

00345
7



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

ECOLOGÍA FISIOLÓGICA DE LA GERMINACIÓN
DE LAS CACTÁCEAS DEL GÉNERO *LOPHOPHORA*.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGÍA VEGETAL)

PRESENTA

ANTONIA TRUJILLO HERNÁNDEZ.

DIRECTORA DE TESIS: DRA. ALMA DELFINA LUCIA OROZCO SEGOVIA

MÉXICO, D.F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

OCTUBRE 2002



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Ecología Fisiológica del Instituto de Ecología de la UNAM y fue apoyado por CONACYT proyecto G0011-N.

Al Dr. Carlos Vázquez Yanes (q. p. d.) por su asesoría en el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Alma Delfina Lucía Orozco Segovia por su valiosa asesoría, interés y dedicación para concluir este trabajo.

A la Dra. Alicia Enriqueta Brechu Franco y el Dr. Josué Abisaí García Mendoza por sus sugerencias durante el desarrollo de este trabajo y sus comentarios en la revisión final.

Al Dr. José Alejandro Zavala Hurtado por la revisión y comentarios para mejorar este trabajo.

A la M. en C. Mariana Rojas Aréchiga por la revisión, comentarios y apoyo técnico en la realización de este trabajo.

A la Dra. Leia Akcelrad Lerner de Scheinvar por la sugerencia de trabajar con este género.

A la M. en C. María Esther Sánchez Coronado por su apoyo técnico y el interés mostrado durante el desarrollo de este trabajo.

A la M. en C. María Graciela Molina González por su invaluable apoyo en los muestreos de campo.

Al M. en C. Gerardo Ortiz Montiel por su colaboración en la ubicación de *L. williamsii* y su ayuda incondicional durante el desarrollo de este trabajo.

Al M. en C. Salvador Arias Montes por su colaboración en la ubicación de *L. diffusa*.

A la M. en C. Margarita Reyes Salas, encargada del laboratorio de microscopía electrónica del Instituto de Geología, por su asesoría y apoyo técnico.

Al Biol. Felipe Nepamuceno Martínez, del laboratorio de germoplasma del I.N.I.F.A.P., por su asesoría y apoyo técnico.

Al M. en C. Ángel Durán Díaz y Biol. Agustín Vargas Vera por su apoyo en la parte estadística.

A mis hermanos: Alfredo, Gabi, Adriana, Lucía y Tere por su colaboración en las salidas al campo.

A mis amigos y compañeros de trabajo que me apoyaron de diversas formas durante la realización de este trabajo: Martha Salcedo A., Manuel Mandujano P., Alberto Arriaga F., Diana Herrera R. y Claudia Huerta P.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

	Página
Agradecimientos	i
Resumen	ii
Índice general	iii
Índice de figuras y cuadros	v
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos Generales	3
1.2. Objetivos Específicos	3
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Aspectos Históricos del Género <i>Lophophora</i>	4
3. MATERIAL BIOLÓGICO	6
3.1. Distribución del género	6
3.2. Clima	6
3.3. Ecología de las poblaciones	6
3.4. Morfología y Reproducción	7
3.5. Características del fruto y dispersión de semillas	8
3.6. Características de la semilla	8
3.7. Cultivo	8
3.8. <i>Lophophora diffusa</i>	9
3.9. <i>Lophophora williamsii</i>	11
4. LONGEVIDAD Y CONSERVACIÓN DE SEMILLAS	12
4.1. Factores que afectan el almacenamiento	14
4.1.1. Viabilidad	14
4.1.2. Latencia	14
4.1.3. Humedad y Temperatura	15
5. GERMINACIÓN	16
5.1. Tipos de Latencia	16
5.2. Factores Ambientales	19
5.2.1. Temperatura	19
5.2.2. Luz	20
5.3. Germinación en Cactáceas	21

En la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM se ha depositado el presente trabajo para su difusión en formato electrónico e impreso.
Nombre: ANTONIA TRUJILLO HERNÁNDEZ
Fecha: 25 octubre del 2002
Firma: [Firma]

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.3.1. Cubierta seminal en cactáceas	24
6. MATERIALES Y MÉTODOS	25
6.1. Área de Colecta	25
6.2. Recolecta de frutos y semillas	25
6.2.1. Caracterización física de los frutos y semillas	25
6.3. Procedimientos generales para los tratamientos de germinación	27
6.4. Tratamientos preliminares	27
6.4.1. Hidratación de las semillas	27
6.4.2. Escarificación ácida	27
6.4.3. Ácido giberélico	27
6.5. Germinación	28
6.6. Requerimientos germinativos de semillas de <i>L. diffusa</i> y de los morfos de <i>L. williamsii</i>	28
6.7. Viabilidad por rayos X	28
6.8. Longevidad en condiciones de almacenamiento	29
6.9. Análisis de Resultados	30
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
7.1. Floración y Fructificación	32
7.2. Semillas colectadas	34
7.3. Características físicas del fruto	36
7.4. Características físicas de las semillas	37
7.4.1. Tamaño	37
7.4.2. Color	39
7.4.3. Cubierta seminal	39
7.5. Hidratación de las semillas	41
7.6. Germinación	43
7.7. Requerimientos germinativos de semillas de <i>L. diffusa</i> y de los morfos de <i>L. williamsii</i>	51
7.8. Viabilidad por rayos X	58
7.9. Longevidad en condiciones de almacenamiento	60
8. CONCLUSIONES	65
9. BIBLIOGRAFÍA	66



Índice de figuras y cuadros

Figuras

	Página
Fig.1. Registro de Precipitación y temperatura	26
Fig.2. Diagrama del Proceso de almacenamiento	31
Fig.3. Distribución de las frecuencias del tamaño de las semillas	38
Fig.4. Fotografías de las semillas al M. E. B.	40
Fig.5. Porcentaje de imbibición de las semillas	42
Fig.6. Porcentaje de germinación acumulada de <i>L. diffusa</i>	44
Fig.7. Porcentaje de germinación total de <i>L. diffusa</i>	45
Fig.8. Porcentaje de germinación acumulada de <i>L. williamsii</i>	48
Fig.9. Porcentaje de germinación total de <i>L. williamsii</i>	49
Fig.10. Porcentaje de germinación de las semillas de <i>L. diffusa</i>	52
Fig.11. Porcentaje de germinación de los morfos de semillas de <i>L. williamsii</i>	55
Fig.12. Porcentaje de viabilidad de <i>L. diffusa</i> y <i>L. williamsii</i> por rayos X	59
Fig.13. Longevidad de las semillas <i>L. diffusa</i> en condiciones de almacenamiento	61
Fig.14. Longevidad de las semillas <i>L. williamsii</i> en condiciones de almacenamiento	62

Cuadros

Cuadro 1. Eventos fenológicos	32
Cuadro 2. Producción de semillas	34
Cuadro 3. Características del fruto	36
Cuadro 4. Características de las semillas	37

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

Ecología fisiológica de la germinación de las cactáceas del género *Lophophora*.

Con el fin de evaluar la capacidad germinativa, heteromorfismo y longevidad de las semillas de *Lophophora diffusa* y *Lophophora williamsii* (Cactaceae), se realizó el registro de la época de floración, fructificación y producción de semillas en Peñamiller, Querétaro para *L. diffusa* y en El Huizache, San Luis Potosí para *L. williamsii*. Se recolectaron semillas durante varios periodos, las cuales se usaron para determinar las características de la semilla: tipo de cubierta seminal en el microscopio electrónico de barrido, peso y tamaño. Con este último se determinó heteromorfismo de las semillas, el resto de las semillas se utilizaron para los experimentos de germinación. Se colocaron semillas escarificadas con H_2SO_4 0.2N, semillas con ácido giberélico 500 ppm y un grupo control, en agar al 1%, se incubaron a 15°, 25°, 30° y 15/30° C, con fotoperíodo de 12/12 h luz / oscuridad con DFF= $33.21 \text{ umol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, a las semillas no germinadas se les determinó su viabilidad con placas de rayos X con exposición de 30s a 20kvp. El requerimiento germinativo para los morfos de semillas se determinó a 25° C con semillas escarificadas (H_2SO_4 0.2N), semillas con ácido giberélico 500 ppm y un grupo control; para el efecto de la temperatura se colocaron a 15°, 25° y 15/30° C, ambos tratamientos con fotoperíodo de 12/12 h luz/ oscuridad y oscuridad constante. Para evaluar la longevidad en almacenamiento, las semillas se sometieron a 2 procesos de deshidratación: con silica gel y con soluciones saturadas de NaCl (75% H. R.), $Ca(NO_3)_4 \cdot 4H_2O$ (50% H. R.), $MgCl_2$ (30% H. R.) y LiCl (12% H. R.), y se almacenaron a $0 \pm 4^\circ$ C. Los resultados indicaron que los eventos fenológicos para ambas especies se presentan en periodos similares y que la producción de semillas podría estar influenciada por las condiciones ambientales. Existen diferencias en la cubierta, el peso y el tamaño de las semillas, este último mostró dos morfos de semillas para *L. williamsii*. La respuesta germinativa de *L. diffusa* fue óptima a 25° C con escarificación y ácido giberélico, una porción de las semillas presentó latencia condicionada a la temperatura de 15° C, a la oscuridad su germinación es prácticamente nula. *L. williamsii* presentó una gran capacidad para germinar en las cuatro temperaturas, la aplicación de giberelinas incrementó su germinación a 15° C y la escarificación la redujo de manera considerable. La observación con rayos X mostró un mayor porcentaje de semillas vacías para *L. diffusa* que para *L. williamsii* y un valor similar de semillas completas para ambas especies, lo que sugiere la presencia de latencia no eliminada. La germinación en los morfos de *L. williamsii*, en general fue baja, la condición óptima se observó a 25° C con aplicación de giberelinas; no presentó diferencias significativas a la luz y a la oscuridad. En las diferentes temperaturas el morfo de semillas pequeñas no germinó en la oscuridad a 15° C y su germinación fue baja en la temperatura de 15/30° C, el morfo de semillas grandes presenta mayor variación en su respuesta a las diferentes temperaturas; no germina a 15° en oscuridad y si a la luz. La presencia de estos morfos sugiere la posibilidad de que esta especie amplíe sus probabilidades de germinar en diferentes condiciones de luz y temperatura, en su ambiente natural. La respuesta de germinación de las semillas almacenadas de *L. diffusa* no presentó diferencias significativas con respecto al tiempo y proceso de deshidratación. En cambio *L. williamsii* presentó diferencias en el tiempo, atribuidas a la condición de deshidratación y almacenamiento.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1. INTRODUCCIÓN

La República Mexicana posee una vegetación muy diversa en donde el 55 % corresponde a matorrales y pastizales, los cuales se distribuyen principalmente en las zonas áridas y semiáridas, regiones que según Rzedowzki (1991) funcionan como una isla ecológica de gran importancia, que si bien no están aisladas de los “desiertos” del Oeste de los Estados Unidos, presentan una diferencia climática drástica, lo cual ocasiona que prácticamente no se tengan especies en común. La existencia de esta condición parece ser un mecanismo efectivo de aislamiento ecológico, que da lugar a un alto grado de endemismo en estas áreas. Al respecto es importante destacar la relevancia de la Familia *Cactaceae*, que por sus formas de vida, el uso potencial que presenta así como su grado de endemismo, ha sido objeto de una gran demanda en el ámbito internacional donde varias de sus especies son consideradas como plantas exóticas en países como Alemania, Inglaterra y Japón (Montaño et al., 1993).

En consecuencia se han visto afectadas las poblaciones naturales de las especies por lo que es necesario realizar estudios que permitan su conservación, propagación y protección. Por otro lado, la extensión de las áreas que ocupan así como la diversidad que presentan, dificulta la aplicación de criterios florísticos para su conservación *in situ*, siendo indispensable el establecimiento de métodos adecuados de conservación *ex situ*. Entre estos métodos el almacenamiento de semillas es uno de los más prácticos y rentables como estrategia de preservación.

Uno de los géneros de cactáceas, objeto de constantes colectas, es *Lophophora* el cual cuenta con dos especies *Lophophora diffusa* y *Lophophora williamsii*, llamadas comúnmente “peyote”. Su uso, desde épocas prehispánicas hasta nuestros días, ha sido como sacramento ceremonial, por su contenido de alcaloides alucinógenos por lo que es constantemente colectado lo que ha provocado, en diversas zonas, una reducción en el número de individuos de sus poblaciones, y la alteración de su forma biológica por la reiterada recolección de su parte aérea.

Entre las características más importantes de la vegetación de estas zonas, se encuentra su gran adaptación a las condiciones extremas del medio, como son: la temperatura extrema, escasa humedad, tipo de suelo, disponibilidad de nutrientes y su topografía, entre otras.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El agua es uno de los elementos más críticos para los organismos que viven en las zonas áridas, por lo que en estas áreas se manifiestan estrategias como las que se observan en las plantas efímeras, las cuales germinan rápidamente cuando hay suficiente agua en el suelo, completan su ciclo de vida durante este período y mantienen latentes sus semillas hasta el nuevo ciclo.

Cuando el crecimiento se encuentra restringido a un período corto en el que hay suficiente humedad, uno de los procesos más afectados por la escasa disponibilidad de agua es la germinación, la cual puede estar controlada por diferentes tipos de latencia, como la presencia de testas duras e impermeables, inmadurez de los embriones, y requerimientos de luz y temperatura adecuados. La germinación y el establecimiento tienen una relación estrecha con la composición florística de estos ecosistemas, por lo que su estudio es básico para comprender la dinámica de la vegetación de las zonas áridas y semiáridas (Went, 1981).

Por otra parte desde el punto de vista ecológico y fisiológico, en el ciclo de vida de una planta, la semilla es fundamental para la reproducción, dispersión, protección y conservación de las especies ya que mantiene la variabilidad genética de los organismos. Además, representa el estado más tolerante a la desecación. Las semillas también presentan el desarrollo de estructuras, o los mecanismos de dispersión que les permiten “desplazarse” a sitios alejados de la planta madre, lo que les permite evadir la depredación. También protege las estructuras internas de la semilla contra el ataque de hongos e insectos ya que posee una cubierta seminal que las hace resistentes a temperaturas extremas, fuerzas físicas y químicas externas desfavorables, además de que regula, facilita o impide la imbibición. Aunado a lo anterior algunas semillas pueden permanecer viables por largo tiempo en condiciones adecuadas, ya sean naturales o artificiales, lo cual es de gran importancia para la subsistencia y conservación de sus poblaciones.

La semilla es el medio de propagación sexual tanto para plantas anuales como para las perennes. Sin embargo, ¿qué tan importante es su papel en la reproducción de las plantas suculentas perennes?, ya que éstas cuentan con reproducción vegetativa y su genotipo heredado las habilita para responder a condiciones desfavorables, especialmente en las zonas áridas y semiáridas donde existen variaciones estacionales marcadas.

De acuerdo con lo anterior, es necesario realizar estudios que permitan conocer los factores que regulan el proceso de germinación de las plantas suculentas perennes en las zonas áridas, ya que constituyen un aspecto importante en la historia de vida de una planta. Por esto en el presente trabajo se estudiarán diversos aspectos de la germinación de *Lophophora diffusa* y *Lophophora williamsii*, así como la longevidad de sus semillas en laboratorio.

1.1 OBJETIVOS GENERALES

Conocer los mecanismos de germinación y latencia de las semillas de *Lophophora williamsii* y *Lophophora diffusa*.

Conocer si es posible conservar ex situ semillas de *Lophophora williamsii* y *Lophophora diffusa*.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar los requerimientos germinativos de luz y temperatura de *Lophophora diffusa* y *Lophophora williamsii*.

Determinar si existe heteromorfismo morfológico y fisiológico.

Comparar a las dos especies en su capacidad germinativa.

Valorar si es posible almacenar ex situ las semillas de *Lophophora williamsii* y *Lophophora diffusa* conservándolas con bajo contenido de humedad y a baja temperatura.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. ANTECEDENTES

2.1. ASPECTOS HISTÓRICOS DEL GÉNERO *LOPHOPHORA*

Las cactáceas por sus formas de vida tan variadas, por la belleza de sus espinas y el color de sus flores son organismos altamente apreciados en países europeos y en Japón. En México la mayor parte de la población no valora de la misma manera esta riqueza, lo que ha traído como consecuencia, que diversas poblaciones naturales se vean disminuidas por una recolección indiscriminada y excesiva, además de ver afectada su reproducción, la cual ocurre como en muchas fanerógamas, por multiplicación vegetativa o por medio de semillas. Esta última es muy importante para mantener las poblaciones de especies en peligro de extinción o aquellas que requieren protección especial, como en el caso de *Lophophora* el cual tiene gran tradición religiosa en diversos grupos indígenas que lo denominan: "Peyote".

Por años los indios del norte de México, sur de los Estados Unidos y Canadá han consumido "Peyote", el cual ha sido objeto de numerosos estudios antropológicos, médicos, bioquímicos y etnobotánicos. Existen libros y revistas dedicados al estudio de plantas alucinógenas en donde le han dado especial atención por su fascinante historia folklórica. La existencia de numerosas investigaciones que al parecer datan de la época precolombina, reportan el empleo de esta planta, por los indios, como medicina, amuleto y como sacramento religioso alucinógeno (McLaughlin, 1973; Barthlott, 1979; Benítez, 1989).

Su uso medicinal con propósitos terapéuticos no ha sido suficientemente investigado, sin embargo, el empleo que le dan estos grupos va desde su uso diario como remedio hasta la práctica en ceremonias religiosas que pueden incluir también rituales curativos, debido a esto algunas tribus que no practican estas ceremonias, lo señalan como la panacea en la cura de muchas enfermedades como: alcoholismo, reumatismo, artritis, mordedura de serpiente, picadura de escorpión, calambres, desmayos, ceguera, espasmos, tuberculosis, hemorragias, neumonía, influenza, diabetes, enfermedades intestinales, enfermedades venéreas, enfermedades de la piel, desórdenes menstruales, constipación, cáncer y varios padecimientos más, en los cuales su efectividad no ha sido comprobada (McLaughlin, 1973; Barthlott, 1979).

En cambio, su estudio en el ámbito bioquímico ha sido bien documentado, aunque en sus inicios debido a confusiones en la taxonomía de los organismos no se lograba distinguir la diferencia entre las especies, problema que fue resuelto mas adelante gracias a la contribución de trabajos de investigación en los que se logró establecer la presencia de diferentes alcaloides en ambas especies (Estrada, 1966; Mata y Mc Laughlin, 1982), así como conocer la estructura química y biosíntesis del principal alcaloide la mezcalina (3, 4, 5 - trimethoxyphenethylamina), el cual se encuentra presente en *Lophophora williamsii* y ha sido extensamente estudiado (Shulgin, 1973; Bruhn y Holmstedt, 1974).

Asimismo, la falta de estudios botánicos sobre la planta representó serios problemas taxonómicos, ya que, en un principio plantas de peyote de la misma población recibieron distinto nombre científico. También a diferentes especies se les confundía con el peyote, ejemplo de esto es el hecho de que en numerosas referencias se le identifica como plantas del género *Anhalonium*, el cual fue posteriormente invalidado. Entre las cactáceas con las que ha sido confundida por su apariencia y contenido de alcaloides, se encuentran diversas especies de los géneros: *Ariocarpus*, *Astrophytum*, *Mammillaria*; y las especies *Aztekium ritterii*, *Obregonia denegrii*, *Pelecyphora aselliformis*, *Strombocactus disciformis* y *Turbincarpus pseudo pectinata*. Además de plantas de otras familias como Compositae, Crassulaceae, Leguminosae y Solanaceae (Anderson, 1969, 1980).

Fue a partir de los 50s que debido al interés por sus propiedades alucinógenas se destinó un programa para el estudio botánico de este grupo y aclarar la nomenclatura, por lo que ahora se cuenta con información más precisa (Anderson, 1980).

En un principio Bernardino de Sahagun, en 1560 la denomina como raíz de peiotl, cuya modificación de la palabra dio origen a las dos denominaciones más usadas: "peyote" y "peyotl, aunque también se le ha nombrado "pejote", "pellote", "peyori", "pezote", "piotl", "piote", "peote", "challote", "mescal", "raíz diabólica", "whiskey dry", "dumpling cactus", "tuna de tierra"(Anderson, 1969 y 1980; Mata y McLaughlin, 1982). Sobre el origen de la palabra existen tres teorías: Los europeos dicen que el término peyote proviene de la palabra azteca "pepeyoni" o "pepeyon" que significa "para excitar", Evans (1981) sugiere que el

termino peyote deriva de la palabra azteca "pi-youtli," que se refiere a "una pequeña planta con acción narcótica", sin embargo, el origen más ampliamente aceptado es el que propone Molina quien menciona que peyote viene de la palabra náhuatl "peyutl" que significa "capullo de seda o de gusano" y que éste fue aplicado a la planta por su apariencia más que por su acción fisiológica

Dentro de los nombres que recibe el peyote en las diversas tribus se encuentran los siguientes: para los **Cora** es huatari; los **Huicholes**: hicouri, híkuli, hícori, jícori y xicori; **Otomí**: beyo; **Tarahumara**:híkuli, híkori,híkoli, jíkuri, jícoli, houanamé, híkuli wanamé, híkuli walúla saelíami y joutouri; **Comanche**: wokowí o wohoki; **Delawer**: biisung; **Kickapoo**: pee-yot; **Navajo**: azee; **Taos**: walena; **Omaha**: makan; **Opata**: pejori y **Kiowa**: seni (Anderson, 1980).

3. MATERIAL BIOLÓGICO

3.1. DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO

El género esta constituido por dos especies *Lophophora williamsii* y *Lophophora diffusa*, se distribuye según Anderson (1969, 1980), en el Desierto de Chihuahua, siguiendo ambos lados de la cuenca del Río Bravo, desde Presidio, Chihuahua hasta Reynosa, Tamaulipas, extendiéndose hacia el sur por el norte de Tamaulipas y Nuevo León, por casi todo Coahuila y el norte de San Luis Potosí hasta la población del Catorce, así como en una pequeña área cerca de Vizarrón en Querétaro. La distribución para cada especie es la siguiente:

3.2. CLIMA

Ambas especies crecen en un clima del tipo BShw semi-cálido o seco, con lluvias en verano, con temperaturas máximas de 29° - 40.2° C y mínima de 1.9° - 10.2° C, con un rango de precipitación que va de 175.5 a 556.9 mm anuales (Anderson, 1969; Lumbreras, 1976).

3.3. ECOLOGÍA DE LAS POBLACIONES

El peyote es una xerófita típica que se localiza en lugares áridos donde la falta de agua condiciona a los organismos a reunir determinadas características morfológicas y fisiológicas,

termino peyote deriva de la palabra azteca "pi-youtli," que se refiere a "una pequeña planta con acción narcótica", sin embargo, el origen más ampliamente aceptado es el que propone Molina quien menciona que peyote viene de la palabra náhuatl "peyutl" que significa "capullo de seda o de gusano" y que éste fue aplicado a la planta por su apariencia más que por su acción fisiológica

Dentro de los nombres que recibe el peyote en las diversas tribus se encuentran los siguientes: para los **Cora** es huatari; los **Huicholes**: hicouri, híkuli, hícori, jícori y xicori; **Otomí**: beyo; **Tarahumara**:híkuli, híkori,híkoli, jíkuri, jícoli, houanamé, híkuli wanamé, híkuli walúla saelíami y joutouri; **Comanche**: wokowí o wohoki; **Delawer**: biisung; **Kickapoo**: pee-yot; **Navajo**: azee; **Taos**: walena; **Omaha**: makan; **Opata**: pejori y **Kiowa**: seni (Anderson, 1980).

3. MATERIAL BIOLÓGICO

3.1. DISTRIBUCIÓN DEL GÉNERO

El género esta constituido por dos especies *Lophophora williamsii* y *Lophophora diffusa*, se distribuye según Anderson (1969, 1980), en el Desierto de Chihuahua, siguiendo ambos lados de la cuenca del Río Bravo, desde Presidio, Chihuahua hasta Reynosa, Tamaulipas, extendiéndose hacia el sur por el norte de Tamaulipas y Nuevo León, por casi todo Coahuila y el norte de San Luis Potosí hasta la población del Catorce, así como en una pequeña área cerca de Vizarrón en Querétaro. La distribución para cada especie es la siguiente:

3.2. CLIMA

Ambas especies crecen en un clima del tipo BShw semi-cálido o seco, con lluvias en verano, con temperaturas máximas de 29° - 40.2° C y mínima de 1.9° - 10.2° C, con un rango de precipitación que va de 175.5 a 556.9 mm anuales (Anderson, 1969; Lumbreras, 1976).

3.3. ECOLOGÍA DE LAS POBLACIONES

El peyote es una xerófita típica que se localiza en lugares áridos donde la falta de agua condiciona a los organismos a reunir determinadas características morfológicas y fisiológicas,

que las hacen adaptarse a vivir en estos lugares. En algunas localidades forman frecuentemente colonias, aunque pueden encontrarse individuos solos, tiende a crecer a la sombra de arbustos de *Larrea spp.*, *Prosopis spp.*, *Acacia farnesiana*, *Mimosa biuncifera* o a la sombra parcial de *Agave lecheguilla*, *Jatropha dioica* y *Euphorbia antisiphilitica* (Anderson, 1969; Lumbreras, 1976; Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

3.4. MORFOLOGÍA Y REPRODUCCIÓN

Lophophora es una planta pequeña de 4 a 12 cm de diámetro, globosa que crece semienterrada. En la parte superior, de su porción central, presenta una depresión donde se localiza el meristemo de crecimiento, presenta hojas modificadas en forma de podarios o tubérculos cuya función es llevar a cabo la fotosíntesis, en su fase de plántula las hojas vestigiales llegan a ser largas, sin embargo no son fácilmente identificadas, desarrolla espinas suaves sólo en esta fase, en estado adulto produce primordios de espinas que no llegan a desarrollarse como tal. Su epidermis está cubierta por una cutícula cerosa la cual es la responsable del color glauco o verde-azuloso que presentan los organismos de *L. williamsii*, contiene abundantes estomas de tipo paracítico en las partes jóvenes y tricomas en forma de mechones o lana alrededor de las areolas, uniseriados en las areolas jóvenes y multiseriados en las areolas maduras. Su número de cromosomas aparentemente no varía de las otras cactáceas ($2n = 22$).

Su reproducción es tanto vegetativa como sexual, la reproducción vegetativa se observa como un crecimiento cespitoso debido al desarrollo de brotes adventicios que aparecen en la base del tallo-raíz. Este crecimiento se considera una respuesta al daño ocasionado al cortar sus cabezuelas cuando es recolectado. Además se ha observado que dentro de sus poblaciones algunos individuos presentan una mayor tendencia a este tipo de crecimiento. Los brotes así producidos pueden ser separados por el viento, agua y algunos animales, y posteriormente desarrollar raíces y establecer nuevas colonias (Anderson, 1969, 1980).

Su reproducción sexual se presenta en su etapa madura. Se ha reportado que florece durante los meses de marzo a septiembre, ((Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991) y de junio a septiembre (Lumbreras, 1976). Sus flores presentan ovario desnudo o carente de

escamas, todas sus partes florales nacen del tubo del perianto, característica similar a las flores de los géneros *Mammillaria*, *Ariocarpus*, *Obregonia* y *Pelecyphora*, el color de sus flores va de rosa intenso a cercano al blanco, a veces en apariencia amarillenta, dependiendo de la especie.

Su polen es muy variable, las poblaciones del norte presentan de 0 a 18 aperturas o poros en tanto que las poblaciones del sur tienen de 0 a 6, sus granos son básicamente esferoidales de 40 micrones de diámetro, el número de colpos o aperturas produce cerca de 20 formas geométricas diferentes, tal variedad es rara en las plantas con flores (Boke y Anderson, 1970; Bravo-Hollis, 1978; Anderson, 1980). De las dos especies *L. diffusa* tiene la menor variación en su polen, en tanto que *L. williamsii* presenta las formas más elaboradas, lo cual según Anderson (1980) representa gran divergencia evolutiva y especialización.

3.5. CARACTERÍSTICAS DEL FRUTO Y DISPERSIÓN DE LAS SEMILLAS

Su fruto es carnososo, de color rosa o blanco amarillento de aproximadamente 2 cm de longitud; permanece adherido a la planta por un prolongado período, se desprende hasta que está perfectamente seco liberando las semillas, ya libres, éstas quedan sobre la superficie de la planta de manera que pueden ser arrastradas por el agua o por el viento u algún organismo. En el suelo las semillas permanecen semi-enterradas por algún tiempo hasta que se ocurre la germinación. Posteriormente las plántulas que se desarrollan permanecen agrupadas en el mismo sitio. En otros casos puede suceder que lluvias torrenciales dispersen las semillas cuando éstas se encuentran en la superficie de la planta, de manera que las plántulas crecerán solitarias hasta su reproducción (Anderson, op. cit.).

3.6. CARACTERÍSTICAS DE LA SEMILLA

Según Bravo-Hollis (1978, 1991) ambas especies presentan semillas de color negro en forma de gorro de aproximadamente 1.5 mm de longitud, provistas de un amplio hilio basal y cordiforme. Para su germinación, de acuerdo a Lumbreras (1976) es indispensable que las semillas permanezcan en contacto con los tejidos del fruto para favorecer la germinación.

3.7. CULTIVO

El peyote es fácilmente cultivado vegetativamente, su desarrollo a partir de semilla es muy lento, requiere más de 5 años para tener 15 mm de diámetro, para un crecimiento más

rápido, se recomienda injertar la parte superior de la planta (cabezuela) sobre tallos con raíces ya existentes de otras cactáceas, lo que triplica o cuadruplica la velocidad de crecimiento del organismo. Horticultores japoneses han obtenido plantas listas para florecer en un tiempo de 12 – 18 meses, a partir de injertos de plántulas sobre tallos de especies de rápido crecimiento. También reportan la obtención de semillas fértiles por polinización artificial (Anderson, 1980).

Otra forma de propagación se ha realizado por remoción de los brotes laterales de individuos cespitosos. A la parte cortada se le pone azufre para facilitar la cura, después de una o dos semanas estos segmentos pueden desarrollar callo y ser sembrados en arena y/o vermiculita. Posteriormente un nuevo sistema de raíces se desarrolla, y a partir del organismo original se desarrollan nuevas cabezuelas hasta formar un organismo cespitoso.

En cuanto a las condiciones del suelo debe ser de pH básico, limoso con buen drenaje, éste puede ser fertilizado con fertilizantes comerciales sólo durante la estación de crecimiento especialmente entre mayo y julio. Se riegan cada 4 o 7 días en verano y muy escasamente en las otras estaciones y ninguna en invierno. Respecto a las plagas que las pueden atacar son pocas y estas pueden ser tratadas como a cualquier otra que ataque a cactáceas cultivadas.

Cultivo in vitro. Con el fin de disminuir el riesgo y/o la pérdida de muchas cactáceas, se ha propuesto su propagación masiva por medio de cultivo de tejidos, para lo cual se han implementado técnicas específicas que permiten obtener con éxito organismos a partir de brotes o areolas, entre ellas *Lophophora williamsii* en la cual se ha estudiado su respuesta morfogénica al igual que en varias especies de cactáceas (Ortiz-Montiel y Alcántara, 1997).

3.8. *LOPHOPHORA DIFFUSA* (CROZAIT) BRAVO

Planta globosa, de color verde amarillento, mide de 2 a 7 cm de altura y de 5 a 12 cm de diámetro, crece en forma simple o cespitosa, puede llegar a formar grandes clones extendidos. Aréolas circulares y pequeñas, flor de 2.5 cm de longitud, de color blanco amarillento o blanco ligeramente rosado. Fruto claviforme, de 15 a 20 mm de longitud, de color rosa purpúreo claro. Semillas piriformes, de 1 a 1.5 mm de longitud. (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).



Lophophora diffusa, Peñamiller, Querétaro, México.

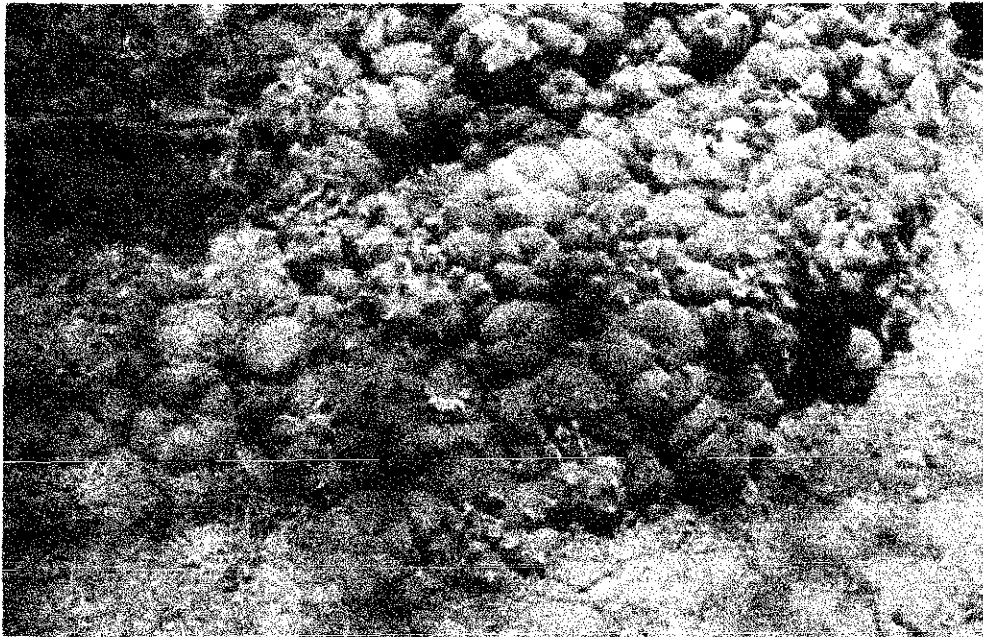
Es endémica del estado de Querétaro, crece en Vizarrón, en un área relativamente reducida. Dicha región es muy seca, está formada por lomeríos calizos y pedregosos.

Vegetación: Se desarrolla en matorral micrófilo en donde el disturbio continuo convierte a este matorral en uno francamente espinoso, compuesto por *Mimosa biuncifera* (uña de gato) y *Acacia farnesiana* (huizache). Tal fenómeno se debe al sobrepastoreo, por numerosos rebaños de cabras en la región.

Entre las especies más frecuentes en este tipo de vegetación se encuentran: *Condalia mexicana* (granjeno prieto), *Acacia vernicosa* (chaparro prieto), *Fouquieria splendens* (ocotillo), *Koeberlinia spinosa* (junquillo), *Larrea tridentata* (gobernadora) y *Prosopis laevigata* (mezquite) así como también se encuentran varias cactáceas como son: *Echinocactus grussonii*, *E. ingens*, *Mammillaria geminispina*, *Coryphantha gladiospina* y *Ferocactus histrix*, entre otras (Zamudio et al., 1992).

3.9. *LOPHOPHORA WILLIAMSII* (LEMAIRE) COULTER

Es una planta globosa, de color verde azulado o verde amarillento, a veces con tinte rojizo. Con ápice aplanado, mide de 2 a 6 cm de altura y de 4 a 11 cm de diámetro. Costillas bien definidas de 4 a 14, aréolas circulares, separadas entre sí. Flores de 1 a 2.4 cm de longitud, de color rosa con tinte amarillento o de color carmín. Florece a temprana edad (Bravo- Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).



Lophophora williamsii, El Huizache, San Luis Potosí, México.

Se encuentra en el norte, en la Cuenca del Río Bravo tanto en Texas como en México, desde Safter, Texas, y Presidio, Chihuahua, hasta Mc Allen Texas y Reynosa, Tamaulipas, extendiéndose hasta el sur por los estados de Coahuila, Nuevo León, norte de Zacatecas y San Luis Potosí. Crece tanto en planicies como en las faldas bajas de los cerros, tiene preferencia por suelos calcáreos y arcillosos de formaciones del Cretácicas (Lumbreras, 1976; Bravo- Hollis, 1978).

Vegetación: Crece en matorrales micrófilos con: *Larrea divaricata*, *Prosopis juliflora* y *Flourenstia cernua*, en matorral rosetófilo con: *Agave lecheguilla*, *Yucca spp.*, *Koeberlinia spinosa* y *Coldenia canescens*

Otras especies que crecen frecuentemente asociadas al género son: *Echinocereus spp.*, *Echinocactus horizonthalonius* y *Coryphantha spp.*, *Hamatocactus spp.*, *Mammillaria spp.*, *Opuntia leptocaulis* y *Neolloydia spp.* (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

4. LONGEVIDAD Y CONSERVACIÓN DE SEMILLAS.

Las semillas desempeñan un papel muy importante en la vida, y continuidad en el tiempo, de las poblaciones vegetales, de ahí que su capacidad para permanecer viables, por prolongados períodos en condiciones naturales, se denomina longevidad ecológica. De igual manera, la capacidad de la semilla para permanecer viable en una condición óptima de almacenamiento artificial se le conoce como longevidad potencial (Vázquez-Yanes et al., 1997).

La conservación de los recursos vegetales, sobre todo de las especies silvestres que no presentan utilidad como alimento, y que sin embargo, forman parte importante de los ecosistemas, han recibido poca atención (Bueno et al., 1990). De manera que la preservación de la flora, en general, depende de la concientización de la población.

Además, la conservación de plantas en peligro de extinción, es tarea que involucra en forma específica a los jardines botánicos con el doble fin de conservar especies raras o amenazadas, así como de proporcionar material para la investigación (Gómez-Campo, 1987). Estas instituciones han dudado en tomar parte de esta actividad, debido a la falta de conocimiento sobre los métodos adecuados, y a la falta de apoyo financiero. Debido a esto se han buscado métodos, tanto *in vitro* como *ex situ*, que permitan la conservación de la variabilidad genética de los organismos a bajo costo. Para la conservación *ex situ* se ha propuesto el **almacenamiento de semillas**, como estrategia de conservación a largo plazo y con un costo menor a la conservación *in vitro*, ya que no requiere de una infraestructura compleja para llevarse a cabo (Cubero, 1990).

En esta propuesta se plantea el almacenamiento de las semillas a bajos contenidos de humedad y baja temperatura, basados en el supuesto de Harrison (1972, citado por Gómez Campo, 1985, 1987) en el cual, por cada 5° C que disminuya la temperatura así como por cada

Otras especies que crecen frecuentemente asociadas al género son: *Echinocereus spp.*, *Echinocactus horizonthalonius* y *Coryphantha spp.*, *Hamatocactus spp.*, *Mammillaria spp.*, *Opuntia leptocaulis* y *Neolloydia spp.* (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

4. LONGEVIDAD Y CONSERVACIÓN DE SEMILLAS.

Las semillas desempeñan un papel muy importante en la vida, y continuidad en el tiempo, de las poblaciones vegetales, de ahí que su capacidad para permanecer viables, por prolongados períodos en condiciones naturales, se denomina longevidad ecológica. De igual manera, la capacidad de la semilla para permanecer viable en una condición óptima de almacenamiento artificial se le conoce como longevidad potencial (Vázquez-Yanes et al., 1997).

La conservación de los recursos vegetales, sobre todo de las especies silvestres que no presentan utilidad como alimento, y que sin embargo, forman parte importante de los ecosistemas, han recibido poca atención (Bueno et al., 1990). De manera que la preservación de la flora, en general, depende de la concientización de la población.

Además, la conservación de plantas en peligro de extinción, es tarea que involucra en forma específica a los jardines botánicos con el doble fin de conservar especies raras o amenazadas, así como de proporcionar material para la investigación (Gómez-Campo, 1987). Estas instituciones han dudado en tomar parte de esta actividad, debido a la falta de conocimiento sobre los métodos adecuados, y a la falta de apoyo financiero. Debido a esto se han buscado métodos, tanto *in vitro* como *ex situ*, que permitan la conservación de la variabilidad genética de los organismos a bajo costo. Para la conservación *ex situ* se ha propuesto el **almacenamiento de semillas**, como estrategia de conservación a largo plazo y con un costo menor a la conservación *in vitro*, ya que no requiere de una infraestructura compleja para llevarse a cabo (Cubero, 1990).

En esta propuesta se plantea el almacenamiento de las semillas a bajos contenidos de humedad y baja temperatura, basados en el supuesto de Harrison (1972, citado por Gómez Campo, 1985, 1987) en el cual, por cada 5° C que disminuya la temperatura así como por cada

1% en la disminución del contenido humedad, en las condiciones de almacenamiento de las semillas; se aumenta su longevidad a casi el doble. Aunque existen limitaciones en la elección de una técnica de desecación y temperatura adecuadas, que no ocasione daños biológicos irreversibles por congelamiento o en el proceso de rehidratación.

Dentro de los pasos, recomendados en la conferencia internacional sobre Técnicas de Conservación en Jardines Botánicos, celebrada en Córdoba (1987), se mencionan los siguientes:

1. Realizar una adecuada recolección de semillas, que represente la diversidad ecogeográfica de la especie.
2. Llevar a cabo una apropiada remoción de las semillas de sus frutos.
3. Secar a las semillas hasta un 5%.
4. Cuidar que los contenedores en los que se almacenen las semillas prevengan la absorción de agua.
5. Combinación de humedad y temperatura adecuadas, optando siempre por una menor humedad, en el caso de semillas ortodoxas. Las temperaturas recomendadas para el almacenamiento van desde -18°C hasta -4°C .
- 6.- Realizar pruebas periódicas de germinación a diferentes temperaturas.
- 7.- Sustituir el lote de semillas cuando la viabilidad decrezca.

Con estas técnicas se constituyeron los llamados “bancos de semillas” cuya principal función es preservar, y ayudar a evitar posibles extinciones de especies o genotipos vulnerables o en peligro de extinción en un futuro cercano, así como para tener material genético para investigaciones o con propósitos de propagación. Una de las ventajas de estas técnicas es el disminuir la recolección de organismos y hacer de la colección de semillas una tarea esencial; evaluando previamente su impacto (Gómez-Campo, 1987; Cubero, 1990).

Por otro lado, la longevidad de la semilla depende no sólo de la calidad y condiciones de almacenamiento, sino también de muchos otros factores como: estructura, composición, fisiología y maduración, siendo estos factores los que determinan que las semillas pueden ser almacenadas (Vázquez-Yanes, 1990, Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1996a).

4.1. FACTORES QUE AFECTAN EL ALMACENAMIENTO

4.1.1. VIABILIDAD

La viabilidad de una semilla es definida como la capacidad de la semilla para germinar. Esta característica es muy importante, ya que cuando se recolectan semillas para almacenarse y prolongar su viabilidad, la semilla debe haber madurado y encontrarse sana, sin plagas ni enfermedades y sin daños físicos. En la conservación de la semilla la duración de la capacidad germinativa es de suma importancia. Se reconocen especies de vida corta “recalcitrantes”, de vida intermedia y de vida larga “ortodoxas”, las primeras comprenden semillas sensibles a baja humedad y temperatura, mientras las últimas pueden presentar un amplio espectro de viabilidad, ya que resisten bajos contenidos de humedad y baja temperatura, dependiendo de su contenido de lípidos y la estructura de su cubierta (Cubero, 1990; Vázquez-Yanes y Rojas-Aréchiga, 1996a).

4.1.2. LATENCIA

Al referirse a la ausencia, disminución de la actividad metabólica o inhibición de la germinación y crecimiento de las plantas debida a condiciones ambientales o fisiológicas desfavorables, diversos autores han usado los términos: dormancia, latencia, letargo, reposo, dormición y vida latente (Mayer, 1982; Vázquez-Yanes, 1990; Rojas y Homero, 1991; Camacho, 1994). Asimismo, algunos autores señalan que la quiescencia, en un sentido estricto, indica la reducción del metabolismo debido a la falta de agua, de manera que cuando una semilla interrumpe su letargo al ser puesta en condiciones de humedad y temperatura favorables para la germinación, la semilla está quiescente. Si no lo hace, la semilla puede estar presentando algún tipo de latencia, o reposo profundo.

Un elemento importante y complicado a considerar en las semillas por sus múltiples expresiones, es la latencia. Esta es una estrategia adaptativa de supervivencia frente a condiciones ambientales desfavorables, factor que la selección natural ha producido y cuya regulación genética determina los diferentes mecanismos fisiológicos, los cuales responderán a los estímulos ambientales de su hábitat natural.

La presencia de la latencia resulta una ventaja para la especie; pero, desde el punto de vista práctico representa una desventaja para su almacenamiento, ya que se ha observado que

semillas de una misma población pueden presentar o no latencia lo que en cierto momento puede confundirse con falta de viabilidad (Gómez-Campo, 1985; Cubero, 1990; Vázquez-Yanes et al., 1997). Por otra parte el cambio de una condición a otra, como por ejemplo de la temperatura baja de almacenamiento a una temperatura moderada para su germinación puede inducir la latencia secundaria (Ellis y Barrett, 1994).

4.1.3. HUMEDAD Y TEMPERATURA

El contenido de humedad de una semilla es de suma importancia sobre todo en el momento de su recolección, ya que el proceso de secado en condiciones naturales puede facilitar o impedir su almacenamiento. Es importante la capacidad que tenga la semilla para reestructurar sus componentes celulares durante la deshidratación y rehidratación ya que de no ser así esto tendría como consecuencia la pérdida de su funcionalidad (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1996). Por otro lado se ha señalado que existe una variación en el contenido de humedad entre las especies, lo cual se atribuye al contenido y tipo de reservas que presente; así, en el caso de algunas semillas se ha observado que el alto contenido de ácidos grasos insaturados, las hace menos sensibles a las diferencias de humedad (Harrington, 1970 citado por Cubero, 1990).

Siendo la deshidratación de la semilla un factor importante se han desarrollado métodos para este fin, en los que la tasa de deshidratación, el contenido de humedad de la atmósfera de deshidratación y la temperatura a la que se lleva a cabo son vitales. Es de uso común emplear corrientes de aire a temperaturas por encima de 40° C y el uso de deshumidificadores químicos como silica gel; a temperaturas menores de 30° C , lo que crea atmósferas con bajo contenido de humedad .Aun así existen métodos más finos que logran prolongar más la viabilidad (Hong y Ellis, 1996).

Reducir los contenidos de humedad de las semillas permite su mejor conservación ya que a humedades menores de 12% los hongos no crecen y por debajo de 9% los insectos no las atacan, lo que evita el uso de pesticidas, los cuales podrían afectar su viabilidad (Vander Maesen, 1984 citado por Cubero, 1990). Sin embargo, en algunas especies es difícil conseguir reducir la humedad a valores inferiores al 2% , además de que pueden producirse daños irreversibles por lo que se sugieren valores de 3% para semillas oleaginosas y de 4 - 5 % para otros tipos (Gómez-Campo, 1985). La presencia de agua libre en la semilla reduce el efecto

protector por la formación de cristales de hielo a baja temperatura (Roberts, 1989 citado por Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1996). La desecación induce reacciones bioquímicas que provocan acumulación de productos metabólicos que son frecuentemente tóxicos o mutagénicos para las células, lo que constituye la causa de la muerte de la semilla (Gómez-Campo, 1985).

La importancia de la temperatura en la conservación va unida al contenido de humedad de la semilla, la recomendación por el IBPGR (International Board of Plant Genetic Resources, actualmente, International Plant Genetic Resources Institute IPGRI), es por tanto de $5 \pm 1\%$ de humedad y -18°C o menos para semillas ortodoxas, en el caso de semillas recalcitrantes templadas pueden ser almacenadas húmedas hasta -3°C (Cubero, 1990; Vázquez-Yanes y Rojas-Aréchiga, 1996a; Zuszka, 1974 citado por Hong y Ellis, 1996). En el caso de las semillas recalcitrantes tropicales existe una gran variación en el contenido crítico de humedad al cual se reduce su viabilidad, algunas semillas comienzan a morir con contenidos de 16- 30% de su peso fresco, y presentan daño a temperaturas menores a 15°C , por lo que no existen métodos generales para mantener su viabilidad por largo período (Vázquez-Yanes y Rojas-Aréchiga, op. cit.; Hong y Ellis, 1996).

Al igual que con la humedad, se ha establecido una relación entre el contenido de lípidos y la longevidad de las semillas de manera que con un bajo contenido de lípidos aumentan su longevidad al disminuir la temperatura. Asimismo, la combinación de humedad y temperatura, como se mencionó con anterioridad, presenta una estrecha relación, de manera que a diferentes niveles de cada uno pueden conseguirse resultados similares. En general cuando el grado de deshidratación de una semilla es menor la temperatura a la cual ésta puede ser conservada también es menor (Gómez-Campo, 1985).

5. GERMINACIÓN

5.1. TIPOS DE LATENCIA

El destino de una semilla es definido por los riesgos a los que se expone desde el momento de su dispersión estos son: el riesgo de ser depredada y el de germinar en un período desfavorable para el establecimiento de la futura plántula, de manera que la sobrevivencia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

protector por la formación de cristales de hielo a baja temperatura (Roberts, 1989 citado por Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1996). La desecación induce reacciones bioquímicas que provocan acumulación de productos metabólicos que son frecuentemente tóxicos o mutagénicos para las células, lo que constituye la causa de la muerte de la semilla (Gómez-Campo, 1985).

La importancia de la temperatura en la conservación va unida al contenido de humedad de la semilla, la recomendación por el IBPGR (International Board of Plant Genetic Resources, actualmente, International Plant Genetic Resources Institute IPGRI), es por tanto de $5 \pm 1\%$ de humedad y -18°C o menos para semillas ortodoxas, en el caso de semillas recalcitrantes templadas pueden ser almacenadas húmedas hasta -3°C (Cubero, 1990; Vázquez-Yanes y Rojas-Aréchiga, 1996a; Zuszka, 1974 citado por Hong y Ellis, 1996). En el caso de las semillas recalcitrantes tropicales existe una gran variación en el contenido crítico de humedad al cual se reduce su viabilidad, algunas semillas comienzan a morir con contenidos de 16- 30% de su peso fresco, y presentan daño a temperaturas menores a 15°C , por lo que no existen métodos generales para mantener su viabilidad por largo período (Vázquez-Yanes y Rojas-Aréchiga, op. cit.; Hong y Ellis, 1996).

Al igual que con la humedad, se ha establecido una relación entre el contenido de lípidos y la longevidad de las semillas de manera que con un bajo contenido de lípidos aumentan su longevidad al disminuir la temperatura. Asimismo, la combinación de humedad y temperatura, como se mencionó con anterioridad, presenta una estrecha relación, de manera que a diferentes niveles de cada uno pueden conseguirse resultados similares. En general cuando el grado de deshidratación de una semilla es menor la temperatura a la cual ésta puede ser conservada también es menor (Gómez-Campo, 1985).

5. GERMINACIÓN

5.1. TIPOS DE LATENCIA

El destino de una semilla es definido por los riesgos a los que se expone desde el momento de su dispersión estos son: el riesgo de ser depredada y el de germinar en un período desfavorable para el establecimiento de la futura plántula, de manera que la sobrevivencia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

dependerá de su capacidad para llegar al sitio adecuado, de su capacidad para germinar rápido o detener su desarrollo, por lo que requiere de mecanismos que le permitan incrementar su sobrevivencia en las condiciones más adecuadas, éstos se presentan a diferentes niveles de manera que uno de los principales es la **latencia**.

Dentro de una población existe una variación considerable en la latencia y tipos de latencia que pueden presentar las semillas de forma individual (Roberts, 1965 citado por Murdoch et al., 1989). Esto es, en cuanto a su duración, pueden presentar: **latencia total**, no se presenta germinación por semanas meses o años, **latencia parcial** cuando una fracción de la población estudiada germina y otra permanece latente por más tiempo, y **latencia intermitente** cuando las semillas individuales o en conjunto tardan en completar su germinación, en este caso la germinación ocurre en lapsos prolongados, ya sea de manera gradual o esporádica, las semillas presentan dos o más eventos de germinación separados en el tiempo (Besnier, 1989 citado por Chipole, 1995, Vázquez-Yanes et al., 1997). En cuanto a su comportamiento fisiológico en la naturaleza. Harper (1957 citado por Vázquez-Yanes, op. cit.) define tres tipos de latencia:

i) Latencia innata o endógena: se establece desde antes de que la semilla se separe de la planta madre. De acuerdo con Gutterman (1994) existen diversos mecanismos causantes de este tipo de latencia los cuales se pueden presentar en el interior o exterior de la semilla, lo que determinará la profundidad y la temporalidad de ésta.

Bloqueo metabólico

Un balance hormonal desfavorable al crecimiento, en el que se presenta un mayor contenido de inhibidores de tipo hormonal, como el ABA. Interrupción de la transcripción genética y síntesis de proteínas, reducción de la respiración y metabolismo intermedio (Vázquez-Yanes et al., 1997).

A nivel del embrión. Pueden presentar embriones rudimentarios, que requieren de completar su crecimiento para que ocurra la germinación, en otras ocasiones cuentan con poca diferenciación y requieren además del crecimiento la diferenciación de los cotiledones, plúmulas y radículas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A nivel de la cubierta. Impermeabilidad, impide la hidratación de las semillas, su característica principal es la presencia de cubiertas brillantes, relativamente delgadas con una o más capas de células de paredes gruesas muy compactas con depósitos de compuestos hidrófobos. Su impermeabilidad se atribuye a la compactación de sus células, lo que ocurre durante su desecación, así como a la presencia de ceras en la cutícula externa, o deposición en sus paredes de sustancias impermeabilizantes, como taninos, ligninas, quinonas y pectinas insolubles (García y Peña, 1995).

Permeabilidad selectiva se caracteriza por presentar una baja permeabilidad al intercambio gaseoso en consecuencia se presenta baja disponibilidad de O₂, para la semilla así como podría obstaculizarse la expulsión de CO₂ lo que traería como consecuencia la inhibición de la germinación.

Resistencia mecánica total restringe el crecimiento del embrión, o resistencia parcial se localiza en la parte cercana a la radícula.

Presencia de inhibidores químicos.

En las cubiertas de las semillas pueden presentarse sustancias que impiden la germinación como: fenoles, cumarinas, y sales con efecto fisiológico u osmótico, etc. Y su pérdida ocurre por lixiviación.

ii) **Latencia inducida o secundaria:** se produce cuando las semillas estando en condiciones fisiológicas para germinar y se encuentran en un medio con alguna característica desfavorable de: agua, temperatura, luz, oxígeno o presencia o concentración de nitratos; que pueden provocar alteraciones fisiológicas, reversibles por algún estímulo hormonal. También puede sumarse o sustituir a otros tipos de latencia. Según Hilhorst (1998) esta clase de latencia está asociada al comportamiento de las semillas que forman los bancos de semillas del suelo, por lo que cambios periódicos de inducción y suspensión (latencia cíclica) de este tipo de latencia podrían explicar la emergencia estacional de las especies silvestres.

iii) **Latencia impuesta o exógena:** se presenta en semillas aptas para germinar en condiciones adecuadas de humedad y temperatura, de acuerdo al hábitat que ocupan, y sin embargo se mantienen latentes por falta de requerimientos específicos de luz, temperatura, u oxígeno, debido a esto se señala que esta latencia es controlada por las condiciones físicas del ambiente que rodea a la semilla, por lo que es asociada también a las semillas que se encuentran en el

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

suelo y que germinan sólo después de una perturbación que modifique las condiciones del ambiente (Vázquez-Yanes et al., 1997).

5.2. FACTORES AMBIENTALES

5.2.1. Temperatura

El crecimiento de los organismos vegetales es extremadamente sensible a la temperatura. Un cambio en ésta resulta significativo para su desarrollo, ya que afecta la estructura de la membrana, cambia su fluidez y permeabilidad, altera la conformación y función de las proteínas, receptores de proteínas y canales iónicos, cambia el pH intracelular que inicia la traducción de señales para: romper o inducir la latencia o iniciar el proceso de germinación (Hilhorst, 1998). Se ha señalado la presencia de un sensor interno de dichas fluctuaciones en las semillas, así como la relación con la cinética de ciertas enzimas y la permeabilidad de la membrana de las células del embrión (Hand, 1982 citado por Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1994). Regímenes específicos de temperatura inician los procesos del ciclo de vida junto con otros factores ambientales como la luz y la humedad. La temperatura tiene un impacto significativo en la germinación y en la finalización de la latencia. Se ha observado que en semillas completamente imbibidas temperaturas alternantes y/ o bajas terminan con la latencia.

Temperatura alternante: Con frecuencia se menciona que muchas semillas no germinan a temperaturas constantes, que requieren de ciclos diurnos de fluctuación de temperatura y que la diferencia entre la temperatura más alta y la baja (de 5° a 10° C) dependerá de las especies, sin embargo su reacción es compleja y poco conocida. Para ciertos organismos como *Rumex*, su respuesta a tratamientos con temperatura alternante es efectiva cuando se utiliza una temperatura alta mayor a 15° C y cuando ésta es proporcionada por 8 h cada día, y requiere de una diferencia de 5° C entre la temperatura alta y la baja para inducir el 90% de germinación. En algunos casos, el efecto de la temperatura alternante parece estar localizado en el embrión; mientras que en otros casos el efecto es mecánico, esto es, produce una forma de escarificación que libera a la semilla de la latencia ímpuesta por la cubierta.

Temperatura baja. Es sabido que muchas semillas de herbáceas, recién cosechadas, y arbustos presentan embriones latentes, que pueden inducir su crecimiento únicamente por exposición a tratamientos prolongados con bajas temperaturas, después de lo cual no

germinan hasta que la temperatura es favorable para la emergencia de la plántula, asegurando que la semilla dispersada a finales de verano no germine en el suelo sino hasta la primavera, dicha exposición es conocida como estratificación o “pre-chilling”. En general se maneja como temperaturas de estratificación debajo de 10° C. En una población de semillas la efectividad de la estratificación está en función de la longitud del tratamiento frío ya que se menciona que la semilla presenta cambios metabólicos durante el periodo de baja temperatura: existen evidencias de la redistribución del carbono y nitrógeno del endospermo al embrión y la elevación en el contenido de giberelinas y citocininas (Hopkins, 1999).

El aumento de giberelinas naturales en varias especies que requieren de frío demuestra que dichas hormonas están claramente implicadas en la vernalización, por lo que se dice que las plantas y en su caso las semillas que requieren de frío quizá carecen de suficientes giberelinas hasta que se exponen al ambiente inductor (Salisbury y Ross, 1994). Sin embargo, actualmente existe una polémica sobre este punto, ya que hay evidencias que indican que no en todos los casos la concentración de giberelinas se incrementa, por lo que se ha propuesto que las temperaturas bajas inducen un incremento en la sensibilidad de las semillas a las giberelinas preexistentes, más que en la concentración de estas (Baskin y Baskin, 1998b). Por otra parte las bajas temperaturas pueden provocar que las semillas y otras partes de las plantas entren en latencia.

5.2.2. LUZ

La luz es un factor ambiental de suma importancia en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Su efecto en la germinación de ciertas semillas es muy conocido, se sabe que la mayor parte de las semillas de especies no cultivadas responden positivamente a la luz además de presentar en su constitución gran cantidad de grasas (Baskin y Baskin, 1988)

A este requerimiento de luz se le denomina fotolatenia, la cual desde el punto de vista ecológico es de gran importancia para las semillas que se encuentran enterradas, ya que contribuye a la distribución de la germinación a lo largo del tiempo, lo que ayuda a perpetuar la especie ya que al ser expuestas a la luz una fracción de estas, en el tiempo en que las condiciones son desfavorables para el crecimiento y establecimiento, queda la posibilidad de

supervivencia de las fracciones restantes, las cuales pueden germinar posteriormente en condiciones más adecuadas (Vázquez-Yanes et al., 1996b, 1997).

Por otra parte, todo proceso regulado por la luz requiere de un pigmento que tenga una función receptora, que a su vez desencadene o inhiba los procesos fisiológicos involucrados en el control de la germinación uno o más fotorreceptores de la luz podrían estar involucrados (Orozco-Segovia, 1989; Casal y Sánchez, 1998). En la mayoría de las especies el mejor receptor conocido y estudiado es el fitocromo, en sus dos formas foto-inter convertibles Pr y Pfr, de la existencia y de la cantidad de ambas dependerá la cantidad total de fitocromo total (Pt), la relación de ésta con el fitocromo activo (Pfr) se le denomina fotoequilibrio. Éste puede variar debido, entre otras cosas a los procesos de síntesis y destrucción del Pr y Pfr, a la composición espectral del tipo de luz bajo la cual se encuentre la semilla y/o la planta madre, de manera que el nivel de Pfr requerido por una semilla para alcanzar su umbral de respuesta será específico (Orozco-Segovia, 1989). También resulta de gran importancia la existencia de dos tipos de fitocromo involucrados en la germinación, el A y el B, los cuales forman parte de la familia de pigmentos conocidos como fitocromo. Cada uno de ellos juega un papel distinto en la germinación y el primero tiene un papel importante en la fotomorfogénesis (Casal y Sánchez, 1998).

Para zonas áridas, Gutterman (1994) menciona que en semillas de algunas especies del desierto que habitan suelos arenosos la germinación es regulada por la luz, y que la intensidad de la luz y la longitud aseguran la germinación a una correcta profundidad del suelo.

5.3 GERMINACIÓN EN CACTÁCEAS

Los estudios en esta familia sobre la respuesta germinativa a la luz, de acuerdo con Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes (2000) datan desde los años 50s, periodo durante el cual se demostró el efecto estimulante de la luz en diversas especies de cactáceas entre las que se menciona a *Carnegiea gigantea* "saguaro gigante" (McDonough, 1964) y *Stenocereus thurberi*. En trabajos posteriores se encontró: que algunas especies germinaban en la oscuridad; y que otras requerían de diferentes intensidades y calidades de luz, así como también se estableció que la luz roja estimulaba la germinación (Zimmer, 1969 citado por Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes op. cit.). Actualmente se ha demostrado el requerimiento de

luz para diversas especies: *Mammillaria winteriae*, *Escobaria ruyonii*, *Echinocactus texensis* (Maiti et al., 1994). Entre las especies que germinan tanto en luz como en oscuridad se menciona a *Pereskia aculeata* (Campbell, 1988), *Stenocereus griseus* (Martínez-Olguín, 1983; López y Sánchez, 1989), *Pachycereus pringlei* (Nolasco, et al., 1996). Otras fotoblásticas indiferentes son: *Neobuxbaumia tetetzo*, *Pachycereus hollianus* y *Cephalocereus chrysacanthus* (Rojas-Aréchiga et al., 1997).

En cuanto a la respuesta de las semillas a la temperatura se han señalado diversos rangos, Fearn (1981) indica que temperaturas extremas no favorecen la germinación; temperaturas menores de 12° C y superiores a 28° C producen bajos valores de germinación, y que el intervalo depende también de la edad de la semilla, además de que las diversas especies presentan requerimientos diferentes: *Frailea pumila* germina de 10 – 40° C, *Rebutia xanthocarpa* var. *salmonea* requiere de 11.5 a 22.8°C, Parker (1989) menciona un rango de 20 –25° C para *Lophocereus schottii*, *Astrophytum myriostigma* germina de 20° - 28° C (De la Rosa-Ibarra y García, 1994). Mientras para algunas especies de *Ferocactus* como *F. latispinus* *F. horridus* y *F. wislizenni* germinan entre los 15°- 20° C (Zimmer, 1980 citado por Cota, 1984).). Otras como *Pachycereus pringlei* resisten exposiciones diarias de 2 h a temperaturas desde –50°- 55° C (Nolasco, et al., 1996).

Tratamientos con estratificación de 55°- 60° C día 18° C noche, durante 10 días y 3 días a 5° C, resultaron efectivos para semillas ligeramente humedecidas de *Pediocactus simpsonii*, *P. peeblesianus*, *Sclerocactus whipplei*, *S. contortus*, *S. spinosior* y *Mammillaria goldii* (Simerda, 1990).

Trabajos realizados en invernadero indican que temperaturas alternantes de 10° a 35° C y luz directa favorecen la germinación y crecimiento de las cactáceas en general (Fitz, 1989); sin embargo, en el trabajo de Potter y colaboradores (1984), y en los citados por Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes (2000) este tipo de tratamientos no inducen diferencia significativa con los de temperaturas constantes mayores a 20° C.

El requerimiento del ácido giberélico para la germinación de algunas especies de cactáceas colocadas tanto en luz como en oscuridad, fue demostrado por Alcorn y Kurtz (1959, citado por Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000) para *Carnegiea gigantea* que

requiere de 500 a 1000 ppm de ácido giberélico, y para *L. thurberi* que requiere 1000 ppm de éste (McDonough, 1964). Otros intervalos de concentraciones van de 0.1 ppm a 28° C para *Astrophytum capricorne* y *Lophocereus principis* a 20° C (De la Rosa-Ibarra y García, 1994), 500 y 1 000 ppm, previa escarificación, se ha reportado que son efectivas para *Echinomastus mariposensis* (Moreno et al., 1992), 40 ppm para *Opuntia xocconostle* (Sánchez, 1997), y 50 ppm para *Stenocereus griseus* (López y Sánchez, 1989).

En diversos trabajos se ha demostrado que algunas especies de *Opuntia* incrementan el porcentaje de germinación con escarificación ya sea mediante la aplicación de ácido sulfúrico concentrado: *Opuntia discata*, *O. lindheimeri* y *O. edwardsii* (Potter et al., 1984), *O. xocconostle* forma cuaresmero (Sánchez, 1997), *Ferocactus peninsulæ* (Romero-Schmidt et al., 1994), *Echinocactus grusonii* y *E. platyacanthus* forma visnaga a 20° C (De la Rosa-Ibarra y García, 1994), con ácido clorhídrico *Pachycereus pringlei* (Nolasco, et al., 1996). Escarificación física por ruptura parcial de la cubierta, *Echinomastus mariposensis*, *Opuntia xocconostle* (Moreno et al., 1992; Sánchez, 1997). Escarificación por el paso de las semillas a través del tracto digestivo de algunos animales como liebres: algunas especies de *Opuntia* (Potter et al., 1984; Nobel, 1988), lagartos: *Melocactus violaceus* (Figueira, 1994), de aves *Stenocereus gummosus* (León y Domínguez, 1991), en otras como *Opuntia rastrera* no sufren incrementos significativos en la germinación (Mandujano et al., 1997) y en algunas como *O. dillenii* se ven afectadas las semillas (Válido y Nogales, 1994).

El agua como factor limitante en las zonas áridas, juega un papel importante en la germinación de las semillas de cactáceas, por lo que se dice que estas son quiescentes. Trabajos como los de McDonough (1964) con *Carnegiea gigantea* y *Lemaireocereus thurberi*, Martínez-Holguín (1983) con *Stenocereus griseus* “pitayo de mayo”, y Romero-Schmidt y colaboradores (1992), con *Ferocactus peninsulæ* demuestran que el tiempo de imbibición requerido para iniciar la germinación puede variar desde unas horas hasta algunos días. Por su parte, Dubrovsky (1996) señala que las semillas de *Stenocereus thurberi*, *Pachycereus pecten-aboriginum* y *Ferocactus peninsulæ* var. *townsendianus* presentan una “memoria de hidratación” como resultado de los ciclos de hidratación y deshidratación a los que se ven sujetas; debido a la distribución de las lluvias, lo que les permite responder de manera rápida a una rehidratación.

5.3.1 CUBIERTA SEMINAL EN CACTÁCEAS.

La superficie de las semillas es de gran importancia en la taxonomía ya que contribuye al diagnóstico de las especies (Gregory, 1981). Así mismo, juega un papel importante en la germinación, se ha sugerido que superficies delgadas con ornamentaciones reticuladas, onduladas verrucosas, con gránulos de almidón como reserva, como las cubiertas de *Aztekium ritterii* y *Mammillaria winteriae*, presentan una rápida germinación (Maiti et al., 1994).

La cubierta en la semilla de las cactáceas está formada por el tegumento externo del óvulo. En *Opuntioideae* está cubierto por otra pared, un arilo, el cual forma una coraza dura alrededor de la semilla. En otros géneros se observa también un delgado arilo y la cubierta es descrita como rugosa (Leuenberger, 1974).

De acuerdo con las características de la cubierta Buxbaum (1958, citado por Leuenberger, 1974) distingue cuatro tipos de cubiertas: a) lisas y duras, b) tuberculadas, c) con picos y d) lisas o con pequeñas celdillas y relativamente blandas. Leuenberger (1974) por su parte considera características de las células de la superficie de la testa, el margen y el centro; basándose en esto las clasifica como: 1) lisas, 2) colliculadas o escabrosas, 3) rugosas o con costillas y 4) plegadas.

Sobre la base en el tipo de cubierta puede presentarse restricción mecánica al crecimiento del embrión y a la toma de agua, previniendo así la germinación de algunas especies, tal como sucede en *Echinocactus horzonthalonius* y *Ferocactus peninsulae*. Para este último Romero-Schmidt y colaboradores (1992) sugieren la necesidad de las semillas de ser escarificadas, con el fin de adelgazar las paredes celulares de la cubierta, lo que facilitaría la germinación.

La cubierta también impide el intercambio gaseoso con el medio, y puede presentar inhibidores del crecimiento o reguladores, que afectan los primeros procesos que inician la germinación. En condiciones naturales los inhibidores pueden ser removidos por bacterias u hongos o pueden ser lavados por la lluvia en cantidades suficientes, de manera que puedan germinar posteriormente (Fearn, 1981). Además, la superficie contribuye a que la semilla adhiera el agua y la absorba.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. ÁREA DE COLECTA

Para el presente trabajo se localizó la población de *Lophophora diffusa* en el municipio de Peñamiller, Querétaro ubicado a 21° 03' 18'' de latitud y 99° 48' 52'' de longitud a 1325 msnm; y de *Lophophora williamsii* en El Huizache, San Luis Potosí, ubicado a 22° 55' 30'' de latitud y 100° 27' 40'' de longitud a 1420 msnm. Con el fin de determinar la época de recolección de las semillas, se realizaron viajes prospectivos a las áreas antes señaladas, para registrar su período de floración y fructificación. Se solicitó a la Comisión Nacional del Agua (C. N. A., 1997) de cada estado el registro de la precipitación y temperatura de las estaciones meteorológicas de las zonas correspondientes, las cuales se muestran en las Figuras 1a-c.

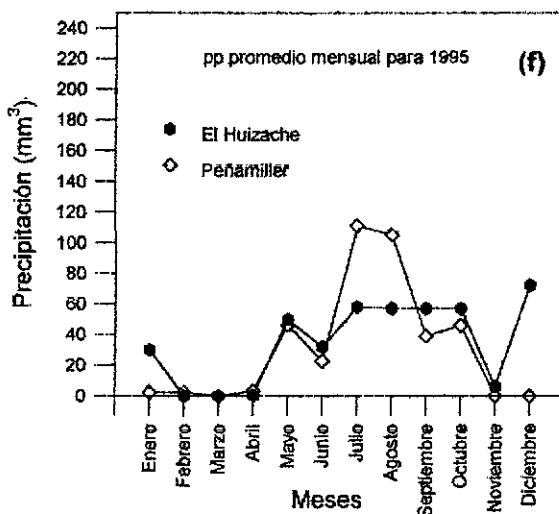
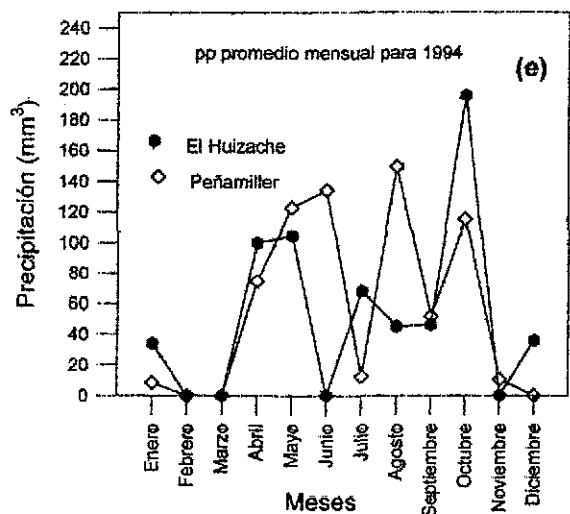
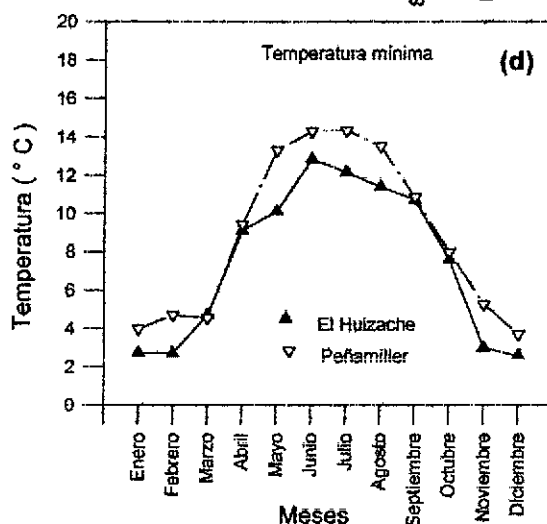
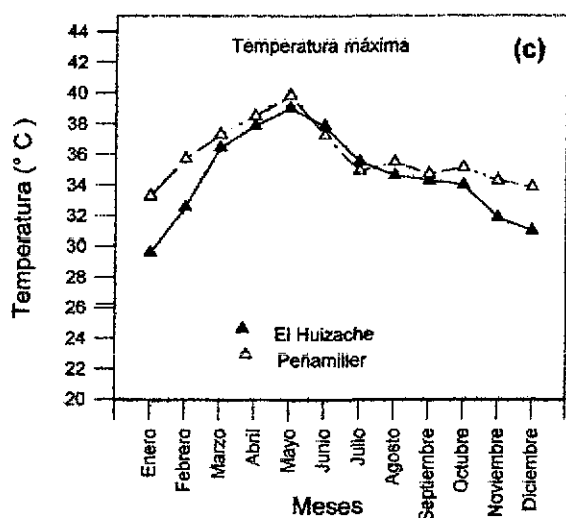
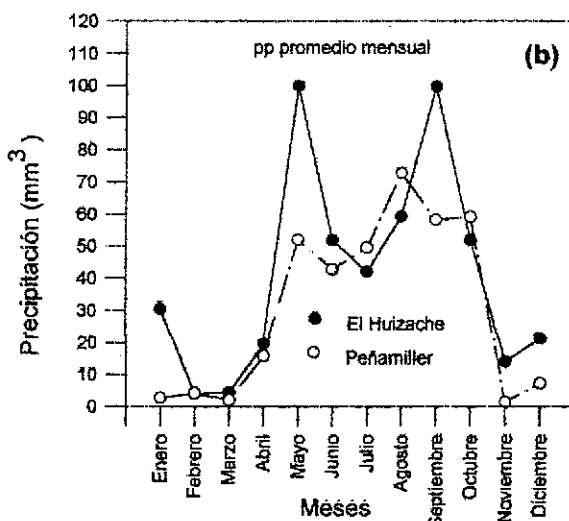
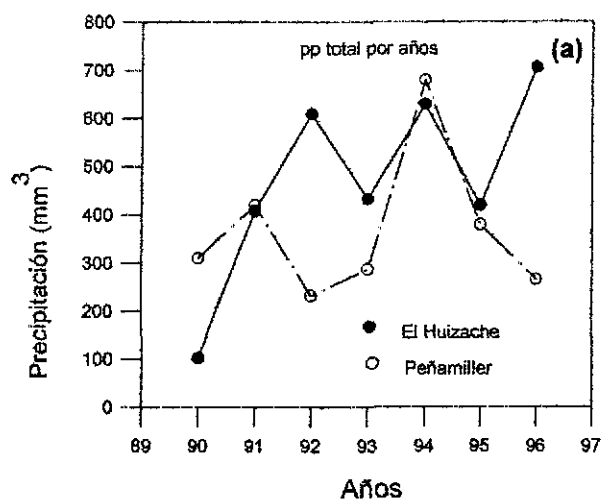
6.2. RECOLECTA DE FRUTOS Y SEMILLAS.

Los frutos se recolectaron durante 5 años consecutivos (1992 a 1996), durante los meses de julio o agosto. Los frutos colectados se secaron a la sombra y a temperatura ambiente. Las semillas se extrajeron y se verificó que estuvieran maduras (de color oscuro y uniforme) y sin daño aparente.

6.2.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LOS FRUTOS Y SEMILLAS.

A los frutos colectados se les registraron las siguientes características: color, diámetro polar (longitud), diámetro ecuatorial (diámetro) y número de semillas por fruto.

Con el fin de determinar el tamaño y peso de las semillas de ambas especies, se midió la longitud a 250 semillas, en un microscopio óptico Nikon Alphato, Japón, con ocular micrométrico, y se pesaron 25 lotes de 10 semillas. Para la descripción de la cubierta seminal se seleccionaron semillas intactas, las cuales fueron cubiertas con oro y examinadas a 10 Kv (Bregman, 1988), en el Microscopio Electrónico de Barrido del Instituto (MEB) de Geología de la U. N. A. M.



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Figura 1. Registro de la precipitación total por años (a); precipitación promedio mensual de 1990 a 1996, promedio de la temperatura máxima (c) y mínima (d), durante los mismos años. Precipitación mensual para 1994 (e) y 1995 (f). Datos proporcionados por la CNA de los estados de San Luis Potosí y Querétaro.

6.3. PROCEDIMIENTOS GENERALES PARA LOS TRATAMIENTOS DE GERMINACIÓN

El procedimiento general para germinar las semillas fue el siguiente: Las semillas se sembraron en cajas de Petri, sobre una placa de agar bacteriológico al 1% en agua destilada; las cajas se colocaron en incubadoras (455 Lab-line instrument, Inc., Melrose Park Illinois) provistas con lámparas de luz fluorescente tubulares y lámpara incandescente que proporcionaron un fotoperiodo de 12 h con una densidad de flujo fotónico (DFF) = $33.21 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La germinación se registró diariamente durante 36 días.

6.4. TRATAMIENTOS PRELIMINARES

6.4.1. Hidratación de las semillas

Se usaron sólo las semillas colectadas en 1993. Para descartar latencia tegumentaria se pesaron 3 lotes de 10 semillas y se colocaron en cajas de Petri con agua destilada en una cámara a 25° C con fotoperiodo de 12 h registrando su peso cada 2 h durante las primeras 8 h, posteriormente se volvieron a pesar a las 24, 48 y 72 h obteniendo así el porcentaje de hidratación.

6.4.2. Escarificación ácida

Se usaron sólo las semillas colectadas en 1993. Las semillas se escarificaron con H_2SO_4 concentrado durante 1 min., con ácido al 50% 30 min. y ácido 0.2 N durante 10 y 5 min. y se enjuagaron repetidas veces con agua destilada estéril, se sembraron y se incubaron a 25° C y fotoperiodo de 12 h. Con base en los resultados, las posteriores escarificaciones se realizaron con H_2SO_4 0.2 N durante 5 minutos.

6.4.3 Ácido giberélico.

Se usaron sólo las semillas colectadas en 1993. Con el fin de descartar latencia fisiológica las semillas se sembraron en agar con ácido giberélico (AG_3) en concentraciones de 250, 500 y 1000 ppm. Con base en esto se seleccionó la concentración de 500 ppm para los demás tratamientos.

6.5. GERMINACIÓN

Todos los experimentos se llevaron a cabo con semillas de 1996, salvo en los casos que se indique lo contrario.

Se utilizó un diseño factorial de 3x4 donde el factor I correspondió a los tratamientos: testigo, escarificación ácida y ácido giberélico (AG₃), el factor II a las temperaturas de 15°, 25°, 30° y 15/30° C, teniendo un total de 12 tratamientos. Se hicieron 10 réplicas con 10 semillas, cada una, para *L. diffusa* y 8 réplicas de 10 semillas para *L. williamsii*, por cada tratamiento.

6.6. REQUERIMIENTOS GERMINATIVOS DE SEMILLAS DE *L. DIFFUSA* Y DE LOS MORFOS DE SEMILLAS DE *L. WILLIAMSI*

Se utilizaron semillas colectadas en 1994. De acuerdo con los datos obtenidos sobre la variación en la longitud de la semilla de *L. williamsii* se establecieron dos subpoblaciones o morfos de medidas contrastantes: morfo (G) semillas grandes (≥ 1.2 mm) y morfo (P) semillas pequeñas (≤ 1.1 mm), mientras que para *L. diffusa* sólo se definió un morfo. Se aplicaron los tratamientos de escarificación ácida (H₂SO₄ 0.2N) y ácido giberélico (500 ppm). Para cada tratamiento se hicieron 3 réplicas con 20 semillas por caja de Petri y se sembraron a la luz y en la oscuridad a la temperatura de 25° C. Para evaluar el efecto de la temperatura se sembró el mismo número de semillas en diferentes temperaturas 15° C, 25° C y alternante de 15°/30° C con fotoperiodo de 12 h y a la oscuridad.

6.7. VIABILIDAD POR RAYOS X

Para evaluar la viabilidad de las semillas (colectadas en 1996) se consideraron dos aspectos: el porcentaje de germinación en los diferentes tratamientos y el estado físico interno de las semillas, el cual se determinó mediante la obtención de placas de rayos X de las semillas no germinadas. También se comparó el patrón de color de las placas, que va de negro a blanco. La comparación se realizó con las placas tomadas a las semillas antes y después de ponerlas a germinar, con el objeto de establecer los criterios sobre las causas que impidieron la germinación, basándose en lo reportado por Kamra (1976) y Simak (1981).

Placas de Rayos X. Se utilizaron placas dentales para adulto donde se colocaron las semillas cubiertas con diurex transparente para evitar el movimiento de las mismas. Se irradiaron a 20 kVp durante 30 seg en un Faxitron Cabinet X-Ray System Faxitron 43804N (Hewlett-Packard, McMinnville, Oregon, U. S. A.). Posteriormente se revelaron con GBX de "Kodak" según la técnica del Laboratorio de Germoplasma, I. N. I. F. A. P. (Garza-López y Nepamuceno-Martínez, 1986). Las placas obtenidas fueron revisadas en un microscopio óptico Nikon Alphato, Japón, utilizando el objetivo 4X.

6.8. LONGEVIDAD EN CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Con el fin de evaluar la longevidad de las semillas bajo condiciones de almacenamiento se realizó lo siguiente.

5.8.1 Almacenamiento de semillas

A) Se utilizaron las semillas colectadas en 1994 para *L. williamsii* y 1995 para *L. diffusa*. Antes de almacenarse las semillas se sometieron a dos diferentes procesos de deshidratación (Fig. 2). Se utilizaron para cada tratamiento 6 lotes de 40 semillas de *L. williamsii* y 3 lotes de 40 semillas de *L. diffusa*. Para los tratamientos de preacondicionamiento, las semillas se mantuvieron en canastillas de plástico que impedían el contacto directo con las soluciones. Los procesos de deshidratación y rehidratación fueron los siguientes: con silica gel (A): las semillas se pesaron y se colocaron en recipientes herméticos con silica gel activa durante 5 semanas, estas se pesaron cada semana hasta su almacenamiento. Deshidratación con soluciones saturadas (B): las semillas se deshidrataron gradualmente colocándolas en recipientes herméticos que contenían soluciones saturadas de NaCl (75% H. R.), Ca (NO₃). 4H₂O (50% H. R.), MgCl₂ (30% H. R.), LiCl (12% H. R.) y silica gel activa (0% H. R.), éstas soluciones de acuerdo a Winston y Bates (1960) proporcionaron el contenido de humedad señalado en un rango de temperatura de 20 - 25° C.

Al finalizar ambos tratamientos, las semillas se colocaron en ampolletas sobre un fondo de algodón. Posteriormente se cubrieron con otra capa de algodón sobre la cual se colocó silica gel activa, las ampolletas se sellaron a la flama con un mechero fisher. Después se sumergieron en agua durante 30 min para comprobar su hermeticidad. Las ampolletas fueron puestas en un frasco de vidrio que se almacenó en un refrigerador comercial (American, Fritalic, Méx.) con una temperatura de 0°± 4° C. Lo anterior se hizo de acuerdo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

con las propuestas y recomendaciones de Pitel (1984), Gómez-Campo (1987), Cubero (1990) y Bueno y colaboradores (1990). Para evaluar la duración de la viabilidad bajo las condiciones de almacenamiento se sacaron los lotes respectivos de semillas para *L. williamsii* a 2, 4, 6, 8 y 12 meses, y para *L. diffusa* a los 2, 6 y 12 meses. Para aclimatarse se colocaron a temperatura ambiente durante 48 h sin destapar los viales.

Al destapar los viales las semillas pasaron por el procedimiento de deshidratación correspondiente, en forma inversa. Posteriormente se sembraron en cajas de Petri con agar al 1% 4 réplicas de 10 semillas para cada tratamiento y para ambas especies, se incubaron en las cámaras de germinación a temperatura de 25° C con fotoperiodo de 12 h.

6.9. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos fueron transformados con la corrección del arco seno para su análisis. Utilizando el Análisis de Varianza Multifactorial (MANOVA), así como el análisis de rango múltiple LSD. Todos los análisis se realizaron con el programa STATISTICA versión 6.0, utilizando $\alpha = 0.05$ (Zar, 1984; Montgomery, 1991).

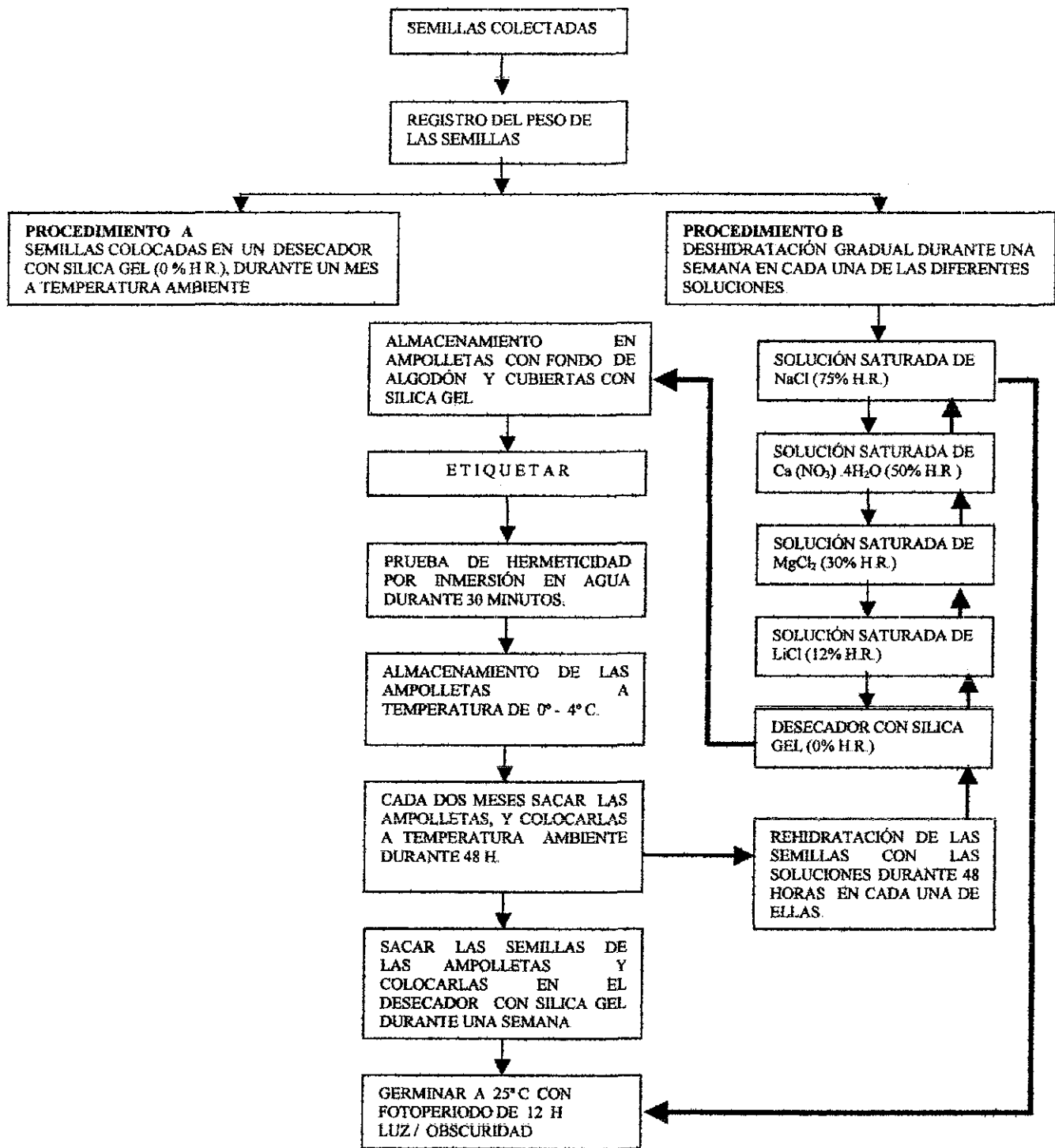


Fig. 2. Proceso de almacenamiento de las semillas de *Lophophora spp.*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. FLORACIÓN Y FRUCTIFICACIÓN.

En el caso de las dos poblaciones de *Lophophora* se observó, que el inicio de la floración para ambas especies ocurrió en el mes de mayo, tiempo en el que según los datos climatológicos (Fig. 1) se presenta la primera lluvia abundante. Esta fenofase al parecer se prolonga hasta el mes de agosto. Durante este mes se observaron también algunos organismos en floración (Cuadro 1), no presentando, por tanto sincronía reproductiva. Desde el punto de vista ecológico esta característica representa una ventaja, ya que en condiciones desfavorables sólo una parte de las estructuras reproductoras se vería afectada. Así se posibilita el surgimiento de nuevas estructuras en mejores condiciones ambientales, con lo que se amplían las posibilidades de que éstas finalicen su crecimiento, aunque se reduzca su número.

ESPECIE	LOCALIDAD	PERIODO DE FLORACIÓN	PERIODO DE FRUCTIFICACIÓN
<i>L. diffusa</i>	Peñamiller, Qro	Mayo - Agosto	Julio - Septiembre
Precipitación promedio (mm)		51.931	55.58
<i>L. williamsii</i>	Huizache, S.L.P. San Luis Potosí.	Mayo - Agosto	Julio - Septiembre
Precipitación promedio (mm)		75.691	77.032

CUADRO 1. Eventos fenológicos observados en las poblaciones de *L. diffusa* y *L. williamsii* durante el período 1992- 1996.

Lo anterior concuerda con lo mencionado por diversos autores que señalan que los cambios ambientales en este tipo de ecosistemas provocan variaciones temporales en la vegetación, que se refleja principalmente en: la abundancia, productividad y fenología de las especies, siendo los factores más relevantes el periodo de lluvias y la temperatura, en donde el primero influye sobre el crecimiento estacional de los organismos y el segundo en el inicio de

TESIS CON
FOLIA DE ORIGEN

sus fenofases, de tal manera que combinados resultan de suma importancia para las plantas (Ayyad, 1981).

Entre las cactáceas un ejemplo de esta situación se ha observado en *Carnegiea gigantea*, el saguaro, especie que disminuye la producción de flores a causa de períodos prolongados de sequía (Humprey, 1975 citado por León y Domínguez, 1991). Dicha limitación parece reflejarse primero en la asignación de biomasa al tejido reproductivo y por lo tanto se reduce la eficiencia reproductiva: definida por el número de flores y producción de semillas (Fischer y Turner, 1978; Gibson y Nobel, 1986). Por otro lado, también se atribuye a las bajas temperaturas un efecto limitativo en la floración (Steenbergh, 1977 citado por León y Domínguez, 1991), lo que puede ser el caso de ambas especies de *Lophophora*, ya que las áreas que habitan, con frecuencia se ven sujetas a disminuciones drásticas de su temperatura.

La fructificación (Cuadro 1) para las dos poblaciones, se registró durante los meses de julio a septiembre cuando se presentó, la mayor precipitación para el mes de agosto (149.6 mm) para el área de Peñamiller, donde habita *L. diffusa*, y muy escasa en julio y septiembre (12.4 y 51.6 mm respectivamente; Fig. 1b y 1e) durante 1994 (Fig. 1e), año en el cual se obtuvo un buen número de semillas (Cuadro 2). Mientras que, para el año de menor colecta (1995) julio y agosto presentaron las mayores precipitaciones del año (Fig. 1f), lo que al parecer afectó el desarrollo de frutos y semillas. Cabe considerar que las condiciones, de la zona en las que normalmente se desarrolla *L. diffusa*, son más secas lo que ocasiona que los organismos se encuentren en estrés hídrico por más tiempo. Un evento ocasional de incremento en la disponibilidad de agua puede resultar ventajoso para algunos procesos como el crecimiento, pero no para otros; en este caso el desarrollo vegetativo pudo verse favorecido, no así la producción de semillas. Por otra parte, tanto la falta de agua como un exceso de ésta puede inducir la abscisión de frutos jóvenes (Barbera et al., 1994).

En El Huizache, hábitat de *L. williamsii*, los meses de fructificación, julio, agosto y septiembre registraron escasa precipitación (68, 45 y 46 mm respectivamente; Fig. 1b) tanto en el año de 1994 (Fig. 1e) donde se colectó el mayor número de semillas (Cuadro 2) como en el que se obtuvo el menor número de semillas (1995); la precipitación fue baja, de 58 y 57 mm mensuales (Fig. 1f). Se propone que, en esta especie la producción de semillas debe depender

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

de algún otro factor o ser muy sensible a precipitaciones bajas en años previos, ya que no en todos los casos la reproducción está relacionada con las precipitaciones del año de producción, sino con sequía en los años previos (Del Castillo, 1988; Kigel y Galili, 1995). Por otra parte, se sabe que el crecimiento del fruto y su tamaño final dependen de diversos factores ambientales y fisiológicos (Barbera et al., 1994).

ESPECIE	SEMILLAS COLECTADAS					PROMEDIO DE ORGANISMOS REVISADOS
	1992	1993	1994	1995	1996	
<i>L. diffusa</i>	650	1004	1126	280	1417	271
Organismos con fruto	22	29	30	8	37	
Promedio de semillas por organismo ± ds	28.8 10.25	34.8 4.87	38.0	36.0 10.95	38.0	
<i>L. williamsii</i>	390	1063	1390	250	751	376
Organismos con fruto	14	30	39	8	24	
Promedio de semillas por organismo ± ds	27.0 4.63	35.33 8.98	35.2 10.61	32.0 13.95	31.4 7.50	

CUADRO 2. Número de semillas maduras colectadas durante los meses de julio / agosto y promedio aproximado de organismos revisados.

7.1.2. SEMILLAS COLECTADAS.

En cuanto a las semillas recolectadas, en los diferentes años (Cuadro 2) estas resultaron ser numerosas comparadas con las que llegan a producir *Epithelantha* y *Pereskia aculeata* de 1 a 5 por fruto (Lodé, 1995; Pedroni y Sánchez, 1997, citados por Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000), y pocas comparadas con otras especies de cactáceas, como *Pilosocereus chrysacanthus* con mas de 1000 semillas por fruto (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, op. cit.)

y *Epiphyllum anguliger* con frutos que contienen desde 1500 hasta 5500 semillas (Zimmer, 1966 citado por Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, op. cit.). Fischer y Turner (1978) señalan que, en plantas perennes de zonas áridas y semiáridas la producción de semillas no es crítica para su sobrevivencia, excepto para plantas anuales, bianuales y agaves cuya floración y producción de semillas se da una sola vez, por lo que esto dependerá del carbono asimilado y del agua almacenada durante sus primeros años de vida (Howell y Schropfer, 1981; Nobel, 1988). En especies perennes, el esfuerzo reproductivo en cualquier año es sensible a la limitación de agua, fluctúa ampliamente de un año a otro según el grado de estrés al que estén sometidas durante la estación de crecimiento o el periodo que le precede. Con ello se ve reducida la producción o acumulación de biomasa en los tejidos reproductivos, lo cual se refleja en las semillas producidas por unidad de materia seca invertida en la inflorescencia (Fischer y Turner, 1978).

Debido a esto, se considera que la variación en los parámetros ambientales pudieron haber influido en la producción de semillas que presentaron tanto *L. diffusa* como *L. williamsii* (Cuadro 2), cuyas áreas de distribución se localizan en diferentes estados de la República y en consecuencia, las condiciones climáticas a las que estuvieron expuestas durante los últimos años (Fig. 1) pudieron provocar estos resultados. La fluctuación en la temperatura (Fig. 1c y d) y la precipitación anual (Fig. 1a) fue diferente, siendo Peñamiller un área en general más seca que El Huizache, de manera que una disminución en el número de semillas para *L. diffusa* puede significar un "ahorro" en el costo energético para la generación de flores, que es muy alto. Esta respuesta estaría compensada con la propagación vegetativa, proceso que requiere menor energía y asegura organismos maduros en menor tiempo. Con mayores posibilidades de sobrevivir que la progenie derivada de la reproducción sexual, como se ha observado para *Stenocereus gummosus* (León y Domínguez, 1991) y *Opuntia rastrera* (Mandujano et al., 1996).

En el campo se observó que por lo general, *L. diffusa* crece protegida bajo la sombra de otras plantas en colonias con pocos individuos (de 5 a 21), mientras que organismos solitarios crecen entre rocas y ranuras del suelo. Las colonias parecen ser el resultado de la propagación vegetativa, mientras que los organismos solitarios son consecuencia de la reproducción sexual. Sin embargo, en ambos casos los diámetros que presentan son mayores

(aproximadamente >8 cm de diámetro en organismos en etapa reproductiva), a los que se observan en *L. williamsii* (observación personal) esto podría implicar la presencia de una mayor proporción de parénquima esponjoso en *L. diffusa*, lo que le permitiría mayor capacidad de almacenamiento de agua, que le da el suministro necesario para su crecimiento, aún en condiciones extremas de poca o nula disponibilidad de agua. Sin embargo, el hecho de que crezca siempre protegida de la insolación directa indica una mayor sensibilidad al estrés hídrico o a las altas temperaturas que *L. williamsii*.

Las colonias de *L. williamsii*, tienen un gran número de integrantes (de 5 a 49 organismos), de diámetro menor (<8 cm en colonia numerosa), al que presenta *L. diffusa* (observación personal), las cuales al parecer también se forman por reproducción vegetativa. Este tipo de crecimiento favorece la eficiencia de los polinizadores en caso de ser autocompatibles, lo que pudo haber influido en el hecho de que se encontrara un mayor número de semillas que en la otra especie. Compensando de esta forma el gasto energético invertido en la reproducción vegetativa a la vez que mantendrían la variabilidad genotípica.

ESPECIE	CARACTERISTICAS FISICAS DEL FRUTO			PROMEDIO DE SEMILLAS POR FRUTO
	DIÁMETRO (mm ± ds)		COLOR	
	Polar	Ecuatorial		
<i>L. diffusa</i>	7.25 1.33	4.25 1.13	BLANCO	35.12
<i>L. williamsii</i>	7.20 1.41	4.0 0.49	ROSA	32.18

CUADRO 3. Características físicas de los frutos colectados de *L. diffusa* y *L. williamsii*.

7.3. CARACTERÍSTICAS DEL FRUTO.

Los frutos presentan la forma claviforme típica de los llamados “chilitos” como lo señalan Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) similares a los del género *Mammillaria*, donde el lóculo es llenado por las semillas y un pobre desarrollo de pulpa.

Ambas especies presentan pocas semillas (Cuadro 3), el promedio es de 32 a 35, similar al número que presentan los frutos de *Pereskia spp.* (Gibson y Nobel, 1986) y un número mayor

al que reporta Boke y Anderson (1970) para *Lophophora*, en una descripción del género, señala que tienen de 10 a 30 semillas que ocupan la parte media del fruto. La superficie de los frutos en ambas especies es: delgada, lisa y brillante, de color blanco amarillento para *L. diffusa* y rosa para *L. williamsii*, características de cada especie como lo mencionan Boke y Anderson (1970); Anderson (1980) y Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991).

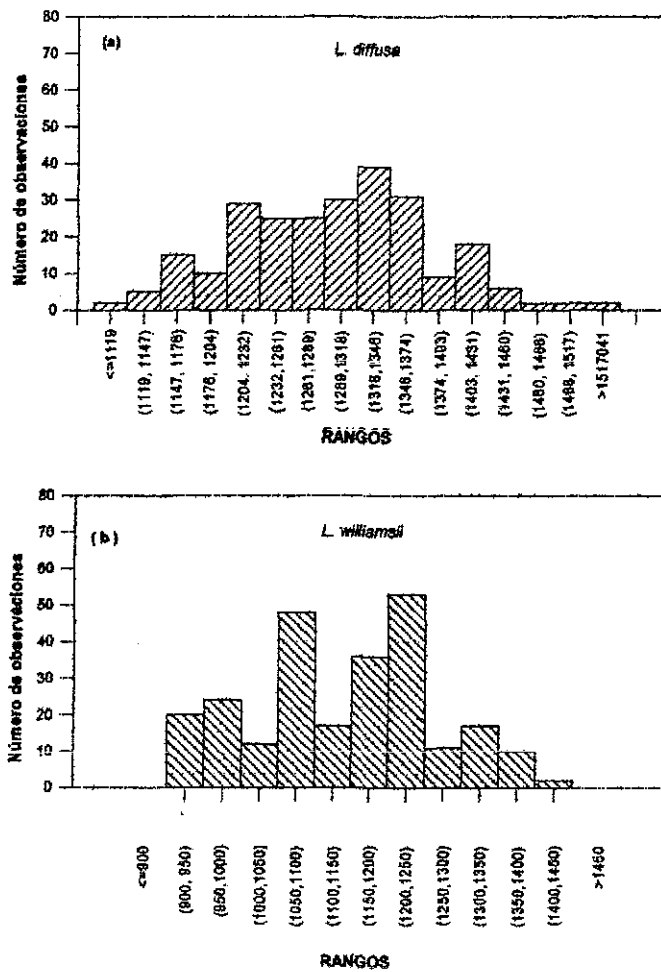
7.4. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LAS SEMILLAS.

7.4.1. Tamaño

En cuanto el tamaño de la semilla (Cuadro 4) se observó diferencia significativa ($F_{(1,498)} = 280.97, P < 0.0001$) entre las dos especies siendo *L. diffusa* la que presenta semillas de mayor tamaño 1.296 mm en promedio, cuyo valor es cercano al reportado para el género, por Boke y Anderson (1970) y Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada (1991) el cual es de 1.2 a 1.5 mm de longitud. El tamaño de las semillas según Leishman y Westoby (1994) es un rasgo crítico de la historia de vida de la planta: proporciona una medida de la cantidad de reserva que utilizara el embrión, la cual ha sido suministrada por la planta madre, lo que indicaría el requerimiento del tiempo para su desarrollo.

ESPECIE	CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA SEMILLA			
	LONGITUD (mm + ds)	PESO (mg + ds)	COLOR	CARACTERÍSTICAS DE LA CUBIERTA
<i>L. diffusa</i>	1.296 0.089	0.966 0.11	NEGRO	Tuberculada: presenta tubérculos con superficie rugosa, en toda la cubierta.
<i>L. williamsii</i>	1.136 0.120 Pequeñas ≤ 1.100 Grandes ≥ 1.200	0.509 0.06	NEGRO	Tuberculada: presenta tubérculos con superficie rugosa y depresiones de color oscuro.

CUADRO 4. Características físicas de las semillas de *L. diffusa* y de los morfos observados para *L. williamsii*. El peso promedio se obtuvo del registro de lotes de diez semillas.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 3. Distribución de los rangos del tamaño de las semillas de *L. diffusa* (a) y *L. williamsii*(b)

La distribución de frecuencias del tamaño de las semillas de *L. diffusa* (Fig.3a) y *L. williamsii* (Fig.3b) mostró que únicamente *L. williamsii* presentó dos morfos de semillas: semillas pequeñas (P) ≤ 1.100 mm y semillas grandes (G) las que registraron ≥ 1.200 mm.

Con respecto al heteromorfismo de las semillas que presentó *L. williamsii*, al igual que en otras especies puede ser atribuido a su posición dentro del fruto. En el caso de compuestas las semillas de mayor dimensión se ubican hacia el centro del mismo y las de menor magnitud

en los extremos. Esta variación en el tamaño según Corkidi y colaboradores (1991), está relacionada con la presencia de una respuesta germinativa diferencial debida a una latencia disímil. Por otra parte, Leishman y Westoby (1994) mencionan que la producción de semillas pequeñas proporciona una mayor posibilidad de dispersión, cuando no se cuenta con las estructuras adecuadas. Además si, se tiene un tiempo restringido de condiciones favorables para germinar, crecer y establecer, la producción de semillas pequeñas es una ventaja, ya que por su tamaño pueden ser acarreadas a diferentes distancias e introducirse más fácilmente en el suelo. Abarcando una serie de espacios más diversos en la microtopografía del área, lo que puede modificar en ocasiones las oportunidades de establecimiento (Moreno, 1996).

7.4.2. Color

Las dos especies presentaron color negro (Cuadro 4), es sabido que durante la fase de maduración de la semilla se efectúan cambios tanto físicos como químicos que conducen a la senescencia del fruto y la dispersión de las semillas (Gutterman, 1996). En consecuencia el color que exhiben las semillas se atribuye a la oxidación de fenoles y existencia de quinonas que se presentan durante este periodo, lo cual proporciona colores que van desde amarillo, café hasta el negro, asociados a la madurez de la semilla. En este caso, se consideró como semillas maduras a las que presentaron color negro, y semillas inmaduras a las que presentaron colores amarillo y café claro, junto con un escaso desarrollo interno, como se verificó al abrirlas. De manera que en esta especie la coloración es un buen indicador de la madurez de las semillas, lo que no ocurre en todas las especies de plantas (Baskin et al., 1998a).

7.4.3. Cubierta seminal

Las semillas de *L. diffusa* (Fig. 4a) y *L. williamsii* (Fig. 4b) presentaron un gran hilio aplanado de aspecto blanquecino, en el cual se distinguen tricomas. Boke y Anderson (1970) clasifican a la superficie como verrucosa en función de su apariencia. Tomando en cuenta algunas características microestructurales observadas en el MEB se amplió la descripción de la cubierta.

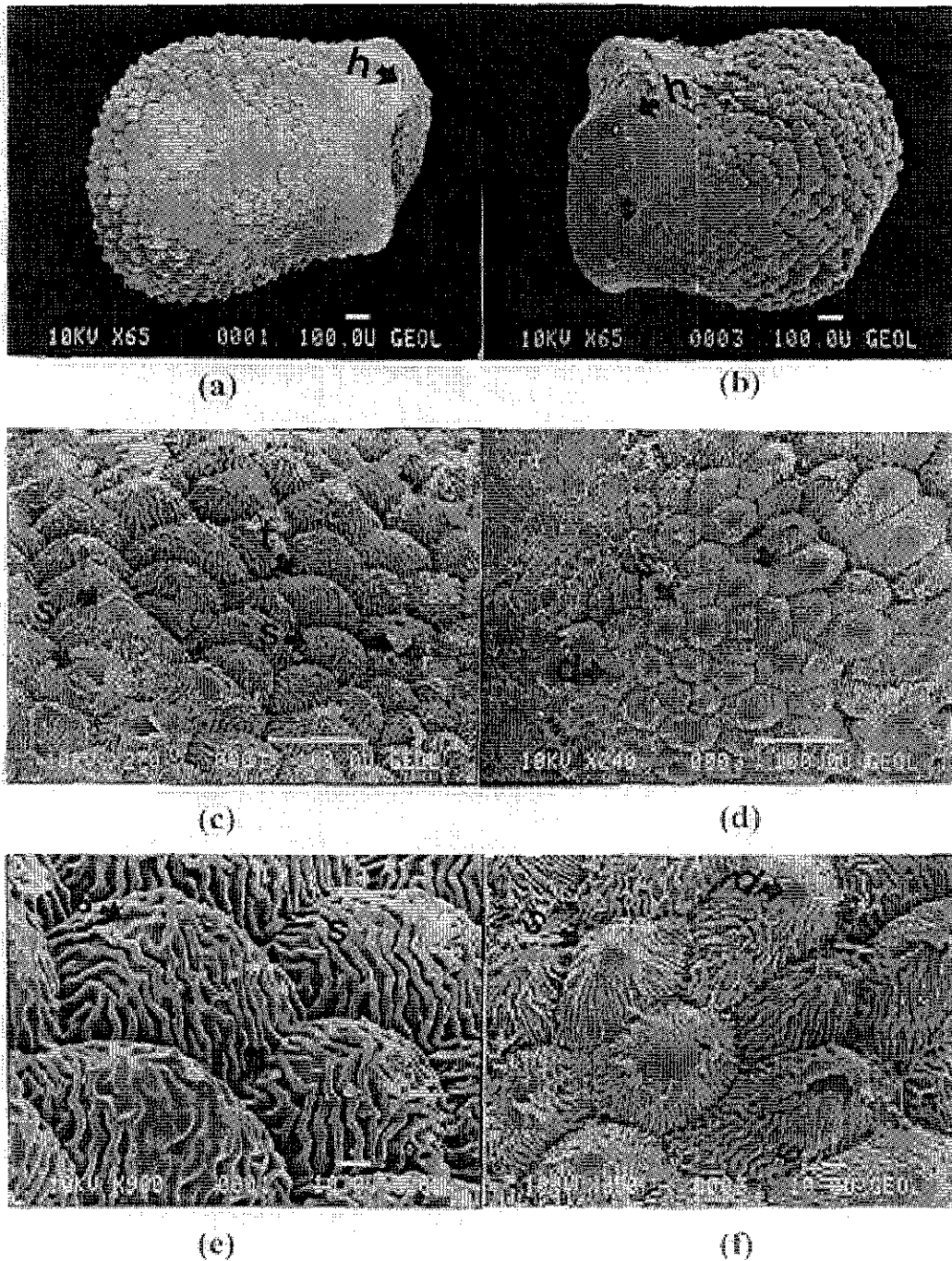


Figura 4. Fotografías de las semillas de *L. diffusa* (izquierda; a, c y e) y *L. williamsii* (derecha: b, d y f) tomadas en MEB a 650X, 2700X y 9000X; vista lateral y cubierta; h = hilio; t = tubérculo; s = superficie del tubérculo; d = depresión.

De acuerdo con Leuenberger (1974) la cubierta seminal, de las dos especies de *Lophophora* correspondió al tipo tuberculado, también llamado rugoso. Se observó que presentan

tubérculos (Fig. 4c y 4d) que ocupan toda la superficie de la semilla, forman hileras que se fusionan y dejan fosos entre ellas. Los tubérculos se vuelven menos prominentes y pequeños al acercarse al hilio, de acuerdo a las características de las células que constituyen la superficie de los tubérculos, éstas presentaron márgenes o bordes gruesos, lo que proporcionó la apariencia rugosa de la testa (Fig. 4e y 4f).

En el caso de *L. williamsii* se encontró que en la mayoría de los tubérculos cercanos al hilio, la superficie del ápice del tubérculo, presentó una mancha de color oscuro (Fig. 4f), que sugiere una depresión natural. Podemos descartar que esta mancha se haya debido a la fragmentación de los tubérculos, ya que muestra una forma regular en todos ellos.

Para *L. diffusa* se observaron algunos tubérculos rotos (Fig. 4c), pero el sitio de fragmentación difiere en tamaño y forma entre ellos, y en relación a los demás tubérculos, lo que no ocurre en *L. williamsii* (Fig. 4d).

7.5. HIDRATACIÓN DE LAS SEMILLAS

La hidratación de las semillas de *L. diffusa* y *L. williamsii* (Fig. 5) presenta las fases típicas de imbibición observadas en la cinética de este proceso (Hadas, 1982), que también se ha reportado para especies de cactáceas como *Stenocereus griseus* (Martínez-Holguín, 1983), *Echinocactus platyacanthus* (Quintana, 1994) y *Stenocereus thurberi* (Dubrovsky, 1996). Para estas especies se da un incremento en el contenido de humedad final que eleva en aproximadamente el 50% el peso de la semilla. Este valor es cercano al valor de incremento en peso encontrado para *L. williamsii* que fue de 44.46%, mientras *L. diffusa* alcanzó un incremento mayor 73.61%. Algunos autores señalan que el nivel crítico de humedad requerido para una semilla es específico para cada especie. Debido a, que el tipo de reserva que presenten modifica el potencial matricial, el cual forma una parte importante de los componentes del potencial hídrico de la semilla, y por lo tanto tiene efecto en la capacidad de la semilla para absorber agua del ambiente, lo que determina el ingreso y la velocidad de entrada del agua a la semilla (Hadas, 1982; Taiz y Zeiger, 1998).

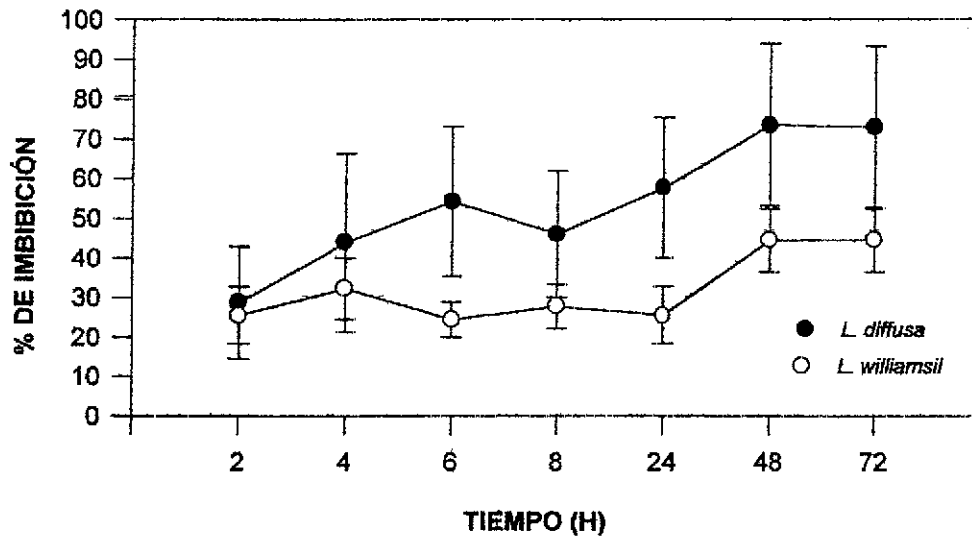


Figura 5. Porcentaje de imbibición de las semillas de *L. diffusa* y *L. williamsii* colocadas a 25° C durante 72 h. Promedio \pm EE.

La diferencia que presentaron ambas especies, podría ser una adaptación a la disponibilidad de agua en su ambiente natural. En el caso de *L. williamsii* las lluvias son más abundantes y constantes en su hábitat, de manera que no requiere de un grado de hidratación alto para su germinación, mientras que para *L. diffusa* las lluvias son menos abundantes, esto obliga a la semilla a asegurar una mayor hidratación para iniciar su germinación.

En general, se observó para ambas especies un rápido incremento en el contenido de humedad durante las primeras 4 h, el cual se mantuvo hasta las 24 h para *L. williamsii*, quien presentó un nuevo incremento a las 48 h, en cambio *L. diffusa* mantuvo este incremento hasta las 48 h. Esto podría indicar que las semillas en su hábitat, responden de manera inmediata a las lluvias y “esperan” a que éstas sean suficientes, para mantener el suelo húmedo por un tiempo relativamente largo, o hasta que la humedad este constante y alcance el nivel de hidratación adecuado para la germinación, asegurando con ello la posibilidad del establecimiento inicial de la futura plántula. Ambas especies tardaron en germinar tres días al igual que otras especies de cactáceas, germinadas en laboratorio (López y Sánchez, 1989;

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Moreno et al., 1992; Maiti et al., 1994; Álvarez-Aguirre y Montaña, 1997; Ruedas et al., 2000).

Según Dubrovsky (1996) el incremento final en la humedad de la semilla coincide con el inicio de la formación del parénquima esponjoso, encargado del almacenamiento de agua, el cual aumenta rápidamente durante los primeros días después de la germinación. Este hecho es de gran importancia para ambas especies, ya que en su hábitat natural son sometidas a condiciones extremas de sequía y temperatura, especialmente en el caso de *L. diffusa*.

7.6. GERMINACIÓN

Lophophora diffusa

La respuesta de germinación no presentó diferencias significativas debidas a la escarificación y aplicación de giberelinas ($F_{(2,119)} = 2.123$, $P = 0.124$). En general la germinación fue significativamente mayor a 25° C. A esta temperatura las semillas escarificadas, mostraron una capacidad germinativa significativamente mayor (60%) al control (51%), sin diferencia con la germinación (56%) con giberelinas (Fig. 6b). La aplicación de giberelinas a temperatura fluctuante disminuyó la germinación (Fig. 6d y 7).

Los resultados encontrados para el tratamiento de escarificación en las semillas de *L. diffusa* (colecta 96) indicaron que una porción de las semillas requieren este tratamiento, ya que al parecer presentaron latencia atribuida a la impermeabilidad de la cubierta. Existe la posibilidad de que la cubierta presentara un engrosamiento mayor debido, según García y Peña (1995), a la presencia de células de paredes gruesas muy compactas con depósitos de compuestos hidrófobos como las ceras u otros elementos impermeabilizantes, lo que impide la entrada de agua y en consecuencia la germinación. Durante la aplicación del tratamiento se observó que al iniciar la escarificación de las semillas algunas de estas flotaban y al concluir la mayoría de ellas dejaban de hacerlo. Además presentaban un color más brillante (observación personal), posiblemente por la presencia de compuestos hidrófobos, como las ceras, en la cubierta y su posterior remoción por la acción del ácido. Esto permitió la entrada de agua y el incremento en el porcentaje de germinación.

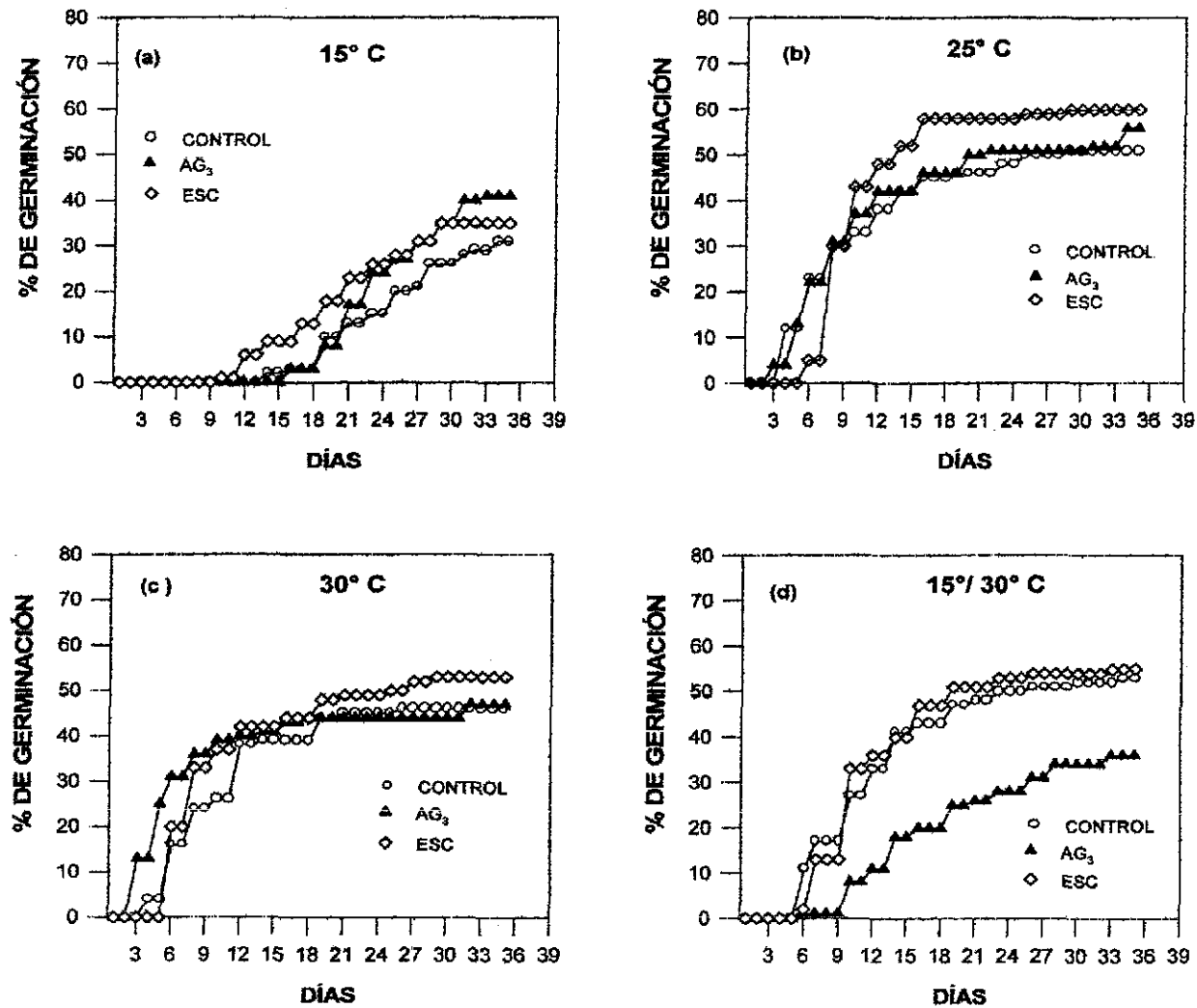


Figura 6. Porcentaje de germinación acumulada de *L. diffusa* en diferentes temperaturas: a) 15° C; b) 25° C; c) 30° C y d) 15° / 30° C. Y en diferentes tratamientos: control, giberelinas (AG₃) y escarificación ácida (ESC), con fotoperíodo de 12 h luz /oscuridad.

La presencia de una cubierta impermeable en una porción de las semillas de esta especie, representa una ventaja en su ambiente natural. Les brinda protección durante las condiciones de mayor sequía, y la oportunidad de responder a situaciones más adecuadas para su germinación, ya que como se mencionó con anterioridad, el área donde se desarrolla presenta temperaturas extremas y baja precipitación. En condiciones naturales, la temperatura

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

y la lluvia junto con el constante roce de las semillas con las partículas del suelo contribuyen a la remoción y desgaste de la cubierta. Así se favorece que en el periodo de lluvias se presente una rápida entrada de agua al interior de las semillas, y germinen en un tiempo diferente a las semillas que no requieren de este proceso, lo que coincide con lo observado para algunas otras especies (Baskin y Baskin, 1998b).

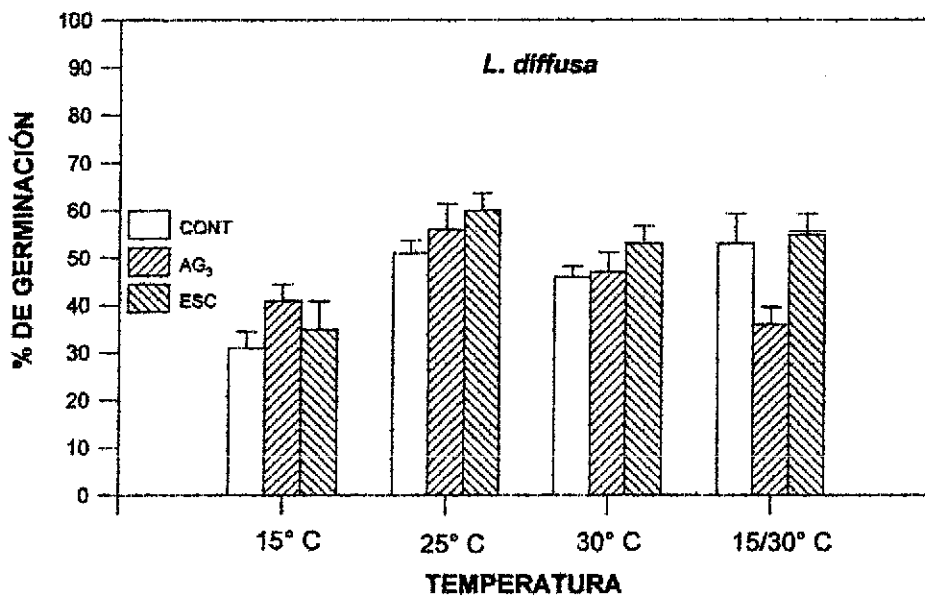


Figura 7. Porcentaje de germinación total de *L. diffusa* en las diferentes temperaturas: grupo control (CONT), con giberelinas (AG₃) y semillas escarificadas (ESC). Sembradas con fotoperiodo de 12 h luz /oscuridad. Promedio \pm EE.

La respuesta final de germinación a las temperaturas aplicadas presentó diferencias significativas ($F_{(3,119)} = 10.186$, $P < 0.0001$) y, el análisis de rango múltiple indicó que la mejor condición de temperatura para los tratamientos fue a 25° C (Fig. 7). La interacción entre ambos factores fue significativa ($F_{(6,119)} = 2.229$, $P = 0.045$) esto indica que en conjunto la temperatura, escarificación y la aplicación de las giberelinas favorecen un incremento en la germinación de estas semillas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En su respuesta a la temperatura fluctuante (Fig. 6d), el análisis de rango múltiple, señaló que la capacidad máxima de germinación (55%) se observó en semillas escarificadas y que ésta no es diferente al testigo ni a la germinación de semillas escarificadas y germinadas en temperaturas constantes de 25° C y 30° C (Fig. 6b y 6d). En cambio si existieron diferencias significativas con los tratamientos expuestos a la temperatura de 15° C (Fig. 6a y 7).

Diversos autores mencionan que temperaturas alternantes producen mejores resultados en el proceso de germinación que las temperaturas constantes, ya que en condiciones naturales se producen variaciones diarias y estacionales (Fearn, 1981; Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1994). También se ha señalado que la alternancia de temperatura favorece el porcentaje de germinación (Simerda, 1990), ya que la condición de estrés impuesta por este tratamiento, sobre la cubierta, permite la pérdida de la impermeabilidad por la separación de áreas especializadas en la pared celular de las células de la cubierta (Ballard, 1973 citado por Baskin et al., 1998a). Asimismo éste último señala que es la aplicación de una temperatura alta y no la alternancia la que rompe la latencia impuesta por la cubierta.

En el caso de *L. diffusa*, la fluctuación de temperatura favoreció la germinación de los testigos (Fig. 6d y 7). El hecho de que germinen en una proporción igual a la de las semillas escarificadas sugiere que ésta temperatura, modifica la cubierta o disuelve las ceras que se encuentran en ésta. Como ya se ha señalado, las condiciones naturales en las que se desarrolla presentan temperaturas extremas por lo que en conjunto tanto la temperatura como el tratamiento favorecieron su respuesta. Se ha sugerido que la germinación a bajas y altas temperaturas podría estar relacionada con el contenido de ácidos grasos saturados de las semillas (Linder, 2000).

La germinación de la cosecha de 1994 germinó mejor a temperaturas constantes, lo que indicó que hay diferencias entre las semillas producidas durante diferentes años. Estas diferencias pueden estar relacionadas con el efecto de las condiciones ambientales en la fase de secado durante la maduración de las semillas, etapa en la que se termina la diferenciación de la cubierta (Kermode, 1995).

La respuesta de germinación observada a la temperatura de 15° C fue menor al 50% y mayor al 30%, esto indica cierta tolerancia a temperaturas bajas, cercana a la mencionada por Rojas-Aréchiga y colaboradores (1998) quienes señalan que a temperaturas menores de 12° C no alcanzan el 50% de germinación. Una baja temperatura puede provocar que las semillas entren en latencia, asimismo es conocido que entre las semillas de una población el requerimiento térmico puede variar; de ahí que en condiciones naturales la temperatura en el suelo puede determinar la fracción de semillas que germinará (García-Huidobro et al., 1982). En este caso al parecer se presentó esto último, ya que las semillas que no germinaron en ésta temperatura, germinaron al transferirlas a la temperatura de 25° C (datos no reportados).

Por otra parte, se menciona que en algunos casos la germinación a bajas temperaturas, requiere de un mayor tiempo, para obtener su máximo porcentaje de germinación (Fig. 6a), lo anterior es atribuido a la incorporación de agua al interior de la semilla, y se explica sobre la base en la permeabilidad que presenta la membrana a esta temperatura, ya que la mayor parte de la actividad enzimática se encuentra regulada por este factor, que al no ser óptimo retarda la reactividad del metabolismo celular. Afecta a su vez el potencial osmótico dentro de la semilla y en consecuencia retrasa la entrada de agua a la misma, y el inicio de la germinación (Probert, 1992), esto coincide con lo observado para *L. diffusa* (Fig. 6a y 7).

La respuesta de germinación de esta especie puede ser atribuida a las condiciones ambientales en las que se desarrolla, ya que es sabido que muchas especies germinan en un amplio rango de temperatura y que algunas otras lo hacen en rangos más estrechos. También se ha señalado que la temperatura durante la maduración y post maduración de la semilla afecta su respuesta (Gutterman et al., 1998). Asimismo, Gutterman (1994) menciona que en especies de zonas áridas es muy importante la temperatura durante la primera fase de hidratación; dicho efecto puede repercutir tanto en el porcentaje máximo de germinación como en la tasa de germinación (García-Huidobro et al., 1982).

El rango de respuesta observado para esta especie representa una ventaja en su hábitat natural ya que le permite distribuir su germinación en el tiempo y espacio donde las posibilidades de éxito en el establecimiento de las plántulas podrían ser mayores.

L. williamsii

Al analizar el efecto de los tratamientos sobre la respuesta de germinación, la diferencia más significativa se observó con la escarificación ácida ($F_{(2, 71)} = 118.6, P < 0.0001$). Este tratamiento presentó la respuesta de germinación más baja (7.5%) en las diferentes temperaturas (Fig. 8 y 9).

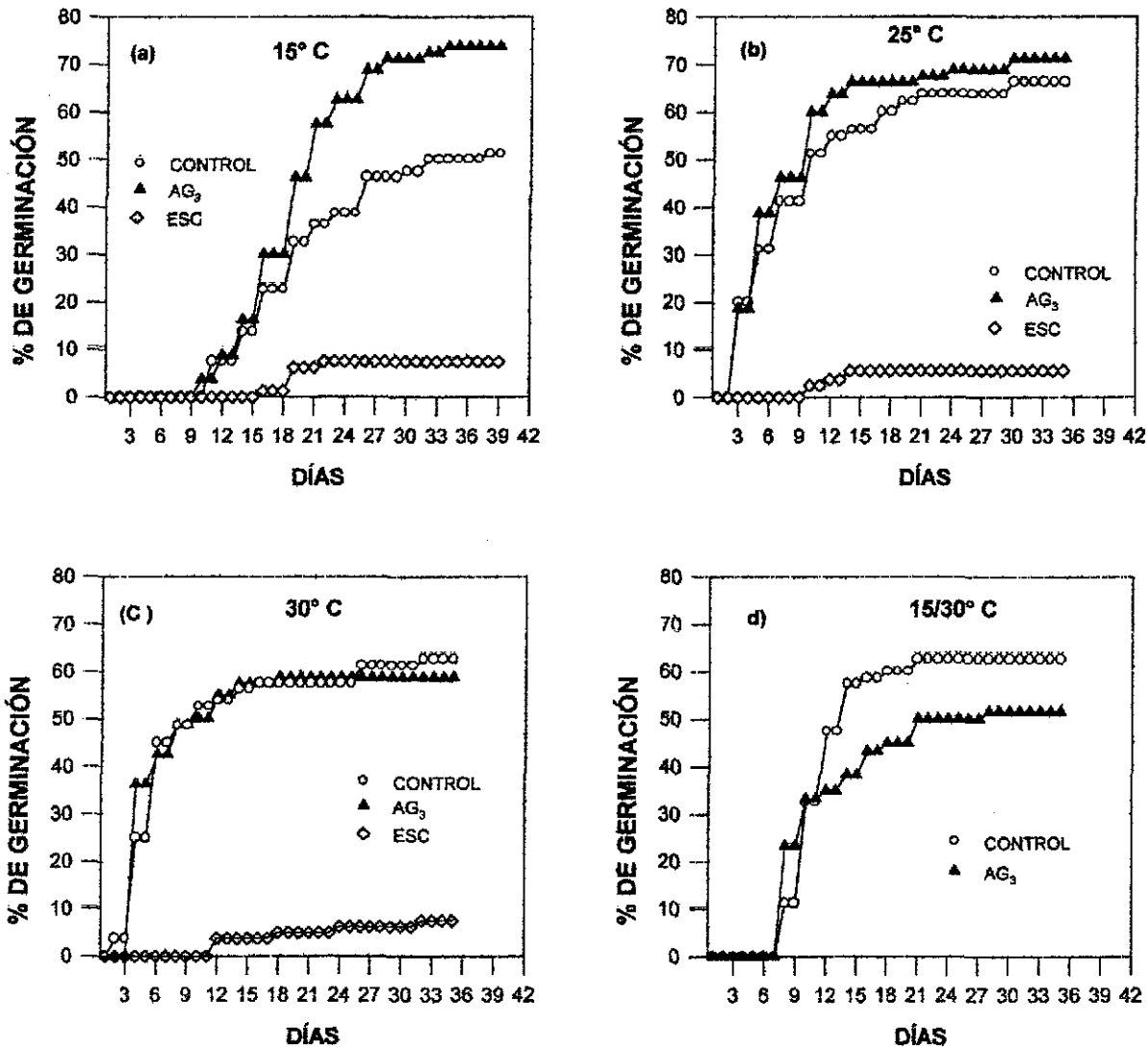


Figura 8. Porcentaje de germinación acumulada de *L. williamsii* en diferentes temperaturas: a) 15° C; b) 25° C; c) 30° C y d) temperatura alternante 15/30° C, en diferentes tratamientos: grupo CONTROL, con giberelinas (AG₃) y escarificación ácida (ESC). Sembradas con fotoperiodo de 12 h luz/oscuridad.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La aplicación de giberelinas incrementó significativamente la germinación a 15° C (76.25%) con respecto al control. Esta germinación también fue significativamente mayor a la germinación con giberelinas en temperatura alternante 15/30° C (51.66%), la cual fue menor que en el control. El tiempo de reposo fue de 10 días (Fig. 8a) a 15 ° C y en la fluctuación de temperatura de 7 días (Fig. 8d). En las temperaturas de 25° C y 30° C sólo necesitaron de 3 días para iniciar la germinación (Fig. 8b y 8c).

El efecto de la temperatura sobre la respuesta de germinación (Fig. 9) no presentó diferencias significativas ($F_{(2,71)} = 0.97, P = 0.40$). La interacción entre los tratamientos y ésta fue significativa ($F_{(4, 71)} = 2.67, P = 0.039$). Esto se debe a que en los tratamientos donde las semillas se pusieron a germinar con giberelinas a 15° C y 15/30° C ambas temperaturas afectaron la acción de las giberelinas.

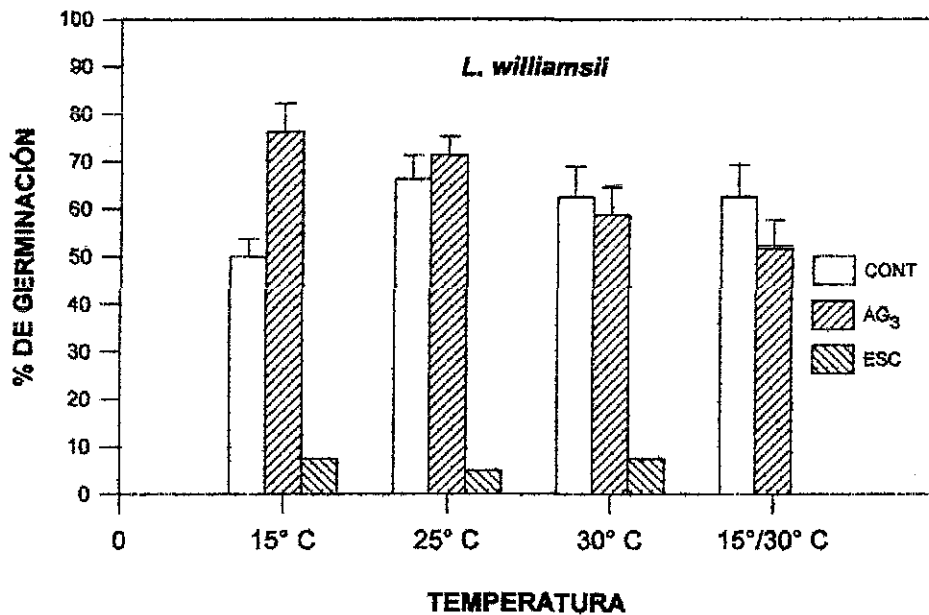


Figura 9. Porcentaje de germinación total de *L. williamsii* en las diferentes temperaturas y tratamientos: grupo control (CONT), con giberelinas (AG₃) y semillas escarificadas (ESC). Sembradas con fotoperiodo de 12 h luz /oscuridad. Promedio ± EE.

El efecto inhibitorio de la escarificación sobre las semillas de esta especie se debió al daño ocasionado al embrión por la acción del ácido, el cual se verificó con la observación de las placas de rayos X y la apertura de las semillas al finalizar los experimentos.

Por otra parte, la baja respuesta de germinación observada en esta condición hace suponer que un bajo porcentaje de semillas presentan una cubierta más resistente; ésta característica podría favorecer una germinación diferencial en el tiempo. Esto sería de gran importancia para esta especie, dadas las condiciones en las que se desarrolla y donde de manera natural el desgaste de la cubierta por las partículas del suelo, la acción de los microorganismos y la fluctuación de las temperaturas contribuyen a la eliminación de este tipo de latencia impuesta por la cubierta (Crist y Friese, 1993; Baskin y Baskin, 2000).

La aplicación exógena de giberelinas al parecer no es requerida por las semillas de esta especie excepto cuando la temperatura es relativamente baja (15° C). Es sabido que la latencia puede ser inducida por temperaturas bajas y ser eliminada por las giberelinas. Al parecer las temperaturas bajas indujeron latencia que se eliminó por la aplicación de giberelinas, como sugiere Gutterman (1996). Esto ocurrió en la porción de semillas que entraron en latencia condicionada a ésta temperatura, y que se evitó con el tratamiento que contenía giberelinas.

El efecto inhibitorio observado con las giberelinas a la temperatura alternante para otra porción de semillas se atribuye a una latencia condicionada a la fluctuación de temperaturas extremas para esta especie. En su ambiente natural, la temperatura mínima está por debajo de los 15° C y la máxima por encima de los 30° C durante los meses más cálidos y secos, lo que previene la germinación de esta porción de semillas.

La acción de las giberelinas puede deberse a dos efectos: a un cambio en la permeabilidad de la membrana en esta temperatura; que incrementa la entrada de giberelinas a las semillas volviendo inhibitoria la concentración de éstas (Orozco-Segovia com. per.), o a la inducción de un producto termolábil necesario para la germinación, que disminuye en esta condición (Biddington, et al., 1980), por lo que se ve afectada la germinación. En 30° C la germinación con giberelinas también se redujo aunque no significativamente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En cuanto al efecto de las diferentes temperaturas sobre la respuesta de germinación, las observaciones indican que las semillas de *L. williamsii* presentaron una gran capacidad para germinar en un amplio rango de temperaturas, similar al reportado para otras cactáceas (10° C - 34° C), donde se indica una temperatura óptima de 25° C, (Nobel, 1988; Rojas-Aréchiga, et al., 1997; 2000). También se ha señalado que a temperaturas bajas (10° C) algunas cactáceas barreliiformes y globosas no presentan germinación y a 15° C no alcanzan el 50% de germinación (Rojas-Aréchiga et al., 1997). En el caso de *L. williamsii* la germinación exhibida a una temperatura baja (15° C) fue superior al reportado para otras especies, lo que indica su tolerancia a bajas temperaturas. Esta respuesta podría estar relacionada con las temperaturas que se presentan en su área de distribución.

La capacidad de respuesta observada a temperatura alternante confirma lo encontrado para las especies que habitan las zonas áridas y que se atribuye a una adaptación fisiológica (Probert, 1992; Kigel y Galili, 1995), que asegura una mayor posibilidad de germinación en las diferentes condiciones en las que se vean satisfechas la necesidad de luz y humedad para su germinación.

7.7. REQUERIMIENTOS GERMINATIVOS DE SEMILLAS DE *L. DIFFUSA* Y DE LOS MORFOS DE SEMILLAS DE *L. WILLIAMSII*

L. diffusa

Tomando en cuenta que *L. diffusa* no presentó una diferencia marcada en el tamaño de sus semillas (colecta 94; Fig. 3a) se consideró como un solo morfo. Presentó diferencias significativas en la respuesta a la luz y a la oscuridad a 25° C ($F_{(1,17)} = 65.22$, $P < 0.0001$), en general la germinación en la oscuridad fue prácticamente nula (3.33%). La capacidad de germinación máxima de la especie a la luz fue baja (48.89%). No hubieron diferencias debidas a los tratamientos con giberelinas y escarificación ($F_{(2,17)} = 3.61$, $P = 0.059$) asimismo la interacción entre ambos factores no fue significativa ($F_{(2,17)} = 0.57$, $P = 0.57$). El análisis de rango múltiple indica que la germinación es significativamente diferente a la luz y a la

oscuridad aún con aplicación exógena de giberelinas, aunque en su presencia hay un bajo porcentaje de germinación que es significativo.

En los tratamientos a la luz la germinación con giberelinas es mayor que el control y es igual a las semillas escarificadas (Fig. 10a). Aunque el incremento en el porcentaje de germinación por la aplicación de giberelinas es pequeño; esto sugiere que una porción de estas semillas, requieren de giberelinas para completar su maduración fisiológica. En el caso de las semillas escarificadas hay una amplia dispersión de los datos, probablemente por daño. Esta dispersión hace que no sea significativamente diferente ni con el control ni con las semillas con giberelinas.

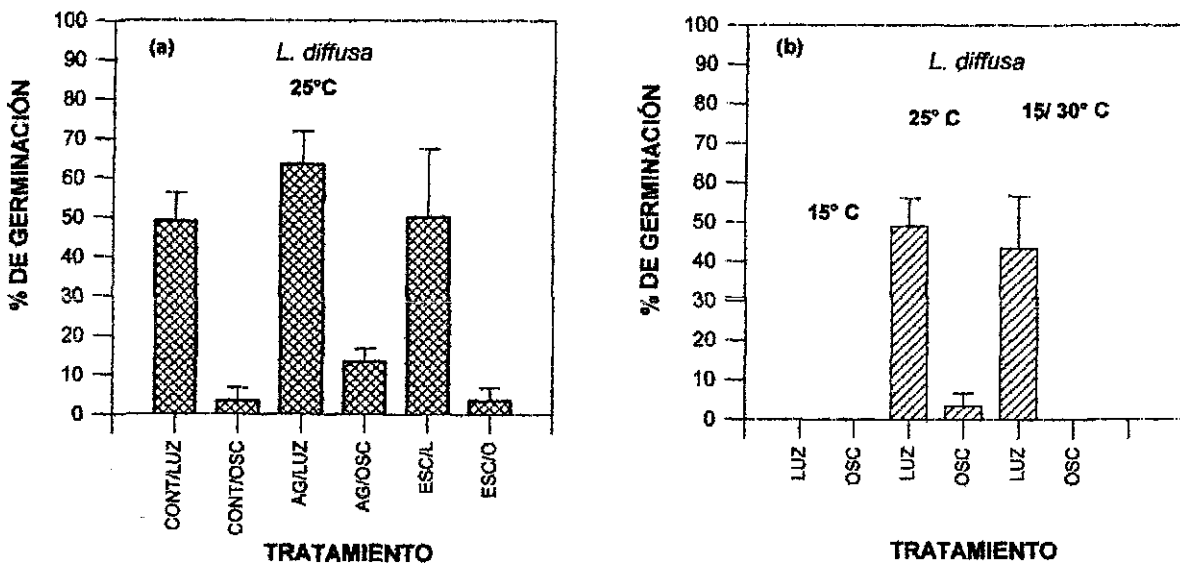


Figura 10. Porcentaje de germinación de las semillas de *L. diffusa* a 25° C (a) con diferentes tratamientos: grupo control (CONT), con giberelinas (AG) y con escarificación (ESC); a la luz (L) y a oscuridad (O). En diferentes temperaturas (b) a la luz (LUZ) y a la oscuridad (OSC). Promedio ± EE.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Muchas especies requieren de giberelinas para romper la latencia impuesta por la falta de luz (Baskin y Baskin, 1998b). Este requerimiento se ha reportado cuando la semilla se encuentra en latencia debido a: inmadurez del embrión, tienen requerimiento de luz y/o de un tratamiento previo a la germinación de exposición a bajas temperaturas (Karssen et al., 1989) por lo que una aportación de giberelinas exógena contribuye a sustituir estos requerimientos. En semillas que no requieren necesariamente luz, la vía es a través de la inducción de la síntesis de la α amilasa, mientras que en semillas que requieren luz su actividad es a nivel del metabolismo de la membrana; incorporación de fósforo en fosfolípidos, incremento en polisomas etc. (Bewley, 1997). En cactáceas, Deno (1994) menciona que el híbrido *Echinocereus hybrids* y algunas especies de suculentas como *Chiastophyllum oppositifolia* presentan un requerimiento absoluto de giberelinas exógenas para la germinación, mientras que en otras especies su papel es incrementarla, como ocurrió en *L. diffusa* a 15° C y 20° C. También se señala que ciertas cactáceas, que son fotoblásticas positivas, como *Stenocereus stellatus* no responden a la aplicación de giberelinas (Rojas-Aréchiga et al., 2001).

La respuesta de las semillas a diferentes temperaturas (Fig. 10b) exhibió diferencia significativa. En general, la mayor germinación se presentó en la temperatura de 25° C ($F_{(2,17)} = 23.05, P < 0.0001$). Nuevamente, se observó diferencia significativa en su respuesta a la luz y a la oscuridad, no mostró germinación en la oscuridad ($F_{(1,17)} = 91.80, P < 0.0001$).

También se encontró que la interacción entre ambos factores es significativa ($F_{(2,17)} = 23.05, P < 0.0001$) debido a que a 25° C hubo una germinación mínima en la oscuridad. El análisis de rango múltiple mostró que para la germinación de estas semillas la temperatura de 25° C en condiciones de luz fue la más adecuada (Fig. 10b). Mientras que, con fluctuación de temperatura de 15/30° C hay una amplia dispersión de los datos. La respuesta a la luz se presenta en la mayoría de las especies llamadas fotoblásticas por su requerimiento de luz para germinar. También se observó que a 15° C las semillas de esta especie no germinaron en ninguna de las condiciones de luz y oscuridad. Al respecto, algunos autores mencionan que una baja temperatura puede provocar que la semilla requiera de un mayor tiempo para germinar, entre en latencia o salga de ella. En este trabajo, de acuerdo a las observaciones y

tiempo que se evaluó, sólo hubo inhibición de la germinación, ya que las semillas germinan al transferirse a 25° C, lo que podría representar una adaptación a su ambiente natural el cual presenta temperatura mínima mensual de 1° - 6° C en los meses más fríos (C. N. A.). En los meses cálidos y lluviosos del verano las temperaturas mínimas están cercanas a los 15° C. Sin embargo, cuando esta temperatura no fue constante permitió la germinación (Fig. 10b).

L. williamsii

En la temperatura de 25° C y a la luz la respuesta germinativa de las semillas pequeñas (P) no presentaron diferencias significativas con la de semillas grandes (G) ($F_{(1,23)} = 0.11$, $P = 0.74$) (Fig. 11a), lo anterior se atribuye a la dispersión que presentaron los datos. Ambos morfos germinaron significativamente menos en la oscuridad ($F_{(1,23)} = 23.38$, $P < 0.0001$). La germinación fue muy baja, sin diferencia significativa entre las semillas de los dos morfos. El morfo (P) germinó un 8.33% en la oscuridad y el morfo (G) un 11.67%. A la luz la capacidad máxima de germinación de la especie fue baja (26.66%). Se presentaron diferencias significativas debidas al tratamiento con giberelinas ($F_{(1,23)} = 13.51$, $P = 0.002$), sin diferencias significativas entre ambos morfos ($F_{(1,23)} = 0.079$, $P = 0.781$). El análisis de rango múltiple indicó que la aplicación exógena de giberelinas indujo un incremento en el porcentaje tanto en luz como en oscuridad. En los tratamientos a la luz, la germinación con giberelinas fue igual para ambos morfos morfo (G 43.33%; morfo P 43.33%). La interacción entre tamaño de semilla, condiciones de luz y oscuridad y el tratamiento con giberelinas no fue significativa ($F_{(1,23)} = 0.67$, $P = 0.42$).

La respuesta de las semillas a la aplicación de giberelinas sugiere que el nivel de giberelinas que tienen estas semillas es inferior al nivel que presenta el ABA, el cual se produce en elevadas cantidades en condiciones de estrés hídrico (Ajmal y Ungar, 1985; Karssen et al., 1989). Probablemente, las condiciones de estrés hídrico a la que estuvieron expuestas las semillas de esta especie durante su desarrollo favorecieron la latencia endógena, de la que se liberó a las semillas con la aplicación exógena de giberelinas.

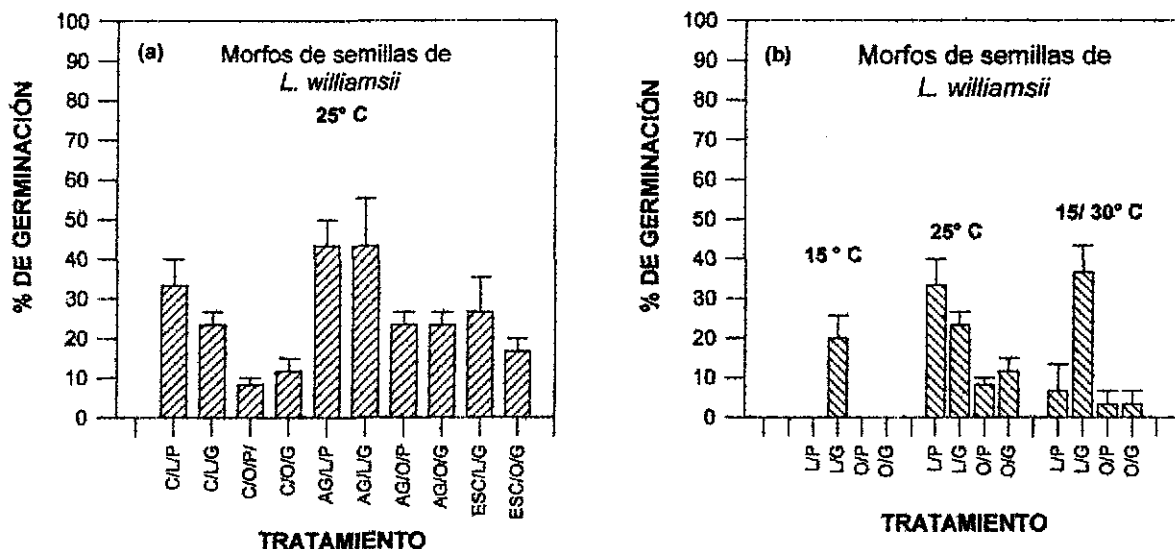


Figura 11. Porcentaje de germinación de los morfos de semillas pequeñas (P) y grandes (G) de *L. williamsii* a 25° C (a) con diferentes tratamientos: grupo control (C), con giberelinas (AG) y con escarificación (ESC). En diferentes temperaturas (b) a la luz (L) y a la oscuridad (O). Promedio \pm EE.

A pesar de que en la oscuridad las giberelinas pueden sustituir el efecto de la luz, la germinación a la oscuridad fue más baja que en la luz; en la oscuridad ambos morfos germinaron 23.33%. Por otra parte, el nivel de giberelinas tiende a disminuir durante la fase de secado del desarrollo de la semilla. Sin embargo, después con el tiempo puede cambiar en las semillas secas el balance ABA/giberelinas o la sensibilidad a éstas, perdiéndose así la latencia endógena o la sensibilidad a la luz, lo que sugiere que esta especie pudiera requerir de un periodo de post- maduración.

El tratamiento de escarificación ácida, aplicado al morfo (G), no incrementó significativamente la germinación en la luz ($F_{(2,17)} = 3.0, P = 0.085$), lo que indica que para estas semillas no se requiere este tratamiento. En la oscuridad hubo un efecto pequeño, pero significativo, como lo indica el análisis de rango múltiple. Se sabe que existe una efecto de la luz en la capacidad del embrión para romper la cubierta seminal: después de la imbibición

disminuye la resistencia de la pared celular de la cubierta de la semilla y se incrementa la presión de turgencia de las células en la radícula (Bewley, 1997).

La respuesta germinativa de las semillas pequeñas (P) y grandes (G) en las tres temperaturas (Fig.11b) presentó diferencias significativas ($F_{(1,35)} = 11.60, P = 0.002$; $F_{(2,35)} = 18.3, P < 0.0001$). En general el morfo (P) exhibió diferencias significativas en su respuesta a las temperaturas y a la luz; no germinó a la temperatura de 15° C, y en temperatura alternante su germinación fue baja (6.67 %). Según el análisis de rango múltiple, la mayor germinación (33.3%) se obtuvo a la temperatura de 25° C a la luz. En oscuridad se observó baja germinación en las temperaturas de 25° C (8.33%) y en la alternante 15/30° C (3.33%) sin diferencia significativa entre ambas respuestas, debido a la dispersión de los datos.

La respuesta de germinación del morfo (G) mostró diferentes respuestas a la luz y a la oscuridad en las diferentes temperaturas; en la temperatura de 15° C únicamente germinó a la luz 20%, en la temperatura de 25° C su germinación fue 23.33% y en la alternante 15/30° C aunque éste exhibió el porcentaje más alto (36%), la amplia dispersión de los datos, no hace significativa la diferencia entre los tres resultados. En su respuesta a la oscuridad se observó baja germinación: a la temperatura de 25° C 11.67% y en la alternante 3.33%, presentando diferencias significativas entre ellas. La interacción entre el tamaño de la semilla, el fotoperiodo y la temperatura fue significativo ($F_{(2, 35)} = 5.89, P = 0.0082$) sobre la germinación de ambos morfos de semillas.

Es sabido que los diferentes tamaños de semillas producidos por una planta representan diferentes probabilidades de sobrevivencia, así como la producción de cada tipo de semilla puede cambiar la capacidad de colonización y la posibilidad de formar parte del banco de semillas del suelo (Van Rheede y Van Rooyen, 1999), en el caso de esta especie el heteromorfismo que mostró, aunado a la respuesta de germinación de las semillas sugiere una estrategia tipo oportunista donde, según Gutterman (1994, 1996), cada tipo de semillas germina en diferentes condiciones distribuyéndose así la germinación de los diferentes morfos en el tiempo bajo condiciones óptimas para cada uno. Esto también facilita su dispersión y la

posibilidad de ocupar mayor número de micrositios lo que les asegura una mayor oportunidad de éxito en su establecimiento y en su escape a los depredadores.

La producción de estos morfos en *L. williamsii* puede deberse tanto a la influencia de las condiciones ambientales a las que estuvieron sujetas las plantas, antes y durante el desarrollo de la semillas, como a la posición de los frutos sobre la planta y a la posición de las semillas dentro del fruto. En compuestas se ha visto que las semillas que se desarrollan en la periferia del capítulo son más grandes que las que ocupan una posición central. Asimismo, en otros tipos de inflorescencias indeterminadas, las semillas de los frutos que se desarrollan primero son más grandes que aquellas que provienen de los frutos que maduran al final. En labiadas las semillas que provienen de los frutos que están al final de la cima, incluso son vanas en un gran porcentaje. Esto, en general, se le atribuye a un aporte nutricional de la planta madre a las diferentes partes de la inflorescencia y/o a la distinta exposición de los diferentes segmentos de ésta a los factores ambientales (Silvertown, 1984; Gutterman, 1996, 2001). Por otra parte, la proporción de uno u otro morfo es también atribuida a efectos maternos, ya que se ha observado que algunas especies del desierto producen más un tipo de diásporas en condiciones de mayor humedad ambiental y otro en niveles de humedad bajos (Beneke, 1993 citado por Van Rheede y Van Rooyen, 1999). Se ha comprobado que otros factores como la longitud del día y la temperatura durante la maduración de la semilla también regulan la respuesta germinativa (Gutterman, 1996). En el caso de las especies estudiadas, el fruto madura en dirección acropétala. Además la base de éste se encuentra protegida por una lanosidad que es muy abundante, a diferencia del extremo del fruto que se encuentra expuesto (observación personal). Sin embargo, sólo en *L. williamsii* (la especie que crece en condiciones de temperatura y humedad menos extremas) se encontraron dos morfos. Es necesario emprender detallados estudios sobre el efecto materno en la producción de las semillas de ambas especies. Algunas observaciones personales sugieren que los frutos de *L. diffusa* están más protegidos en su totalidad que los frutos de *L. williamsii*, ya que los tallos globosos de la primera son más grandes y protegen a los frutos en una mayor proporción.

Por otra parte, en especies que presentan diferentes morfos, en el tamaño de sus semillas es común que también presenten polimorfismo fisiológico (Gutterman, 1996; Larson

y Kiemnec, 1997), lo que al parecer ocurrió en *L. williamsii* para la temperatura. La ausencia de germinación en el morfo (P) en la temperatura de 15° C indicó que presenta latencia condicionada, esto le permite diferir en el tiempo, su germinación con respecto al morfo (G), germinando en la época en que las temperatura son más altas.

Es ampliamente conocida la interacción que existe entre la respuesta a la luz y la fluctuación de temperatura. Generalmente ésta sustituye el efecto de la luz y promueve la germinación en la oscuridad, Sin embargo, las semillas pequeñas prácticamente no germinaron en esta condición, mientras que las grandes germinaron principalmente a la luz y a la oscuridad su germinación fue significativamente inhibida, en relación con la germinación a la oscuridad en 25° C. En este aspecto no hay reportes de inhibición de la germinación en la oscuridad por fluctuación de temperatura. La inhibición de la germinación del morfo pequeño por la fluctuación de temperatura puede estar relacionada con el efecto de la temperatura baja nocturna debido a que 15° C inhibió totalmente la germinación de este morfo. El efecto de temperaturas bajas en tratamientos con temperaturas alternantes ha sido previamente reportado para especies de cactáceas (Potter et al., 1984; Rojas-Aréchiga et al., 1998; Baskin y Baskin, 1998), no así para los morfos de una misma población.

7.8 VIABILIDAD CON RAYOS X

El análisis de la viabilidad en placas de rayos X, de la semillas de *L. diffusa* (Fig. 12a) y *L. williamsii* (Fig. 12b) que no germinaron en los tratamientos (colecta 96), mostró que un 13.05% de semillas de *L. diffusa* y un 13.76% de *L. williamsii* estaban completas, por lo que se consideraron como potencialmente viables, debido a que no presentaban daño o malformaciones. En las placas se caracterizaron por presentar color blanco o gris claro que ocupaba la totalidad de la semilla; estas podrían presentar una latencia más profunda que impidió su germinación. El 26.73% de las semillas de *L. diffusa* y el 26.02% de las semillas analizadas de *L. williamsii* se caracterizaron por presentar escaso desarrollo embrionario, en las placas se observaron como áreas relativamente pequeñas de color blanco alejadas del hilio.

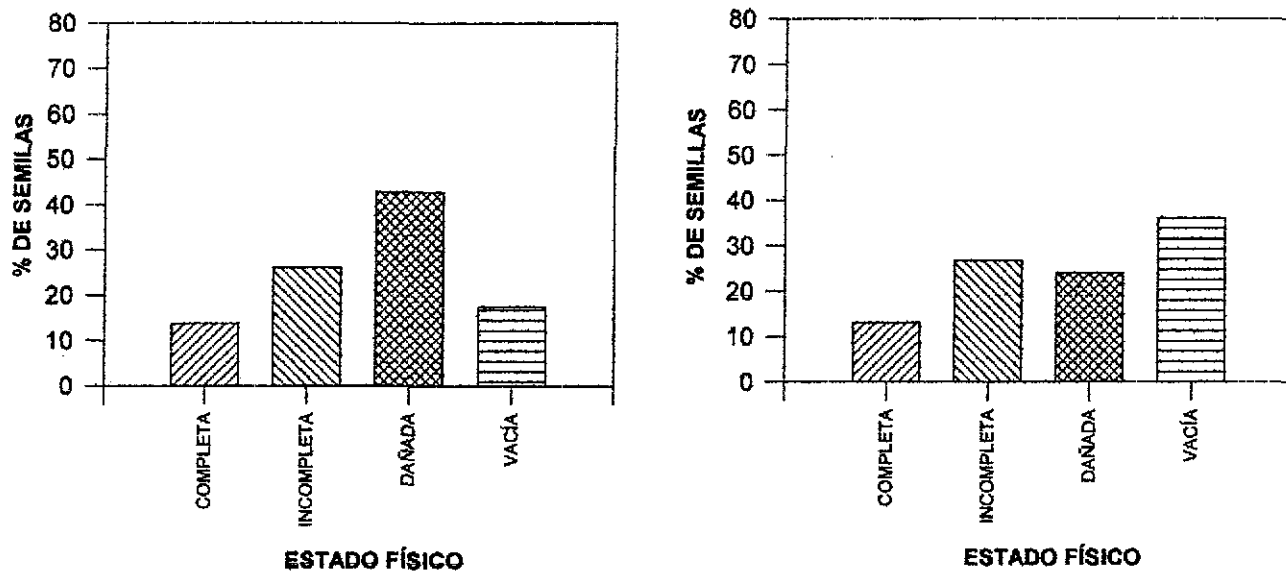


Figura 12. Porcentaje del estado interno de las semillas no germinadas de *L. diffusa* (a) y *L. williamsii* (b) obtenido a partir de las observaciones en las placas de rayos X.

El resto de las semillas estudiadas fueron **semillas dañadas** 24.06% de *L. diffusa* y 42.8% de *L. williamsii*; estas exhibieron áreas oscuras que rodeaban la cubierta de la semilla por su parte interna; en la mayoría de las semillas las zonas presentaron dimensiones variadas. Por último, hubo un porcentaje de **semillas vacías**, se consideraron como tal aquellas semillas que carecían de algún tejido o presentaban residuos escasos de tejido, su apariencia en las placas se determinó por el color oscuro de toda la semilla, y por la combinación de áreas oscuras y pequeñas zonas de color blanco. En este caso, el porcentaje encontrado para *L. diffusa* fue mayor (36.16%) al de *L. williamsii* (17.42%).

La identificación del estado interno de las semillas por medio de rayos X es de uso común en semillas forestales, aunque para semillas tan pequeñas incluyendo a las de cactáceas no se ha reportado su uso, por lo que los criterios utilizados para cada estado físico de la semilla se basaron en las descripciones de Kamra (1976) y Simak (1981).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La presencia de semillas completas y vivas en ambas especies sugieren un tipo de latencia no eliminado con los tratamientos aplicados. Para las semillas esto representa una posibilidad más de sobrevivencia en condiciones quizá más extremas. En cambio, el estado que presentó el resto de las semillas como es el desarrollo incompleto y la ausencia del embrión podría indicar una deficiencia nutricional de la planta progenitora, polinización poco exitosa, desarrollo incompleto debido a defectos genéticos y condiciones desfavorables durante la maduración de los óvulos y semillas (Fenner, 1985; Gutterman, 1996; Gutterman et al., 1998). En especies herbáceas perennes se ha observado que la asignación de recursos para su reproducción, responde a las condiciones ambientales en las que se desarrolla, de manera que muchas veces, se asignan mayores recursos para la propagación de vástagos que para la producción de semillas. En el caso de *L. diffusa*, la presencia de una mayor cantidad de semillas vacías podría ser el reflejo de una asignación de recursos enfocada principalmente al desarrollo vegetativo. Como se señaló con anterioridad, los individuos de esta especie presentan un mayor tamaño y vigor, y un número menor de individuos por colonia que *L. williamsii*. Esto puede ser una estrategia para mantener sus poblaciones cuya distribución se encuentra restringida al estado de Querétaro, además de ser objeto de una constante recolección. Aunque *L. williamsii* también es recolectada, ésta presenta otras estrategias para mantener sus poblaciones y al parecer una mejor eficiencia en el desarrollo de sus semillas.

7.9. LONGEVIDAD EN CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Las semillas almacenadas de *L. diffusa* no presentaron disminución significativa en su capacidad germinativa (Fig. 13) durante los 2, 6 y 12 meses de su almacenamiento ($F_{(1,31)} = 2.13$, $P = 0.12$), los tratamientos previos de deshidratación a los que se expusieron no tuvieron un efecto significativo ($F_{(2,31)} = 2.15$, $P = 0.15$), aunque se observó una tendencia a disminuir la capacidad germinativa conforme al tiempo (30.0% a 17.5%), la amplia dispersión de los datos no hace significativa la diferencia.

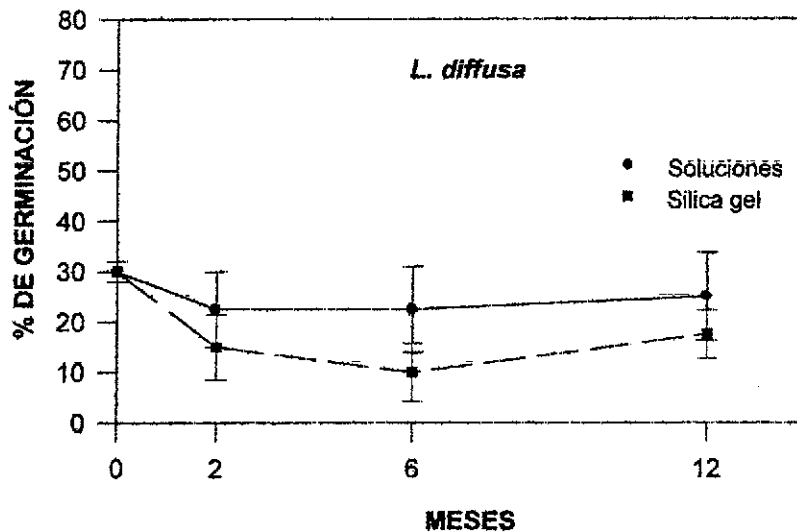


Figura 13. Porcentaje de germinación de *L. diffusa* durante 12 meses de almacenamiento a 0±4° C; deshidratadas con silica gel y soluciones saturadas. Sembradas a 25° C con fotoperiodo de 12 h luz /oscuridad. Promedio ± EE.

Las condiciones de almacenamiento, deshidratación y temperatura en apariencia no presentaron efecto sobre la capacidad de germinación de esta especie, sin embargo, se detectaron cambios en el vigor y sobrevivencia de las plántulas que emergieron de estas semillas. En general las plántulas exhibieron un crecimiento más lento, elevada mortalidad clorosis inicial e hiperhidratación, lo que posteriormente provocó su muerte. Se sabe que diferentes mecanismos de deterioro en las semillas pueden existir en diferentes condiciones de almacenamiento (Murthy y Sun, 2000) y que estos involucran cambios bioquímicos y biofísicos, que se manifiestan en el crecimiento de la plántula o en el detrimento de la semilla. También se sabe que una baja temperatura libera radicales libres los que inician el deterioro de la semilla, en este caso la baja temperatura al parecer ocasionó daños significativos en la fisiología del embrión que se manifestó en la plántula.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

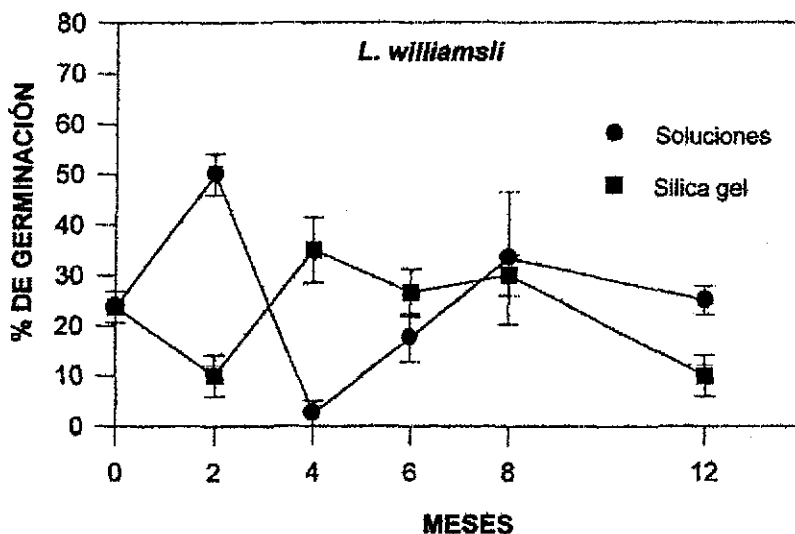


Figura 14. Porcentaje de germinación de *L. williamsii* (cosecha 94), durante 12 meses de almacenamiento a $0\pm 4^{\circ}$ C; deshidratadas con sílica gel y soluciones saturadas. Sembradas a 25° C con fotoperiodo de 12 h luz /oscuridad. Promedio \pm EE.

El almacenamiento de las semillas de *L. williamsii* (Fig.14) afectó significativamente la capacidad de germinación a lo largo del tiempo ($F_{(5,47)} = 2.7$, $P = 0.035$), la deshidratación previa al almacenamiento no tuvo un efecto significativo ($F_{(1,47)} = 0.182$, $P = 0.67$) sobre la longevidad de las semillas, sin embargo la interacción entre ambos factores mostró diferencia significativa ($F_{(5,47)} = 11.52$, $P < 0.0001$). El análisis de rango múltiple indicó una diferencia significativa durante los primeros 4 meses de almacenamiento para ambos tratamientos (Fig. 14): el procedimiento de deshidratación con soluciones, produjo incremento significativo en la germinación durante los dos primeros meses de almacenamiento; 26.25% más que el porcentaje de germinación inicial, sin embargo a los 4 meses se observó una reducción drástica de la germinación. Posteriormente se volvió a incrementar la capacidad germinativa y se mantuvo constante, semejante al porcentaje de germinación inicial.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El procedimiento de deshidratación con silica gel produjo el comportamiento inverso, la germinación decreció en un 13.75% en los primeros dos meses y la incrementó en los siguientes 2 meses, al concluir el año la germinación en esta condición disminuyó significativamente (10%).

Los resultados sugieren que la temperatura de almacenamiento, método de deshidratación y tiempo de almacenamiento en su conjunto tuvieron un efecto significativo sobre la capacidad germinativa de ésta especie. Al respecto, se sabe que durante el almacenamiento en seco las semillas pueden presentar oscilaciones en su respuesta germinativa (latencia cíclica) por la inducción de latencia secundaria (Hilhorst, 1998). Este comportamiento no sólo se produce por efecto del almacenamiento, también puede derivarse del cambio en las condiciones que rodean la semilla; al pasarse de las condiciones ambientales del almacenamiento a las de germinación (Hong y Ellis, 1996). También es sabido que una temperatura baja puede inducir o eliminar la latencia dependiendo del tiempo de exposición a ésta y de la condición de la semilla. En este caso, al parecer las semillas deshidratadas con silica gel fueron sensibles a la temperatura baja durante el almacenamiento. Por otra parte, la pérdida en la capacidad de germinación al final del periodo de almacenamiento podría estar relacionada con daño por imbibición, ya que la toma rápida de agua puede lesionar a las semillas secas (Hong y Ellis, op. cit.); debido a que el tiempo para el restablecimiento de la estructura y funcionalidad de las células no es suficiente en estas condiciones. En el caso de las semillas deshidratadas y rehidratadas con las soluciones saturadas, ésta situación provocó una respuesta de germinación de mayor variación a lo largo del tiempo; eliminó la latencia que presentaban algunas de las semillas almacenadas, y posteriormente indujo latencia secundaria. Sin embargo, a pesar de estas variaciones al finalizar el almacenamiento, la disminución en su capacidad germinativa no fue significativa. Al respecto, existe información que señala que la deshidratación lenta de las semillas causa una mayor sensibilidad a daño durante el almacenamiento (Walters et al, 2001). Sin embargo, se ha comprobado para algunas especies que este daño puede ser reducido si las semillas se rehidratan lentamente (Zeng et al, 1998), debido a que se proporciona el tiempo necesario para que se restablezca la funcionalidad de las semillas, evitando un cambio brusco de una condición a otra a diferencia de una deshidratación

y rehidratación rápida que provoca disminución en la longevidad. En este aspecto, también resulta de gran importancia la capacidad de la semilla para reestructurar sus componentes celulares durante la deshidratación y rehidratación, ya que de no ser así perdería su funcionalidad y moriría (Vázquez-Yanes y Rojas-Aréchiga, 1996a). Esto explica los resultados observados para este tratamiento.

Al igual que en *L. diffusa*, se observó que algunas plántulas presentaron hiperhidratación, con bajo vigor y pigmentación violácea, lo cual posiblemente fue ocasionado por daño de las células durante el almacenamiento . Los resultados obtenidos hacen necesaria la realización de un estudio más detallado y profundo sobre las condiciones de deshidratación, rehidratación y temperatura de almacenamiento de estas especies.

8. CONCLUSIONES

Los resultados sobre las semillas de *L. diffusa* y *L. williamsii*. Permitieron proponer que la producción de las semillas podría estar influenciada por las condiciones ambientales y fisiológicas previas a la fase reproductiva y durante el desarrollo de las semillas.

En las semillas de *L. williamsii* la presencia de dos morfos y la variación en su respuesta germinativa a la luz y temperatura, en el laboratorio, sugieren la posibilidad de que esta especie en el campo, disperse su germinación en el tiempo, ampliando sus probabilidades de germinar en las condiciones más adecuadas para el desarrollo y establecimiento de sus plántulas.

En las semillas de ambas especies se observó que una porción de éstas presentaron latencia fisiológica y condicionada a la temperatura de 15° C.

La respuesta de germinación de semillas escarificadas en ambas especies mostró la presencia de una cubierta seminal de mayor resistencia en *L. diffusa* que en *L. williamsii*, que la protege y retarda su respuesta germinativa.

La respuesta germinativa de las semillas de ambas especies difirió entre los años de producción.

Las diferencias en la capacidad de germinación de ambas especies se atribuyó a las condiciones ambientales y geográficas donde se desarrollan, así como a las estrategias de reproducción en sus respectivas áreas de distribución.

Las condiciones de almacenamiento a las que fueron sometidas las semillas de *L. diffusa* y *L. williamsii* para mantener su viabilidad no evitaron daños a éstas, por lo que se recomienda realizar estudios más profundos.

9 BIBLIOGRAFÍA

- AJMAL, K. M. Y UNGAR, I. H. 1985. The role of hormones in regulating the germination of polymorphic seeds and early seedling growth of *Atriplex triangularis* under saline condition. *Physiologia Plantarum*, 63:109-113.
- ALEN, S. P. Y MEYER, E. S. 1998. Ecological aspects of seed dormancy loss. *Seed Science Research*, 8(2): 183-191.
- ALVAREZ, A. M. G. Y MONTAÑA. C. 1997. Germinación y supervivencia de cinco especies de cactáceas del Valle de Tehuacan: Implicaciones para su conservación. *Acta Botánica Mexicana*, 40: 43-58.
- ANDERSON, E. F. 1969. The Biogeography, Ecology and Taxonomy of *Lophophora* (Cactaceae). *Brittonia*, 21 (4): 229-31
- ANDERSON, E. F. 1980. *Peyote, The Divine Cactus*. The University of Arizona Press, USA. pp. 1-11
- AYYAD, M. A. 1981. Soil-vegetation-atmosphere interactions. En: *Arid-Land Ecosystems: structure, functioning and management*. Cambridge University Press, Great Britain. Vol. 2. pp. 9-31.
- BARBERA, G., INGLES, P. Y LA-MANTIA, T. 1994. Seed content and fruit characteristics in cactus pear (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Scientia Horticulturae*, 58: 161-165.
- BARTHOLOTT, W. 1979. *Cacti: Botanical aspects, descriptions & cultivation*. Stanley Thornes (Publishers) LTD, Inglaterra. pp. 7-11, 30-34.
- BASKIN, C. C. Y BASKIN, J. M. 1988. Germination ecophysiology of herbaceous plant species. *American Journal of Botany*, 75: 286 - 305
- BASKIN, J. M., NAN, X. Y BASKIN, C. C. 1998a. A comparative study of seed dormancy and germination in annual and perennial species of *Senna* (Fabaceae). *Seed Science Research*, 8(4): 501-512.
- BASKIN, C. C. Y BASKIN, M. J. 1998b. *Seeds ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, USA. 666 p.
- BASKIN, M. J. Y BASKIN, C. C. 2000. Evolutionary considerations of claims for physical dormancy-break by microbial action and abrasion by soil particles. *Seed Science Research*, 10 (4): 409-413.
- BENÍTEZ, F. 1989. *Los Indios de México*. 4ª reimp. Tomo III. Ed. Era, México. 605 p.

- BEWLEY, J. D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 9: 1055-1066.
- BIDDINGTON, N. L. , TUDOR, H. T. Y DEARMAN, S. A. 1980. The effect of temperature on the germination-promoting activities of cytokinin and gibberellin applied to celery seeds (*Apium graveolens*). *Physiologia Plantarum*, 49: 68-70.
- BOKE, H. N. Y ANDERSON, F. E. 1970. Structure, Development, and Taxonomy in the genus *Lophophora*. *American Journal of Botany*, 57(5): 569-578.
- BRAVO-HOLLIS, H. 1978. Las cactáceas de México. Vol. I. UNAM, México. 743 p.
- BRAVO- HOLLIS, H. Y SÁNCHEZ-MEJORADA, G. 1991. Las Cactáceas de México. Vol. II. UNAM, México. pp. 216-223.
- BREGMAN, R. 1988. Forms of seed dispersal in Cactaceae. *Acta Botanica Neerlandesa*, 37(3): 395-402.
- BRUHN, J. G. Y HOLMSTEDT, B. 1974. Early peyote research an interdisciplinary study. *Economic Botany*, 28: 353-390.
- BUENO, M. A., CASANOVA, C., PONS, R. SOLER, C. Y VARELA, F. 1990. Programa de conservación e intercambio de recursos fitogenéticos en el Banco de Germoplasma I.N.I.A. en: *Proceeding of the International Conference on Conservation Techniques in Botanic Gardens*. Koeltz Scientific Books D-6240 Koenigstein/Germany. pp. 103-105.
- CAMACHO, M. F. 1994. Dormición de semillas; causas y tratamientos. Ed. Trillas, México. 125 p.
- CAMPBELL, P. L. 1988. Seed germination of *Harrisia martinii* and *Pereskia aculeata* with reference to their potential spread in Natal (South Africa). *Applied Plant Science*, 2(2): 60-62.
- CASAL, J. J. Y SÁNCHEZ, A. R. 1998. Phytochromes and seed germination. *Seed Science Research*, 8(3): 317-329.
- CORKIDI, L., RINCÓN, E. Y VAZQUEZ-YANES, C. 1991. Effects of light and temperature on germination of heteromorphic achenes of *Bidens odorata* (Asteraceae). *Canadian Journal of Botany*, 69:574-579.
- CRIST, T. O. Y FRIESE, C. F. 1993. The impact of fungi on soil seeds: Implications for plants and granivores in a semiarid shrub-steppe. *Ecology*, 74(8): 2231-2239.
- COTA, S. H. 1984. Influencia de la luz temperatura y sustancias químicas sobre la germinación de semillas de *Ferocactus latispinus* (Haw)Rose (Cactaceae). Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN, México. 72p.

- CUBERO, J. I. 1990. Técnicas de conservación de recursos genéticos vegetales de interés económico con riesgo de extinción. En: Proceeding of the International Conference on Conservation Techniques in Botanic Gardens. Koeltz Scientific Books D-6240, Koenigstein/Germany. pp. 17-26.
- CULLMANN, W., GÖTZ, E. Y GRÖNER, G. 1987. The Encyclopedia of cacti. Timber Press. Oregon, USA. pp. 28,29,80.
- CHIPOLE, I. M. 1995. Tratamiento, germinación y crecimiento de cuatro especies arbustivas con semilla impermeable. Tesis de licenciatura, UNAM, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, México. 82p.
- DEL CASTILLO, R. F. 1988. Fenología y remoción de semillas en *Ferocactus histrix*. Cactaceas y Suculentas Mexicanas, 23(1): 5-14.
- DE LA ROSA-IBARRA, M. Y GARCÍA, H. 1994. Estimulación de la germinación de cinco especies de cactáceas consideradas en peligro de extinción. Phytón, 56: 147-150.
- DENO, N. C. 1994. The critical role of gibberellins in germination and survival of certain cacti. Cactus and Succulent Journal (U. S.), 66: 28-30.
- DUBROVSKY, J. G. 1996. Seed hydration memory in Sonoran Desert cacti and ecological implication. American Journal of Botany, 83(5): 624-632.
- ELLIS, R. H. Y BARRETT, S. 1994. Alternating temperatures and rate of seed germination in lentil. Annals of Botany, 74(5): 519-524.
- ERASMUS, D. J. Y VAN STADEN, J. 1986. Germination of *Chromolaena odorata* (L.) K. & R. achenes: effect of temperature, imbibition and light. Weed Research, 26: 75-81.
- ESTRADA, F. E. 1966. Breves consideraciones acerca de las especies psicótropas de la flora mexicana. Revista Gharma de los sanatorios psiquiátricos Gharma: 7-20.
- EVANS, R. S. 1981. Plantas Alucinógenas. Ed. La Prensa Médica Mexicana. pp. 114-125.
- FEARN, B. 1981. Seed Germination: the modern approach. The Cactus and Succulent Journal of Great Britain, 43 (1): 13-16.
- FENNER, M. 1992. Seeds. The ecology of regeneration in plant communities. Wallingford, C. A. B. International, Wallingford, U. K. pp. 193-219.
- FIGUEIRA, C. J. E. 1994. Saurocory in *Melocactus violaceus* (Cactaceae). Biotropica, 26 (3): 295-301.
- FISCHER, R. A. Y TURNER, C. N. 1978. Plant Productivity in the arid and semiarid zones. Annual Review Plant Physiology, 29: 277-317.

- GARCÍA, H. E. R. Y PEÑA, V. C. B. 1995. La pared celular: componente fundamental de las células vegetales. U. A. CH. México. 96 p.
- GARCÍA-HUIDOBRO, J., MONTEITH, J. L. Y SQUIRE, G. R. 1982. Time, temperature and germination of Pearl millet (*Pennisetum typhoides* S. & H.) II Alternating Temperature. *Journal of Experimental Botany*, 33(133): 297-302.
- GARZA-LÓPEZ, P. Y NEPAMUCENO-MARTÍNEZ, F. 1986. Análisis Radiográfico de semillas forestales en México. *Ciencia Forestal*, 11(59): 1-14.
- GIBSON, A. C. Y NOBEL, P. S. 1986. *The Cactus Primer*. Cambridge, Harvard University Press, London. pp. 144-151.
- GOMEZ-CAMPO, C. 1985. Seed banks as an emergency Conservation strategy. En: *Plant Conservation in the Mediterranean area*. Gomez-Campo Com. Dr. W. Junk Publisher Group, Boston, USA. pp. 237-247.
- GOMEZ-CAMPO, C. 1987. A strategy for seed banking in botanic gardens: some policy considerations. En: *Botanic gardens the world conservation strategy*. D. Bramwell, O. Hamann, V. Heywood, H. Synge (Eds.). Published for IUCN by Academic Press, London. pp. 151-160.
- GREGORY, M. 1981. References to scanning electron microscope photographs of seeds of Cactaceae. *The Cactus and Succulent Journal of Great Britain*, 43(4): 114-116.
- GUTTERMAN, Y. 1994. Strategies of seed dispersal and germination in plants inhabiting deserts. *The Botanical Review*, 60(4): 373-425.
- GUTTERMAN, Y. 1996. Environmental influences during seed maturation and storage affecting germinability in *Spergularia diandra* genotypes inhabiting the Negev Desert, Israel. *Journal of Arid Environments*, 34: 313-323.
- GUTTERMAN, Y., SHEME-TOV, S. Y GOZLAN, S. 1998. The effect of post-maturation temperatures and duration on seed germinability of *Plantago coronopus* occurring in natural populations in the Negev Desert highlands, Israel. *Journal of Arid Environments*, 38: 451-463.
- GUTTERMAN, Y. 2001. Phenotypic germination plasticity related to caryopsis size in *Schismus arabicus*. *Seed Science Research*, 11: 173-178.
- HADAS, A. 1982. Water relations in germination of seed: En *Encyclopedia of Plant Physiology* Vol. 12B. Osmond Ed. New York. pp. 401-431.
- HILHROST, H. W. M. 1998. The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited. *Seed Science Research*, 8(2): 77-90.

- HONG, T. D. Y ELLIS, R. H. 1996. A protocol to determine seed storage behaviour. International Plant Genetic Resources Institute (IPGR), Rome, Italy. 62 p.
- HOPKINS, W. G. 1999. Introduction to Plant physiology. John Wiley & Sons, Inc. New York. pp 435 – 463.
- HOWELL, D. J. Y SCHROFFER, R. B. 1981. Sexual reproduction in agaves: the benefits of bats; the cost of semelparous advertising. *Ecology*, 62(1): 1-7.
- LINDER, C. R. 2000. Adaptative evolution of seed oils in plants: accounting for the biogeographic distribution of saturated and unsaturated fatty acids in seed oils. *The American Naturalist*, 156(4):442-458.
- KAMRA, S. K. 1976. Use of x-ray radiography for studying seed quality in Tropical forestry Serie Studia forestalia suecica Nr 131. 34p.
- KARSSSEN, C. M., ZAGÓRSKI, S., KEPCZYNSKI, I. Y GROOT, S. P. C. 1989. Key role for Endogenous Gibberellins in The Control of Seed Germination. *Annals of Botany*, 63: 71 – 80.
- KERMODE, A. R. 1995. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment: En Seed development and germination, Kigel, J.; Galili, G. (Eds). New York, Marcel Dekker Inc. pp. 273-332
- KIGEL, J. Y GALILI, G. 1995. Seed development and germination. Kigel, J.; Galili, G. (Eds.). New York, Marcel Dekker Inc. 853 p.
- LARSON, L. Y KIEMNEC, G. 1997. Differential germination by dimorphic achenes of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis* L.) under water stress. *Journal of Arid Environments*, 37: 107-114.
- LEISHMAN, M. R. Y WESTOBY, M. 1994. Hypotheses on seed size: Tests using the semiarid flora of Western New South Wales, Australia. *The American Naturalist*, 143(5): 890-906.
- LEÓN, D. L. J. Y DOMÍNGUEZ, C. R. 1991. Evaluación de la reproducción por semilla de la pitaya agria (*Stenocereus gummosus*) en Baja California Sur, México. *Acta Botánica Mexicana*, 14: 75-87.
- LEUENBERGER, B. 1974. Testa surface characters of Cactaceae. Preliminary results of scanning Electron Microscope study. *Cactus and Succulent Journal (U. S.)*, 46: 175-180.
- LÓPEZ, G. R. Y SÁNCHEZ, R. P. 1989. Germinación de dos variedades de pitaya *Stenocereus griseus* (Haworth) Buxbaum. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 34(2): 34-40.

- LUMBRENAS Y BARRON, U. 1976. Contribución al conocimiento del Peyote. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM.
- MAITI, R. C., HERNÁNDEZ-PIÑERO, J. L. Y VALDEZ-MARROQUIN, M. 1994. Seed ultrastructure and germination of some species of Cactaceae. *Phyton*, 55: 97-105.
- MANDUJANO, M. C., MONTAÑA, C. Y EGUIARTE, L. E. 1996. Reproductive ecology and inbreeding depression in *Opuntia rastrera* (Cactaceae) in the Chihuahua desert: Why are sexually derived recruitments so rare? *American Journal of Botany*, 83(1): 63-70.
- MANDUJANO, M. C., GOLUBOV, J. Y MONTAÑA, C. 1997. Dormancy and endozoochorous dispersal of *Opuntia rastrera* seeds in the southern Chihuahua desert. *Journal of Arid Environments*, 36:259-266.
- MARTÍNEZ-HOLGUIN, E. 1983. Germinación de Semillas de *Stenocereus griseus* (Haw) Buxbaum (Pitayo de Mayo). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 28:51-57
- MATA, R. Y McLAUGHLIN, J. L. 1982. Cactus alkaloids, 50. A comprehensive tabular summary. *Revista Latinoamericana de Química*, 12: 95-117.
- MAYER, A. M. Y POLJAKOFF-MAYER. 1982. The germination of seeds. Pergamon Press. pp. 90, 110-191.
- McDONOUGH, W. T. 1964. Germination responses of *Carnegiea gigantea* and *Lemaireocereus thurberi*. *Ecology*, 45(1): 155-159.
- McLAUGHLIN, J. L. 1973. Peyote: An Introduction. *Lloydia*, 36(1): 1-8
- MORENO, C. P. 1996. Vida y Obra de granos y semillas. La ciencia para todos / 146. Fondo de Cultura Económica, 205p.
- MORENO, P. N., LÓPEZ, G. J. Y ARCE, G. L. 1992. Aspectos sobre las semillas y su germinación de *Echinomastus mariposensis* Hester. *Cactáceas y Suculentas Mexicana*, 37(1): 21-27.
- MONTAÑO, M. C., VEGA, V. F. Y NOLASCO, S. H. 1993. Aspectos Ecológicos y Económicos de las Cactáceas Mexicanas. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 38: 89-92.
- MURDOCH, A. J., ROBERTS, E. H. Y GOEDERT, C.O. 1989. A model for germination responses to alternating temperatures. *Annals of Botany*, 63:97-111.
- MONTGOMERY, D. C. 1991. Diseño y Análisis de Experimentos. Ed. Iberoamerica, México. 585 p.
- MURTHY, N. U. M. Y SUN, Q. W. 2000. Protein modification by Amadori and Maillard reactions during seed storage: roles of sugar hydrolysis and lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, 51(348): 1221-1228.

NOBEL, P. S. 1988. Environmental Biology of Agaves and Cacti. Cambridge University Press, New York. pp. 130-137.

NOLASCO, H., VEGA-VILLASANTE, F., ROMERO-SCHMIDT, H. L. Y DÍAZ-RONDERO, A. 1996. The effects of salinity, acidity, light and temperature on the germination of seeds of cardon *Pachycereus pringlei* (S. Wats.) Britton & Rose, Cactaceae). Journal of Arid Environments, 33: 84-94.

OROZCO-SEGOVIA, A. 1989. Fisiología y ecología del fitocromo: su función en las semillas. Boletín de la Sociedad Botánica de México, 49: 71-84.

ORTÍZ-MONTIEL, J. G. Y ALCÁNTARA-GARCÍA, R. 1997. Propagación in vitro de peyote (*Lophophora williamsii* (Lemaire) Coulter). Cactáceas y Suculentas Mexicanas, 42(1): 3-6.

PARKER, K. C. 1989. Height structure and reproductive characteristics of senita *Lophocereus schottii* (Cactaceae), in southern Arizona. Southwestern Naturalist, 34(3): 392-401.

PITEL, J. A. Y WANG, B. S. P. 1984. A review of papers published in the proceedings of the IUFRO International Symposium on forest tree seed storage. Commonwealth Forestry Review, 63(1): 55-66.

POTTER, R. L., PETERSEN, J. L. Y UECKERT, D. N. 1984. Germination responses of *Opuntia* spp. to temperature, scarification, and other seed treatments. Weed Science, 32: 106-110.

PROBERT, R. J. 1992. The role of temperature in germination ecophysiology. En: Seeds. the ecology of regeneration in plant communities. Fenner, M. 1992. C. A. B. International, Wallingford, U.K. pp. 285-325.

QUINTANA, S. M. E. 1994. Contribución al conocimiento de algunos factores que disparan la germinación de *Echinocactus platyacanthus* L. & O. Tesis profesional UNAM, Campus-Iztacala, México. 94 p.

ROJAS-ARÉCHIGA, M., OROZCO-SEGOVIA, A. Y VÁZQUEZ-YANES, C. 1997. Effect of light on germination of seven species of cacti from the Zapotitlán Valley in Puebla, México. Journal of Arid Environments, 36: 571-578.

ROJAS-ARÉCHIGA, M., VÁZQUEZ-YANES, C. Y OROZCO-SEGOVIA, A. 1998. Seed response to temperature of Mexican cacti species from two life forms: an ecophysiological interpretation. Plant Ecology, 135: 207-214.

ROJAS-ARÉCHIGA, M. Y VÁZQUEZ-YANES, C. 2000. Cactus seed germination: a review. Journal of Arid Environments, 44: 85 -104.

- ROJAS-ARÉCHIGA, M., CASAS, A. Y VÁZQUEZ-YANES, C. 2001. Seed germination of wild and cultivated *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central México. *Journal of Arid Environments*, 49:279-287.
- ROJAS, G. M. Y HOMERO, R. 1991. Control hormonal del desarrollo de las plantas. *Fisiología-tecnológica-Experimental*. Ed. Noriega, México. pp. 101-111.
- ROMERO-SCHMID, H. L., VEGA-VILLASANTE, F., NOLASCO, H. Y MONTAÑO, C. 1992. The effect of darkness, freezing, acidity and salinity on seed germination of *Ferocactus peninsulae* (Cactaceae). *Journal of Arid Environments*, 23: 389-395.
- RUEDAS, M., VALVERDE, T. Y CASTILLO, A. S. 2000. Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mammillaria magnimamma* (Cactaceae) bajo diferentes condiciones ambientales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 66: 25-35.
- RZEDOWSKI, J. 1991. El Endémismo en la Flora Fanerogámica Mexicana: Una Apreciación Análítica Preliminar. *Acta Botánica Mexicana*, 15: 47-64.
- SALISBURY, B. F. , Y ROSS, W. C. 1994. *Fisiología Vegetal*. Ed. Iberoamericana, México. 667 p.
- SÁNCHEZ, V. G. 1997. Germinación, viabilidad y características distintivas de la semilla de *Opuntia joconostle* Weber forma cuaresmero. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 42(1): 3-6.
- SILVERTOWN, J. W. 1984. Phenotypic variety in seed germination behavior: the ontogeny and evolution of somatic polymorphism in seeds. *The American Naturalist*, 124(1): 1-16.
- SIMAK, M. 1981. Rayos X: Practical exercises in radiography of tropical tree seeds. *Reunión sobre problemas en semillas forestales tropicales*. Tomo I. Quintana Roo, México. pp. 171-189.
- SIMERDA, B. 1990. Effective ways of propagating endangered cacti. *British Cactus and Succulent Journal*, 8 (3): 9-12.
- SHULGIN, T. A. 1973. Mescaline: The Chemistry and Pharmacology of its Analogs. *Lloydia*, 36(1): 46-58.
- TAIZ, L. Y ZEIGER, E. 1998. *Plant Physiology* 2º ed. Sinauer Associates, Inc. publishers. Sunderland, Massachusetts, USA. 765 p.
- VÁLIDO, A. Y NOGALES, M. 1994. Frugivory and seed dispersal by the lizard *Gallotia galloti* (Lacertidae) in a xeric habitat of the Canary Islands. *Oikos*, 70(3): 403-411.
- VAN RHEEDE, K., V. O. Y VAN ROOYEN, M. W. 1999. *Dispersal Biology of desert plants*. Springer- Verlag Berlin Heidelberg, Alemania. pp. 183-213.

VÁZQUEZ-YANES, C. 1990. Ecología y Conservación de las Semillas. Ciencias No. Especial 4, Facultad de Ciencias. UNAM. pp. 278 -385.

VÁZQUEZ-YANES, C. Y OROZCO-SEGOVIA, A. 1994. Signals for seeds to sense and respond to gaps. En : Exploitation on environmental heterogeneity by plants : ecophysiological processes above and below ground. Ed. M. Caldwell and R. Pearcy. Academic Press, New York. pp. 209-236.

VÁZQUEZ-YANES, C. Y OROZCO-SEGOVIA, A. 1996. Comparative longevity of seeds of five tropical rain forest woody species stored under different moisture conditions. Canadian Journal of Botany, 74:1635-1639.

VÁZQUEZ-YANES, C. Y ROJAS-ARÉCHIGA, M. 1996a. Ex situ conservation of tropical rain forest seed: problems and perspectives. Interciencia, 21(5): 293-298.

VÁZQUEZ-YANES, C., ROJAS-ARÉCHIGA, M., SÁNCHEZ-CORONADO, M.E. Y OROZCO-SEGOVIA, A. 1996b. Comparison of light-regulated seed germination in *Ficus spp.* and *Cecropia obtusifolia* : ecological implications. Tree Physiology, 16: 871-875.

VÁZQUEZ- YANES, C., OROZCO-SEGOVIA, A., ROJAS-ARÉCHIGA, M., SÁNCHEZ-CORONADO, M. E. Y CERVANTES, V. 1997. La Reproducción de las plantas: Semillas y Meristemos. La ciencia para todos / 157. Fondo de Cultura Económica, México. 167 p.

WALTERS, C., PAMMENTER, N.W., BERJAK, P. Y CRANE, J. 2001. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. Seed Science Research, 11: 135-148.

WENT, A. W. 1981. Germination and Seedling Behavior of Desert Plants. En: Arid-Land Ecosystems: structure, functioning and management. Cambridge University Press. Vol. II. pp. 477 - 489

WINSTON, P. W. Y BATES, H. D. 1960. Saturated Solutions for The Control of Humidity in Biological Research. Ecology, 41(1): 232 - 237

ZAMUDIO, R. S., RZEDOWSKI, J., CARRANZA, G. E. Y CALDERÓN DE RZEDOWSKI, G. 1992. La vegetación del estado de Querétaro. Panorama preliminar. Gobierno del Estado de Querétaro, México. 92 p.

ZAR, J. H. 1984. Biostatistical análisis 2º ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. pp. 295-304.

ZENG, X. Y., CHEN, R. Z., FU, J. R. Y ZHANG, X. W. 1998. The effects of water content during storage on physiological activity of cucumber seeds. Seed Science Research, 8 (1): 65-68.