	628	19/06/2012	20.6	63.8
261	18/06/2011	25.7	40.6	629	20/06/2012	18.9	66.5
262	19/06/2011	24.1	44.6	630	21/06/2012	18.6	69.3
263	20/06/2011	24.2	46.7	631	22/06/2012	19.2	69.2
264	21/06/2011	26.2	41.5	632	23/06/2012	20.2	70.1
265	22/06/2011	22.7	54.6	633	24/06/2012	20.2	72.9
266	23/06/2011	23.4	63.5	634	25/06/2012	19.8	70.0
267	24/06/2011	23.0	64.6	635	26/06/2012	20.5	63.1
268	25/06/2011	22.8	68.2	636	27/06/2012	20.8	66.0
269	26/06/2011	23.9	73.0	637	28/06/2012	21.2	66.7
270	27/06/2011	22.4	73.7	638	29/06/2012	19.7	71.4
271	28/06/2011	20.9	74.5	639	30/06/2012	20.2	70.4
272	29/06/2011	22.1	66.2	640	01/07/2012	19.9	71.4
273	30/06/2011	21.6	75.8	641	02/07/2012	19.7	70.0
274	01/07/2011	23.6	74.4	642	03/07/2012	20.7	69.8
275	02/07/2011	23.9	72.7	643	04/07/2012	19.4	70.6
276	03/07/2011	24.3	73.8	644	05/07/2012	18.1	71.3
277	04/07/2011	22.6	73.2	645	06/07/2012	19.1	72.4
278	05/07/2011	25.5	69.6	646	07/07/2012	18.7	72.6
279	06/07/2011	26.3	67.7	647	08/07/2012	20.4	71.2
280	07/07/2011	24.1	66.3	648	09/07/2012	20.7	69.5
281	08/07/2011	23.6	67.1	649	10/07/2012	21.1	70.7
282	09/07/2011	23.2	68.3	650	11/07/2012	19.6	70.0
283	10/07/2011	23.6	68.9	651	12/07/2012	22.0	66.6
284	11/07/2011	23.4	69.3	652	13/07/2012	22.7	64.8
285	12/07/2011	23.9	69.8	653	14/07/2012	20.9	63.5
286	13/07/2011	24.8	67.0	654	15/07/2012	20.4	64.2
287	14/07/2011	23.8	69.9	655	16/07/2012	20.1	65.4

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
288	15/07/2011	26.0	70.7	656	17/07/2012	20.5	65.9
289	16/07/2011	24.3	70.2	657	18/07/2012	20.2	66.3
290	17/07/2011	23.9	70.5	658	19/07/2012	20.7	66.8
291	18/07/2011	24.7	70.6	659	20/07/2012	21.5	66.9
292	19/07/2011	25.0	70.3	660	21/07/2012	20.6	66.9
293	20/07/2011	25.4	69.9	661	22/07/2012	22.5	67.6
294	21/07/2011	26.0	69.4	662	23/07/2012	21.0	67.2
295	22/07/2011	26.3	71.7	663	24/07/2012	20.7	67.5
296	23/07/2011	24.1	76.3	664	25/07/2012	21.4	67.6
297	24/07/2011	23.6	73.1	665	26/07/2012	21.7	67.3
298	25/07/2011	23.2	68.3	666	27/07/2012	22.0	66.9
299	26/07/2011	26.5	64.8	667	28/07/2012	22.5	66.4
300	27/07/2011	26.5	64.5	668	29/07/2012	22.4	65.5
301	28/07/2011	25.6	64.9	669	30/07/2012	22.9	64.9
302	29/07/2011	25.1	66.5	670	31/07/2012	23.4	63.6
303	30/07/2011	24.7	67.6	671	01/08/2012	23.0	62.5
304	31/07/2011	20.3	67.4	672	02/08/2012	22.9	62.0
305	01/08/2011	22.0	69.8	673	03/08/2012	22.9	61.7
306	02/08/2011	20.5	66.8	674	04/08/2012	22.1	62.1
307	03/08/2011	21.9	67.0	675	05/08/2012	21.7	63.6
308	04/08/2011	20.8	70.2	676	06/08/2012	21.4	64.7
309	05/08/2011	19.2	69.9	677	07/08/2012	22.4	65.5
310	06/08/2011	18.0	74.6	678	08/08/2012	23.7	64.4
311	07/08/2011	20.1	65.9	679	09/08/2012	23.0	63.4
312	08/08/2011	21.3	67.9	680	10/08/2012	20.8	63.3
313	09/08/2011	22.0	61.6	681	11/08/2012	19.2	63.9
314	10/08/2011	22.1	61.4	682	12/08/2012	18.0	65.0
315	11/08/2011	18.5	84.1	683	13/08/2012	18.8	68.4
316	12/08/2011	19.0	79.0	684	14/08/2012	21.5	65.8
317	13/08/2011	19.0	79.2	685	15/08/2012	22.0	68.0
318	14/08/2011	20.3	71.5	686	16/08/2012	21.5	65.9
319	15/08/2011	21.0	64.8	687	17/08/2012	19.9	70.2
320	16/08/2011	21.0	64.6	688	18/08/2012	17.4	69.3
321	17/08/2011	18.3	73.5	689	19/08/2012	20.1	72.8
322	18/08/2011	17.2	78.5	690	20/08/2012	19.4	75.7
323	19/08/2011	19.1	69.3	691	21/08/2012	20.0	73.0
324	20/08/2011	18.8	73.5	692	22/08/2012	18.6	77.1
325	21/08/2011	18.9	78.3	693	23/08/2012	18.6	71.3
326	22/08/2011	18.2	75.6	694	24/08/2012	21.8	73.7
327	23/08/2011	18.5	80.5	695	25/08/2012	21.6	72.1
328	24/08/2011	20.3	78.2	696	26/08/2012	22.8	72.1

Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %	Lectura	Fecha	Temperatura promedio diaria °C	Humedad Relativa promedio diaria %
329	25/08/2011	20.0	76.0	697	27/08/2012	19.8	68.9
330	26/08/2011	22.1	70.0	698	28/08/2012	22.2	61.5
331	27/08/2011	20.5	71.1	699	29/08/2012	23.2	61.5
332	28/08/2011	23.4	64.8	700	30/08/2012	21.3	62.8
333	29/08/2011	23.5	62.1	701	31/08/2012	21.2	62.6
334	30/08/2011	22.0	64.8	702	01/09/2012	18.3	71.2
335	31/08/2011	22.3	65.9	703	02/09/2012	22.8	72.9
336	01/09/2011	18.5	71.9	704	03/09/2012	23.6	66.4
337	02/09/2011	21.6	68.8	705	04/09/2012	22.4	61.3
338	03/09/2011	22.5	63.2	706	05/09/2012	23.5	65.6
339	04/09/2011	21.9	60.1	707	06/09/2012	24.5	58.8
340	05/09/2011	21.6	60.2	708	07/09/2012	24.5	60.5
341	06/09/2011	24.2	58.2	709	08/09/2012	22.3	64.7
342	07/09/2011	23.4	57.6	710	09/09/2012	22.4	68.8
343	08/09/2011	21.7	62.8	711	10/09/2012	20.0	70.9
344	09/09/2011	21.2	64.9	712	11/09/2012	20.1	69.6
345	10/09/2011	19.6	69.5	713	12/09/2012	20.2	76.6
346	11/09/2011	19.9	68.9	714	13/09/2012	22.5	69.0
347	12/09/2011	18.9	71.6	715	14/09/2012	20.8	65.3
348	13/09/2011	20.9	63.9	716	15/09/2012	20.6	70.6
349	14/09/2011	20.6	64.7	717	16/09/2012	22.4	66.9
350	15/09/2011	20.4	69.9	718	17/09/2012	21.2	72.3
351	16/09/2011	21.9	65.6	719	18/09/2012	23.3	67.6
352	17/09/2011	20.6	70.2	720	19/09/2012	21.4	62.7
353	18/09/2011	22.4	65.0	721	20/09/2012	21.1	59.4
354	19/09/2011	20.4	59.7	722	21/09/2012	21.5	64.7
355	20/09/2011	20.5	57.6	723	22/09/2012	24.5	60.7
356	21/09/2011	20.2	61.1	724	23/09/2012	21.3	67.2
357	22/09/2011	24.0	59.5	725	24/09/2012	21.5	70.3
358	23/09/2011	21.1	66.5	726	25/09/2012	22.0	71.8
359	24/09/2011	20.1	65.7	727	26/09/2012	21.1	71.5
360	25/09/2011	20.3	66.5	728	27/09/2012	21.8	69.3
361	26/09/2011	20.4	69.4	729	28/09/2012	20.4	66.8
362	27/09/2011	22.5	71.5	730	29/09/2012	23.2	65.9
363	28/09/2011	21.4	70.3	731	30/09/2012	21.0	77.5
364	29/09/2011	23.4	66.6	732	01/10/2012	22.7	67.5
365	30/09/2011	19.8	73.1	733	02/10/2012	21.1	60.5
366	01/10/2011	21.6	64.3	734	03/10/2012	21.7	60.6
367	02/10/2011	20.7	59.3	735	04/10/2012	19.7	52.9
368	03/10/2011	19.9	55.6	736	05/10/2012	21.0	57.9