65
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

VIABILIDAD DE SEMILLAS DE ESPECIES FORESTALES BAJO REFRIGERACION

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

INGENIERO AGRICOLA

P R E S E N T A :

JOSE INES ZARAGOZA CONTRERAS

A s e s o r

Ing. Silvestre Espino Tejeda Ing. Francisco Camacho Morfin

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México 1986

INDICE

Págs.

INDICE DE CUADROS

INDICE DE FIGURAS

Págs.

RESUMEN

Se estudia la pérdida de viabilidad de semillas ortodoxas de especies forestales mexicanas almacenadas en refrigeración en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales durante períodos entre 1.5 y 22 años, por el método de "análisis probit"; se consideraron 5 especies de Abies, 1 de Cupressus, 1 de Liquidambar y 10 de Pinus.

La aplicación del análisis probit implica sustituír los porcentajes de germinación obtenidos en pruebas rutinarias de germinación por el probit (desviante normal estandarizado + 5), usando los meses transcurridos en almacenamiento como variable independiente, y realizár un análisis de regresión por mínimos cuadrados, con lo que se obtiene una ecuación de predicción de la que se puede despejar el tiempo medio de duración de la viabilidad y la desviación típica de este. Lo anterior permitió determinar que bajo las condiciones de temperatura media de 4.12°C y contenido de humedad entre 5 y 12%, se pueden conservar semillas en envases de hojalata por períodos superiores a los 5 años; aunque dicho período está en función del porcentaje de germinación al inicio del almacenamiento. El valor práctico de la información obtenida es que el período de almacenamiento en que se tiene un porcentaje de germinación mayor al 5% de viabilidad, se puede obtener sustituyendo en la ecuación de la recta la pendiente determinada para cada especie y el probit del porcentaje de germinación que se obtiene al inicio del almacenamiento.

I. INTRODUCCION

Un problema de gran importancia que presentan los programas de reforestación masiva, es la poca disponibilidad de semillas de plantas forestales, que debido a la alternancia natural en la producción de semillas, es necesario colectar en grandes cantidades, en los años en que se producen con abundancia (años semilleros) y en localidades seleccionadas (áreas semilleras). Estas semillas colectadas, tienen que conservarse para asegurar un abastecimiento continuo durante los años en que es escasa y poder sostener la producción de plantas. Por lo anterior, se requiere de espacios de almacenamiento que presenten condiciones adecuadas para el mantenimiento de la viabilidad de las semillas y además, es necesario saber cuanto tiempo pueden permanecer viables, como antecedente que permita la programación de la producción de plantas.

En el antiguo Banco de Germoplasma del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales (INIF)*, es una práctica

* Por disposición oficial publicada en el Diario Oficial del 23 de agosto de 1985, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales se fusiona a los demás Institutos dependientes de la SARH, pasando a formar parte del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

común, conservar las semillas envasadas en latas metálicas en condiciones de refrigeración, con temperaturas cercanas a cero grados centígrados y un contenido de humedad de las semillas menor al 12%. Con el fin de evaluar el porcentaje de viabilidad de las semillas almacenadas, a partir de 1960 se han hecho pruebas de germinación con una periodicidad de más o menos seis meses. Las pruebas de germinación se han realizado en diferentes medios, condiciones ambientales y de manejo de semillas.

Se ha determinado que la viabilidad es distinta intra e interespecificamente, lo cual obedece a las condiciones internas de las semillas y del medio, tanto del almacén, como del medio ambiente anterior a la recolección de las semillas.

Con base en lo anterior, en el presente trabajo se pretende determinar, utilizando los datos existentes en el Laboratorio de Semillas del INIF, la duración de la viabilidad de las semillas de varias especies arbóreas importantes en México; la relevancia de esto, radica en que la duración de la viabilidad de las semillas, es diferente en especies forestales e incluso desconocida para muchas de ellas, sobre todo mexicanas.

De esta manera, en este estudio se plantean los siguientes objetivos:

1. Determinar la posibilidad del empleo del "análisis probit" para describir el comportamiento de pérdida de viabilidad en semillas de especies forestales conservadas en refrigeración, con un contenido de humedad de aproximadamente 12% y temperatura cercana a 0°C.

2. Identificar las especies que presentan semillas con viabilidad corta y semillas con viabilidad larga.

3. Determinar el período en el que la semilla de las especies consideradas en el trabajo, alcanzan el 5% de viabilidad (tiempo en que se justifica la conservación de un lote de semillas en almacenamiento).

4. Definir si las condiciones de almacenamiento en el Laboratorio de Semillas del INIF son adecuadas para que las especies forestales conservadas, puedan mantener su viabilidad por largos períodos.

En base a lo anterior, a continuación se exponen las hipótesis a probar en el desarrollo del estudio:

1. Las condiciones constantes de temperatura aproximadas a 0°C y contenido de humedad menor del 12% con que se conservan las semillas de especies forestales en refrigeración en el Laboratorio de Semillas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, permite mantener la viabilidad de las semillas por períodos mayores a 10 años.

2. El factor que más incide en la disminución de la viabilidad, es el fenómeno del envejecimiento dado por el paso natural del tiempo.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. DEFINICIONES BASICAS

Generalmente, la base para la producción de plantas de casi todas las especies forestales y de la mayoría de los cultivos, es la semilla; la cual por presentar características diferenciales en su forma, estructura y composición según la especie, cada una requiere de un manejo diferente (Patiño, et al, 1983).

Se sabe que las semillas de especies de zonas templadas presentan latencia de diversos tipos así como larga viabilidad, probablemente como una forma de adaptación que les permite a las semillas sobrevivir a épocas desfavorables, durante las cuales, las condiciones para la germinación y el desarrollo de las plántulas no son las óptimas; en contraste, muchos aunque no todos los árboles de la selva alta perennifolia, tienen semillas de vialidad corta e incluso ausencia de latencia (Moreno, 1973 y 1976).

La latencia, es una condición necesaria para la supervivencia de las semillas (Roberts, 1979) y se define como el estado de quietud o mínima actividad metabólica en

que se encuentra el embrión; se han diferenciado dos clases de latencia:

a) La latencia primaria o constitutiva, que se caracteriza por el deterioro en el desarrollo del embrión, provocado por propiedades intrínsecas de la semilla, como las barreras a la penetración de sustancias, la existencia de bloqueos metabólicos o la presencia de inhibidores.

b) La latencia secundaria o exógena, que es aquella impuesta a la semilla por condiciones ambientales desfavorables a la germinación (Ginzo, 1979).

La viabilidad es un término completamente asociado al término "longevidad de la semilla", ya que éste último indica el tiempo durante el cual la semilla es capaz de germinar. La viabilidad puede definirse como la potencialidad que tiene una semilla para germinar. Con fines prácticos para el manejo de semillas, el término viabilidad se refiere a la proporción, expresada en porcentaje, de semillas de un lote que son capaces de germinar (Patiño, et al, 1983).

Ellis y Roberts (1981) definen la longevidad de una semi-

lla, como el período de tiempo que transcurre hasta la muerte de la semilla; estos autores indican que el período de viabilidad puede describirse como el tiempo transcurrido desde la cosecha hasta que cierta proporción de una población o lote, muere; la viabilidad se expresa en porcentaje de germinación y es una medida de la proporción de semillas vivas en una población.

Las condiciones físicas y el estado fisiológico de las semillas, influyen ampliamente su viabilidad; semillas que tubieron alguna irregularidad, como roturas o fueron golpeadas, se deterioran más rápidamente que las semillas intactas (Copeland, 1976).

La viabilidad al término del período de almacenamiento es el resultado de: a) la viabilidad inicial en la cosecha, determinada por factores de producción y métodos de manejo y b) la tasa a la que se efectúa el envejecimiento. Este último término puede definirse como el incremento en la probabilidad de muerte de un individuo por unidad de tiempo, debido al aumento de la edad y a la deterioración de muchos sistemas de tejidos internos (Ellis y Roberts, 1981).

Un término muy asociado a la viabilidad, es el vigor, el

cual se define como la condición de la semilla que facilita la germinación rápida y homogenea y que permite la producción uniforme de plantas (Maguire, 1977), o como la condición de una semilla que se encuentra en lo mejor de su potencial, cuando todos los factores que pueden reducir dicha cualidad se encuentran ausentes y aquellos que constituyen una buena semilla están presentes en la proporción adecuada, permitiendo un funcionamiento satisfactorio en un rango máximo de condiciones ambientales (Heydecker, 1972).

2.2. MECANISMOS DE PERDIDA DE VIABILIDAD

Aún no se sabe con certeza cuales son los factores críticos y los mecanismos por los que ocurre la pérdida de viabilidad, aunque es un hecho que casi todo el sistema interno de la semilla está involucrado: muchas enzimas y todos los organelos son afectados.

Cualesquiera que sean las causas de la pérdida de la viabilidad, se ha determinado que el proceso de deterioración de la semilla se inicia desde antes del almacenamiento, probablemente tan pronto como se forma en el campo, pues tal deterioración se encuentra precedida por ta-

sas bajas de germinación y de crecimiento de plántulas (Patiño, et al, 1983)

Roberts (1979) señala la existencia de dos teorías respecto a la pérdida de viabilidad:

a) Teorías Extrinsecas. Suponen que la pérdida de viabilidad se debe a la acción de agentes que se originan fuera de la semilla, como hongos, radiaciones ionizantes, variaciones climáticas (temperatura y humedad relativa), entre otros.

b) Teorías Intrinsecas. Sugieren que la deterioración es el resultado de la naturaleza interna de la semilla y de inevitables cambios moleculares que ocurren en su interior, como son la acumulación de toxinas, metabolitos mutagénicos desnaturalizados por una variación de la temperatura y contenido de humedad, descomposición de los lípidos de la membrana celular, entre otros.

Las razones prácticas del conocimiento de los cambios celulares es importante por el hecho de que el daño a cromosomas y las mutaciones genéticas se relacionan con la pérdida de viabilidad y tiene implicaciones importan-

tes en los métodos y procedimientos adoptados en el almacenamiento de semillas (Roberts, 1972; Ellis y Roberts, citados por Roberts, 1979).

Roberts y Osborne (citados por Roberts, 1979) concluyeron que el factor más importante que lleva a la pérdida de viabilidad, puede ser la pérdida de actividad de las enzimas de transferencia involucradas en la ligadura de la fenil-alanina-RNA_t al sitio aminoacil del ribosoma durante la síntesis de proteinas.

Durante largos períodos de almacenamiento, en la semilla se producen desórdenes cromosómicos y genéticos, aunque no se han determinado los mecanismos por medio de los cuales ocurre el daño nuclear que provocan reducción de la viabilidad (Roberts, 1972). Con el tiempo, en los tejidos se tiene mayor filtración, lo que indica daños en la membrana, las deshidrogenasas tienen menor actividad y declina la habilidad para incorporar leucina, uracilo y fosfato en el metabolismo. Las semillas que muestran estos síntomas son poco vigorosas y la tasa de desarrollo de las plántulas es menor, además se aumenta la producción de plántulas anormales (Roberts, 1981).

Examinando la ultraestructura y fisiología de semillas almacenadas, se han señalado daños citológicos que incluyen daños aromosómicos y a organelos intracelulares. El daño a los cromosomas y ribosomas es síntoma de la degradación general de ácidos nucléicos y el daño de otros organelos indica la degradación de la membrana al observarse incrementos en la filtración de los constituyentes celulares y pérdida de selectividad iónica. Las deshidrogenasas y enzimas específicas involucradas en el proceso respiratorio declinan, mientras que las enzimas hidrolíticas tienden a incrementar su actividad, reflejando un posible deterioro de la membrana (Maguire, 1977).

En los últimos años se han hecho intentos por determinar la relación de los reguladores del crecimiento y varios procesos metabólicos, con el proceso de germinación, desarrollo de la semilla, viabilidad y maduración en almacenamiento. La estructura, composición y aspectos fisiológicos de la semilla también han sido evaluados por los investigadores, con el implemento de nuevas técnicas, como el envejecimiento acelerado para estudiar el deterioro de la semilla (Maguire, 1977).

Basu y Das Gupta; Das Gupta y Basu (citados por Heydecker y Coolbear, 1977) señalan que con tres horas de remojo a granos de trigo después de seis meses de almacenamiento convencional, compensan el daño que podría haber ocurrido después de un año de almacenamiento ininterrumpido. Se evita el deterioro de la germinación de semillas con el remojo en agua simple o agua con sal. Similares resultados se obtuvieron con Corchorus olitorius L. y semillas de arroz. La reactivación del metabolismo se debe a la imbibición y ayuda a eliminar los factores que producen la pérdida de la viabilidad (Heydecker y Coolbear, 1977).

Garcia*(1985) menciona que en un análisis del DNA proveniente de semillas almacenadas bajo condiciones que reducen su vigor y su viabilidad, encontró que todas las semillas tienen fraccionado el DNA; probablemente debido a cortes en cadena sencilla y consecuentemente se encuentra disminuida su capacidad sintética.

* Conferencia presentada en la Primera Reunión Nacional sobre la Problemática de Postcosecha de Granos y Semillas, Irapuato, Gto., Octubre de 1985.

2.3. FACTORES QUE AFECTAN LA VIABILIDAD DE LAS SEMILLAS

Son muchos los factores que influyen en la pérdida de viabilidad de las semillas en cualquier medio de almacenamiento, pero la mayoría de los investigadores que han estudiado este fenómeno (Ginzo, 1979; Hartman y Kester, 1980; Maguire, 1977; Nellist, 1981; Roberts, 1972 y 1979; Wang, 1974; entre otros) consideran como principales los siguientes:

a) Calidad inicial de la semilla.

b) Temperatura de almacenamiento.

c) Contenido de humedad de la semilla.

d) Humedad relativa del almacén

e) Presión de oxígeno.

f) Método de almacenamiento.

g) Madurez de la semilla antes del almacenamiento.

h) Método de extracción de la semilla del cono y su procesado.

i) Condiciones previas al almacenamiento.

j) Tipo de semilla.

k) Daño por plagas y enfermedades.

Para Tamari (1978), la temperatura de almacenamiento y el contenido de humedad de las semillas son los factores más importantes que controlan la longevidad de las semillas de cultivos y coníferas y afirma que el conteniso de humedad es el factor determinante en la longevidad de todos los tipos de semilla.

Se ha determinado que la viabilidad es distinta intra e interespecificamente, debido a las condiciones internas de la semilla y del ambiente, tanto del almacén, como del medio anterior a la colecta; las condiciones previas al almacenamiento no se pueden controlar, por lo que -aunque se conoce su influencia- son pocos los investigadores que lo consideran en sus estudios de determinación de viabilidad; no así los factores que se dan en el interior de un almacén, los cuales son controlables (temperatura, humedad relativa, contenido de humedad de la semilla, presión de oxígeno, cambio de atmósfera con al-

gún gas como bióxido de carbono o nitrógeno, entre otros).

2.3.1. CONTENIDO DE HUMEDAD DE SEMILLAS Y HUMEDAD RELATIVA DEL ALMACEN

El contenido de humedad, es la cantidad de agua presente en la semilla y se expresa como porcentaje de peso seco o de peso fresco de las semillas. Es uno de los factores más importantes para mantener la viabilidad de las semillas que se almacenan, particularmente para aquellas que se conservan por largos períodos y a temperaturas superiores al punto de congelación (Patiño, et al, 1983).

Harrington (citado por Wang, 1974) reportó que cuando el contenido de humedad está entre 5 y 14%, la vida de la semilla en almacenamiento se duplica por cada unidad de porcentaje de contenido de humedad que se reduzca, o por cada 5°C de reducción en la temperatura de almacenamiento.

El contenido de humedad óptimo para un almacenamiento adecuado varía con la especie, temperatura y método de almacenamiento. En semillas de árboles que toleran secado parcial (la mayoría de las coníferas), el contenido de humedad podría ser menor del 8% (Wang, 1974), sin

embargo, Harrington (citado por Wang, 1974) consideró que el almacenamiento de las semillas, cuyo contenido de humedad es menor del 5%, puede aumentar su velocidad de envejecimiento debido a la auto-oxidación.

Las fluctuaciones en el contenido de humedad de las semillas en almacenamiento se debe al abrir y cerrar del almacén o de los envases, dando como resultado la deterioración de la germinación de las semillas (Patiño, et al, 1983; Wang, 1974), especialmente cuando las fluctuaciones en el contenido de humedad de las semillas ocurre alrededor de los niveles críticos para su conservación. Una buena práctica para almacenar semillas, es que aquellas que no toleran secado, sean almacenadas con un porcentaje de humedad superior al punto crítico y las que toleran secado, se almacenen con un porcentaje inferior al punto crítico. Además, es conveniente evitar abrir el envase en atmósfera húmeda o destaparlo por períodos muy cortos (Jones, Wakely; citados por Wang, 1974); aunque lo anterior resulta lógico, parece contradecir la definición de punto crítico, que es "el valor mínimo de contenido de humedad en el cual la semilla permanece viva y es capaz de germinar una vez rehidratada y en condiciones adecuadas de temperatura" lo cual además varía con

la especie (Patiño, et al, 1983). No obstante, por comodidad, este término se seguirá empleando en el resto del trabajo.

El punto crítico de humedad para semillas de algunos árboles es de 1 a 2% para abedul (Betula spp.); de 4.5 a 8% para Picea excelsa Link.; de 6.5 para Pinus resinosa Ait.; de 7% para Pinus estrobus L.; de 9 a 11% para Abies grandis (Dougl.) Lindl.; de 9.5% para Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco; de 10% para Acer saccharum Marsh. y de 12 a 15% para Prunus serotina Enrh. (Wang. 1974).

Wang (1974) menciona que, para mantenerse viables las semillas de muchas latifoliadas, como el encino (Quercus spp.), el haya (Fagus silvatica), castañas (Castanea spp.), nogal (Juglans spp.) y arce (Acer saccharum Marsh.) que no toleran secado requieren de un contenido de humedad elevado (25 a 79%) mientras que el punto crítico para Quercus spp. es de 25 a 40%, y para Quercus robur L. de 40 a 45%.

En general, la pérdida de viabilidad en bellotas almacenadas, es provocada por la deshidratación o la inhibición de la respiración, debido a un inadecuado abaste-

cimiento de oxígeno bajo condiciones anaeróbicas (Korneeva, Korstian, Yamamoto; citados por Wang, 1974).

El contenido de humedad de las semillas en varias temperaturas y regímenes de humedad, está determinada por su composición química, especialmente por el contenido de grasas, así como por la naturaleza y consistencia de sus cubiertas (Wang, 1974).

Las semillas de Pinus palustris Mill., consideradas como las más dificiles de almacenar, han logrado conservarse por un período de 10 años con un porcentaje de viabilidad de 83%, mediante el secado de sus semillas a un contenido de humedad de 86% y una temperatura de almacenamiento de 0°F (-17.6°C), habiéndose obtenido una germinación inicial de 86% (Barnett, 1969).

2.3.2. TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO

La temperatura es, además del contenido de humedad de las semillas, uno de los factores externos que influyen en la viabilidad de las semillas, aunque Copeland (1976) señala que los efectos de dichos factores son independientes, lo cierto es que existe gran interrelación en-

tre ellos, como lo demuestran la mayoría de los trabajos revisados. El primero en enunciar este hecho fue Harton en 1961 (citado por Edwards, 1980), quién señaló que, a determinados niveles de humedad, el deterioro de las semillas es más rápida al elevarse la temperatura del almacén a un nivel superior al tolerado, y al disminuir la temperatura éste se reduce, pero al contrario, si el contenido de humedad es bajo, la temperatura tiene poco efecto en el comportamiento del deterioro de las semillas.

Por lo general, las semillas de muchas coníferas y latifoliadas pueden conservarse a temperaturas cercanas a 0°C, con excepción de aquellas que poseen endospermo con gran cantidad de aceites y grasas, para las que se requieren temperaturas cercanas a -15°C; para otras especies, la temperatura crítica a la que deben conservarse, está arriba de 5°C (Patiño, et al, 1983).

Temperaturas menores a la de congelación, cuando menos hasta de -18°C, aumentan el período de almacenamiento de la mayoría de las clases de semillas, pero su contenido de humedad debe conservarse en equilibrio con una humedad relativa de 70% o de lo contrario el agua libre en

las semillas puede congelarse y ocasionar daños (Hartman y Kester, 1980).

Copeland (1976) reporta que la mayoría de las semillas pueden almacenarse por 10 años o más tiempo con humedad relativa de 50% o menor y temperatura de 5°C o inferior. Harrington (citado por Copeland, 1976) establece que la suma del porcentaje de humedad relativa más la temperatura en grados Farenheit no debe exceder de 100 para un almacenamiento seguro, y sugiere que para tener buenos resultados en el almacenamiento la humedad relativa no debe exceder de 60% a 21°C y de menos de 70%, con temperaturas de 4 a 10°C.

Edwards (1980) por su parte señala que para un adecuado almacenamiento por 2 ó 3 años, se requieren temperaturas bajas (-3 a -10°C), y para un tiempo de 4 a 5 años o más, se requieren temperaturas muy bajas (-15 a -17°C), pero para obtener dichas temperaturas se requiere de un equipo muy costoso, por lo que la alternativa es reducir el contenido de humedad entre 5 y 8% (en base a peso fresco) el cual puede obtenerse más facil y económicamente.

Temperaturas inferiores a -18°C y contenido de humedad de las semillas de 2 a 7% son considerados como las me-

jores para un buen almacenamiento en recipientes impermeables a la humedad (Maguire, 1977). Kretschmer, citado por Roberts (1979) conservó almacenadas semillas de lechuga satisfactoriamente por 4 años a -18°C y un bajo contenido de humedad; y semillas de col han sido almacenadas, sin deterioro significativo por 23 años a -20°C (Reitan, citado por Roberts, 1979).

Earlier y Barton (citados por Wang, 1974), establecieron que semillas de Abies grandis (Dougl.) Lindl., Abies procera Rehd., Abies magnifica var. shastensis Lemm., Pinus echinata Mill., Pinus taeda L., Pinus resinosa Ast., Pinus ponderosa, Picea excelsa Link. y Picea glauca (Moench.) Voss., retienen su viabilidad por 5 años a 5°C y por 10 años o más en una temperatura de -4°C cuando se almacenan en envases sellados y con reducido contenido de humedad. El almacenamiento a temperaturas inferiores a 0°C pueden utilizarse únicamente en semillas de árboles que toleran secado, mientras que las semillas que requieren elevado contenido de humedad para mantener su viabilidad no toleran temperaturas abajo de los cero grados.

2.3.3. COMPOSICION DE LA ATMOSFERA DE ALMACENAMIENTO

Se ha probado que mezclas de gases diferentes a la típica de la atmósfera: 20% de oxígeno, 0.03% de dióxido de carbono y aproximadamente 80% de nitrógeno; tienen un efecto positivo en el incremento del período de viabilidad; algunas de las técnicas más usadas son la creación del vacio, aumento en el contenido de dióxido de carbono, nitrógeno o argón, o la disminución de la concentración de oxígeno (Copeland, 1976; Hartman y Kester, 1980; Roberts, 1979). Para poder controlar el cambio gaseoso, se requiere de cámaras especiales y envases impermeables con cierre hermético; sin embargo, este sistema tiene la desventaja de que la composición gaseosa de la atmósfera se altera con el tiempo a causa de la respiración de la semilla y de la microflora asociada (Roberts, 1972). Roberts y Abdalla (citados por Roberts, 1979) observaron que semillas de haba almacenadas a 18.4% de contenido de humedad en envases sellados a 25°C, tuvieron un incremento en el contenido de dióxido de carbono de 0.03 a más de 12% y un descenso en el contenido de oxígeno de 21 a 1.4%.

Sin embargo, existe un consenso general que afirma que

el incremento de oxígeno en las semillas ortodoxas, reduce el período de viabilidad (Copeland, 1976; Roberts, 1972), y que el incremento en la concentración de dióxido de carbono, nitrógeno y argón, permite que se mejore la viabilidad, como lo demuestra Harrison (citado por Roberts, 1972), quién experimentó con 10 variedades de semillas de lechuga, almacenadas por 3 años a aproximadamente 18°C y 6% de contenido de humedad en envases sellados, y observó que las semillas conservadas en oxígeno mantuvieron una viabilidad media de 8%, mientras que las almacenadas con una atmósfera normal tenían un 57%; por otra parte, en nitrógeno, dióxido de carbono y argón, la viabilidad conservada fue del 78% y en almacenamiento al vacio, fue de 77%. En semillas de cebolla almacenadas 4 años a 8% de contenido de humedad y 18°C, la viabilidad fue: en oxígeno, de 3%; en atmósfera normal, de 36%; en dióxido de carbono, nitrógeno y argón, fue de 80, 75 y 79% respectivamente (no hubo diferencia significativa); el tratamiento al vacío, tuvo una viabilidad del 51%.

Harris (citado por Roberts, 1972) experimentando con semillas de lechuga y cebolla, conservadas en almacenamiento sellado en dióxido de carbono, logró que se conservaran viables por 18 años. Veinte variedades de lechuga

almacenadas a 5-6% de contenido de humedad en aire sellado, mostraron un período medio de viabilidad de aproximadamente 8 años, mientras que almacenadas en dióxido de carbono fue mayor de 9 años. Semillas de cebolla con 8.5% de contenido de humedad le correspondieron períodos medios de viabilidad de cerca de 4 años para semillas conservadas en aire sellado y de 5 para semillas selladas en dióxido de carbono.

2.4. CLASIFICACION DE SEMILLAS POR LA DURACION DE LA VIABILIDAD

En el año de 1908, Ewart (citado por Roberts, 1979) clasificó a las semillas de acuerdo a su longevidad -bajo las mejores condiciones de almacenamiento conocidas hasta entonces- en tres clases biológicas:

a) Microbióticas. Semillas cuya longevidad no excede de 3 años.

b) Mesobióticas. Semillas cuya longevidad es de 3 a 15 años.

c) Macrobióticas. Semillas cuya longevidad oscila entre 15 y más de 100 años.

Aúnque esta clasificación tuvo una aceptación muy amplia, conforme se avanza en el conocimiento sobre las condiciones de almacenamiento, empieza a caer en desuso, ya que las especies se trasladan de clase; como por ejemplo, las semillas de Quercus, las cuales normalmente no podían almacenarse por más de 6 meses, bajo condiciones especiales pueden conservarse viables por más de 3 años (Patiño, et al, 1983).

Roberts (1979) clasificó a las semillas en ortodoxas y recalcitrantes, tomando en cuenta el patrón de pérdida de viabilidad de las semillas en base a sus requerimientos de contenido de humedad y temperatura en el almacén.

2.4.1. SEMILLAS ORTODOXAS

Las semillas ortodoxas, son aquéllas que pueden almacenarse satisfactoriamente con un contenido de humedad de 5 a 10% y temperatura de 0 a 5°C, para mantenerse viables almacenadas hasta 5 años, y si se quiere alargar dicho período, se recomienda que la temperatura se aproxime lo más que se pueda a -18°C.

La International Board for Plant Genetic Resources recomienda que este tipo de semillas se almacenen a tempera-

turas cercanas a -20°C con un contenido de humedad cercano a 5%. Bajo estas condiciones se ha establecido que las semillas de buen número de cultivos pueden conservar una alta viabilidad por décadas y hasta por siglos (Roberts, 1979).

Hanelt (citado por Roberts, 1979) considera que las semillas mesobióticas y macrobióticas quedan incluídas dentro de este grupo y comprende a la mayoría de las especies de zonas templadas y algunas especies tropicales; entre las que se encuentran las coníferas (Pinus, Cupressus, Juniperus, etc.), flores y cereales, entre otros.

Entre las especies tropicales, las especies de Citrus y probablemente Coffea que habían venido clasificándose como semillas recalcitrantes, realmente tienen un comportamiento ortodoxo, pues tienen un período de viabilidad superior a todas las otras especies (Roberts, 1981).

2.4.2. SEMILLAS RECALCITRANTES

Las semillas recalcitrantes se caracterizan en que para su almacenamiento, requieren de un contenido de humedad superior al punto crítico, el cual varía con la especie, además de que algunas semillas son muy sensibles a las

bajas temperaturas, la cual debe estar por encima del punto de congelación, debido a sus altos contenidos de humedad.

Mientras que la escala para conservar especies que no son susceptibles a daños por enfriamiento es de -1 a 3°C, las especies tropicales sensibles al enfriamiento, deben almacenarse por encima de 10°C.

En este grupo se incluyen todas las semillas que, utilizando las técnicas existentes, únicamente pueden almacenarse por períodos cortos, como lo son muchas especies tropicales, las cuales son muy sensibles a la deshidratación atmosférica, y la mayoría de ellas requieren para su conservación de niveles de humedad relativamente elevados. También pertenecen a este grupo algunas especies de regiones templadas, como las latifoliadas que tienen semillas grandes, con cubiertas duras (Tamari, 1978).

El factor crítico de las semillas recalcitrantes, es la retención de un elevado contenido de humedad; así pues, en las semillas recalcitrantes, aún bajo condiciones de almacenamiento húmedo, su longevidad es relativamente corta y varía de pocas semanas a unos cuantos meses, dependiendo de la especie (Chin, 1981).

Es obvio que el grupo de semillas recalcitrantes de plantas latifoliadas, requieren de humedad relativa elevada y estable para mantener su germinación entre buenos años productores de semillas; afortunadamente, las especies de este grupo, producen buenas cosechas en cortos intervalos y no requieren de un almacenamiento mayor de 3 a 4 años (Wang, 1974).

Un ejemplo típico de semillas recalcitrantes, lo tenemos en el árbol del caucho (Hevea brasiliensis), el cual en un mes, puede perder hasta un 45% de su viabilidad. En condiciones normales de los bosques tropicales o plantaciones, las semillas germinan o mueren en 3-6 semanas, por lo que es primordial que las semillas frescas sean almacenadas inmediatamente a su colecta, en condiciones húmedas, a más o menos 7°C, además de conservarse en un medio bién aereado, el cual podría ser aserrin húmedo (Chin, 1981).

Aunque algunas veces el detrimento no se observa por la disminución del porcentaje de germinación, puede hacerse aparente por la incidencia de plántulas anormales y por la disminución en el vigor de emergencia de las plántulas (Chin, 1981).

Todas las semillas, sean ortodoxas o recalcitrantes, mueren a temperaturas inferiores a -20°C si su contenido de humedad es elevado, debido a la formación de hielo dentro de la semilla y el consecuente daño por congelamiento. A 0°C, el contenido de humedad crítico puede ser cercano a 20%; a -20°C, este puede ser de 15% o un poco superior, mientras que a -196°C, el contenido crítico puede ser de 13%. Evidentemente, si en el almacenamiento de semillas ortodoxas se usa una temperatura muy baja, es esencial asegurar que el contenido de humedad se reduzca a un nivel suficientemente bajo como para evitar dagos por congelación (Roberts, 1981).

Por su parte, en las semillas recalcitrantes no puede reducirse el contenido de humedad hasta el 20%, sin ocasionar daños (King y Roberts, 1980), por lo que no es posible almacenarlas a temperaturas menores a 0°C (Roberts, 1981).

2.5. METODO DE ALMACENAMIENTO

Básicamente existen dos tipos de almacenamiento para semillas de árboles: en seco y en húmedo (Patiño, et al, 1983; Wang, 1974).

El almacenamiento en seco se utiliza para almacenamiento por largos períodos y en él se emplean temperaturas controladas en camaras especiales, generalmente con sistemas de refrigeración; el rango de temperaturas varía con la especie, siendo la más utilizada entre 0 y 6°C, las semillas ortodoxas generalmente se almacenan en estas condiciones -contenido de humedad y temperatura bajas- (Patiño, et al, 1983).

Barton (citado por Wang, 1974) concluye que la mayoría de las semillas almacenadas con bajos contenidos de humedad y temperatura, mantienen su viabilidad por períodos mayores cuando se conservan en envases sellados, ya que se tiene un mínimo de actividad metabólica por la baja concentración de oxígeno.

El almacenamiento húmedo es apropiado para períodos cortos únicamente, y se emplea principalmente para semillas recalcitrantes que requieren de un alto contenido de humedad (Patiño, et al, 1983).

El almacenamiento húmedo también es adecuado para conservar grandes cantidades de semillas a granel de plantas latifoliadas. En Europa, es común mezclar las semillas con arena húmeda, musgo u otro material poroso. Las prin-

cipales consideraciones para este tipo de almacenamiento son: 1) buena ventilación y temperatura superior a la de congelación; 2) protección contra fuertes fríos, calentamiento y roedores, y 3) conservación de la humedad y buen drenaje (Wang, 1974).

Se ha intentado modificar la atmósfera de almacenamiento a fín de aumentar la longevidad de varias semillas de vida corta; los procedimientos para cambiar la atmósfera son: crear un vacío, aumentar el contenido de dióxido de carbono o reemplazar el oxígeno por nitrógeno u otros gases (Hartman y Kester, 1980).

En atmósferas con mayor concentración de dióxido de carbono (CO_2), se reportan incrementos en la viabilidad de semillas de lechuga, cebolla y trébol rojo (Copeland, 1976).

2.6. ENVASES PARA ALMACENAMIENTO

Para el almacenamiento de semillas de árboles, se usan envases de tipos y materiales muy variados, entre los que destacan los frascos de vidrio, cilindros y cajas de cartón, cilindros y cubetas de plástico, latas metálicas, bolsas de papel, manta, polietileno, lona, y envases de

algún otro material (Patiño, et al, 1983; Wang, 1974).

Los envases de vidrio son los más usados y son considerados como los mejores para conservación de semillas, ya que al ser impermeables, permiten un control más eficiente del contenido de humedad; sin embargo, tienen grandes limitaciones, como el de romperse facilmente, son de difícil manejo y tienen capacidad limitada (Wang, 1974).

Por su parte, las latas metálicas y las cubetas de plástico son de fácil manejo, tienen buena capidad y son ligeros e irrompibles, aunque en el caso de las latas metálicas, se oxidan relativamente rápido y sufren daños por su uso contínuo; los envases de plástico y polietileno, no se consideran adecuados para almacenar semillas que requieren bajo contenido de humedad, ya que no son completamente impermeables; sin embargo, éstos y los frascos de vidrio son los envases más utilizados para conservar semillas forestales con bajo contenido de humedad, pues permiten un cierre hermético (Owen, citado por Wang, 1974).

Magini y Cappelli, citados por Edwards (1980) consideran que el almacenamiento en envases sellados e impermeables tienen las siguientes ventajas:

a) Se elimina la necesidad de aire acondicionado y de todo el equipo necesario.

b) Proporciona un mejor mantenimiento del contenido de humedad por largos períodos.

c) Se tiene protección por pérdidas ocasionadas por insectos u otros organismos patógenos.

d) Se elimina el efecto del mal funcionamiento del equipo de refrigeración.

Por su parte Meyer y Anderson (citados por Wang, 1974), señalan que las semillas de plantas latifoliadas (recalcitrantes) pueden sufrir daños como consecuencia del almacenamiento prolongado en envases impermeables, al provocarse respiración anaeróbica y acumulación de compuestos tóxicos en las células de las semillas. Las bellotas de Quercus ruber almacenadas sin la aereación necesaria perdieron su viabilidad por la aparición de amilasas y la descomposición y oxidación en los cotiledones y embrión.

2.7. DAÑOS POR HONGOS, BACTERIAS, INSECTOS, ACAROS Y ROEDORES

Los cinco principales tipos de organismos que a menudo

tienen efectos adversos en la viabilidad y vigor de semillas almacenadas por su alta asociación, son los hongos, bacterias, ácaros, insectos y roedores; y su efecto es tan directo que, como en el caso de los roedores, puede darse una completa pérdida de la semilla (Maguire, 1977; Roberts, 1972).

Aunque los agentes extrinsecos influyen en la pérdida de viabilidad, raramente son la única causa. En el caso de los hongos, todas las semillas portan esporas latentes y se ha demostrado que en especies de Rhizopus, Botrytis, Aspergillus, Mucor, Trichoderma y Trichthecium, al incrementarse el contenido de humedad de las semillas a un nivel de 16 a 18% en el caso de cereales, se presentó una severa disminución en la germinación en unos cuantos meses (Maguire, 1977; Patiño, et al, 1983).

La mayoría de las esporas permanecen latentes a una humedad relativa inferior a 75% y un contenido de humedad de las semillas de 10 a 15%, pero con un ligero incremento los hongos se vuelven activos. Para prevenir el desarrollo de hongos se requiere de una temperatura apropiada (menor de 7°C) y un contenido de humedad de las semillas de 5 a 10%, ya que la aplicación de fungicidas no es to-

talmente efectiva y pueden causar daños cuando se tienen elevados contenidos de humedad y no se toman las precauciones adecuadas en su uso (Copeland, 1976; Maguire, 1977; Patiño, et al, 1983; Roberts, 1979).

La invasión de hongos es la mayor causa de degradación de lípidos a ácidos grasos (Copeland, 1976).

El ataque de bacterias durante el almacenamiento de las semillas es muy raro, ya que la mayoría de las especies de bacterias requieren una humedad relativa mayor del 20%, la cual no se tiene en semillas almacenadas (Patiño, et al, 1983).

Los artrópodos pueden destruir a las semillas sólo en circunstancias especiales; sin embargo, esto no es obvio para semillas ortodoxas bajo las condiciones de almacenamiento requeridas (Roberts, 1979); sólo en semillas de especies tropicales se ha detectado la presencia de ácaros, principalmente de la especie Tyrophagus putrescentia, los que dificultan principalmente la realización de los análisis de germinación (Patiño, et al, 1983).

Puesto que la actividad de los roedores no depende de la temperatura y contenido de humedad, estos se clasifican

en una categoría diferente a los anteriores organismos, y para su control se propone la construcción de almacenes a prueba de roedores, la utilización de trampas y cebos envenenados y la fumigación del almacen (Roberts, 1972).

2.8. DETERMINACION DEL PATRON DE PERDIDA DE LA VIABILIDAD

Existe marcada variación en el período de viabilidad en los individuos de una población de semillas homocigóticas almacenadas bajo condiciones ambientales constantes. Dicha variación normalmente se estima con pruebas de germinación, en que generalmente se emplean 400 semillas repartidas en 4 repeticiones de 100 semillas cada una y por lo regular se realizan en un tiempo de 28 días (Roberts, 1972).

En estudios de almacenamiento de semillas bajo condiciones constantes, la pérdida de viabilidad de una población de semillas tiene una curva de supervivencia de forma sigmoide (figura 1), resultante de la distribución del porcentaje de viabilidad en el tiempo, la cual se describe por una distribución normal acumulativa de pendiente negativa (Roberts, 1972). Es decir, que el porcentaje de germinación en la población tiende a decaer según la in-

en una categoría diferente a los anteriores organismos, y para su control se propone la construcción de almacenes a prueba de roedores, la utilización de trampas y cebos envenenados y la fumigación del almacen (Roberts, 1972).

2.8. DETERMINACION DEL PATRON DE PERDIDA DE LA VIABILIDAD

Existe marcada variación en el período de viabilidad en los individuos de una población de semillas homocigóticas almacenadas bajo condiciones ambientales constantes. Dicha variación normalmente se estima con pruebas de germinación, en que generalmente se emplean 400 semillas repartidas en 4 repeticiones de 100 semillas cada una y por lo regular se realizan en un tiempo de 28 días (Roberts, 1972).

En estudios de almacenamiento de semillas bajo condiciones constantes, la pérdida de viabilidad de una población de semillas tiene una curva de supervivencia de forma sigmoide (figura 1), resultante de la distribución del porcentaje de viabilidad en el tiempo, la cual se describe por una distribución normal acumulativa de pendiente negativa (Roberts, 1972). Es decir, que el porcentaje de germinación en la población tiende a decaer según la in-

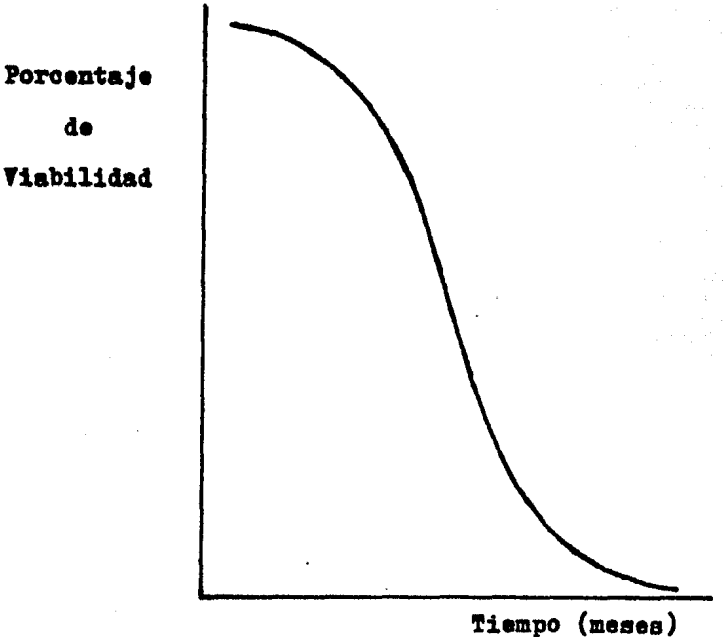

Figura 1. Curva de la Distribución Normal Acumulativa Negativa.

tegral normal de la probabilidad, descrita por la ecuación (Nellist, 1981):

$$G = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{X = \frac{\bar{t} - t}{\sigma}} \exp\left(-1/2X^2\right) dX$$

La distribución normal acumulativa negativa se convierte en una recta, si los valores del porcentaje de germina-

ción se transforman a probit (Bliss, 1970; Li, 1977; Roberts, 1972), que es el valor del eje "Y" y corresponde a una proporción acumulada en una normal estandard (media igual a cero; desviación estandard igual a uno) como se puede ver en la figura 2; a dicho valor se le conoce como desviación o desviante normal estandarizado, por comodidad se le suma 5 para tener únicamente resultados positivos evitando valores negativos, de tal manera que cuando se tiene un valor probit de 5.00, se corresponde a una frecuencia acumulativa del 50% (Kendall y Buckland, 1967; Li, 1977; Infante y Calderón, 1980).

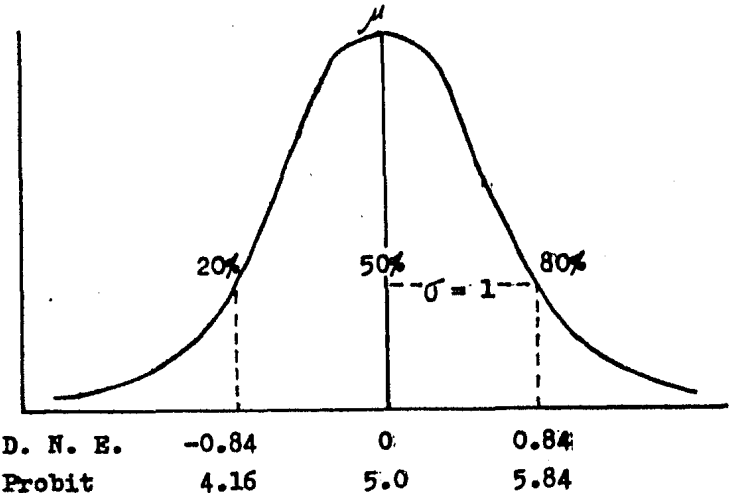

Figura 2. Curva de la distribución normal estandard en la que se señalan algunas equivalencias de áreas abajo de la curva con valores correspondientes al desviante normal estandarizado (DNE) y valores probit.

El método de "análisis probit" es moderadamente sensible a desviaciones de simetría con respecto a la forma de la curva de supervivencia, en contraste con la distribución de frecuencias no normales (Moore, 1982).

Ellis y Roberts (1980a, b) propusieron y evaluaron ecuaciones que permiten la predicción del porcentaje de viabilidad de semillas de una especie en un rango muy ámplio de condiciones de almacenamiento y permiten explicar las variaciones inter e intracultivar en la calidad inicial de la semilla de las especies.

La primera ecuación describe la curva de supervivencia de las semillas, como una distribución normal acumulativa en términos de la viabilidad

$$v = K_i - p(1/\sigma) \qquad (1)$$

donde "v" es el porcentaje de viabilidad probit esperado despues de un período (p) de almacenamiento en días; K_i es una constante específica para cada lote y es una medida de la calida inicial que depende del genotipo, del medio ambiente anterior al almacenamiento y de sus interacciones; y es denominado porcentaje de viabilidad probit al inicio del almacenamiento (tiempo cero de almacenamiento); σ es la desviación estandard de la distribución

de frecuencias de semillas muertas en el tiempo (la desviación estandard realmente es un período de viabilidad medido en días), y se encuentra afectado por las condiciones de almacenamiento, y el gradiente $1/\sigma$ es el recíproco de la desviación estandard de la distribución; para su comprensión, ver la figura 3. Esta primera ecuación es la base para la explicación de la ecuación (2).

Dentro de cada especie, la longevidad es diferente entre cada lote de semillas. Esta diferencia debe ser considerada al aplicar el valor de la constante K_i (Ellis, et al, 1982).

Como se ve el las figuras 4 y 5 para maíz y arroz respectivamente, para una misma especie las diferencias entre los lotes de semillas no afectan los valores de σ en un mismo ambiente de almacenamiento y las diferencias de duración de la viabilidad resultan de diferencias en los valores de K_i. En contraste, las condiciones de almacenamiento no afectan a el K_i, solo afectan a σ de acuerdo con la ecuación

$$\log \sigma = K_E - C_W \log m - C_H t - C_Q t^2 \qquad (2)$$

que estima los valores de σ en un medio con un contenido de humedad "m" (en porcentaje de peso fresco) y tempera-

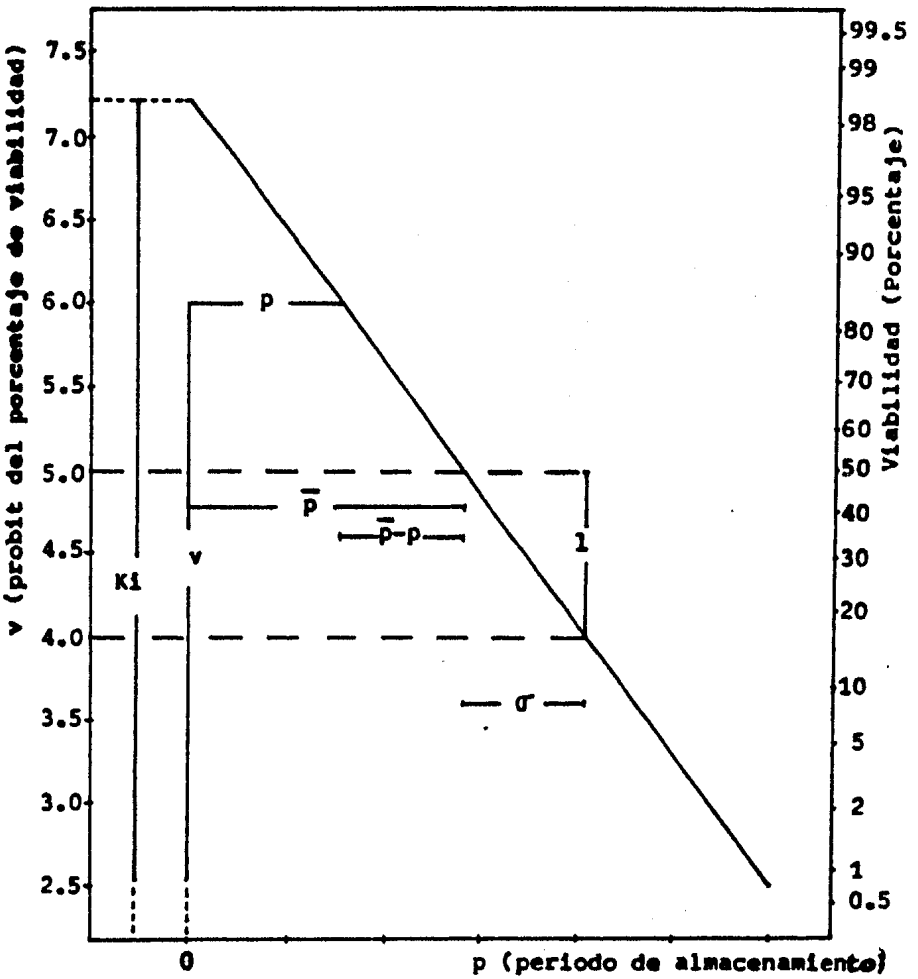

Figura 3. Representación geométrica de los parámetros Ki, $\bar{p}$ y σ de un análisis probit en envejecimiento de semillas.

El diagrama muestra que cuando los porcentajes de viabilidad son transformados a valores probit, la curva de la pérdida de viabilidad tiene una pendiente de $1/\sigma$, donde la σ es la desviación estandard de la distribución de muertes en el tiempo. Consecuentemente la curva de pérdida de viabilidad puede describirse por la ec. $v=K_i-p(1/\sigma)$ (tomado de Ellis y Roberts, 1980a).

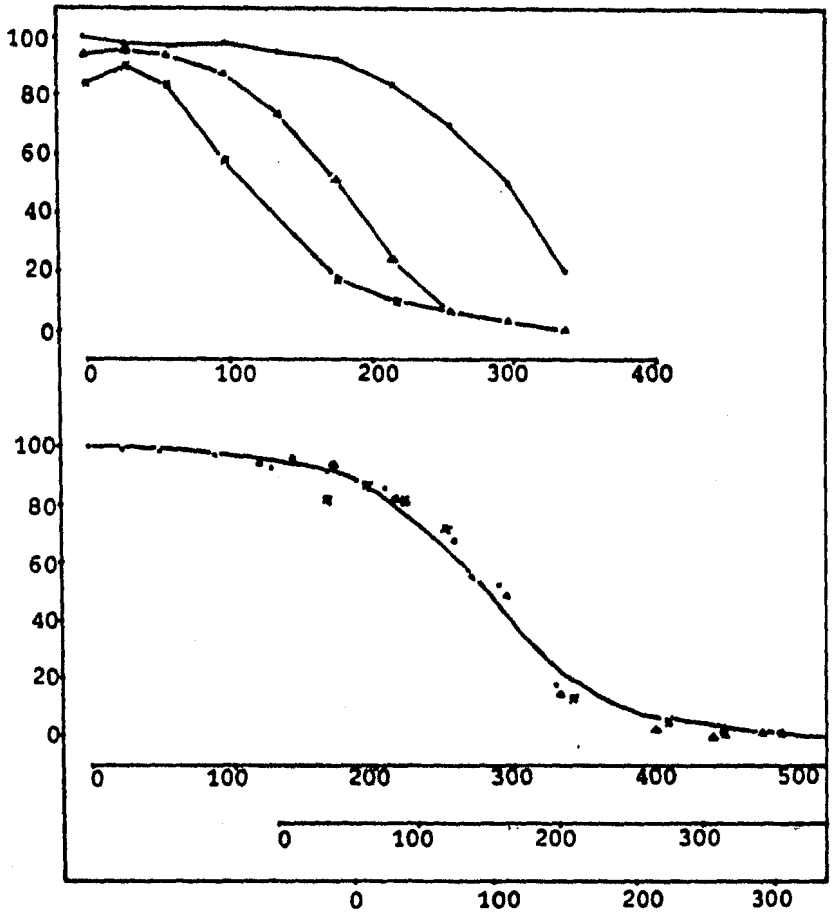

Figura 4. Las curvas de supervivencia de tres cultivares de maíz (Zea mays), almacenadas herméticamente bajo condiciones aproximadas a 40°C y contenido de humedad entre 10.0 y 10.2%.

a) Figura superior. Porcentaje de germinación de los tres cultivares (•,▲,■) graficado contra el periodo de almacenamiento en días.

b) Figura inferior. Como arriba, pero el inicio de almacenamiento se cambio en las abscisas para los dos peores cultivares considerando las diferencias entre los cultivares en el valor de la constante del lote de semillas Ki. El ajuste en una sola curva es una distribución normal acumulativa negativa (tomado de Ellis y Roberts, 1981)

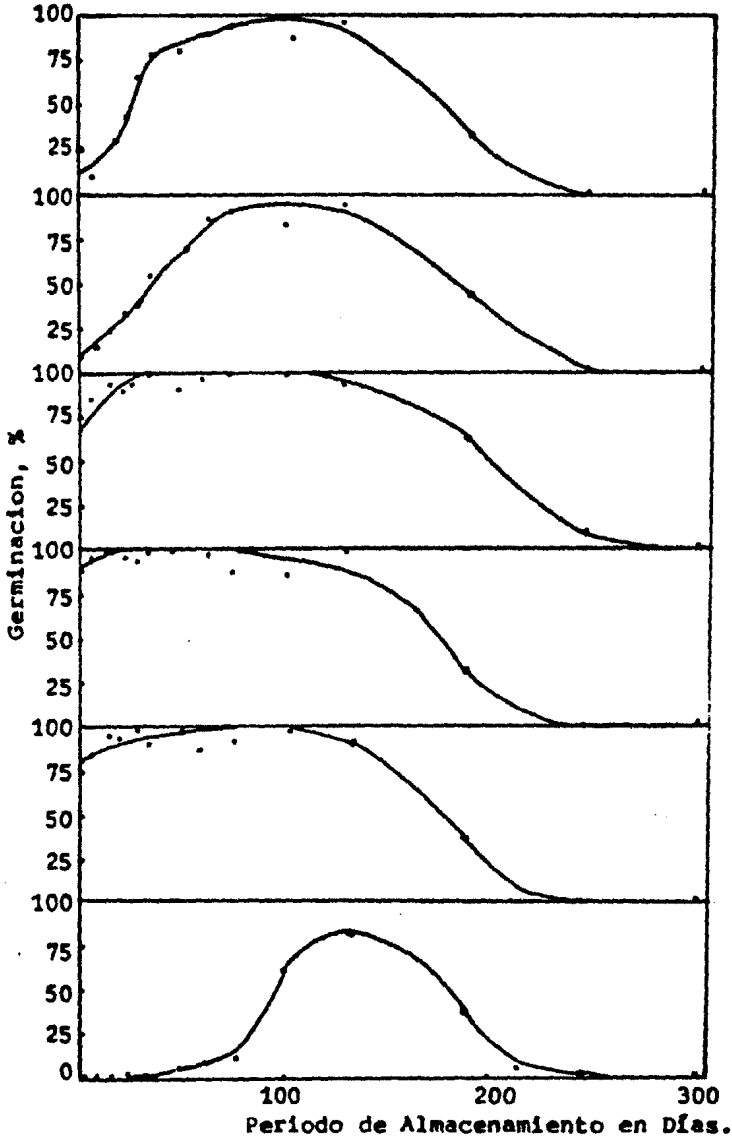

Figura 5. Porcentaje de germinación de seis cultivares de arroz (Oryza spp) durante almacenamiento bajo condiciones idénticas de 27°C con 13.5% de contenido de humedad, contra el tiempo (tomado de Ellis y Roberts, 1981).

tura "t" (en grados centigrados), donde K_E, C_H, C_W y C_Q son constantes con valores comunes a todos los lotes de semillas de una especie y se consideran universales. Estas constantes que se consideran específicas para cada especie, son independientes del genotipo y calidad inicial de la semilla y resultan de las condiciones ambientales anteriores al almacenamiento. Los valores de las cuatro constantes se determinan por análisis de regresión múltiple, de los resultados de un experimento en el que se almacenan semillas en combinaciones de diferentes contenidos de humedad y temperatura. K_E puede ser sustituida por la constante K_{50}, si el log. σ es sustituido por el log. P_{50} en la ecuación (2) (Ellis y Roberts, 1980a, b, 1981; Ellis, et al, 1982).

Mediante la combinación de las ecuaciones (1) y (2) se obtiene una ecuación universal para determinar la viabilidad (Ellis y Roberts, 1980a), la cual puede aplicarse en un amplio rango de condiciones normales de almacenamiento.

$$v = K_i - p/10^{K_E - C_W \log. m - C_H t - C_Q t^2} \qquad (3)$$

Esta última ecuación permite predecir el porcentaje de viabilidad probit, "v", de todos los lotes de semillas

de una especie despues de algún período de almacenamiento (p en días), en varias temperaturas y contenidos de humedad (Ellis y Roberts, 1980b) y su aplicación se hace principalmente en semillas de especies ortodoxas.

El probit de viabilidad inicial, K_i, se puede obtener mediante dos métodos al inicio de almacenamiento de las semillas; el primero y más rápido consiste en la práctica de una prueba de germinación de una muestra tomada del lote al inicio del almacenamiento; esta prueba tiene un error experimental muy grande, por lo que los límites de confianza son muy ámplios. Un método más preciso para la obtención de K_i es la aplicación de una prueba de envejecimiento acelerado, el cual consiste en tomar una muestra del lote de semillas y someterla a un ambiente adverso, que normalmente es de 16% de contenido de humedad en combinación con temperaturas de 40 a 45°C. Se efectúan pruebas sucesivas de germinación en muestras de semillas obtenidas a intervalos constantes y con los resultados se calcula la curva por análisis probit. K_i se obtiene por la intersección de la recta al tiempo cero (Ellis y Roberts, 1980a).

La ecuación (3) se caracteriza por 4 rasgos esenciales de

la fisiología de semillas (Ellis, *et al*, 1982).

a) Aunque la supervivencia de diferentes lotes de semillas o cultivares, dentro de una especie pueden diferenciarse cuando se almacenan bajo idénticas condiciones, las curvas de supervivencia de las semillas son simétricas sigmoides y son descritas por una distribución normal acumulativa negativa que, en una especie dada, tiene la misma desviación estandard en alguna combinación de temperatura y contenido de humedad determinada.

b) Las diferencias relativas entre los lotes de semillas se conservan en todas las condiciones de almacenamiento, porque los efectos relativos en la longevidad por alteración en la temperatura o contenido de humedad, es la misma para todos los lotes.

c) Existe una interrelación logarítmica negativa entre la longevidad de las semillas y el contenido de humedad de las semallas.

d) La longevidad de las semillas se incrementa exponencialmente cuando disminuye la temperatura.

2.9. PERIODO DE ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS FORESTALES

El máximo período de almacenamiento para semillas forestales es quizá uno de los puntos más importantes; en general, se considera un mínimo aceptable de germinación mayor de 0%. Moreno (1976) en uno de sus cuadros pone como límite un 10% de viabilidad, sin que con ello quiera decir que las semillas deban permanecer en almacén hasta que alcancen dicho porcentaje. Por su parte, la International Board for Plant Genetic Resources (citado por Ellis y Roberts, 1981) recomienda que las semillas se conserven en una temperatura de -20°C y un contenido de humedad del 5%, por el tiempo necesario, hasta que se alcance el 5% de viabilidad, a fín de evitar la acumulación de daños genéticos asociados a la pérdida de viabilidad, efectuándose muestreos periódicos, que permitan detectar incrementos en la pérdida de viabilidad o para evitar un rápido agotamiento de el lote.

Hasta el momento, los límites del período de almacenamiento en la conservación de semillas forestales, se han establecido de manera arbitraria y básicamente se considera el tiempo, sin importar el porcentaje de viabilidad que se tenga.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. CARACTERISTICAS DE LA INFORMACION USADA

Todas las colecciones o lotes que se emplearon en el presente trabajo, así como todas las que se tienen en el INIF, son producto de recolecciones efectuadas en poblaciones silvestres y más raramente en árboles cultivados en parques y jardines de la Republica Mexicana; cada lote recibe un número progresivo conforme su ingreso al INIF.

El Banco de Germoplasma del INIF dejó de funcionar en 1981, pero las colecciones se conservaron y se siguen trabajando de la siguiente manera: es práctica común la conservación de semillas envasadas en latas metálicas en condiciones de refrigeración, con temperaturas cercanas a 0°C y contenido de humedad de semillas menor del 12%. Con el fin de evaluar el porcentaje de viabilidad de las semillas almacenadas, desde 1960 se les han practicado pruebas de germinación con una regularidad de más o menos seis meses. Las pruebas de germinación se realizan en diferentes medios y condiciones ambientales y de manejo de semillas.

En términos generales, la secuencia del trabajo se presen-

ta en la figura 6; las pruebas rutinarias completas y de rutina, generalmente se efectúan sobre papel filtro en cajas de petri, dentro de germinadora a 22°C. Las pruebas de germinación generalmente se realizan con 4 repeticiones de 100 semillas cada una, teniendo una duración de 28 días, aunque cuando la germinación es lenta y sobre todo en siembras en tierra, se prolonga la duración de la prueba de una a cuatro semanas más. Cuando no hay germinación, se ensayan diferentes temperaturas, sustratos, fungicidas u otro tipo de tratamientos para estimular la germinación. Durante algunos años, en la década de los sesenta y entre 1979 y 1984, se efectuaron pruebas de germinación en tierra.

Todos estos datos se capturaron en las formas que se presentan en las figuras 7 y 8. Hasta la fecha, se han efectuado en el Laboratorio de Semillas del INIF, aproximadamente 11,000 análisis en más de 40 especies, de los cuales se tienen un número mayor de 800 colecciones o lotes.

Es importante señalar que no todos los análisis son confiables pues no son homogéneos de acuerdo con las tolerancias de ISTA (1976), las cuales se presentan en el cuadro 1 y están fundamentadas en el porcentaje medio de

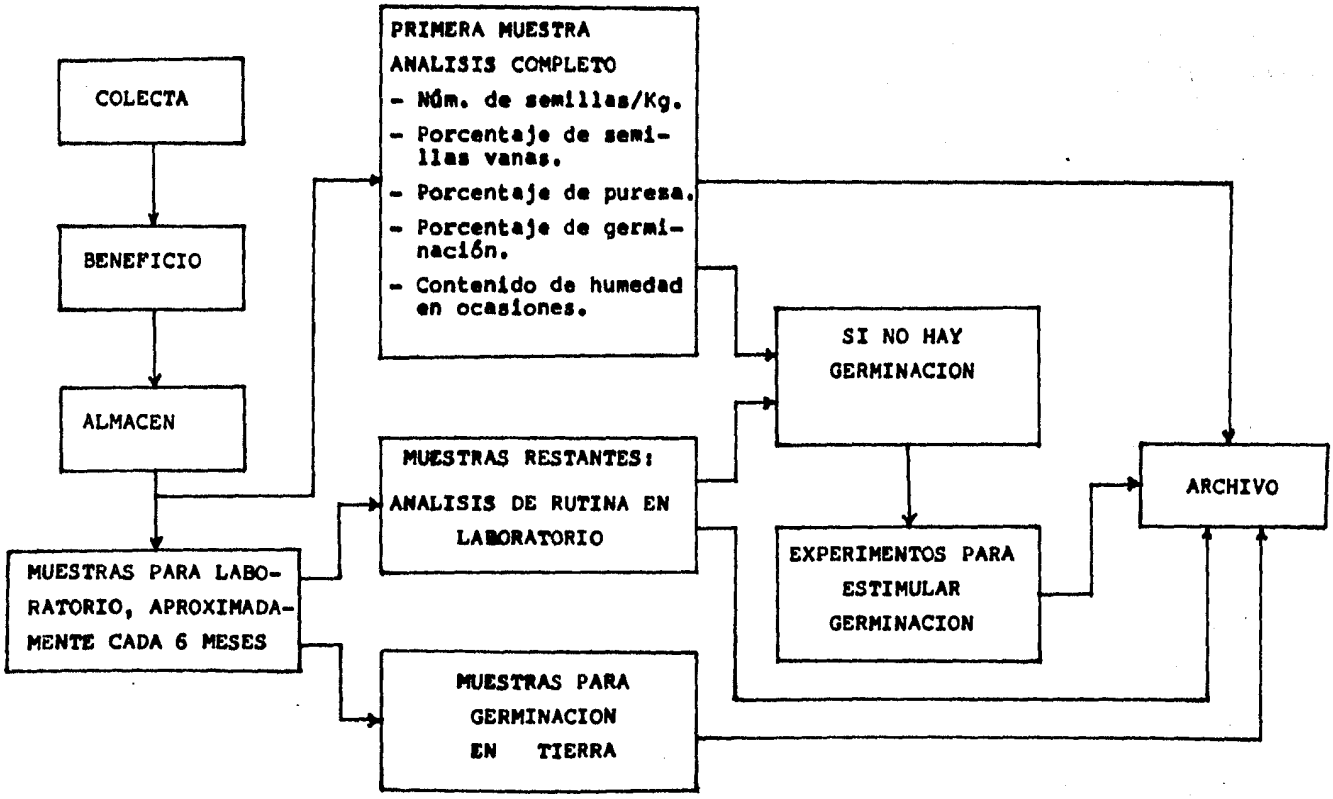

Figura 6. Proceso del manejo de semillas de especies forestales desde su colecta, hasta el archivado de resultados de las pruebas de germinación.

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES
REGISTRO DE CALIDAD
DE SEMILLA

510

Lote Nº 151

Fecha de recep. Feb-ero 65 Especie Abies religiosa
Localidad Sidra de Fuente, Campo Exp. San Juan "Tetla"

Instructivo: Pureza Semilla por Kg. Prueba de germinación
Pretratamiento _____ Entregó _____

Muestra No.	Nº de semillas	Peso de: vaso y semillas	vaso	semillas	Nº de semillas buenas
1	100	7.90	4	3.90	55
2	100	7.90	4	3.90	50
3	100	7.80	"	3.86	53
4	100	7.92	4	3.92	52
5	100	7.50	4	3.50	
6	100	7.33	"	3.33	
7	100	7.94	"	3.94	
8	100	7.78	"	3.78	
9	100	5.39	"	1.39	
Total					210

Fecha: 15-IX-65
Nº de semillas en la muestra: 850
Peso de semillas en la muestra: 32.67
Peso de impurezas: 2.62
Peso total de la muestra: 35.29
Pureza (%): 92
Semillas por Kg. 100% pura: 26017
actual: 24086
Semillas buenas (%): 52

Prueba de germinación

Pretratamiento: Ninguno
Fecha de siembra: 15-11-65 Cajas de petri, papel filtro germinador

Muestra	Nº de semillas	Semillas germinadas en: 7 días	14 días	21 días	28 días	Final de la prueba en días 28	vanas	anormales	no germinadas buenas
5	100	9	16	0	0	25	51	0	24
6	100	15	19	1	0	30	50	0	20
7	100	20	20	2	0	42	51	0	7
8	100	19	12	1	0	32	53	0	15
						129			66

Nota:

% de germinación 32 51 17

Semillas viables por Kg. 100 % pura: 8325
actual: 7207

Laboratorista
Fuentes Tora

Figura 7. Formato para el análisis completo de semillas.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales
Departamento de Mejoramiento de Arboles Forestales
Laboratorio de Semillas

No. de registro del análisis 1329
No. de lote 151

Fecha de recol. _____ Especie Abies religiosa
Localidad _____
Peso de muestra recibida _____ Fecha de recepción _____
Entregó: _____ Recibió _____
Análisis de: Pureza _____ Sem. por Kg. _____ Germin. 51 Corte de testa _____

No. de sub-muestra	No. de semillas	Peso de semillas.	No. de sem. buenas

No. de semillas pesadas _____ % de Pureza _____
Peso de semillas _____ No. de semillas por Kg. Pura _____ Real _____
Peso de impurezas _____ % de sem. buenas (corte de testa) _____
Peso de semillas e impurezas _____
Fecha _____

Pretratamiento: Ninguno
Tratamiento: Caja de pe Tri. papel Filtro Germ 22°C
Fecha de siembra: 12 de Abril de 1974

No. de sub-muestra	No. de semillas	Sem. germinadas en días 7	14	21	28	35	días	días	Total de sem. germ. en 35 días	Semillas vanas	Plántulas a normales	Sem. no germ. buenas.
1	100	0	5	4	2	0			11			
2	100	1	6	4	3	1			15			
3	100	0	6	1	2	0			9			
4	100	0	3	2	1	1			7			

% de Germ. 11
No. de sem. viables por Kg. Pura _____ Real _____

Observaciones durante el:
Primer conteo: _____
Segundo conteo: _____
Tercer conteo: _____
Cuarto conteo: _____
Otras observaciones: _____

Laboratorista: Víctor Manuel López S.

Figura 8. Formato para análisis de rutina de pruebas de germinación de semillas.

Cuadro 1. DESVIACIONES MAXIMAS ADMITIDAS ENTRE REPETICIONES

Este cuadro indica la desviación máxima (es decir, diferencia entre el superior y el inferior), en el porcentaje de germinación entre repeticiones, dejando para variaciones debidas al azar del muestreo solamente un 0.025 de probabilidad. Para hallar la desviación máxima admitida en cada caso, calcular el porcentaje medio de cuatro repeticiones, redondear el número entero más próximo; si es necesario, formar repeticiones de 100 semillas combinandolas con bajas repeticiones de 50 ó 25 semillas que estén situadas próximas entre sí en el aparato de germinación. Localizar la media en la columna 1 ó 2 del cuadro y leer la desviación máxima admitida mirando en la columna 3 (ISTA, 1976).

Media de los porcentajes de germinación		Desviaciones máximas	Media de los porcentajes de germinación		Desviaciones máximas
1	2	3	1	2	3
99	2	5	87 a 88	13 a 14	13
98	3	6	84 a 86	15 a 17	14
97	4	7	81 a 83	18 a 20	15
96	5	8	78 a 80	21 a 23	16
95	6	9	73 a 77	24 a 28	17
93 a 94	7 a 8	10	67 a 72	29 a 34	18
91 a 92	9 a 10	11	56 a 66	35 a 45	19
89 a 90	11 a 12	12	51 a 55	46 a 50	20

germinación y la amplitud o diferencia del porcentaje de la muestra con mayor germinación con respecto a la que tuvo la menor germinación (figuras 9 y 10).

Otro aspecto importante de citar, es que en algunos lotes no se tiene el sitio en que se colectaron, así también, en otros, se carece de la fecha de recolección y frecuentemente del contenido de humedad. Es común que de la recolección al primer análisis de germinación, se dejaran pasar algunos meses (cuadro la del apéndice).

3.2. SELECCION DE LOS DATOS A USAR

Con fundamento en lo anterior, se consideró que se tenia que efectuar una selección de los datos del archivo antes de procesarlos para obtener la duración de la viabilidad.

Los criterios para la selección de la información fueron:

a) Para los lotes: Contar con los datos sobre su lugar de origen, fecha en que se realizó la recolección, contenido de humedad, porcentaje de pureza, porcentaje de semillas llenas y número de semillas por kilogramo con impurezas; las especies y lotes considerados, así como sus demás datos se presentan en los cuadros la y 2a

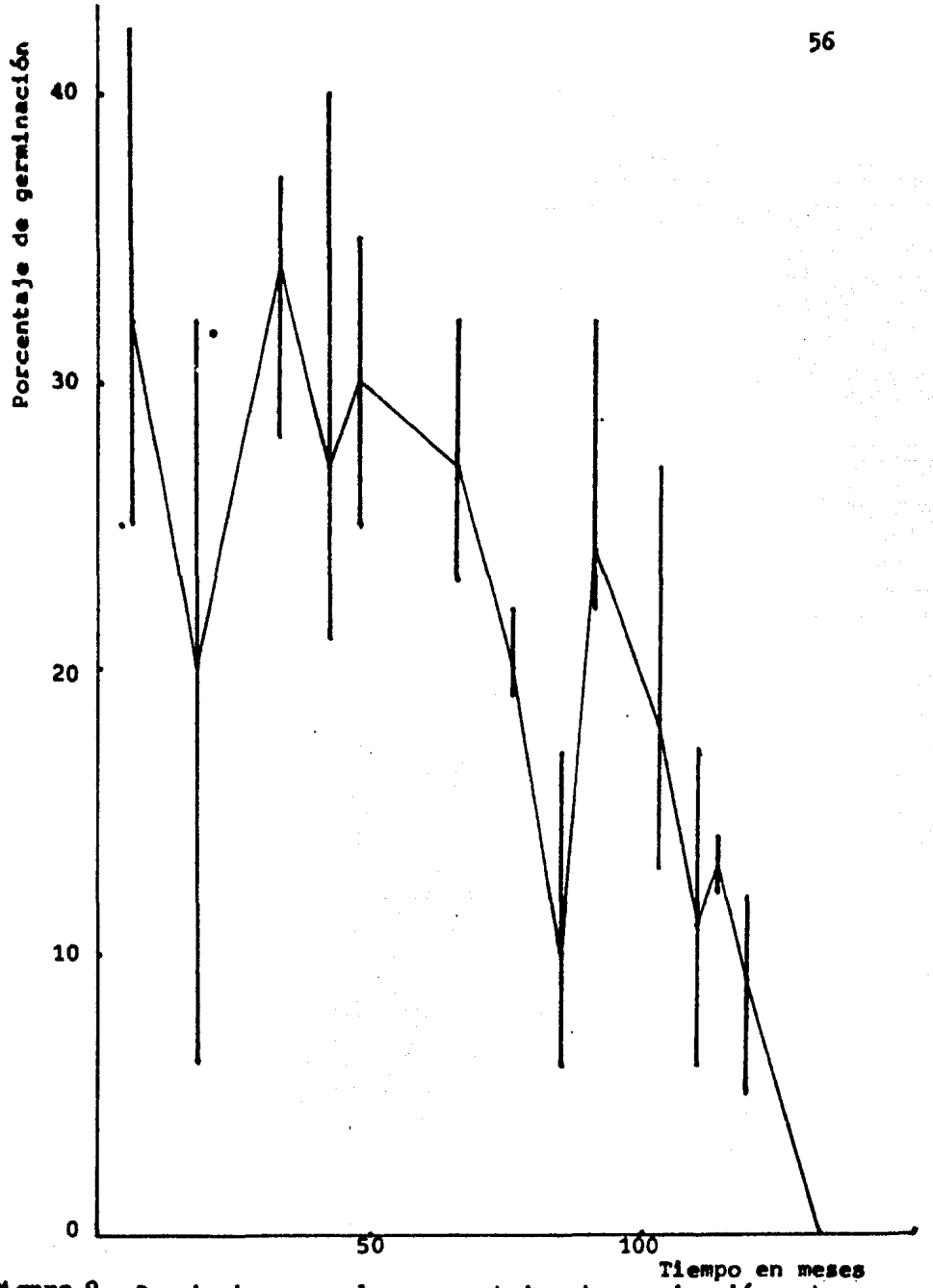

Figura 9. Desviaciones en los porcentajes de germinación entre repeticiones en el L-151 de Abies religiosa.

• Prueba fuera de tolerancia de acuerdo a el cuadro 1.

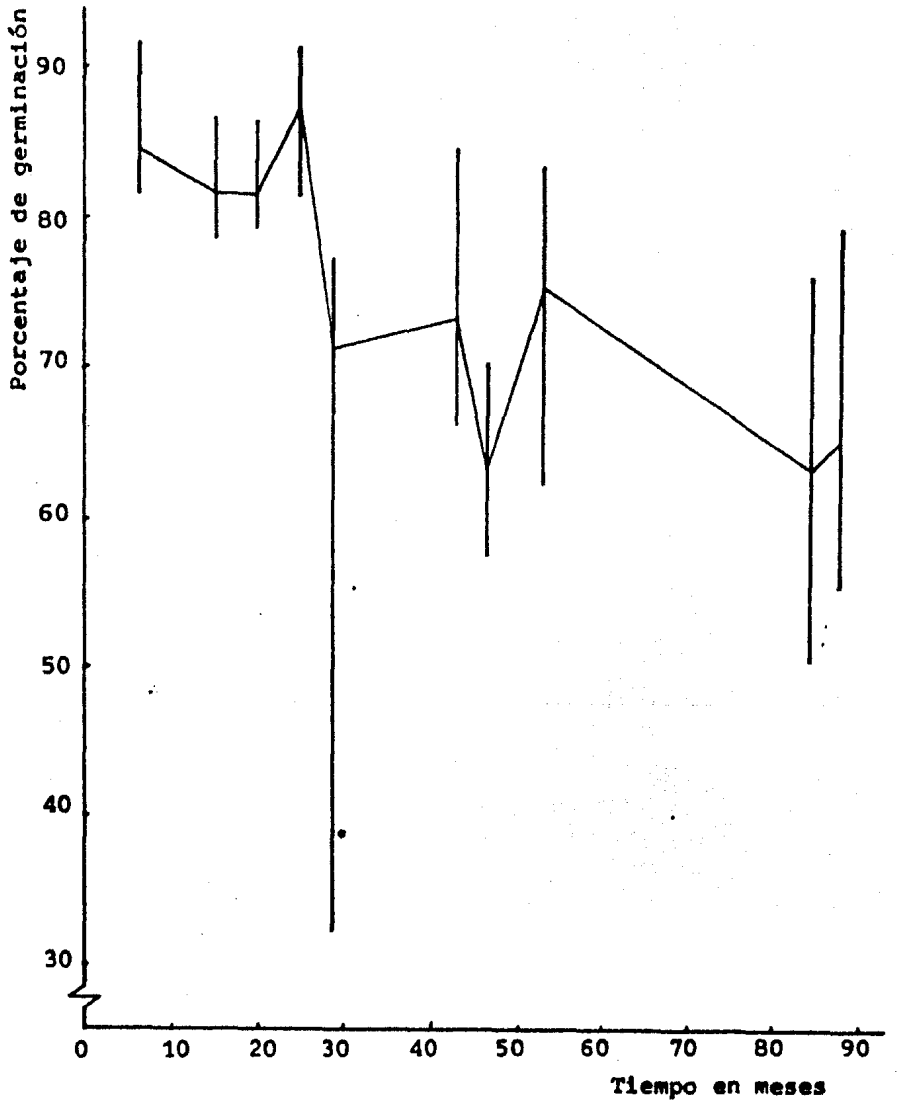

Figura 10. Desviaciones en los porcentajes de germinación entre repeticiones en el lote L-401 de *Pinus greggii*.

• Prueba fuera de tolerancia de acuerdo a el cuadro 1.

del apéndice, y se resumen en el cuadro 2.

b) Análisis dentro de los lotes: Para disponer de datos comparables, los análisis de germinación que se consideraron para la elaboración del presente trabajo, fueron los realizados en el laboratorio, en cajas de petri con dos capas de papel filtro en cuatro repeticiones con 100 semillas cada una, a temperatura de las germinadoras de 22°C y regadas con fungicidas, generalmente Manzate (Etilen-bisditio-carbamato de magnesio) y sin ningún tratamiento estimulante de la germinación; la duración del análisis debió ser de 28 días, y para comprobar que el resultado obtenido en el análisis es aceptable, se utilizó la tabla de "Rangos Máximos Tolerados entre Repeticiones" (ISTA, 1976) (cuadro 1; figuras 9 y 10).

Esto último se realizó con el fín de disminuir la varianza residual en los análisis de regresión.

La recolección de la información por lote se efectuó en una forma igual a la de la figura 11.

Cuadro 2. Lista de especies y número de lotes considerado por poseer toda la información requerida.

Especie	Núm. de Lotes
Abies concolor (Gard. et Glend.) *	1
Abies oaxacana Mtz.	1
Abies religiosa (H. B. K.) Schl. et cham.	8
Abies religiosa var. *emarginata* Mtz.	1
Abies vejari Mtz.	4
Cupressus Lindleyi Klotsch.	1
Liquidambar styraciflua L.	2
Pinus Engelmanni Carr.	3
Pinus Greggii Lind.	6
Pinus Hartwegii Lind.	2
Pinus leiophylla Schl. et Cham.	3
Pinus michoacana Mtz.	5
Pinus Montezumae Lamb.	11
Pinus Oocarpa Schiede.	10
Pinus patula Schl. et Cham.	3
Pinus rudis Endl.	1
Pinus Strobus chiapensis Mtz.	5

* Se calcularon las curvas a pesar de la carencia de contenido de humedad, porque se creyó pertinente establecer si una duración corta de viabilidad, es una característica predominante en los *Abies* mexicanos.

Especie _____ Lote _____

Fecha de Recolección_____

Número de Registro	Tamaño de la Muestra	Fecha de Siembra	Germinación (%)				$\bar{X}$	Meses a Partir de la Colecta
			1	2	3	4		

Figura 11. Formato para la recolección de información por lote para la realización del análisis probit.

3.3. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION

Al elegirse el lote, se llenaron formas en las que se consideró la siguiente información: número de análisis, tamaño de la muestra, fecha de realización del análisis, porcentaje de germinación, meses a partir de la recolección (tiempo transcurrido desde la recolección, hasta la realización del análisis), de acuerdo a la forma de la figura 11. La secuencia del trabajo se presenta en la figura 12.

La constante de corrección del porcentaje de germinación se usó con el fín de eliminar las semillas vanas del lote y evitar la subestimación de la viabilidad inicial, estimada por la intersección de la recta de regresión con el eje Y, además que permite mejorar el porcentaje de germinación del lote (Ellis y Roberts, 1980). La constante se dedujo por proporciones y su fórmula es:

$$C = 100/\text{porcentaje de semillas llenas.}$$

Las constantes usadas en cada lote se presentan en el cuadro 3a del apéndice.

Con el porcentaje de germinación medio y la constante de corrección, se obtuvo el porcentaje de germinación corre-

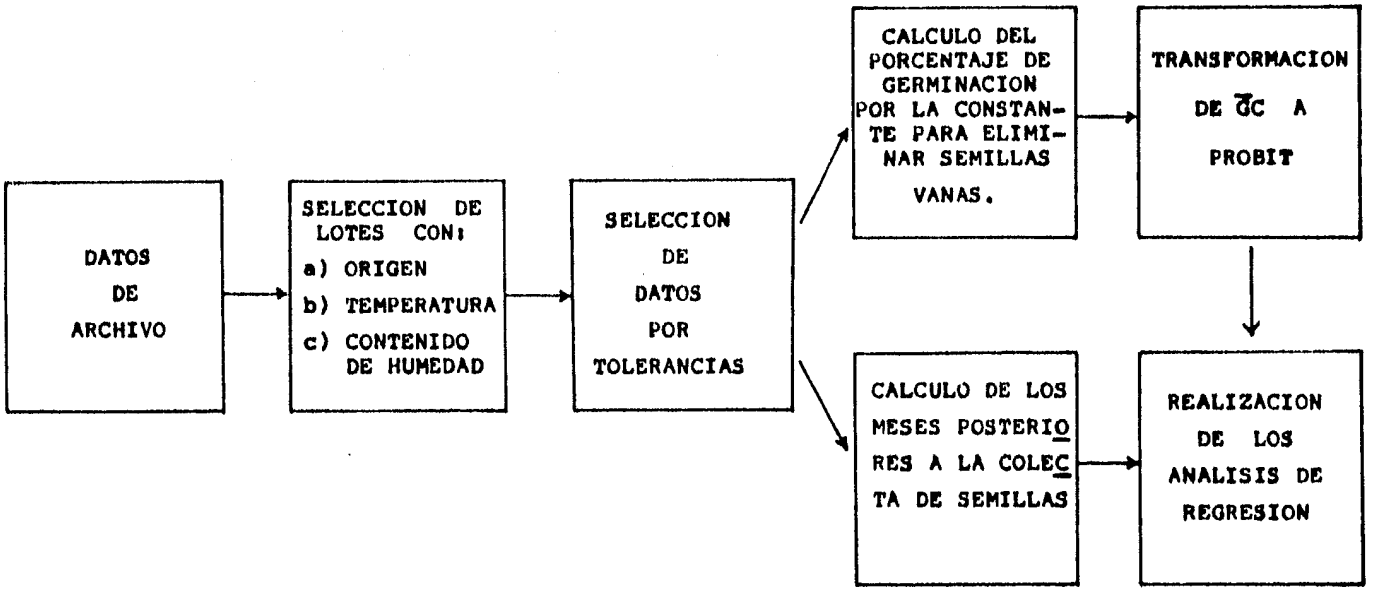

Figura 12. Secuencia de actividades para obtener la duración de la viabilidad a partir de datos del Laboratorio de Semillas del I. N. I. F.

gido ($\bar{G}C$), el cual se transformó a su equivalente probit (tomado de Bliss, 1970) (cuadro 3a y 4a del apéndice).

Con los meses a partir de la recolección como variable independiente y el probit (variable dependiente), por el método de mínimos cuadrados, se calculó la ecuación de pérdida de viabilidad, además de que se realizó el análisis de varianza y se calcularon el coeficiente de determinación (r^2) y el error de estimación (EE), utilizándose para probar la aceptación de la hipótesis, las tablas de la distribución de "F" y la de transformación de $Z=(1/2)\ln(\frac{1+r}{1-r})$ tomadas de Chou (1977); esta última para probar la significancia del coeficiente de determinación.

La estimación de los parámetros anteriores, tiene por objetivo, para el caso de la ecuación de regresión, obtener un modelo matemático que permita predecir el comportamiento de la pérdida de la viabilidad (mediante el uso de la transformación probit) a través del tiempo; el análisis de varianza permite establecer si la variación de la regresión es mayor que la ocasionada por las desviaciones de los datos reales con respecto de los estimados por la ecuación ajustada. La prueba de "F" y el coeficiente de determinación, permiten determinar la confiabilidad del

modelo y evalua el grado de asociación entre la pérdida de viabilidad y el tiempo.

Como índice de pérdida de viabilidad, se comparó el porcentaje de germinación inicial con el final por la prueba t'_d por amplitud, cuando se tuvieron cuadros de contingencia, se probó la independencia mediante ji-cuadrada (Ostle, 1965).

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos mediante la aplicación del análisis probit, se resumen en el cuadro 3, y en él se presentan las ecuaciones de pérdida de viabilidad de cada uno de los lotes de las 17 especies consideradas, el coeficiente de determinación (r^2), el error de estimación (EE), los valores de la prueba de "F", el número de pruebas de germinación utilizadas en la realización del análisis de regresión (n), el probit de pérdida anual de viabilidad y el período en que se alcanza el 5% de viabilidad.

En el cuadro 3 están señalados con asteriscos en la "F" y en la r^2 los lotes donde la curva de la regresión obtuvo buen ajuste y con ns los lotes donde no hubo ajuste. Al contar el número de lotes con buen ajuste, se tiene que 29 lotes tuvieron un comportamiento lineal adecuado y 38 lotes carecieron de ajuste; las causas se discuten más adelante.

Otro punto que se observa, es que se presentaron 7 lotes con pendiente positiva, aspecto que no se había considerado y que se analizará posteriormente.

Cuadro 3. Ecuación de estimación, coeficiente de determinación (r^2), error de estimación (EE), F de regresión (Fc), número de análisis efectuados al lote (n), probit de pérdida anual de viabilidad (b)(12), y años en que se alcanza el 5% de viabilidad, en lotes de 17 especies forestales.

Especie	Lote	Ecuación	r^2	EE	Fc	n	(b)(12)	5% de Viabilidad (años)
Abies concolor	561	Y=4.188-0.001X	0.003 ns	0.256	0.015 ns	5	0.012	69.417
Abies oaxacana	121	Y=5.243+0.009X	0.009 ns	0.239	0.035 ns	5	0.036	
Abies religiosa	79	Y=3.764-0.012X	0.497 ns	0.572	4.948 ns	7	0.144	2.840
	92	Y=4.198-0.001X	0.000 ns	1.265	0.001 ns	6	0.012	70.250
	140	Y=6.398-0.019X	0.778 **	0.428	34.020 **	12	0.228	13.346
	151	Y=5.511-0.013X	0.343 *	0.772	6.250 *	14	0.156	13.820
	178	Y=6.409-0.043X	0.949 **	0.373	112.22 **	8	0.516	5.920
	213	Y=5.367-0.057X	0.704 *	0.706	9.535 *	6	0.684	2.941
	220	Y=5.057-0.025X	0.871 **	0.349	67.734 **	12	0.300	5.673
	355	Y=5.947-0.032X	0.841 **	0.520	52.909 **	12	0.384	6.750
Abies religiosa var. *emarginata*	80	Y=4.993-0.026X	0.809 *	0.512	16.886 *	6	0.312	5.250
Abies vejari	14	Y=7.798-0.019X	0.229 ns	1.582	3.872 ns	15	0.228	19.487
	182	Y=6.344-0.005X	0.034 ns	0.638	0.140 ns	6	0.060	49.817
	186	Y=5.458-0.022X	0.902 **	0.259	64.189 **	9	0.264	7.966
	294	Y=5.042+0.012X	0.328 ns	0.343	2.436 ns	7	0.144	
Cupressus Lindleyi	43	Y=5.971-0.015X	0.121 ns	0.519	0.828 ns	8	0.180	14.533
Liquidambar styraciflua	1	Y=7.686-0.049X	0.947 **	0.386	53.805 **	5	0.588	7.365
	363	Y=8.275-0.055X	0.705 ns	0.644	7.168 ns	5	0.660	7.454

Continuación del cuadro 3.

Especie	Lote	Ecuación	r^2	EE	Fc	n	(b)(12)	5% de Viabilidad (años)
Pinus Engelmanni	19	Y=8.989-0.016X	0.802 **	0.590	93.118 **	25	0.192	29.344
	223	Y=6.506-0.007X	0.035 ns	0.607	0.184 ns	7	0.084	37.512
	224	Y=6.434-0.017X	0.909 **	0.126	39.937 **	6	0.204	15.093
Pinus Greggii	9	Y=6.328-0.009X	0.284 **	0.563	9.914 **	27	0.108	27.528
	44	Y=5.776-0.007X	0.303 *	0.409	6.094 *	16	0.084	28.821
	170	Y=6.506-0.016X	0.771 **	0.388	43.704 **	15	0.192	16.411
	174	Y=6.500-0.009X	0.436 **	0.520	10.062 **	15	0.108	29.120
	382	Y=6.167-0.005X	0.324 ns	0.169	2.860 ns	8	0.060	46.867
	401	Y=6.145-0.009X	0.707 **	0.181	16.922 **	9	0.108	25.833
Pinus Hartwegii	177	Y=5.296	0.000 ns	0.327	0.000 ns	5	0.000	
	191	Y=6.097-0.005X	0.082 ns	0.426	0.182 ns	4	0.060	45.700
Pinus leiophylla	119	Y=5.836-0.009X	0.614 *	0.183	7.946 *	7	0.108	22.972
	192	Y=7.222-0.023X	0.185 ns	1.303	1.358 ns	8	0.276	14.011
	193	Y=6.498-0.002X	0.088 ns	0.242	0.290 ns	5	0.024	130.958
Pinus michoacana	244	Y=5.170+0.037X	0.354 *	1.199	8.230 *	17	0.444	
	252	Y=7.107+0.013X	0.048 ns	1.383	0.250 ns	7	0.156	
	264	Y=6.183+0.002X	0.728 ns	0.032	2.000 ns	3	0.024	
	317	Y=6.561-0.005X	0.396 ns	0.164	1.963 ns	5	0.060	53.433
	324	Y=6.918-0.018X	0.370 ns	0.529	1.177 ns	4	0.216	16.495

Continuación del cuadro 3.

Especie	Lote	Ecuación	r^2	EE	Fc	n	(b)(12)	5% de Viabilidad (años)
	126	Y=7.412-0.015X	0.378 **	1.178	9.739 **	18	0.225	22.539
	127	Y=6.713-0.011X	0.458 **	0.774	14.355 **	19	0.132	25.439
	131	Y=7.292-0.010X	0.269 *	0.791	5.515 *	17	0.120	32.808
	132	Y=6.943-0.009X	0.346 *	0.497	5.298 *	12	0.108	33.222
Pinus	251	Y=5.298-0.005X	0.125 ns	0.333	0.854 ns	8	0.060	32.383
Montezumae	251A	Y=5.786-0.009X	0.194 ns	0.436	0.963 ns	6	0.108	22.509
	258	Y=7.472-0.027X	0.207 ns	0.958	1.041 ns	6	0.324	12.707
	260	Y=6.553-0.010X	0.242 ns	0.767	4.142 ns	15	0.120	26.650
	308	Y=6.578-0.003X	0.199 ns	0.246	1.996 ns	10	0.036	89.528
	349	Y=6.415-0.013X	0.350 ns	0.429	2.152 ns	6	0.156	19.615
	350	Y=5.968+0.002X	0.046 ns	0.306	0.438 ns	11	0.024	
	185	Y=6.327-0.002X	0.042 ns	0.258	0.225 ns	7	0.024	123.833
	188	Y=6.424-0.004X	0.275 ns	0.193	1.882 ns	7	0.048	63.937
	189	Y=6.628-0.001X	0.007 ns	0.482	0.013 ns	4	0.012	272.750
	215	Y=7.239-0.018X	0.561 ns	0.420	6.380 ns	7	0.216	17.981
Pinus Oocarpa	269	Y=6.935-0.001X	0.704 ns	0.197	7.138 ns	5	0.132	27.121
	367	Y=6.437-0.004X	0.323 ns	0.201	4.302 ns	11	0.048	64.208
	376	Y=6.798-0.004X	0.352 *	0.283	7.597 *	16	0.048	71.729
	378	Y=6.621-0.005X	0.590 ns	0.343	2.692 ns	7	0.066	49.485
	398	Y=6.623-0.006X	0.580 **	0.225	20.739 **	17	0.072	45.389
	534	Y=6.157-0.002X	0.043 ns	0.236	0.720 ns	18	0.024	116.750

Continuación del cuadro 3.

Especie	Lote	Ecuación	r^2	EE	Fc	n	(b)(12)	5% de Viabilidad (años)
	216b	Y=6.214-0.004X	0.345 ns	0.187	1.057 ns	4	0.048	59.562
Pinus patula	402	Y=6.408-0.005X	0.845 **	0.105	32.454 **	8	0.060	50.883
	403	Y=6.356-0.008X	0.163 ns	0.735	3.127 ns	18	0.096	31.517
Pinus rudis	128	Y=7.712-0.016X	0.324 ns	0.643	3.833 ns	10	0.192	22.693
	50	Y=10.64-0.076X	0.993 **	0.270	413.000 **	5	0.912	7.992
Pinus Strobus chiapensis	226	Y=6.104-0.047X	0.803 **	0.316	48.892 **	14	0.564	4.874
	227	Y=5.500-0.023X	0.580 ns	0.418	4.133 ns	5	0.276	7.772
	231	Y=6.206-0.076X	0.891 **	0.324	32.611 **	6	0.912	3.126
	295	Y=6.050-0.018X	0.742 *	0.223	11.517 *	6	0.216	12.477

** Significativo con probabilidad de 0.01

* Significativo con probabilidad de 0.05

ns No significativo

4.1. AJUSTE DEL MODELO

Cuadro 4. Comparación entre los porcentajes de germinación inicial y final

a		b	
Germinación Inicial	Número de Lotes	Germinación Final	Número de Lotes
$G \leq 30$	7	$G = 0$	9
$30 \leq G < 60$	13	$0 < G < 30$	12
$60 \leq G < 90$	25	$30 \leq G < 60$	14
$G \geq 90$	22	$60 \leq G < 90$	32

Comparando el número de lotes de la parte "a" con la "b" de el cuadro 4, se observa que pocos lotes -9- alcanzaron un porcentaje final de germinación de cero y la mayoría conservaron porcentajes superiores al 60% -32-. Esta comparación permite pensar que la disminución del porcentaje de germinación es muy lento y para alcanzar el porcentaje de germinación de cero, se requiere de un período de tiempo bastante largo.

Para explicar las causas que ocasionaron que únicamente 29 de los 67 lotes de semillas forestales tengan buen ajuste en la ecuación de pérdida de viabilidad, se realizó la prueba de diferencias entre medias de t', comparando la media de la primera prueba de germinación con la

media de la última prueba (Ostle, 1965) y se construyó un cuadro en el cual se dividieron los lotes de acuerdo a la significancia de la "F" y de acuerdo a la significancia de la diferencia entre medias, quedando distribuidas de acuerdo a el cuadro 5.

Cuadro 5. Distribución de los lotes de acuerdo a su significancia en "F" y en t'.

	F significativa	F no significativa
$\bar{G}i \neq \bar{G}f$ Significativa al 0.01%	25	11
$\bar{G}i \neq \bar{G}f$ Significativa al 0.05%	2	13
$\bar{G}i \neq \bar{G}f$ No significativa	2	14
Total	29	38

$\bar{G}i$ = germinación media inicial
$\bar{G}f$ = germinación media final

Del cuadro 5 se desprende que en los lotes con diferencias considerables entre la germinación inicial y la final, se presenta un mejor ajuste de la ecuación de regresión, así es como 25 de los 29 lotes con "F" significativa estadísticamente, estan dentro de este grupo; asimismo, solo dos lotes tuvieron buen ajuste en la ecuación, cuando

se dieron diferencias pequeñas entre medias (L-119 de Pinus leiophylla y L-132 de Pinus Montezumae).

El caso en que dos lotes con buen ajuste en la ecuación pero con diferencias no significativas entre las medias, corresponde a los lotes L-244 de Pinus michoacana y L-131 de Pinus Montezumae y es ocasionada por ser menor el primer valor de germinación al último y a que los rangos de las pruebas de germinación fueron muy grandes, teniéndose que el lote L-244 presenta una ganancia de viabilidad, por poseer una pendiente positiva; y para el L-131, el valor de la segunda prueba de germinación es el mayor tanto para la primera como para la última prueba, lo que probablemente hubiera dado un cambio en la posición del cuadro, si la prueba se hubiera hecho entre el segundo y último valor.

Para el caso en que se tuvieron diferencias significativas entre medias de germinación, pero no hubo significancia en la regresión, se tiene que a pesar de las grandes diferencias entre los dos valores de germinación, los datos no se ajustan a la ecuación de regresión, debido a la elevada dispersión que existe entre los valores de éstas, tal explicación también se aplica a los lotes donde la

diferencia entre las medias de germinación fue baja.

Para los lotes que no tienen significancia en la "F" ni en la diferencia entre medias, en general se debe a la poca diferencia entre la primera y última prueba de germinación, lo que proporciona una pendiente muy baja y estadísticamente igual a cero.

El tener lotes con pendiente muy baja o positiva y diferencias entre medias muy baja y a veces sin ninguna diferencia, permite llegar a la siguiente conclusión: la viabilidad en semillas de especies forestales se conserva por períodos de tiempo muy grandes y su pérdida es tan baja que no se puede detectar para períodos cortos, menores de cinco años.

Para reforzar la anterior discución, se realizaron dos pruebas de ji-cuadrada. En una de las pruebas se trató la dependencia que se tiene entre la diferencia media de la germinación inicial y final y el ajuste de la ecuación de pérdida de viabilidad, teniéndose el siguiente resultado:

$$X^2 = 19.449 > X^2_{99(1)} = 6.63$$

La prueba se fectuó con los resultados que aparecen en el cuadro 5, el cual se modificó a un cuadro de doble entrada de 2x2, considerando las diferencias no significativas, cuando no se alcanzó el nivel de aceptación de $\alpha = 0.001$.

Puesto que la ji-cuadrada calculada es mayor que la ji-cuadrada de las tablas, se concluyó que existe dependencia entre el ajuste de las ecuaciones de regresión y las diferencias significativas de los análisis de germinación para la mayoría de los lotes.

La segunda prueba, consistió en evaluar la dependencia entre el ajuste de la ecuación de regresión y el porcentaje final de germinación menor o igual al 60%. Para esta prueba, se construyó el cuadro 6.

Cuadro 6. Distribución de los lotes de acuerdo a la significancia en "F" y a su porcentaje de germinación final.

	F significativa	F no significativa
Germinación mayor del 60%	7	25
Germinación menor o igual al 60%	22	13

El resultado que se obtuvo fue:

$$X^2 = 9.828 > X^2_{99(1)} = 6.63$$

Puesto que el resultado de ji-cuadrada calculada es mayor que la ji-cuadrada de las tablas al 99%, se acepta con un alto grado de significancia que existe relación entre el ajuste de la ecuación de regresión y los porcentajes de germinación finales menores o iguales al 60% y puede afirmarse que con porcentajes menores del 60% en la última prueba de germinación, se tienen mejores ajustes en las ecuaciones de la mayoría de los lotes, con lo que se asegura la validez del uso de las ecuaciones para hacer predicciones del comportamiento en la pérdida de viabilidad, siempre y cuando ésta ocurra; mientras que cuando no la hubo, las ecuaciones no se ajustaron en la mayoría de los casos y la ecuasión no puede aplicarse.

4.2. OBTENCION DEL PARAMETRO DE VELOCIDAD DE PERDIDA DE VIABILIDAD POR ESPECIE

Las condiciones de almacenamiento en el Laboratorio de Semillas del INIF relacionadas a la temperatura, son muy variables y solo se tienen registradas por períodos cortos (cuadro 7), debido a factores que se escapan del con-

Cuadro 7. Resumen de los registros de temperaturas (^{o}C) en la cámara fría del Banco de Germoplasma Forestal, I. N. I. F. (D. F.).

	1976		1977						1981	
	Nov.	Dic.	Ene.	Feb.	Mzo.	Abr.	May.	Jun.	Oct.	Nov.
V. T. *	-1, 5	-2, 20	-3, 13	1, 13	1, 18	-1, 25	-5, 18	2, 17	1, 4	1, 2
Temp Media	-1	2	3.75	1.75	6.37	15.75	7.62	2	2	1
P. T. T. **	15-30	1-31	1-31	1-28	1-31	1-30	1-31	1-20	28-31	1-16

Temperatura Media = 4.12
Temperatura Media Mínima = -0.6
Temperatura Media Máxima = 13.5
Temperatura Mínima Extrema = -5.0
Temperatura Máxima Extrema = 25.0

* V. T. = Variación de la temperatura.
** P. T. T. = Periodo de toma de temperaturas, indicando las fechas que abarcan el periodo.

trol humano, como son descomposturas en el motor del refrigerador, falta de energía eléctrica, entre otros; esto viene a colación, debido a que la variación de la temperatura puede ocasionar alteraciones en el comportamiento de la viabilidad; aunque tal variación no interfiere la aplicación de la ecuación de pérdida de viabilidad, sí limita la obtención de las ecuaciones básicas de viabilidad, las cuales deben obtenerse bajo condiciones constantes de temperatura y humedad (Roberts, 1972); aunque relacionar la variación de la temperatura con la falta de ajuste de las ecuaciones de regresión, es demasiado aventurado mientras no se tenga alguna prueba que permita asegurar dicho aspecto, además que es un punto que está fuera de los objetivos del presente trabajo; sin embargo, al comparar los intervalos de confianza al 99% para la pendiente (β) en todas las especies, se encontró que pocos lotes de las 17 especies no se intersectaron (figuras 13-19).

Al promediar la pendiente de los lotes para obtener la pendiente por especie ($\bar{\beta}$) y sustituirla en la ecuación $v = K_i - (1/\sigma)p$, se obtuvo cierta variación en el período en que se alcanza el 5% de viabilidad. Comparando los resultados de la pendiente de la especie ($\bar{\beta}$) con la pendiente de cada lote (β), la variación que se presenta

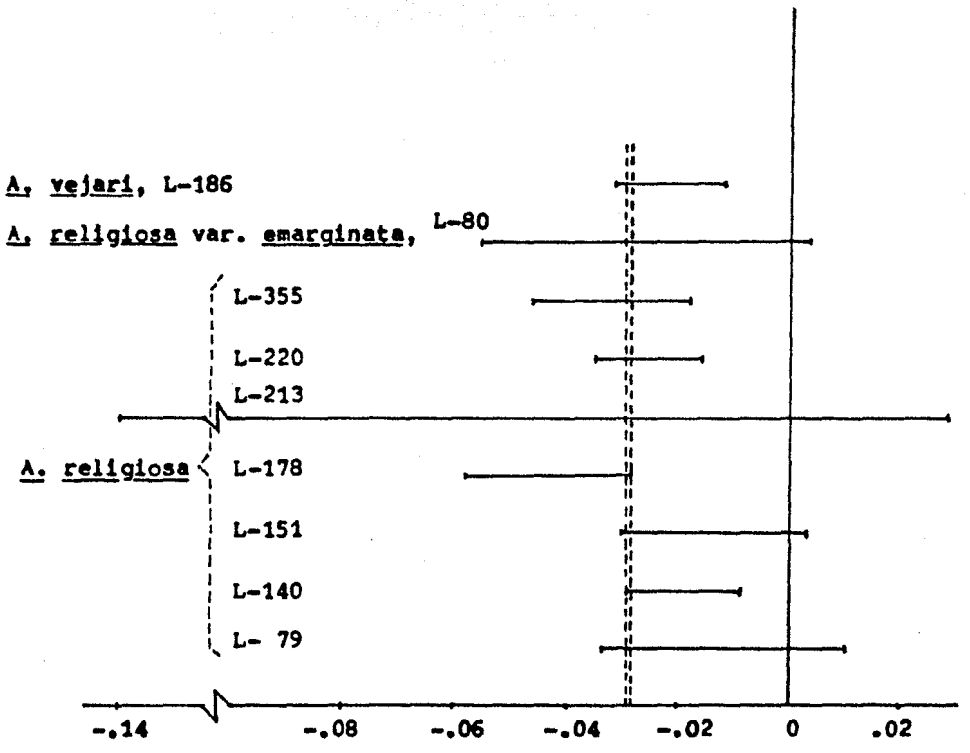

Figura 13. Intervalos de confianza al 99%, para la pendiente (β) de la ecuación de pérdida de viabilidad en lotes de *Abies* spp. e intersección de los intervalos de confianza.

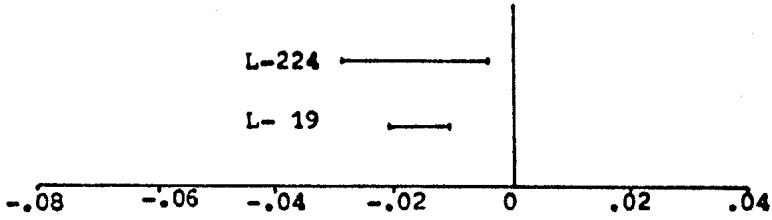

Figura 14. Intervalos de confianza al 99% para la pendiente (β) de la ecuación de pérdida de viabilidad en lotes de *Pinus Engelmanni*.

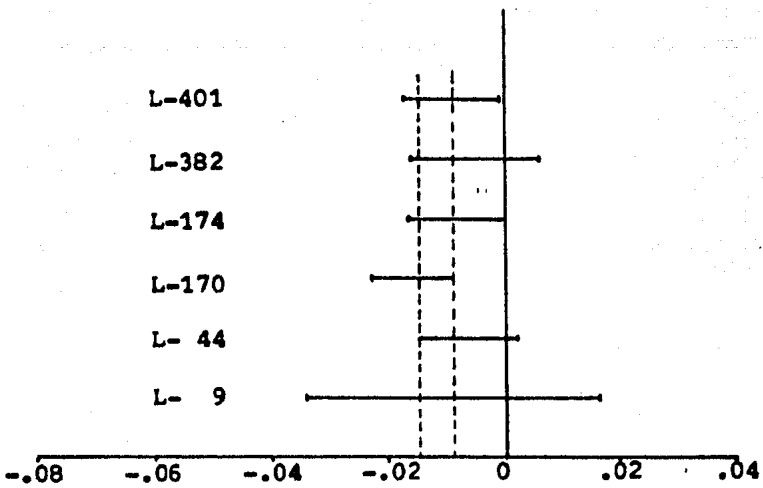

Figura 15. Intervalos de confianza al 99%, para la pendiente (β) de la ecuación de pérdida de viabilidad en lotes de *Pinus Greggii*, e intersección de los intervalos de confianza.

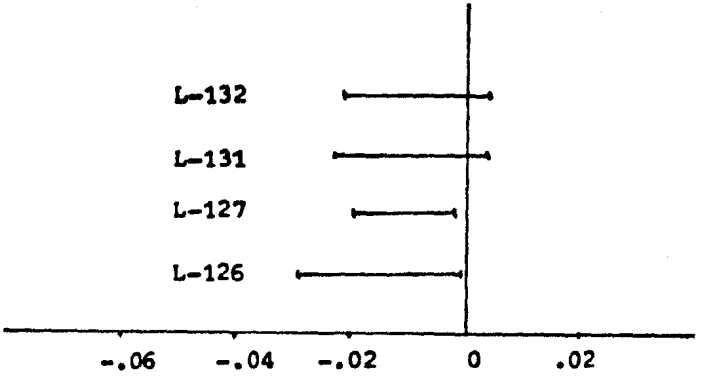

Figura 16. Intervalos de confianza al 99% para la pendiente (β) de la ecuación de la pérdida de viabilidad en lotes con buen ajuste en Pinus Montezumae.

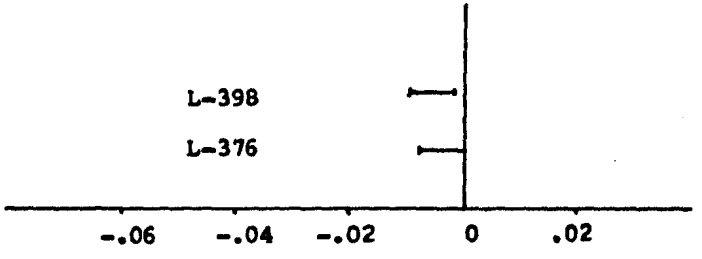

Figura 17. Intervalos de confianza al 99% para la pendiente (β) de la ecuación de pérdida de viabilidad con buen ajuste en lotes de Pinus Oocarpa.

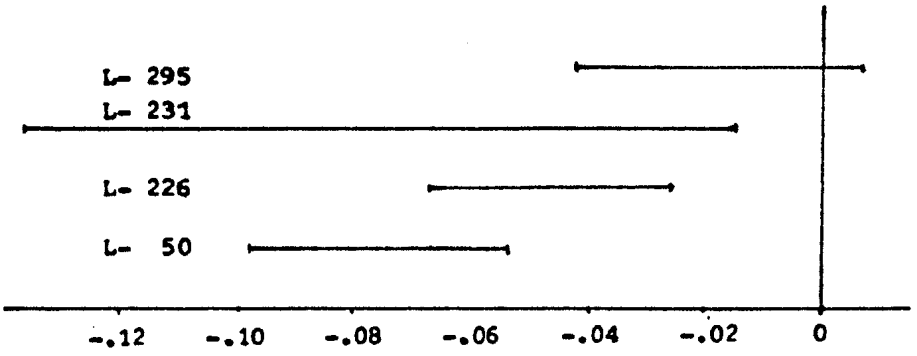

Figura 18. Intervalos de confianza al 99% para la pendiente (β) de la ecuación de pérdida de viabilidad con buen ajuste en lotes de *Pinus Strobus chiapensis*.

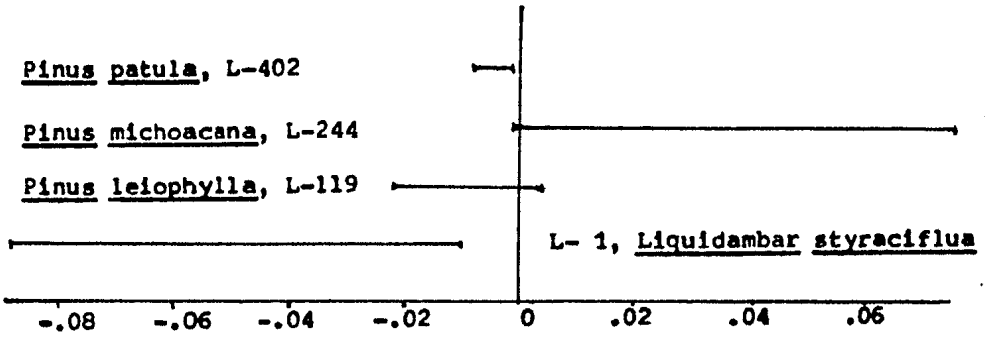

Figura 19. Intervalos de confianza al 99% para la pendiente (β) de la ecuación de pérdida de viabilidad con buen ajuste en 3 lotes de *Pinus* spp y 1 de *Liquidambar styraciflua*.

tiene justificación, si se considera que la pendiente por especie es la media de las pendientes de los lotes.

Disponer de una pendiente por especie que permita con base en el K_i (probit inicial) estimar la "v" después de cierto tiempo (p), reviste enorme importancia, pues es fácil obtener el K_i mediante una prueba de germinación al inicio del almacenamiento.

4.3. EFECTO DE LA CALIDAD DE LOS LOTES SOBRE LA PERDIDA DE VIABILIDAD

Existe mucha variación en el comportamiento de la viabilidad entre especies y aún dentro de cada especie se tiene gran variación entre los lotes. Así es como de los 67 lotes, solo 29 de las 17 especies analizadas tuvieron relación entre la pérdida de viabilidad y el tiempo; este hecho permite afirmar que el tiempo tiene poco efecto en la pérdida de viabilidad y que ésta, para el caso en que se tienen grandes índices de pérdida de viabilidad, se debe a otros factores, básicamente anteriores al inicio del almacenamiento, tal es el caso de los lotes de todas las especies del género Abies consideradas en este trabajo, y el L-226 y L-227 de Pinus Strobus chiapensis, los

cuales tuvieron porcentajes de germinación menores del 50% en el primer análisis.

Otro índice que permite afirmar que el tiempo influye poco en la pérdida de viabilidad, es la pendiente de la ecuación de pérdida de viabilidad, la cual en general es muy pequeña, inferior a 0.076, dandose casos en los que llega a tenerse pendiente positiva, lo que llevaría a suponer que no existe pérdida de viabilidad, sino ganancia; este resultado se tiene para lotes en los que la diferencia entre el primero y último de los análisis de germinación son muy pequeños, por ejemplo en los lotes L-244, L-252 y L-264 de Pinus michoacana que tiene diferencias de -16, 9 y -1% respectivamente (los valores con signo negativo indican que hubo mayor porcentaje de germinación en el último análisis), el L-350 de Pinus Montezumae con una diferencia del 6%; o pendientes de -0.001 para los lotes L-189 y L-269 de Pinus Oocarpa con diferencias de 0 a 10% respectivamente.

4.4. CLASIFICACION DE ESPECIES FORESTALES POR SU VELOCIDAD DE PERDIDA DE VIABILIDAD

Es dificil agrupar a las semillas de las especies fores-

tales estudiadas en la clasificación de microbióticas, mesobióticas y macrobióticas, ya que la variación del período de viabilidad es muy grande interespecíficamente, y mientras el resultado de un lote indica que la especie pertenece a una clase, el resultado de otro lote es completamente opuesto, como puede observarse en dos lotes de Abies religiosa; el L-220 tarda casi 3 años en alcanzar el 5% de viabilidad y el L-92 requiere de 70 años para alcanzar el mismo porcentaje.

Queriendo tener un solo valor en que se alcanza el 5% de viabilidad, se tomó la mediana de los períodos que se tienen por especie, ya que este valor se ajusta mejor a la mayoría de los valores de los lotes y se tiene mayor probabilidad en la determinación del período que pueden almacenarse la mayoría de los lotes, no sucediendo lo mismo con la media, la cual es muy variable, debido a los valores extremos que como en Abies religiosa, de 6.33 años como mediana, pasa a 15.19 años con la media, o Pinus Oocarpa, quién tiene una mediana de 64.07 y una media de 85.32 años. De esta manera, tomando la mediana se determinó el período mínimo en que se alcanza el 5% de viabilidad, y correspondió a Abies religiosa var. emarginata con 5.25 años y el máximo, que correspondió a Abies concolor,

fue de 69.42 años; sin embargo, debido a que en algunas especies sólo se consideró un lote, se careció de datos comparables y con posibilidades de evaluar su representatividad.

Aunque es grande la variación en el período de pérdida de viabilidad, se observa que la tendencia de todos los lotes de las 17 especies , es conservar su viabilidad por períodos grandes, como se observa en el bajo índice de pérdida de viabilidad (pendiente de la ecuación), y en los períodos que conservan la viabilidad superior a 5%, que es superior a los cinco años, lo que coincide con Patiño, et al (1983), quienes señalan que la mayoría de las especies forestales pierden muy poca de su viabilidad, y con Hill (1976), que reporta que Pinus banksiana en 18 años, del 87% de germinación, disminuyó al 84%, con lo que se tiene una diferencia de un 3% unicamente.

De todas las especies consideradas, Abies religiosa, Liquidambar styraciflua y Pinus Strobus chiapensis son los que tienen períodos más cortos de viabilidad; asimismo, son las tres especies que tienen un índice de pérdida de viabiliadad mayor; sin embargo, parece ser que esta aceleración en la pérdida de viabilidad no se debe exclusiva-

mente al efecto del tiempo, sino que es ocasionado por factores adversos previos al almacenamiento, ya que frecuentemente se tuvieron porcentajes de viabilidad bajos y para el caso de Abies religiosa, también se observa un porcentaje de semillas llenas del 25 al 70%, aunque no se descarta la posibilidad de los efectos que pueda tener la variación de la temperatura, sobre todo si se reporta que para una adecuada conservación del género Abies se requieren temperaturas de -15°C (Patiño, et al, 1983).

Otro criterio para evaluar la pérdida de viabilidad, es la pendiente de la recta, ya que ésta resulta ser más confiable que tomar un punto arbitrario en la curva, por no ser afectada por el porcentaje de germinación inicial.

En el cuadro 8 se presentan las especies ordenadas de acuerdo a su velocidad de pérdida de viabilidad y de acuerdo a el período en que conservan la viabilidad arriba del 5% en años, los que se grafican para conocer su correspondencia (ver figura 20), observándose que a pesar de existir una correspondencia un poco desviada, en general, a mayores valores de la pendiente, corresponden períodos menores de viabilidad y viceversa.

Cuadro 8. Orden de especies forestales de acuerdo al tamaño de la pendiente (a), y de acuerdo a la mediana del tiempo, cuando se tiene el 5% de viabilidad (b)

(a)		(b)	
	$\bar{\beta}$		$\bar{x}$
1. Abies concolor	0.001	1. Abies concolor	69.417
2. Pinus Oocarpa	0.0047	2. Pinus Oocarpa	64.07
3. Pinus Hartwegii	0.005	3. Pinus patula	50.88
4. Pinus patula	0.0057	4. Pinus Hartwegii	45.70
5. Pinus Greggii	0.0092	5. Pinus michoacana	34.96
6. Pinus Montezumae	0.0112	6. Pinus Engelmanni	29.34
7. Pinus leiophylla	0.0113	7. Pinus Greggii	28.17
8. Pinus michoacana	0.0115	8. Pinus Montezumae	26.07
9. Pinus Engelmanni	0.0133	9. Pinus leiophylla	22.97
10. Cupressus Lindleyi	0.015	10. Pinus rudis	22.69
11. Pinus rudis	0.016	11. Abies vejari	19.48
12. Abies vejari	0.022	12. Cupressus Lindleyi	14.53
13. Abies religiosa	0.0252	13. Pinus Strobus chiapensis	7.77
14. Abies religiosa var. emarginata	0.026	14. Liquidambar styraciflua	7.41
15. Pinus Strobus chiapensis	0.048	15. Abies religiosa	6.33
16. Liquidambar styraciflua	0.052	16. Abies religiosa var. emarginata	5.25

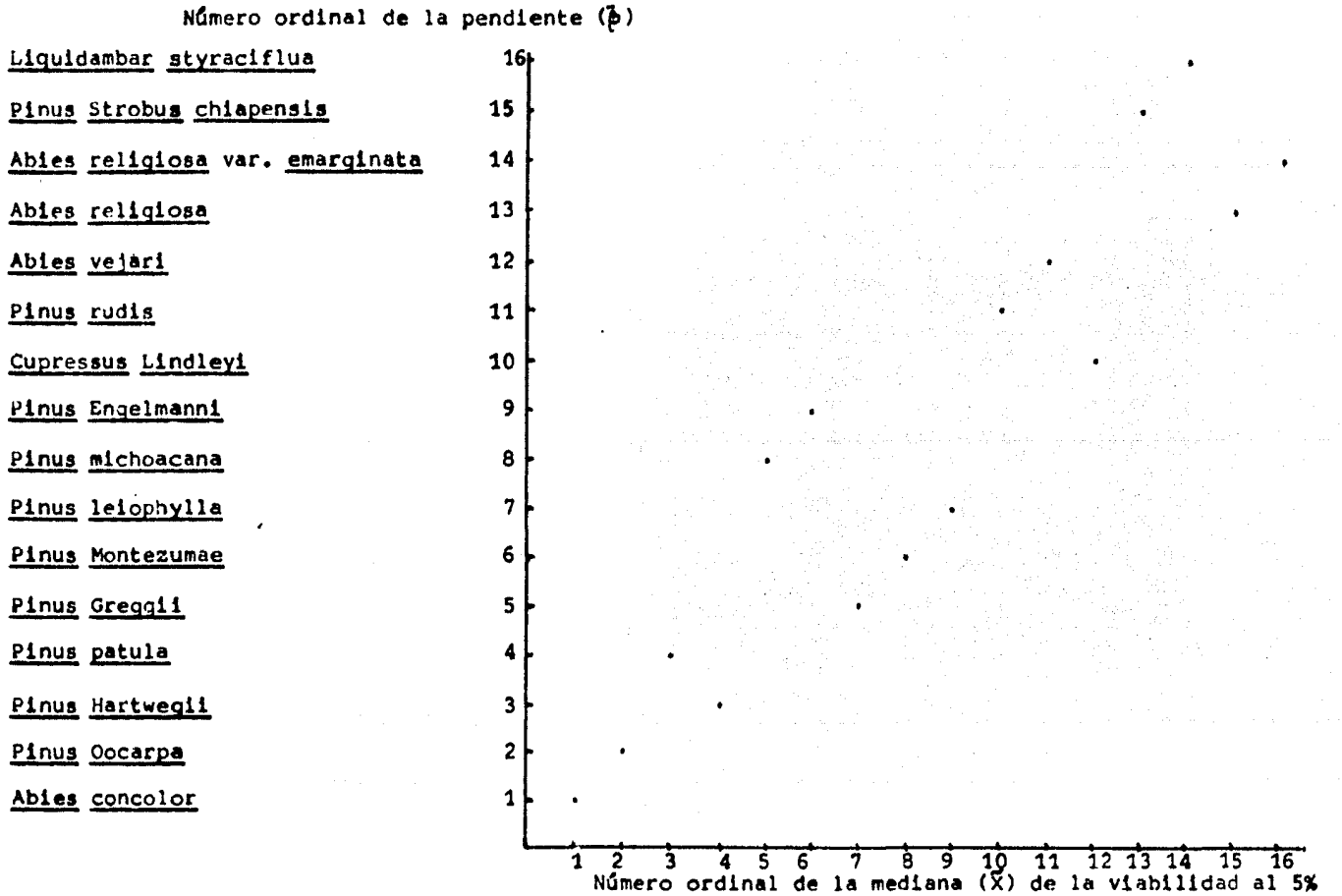

Figura 20. Relación de rangos entre la tasa de pérdida de viabilidad (p̃) y la mediana (X̃) de la duración del periodo de viabilidad al 5% en varias especies forestales.

4.5. USO PRACTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

Debido a lo difícil que es tener un control más estricto en las condiciones de almacenamiento, es adecuado el uso de las pendientes generales calculadas en el presente trabajo (cuadro 8) , para estimar el período de almacenamiento de cualquier lote de las especies aquí reportadas, mientras se determinan con más exactitud las pendientes de cada especie y se logran estimar las ecuaciones (2) y (3) mencionadas en la revisión.

Aunque cabe mencionar que de acuerdo con una ponencia presentada en la Primera Reunión Nacional de Problemas de Post-cosecha en Granos y Semillas por la Biol. Pilar de la Garza (comunicación personal, 1985), el almacenamiento de semillas forestales realizado en México, es similar al efectuado por el INIF; con todas sus limitaciones, esto sirve como apoyo a lo presentado en el párrafo anterior.

El uso del "análisis probit" es recomendable en la determinación de la pérdida de viabilidad en semillas de especies forestales, ya que además de evitar cálculos complejos, de la ecuación se pueden deducir los siguientes parámetros:

$\bar{P}$ = Período medio de viabilidad.

σ = $(1/\bar{\beta})$ Desviación estandard de la distribución de muertes en el tiempo.

p_i = Cualquier período o tiempo de almacenamiento (en meses).

v = Probit del porcentaje de viabilidad estimado.

K_i = Probit del porcentaje de viabilidad inicial, y es igual a "v" cuando p=0.

La aportación principal del presente trabajo, es la obtención de las pendientes $(\bar{\beta})$ para las especies, con ello es factible disponer de un indicador del tiempo que podrá almacenarse un lote y la conveniencia de hacerlo. El otro parámetro requerido para aplicar la ecuación, es el K_i, y la manera de obtenerlo se presentó en los antecedentes.

Otra utilidad práctica, es que permite calcular el porcentaje de germinación de un lote en un período de tiempo, sin tener que hacer una prueba de germinación.

Para hacer objetivo el uso de la ecuación y de la pendiente por especie $(\bar{\beta})$, se plantean los siguientes ejemplos:

a) Se desea conocer el período que pueden almacenarse los

lotes L-79 y L-178 de Abies religiosa, con un porcentaje de viabilidad superior al 5%. El porcentaje de germinación inicial fue de 10.8 y 92 respectivamente, que en un caso práctico, se obtendrían por una prueba de germinación o una prueba de envejecimiento acelerado.

Para el presente problema, la incógnita es el tiempo, p, por lo que la ecuación queda: $p_5 = (K_i - v)/\beta$.

Las tres variables de la ecuación se obtienen de la siguiente manera:

K_i se obtiene de las tablas probit y es igual a 3.7628 cuando el porcentaje de viabilidad inicial es de 10.8 (L-79) y de 6.4051 para el 92% de viabilidad (L-178).

v también se obtiene de las tablas probit y es el valor en probit deseado al 5% de viabilidad, siendo el mismo para todos los lotes y es igual a 3.3551.

β es la pendiente de la especie y se obtiene de el cuadro 8 y para Abies religiosa es de 0.0252.

Sustitución:

L-79 $p_5=(3.7628 - 3.3551)/0.0252 = 16.178$ meses.
$= 1.35$ años.

L-178 $p_5=(6.4051 - 3.3551)/0.0252 = 121.03$ meses.
$= 10.08$ años.

Debido al bajo K_i, el lote L-79 no puede almacenarse por un período superior a 1.5 años, teniéndose que aprovechar lo más pronto posible si se desea tener buena producción de plantas; el L-178 tiene buena calidad y puede conservarse por aproximadamente 10 años, lo que permite hacer una programación racional de su uso en la producción de plantas para reforestación.

El siguiente ejemplo sirve para mostrar que especies con igual K_i, debido a la diferencia de pendiente, tienen diferentes períodos de almacenamiento.

Un lote de Pinus Strobus chiapensis y uno de Pinus Hartwegii, tuvieron igual porcentaje de germinación en el análisis realizado para obtener el K_i (75%), por lo que éste es de 5.6745 para ambas especies; para calcular el período de almacenamiento, se tiene que para el lote de P. Strobus chiapensis, la $\beta=0.048$ y para P. Hartwegii la $\beta=0.005$.

Como $v=3.3551$ al 5% de germinación es constante para todos los lotes y todas las especies, se tienen los siguientes resultados:

<u>Pinus Strobus chiapensis</u>

$p_5 = (5.6745 - 3.3551)/0.048 = 48.32$ meses.

$p_5 = 4.03$ años.

<u>Pinus Hartwegii</u>

$p_5 = (5.7645 - 3.3551)/0.005 = 463.88$ meses.

$p_5 = 38.66$ años.

Para el manejo de los lotes, se tendrían las mismas conclusiones que en el ejemplo anterior.

V. CONCLUSIONES

La pérdida de viabilidad en semillas forestales es muy baja, por lo que estas se pueden conservar por períodos bastante largos, y el período de almacenamiento está determinado por las condiciones previas al almacenamiento más que por las condiciones de temperatura y contenido de humedad relativa y de las semillas, en las condiciones en que se almacenan las semillas en el INIF.

Las semillas reúnen todas las características de las semillas "ortodoxas", por lo que todas las especies consideradas en el presente trabajo quedan incluidas dentro de este grupo.

El uso del "análisis probit" para la determinación de la pérdida de viabilidad por el método de mínimos cuadrados, es un método recomendable, que permite la determinación de los parámetros de pérdida de viabilidad por espacio de tiempo, mediante un sencillo cambio de variable (porcentaje de germinación por probit). En general, el ajuste a la ecuación fue bueno cuando hubo una disminución significativa del porcentaje de germinación inicial hasta la última prueba de germinación efectuada al lote. La ecuación no tuvo ajuste, cuando no hubo perdida de viabilidad.

Se recomienda el uso de las pendientes (ξ) obtenidas para la planificación de almacenamiento de semillas, mientras no sea posible generar otras y no se disponga de cámaras de refrigeración con temperaturas constantes.

Los datos obtenidos indican que la duración de la viabilidad en cada especie está en relación con la pendiente de la ecuación probit, y dentro de cada especie, la duración de la viabilidad de un lote de semillas esta en función de su porcentaje de germinación inicial.

La clasificación de las especies en macrobióticas, mesobióticas y macrobióticas de acuerdo con el tiempo que duran viables las semillas, no es adecuado porque este varia mucho de lote a lote; es mejor usar un criterio de velocidad de pérdida de viabilidad, el cual es constante en una especie.

Hubo una buena correspondencia que no fue absoluta entre la mediana de la duración de la viabilidad en cada especie y el valor medio de la pendiente de pérdida de viabilidad, lo que indica que entre menor sea la pendiente, va a ser mayor el período de viabilidad de la especie.

VI. BIBLIOGRAFIA

Arentz, F., 1980, "Some Factors Affecting the Viability of Klinkii Pine (Araucaria Hunsteinii) in Storage", Seed Sci. & Technol., 8(3):277-282.

Barnett, J. P., 1969, "Long-Term Storage of Lougleaf Pine Seeds", Tree Planters Notes, 20(2):5-8.

Bliss, C. I., 1970, Statistics in Biology: Statical Methods for Research in the Natural Science, Vol. 2, McGraw Hill Book Company, New York, U. S. A., 639 p.

Bonner, F. T., 1973, "Storing Red Oak Acorns", Tree Planters Notes, 24(3):12-13.

Carrillo, S. A.; Patiño, V. F. y Talavera, A. I., 1980, "El Contenido de Humedad en Semillas de 7 Especies de Pinus y una de Abies Bajo Almacenamiento y su Relación con el Porcentaje de Germinación", Ciencia Forestal, 24(5):39-48.

Chin, H. E.; Aziz, M.; Ang, B. B. and Hamzah, S., 1981, "The Effect of Moisture and Temperature on the Ultrastructure and Viability of Seeds of Hevea brasiliensis", Seed Sci. & Technol., 9(2):411-422.

Chou, Y., 1977, Análisis Estadístico, Tr. V. Agut Armer, 2a ed., Interamericana, México, 808 p.

Copeland, L. O., 1976, Seed Longevity and Deterioration in: Principles of Seed Science and Technology, Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota, U. S. A., pp. 185-212.

E. U. A. Depto. of Agriculture, 1984, Semillas, Tr. Antonio Marino y Pánfilo Rodriguez, CECSA, México, pp. 622 -655.

Edwards, D. G. W., 1980, Collection, Processing, Storage and Testing of Abies Seeds, True Fir Symposium Biology and Manajement on the Pacific Northvest, Seattle, U. S. A., 43 p.

Ellis, R. H.; Osei-Bonsu, K. and Roberts, E. H., 1982, "The Influence of Genotype, Temperature and Moisture on Seed Longevity in Chickpea, Cowpea and Soya Bean", Ann. Bot., 50(1):69-82.

_____ and Roberts, E. H., 1980a, "Improved Equations for the Prediction of Seed Longevity", Ann. Bot., 45(1):13-30.

_____, 1980b, "The Influence of Temperature and Moisture on Seed Viability Period in Barley (Hordeum distichum L.), Ann. Bot., 45(1):31-37.

_____, 1981, "The Quantification of Ageing and Survival in Orthodox Seeds", Seed Sci. & Technol., 9(2):373-409.

Ginzo, H. D., 1979, "Fisiología de la Germinación", Fisiología Vegetal, Sivori, D. (Ed.)-Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina, pp. 609-636.

Hartman, H. T. y Kester, D., 1980, Propagación de Plantas: Principios y Prácticas, Tr. A. Marino Ambrosio, CECSA, México, pp. 75-236.

Heydecker, W., 1972, "Vigour", Viability of Seeds, Roberts, E. H. (Ed.), Chapman and Hall, London, pp. 209-252.

Heydecker, W. and Coolbear, P., 1977, "Seed Treatments for Improved Performance-Survey and Attempted Prognosis", Seed Sci. & Technol., 5(2):353-425.

Hill, J. A., 1976, "Viability of Several Species of Conifer Seeds After Long Term Storage", Tree Planters Notes, 27(2):2-3.

Infante, G. S. y Calderón, A. L., 1980, Manual de Análisis Probit, Colegio de Postgraduados, Centro de Estadística y Cálculo, Chapingo, México, 107 p.

Infante, G. S. y Zárate de Lara, G. P., 1984, Métodos Estadísticos: Un Enfoque Interdisciplinario, Ed. Trillas, México, pp. 463-533.

I. S. T. A., 1976, Reglas Internacionales para Ensayos de Semillas, Tr. Luis Martínez, et al, I. N. S. P. V., Madrid, España, 184 p.

Kendall, M. G., 1960, A Dictionary of Statistical Terms, 2a ed., Ed. Hafner Publishing Company, New York, 575 p.

Li, C. C., 1977, Introducción a la Estadística Experimental, Tr. Griselda Ribó, Ed. Omega, Barcelona, España, 496 p.

Mackay, D. B., 1972, "The Measurement of Viability", Viability of Seeds, Roberts, E. H. (Ed.), Chapman and Hall, London, pp. 173-208.

Maguire, J. D., 1977, "Seed Quality and Germination", The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination, Khan, A. A. (Ed.), Amsterdan: North-Holland, pp. 219-227.

Moore, F. D. and Roos, E. E., 1982, "Determining Differences in Viability Loss Rates During Seed Storage", Seed Sci. & Technol., 10(2):283-300.

Moreno, C. P. B., 1973, Latencia y Viabilidad de Semillas de Vegetación Primaria, Tesis: Biólogo, Fac. de Ciencias, UNAM, México, 85 p.

Moreno, C. P. B., 1976, "Viabilidad de Semillas de Arboles Tropicales y Templados: Una Revisión Bibliográfica", Investigaciones Sobre la Regeneración de Selvas Altas en Veracruz, México, A. Gomez-Pompa, et al (Ed.), CECSA, México, pp. 471-526.

Nellist, M. E., 1981, "Predicting the Viability of Seeds Dried with Heated Air", Seed Sci. & Technol., 9(2):439-455.

Ostle, B., 1965, Estadistica Aplicada, Tr. Serna Valdivia, Ed. Limusa, México, 629 p.

Patiño, V. F.; Garza, L. M., de la; Villagomez, A. Y.; Talavera, A. I. y Camacho, M. F., 1983, "Guía Para la Recolección y Manejo de Semillas de Especies Forestales", Bol. Div. Inst. Nal. Invest. For., No 63, México.

Roberts, E. H., 1972, "Storage, Environment and the Control of Viability", Viability of Seeds, Roberts, E. H. (Ed.), Chapman and Hall, London, pp. 14-58.

Roberts, E. H., 1979, "Seed Deterioration and Loss of Viability", Advances in Research and Technology of Seeds, Part. 4, pp. 25-42.

_____, 1981, "Physiology of Ageing and its Application to Drying and Storage", Seed Sci. & Technol., 9(2): 359-372.

Sokal, R. R. y Rohlf, F. J., 1979, Biometría: Principios y Métodos en la Investigación Biológica, Tr. M. Lahoz León, H. Blume Ediciones, Madrid, España, 832 p.

Tamari, C., 1978, "Critical Water Content for Survival of Quercus Acorns", (proporcionado por Ing. Francisco Camacho, I. N. I. F.).

Thomson, B. F., 1981, "Principios de Almacenamiento para Semillas de Arboles Tropicales", Public. Esp. Inst. Nal. Invest. For., México, 35(1):223-233.

Vega, E. C.; Patiño, V. F. y Rodriguez, P. A., 1981, "Viabilidad de Semillas en 72 Especies Forestales Tropicales Almacenadas al Medio Ambiente", Public. Esp. Inst. Nal. Invest. For., México, 35(1):325-345.

Wang, B. S. P., 1974, Tree-Seed Storage, Department of the Environment, Canadian Forestry Service, Ottawa, Public. No 1335, 32 p.

VII. APENDICE

Cuadro 1a. Origen, fecha de recolección y tiempo transcurrido de la recolección al primer análisis (PA), último análisis con germinación (UAG), primer análisis con germinación definitiva de cero (PAGDC) y último análisis realizado (UAR) de 17 especies forestales, expresado en años (A) y meses (M).

Lote	Origen	Fecha de Recolección	PA		UAG		PAGDC		UAR	
			A	M	A	M	A	M	A	M
Especie: *Abies concolor*										
561	"El Observatorio", Sierra San Pedro Martir, BCN.	IV-1977	--	1	3	1	--	--	3	1
Especie: *Abies oaxacana*										
121	Campamento LLano de Flores, Oax.	XI-1964	--	2	1	7	--	--	1	7
Especie: *Abies religiosa*										
79	Camino México-Morelia; Km 260.	XI-1963	--	3	8	4	8	11	11	3
92	Km 15, entre Tlaxco y Chignahuapan.	II-1964	--	5	8	2	--	--	8	2
140	Carr. México-Toluca; Km 30.	I-1965	--	9	11	3	--	---	11	3
151	Campo Exp. San Juan Tetla, Pue.	II-1965	--	8	9	7	11	2	11	2
178	Amecameca-Tlamacas, Km 77.	X-1965	--	11	9	11	10	4	10	6
213	Carretera a Tlamacas, Zumpango 1.	XI-1966	--	1	2	5	4	--	9	5
220	Camino Tres Marías-Chalma, Km 170.	I-1967	--	4	7	8	9	3	9	3
355	Km 2, Desvñ. Sultepec-Nevado de Toluca.	I-1971	--	9	6	9	8	3	11	3
Especie: *Abies religiosa* var. *emarginata*										
80	Mil Cumbres, Km 244, Carr. México-Morelia	XI-1963	--	3	5	5	7	5	8	4

Continuación del cuadro 1a.

Lote	Origen	Fecha de Recolección	PA		UAG		PAGDC		UAR	
			A	M	A	M	A	M	A	M
Especie: Abies vejari										
14	San Antonio de las Alazanas, Saltillo, Coah.	XI-1961	2	1	13	2	--	--	13	2
182	" " " " " " "	X-1965	--	3	4	10	--	--	4	10
186	" " " " " " "	X-1965	--	10	12	5	--	--	12	5
294	" " " " " " "	VIII-1969	--	8	5	--	--	--	5	--
Especie: Cupressus Lindleyi										
43	Carr. México-Cuernavaca, Km 28	I-1963	--	2	8	--	--	--	8	--
Especie: Liquidambar styraciflua										
1	Uruapan, Mich.	III-1961	2	9	7	10	9	--	10	9
363	" "	X-1971	--	4	3	4	--	--	3	4
Especie: Pinus Engelmanni										
19	Bosque de Chihuahua	I-1961	2	11	21	1	--	--	21	1
223	Carr. Durango-Mazatlán	II-1967	--	2	3	8	--	--	3	8
224	" " "	II-1967	--	9	5	8	--	--	5	8
Especie: Pinus Greggii										
9	Molango, Hgo.	X-1961	2	--	16	6	--	--	16	6
44	Molango, Hgo.	XI-1962	--	3	12	3	--	--	12	3
170	Atezcan, Hgo.	IX-1965	--	1	9	5	--	--	9	5
174	Km 225, Carr. México-Laredo	X-1965	--	2	11	6	--	--	11	6
382	Carr. San Juan del Río, Qro.-Xilitla, SLP.	I-1972	--	3	5	8	--	--	5	8
401	Laguna Azteca a 6 Kms de Molango, Hgo.	I-1973	--	7	7	4	--	--	7	4

Continuación del cuadro 1a.

Lote	Origen	Fecha de Recolección	PA		UAG		PAGDC		UAR	
			A	M	A	M	A	M	A	M
Especie: Pinus Hartwegii										
177	Carr. Amecameca-Tlamacas	X-1965	--	9	6	1	--	--	6	1
191	Tlamacas, Méx.	I-1966	--	6	4	6	--	--	4	6
Especie: Pinus leiophylla										
119	Km 51, Carr. Tlamacas-Amecameca	X-1964	--	9	6	5	--	--	6	5
192	Km 60, Carr. vieja México-Cuernavaca	I-1966	--	5	6	9	--	--	6	9
193	Km 28, Atizapán-Villa del Carbón	I-1966	--	5	5	11	--	--	5	11
Especie: Pinus michoacana										
244	Km 15, camino Tlaxiaco de Putla, Oax.	XI-1967	--	8	7	4	--	--	7	4
252	Area semillera, Barranca de Cupatitzio	XII-1967	--	4	5	2	--	--	5	2
264	Chiriquitas, Mich.	I-1968	1	10	7	4	--	--	7	4
317	A 4 Kms de Dos Aguas, rumbo al Varaloso	XI-1969	--	6	5	4	--	--	5	4
324	Km 10, camino Teruto-Tancitaro, Mich.	XI-1969	--	6	4	3	--	--	4	3
Especie: Pinus Montezumae										
126	Km 50, Autopista México-Puebla	XI-1964	--	4	13	4	--	--	13	4
127	Km 61, Carr. México-Texcoco-Calpulalpan	XI-1964	--	7	14	4	--	--	14	4
131	Km 30, Autopista México-Puebla	XI-1964	--	7	12	10	--	--	12	10
132	Carr. México-Toluca, Km 13.	I-1965	--	5	10	10	--	--	10	10
251	San Juan Tetla, Pue,	XII-1967	1	4	6	9	--	--	6	9
251A	" " " "	XII-1967	1	4	5	8	--	---	5	8

Continuación del cuadro 1a.

Lote	Origen	Fecha de Recolección	PA		UAG		PAGDC		UAR	
			A	M	A	M	A	M	A	M
Especie: Pinus Montezumae										
258	San Juan Tetla, Pue.	I-1968	--	3	2	11	--	--	2	11
260	" " " "	I-1968	1	3	11	1	--	--	11	1
308	Km 277, Carretera a Veracruz	X-1969	--	7	10	6	--	--	10	6
349	Km 304, Carr. México-Veracruz	X-1969	--	7	4	9	--	--	4	9
350	San Juan Tetla, Pue.	XII-1970	--	10	8	--	--	--	8	--
Especie: Pinus Oocarpa										
185	Km 20, Carr. Ario de Rosales-La Huacana	XI-1965	--	2	5	6	--	--	5	6
188	Km 90, Carr. Uruapan-Apatzingán	XI-1965	--	4	5	10	--	--	5	10
189	Km 22, Carr. Zitacuaro-Susupaeto, Mich.	IX-1965	--	1	6	1	--	--	6	1
215	Tepeoco, Hgo.	XI-1966	--	10	6	--	--	--	6	--
269	Camino a Valle de Bravo, Avandaro, Méx.	II-1969	--	6	5	8	--	--	5	8
367	Lagunas de Monte Bello, Chis.	I-1972	--	3	8	4	--	--	8	4
376	Ario de Rosales, Mich.	II-1972	--	2	12	--	--	--	12	--
378	Carr. Cd. Guzmán-Mazamitla, Jal.	II-1972	--	2	12	--	--	--	12	--
398	Valle de Bravo, Méx.	I-1973	--	6	8	--	--	--	8	--
534	La Codicia, Mpio. Ocosingo, Chis.	I-1977	--	1	7	--	--	--	7	--
Especie: Pinus patula										
216b	Km 13, Camino Zacualtipán-Molango	XI-1966	--	9	5	11	--	--	5	11
402	Carr. Zacualtipán-Molango	I-1973	--	3	9	6	--	--	9	6
403	Carr. México-Jacala	I-1973	--	7	10	9	--	--	10	9

Continuación del cuadro 1a

Lote	Origen	Fecha de Recolección	PA		UAG		PAGDC		UAR	
			A	M	A	M	A	M	A	M
Especie: *Pinus rudis*										
128	Carr. México-Texcoco-Calpulalpan	XI-1964	--	8	7	6	--	--	7	6
Especie: *Pinus Strobus chiapensis*										
50	Chiquihuitla, Oax.	IX-1961	2	1	8	6	9	3	10	10
226	Km 11, camino Bochil-Pichucalco, Chis.	VIII-1967	1	8	5	1	--	--	5	1
227	Km 20, camino Bochil-Simojovel, Chis.	VIII-1967	--	6	4	3	--	--	4	3
231	Km 5.5, camino Tlapacoyan-Cuitzalón.	VIII-1967	--	6	2	1	--	--	2	1
295	Km 5, camino Tlapacoyan-Altotonga.	IX-1969	--	5	5	6	--	--	5	6

Cuadro 2a. Porcentaje de pureza, porcentaje de semillas llenas, número de semillas por kilogramo con impurezas y contenido de húmedad en 17 especies forestales.

Especie	Lote	Pureza (%)	Semillas llenas (%)	Semillas/Kg con Impurezas	Contenido de Humedad (%)
Abies concolor	560	95	33	25 641	
Abies oaxacana	121	99	47	33 767	6.5
Abies religiosa	79	100	57	26 118	7.0
	92	98	30	28 070	5.8
	140	97	25	22 592	6.5
	151	92	47	24 086	6.0
	178	95	44	20 308	7.0
	213	98	42	20 894	6.0
	220	100	70	19 512	5.2
	355	90	61	29 850	5.6
Abies religiosa var. *emarginata*	80	99	58	26 195	6.5
Abies vejari	14	92	47	40 183	5.0
	182	99	57	36 815	6.0
	186	95	64	40 506	7.0
	294	97	9	37 593	5.8
Cupressus Lindleyi	43	84	70	225 080	11.2
Liquidambar styraciflua	1	88	67	191 387	6.1
	363	97	98	284 090	8.8
Pinus Engelmanni	19	99	96	23 125	6.5
	223	100	98	27 943	7.7
	224	98	95	30 423	6.7

Continuación del cuadro 2a.

Especie	Lote	Pureza (%)	Semillas llenas (%)	Semillas/Kg con Impurezas	Contenido de Humedad (%)
Pinus Greggii	9	99	96	85 668	9.1
	44	97	95	79 096	8.0
	170	99	97	98 522	6.9
	174	97	97	68 610	6.5
	382	98	99	83 963	8.8
	401	97	99	83 125	7.3
Pinus Hartwegii	177	100	95	51 947	9.2
	191	99	80	53 120	8.8
Pinus leiophylla	119	97	92	104 575	9.0
	192	95	92	110 041	7.0
	193	99	98	107 962	7.5
Pinus michoacana	244	80	62	25 510	6.0
	252	93	87	30 469	8.7
	264	97	98	33 090	9.2
	317	100	98	49 751	9.1
	324	100	98	45 126	9.6
Pinus Montezumae	126	100	93	47 337	8.0
	127	98	95	48 810	9.2
	131	100	97	45 248	9.7
	132	100	91	46 269	8.8
	251	99	90	44 908	6.9
	251A	99	91	47 664	7.3
	258	99	86	45 228	8.0
	260	99	93	42 426	6.9

Continuación del cuadro 2a.

Especie	Lote	Pureza (%)	Semillas llenas (%)	Semillas/Kg con Impurezas	Contenido de Humedad (%)
Pinus Montezumae	308	99	99	39 603	9.2
	349	99	95	50 301	9.2
	350	99	98	36 697	6.9
Pinus Oocarpa	185	100	98	38 058	8.5
	188	100	97	42 398	7.0
	189	99	97	48 810	10.0
	215	100	97	46 538	7.7
	269	99	98	33 499	7.7
	367	97	98	59 311	5.4
	376	97	97	40 502	7.5
	378	95	97	47 892	9.2
	398	98	94	38 714	6.5
	534	100	99	48 851	5.0
Pinus patula	216b	100	99	103 359	7.7
	402	98	98	111 731	9.2
	403	98	99	109 170	7.5
Pinus rudis	128	100	99	50 156	7.2
Pinus Strobus chiapensis	50	99	80	53 070	8.5
	226	97	94	62 266	8.1
	227	94	97	54 975	9.2
	231	98	93	64 892	10.0
	295	95	98	56 625	9.6

Cuadro 3a. Germinación real del primero y último análisis de germinación y constante en lotes de 17 especies forestales.

Especie	Lote	Germinación Real		Constante
		Primer Análisis	Ultimo Análisis	
Abies concolor	561	6	5	3.33
Abies oaxacana	121	32	28	2.13
Abies religiosa	79	19	0	1.75
	92	19	9	3.33
	140	21	10	4.00
	151	32	0	2.13
	178	37	0	2.27
	213	19	0	2.38
	220	33	0	1.43
	355	46	0	1.64
Abies religiosa var. emarginata	80	28	0	1.72
Abies vejari	14	37	26	2.13
	182	56	24	1.75
	186	41	2	1.56
	294	6	7	11.11
Cupressus lindleyi	43	53	21	1.43
Liquidambar styraciflua	1	55	0	1.49
	363	99	84	1.02
Pinus Engelmanni	19	95	56	1.04
	223	95	85	1.02
	224	87	56	1.05

Continuación del cuadro 3a.

Especie	Lote	Germinación Real		Constante
		Primer Análisis	Último Análisis	
Pinus Greggii	9	68	42	1.04
	44	68	43	1.05
	170	89	44	1.03
	174	94	33	1.03
	382	84	78	1.01
	401	85	58	1.01
Pinus Hartwegii	177	69	63	1.05
	191	63	55	1.25
Pinus leiophylla	119	63	46	1.09
	192	84	76	1.09
	193	94	87	1.02
Pinus michoacana	244	46	62	1.61
	252	83	74	1.15
	264	87	88	1.02
	317	94	89	1.02
	324	93	82	1.02
Pinus Montezumae	126	89	62	1.07
	127	78	55	1.05
	131	91	79	1.03
	132	81	72	1.10
	251	60	41	1.11
	251A	75	57	1.10
	258	81	76	1.16
	260	94	52	1.07

Continuación del cuadro 3a.

Especie	Lote	Germinación Real		Constante
		Primer Análisis	Ultimo Análisis	
Pinus Montezumae	308	94	87	1.01
	349	91	64	1.05
	350	92	86	1.02
Pinus Oocarpa	185	92	88	1.02
	188	92	84	1.03
	189	87	87	1.03
	215	95	71	1.03
	269	93	83	1.02
	367	88	80	1.03
	376	94	82	1.03
	378	91	88	1.03
	398	90	75	1.06
	534	90	84	1.01
Pinus patula	216b	89	80	1.01
	402	91	81	1.02
	403	88	74	1.01
Pinus rudis	128	97	87	1.01
Pinus Strobus chiapensis	50	83	0	1.25
	226	48	2	1.06
	227	48	15	1.03
	231	72	4	1.07
	295	79	40	1.02

TESIS CON.
FALLAS DE ORIGEN

Cuadro 4a. Tabla de Probits. (Tomado de Bliss, 1970).

Table A.3. Probits, normal deviates. 5. Probits of the normal curve in the body of the table correspond to the percentages of cumulative frequency or of response in the margins.

	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
0	—	1.9095	2.1218	2.2522	2.3479	2.4242	2.4879	2.5427	2.5911	2.6344
1	2.6737	2.7096	2.7429	2.7738	2.8027	2.8299	2.8556	2.8797	2.9031	2.9251
2	2.9463	2.9665	2.9859	3.0036	3.0226	3.0399	3.0569	3.0732	3.0890	3.1043
3	3.1192	3.1337	3.1478	3.1616	3.1750	3.1882	3.2009	3.2134	3.2256	3.2376
4	3.2493	3.2608	3.2721	3.2831	3.2940	3.3046	3.3151	3.3253	3.3354	3.3454
5	3.3551	3.3648	3.3742	3.3836	3.3928	3.4018	3.4107	3.4195	3.4282	3.4368
6	3.4452	3.4536	3.4618	3.4699	3.4779	3.4859	3.4937	3.5015	3.5091	3.5167
7	3.5242	3.5316	3.5389	3.5462	3.5534	3.5605	3.5675	3.5745	3.5813	3.5882
8	3.5949	3.6016	3.6083	3.6148	3.6213	3.6278	3.6342	3.6405	3.6468	3.6531
9	3.6592	3.6654	3.6715	3.6775	3.6835	3.6894	3.6953	3.7012	3.7070	3.7127
10	3.7184	3.7241	3.7298	3.7354	3.7409	3.7464	3.7519	3.7574	3.7628	3.7681
11	3.7735	3.7788	3.7840	3.7893	3.7945	3.7996	3.8048	3.8099	3.8150	3.8200
12	3.8250	3.8299	3.8350	3.8399	3.8448	3.8497	3.8545	3.8593	3.8641	3.8689
13	3.8736	3.8783	3.8830	3.8877	3.8923	3.8969	3.9015	3.9061	3.9107	3.9152
14	3.9197	3.9242	3.9286	3.9331	3.9375	3.9419	3.9463	3.9506	3.9550	3.9593
15	3.9636	3.9678	3.9721	3.9763	3.9806	3.9848	3.9890	3.9931	3.9973	4.0014
16	4.0055	4.0096	4.0137	4.0178	4.0218	4.0259	4.0299	4.0339	4.0379	4.0419
17	4.0458	4.0498	4.0537	4.0576	4.0615	4.0654	4.0693	4.0731	4.0770	4.0808
18	4.0846	4.0884	4.0922	4.0960	4.0998	4.1035	4.1073	4.1110	4.1147	4.1184
19	4.1221	4.1258	4.1295	4.1331	4.1367	4.1404	4.1440	4.1476	4.1512	4.1548
20	4.1584	4.1619	4.1655	4.1690	4.1726	4.1761	4.1796	4.1831	4.1866	4.1901
21	4.1936	4.1970	4.2005	4.2039	4.2074	4.2108	4.2142	4.2176	4.2210	4.2244
22	4.2278	4.2312	4.2345	4.2379	4.2412	4.2446	4.2479	4.2512	4.2546	4.2579
23	4.2612	4.2644	4.2677	4.2710	4.2743	4.2775	4.2808	4.2840	4.2872	4.2903
24	4.2937	4.2969	4.3001	4.3033	4.3065	4.3097	4.3129	4.3160	4.3192	4.3224
25	4.3255	4.3287	4.3318	4.3349	4.3380	4.3412	4.3443	4.3474	4.3505	4.3536
26	4.3567	4.3597	4.3628	4.3659	4.3689	4.3720	4.3750	4.3781	4.3811	4.3842
27	4.3872	4.3902	4.3932	4.3962	4.3992	4.4022	4.4052	4.4082	4.4112	4.4142
28	4.4172	4.4201	4.4231	4.4260	4.4290	4.4319	4.4349	4.4378	4.4408	4.4437
29	4.4466	4.4495	4.4524	4.4554	4.4583	4.4612	4.4641	4.4670	4.4698	4.4727
30	4.4756	4.4785	4.4813	4.4842	4.4871	4.4899	4.4928	4.4956	4.4985	4.5013
31	4.5041	4.5070	4.5098	4.5126	4.5155	4.5183	4.5211	4.5239	4.5267	4.5295
32	4.5323	4.5351	4.5379	4.5407	4.5435	4.5462	4.5490	4.5518	4.5546	4.5573
33	4.5601	4.5628	4.5656	4.5684	4.5711	4.5739	4.5766	4.5793	4.5821	4.5848
34	4.5875	4.5903	4.5930	4.5957	4.5984	4.6011	4.6039	4.6066	4.6093	4.6120
35	4.6147	4.6174	4.6201	4.6228	4.6255	4.6281	4.6308	4.6335	4.6362	4.6389
36	4.6415	4.6442	4.6469	4.6495	4.6522	4.6549	4.6575	4.6602	4.6628	4.6655
37	4.6681	4.6708	4.6734	4.6761	4.6787	4.6814	4.6840	4.6866	4.6893	4.6919
38	4.6945	4.6971	4.6998	4.7024	4.7050	4.7076	4.7102	4.7129	4.7155	4.7181
39	4.7207	4.7233	4.7259	4.7285	4.7311	4.7337	4.7363	4.7389	4.7415	4.7441

Abridged from the table by A. Hald and S. A. Sinkbak in Statistical Tables and Formulas (Wiley, 1950, pp. 46–47), published by Almqvist and Wiksell, Stockholm, and John Wiley and Sons, New York, by permission of the authors and publishers.

Table A.3 *(continued)*

	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
40	4.7467	4.7492	4.7518	4.7543	4.7570	4.7596	4.7622	4.7647	4.7673	4.7699
41	4.7725	4.7750	4.7776	4.7802	4.7827	4.7853	4.7879	4.7904	4.7930	4.7955
42	4.7981	4.8007	4.8032	4.8058	4.8083	4.8109	4.8134	4.8160	4.8185	4.8211
43	4.8236	4.8262	4.8287	4.8313	4.8338	4.8363	4.8389	4.8414	4.8440	4.8465
44	4.8490	4.8516	4.8541	4.8566	4.8592	4.8617	4.8642	4.8668	4.8693	4.8718
45	4.8743	4.8769	4.8794	4.8819	4.8844	4.8870	4.8895	4.8920	4.8945	4.8970
46	4.8996	4.9021	4.9046	4.9071	4.9096	4.9122	4.9147	4.9172	4.9197	4.9222
47	4.9247	4.9272	4.9298	4.9323	4.9348	4.9373	4.9398	4.9423	4.9448	4.9473
48	4.9498	4.9524	4.9549	4.9574	4.9599	4.9624	4.9649	4.9674	4.9699	4.9724
49	4.9749	4.9774	4.9799	4.9825	4.9850	4.9875	4.9900	4.9925	4.9950	4.9975
50	5.0000	5.0025	5.0050	5.0075	5.0100	5.0125	5.0150	5.0175	5.0201	5.0226
51	5.0251	5.0276	5.0301	5.0326	5.0351	5.0376	5.0401	5.0426	5.0451	5.0476
52	5.0502	5.0527	5.0552	5.0577	5.0602	5.0627	5.0652	5.0677	5.0702	5.0728
53	5.0753	5.0778	5.0803	5.0828	5.0853	5.0879	5.0904	5.0929	5.0954	5.0979
54	5.1004	5.1030	5.1055	5.1080	5.1105	5.1130	5.1156	5.1181	5.1206	5.1231
55	5.1257	5.1282	5.1307	5.1332	5.1358	5.1383	5.1408	5.1434	5.1459	5.1484
56	5.1510	5.1535	5.1560	5.1586	5.1611	5.1637	5.1662	5.1687	5.1713	5.1738
57	5.1764	5.1789	5.1815	5.1840	5.1866	5.1891	5.1917	5.1942	5.1968	5.1993
58	5.2019	5.2045	5.2070	5.2096	5.2121	5.2147	5.2173	5.2198	5.2224	5.2250
59	5.2275	5.2301	5.2327	5.2353	5.2378	5.2404	5.2430	5.2456	5.2482	5.2508
60	5.2533	5.2559	5.2585	5.2611	5.2637	5.2663	5.2689	5.2715	5.2741	5.2767
61	5.2793	5.2819	5.2845	5.2871	5.2898	5.2924	5.2950	5.2976	5.3002	5.3029
62	5.3055	5.3081	5.3107	5.3134	5.3160	5.3186	5.3213	5.3239	5.3266	5.3292
63	5.3319	5.3345	5.3372	5.3398	5.3425	5.3451	5.3478	5.3505	5.3531	5.3558
64	5.3585	5.3611	5.3638	5.3665	5.3692	5.3719	5.3745	5.3772	5.3799	5.3826
65	5.3853	5.3880	5.3907	5.3934	5.3961	5.3989	5.4016	5.4043	5.4070	5.4097
66	5.4125	5.4152	5.4179	5.4207	5.4234	5.4261	5.4289	5.4316	5.4344	5.4372
67	5.4399	5.4427	5.4454	5.4482	5.4510	5.4538	5.4565	5.4593	5.4621	5.4649
68	5.4677	5.4705	5.4733	5.4761	5.4789	5.4817	5.4845	5.4873	5.4902	5.4930
69	5.4959	5.4987	5.5015	5.5044	5.5072	5.5101	5.5129	5.5158	5.5187	5.5215
70	5.5244	5.5273	5.5302	5.5330	5.5359	5.5388	5.5417	5.5446	5.5476	5.5505
71	5.5534	5.5563	5.5592	5.5622	5.5651	5.5681	5.5710	5.5740	5.5769	5.5799
72	5.5828	5.5858	5.5888	5.5918	5.5948	5.5978	5.6008	5.6038	5.6068	5.6098
73	5.6128	5.6158	5.6189	5.6219	5.6250	5.6280	5.6311	5.6341	5.6372	5.6403
74	5.6433	5.6464	5.6495	5.6526	5.6557	5.6588	5.6620	5.6651	5.6682	5.6713
75	5.6745	5.6776	5.6808	5.6840	5.6871	5.6903	5.6935	5.6967	5.6999	5.7031
76	5.7063	5.7095	5.7128	5.7160	5.7192	5.7225	5.7257	5.7290	5.7323	5.7356
77	5.7388	5.7421	5.7454	5.7488	5.7521	5.7554	5.7588	5.7621	5.7655	5.7688
78	5.7722	5.7756	5.7790	5.7824	5.7858	5.7892	5.7926	5.7961	5.7995	5.8030
79	5.8064	5.8099	5.8134	5.8169	5.8204	5.8239	5.8274	5.8310	5.8345	5.8381

Table A.3 *(contin*

	0.0	
80	5.8416	5
81	5.8779	5
82	5.9154	5
83	5.9542	5
84	5.9945	5
85	6.0364	6
86	6.0803	6
87	6.1264	6
88	6.1750	6
89	6.2265	6
90	6.2816	6
91	6.3408	6
92	6.4051	6
93	6.4758	6
94	6.5548	6
95	6.6449	6
96	6.7507	6
97	6.8808	6.89
98.0	7.0537	7.05
98.1	7.0749	7.07
98.2	7.0969	7.0
98.3	7.1201	7.1
98.4	7.1444	7.1
98.5	7.1701	7.
98.6	7.1973	7.
98.7	7.2262	7.
98.8	7.2571	7.
98.9	7.2904	7.29
99.0	7.3263	7.3
99.1	7.3656	7.
99.2	7.4089	7.
99.3	7.4573	7.
99.4	7.5121	7.5
99.5	7.5758	7.5
99.6	7.6521	7.6
99.7	7.7478	7.7
99.8	7.8782	7.8
99.9	8.0902	8.1

From C. I. Bliss (1
134-167. Reprinted
cultural and Medic
and publishers.

0.7	0.8	0.9
4.7647	4.7673	4.7699
4.7904	4.7930	4.7955
4.8160	4.8185	4.8211
4.8414	4.8440	4.8465
4.8668	4.8693	4.8718
4.8920	4.8945	4.8970
4.9172	4.9197	4.9222
[illegible]	4.9448	4.9473
[illegible]	4.9699	4.9724
4.9925	4.9950	4.9975
5.0175	5.0201	5.0226
5.0426	5.0451	5.0476
5.0677	5.0702	5.0728
5.0929	5.0954	5.0979
5.1181	5.1206	5.1231
5.1434	5.1459	5.1484
5.1687	5.1713	5.1738
5.1942	5.1968	5.1993
5.219[illegible]	[illegible]224	5.2250
5.2456	5.2482	5.2508
5.2715	5.2741	5.2767
5.2976	5.3002	5.3029
5.3239	5.3266	5.3292
5.3505	5.3531	5.3558
5.3772	5.3799	5.3826
[illegible]	5.4070	5.4097
[illegible]	5.4344	5.4372
5.4593	5.4621	5.4649
5.4874	5.4902	5.4930
5.5158	5.5187	5.5215
5.5446	5.5476	5.5505
5.5740	5.5769	5.5799
5.6038	5.6068	5.6098
5.6341	5.6372	5.6403
5.6651	5.6682	5.6713
5.6967	5.6999	5.7031
5.7290	5.7323	5.7356
5.7621	5.7655	5.7688
5.7961	5.7995	5.8030
5.8310	5.8345	5.8381

Table A.3 (*continued*)

	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
80	5.8416	5.8452	5.8488	5.8524	5.8560	5.8596	5.8633	5.8669	5.8705	5.8742
81	5.8779	5.8816	5.8853	5.8890	5.8927	5.8965	5.9002	5.9040	5.9078	5.9116
82	5.9154	5.9192	5.9230	5.9269	5.9307	5.9346	5.9385	5.9424	5.9463	5.9502
83	5.9542	5.9581	5.9621	5.9661	5.9701	5.9741	5.9782	5.9822	5.9863	5.9904
84	5.9945	5.9986	6.0027	6.0069	6.0110	6.0152	6.0194	6.0237	6.0279	6.0322
85	6.0364	6.0407	6.0450	6.0494	6.0537	6.0581	6.0625	6.0669	6.0714	6.0758
86	6.0803	6.0848	6.0893	6.0939	6.0985	6.1031	6.1077	6.1123	6.1170	6.1217
87	6.1264	6.1311	6.1359	6.1407	6.1455	6.1503	6.1552	6.1601	6.1650	6.1700
88	6.1750	6.1800	6.1850	6.1901	6.1952	6.2004	6.2055	6.2107	6.2160	6.2212
89	6.2265	6.2319	6.2372	6.2426	6.2481	6.2536	6.2591	6.2646	6.2702	6.2759
90	6.2816	6.2873	6.2930	6.2988	6.3047	6.3106	6.3165	6.3225	6.3285	6.3346
91	6.3408	6.3469	6.3532	6.3595	6.3658	6.3722	6.3787	6.3852	6.3917	6.3984
92	6.4051	6.4118	6.4187	6.4255	6.4325	6.4395	6.4466	6.4538	6.4611	6.4684
93	6.4758	6.4833	6.4909	6.4985	6.5063	6.5141	6.5220	6.5301	6.5382	6.5464
94	6.5548	6.5632	6.5718	6.5805	6.5893	6.5982	6.6072	6.6164	6.6258	6.6352
95	6.6449	6.6546	6.6646	6.6747	6.6849	6.6954	6.7060	6.7169	6.7279	6.7392
96	6.7507	6.7624	6.7744	6.7866	6.7991	6.8119	6.8250	6.8384	6.8522	6.8663
97	6.8808	6.8957	6.9110	6.9268	6.9431	6.9600	6.9774	6.9954	7.0141	7.0335
98.0	7.0537	7.0555	7.0579	7.0600	7.0621	7.0642	7.0663	7.0684	7.0706	7.0727
98.1	7.0749	7.0770	7.0792	7.0814	7.0836	7.0858	7.0880	7.0902	7.0924	7.0947
98.2	7.0969	7.0992	7.1015	7.1038	7.1061	7.1084	7.1107	7.1130	7.1154	7.1177
98.3	7.1201	7.1224	7.1248	7.1272	7.1297	7.1321	7.1345	7.1370	7.1394	7.1419
98.4	7.1444	7.1469	7.1494	7.1520	7.1545	7.1571	7.1596	7.1622	7.1648	7.1675
98.5	7.1701	7.1727	7.1754	7.1781	7.1808	7.1835	7.1862	7.1890	7.1917	7.1945
98.6	7.1973	7.2001	7.2029	7.2058	7.2086	7.2115	7.2144	7.2173	7.2203	7.2232
98.7	7.2262	7.2292	7.2322	7.2353	7.2383	7.2414	7.2445	7.2476	7.2508	7.2539
98.8	7.2571	7.2603	7.2636	7.2668	7.2701	7.2734	7.2768	7.2801	7.2835	7.2869
98.9	7.2904	7.2938	7.2973	7.3009	7.3044	7.3080	7.3116	7.3152	7.3189	7.3226
99.0	7.3263	7.3301	7.3339	7.3378	7.3416	7.3455	7.3495	7.3535	7.3575	7.3615
99.1	7.3656	7.3698	7.3739	7.3781	7.3824	7.3867	7.3911	7.3954	7.3999	7.4044
99.2	7.4089	7.4135	7.4181	7.4228	7.4276	7.4324	7.4372	7.4422	7.4471	7.4522
99.3	7.4573	7.4624	7.4677	7.4730	7.4783	7.4838	7.4893	7.4949	7.5006	7.5063
99.4	7.5121	7.5181	7.5241	7.5302	7.5364	7.5427	7.5491	7.5556	7.5622	7.5690
99.5	7.5758	7.5828	7.5899	7.5972	7.6045	7.6121	7.6197	7.6276	7.6355	7.6437
99.6	7.6521	7.6606	7.6693	7.6783	7.6874	7.6968	7.7065	7.7164	7.7266	7.7370
99.7	7.7478	7.7589	7.7703	7.7822	7.7944	7.8070	7.8202	7.8338	7.8480	7.8627
99.8	7.8782	7.8943	7.9112	7.9290	7.9478	7.9677	7.9889	8.0115	8.0357	8.0618
99.9	8.0902	8.1214	8.1550	8.1917	8.2389	8.2905	8.3528	8.4316	8.5401	8.7190

From C. I. Bliss (1935), The calculation of the dosage-mortality curve, *Ann. Appl. Biol.* **22**: 134–167. Reprinted from Table IX of Fisher and Yates, "Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research," Oliver & Boyd Ltd., Edinburgh, by permission of the authors and publishers.

INDICE DE FIGURAS

Págs.