

00387



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**TRATAMIENTOS DE ENDURECIMIENTO
EN SEMILLAS DE
Buddleja cordata (LOGANIACEAE) Y
Wigandia urens (HYDROPHYLLACEAE),
DOS ESPECIES ÚTILES PARA
REFORESTAR O RESTAURAR
ÁREAS PERTURBADAS**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL
GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS
P R E S E N T A
**ANA MARIA LOURDES
GONZALEZ ZERTUCHE**

DIRECTORA DE TESIS: DRA. ALMA DELFINA LUCÍA OROZCO SEGOVIA
MÉXICO, D.F.



NOVIEMBRE 2005

0350517



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.



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO


Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 15 de julio de 2002, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado del Doctorado en Ciencias del alumno(a) **Ana María Lourdes González Zertuche**, con número de cuenta 69016217 y número de expediente 3981092, con la tesis titulada: **"Tratamientos de endurecimiento de semillas de *Buddleja cordata* (Loganiaceae) y *Wigandia urens* (Hydrophyllaceae) dos especies útiles para reforestar y restaurar áreas perturbadas."**, bajo la dirección del (la) **Dra. Alma Delfina Lucía Orozco Segovia**.

Presidente:	Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán
Vocal:	Dr. Jorge Arturo Meave del Castillo
Vocal:	Dr. Julio Campo Alves
Vocal:	Dra. Ana Elena Mendoza Ochoa
Secretario:	Dra. Alma Delfina Lucía Orozco Segovia
Suplente:	Dr. Juan Emmanuel Rincón Saucedo
Suplente:	Dra. Ana Luisa Anaya Lang

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 17 de julio de 2003


Dra. Tala María Pérez Ortiz
Coordinadora del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

ÍNDICE

I. Resumen	1
II. Introducción	4
III. Antecedentes	12
IV. Resultados	
1. El ambiente de la semilla en el suelo: su efecto en la germinación y en la sobrevivencia de la plántula	33
2. Effects of priming on germination of <i>Buddleja cordata</i> ssp <i>cordata</i> (Loganiaceae) seeds and possible ecological significance	43
3. Comportamiento germinativo de dos poblaciones de semillas de <i>Buddleja cordata</i> y <i>Wigandia urens</i> con <i>osmoprimering</i> y endurecimiento natural	58
4. Comportamiento de la emergencia de dos poblaciones de semillas de <i>Buddleja cordata</i> y <i>Wigandia urens</i> con <i>osmoprimering</i> y endurecimiento natural	67
5. Natural priming of <i>Wigandia urens</i> seeds during burial: effects on germination, growth and protein expression	89
V. Discusión y Conclusiones.....	113
VI. Sitios de Estudio y Especies	126
VII. Materiales y Métodos	133

RECONOCIMIENTOS

- ◆ Universidad Nacional Autónoma de México.
 - ◆ Posgrado en Ecología y Ciencias Ambientales de la Facultad de Ciencias, UNAM.
 - ◆ Posgrado en Ciencias Biológicas del Instituto Ecología, UNAM.
 - ◆ Beca de la Dirección General del Posgrado, UNAM para estudios de Maestría de Septiembre de 1997 a Agosto de 1999.
 - ◆ Beca Complementaria de la Dirección General del Posgrado, UNAM para estudios de Doctorado de Septiembre de 1999 a Agosto del 2002.
 - ◆ Beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) para estudios de Doctorado de Septiembre de 1999 a Agosto del 2002 (Número de Registro 149901).
 - ◆ Proyecto CONACYT-GOO11N9607.
-

AGRADECIMIENTOS

- ◆ A la UNAM y a todas las generaciones que han defendido el derecho a la educación sin distinción de grupo social, edad o género.
 - ◆ A los investigadores y profesores del Instituto de Ecología por compartir el ambiente académico que han logrado construir.
 - ◆ A los investigadores, profesores, compañeros y amigos de la Facultad de Ciencias por formar parte de mi vida académica durante tantos años y por su impulso para obtener este grado. A todos los amigos, compañeros y alumnos con los que compartí esta etapa de mi vida.
 - ◆ Agradezco infinitamente a la Dra. Alma Orozco Segovia, guía en la realización de este trabajo de investigación, por su apoyo y asesoría que fueron de vital importancia en mi desarrollo académico y personal de esta etapa de mi vida.
-

-
- ◆ Al Dr. Carlos Vázquez Yanes por compartir su sabiduría con nosotros.
 - ◆ A los miembros del comité tutorial: Dra. Alma Orozco Segovia, Dr. Juan Emmanuel Rincón Saucedo y la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán por su asesoría y comentarios durante la elaboración de esta tesis.
 - ◆ A los miembros del jurado Dra. Alma Orozco, Dr. Juan Emmanuel Rincón Saucedo y la Dra. Guadalupe Judith Márquez, Dr. Jorge Arturo Meave del Castillo, Dra. Ana Elena Mendoza Ochoa , Dr. Julio Campo Alves y a la Dra. Ana Luisa Anaya Lang por revisar el manuscrito de tesis y sus comentarios para mejorarlo.
 - ◆ A los investigadores Dr. Daniel Piñero, Dra. Pilar Huante y Dra. Margarita Collazo por su confianza, su apoyo académico y sus comentarios en la realización de este trabajo.
 - ◆ A los investigadores, compañeros y amigos del laboratorio de Ecofisiología: Dra. Gamboa, Dr. Barradas, Dr. Campo, M. en C. Ma. Esther, Paty, Mario, Rogelio, Maricarmen, Lupita, América, Angélica, Nayeli, Daniel, Jethro, Julio, por su apoyo y compartir día a día los avances y logros de este trabajo
 - ◆ En especial a mis amigas, Mariana, Ana, Ivonne, Susana, Mague, Katy, Guadalupe que formaron una red que me apoyó en los momentos felices y en los difíciles.
-

DEDICATORIA

- ◆ A mi mamá María Santos Zertuche y a mi papá Jaime González que con su cariño, enseñanzas y consejos me prepararon para lograr objetivos como éste en mi vida.
 - ◆ A mis hermanos Toño, Cristy, Guillermo, Silvia y Javier que con su cariño, apoyo y confianza contribuyeron para realizar este sueño.
 - ◆ A mis hijos Alejandro y Alfonso que con cariño y aceptación hemos formado un gran equipo para crecer juntos.
 - ◆ A mis sobrinos y a mis alumnos como un testimonio de que con perseverancia y dedicación se puede alcanzar cualquier meta por muy lejana que la veamos.
-

DEDICATORIA

- ◆ Dr. Carlos Vázquez Yanes *IN MEMORIAM*
-

RESUMEN

El propósito de este estudio fue investigar sobre diferentes alternativas para incrementar el vigor de las semillas y de las plántulas (*hardening*) de *Wigandia urens* y *Buddleja cordata*, especies ruderales, arbóreas, nativas del Valle de México. Este trabajo se realizó en el sur de la Zona Metropolitana del Valle de México, zona que presenta una elevada tasa de urbanización y donde se han reducido drásticamente las áreas con cubierta vegetal. Las pruebas experimentales se realizaron en dos áreas naturales protegidas: la *Reserva del Pedregal de San Ángel* y el *Parque Ecológico de la Ciudad de México* con semillas de dos especies silvestres *B. cordata* y *W. urens*.

Se evaluó el efecto de los tratamientos de endurecimiento en el laboratorio (*hardening* por *priming*). Además, se planteó como alternativa de endurecimiento al enterramiento de las semillas en el campo durante algunas semanas (endurecimiento

natural). Se comparó el efecto de los tratamientos en el laboratorio, en una casa de sombra y en el campo. Los tratamientos de endurecimiento en el laboratorio (*priming*) fueron: *osmopriming* con *polyethylenglycol* e *hidropriming*. El endurecimiento natural en el suelo se llevó a cabo en diferentes microambiente de la zona de estudio. Para comparar el efecto de los tratamientos, se determinaron los principales parámetros de germinación y de emergencia, y en algunos casos, los de sobrevivencia. Además, se realizó un análisis de extractos de proteínas en *W. urens* con el fin de detectar algunas proteínas que pudieran estar relacionadas con el efecto del tratamiento.

La germinación y la emergencia de las poblaciones de *B. cordata* y de *W. urens* ocurrieron en una amplia variedad de microambientes. Las semillas de *B. cordata* y *W. urens* presentaron un polimorfismo fisiológico en el comportamiento germinativo y en la emergencia de las plántulas. Esta variación fisiológica estuvo relacionada con el origen de la semilla, el tratamiento de endurecimiento, el sitio de enterramiento y el sitio de siembra. Las respuestas de *B. cordata* y *W. urens* a los tratamientos de *priming* no difieren de las reportadas para plantas cultivadas. La inhibición inicial de la germinación y el aumento posterior en la capacidad germinativa de semillas tratadas con *osmopriming* sugiere que este tratamiento indujo latencia secundaria.

Las diferencias en la respuesta al *hidropriming* y al *osmopriming* pueden relacionarse con las condiciones ambientales del sitio del que proceden las semillas. El endurecimiento natural mejoró la capacidad de germinación final y favoreció una germinación rápida y uniforme, por lo tanto, suponemos que tiene un efecto equivalente al *priming*.

En el laboratorio, el tratamiento de endurecimiento natural mejoró consistentemente la capacidad y la sincronía de la germinación. En algunos sitios del campo las semillas con pretratamiento de enterramiento tuvieron un mejor desempeño

que las tratadas con *osmopriming*, sin embargo, no se observó un patrón general.

La variación fisiológica en la germinación y la emergencia sugiere que durante el enterramiento ocurrió un proceso de aclimatización de las semillas a los diferentes sitios de enterramiento. La fluctuación en las condiciones ambientales, luz, temperatura y potencial hídrico, en los microambientes heterogéneos durante el enterramiento pudieron haber influido en la expresión de diferentes proteínas en la semilla que favorecieron una aclimatización diferencial de las semillas. Los resultados sugieren que los tratamientos de *osmopriming* y enterramiento, juegan un papel importante, no sólo en el rompimiento o inducción de la latencia, sino en la aclimatización en la germinación y en la emergencia de las plántulas.

En general, los resultados enfatizan que las características del lote de semillas y las condiciones ambientales durante la permanencia de las semillas en el banco del suelo pueden tener un gran impacto en las prácticas de restauración al aumentar la probabilidad del éxito en el establecimiento de las plántulas, además de ser importantes para la regeneración natural.

Palabras claves: *Buddleja cordata*, emergencia de plántulas, endurecimiento de semillas, endurecimiento natural, germinación, *priming*, semillas enterradas y exhumadas, sobrevivencia de plántulas, *Wigandia urens*.

INTRODUCCION

Las actividades productivas del hombre han transformado grandes extensiones de áreas naturales. El uso inadecuado de los recursos y la explotación intensiva de los elementos de los ecosistemas provoca la alteración de las áreas naturales. Algunas de las consecuencias más evidentes de este disturbio ambiental se manifiesta como fragmentación, deforestación, degradación del suelo, contaminación y pérdida de biodiversidad (Landa *et al.* 1997). En ocasiones, la perturbación de las áreas naturales es de tal magnitud que los ambientes se vuelven desfavorables para la regeneración natural (Vázquez-Yanes y Batis 1996) y se requiere de la intervención humana para su restauración. Uno de los principales retos a los que se enfrenta la humanidad es la recuperación de las áreas naturales perturbadas, con este fin se promueven proyectos de restauración y reforestación que reviertan el deterioro en el que se encuentran. Sin embargo, estos intentos han tenido poco éxito debido a que: a) la mayoría

de las áreas perturbadas presentan condiciones desfavorables (estrés fisiológico) como baja disponibilidad de agua, amplias fluctuaciones de temperatura, salinidad y contaminantes; b) para recuperar la cubierta vegetal se utilizan especies exóticas; c) existe una alta mortalidad de las plántulas por deficiencias en el manejo de las plántulas en los viveros, durante el transplante y/o el establecimiento. (Vázquez-Yanes y Cervantes 1993, Cervantes *et al.* 1996).

En México, el proceso de urbanización es una de los principales factores de disturbio que causan la perturbación de las áreas naturales. Uno de los casos más relevantes es la urbanización del Valle de México. La perturbación de este Valle se inició desde épocas prehispánicas, este proceso se incrementó en la época de la colonia y en el siglo XX se intensificó con la urbanización de la región. En las últimas décadas, la zona urbana del Valle de México aumentó aceleradamente. Por ejemplo, en el Distrito Federal la superficie urbana en 1960 era de 271,980 km² con 4.4 millones de habitantes y para 1980 se duplicó a 607,160 km² con 8.8 millones de habitantes (Álvarez 1985). Este crecimiento fue mayor en algunas delegaciones. Por ejemplo, en la delegación Tlalpan cuya superficie es de 312 km², el número de habitantes en 1960 era de 61,195 y se quintuplicó para 1980 con 368,974 habitantes, en la delegación Coyoacan, cuya superficie es de 54.4 km², el número de habitantes en 1960 era de 144,269 y para 1980 eran 597,190 habitantes (Álvarez 1985).

Este proceso de urbanización acelerado provocó la reducción de las áreas con cubierta vegetal y la perturbación de las áreas naturales existentes. Actualmente, en el Distrito Federal existen 20 áreas naturales con diferentes *status* en los programas de conservación, entre las que se encuentran el *Parque Ecológico de la Ciudad de México* y la *Reserva del Pedregal de San Ángel* al sur de la Ciudad de México. En esta zona crecen *Buddleja cordata* y *Wigandia urens*, estas especies

han sido propuestas como plantas potencialmente útiles para restaurar las zonas perturbadas de los pedregales, en especial las del Ajusco Medio (Bonfil *et al.* 1997). Ambas especies tienen la característica de ser plantas silvestres nativas, por lo que pueden presentar ventajas sobre las exóticas porque durante su evolución se han adaptado a las condiciones ambientales de su hábitat (Vázquez-Yanes y Batis 1996). A pesar de que son especies que crecen normalmente en sitios perturbados, sus plántulas presentan una alta mortalidad y se carece de información suficiente para incrementar la probabilidad de un establecimiento exitoso (Mendoza 2002).

Para incrementar el éxito durante el establecimiento y, por lo tanto, de los proyectos de restauración y reforestación de áreas perturbadas, se requiere comprender los procesos ecofisiológicos de las plantas para determinar su capacidad para enfrentarse a estas condiciones adversas y elegir las especies y variedades que presenten una mayor tolerancia y resistencia (Bazzas, 1996).

Explicar los procesos fisiológicos en el contexto ambiental, es el objeto de estudio de la ecofisiología. Esta disciplina considera, principalmente, el estudio del efecto de los factores ambientales y sus variaciones en el espacio y el tiempo sobre los procesos fisiológicos de: absorción, asimilación y asignación de los recursos y balance hídrico en las distintas fases del ciclo de vida de las plantas (Medina 1977). Realizar estudios ecofisiológicos específicos para las diferentes fases del desarrollo de las plantas proporciona una amplia visión para la toma de decisiones adecuadas en los proyectos de reforestación y restauración, porque en cada fase de su ciclo de vida la planta tiene una forma y función específica, distintos requerimientos de recursos y responde de forma diferente a los factores ambientales.

Algunos de los principales eventos durante el ciclo de vida de las plantas, y por lo tanto, fundamentales para la regeneración

natural y los proyectos de restauración, son la producción de semillas, la germinación y el establecimiento de las plántulas. Las semillas, desde su producción hasta la emergencia de la plántula, están expuestas a una amplia gama de factores ambientales que pueden afectar el desarrollo de una plántula vigorosa (Bewley y Black 1994).

Dada la susceptibilidad de la plántula durante su establecimiento, en las prácticas agrícolas se han desarrollado métodos para obtener semillas con germinación rápida y simultánea, incrementar la viabilidad y el vigor de las plántulas y generar plantas con mayor resistencia a las altas temperaturas y a la baja disponibilidad de agua en los campos de cultivo. Uno de los métodos utilizados es el endurecimiento de las semillas antes de la siembra por *priming*. Este tratamiento consiste en una hidratación controlada de las semillas durante la fase de imbibición, la cual permite que se inicien los procesos metabólicos pregerminativos, pero impide que se llegue a la etapa de elongación de la radícula y se alcance la germinación (Heydecker *et al.* 1973).

Una de las ventajas económicas de los tratamientos de endurecimiento es la reducción de los requerimientos energéticos de uso del invernadero, al reducir el tiempo de desarrollo de la plántula por una germinación rápida y uniforme (Brocklehurst y Dearman 1983, Brocklehurst *et al.* 1984). Además, las semillas tratadas pueden desecarse nuevamente hasta los contenidos de humedad previos al tratamiento, sin perder los beneficios debidos al *priming* (Dearman *et al.* 1987), lo que permite un almacenamiento adecuado para su posterior distribución comercial. La mayoría de los estudios publicados sobre estas técnicas de endurecimiento se han realizado con especies comerciales como la soya, el tomate, el apio, el ajo, etc., por lo que se conoce poco sobre las ventajas de aplicar estos métodos en semillas de especies que se utilizan o se pueden utilizar en la reforestación o la restauración ecológica.

En condiciones naturales, las semillas están expuestas a las variaciones en los factores ambientales, lo que las ha conducido a desarrollar mecanismos que les permiten detectar las condiciones ambientales para germinar y establecerse (Fenner 2000). Existen diversos estudios que describen el efecto del ambiente durante el desarrollo de la semilla y su permanencia en el suelo en relación con el establecimiento y la permanencia del reposo en las semillas (Chambers y McMahon 1994, Gutterman 2000, Karssen y Hillhorst 2000, Allen y Meyer 1998). Con base en esta información y las variaciones en las condiciones de hidratación del suelo a lo largo del año, es probable que el endurecimiento por *priming* ocurra normalmente en la naturaleza, es decir, los procesos fisiológicos que ocurren durante esta etapa en el suelo inician el proceso de aclimatización de las plantas a su ambiente e incrementan el éxito en el establecimiento. Por ello, es primordial entender la interacción entre las condiciones ambientales en que se desarrolla la semilla y sus experiencias posteriores en el suelo, con el éxito en la germinación y el establecimiento. Es indudable que la identificación de los procesos de aclimatización de las semillas permitiría un mayor éxito de los programas de restauración en un sentido amplio.

Dentro de este marco conceptual, en este trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

OBJETIVOS GENERALES

- ◆ Inducir endurecimiento en dos especies de plantas silvestres
- ◆ Elaborar un diseño experimental para inducir el endurecimiento de las semillas en condiciones naturales.
- ◆ Evaluar el efecto de los tratamientos de endurecimiento en la germinación y el establecimiento de las plántulas de dos especies de plantas silvestres.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ◆ Elaborar diferentes diseños experimentales para evaluar el efecto de los tratamientos de endurecimiento de semillas en el comportamiento germinativo de dos poblaciones de *Buddleja cordata* y *Wigandia urens*.
- ◆ Comparar el comportamiento germinativo de semillas de dos poblaciones de *Buddleja cordata* y *Wigandia urens* con endurecimiento por hydropriming y osmopriming, para evaluar la efectividad de diferentes protocolos de endurecimiento en el laboratorio.
- ◆ Comparar el comportamiento germinativo de semillas de dos poblaciones de *Buddleja cordata* y *Wigandia urens* enterradas en el campo o endurecidas en el laboratorio y sembradas en condiciones controladas, para determinar si las condiciones ambientales que rodean a las semillas durante su permanencia en el suelo tienen efectos equivalentes a los que inducen los tratamientos de endurecimiento en el laboratorio.
- ◆ Comparar la emergencia de semillas de dos poblaciones de *Buddleja cordata* y *Wigandia urens* enterradas en el campo o endurecidas en el laboratorio, para establecer la relación entre las condiciones ambientales durante el desarrollo de la semilla, con los tratamientos previos a la germinación (endurecidas o enterradas) y con el sitio donde se establecerán.

Para abordar la solución de algunos aspectos de la problemática mencionada se plantearon preguntas tales como: ¿Los tratamientos de endurecimiento pueden ser una alternativa para incrementar el vigor de las plántulas en los proyectos de reforestación y restauración? ¿Es posible inducir el endurecimiento en plantas silvestres? ¿Qué estrategia

metodológica se puede seguir para inducir la aclimatación o aclimatización de especies silvestres e incrementar el éxito en la germinación y el establecimiento de las plántulas? ¿La permanencia de las semillas en el suelo puede ser equivalente a los tratamientos de endurecimiento en el laboratorio que se utilizan en plantas agrícolas? ¿Qué efecto tienen los diferentes tratamientos de endurecimiento en la germinación y el establecimiento de especies silvestres?

La respuesta a estas interrogantes implicó desarrollar métodos para estudiar el efecto de diferentes tratamientos de endurecimiento tanto en condiciones controladas del laboratorio (cámaras de germinación) como en condiciones naturales del campo (casa de sombra y diferentes microambientes).

Las diferentes actividades que se realizaron durante este proyecto de investigación llevaron a la elaboración de diferentes manuscritos que constituyen los capítulos de la presente tesis:

- ◆ Los antecedentes consisten en un manuscrito de revisión bibliográfica sobre los diversos mecanismos por medio de los cuales las plantas perciben el ambiente y aseguran las condiciones favorables para el establecimiento de las plántulas en ambientes diversos. Se enfatiza la etapa que se inicia con el desarrollo de la semilla y culmina con el establecimiento de la plántula. Se aborda también la literatura sobre tratamientos endurecimiento.
- ◆ Un artículo donde se revisa la importancia de los estudios ecofisiológicos sobre endurecimiento en el laboratorio y permanencia de las semillas en el suelo, la optimización de la emergencia y el éxito en el establecimiento de las plántulas en proyectos y programas de reforestación y restauración.
- ◆ Un artículo sobre el estudio del efecto de diferentes tratamientos de endurecimiento (*hidropriming* y

osmopriming) en el comportamiento germinativo de dos poblaciones de semillas de *Buddleia cordata*. Este trabajo permitió determinar el efecto de las condiciones ambientales locales durante el desarrollo y la respuesta de las semillas a los tratamientos de endurecimiento en el laboratorio.

- ◆ Un manuscrito en el que se compara el efecto de las diferentes condiciones ambientales, en que se realiza el endurecimiento natural (durante la permanencia en el suelo), sobre el comportamiento germinativo en el laboratorio de las dos poblaciones de *B. cordata* y *W. urens*.
- ◆ Un manuscrito en el que se compara el efecto de las diferentes condiciones ambientales en las que se realiza el endurecimiento natural de las dos poblaciones de semillas de *B. cordata* y *W. urens*. en la emergencia en una casa de sombra y en el campo.
- ◆ Un artículo en el que se compara el efecto del endurecimiento en el laboratorio y del endurecimiento natural en la germinación, el crecimiento y la expresión de proteínas en semillas de *Wigandia urens*. Además se incluyen resultados sobre la sobrevivencia en la casa de sombra.
- ◆ En el apéndice se incluye la descripción de las especies y sitios de estudio, así como una sección de materiales y métodos donde se plantea en forma global la estrategia seguida para abordar los problemas o preguntas de la presente tesis.

ANTECEDENTES

La *Restauración Ecológica* plantea la reconstrucción de la composición, la estructura y el funcionamiento natural de los ecosistemas, comunidades o poblaciones que por efecto del disturbio físico, biótico o humano se han alterado o perturbado, y por lo tanto requieren de la intervención del hombre para su restablecimiento y persistencia (Jordan III *et al.* 1987, Bradshaw 1987, van Diggelen 2001). El grado de alteración o perturbación de los ecosistemas depende del tipo, la intensidad y la duración de las causas de disturbio, así como de la complejidad de la estructura inicial de la comunidad. Existen algunas áreas poco perturbadas que requieren de poca intervención para su restauración, mientras que otras zonas completamente deforestadas y eriales que han perdido la mayor parte del suelo fértil requieren incluso de la reconstrucción de éste.

Para restaurar un ecosistema se requiere una visión ecológica que permita conocer y manejar los procesos que subyacen a su funcionamiento y su estructura, identificar los elementos que los conforman y la forma en que se ensamblan (Hooper y Vitousek 1997). La restauración ecológica se ha entendido como conjuntos de actividades o técnicas que facilitan alguno de los siguientes procesos: la *restauración sensu stricto*, la *rehabilitación* o el *reemplazamiento* (Bradshaw 1987). La *restauración sensu stricto* consiste en reconstruir o restablecer el ecosistema, comunidad o población *original* con todos sus componentes ecológicos. La *rehabilitación* implica la recuperación parcial del ecosistema, al reconstruir una comunidad estable y autosuficiente formada por *elementos de la naturaleza original*, que no requiere de insumos para mantenerse fértil, productiva y en equilibrio termodinámico. El *reemplazamiento* consiste en la construcción de comunidades en explotación sustentable como los sistemas agro-silvo-pastoriles, combinación de campos de cultivo, cultivos de árboles y pastizales. Dependiendo del tipo de actividad reconstructiva son diferentes los caminos que se siguen en la restauración (Bradshaw 1987).

Un aspecto que hay que recordar es que cualquier proyecto de restauración se debe realizar con base en las condiciones bio-socio-político-culturales de la zona, por lo que no sólo se requiere responder a la pregunta ¿cómo restaurar?, sino también ¿porqué?, ¿para qué?, ¿para quién?, y ¿cuáles son los costos? El manejo de los sistemas depende de múltiples factores físicos, ecológicos, sociológicos, políticos y económicos que varían de un lugar a otro, por lo que es fundamental durante el proceso de definir los objetivos, evaluar las opciones y elegir aquellas que representen un compromiso con los intereses de los diferentes actores sociales que participan (Cervantes *et al.* 1996).

El éxito de los proyectos de restauración, tanto aquéllos que buscan promover los procesos de regeneración naturales, como los que plantean un manejo práctico de los mismos (Bradshaw 1987), depende de: a) el conocimiento de la ecofisiología de las plantas durante las diferentes etapas su ciclo de vida, b) el conocimiento de la dinámica de las comunidades y de los ecosistemas, c) la experiencia del restaurador ecológico y la calidad de su juicio en la toma de decisiones, d) las circunstancias espaciales y temporales en las que se da la restauración, e) el compromiso social de la comunidad del área donde se realiza el proyecto, y f) la valoración ecológica que existe en la sociedad en su conjunto (Jackson *et al.* 1995).

La restauración ecológica implica la necesidad de unas bases teóricas multidisciplinarias, con una cultura del manejo de los sistemas que incluya el seguimiento (monitoreo) y la evaluación continua. El manejo de las áreas naturales debe verse como un experimento a largo plazo con un programa de monitoreo, desde diferentes escalas temporales y espaciales.

Desde el punto de vista biológico, la restauración de las tierras perturbadas no es una tarea fácil. En éstas se presenta una combinación de condiciones desfavorables (sequía, baja fertilidad del suelo, excesiva salinidad, etc.) que limitan el establecimiento y el crecimiento de las plantas (Alscher y Cumming 1990, Mooney *et al.* 1991).

Dadas estas condiciones desfavorables, en términos generales, para la restauración ecológica se requiere conocer los mecanismos implicados en la formación del suelo, la recuperación de la cubierta vegetal (ensamblaje de especies), el restablecimiento del funcionamiento de las comunidades (ciclos de materia y energía) y el restablecimiento de las interacciones bióticas. Además, hace falta conocer la forma en que los factores ambientales afectan los procesos fisiológicos que determinan el establecimiento, crecimiento y reproducción de las especies que

constituyen el ecosistema (Bazzaz 1996). Papel de la ecofisiología en la restauración

Un área del conocimiento que puede proporcionar una gran cantidad de elementos teóricos en las prácticas de restauración es la ecofisiología. La ecofisiología explica los procesos fisiológicos en el contexto ambiental integrando los niveles bioquímico, biofísico y de la biología molecular, en el estudio de las respuestas fisiológicas de las plantas a las condiciones ambientales (Taiz y Zeiger 1991, Vázquez-Yanes 1999).

Esta disciplina considera principalmente el estudio del efecto de los factores ambientales en los procesos fisiológicos, es decir, estudia la variación ambiental en el espacio y el tiempo, y su efecto en la absorción, la asimilación y la asignación de los recursos, el balance hídrico, la germinación, el establecimiento de plántulas, el crecimiento y la reproducción, (Ehleringer y Field 1993, Mulkey *et al.* 1997).

Algunos de los aspectos importantes que aborda la ecofisiología de plantas son: a) las diferentes fenofases de los organismos y su interacción dinámica con el ambiente; b) la relación entre las características del hábitat y la captura y asimilación de los recursos minerales, agua, luz y gases; c) la acumulación de biomasa y la asignación y reasignación de los productos derivados del metabolismo; d) posibles restricciones ambientales al metabolismo (estrés); e) las interacciones bióticas que permiten a la planta incrementar su eficiencia en la captura de los recursos, p. ej., la relación micorrícica; f) las interacciones planta-suelo-atmósfera en diferentes ambientes (balance respiración-transpiración-fotosíntesis); y g) índices de fotosíntesis a distintas escalas (hoja, follaje, etc) para establecer el flujo del carbono y la biomasa neta de la comunidad (Ehleringer y Field 1993).

En general, los estudios ecofisiológicos sobre plantas han permitido la elaboración de modelos potencialmente útiles en los proyectos de restauración, al favorecer la evaluación

cualitativa y cuantitativa de la regeneración en el proyecto de restauración. Estos modelos facilitan el monitoreo o seguimiento del proyecto para: a) integrar cuantitativa y cualitativamente el conocimiento científico sobre el crecimiento de las plantas, b) llenar algunas lagunas en el conocimiento de los procesos naturales y proporcionar nuevas ideas para formular hipótesis de trabajo, c) proporcionar un método para evaluar el significado y validez para los resultados de investigación, y e) determinar los grupos funcionales apropiados para cada zona (Dickson y Isebrands 1991, Baldochi 1993, Azócar *et al* 2000).

Primordialmente, la ecofisiología en las actividades de restauración permite identificar las características funcionales de las especies, para establecer un balance entre sus óptimos fisiológicos y sus óptimos ecológicos (Medina 1977). La detección de grupos funcionales como unidades que sustentan la productividad vegetal y la diversidad funcional (Spicer y Gaston 1999) es fundamental en el estudio de la dinámica y la estructura de las comunidades, porque sirven como base en los planes de conservación, manejo y restauración ecológica. Por ejemplo, uno de los principales factores limitantes, en las áreas perturbadas es la disponibilidad de agua, y las especies difieren en su capacidad para utilizar diferentes fuentes de ésta (precipitación, neblina, aguas subterráneas). Por lo tanto, para recuperar la productividad primaria y la estabilidad del ecosistema en los planes de restauración, se requiere conocer el hábito foliar de las plantas (caducifolios o perennifolios), los sistemas radicales (superficial, dimórfico o profundo) y la capacidad de las especies para utilizar distintas fuentes de agua (superficial y profunda) y para maximizar su utilización (Chapin III, 1993). Otros grupos funcionales que se pueden considerar serían las plantas fijadoras y no fijadoras de nitrógeno y las plantas C₃, C₄ y CAM (Caldwell *et al.* 1994, Tilman *et al.* 1997).

El desarrollo de la semilla vital para la restauración

Un elemento clave en la regeneración natural o inducida son los estudios del efecto de los factores ambientales que regulan la expresión del programa genético de desarrollo de la planta (Fenner 1992), porque éstos ofrecen una amplia visión para la toma de decisiones adecuadas en los proyectos de restauración (Vazquez Yanez y Batis 1996). Los factores externos e internos regulan cada una de las fases del ciclo de vida de la planta, y los eventos climáticos de fases previas pueden influir en las fases subsecuentes. En el caso de las semillas, las condiciones ambientales en las que se lleva a cabo su producción, dispersión, germinación, así como el establecimiento de la plántula, influyen en el desarrollo de una planta vigorosa (Wulff 1995, Gutterman 2000).

Desarrollo de la semilla

El ciclo de vida de las plantas, se completa con la producción de individuos fisiológicamente independientes, es decir con la reproducción. La doble fertilización que caracteriza a las angiospermas da origen a la semilla. Una semilla es una estructura compleja con diferente composición genética (Laux y Jurgens 1997, Lopes y Larkins 1994): el embrión (diploide: producto de la generaciones haploides materna y paterna) el endospermo (tejido triploide: producto de la generación materna diploide y la paterna haploide) y las cubiertas de la semilla (tejidos diploides de la generación materna).

El desarrollo de la semilla involucra principalmente tres eventos independientes: la embriogénesis, la expansión celular y la maduración (Kermode 1995).

a) Durante la embriogénesis (histodiferenciación), en el cigoto se presentan sucesivas divisiones mitóticas y por diferenciación celular se forma el plan corporal básico del embrión.

b) La expansión celular se caracteriza por el depósito de las reservas en los tejidos de almacenamiento.

c) Durante la etapa de maduración se presenta una pérdida de agua en los tejidos. La desecación produce una reducción en el metabolismo y el embrión pasa a un estado de inactividad metabólica o reposo.

El desarrollo del embrión ocurre bajo la protección y el control del ambiente materno (partes de las plantas) y el ambiente de la semilla (tejidos que lo rodean), por lo que la embriogénesis se regula por señales internas (generadas por el embrión) y externas (generadas por el ambiente materno y el ambiente externo). Las características químicas y físicas del ambiente embrionario tienen un papel importante en el mantenimiento y desarrollo del embrión, hasta que éste está completamente formado y ha acumulado suficientes reservas para lograr que la germinación y el establecimiento de la plántula sean exitosos (Wulff 1995)

Existen dos factores reguladores principales que mantienen al embrión en desarrollo y evitan la germinación: el ácido abscísico (ABA) y el ambiente osmótico. El ABA se sintetiza en los tejidos que rodean a la semilla o lo provee la planta madre (Kermode 1995). Al avanzar el desarrollo del embrión, el contenido de ABA se incrementa hasta alcanzar un máximo y disminuye durante la desecación y la maduración de la semilla. La alta osmolaridad de los tejidos que rodean a la semilla evitan la germinación precoz; el endospermo en el cual se desarrolla el embrión generalmente tiene un potencial hídrico y osmótico negativo (Blackman *et al.* 1991, Leprince *et al.* 1993, Ooms *et al.* 1993).

La desecación es un evento terminal crítico en el desarrollo del embrión. Durante este, la semilla adquiere la tolerancia a la desecación y se establece el reposo (en forma de quiescencia o de latencia), lo que confiere a la semilla tolerancia a ambientes adversos y le permite alcanzar un estado autónomo que favorece su dispersión en el espacio y el tiempo. También puede considerarse como un *switch* entre el desarrollo seminal

y el programa de germinación y desarrollo de la plántula. Las semillas que son vivíparas (*i. e.* que presentan germinación precoz) y las recalcitrantes pasan rápidamente a la etapa germinativa, tal vez porque tienen bajas concentraciones de ABA o presentan una reducción en la sensibilidad al ABA (Kermode 1995, Vertucci y Farrant 1995), y por ello no pasan por la fase de desecación.

Dispersión

Existe una gran cantidad de factores que influyen en los movimientos y el destino de las semillas cuando abandonan la planta madre: a) los factores ambientales como la fuerza y la dirección del viento, los patrones de lluvia y la humedad relativa, el comportamiento de los dispersores bióticos (al adherirse o ser ingeridas por los animales), entre otros, y b) los factores controlados por la interacción entre el ambiente y la constitución genética de la planta madre (restricciones ecológicas y filogenéticas: tales como el tamaño y la forma del fruto y el tamaño y la forma de la semilla (alas, 'plumas', apéndices, ganchos, cubiertas adhesivas etc.), la dehiscencia y la abscisión (Espinoza-Osornio y Englemann 1998).

Los diferentes patrones de asignación de recursos a los dispositivos o mecanismos de dispersión dependerán de la forma de vida y los atributos de la historia de vida de las plantas, y del comportamiento y las características de los agentes dispersores. Las condiciones ambientales en las que se desarrolle la planta madre influyen en las señales que regulan la maduración de los frutos y las semillas. Según las interacciones que se presenten en la comunidad, la maduración de la semilla debe coincidir con las épocas en que se presentan los agentes dispersores. Según Chambers y MacMahon (1994), el proceso de dispersión puede ocurrir en dos fases, una que lleva a la semilla del progenitor a un sitio determinado como la superficie del suelo, la rama o las hojas de un árbol, y otra que incluye movimientos verticales y horizontales que llevan a la semilla a

un segundo destino. Una vez que la semilla llega al suelo, puede permanecer en la superficie hasta la germinación o incorporarse a capas más profundas del suelo. Los movimientos en esta segunda fase dependerán de las características estructurales del suelo, de otros factores abióticos como la lluvia, de la morfología de la semilla, o de interacciones bióticas con dispersores secundarios. El conocimiento de los movimientos de la semilla es esencial para la restauración de ecosistemas y para el control de especies exóticas en todos los biomas (Chambers y MacMahon 1994) para regular el establecimiento y la persistencia de las plántulas.

Banco de semillas

Los banco de semillas persistentes son muy importante para la regeneración natural de las comunidades, por lo tanto, el manejo adecuado del banco de semillas en la recuperación de zonas perturbadas es esencial para la recuperación de la cubierta vegetal. Durante su permanencia en el suelo, la semilla está sometida a fluctuaciones en las condiciones ambientales impredecibles, como la disponibilidad de agua, temperatura, luz y concentración de los gases, eventos azarosos de fuego, entre otros factores (Karssen 1982, Baskin y Baskin 1985, Thompson 1992, Hillhorst 1996 Karssen y Hillhorst 2000). Este ambiente complejo con grandes variaciones en el espacio y en el tiempo significan señales que percibe la semilla a través de promotores o receptores que a su vez regularán la germinación y el crecimiento de la nueva plántula (Fenner 1985). Uno de los efectos de la permanencia de la semilla en el suelo que se reporta con más frecuencia es el establecimiento de ciclos de inducción y rompimiento de la latencia (Karssen 1982, Baskin y Baskin 1983, Hillhorst 1997).

Los intrincados y variados mecanismos de latencia que presentan las semillas se han seleccionado durante su evolución, al ser percibir las señales de ambiente e iniciar la germinación/crecimiento en una época favorable para el

establecimiento de la plántula (Bewley y Black 1994, Baskin y Baskin 1998). La forma en que las semillas perciben las condiciones del ambiente y responden a las condiciones adecuadas para germinar es consecuencia de su historia integrada (desarrollo y permanencia en el banco de semillas). La información del ambiente que la semilla percibe, no se restringe a los factores intrínsecos del suelo en un determinado momento, sino que además incluye a aquéllos que se derivan de su interacción con factores atmosféricos y con las interacciones bióticas que se establecen en la comunidad durante la permanencia en el suelo. Durante la permanencia de las semillas en el suelo, éstas se sensibilizan a los factores que promueven la germinación como la luz, la temperatura, las giberelinas, las azidas y los nitratos, entre otros. El ejemplo más conocido es la sensibilización de las semillas a las giberelinas endógenas o la luz por el efecto de las temperaturas invernales (Karssen y Hillhorst 1992).

Germinación

El proceso de la germinación se inicia con la imbibición de la semilla. La tasa de imbibición inicial está regulada por la permeabilidad de las cubiertas, el área de contacto de la semilla con el sustrato y la conductividad hidráulica del suelo. Las semillas maduras exhiben un patrón trifásico de absorción del agua. La Fase I es consecuencia de las fuerzas osmóticas. En la Fase II, el potencial osmótico de la semilla entra en un equilibrio con el ambiente que la rodea. Durante esta fase se realizan los principales cambios metabólicos que preparan al embrión de la semilla para la emergencia de la radícula de las cubiertas de la semilla. En la Fase III ocurre un incremento en la absorción de agua y la elongación y emergencia de la radícula de las cubiertas seminales, sólo las semillas que germinan entran en la tercera fase (Bewley y Black 1994). Las semillas no viables pueden presentar la Fase I y II de absorción, pero no la tercera. El patrón de absorción de agua puede ser similar entre

las semillas de diferentes especies y la duración de cada fase depende de la especie, del individuo y de la disponibilidad de agua (Taylorson 1990).

Durante la Fase II ocurre una reactivación de los sistemas metabólicos existentes y se sintetizan nuevos componentes que permiten la renovación de la expansión celular y la elongación de la radícula. En los primeros eventos metabólicos se utilizan los componentes presentes en las semillas; en la síntesis de proteínas se utiliza el ARNm preexistente, aunque en pocas horas se reinicia la síntesis de ARNm y se degrada el anterior. La regulación de la síntesis de proteínas vinculadas a la germinación puede tener diferentes orígenes (Bray 1993, 1995). *Traduccional*, en el que los mensajes se acumulan durante el desarrollo de la semilla, pero no se traducen hasta el crecimiento de la planta; *post-traduccional*, cuando el ARNm y las proteínas están presentes, pero la actividad enzimática no se detecta hasta el crecimiento; *transcripcional*, cuando se producen nuevos mensajes después de la germinación.

La semilla conserva su tolerancia a la desecación mientras se encuentre en la Fase II. Ante condiciones adversas del ambiente la semilla puede permanecer en la Fase II debido a la presencia de algún mecanismo de latencia. Esta tolerancia a la desecación disminuye después de que se inicia el crecimiento del embrión y la probabilidad de sobrevivir a la deshidratación es muy baja. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que semillas recién germinadas pueden pasar por un proceso de desecación ya que durante esta etapa se sintetizan proteínas que le confieren una resistencia al estrés (Bruggink y van der Toorn 1995)

El endurecimiento: un proceso de aclimatación

Entre los fisiólogos dedicados principalmente al estudio de plantas hortícolas se han diseñado diferentes tratamientos pregerminativos de endurecimiento que permiten mejorar el comportamiento germinativo en el invernadero y en el campo.

Un protocolo de estos tratamientos se conoce como *priming* y consiste en: una hidratación controlada de las semillas que permite que se lleven a cabo los eventos metabólicos pregerminativos que ocurren durante la Fase II de imbibición, pero sin llegar a la elongación de la radícula (Taylorson 1990). La imbibición controlada puede realizarse con agua (*hydropriming*) o con soluciones osmóticas (*osmopriming*). Los protocolos de endurecimiento por *priming* que se han propuesto presentan variaciones en el tipo de solución, el tiempo y la temperatura en que se embebe a las semillas según la especie de que se trate (González-Zertuche *et al.* 2000). Los tratamientos de endurecimiento por *priming* resultan en una reducción del tiempo promedio de germinación y en un aumento de la uniformidad (sincronía) en la germinación de los lotes de semillas. Se han realizado experimentos utilizando semillas de diferentes especies que han demostrado el éxito del tratamiento (Bray 1995). El efecto positivo del endurecimiento está relacionado con dos factores: la activación de las enzimas de reparación de la membrana y del ADN, y los avances metabólicos debidos a la activación de los procesos involucrados en la germinación (Dell' Aquila y Bewley 1989)

En la actualidad se conoce poco sobre los cambios bioquímicos y moleculares que se realizan durante el endurecimiento. Sin embargo, algunos estudios han empezado a dilucidar cambios moleculares y bioquímicos como síntesis de ADN, ARN y proteínas inducidos por el endurecimiento, y es posible empezar a armar diferentes hipótesis sobre estos procesos. Algunas de las hipótesis sobre los procesos vinculados con el endurecimiento por *priming* convergen con los hallazgos realizados en los procesos de adquisición de la tolerancia a la desecación durante la maduración de las semillas (Bray 1995, Bruggink y van der Toorn 1995).

Estos cambios moleculares y bioquímicos vinculados al endurecimiento por *primng*, se han asociado a procesos

similares que ocurren cuando las semillas están expuestas en el suelo a condiciones de estrés hídrico y por lo tanto a diferentes procesos de hidratación que no necesariamente conducen a la germinación (González-Zertuche *et al.* 2001). También se ha reportado la existencia de proteínas asociadas a la tolerancia a la desecación en tejidos embrionarios y vegetativos de plantas que están en condiciones de estrés (desecación, congelamiento, o calor) (Vertucci y Farrant 1995). Un mayor conocimiento de la naturaleza y la extensión de estas proteínas relacionadas con el endurecimiento podría aumentar el entendimiento de la tolerancia al estrés en general.

Las proteínas LEA (abundantes en los estados tardíos de la embriogénesis) son las proteínas más conocidas que se relacionan con la tolerancia al estrés. A pesar de que éstas no tienen una función bien definida, están ampliamente conservadas en la naturaleza y parecen tener un papel en la tolerancia a la desecación por sus propiedades físicas, su abundancia y posiblemente por su unión a estructuras macromoleculares. La expresión aislada de las proteínas LEA o su transcripción no es suficiente para la tolerancia a la desecación en la maduración de las semillas; sin embargo, éstas siempre se producen durante la última fase del desarrollo (desecación) (Blackman *et al.* 1991, 1992). Tal vez porque la tolerancia a la desecación tiene un origen múltiple, la cantidad de las proteínas y la combinación de éstas es lo que determina el nivel de tolerancia, siendo las proteínas LEA una parte esencial en éste proceso (Dell' Aquila y Bewley 1989).

Recientemente se han identificado otras proteínas ligadas a la adquisición de la tolerancia al estrés, llamadas proteínas de choque térmico (HSP o *heat shock proteins*) que se expresan también durante el desarrollo de la semilla (Taiz y Zeiger 1991). Se piensa que estas proteínas tienen un papel en la conformación de la estabilización de las membranas y que están relacionadas con la preservación y reparación de las estructuras

moleculares durante la hidratación y rehidratación. Estas funciones se relacionan con los mecanismos de adquisición de la tolerancia al estrés en general, así como con la tolerancia a la desecación de embriones (Vertucci y Farrant 1995).

Todos estos procesos bioquímicos, que se han estudiado en condiciones de laboratorio, probablemente son los mecanismos naturales de aclimatización de las plantas que se inician desde la fase de semilla, por lo tanto son similares en diferentes etapas de la historia de vida de las plantas. Esta similitud puede deberse a que actúan los mismos receptores de las señales del ambiente y las mismas proteínas promotoras o inhibidoras de la expresión génica, o porque genes ya activados durante el desarrollo de la semilla continúan expresándose.

El ambiente y el sistema génico. Una red compleja

Uno de los principales retos para los ecofisiólogos vegetales es entender el efecto de las variaciones ambientales en el desarrollo de las plantas. La respuesta de las plantas a la variación ambiental (plasticidad fenotípica) está regulada por los programas genéticos de desarrollo, que a su vez están regulados por los factores ambientales que inducen cambios en la expresión génica (Schlichting 1986, Sharloo 1991, Scheiner 1993). En cada fase de su vida la planta tiene una forma y función específica, con distintos requerimientos de recursos y responde de diferente forma (norma de reacción) a las variaciones en las condiciones ambientales (Schlichting 1986, Sharloo 1991, Scheiner 1993). Así como los estudios fenológicos buscan establecer la correlación entre las características del hábitat y las fenofases, los estudios ecofisiológicos buscan establecer la correlación entre la variación ambiental y la variación fisiológica en las diferentes fases de la vida de la planta (Spicer y Gaston 1999).

Desde hace muchos años, los científicos aceptan la existencia de dos sistemas de información génica. El sistema génico (gene RNA- proteína fenotipo), y el sistema epigenético

que involucra la interacción entre los genes y los productos de los genes. Estos dos sistemas están integrados y construyen una red compleja pero flexible de regulación entre los elementos génicos y el fenotipo (Dobzhansky *et al.* 1980). La expresión fenotípica de los programas genéticos continuamente se modifica, modela y adapta por la gran cantidad de señales de las variaciones ambientales en las que se encuentra la planta. Esta variación fenotípica se refleja en la estructura básica de la planta durante todo su desarrollo (germinación, establecimiento, crecimiento y reproducción), sobre todo en los momentos críticos del desarrollo de la planta, como son la transición de la fase vegetativa a la reproductora o la liberación de la semilla de la latencia para germinar (Schlichting 1986, Sharloo 1991, Scheiner 1993).

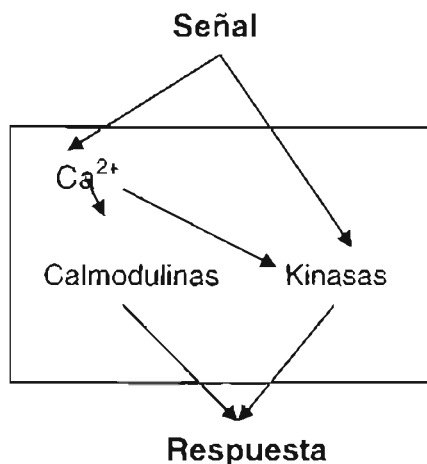
A las señales del ambiente y sus posibles respuestas (causa-efecto) se les denominó *señales de transducción*. En un principio se clasificaron en rápidas y lentas, porque los científicos pensaron que las respuestas lentas requerían cambios en la expresión génica y las rápidas no. Sin embargo, esta distinción estaba equivocada, porque la misma red controla el flujo de iones y los cambios en la expresión génica. Ambas expresiones son fenómenos ligados, pero ocurren a diferentes tasas.

Las señales del ambiente se reciben por receptores, generalmente son proteínas de familias relacionadas y están localizados en la membrana plasmática, el núcleo, el citoplasma. La señal o estímulo del ambiente altera el potencial de membrana y activa el receptor o modifica las proteínas-kinasa. En la actualidad, los científicos han identificado a los receptores para el etileno, el rojo lejano, la luz roja y la luz azul, y hay fuertes candidatos para los receptores de ABA, auxinas, citokininas, oligosacáridos, jasmonatos y brasinocaroides. Sin embargo todavía se ignoran muchas de sus características y la

forma en que actúan en la regulación del desarrollo de las plantas.

Uno de los mecanismos de percepción de señales mejor conocidos es el que está relacionado con la fotomorfogénesis, en la que está involucrada la familia de los pigmentos conocidos como fitocromos. Los pigmentos reciben la señal de la luz y los receptores que están en la membrana liberan calcio que se acopla con otra proteína reguladora conocida como calmodulina. Esta proteína crea un complejo enzima-proteína que promueve la transcripción y más tarde la síntesis de proteína (Vázquez-Yanes y Orozco Segovia 1994).

Las rutas de transducción más conocidas se identificaron a partir de la detección de la relación del Ca^+ con las proteínas-kinasas y el aislamiento de las calmodulinas en las plantas, con lo cual se establecen dos rutas de transducción dependientes de las proteínas-kinasas. Sin embargo, todavía existen muchas interrogantes sobre el proceso. En términos generales, la percepción de diferentes señales se puede plantear conforme al siguiente esquema.



Los mecanismos de percepción de señales que han evolucionado en las plantas son capaces de detectar la dirección de la llegada de señales para capturar recursos básicos o amplificar metabólicamente señales débiles que pueden tener poca energía para provocar una respuesta fisiológica. La amplificación se inicia con la dimerización de los receptores que causan una fosforilación intermolecular; el receptor fosforilado permanece activo y dispara cambios en cascada en la proteína receptora inicial que amplifican la señal. Una propiedad común en la red de señales de transducción es la redundancia funcional, porque las características de las redes resultan de los componentes y no de su valores cuantitativos, lo cual implica la construcción de una compleja red de transducción de señales que aún está por conocerse.

Literatura citada

- Alscher RG y Cummings JR 1990 Stress response in plants. Adaptation and acclimatation mechanisms Wiley Liss New York USA pp.
- Azócar A, Rada F y García-Núñez Rada F y García-Núñez 2000 Aspectos ecofisiológicos para la conservación de ecosistemas tropicales contrastantes. *Bol. Soc. México*. 65 :89-94
- Baldocchi DD 1993 Scaling water vapor and carbon dioxide Exchange from leaves to a canopy. Rules and tools :77-114 En: Ehleringer JR y Field CB Eds. Scaling physiological processes: Leaf to globe. Academic Press, Inc. San Diego San Diego USA
- Baskin CC y Baskin JM 1998 Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press San Diego USA.
- Baskin CC y Baskin JM 1985 The annual dormancy cycle in buried weed seeds: a continuum. *BioScience* 35 :492-498.
- Baskin JM y Baskin CC 1983 Seasonal changes in the germination response of buried seeds of *Arabidopsis thaliana* and ecological interpretation *Bot Gaz* 144 (4) :540-543
- Bazzas FA 1996 Plants in changing environments: Linking physiological, population and community ecology. Cambridge, Cambridge University Press.
- Bewley JD y Black M 1994 Seed physiology of development and germination 2º Edición Plenum Press . USA.
- Blackman SA Wettlaufer SH Obendorf RL y Leopold AC 1991 Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. *Plant Physiology* 96 :68-874
- Blackman SA Obendorf RL y Leopold AC 1992 Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds. *Plant Physiology* 100 :225-230
- Bradshaw AD 1987 The reclamation of relict land the ecology of ecosystems :52-74 En: Jordan III WR Gilpin ME y Aber JD Eds. Restoration ecology. A synthetic approach to ecology research Cambridge University Press Cambridge. Great Britain
- Bray EA 1993 Molecular responses to water deficit. *Plant physiology* 103 :1035-1040
- Bray CM 1995 Biochemical process during the osmopriming seeds. :767-789 En: Kigel y Galili Eds Seed development and germination M. Decker Inc. New York USA
- Bruggink GT y van der Toorn P 1995 Induction of desiccation tolerance in germinated seeds. *Seed Science Research* 5 :1-4
- Caldweel MM y Pearcy RW 1994 Exploitation of environmental heterogeneity by plants. Academic Press, Inc. San Diego USA USA
- Capra 1996
- Cervantes V, Arriaga V y Carabias J 1996 La problemática socioambiental e institucional de la reforestación en la región de la Montaña, Guerrero, México. *Bol. Soc. Bot. México* 59 :67-80
- Chambers JC y MacMahon JA 1994 A day in the life of a seed: Movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual. Rev. Ecol. Syst.* 25 :263-292.

- Chapin III FS 1993 Functional role of growth forms in ecosystem and global processes :287-312 En: Ehleringer JR y Field CB Eds. Scaling physiological processes: Leaf to globe. Academic Press, Inc. San Diego USA
- Dell' Aquila A y Bewley JD 1989 Protein synthesis in the axes of polyethylene glycol treated pea seeds and during subsequent germination. *Journal of Experimental Botany* 40 :1001-1007
- Dickson RE y Isebrands JG 1991 Leaves as regulators of stress :3-34 En: Mooney HA Winner WE y Pell EJ Eds. Response of plants to multiple stresses Academic Press, Inc. San Diego USA
- Dobzhansky T, Ayala FJ, Stebbins GL y Valentine JW 1980 Evolución. Ediciones Omega Barcelona España 558pp.
- Ehleringer JR y Field CB 1993 Scaling Physiological processes: Leaf to globe. Academic Press, Inc. San Diego USA pp.
- Espinoza-Osornio G y Engleman EM 1998 Breve recopilación de anatomía de las semillas. Colegio de Postgraduados. Texcoco México 45 pp.
- Fenner M 1985 Seed Ecology Chapman and Hall USA 151 pp.
- Fenner M 1992 Seeds. The ecology of regeneration in plant communities CAB International Redwood Press Wallingford UK 373 pp.
- González-Zertuche L, Vázquez-Yanes C, Gamboa A, Sánchez-Coronado ME, Aguilera P y Orozco-Segovia A 2001 Natural priming of *Wigandia urens* seeds during burial: Effects on germination, growth and protein expression *Seed Science Research* 11 :27-34
- González-Zertuche L, Orozco-Segovia A y Vázquez-Yanes C 2000 El ambiente de la semilla en el suelo *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 65 :73-81
- Gutterman Y 2000 Genotypic and phenotypic germination survival strategies of ecotype on annual plant species in Negev dessert of Israel :389-399. En: Black M Bradford KJ y Vásquez-Ramos J Eds. Seed Biology Advances and applications CAB International Publishing.
- Hilhorst HWM 1997 Seed dormancy *Seed Science Research* 7 :221-223
- Hilhorst HVM 1996 An integrating model for seed dormancy cycling: characterization reversible sensitivity :341-360 En: Lang G Ed. Plant dormancy physiology, biochemistry and molecular biology CAB International. Wallingford UK
- Hooper DU y Vitousek PM 1997 The effects of plant composition and diversity on ecosystem processes *Science* 277 :1302-1305
- Jackson LL Lopoukhine N y Hillyard D 1995 Ecological restoration: a definition and comments *Restoration Ecology* 3 :71-75
- Jordan III WR, Gilpin ME y Aber JD 1987 Restoration ecology: ecological restoration as a technique for basic research :1-23 En: Jordan III WR Gilpin ME y Aber JD Eds. Restoration ecology. A synthetic approach to ecology research Cambridge University Press Cambridge. Great Britain
- Karssen CM 1982 Seasonal pattern of dormancy in weed seeds :243-270 En: Kahn AA Ed. The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination. Elsevier Biomedical Press Amsterdam. Holanda

- Karssen CM y Hilhorst HWM 2000 Effect of chemical environment on seed germination :327-348 En: Fenner M Ed. *Seeds. The ecology of regeneration in plant communities 2ª Ed.* CAB International Wallingford UK.
- Kermode AR 1995 Regulatory Mechanisms in the transition from seed development to germination. Interactions between the embryo and the seed environment. :273-332. En: Kigel y Galili Eds *Seed development and germination M. Decker Inc.* New York USA
- Laux T y Jürgens G 1997 Embryogénesis: A new start in life *Plant Cell* 9 :989-1000
- Leprince O, Hendry GAF y Mc Kersie BD 1993 The mechanism of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Science Research* 3 :231-246.
- Lopes MA y Larkins BA 1994 Endosperm origin, development, and function *Plant Cell* 5 :1383-1399
- Medina E. 1977 Introducción a la ecofisiología vegetal. Organización de los Estados Americanos.
- Mooney HA, Winner WE y Pell EJ 1991 Response of plants to multiple stresses Academic Press, Inc. San Diego USA pp.
- Mulkey SS, Chazdon RL y Smith AP 1996 Tropical forest plant ecophysiology Chapman & Hall. International Thomson Publishing. New York USA pp.
- Ooms JJ, Kloosterziel L, Bartels D Koormneef M y Karsen CM 1993 Role of abscisic acid in the induction of desiccation tolerance in developing seeds of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 102 :1185-1191
- Scheiner SM 1993 Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24 :35-68.
- Schlichting CD 1986 The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 17 :667-693.
- Sharloo W 1991 Canalization: Genetics and development aspects. *Annual Review of Ecology and Systematics* 22 :65-93
- Spicer JI y Gaston KJ 1999 Physiological diversity and its ecological implications. Blackwell Science Ltd. 241 pp.
- Taiz L y Zeiger E 1991 Plant physiology The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California, USA 565 pp.
- Taylorson RB 1990 Recent advances in the developmental germination of seeds. Plenum Press. London, New York. USA pp.
- Thompson K 1992 The functional ecology of seed banks :231-257 En: Fenner M Ed. *Seeds. The ecology of regeneration in plant communities 2ª Ed.* CAB International Wallingford UK
- Tilman D, Knops J, Wedin D, Reich P, Ritchie M y Siemann E 1997 The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes *Science* 277 :1300-1302
- van Diggelen R 2001 Ecological Restoration; State of art or State of Science *Restoration Ecology* 9 2 :115-118
- Vazquez-Yanes C 1999 La fisiología ecológica de las plantas :1-9 En: Orellana R Escamilla JA y Larqué-Saavedra Eds. *Ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos CICY A.C.* Mérida México

- Vázquez-Yanes C y Orozco-Segovia A. 1994 Signals for seeds to sense and respond to gaps. :209-236. En: Caldwell MM y Pearcy RW Eds Exploitation of environmental heterogeneity by plants. Academic Press, Inc. San Diego USA USA
- Vázquez-Yanes C y Batis A 1996a. Adopción de árboles nativos valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. *Bol. Soc. Bot. México*. 58 :75-84.
- Vertucci CW y Farrant JM 1995 Acquisition and loss of desiccation tolerance :237-272. En: Kigel y Galili Eds Seed development and germination M. Decker Inc. New York USA
- Wulff RD 1995 Environmental maternal effects on seed germination :491-505 En: Kigel y Galili Eds Seed development and germination M. Decker Inc. New York USA

EL AMBIENTE DE LA SEMILLA

Importancia de los estudios ecofisiológicos sobre el endurecimiento en el laboratorio y la permanencia de las semillas en el suelo en la optimización de la emergencia y el éxito en el establecimiento de las plántulas en proyectos y programas de reforestación y restauración. Artículo publicado en el *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 2000 **65** :73-81

EL AMBIENTE DE LA SEMILLA EN EL SUELO: SU EFECTO EN LA GERMINACIÓN Y EN LA SOBREVIVENCIA DE LA PLÁNTULA

LOURDES GONZÁLEZ-ZERTUCHE¹, ALMA OROZCO-Segovia²
Y CARLOS VÁZQUEZ YANES¹

¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 70-271, Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F., México; e-mail: anozgco@ecologia.unam.mx

Resumen. La conservación y la restauración ecológica plantean la necesidad de utilizar especies nativas, por lo cual es necesario conocer aspectos sobre su fisiología y ecología, y desarrollar técnicas que permitan incrementar la sobrevivencia de las plántulas en condiciones adversas. Una alternativa es la aplicación de los métodos de estratificación de semillas en especies silvestres nativas. El endurecimiento consiste en una inhibición controlada de la semilla, que previene los procesos metabólicos prergerminativos sin afectar la germinación o elongación de la radícula. Con el endurecimiento se logra una germinación simultánea e independiente en la sobrevivencia de las plántulas en ambientes con baja disponibilidad de agua y altas temperaturas, ventajas que se manifiestan después de la desecación y estratificación de semillas de plantas colonizadoras. Cuando las semillas germinan en el suelo, durante los períodos previo a la siembra, las semillas desarrollan un endurecimiento natural y se obtienen resultados similares a los que se logran con el endurecimiento en el laboratorio. Probablemente los beneficios del endurecimiento tienen relación con los procesos evolutivos que han sufrido las plantas que forman un banco de semillas en el suelo.

Palabras clave: restauración, semillas, plántulas, primum, endurecimiento, semillas estratificadas, germinación, sobrevivencia.

Abstract. Conservation and ecological restoration propose the use of native plants, the knowledge of their physiological and ecological traits and the proper techniques which assure seedling survival in adverse conditions. Priming consists of a regulated hydration in water or osmotic solutions; this permits the improvement of some metabolic processes, but prevents germination. This treatment increases seed vigor with a rapid and uniform germination and development. These advantages induce a valuable improvement on the seed response for applied purposes in agriculture. Because the advantages obtained during priming are kept after seed desiccation, seeds develop a natural priming when they lie in the soil. During soil burial, molecular and physiological responses are induced and which are very similar to those mechanisms reported in priming. Burial and natural priming enhancing germination and emergence could have an ecological significance. Effects produced by natural priming probably were selected during the evolution of plants which forms soil seed banks.

Keywords: restoration, seed, priming, hardening, buried seeds, germination, seedling.

En las últimas décadas cientos de miles de hectáreas han sido modificadas por el hombre para sus actividades productivas, sin tomar en cuenta que los recursos utilizados son elementos de los ecosistemas y que la explotación intensiva de éstos provoca un deterioro ambiental casi irreversible. Algunas de las consecuencias más evidentes del uso inadecuado de los recursos, es la alteración de los áreas naturales, que tiene diversas expresiones: fragmentación, deforestación, degradación del suelo, estrés ecológico,

contaminación y pérdida de biodiversidad (Landa *et al.*, 1997), causando que los ambientes se vuelvan desfavorables para el regeneración de los recursos bióticos y abióticos (Vázquez-Yanes y Batis, 1999).

Uno de los retos más importantes que enfrenta en la actualidad la humanidad, es la recuperación de algunas de estas áreas induciendo el desarrollo de una vegetación protectora que revierta el deterioro ambiental. La reforestación es una de las principales estrategias que se han utilizado con este fin. Sin

embargo, los métodos empleados para reforestar han tenido poco éxito, debido a que existe una alta mortalidad de las plantas una vez que pasan de los viveros a las condiciones de campo o por la utilización de plantas exóticas (Vázquez-Yanes y Cervantes, 1993). Esta problemática, plantea la necesidad de utilizar especies nativas, profundizar nuestros conocimientos sobre su fisiología y ecología y desarrollar técnicas que permitan incrementar la sobrevivencia de las plántulas en condiciones adversas. En general para las zonas templadas se han usado exitosas técnicas de reforestación, las cuales no tienen el mismo éxito en zonas tropicales o muy delimitadas (Vázquez-Yanes y Batus, 1996).

Estrategias para la reforestación

Para incrementar las probabilidades de éxito en el establecimiento y permanencia de plantas, principalmente hortícolas y agrícolas, se han seguido dos estrategias: a) cambios en el ambiente (uso de fertilizantes, riego, labranza, calefacción, etc.), y b) la modificación del genoma o la fisiología de las plantas para aumentar su resistencia a las condiciones ambientales adversas. Algunos aspectos de la primera opción han sido tratados con amplitud por Barvadas (1999). La segunda opción se basa en el hecho de que entre las poblaciones existe una variabilidad genética que se refleja en la flexibilidad fenotípica de las especies para responder al ambiente, la forma en que ésta se expresa está controlada tanto genéticamente como por los factores ambientales, por lo que se pueden elegir las variedades o poblaciones que presentan una mayor tolerancia o resistencia (genética, fenotípica o fisiológica) a las condiciones desfavorables en ambientes extremos, para asegurar el éxito de la plantación, lo que implica el estudio de los mecanismos genéticos, bioquímicos y fisiológicos que confieren esa resistencia, para conocer los procesos que están relacionados con ella y aplicarlos en las actividades de restauración de áreas en las que existen condiciones de estrés.

Una de las principales causas por las que se propone a las especies nativas para la restauración es porque las plantas que sobreviven en una localidad son descendientes de poblaciones que han habitado la región por largos periodos y están adaptadas al ambiente en el que se encuentran, poseen las características (estructura, fisiología, crecimiento y procesos reproductivos) que les permiten responder a esas condiciones ambientales. Por lo anterior es importante considerar los factores bióticos y abióticos, los cuales son múltiples y diversos e interactúan de forma compleja construyendo microambientes, en forma de

un gradiente continuo, en los que existe una combinación particular. Para cada especie existe un intervalo de tolerancia para cada factor, en el que puede establecerse, crecer y reproducirse. De esta manera, la relación de cualquier especie con un gradiente particular puede expresarse en términos de favorable o desfavorable. La intensidad o magnitud de cada factor en el que la especie se desarrolla mejor sería el óptimo y a lo largo del gradiente, en ambas direcciones del óptimo, los factores se convierten en desfavorables hasta que se alcanzan los límites letales. En las zonas marginales desfavorables se encuentran las condiciones en las que la planta se encuentra en estrés fisiológico (Tuz y Zeiger, 1991).

El estrés y la deforestación

La mayoría de las áreas perturbadas presentan condiciones desfavorables con baja disponibilidad de agua, amplias fluctuaciones de temperatura, salinidad, deficiencia de oxígeno en la zona de la raíz y contaminación del aire. Para la restauración se requiere realizar estudios sobre la capacidad de las plantas para enfrentarse a estas condiciones desfavorables y seleccionar especies que presenten una gran resistencia (Bazzaz, 1996).

La capacidad de respuesta a condiciones desfavorables depende de: a) la variabilidad genética entre las poblaciones (variación geográfica) que permite que cada población responda en diferente forma a las variaciones de las condiciones ambientales; b) la variación individual, ya que los individuos de una población son genéticamente diferentes (variación genotípica) con cierto grado de plasticidad fenotípica; que se manifiesta según las variaciones ambientales prevalecientes durante su desarrollo (variación fenotípica); c) la variación fisiológica de los individuos les permite ajustarse a la variación ambiental estacional o diaria por aclimatización. En este punto es importante aclarar que la planta se aclimata o se aclimatiza, dependiendo de los factores a los cuales la planta responde. El primer caso ocurre en el laboratorio, donde los cambios en los factores ambientales son más homogéneos, mientras que en el campo ocurre lo segundo y es una respuesta a cambios aleatorios y heterogéneos. A su vez, la aclimatización debe diferenciarse de la adaptación, la cual es un nivel de resistencia genéticamente determinado por la acción de la selección a través de las generaciones (Begon, 1986; Archibald, 1991).

Además de los estudios de la variabilidad de las poblaciones para seleccionar la especie y la población adecuada para realizar un programa de restauración, se requieren investigaciones sobre los diferentes

mecanismos moleculares, bioquímicos, genéticos y fisiológicos que presentan las plantas para sobrevivir a situaciones de estrés.

Las semillas y la restauración ecológica

La pregunta sobre cuáles son los sitios en los que se pueden establecer las plantas, en una primera etapa, está directamente relacionada con los requerimientos necesarios para que sus semillas germinen, los cuales están en estrecha relación con la trayectoria evolutiva de la planta, las condiciones en que maduró la semilla y los factores ambientales que intervienen durante su dispersión y permanencia en el banco de semillas (Fenner, 1985; Chambers y MacMahon, 1994).

Las semillas tienen mecanismos y estructuras sensibles a las condiciones ambientales que regulan la imbibición y aseguran que la germinación se presente bajo condiciones favorables. Los intricados y diversos mecanismos de latencia que se presentan en las semillas son resultado de la evolución de las semillas, en las que se han seleccionado diferentes formas de obtener información del ambiente para asegurar las condiciones favorables para el establecimiento de las plántulas (Baskin y Baskin, 1998).

Después de la germinación uno de los principales factores que determinan el establecimiento es la disponibilidad de agua. Los mecanismos de resistencia a la sequía o a la baja disponibilidad de agua se conocen en la actualidad como mecanismos de tolerancia a la desecación. Éstos pueden ser de dos tipos: mecanismos que mantienen a los tejidos hidratados, o mecanismos que permiten mantener el metabolismo activo aún en condiciones de baja disponibilidad de agua. Las semillas ortodoxas adquieren la tolerancia a la desecación hasta el final de su desarrollo en la planta, lo que permite la desecación hasta un contenido de humedad por abajo del 10% del inicial y un subsecuente almacenamiento a largo plazo. Una vez que la semilla germina pierde su tolerancia a la desecación y generalmente se asume que esta pérdida es irreversible (Vertucci y Farrar, 1995), aunque recientemente se ha demostrado que se puede inducir tolerancia a la desecación en semillas recién germinadas (Bruggink y van der Toorn, 1995).

La tolerancia a la desecación es una propiedad multifactorial en la que existen diferentes componentes importantes que la determinan, es un fenómeno complejo que involucra interacciones metabólicas y ajustes estructurales. La esencia de la verdadera tolerancia a la desecación es la habilidad para mantener la suficiente integridad estructural y funcional para reparar los daños, cuando el agua está disponible (Leprince *et al.*, 1993). Uno de los factores críticos para

la sobrevivencia de las plántulas es la disponibilidad del agua, por lo que se requiere conocer los principales procesos que regulan tanto la germinación como el establecimiento de las plántulas, desde el punto de vista del ambiente hídrico que las rodea (Bradford, 1995).

Tratamientos de endurecimiento (*priming*) y el mejoramiento de las semillas para la restauración

El endurecimiento de semillas es una técnica que se ha desarrollado para lograr un mejoramiento desde el punto de vista agrícola en el comportamiento germinativo de las semillas. Consiste en embeber a las semillas en soluciones osmóticas a bajas temperaturas antes de la siembra. Durante el tratamiento se inhiben los procesos previos a la germinación pero el proceso se detiene justo antes de que ocurra la elongación de la radícula. Después las semillas son desecadas hasta obtener el contenido de humedad original. Posteriormente durante la siembra las semillas se rehidratan, con la ventaja de que conservan los cambios ocurridos durante la hidratación previa, lo que significa un avance de los procesos fisiológicos, a diferencia de las semillas que no han pasado por este tratamiento (Herdecker, 1973; Dawson y Bray, 1991; Fujikura y Karssen, 1992; Cruz-García *et al.*, 1995).

Los tratamientos de endurecimiento o *priming* actualmente no se restringen a la inhibición de la germinación por medio de soluciones osmóticas (*osmopriming*), sino también se han usado tratamientos de *hidropriming* (embeber a la semilla en agua), que inhiben la germinación a través del control de la temperatura. Las semillas que reciben cualquiera de estos tratamientos presentan un mejoramiento en las siguientes características: a) reducción del tiempo en la emergencia de la radícula, b) sincronización en la germinación de un lote de semillas, c) mayor porcentaje de germinación, d) mejoramiento en el vigor de lotes de semillas deterioradas, y e) incremento en el vigor de la plántula y resistencia de ésta a la desecación y a las altas temperaturas (Karssen *et al.*, 1990). Estas ventajas se expresan sobre todo en condiciones desfavorables para la germinación y el establecimiento (Yamamoto *et al.*, 1997). Entre los protocolos para endurecer a las semillas (*priming*) hay una gran diversidad, se realizan sembrando a las semillas en diferentes soluciones de Polietilenglicol (Bradford, 1980), NaCl (Cayuela *et al.*, 1990; Pérez-Alfocea *et al.*, 1993), KNO₃ (Kester *et al.*, 1997), sobre matrices sólidas (Yamamoto *et al.*, 1997), con agua pura (Tajima y Bradford, 1992; Fujikura *et al.*, 1993), hidratándolas en atmósferas saturadas con vapor de agua (Rowse, 1996) (cuadro 1).

LÓPEZ-GONZÁLEZ, ZILDEHUI, ALMA OROZCO-SERRANO Y CARMEN VIZCAYA

Cuadro 1. Relación de plantas en las que se han realizado tratamientos de endurecimiento y algunos aspectos que se abordaron en el estudio.

Nombre común	Especie	Estudio	Referencia
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Priming y almacenamiento	Alvarado y Bradford, 1989
Sorgo	<i>Sorghum bicolor</i>	Priming con NaCl	Amzallag, et al., 1996
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Envejecimiento Deterioro	Argerich, et al., 1989
Puerro	<i>Allium porrum</i> L.	Síntesis del DNA	Ashraf y Bray, 1993
Frijol de soya	<i>Glycine max.</i>	Proteínas Asociadas a la tolerancia a la desecación	Blackman et al., 1991 y 1992
Puerro	<i>Allium porrum</i> L.	Crecimiento de plántulas con priming	Brocklehurst et al., 1984
Zanahoria, apio y cebolla	<i>Daucus carota</i> <i>Apium graveolens</i> <i>Allium cepum</i>	Priming	Brocklehurst y Dearman, 1983
Pepino	<i>Cucumis sativus</i> <i>Impatiens californica</i> Hook	Proteínas LEA Sacrosa ABA	Bruggink y van der Toorn, 1995
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Priming	Cano et al., 1991
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Cambios fisiológicos en plantas tratadas con NaCl	Cayuela et al., 1996
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Estudios de ácidos nucleicos	Coolbear y Grierson, 1979
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Tratamiento en bajas temperaturas	Coolbear et al., 1987
Girasol	<i>Helianthus annuus</i>	Cambios fisiológico y bioquímicos Almacenamiento y envejecimiento	Chojnowski et al., 1997
	<i>Bromus tectorum</i> L.	Modelo de tiempo hidrotérmico (hydrothermal time)	Christenson et al., 1995
Maíz	<i>Zea mays</i> L.	Estudio bioquímico y citológico	Cruz-García et al., 1995
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Integridad del endospermo	Dahall et al., 1993
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Síntesis de proteína	Davison y Bray, 1993
Cebolla	<i>Allium cepum</i>	Priming y envejecimiento	Dearman et al., 1987
Chicharo	<i>Pisum sativum</i>		Dell Aquila y Beasley, 1989

EL AMBIENTE DE LA SEMILLA EN EL SUELO SU EFECTO EN LA GERMINACIÓN Y EN LA SOBREVIVENCIA DE LA PLANTULA

Nombre común	Especie	Estudio	Referencia
Cebolla	<i>Allium cepum</i>	Temperatura	Ellis y Butcher, 1988
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Acido abscísico	Finch-Savage, y McQuistan, 1991
Cacahuete	<i>Arachis hypogea</i>	Priming con Peg Actividades bioquímicas	Fu et al., 1988
Cofitor	<i>Brásica oleracea</i>	Molecular Aspartic proteasa Envejecimiento Tiempos de imbibición	Fuyikura y Karsen 1992 y 1993
Zanahoria y cebolla	<i>Daucus carota</i> <i>Allium cepum</i>	Emergencia en el campo Tratadas con soluciones salinas	Haigh et al., 1997
Betabel	<i>Beta vulgaris</i> L.	Bioquímico Bloalbumina 11s	Job et al., 1997
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	1-isoaspatyl metiltransferasa Priming y envejecimiento	Kester et al., 1997
Chile	<i>Capsicum annum</i>	Actividad de replicación Nuclear	Lanteri et al., 1993 y Saracco et al., 1994
Chile Tomate	<i>Capsicum annum</i> <i>Lycopersicon esculentum</i>	Actividad de replicación Nuclear	Lanteri et al., 1993
Cenofala	<i>Brassica campestris</i> <i>Arabidopsis thaliana</i>	Azucars Acido abscísico	Leprince et al., 1990 Owens et al., 1993
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. <i>L. pennellii</i>	Salinidad y PEG	Pérez-Alfocea et al., 1993a Pérez-Alfocea et al., 1993b
Frijol de soya	<i>Glycine max</i>	Tolerancia a la desecación	Sun and Leopold, 1993
"mung bean"	<i>Vigna radiata</i> L.	Almacenamiento	Sun et al., 1997
Maíz dulce	<i>Zea mays saccharata</i>	Priming	Sun, 1993
Lechuga	<i>Lettuca sativa</i> L.	Priming con agua y con PEG Tasa de deterioro	Tarquís y Bradford 1992
Pino	<i>Pinus halpensis</i> <i>Pinus brutia</i>	Priming Luz	Thanos y Skordilis, 1987
Turfgrass	<i>Poa pratensis</i> L. <i>Festuca arundinacea</i> Schreb. <i>Lolium perenne</i> L.	Emergencia en el campo	Yamamoto et al., 1997
Kentucky Bluegrass	<i>Poa pratensis</i> L.	Emergencia de plántulas y crecimiento	Yamamoto et al., 1997
Puerro	<i>Allium porrum</i> L.	Cambios bioquímicos y fisiológicos	Zanzaretta y Bray, 1989

LÓPEZ-GONZÁLEZ, ZARCO-RO, A. AND BARRERA-SOLÍS, C. *et al.* 2007

Comparado con la extensa literatura sobre el mejoramiento y las potenciales aplicaciones de esta técnica para un gran número de especies se conoce poco sobre los eventos moleculares y celulares que ocurren luego durante estos tratamientos. Existen estudios detallados en *Ziziphus* spp. (Schefferson Mill., *Alnus incana* L., *Brassica oleracea* L.) Para su efecto sobre la cantidad y el tiempo en el que se sintetiza ADN, ARN, algunas proteínas y azúcares, así como su ubicación en los diferentes compartimentos celulares (Dell Aquilla y Tavano, 1989; Fu *et al.*, 1988; Bray *et al.*, 1989; Zamora y Bray, 1989; Karsen *et al.*, 1990; Dawson y Bray, 1991; Bray, 1995). Sin embargo, todavía no se ha explicado cómo esta actividad morfológica modifica el comportamiento de la germinación de las semillas (antes y luego de las plantas). En los últimos años se descubrió la síntesis de ABA y moléculas de alto peso molecular (al cual es similar a las proteínas LEA durante los tratamientos de endurecimiento (Dine *et al.*, 1994; Blackman *et al.*, 1991; Braggink y van der Toorn, 1995). Este hallazgo es importante ya que tanto el ABA como las proteínas LEA están directamente relacionadas con la resistencia de las plantas a la

desecación y a las altas temperaturas (Taz y Zeiger, 1982).

El endurecimiento y su relación con la permanencia de las semillas en el banco de semillas

Todos esos puntos relacionados con el endurecimiento de semillas en el laboratorio aportan información importante en el establecimiento de algunos de los posibles mecanismos de expresión génica y de adaptación de las semillas en el laboratorio. Estos dos aspectos probablemente han evolucionado en forma natural durante la permanencia de las semillas en el suelo como lo demuestran experimentos realizados tanto en campo como en el laboratorio, con semillas enterradas en el suelo dentro de bolsas de tela de organo, desenterradas, deshidratadas y posteriormente sembradas (figura 1). Las semillas previamente enterradas en el campo también germinan más rápido y en forma más sincrónica, que las semillas que no han pasado por este tratamiento. Así mismo la sobrevivencia se incrementa por el tratamiento de enterramiento previo (figura 2). También se ha encontrado, la presencia de moléculas de alto peso molecular semejantes a las proteínas LEA en semillas de *Wigandia ana*, enterradas durante cuatro meses en el campo (datos en preparación).

Los estudios de endurecimiento aplicados a especies forestales son pocos en la literatura (Tharion y Silvertown, 1987), sin embargo, se podrían usar estos métodos y verificar su eficacia por la restauración, además los resultados obtenidos con el endurecimiento natural, que ocurre durante la permanencia de las semillas en el suelo, plantea la posibilidad de tener mayor éxito que con los tratamientos de endurecimiento en el laboratorio, no sólo por la sencillez de su aplicación en el campo, sino porque probablemente permitiría una adaptación temprana de la futura planta, a las condiciones del área que se piensa restaurar, debido a que durante la permanencia de la semilla en el suelo podrían estar canalizando características que serán ventajosas para la sobrevivencia en condiciones desfavorables. Sin embargo aún falta que los investigadores sobre este tema, ya que no todas las especies poseen semillas con las características necesarias para ser almacenadas en el suelo, recuperadas, posteriormente desecadas y finalmente sembradas en una zona similar al sitio donde las semillas se recolectaron y se enterraron.

Adaptar a las plántulas desecadas a la restauración enterrándolas antes de la siembra de la época de su producción hasta la época favorable para el establecimiento podría dar resultados similares a mejores a las que se obtienen con los tratamientos

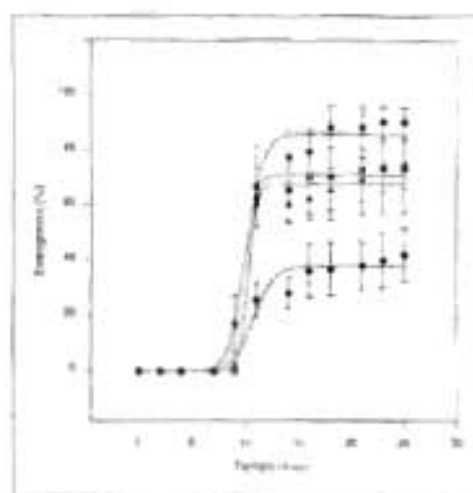


Figura 1. Emergencia acumulada de las plántulas de *Wigandia ana*. Las semillas fueron sembradas en un claro de un bosque ubicado en el Parque Ecológico de la Ciudad de México, al sur de la ciudad de México. Antes de ser sembradas las semillas estuvieron enterradas durante 4 meses en una zona abierta (●) y en un claro (■) y en una zona boscosa (▲) del mismo parque. Semillas almacenadas en el laboratorio durante el mismo periodo fueron el control (◐).

Efecto del ambiente de la semilla en el tiempo de vida en la germinación y en la sobrevivencia de las plántulas

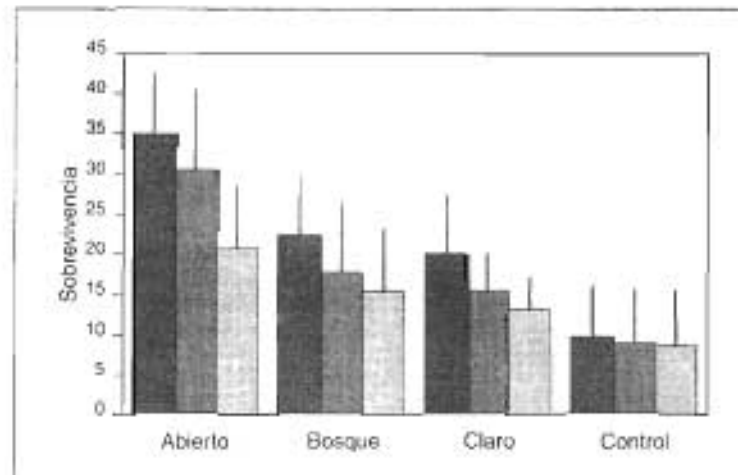


Figura 2. Sobrevivencia de las plántulas de *Wigandia toona*, provenientes de semillas sembradas en un claro de un bosque ubicado en el Parque Ecológico de la Ciudad de México, al Sur de la ciudad de México. Antes de ser sembradas las semillas estuvieron enterradas durante 4 meses en una zona abierta, un claro y en una zona boscosa del mismo parque. Semillas almacenadas en el laboratorio durante el mismo periodo fueron el control. Se muestra la sobrevivencia a los 30 (□), 60 (■) y 90 (■) días después de la siembra.

de enriquecimiento en el laboratorio, sin embargo hasta el momento el uso de ambos tratamientos en la restauración ecológica es un campo inexplorado, a pesar de que sería de gran utilidad.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el financiamiento del proyecto de CONACYT G0011-N9007 y con el apoyo de la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEPE) de la UNAM, a través de una beca de posgrado.

Literatura citada

- Allen P.S. y Meyer S.E. 1998. Ecological aspects of seed dormancy loss. *Seed Science Research* 8:183-191.
- Abarado A.D. y Bradford K.J. 1988. Priming and storage of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. *Seed Science and Technology* 16:601-606.
- Amzallag G.N., Lerner H.R. y Poljakoff-Majcher A. 1990. Induction of increased salt tolerance in *Leguminosae* seeds by NaCl pretreatment. *Journal of Experimental Botany* 41:29-34.
- Archibald D.M. 1995. *Ecology of world vegetation*. Chapman & Hall, London, U.K.
- Argerich C.A., Bradford K.J. y Yanquin A.M. 1989. The effects of priming and aging on resistance to deterioration of tomato seeds. *Journal of Experimental Botany* 40:565-576.
- Ashraf M. y Bray C.M. 1993. DNA synthesis in osmoprimed lentil (*Lathyrus pratense* L.) seeds and evidence for rapid and replication. *Seed Science Research* 3:15-23.
- Barradas V.L. 2000. Modificación del microclima con cactus en la conservación y restauración ecológica. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 65:83-88.
- Baskin C.C. y Baskin J.M. 1998. *Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, New York.
- Bazzaz F.A. 1996. *Plant sex change and evolution*. Cambridge University Press, Great Britain.
- Begon M., J.L. Harper J.L. y Townsend C.R. 1990. *Ecology, individuals, populations and communities*. Blackwell Scientific Publishers, Oxford.
- Blackman S.A., Oberthur R.L. y Leopold A.C. 1992. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds. *Plant Physiology* 100:225-230.
- Blackman S.A., Wetlauffer S.H., Oberthur R.L. y Leopold A.C. 1991. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. *Plant Physiology* 99:85-87.
- Bradford K.J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *HortScience* 21:140.
- Bradford K.J. y Haligh A.M. 1994. Relationships between accumulated hydrothermal time during seed priming and subsequent seed germination rates. *Seed Science Research* 4:15-20.
- Bradford K.J. 1995. Water relations in seed germination. En: Kigel and Galili G. Eds. *Seeds: development and*

- germination. M. Decker Inc., New York, 351-396.
- Bray C.M. 1995. Biochemical process during the osmopriming seeds. En: Kigel J y Galili G. Eds. *Seeds development and germination*. M. Decker Inc., New York, 767-790.
- Bray C.M. 1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds. En: Kigel J y Galili G. (Eds) *Seed development and germination*. Marcel Dekker, Inc., New York, 767-789.
- Brocklehurst P.A., Dearman J. y Drew R.L.K. 1984. Effects of osmotic priming on seedling growth in leek. *Scientia Horticulturae* **24**:201-210.
- Brocklehurst P.A. y Dearman J. 1983. Interactions between seed priming treatments in nine lots of carrots, celery and onion. Laboratory germination. *Annals of Applied Biology* **102**:577-584.
- Bruggink Y. y van der Toorn P. 1995. Induction of desiccation tolerance in germinated seeds. *Seed Science Research* **5**:1-4.
- Caro F.A., Bolari M.C., Pérez-Alfocea F. y Caro M. 1991. Effect of NaCl priming on increase salt tolerance in tomato. *Journal of Horticultural Science* **66**:621-628.
- Casula E., Pérez-Alfocea F., Caro M. y Bolari M.C. 1996. Priming of seeds with NaCl induce physiological changes in tomato plants grown under salt stress. *Physiologia plantarum* **96**:231-236.
- Coobear P. y Grierson D. 1979. Studies on the changes in the major nucleic acid components of tomato seed resulting from osmotic presoaking treatment. *Journal of Experimental Botany* **30**:1153-1162.
- Coobear P., Newell A.J. y Bryant J.A. 1987. An evaluation of the potential of low temperature presoaking treatments of tomato seeds as a means of improving germination performance. *Annals of Applied Biology* **110**:184-194.
- Cruz-García F., Jiménez L.F. y Vazquez-Ramos J.M. 1995. Biochemical and cytological studies in osmoprimed maize seeds. *Seed Science Research* **5**:15-23.
- Chambers J.C. y MacMahon J.A. 1994. A day in the life of a seed: Movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual Review Ecology and Systematics* **25**:263-292.
- Chojnowski M., Carbineau F. y Come D. 1997. Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsequent drying storage and aging. *Seed Science Research* **7**:323-331.
- Christensen M., Meyer S. y Allen P. 1996. A hydrothermal time model of seed after-ripening in *Bromus tectorum* L. *Seed Science Research* **6**:155-163.
- Dahall P., Bradford K.J. y James R. 1990. Effects of priming and endosperm integrity on seed germination rates of tomato genotypes. *Journal of Experimental Botany* **41**:1441-1453.
- Davison P.A. y Bray C.M. 1991. Protein synthesis during osmopriming of leek seeds. *Annals of Botany* **68**:185-193.
- Dearman J., Brocklehurst J.A. y Drew R.L.K. 1987. Effects of osmotic priming and aging on onion seed germination. *Annals of Applied Biology* **111**:712-722.
- Dell'Aquila y Bewley J.D. 1989. Protein synthesis in the axes of polyethylene glycol treated pea seeds and during subsequent germination. *Journal of Experimental Botany* **40**:1001-1007.
- Ellis R.H. y Butcher P.D. 1988. The effects of priming and 'natural' differences in quality amongst onion seeds lots on the response of the rate of germination to temperature and the identification of characteristics under genotypic control. *Journal of Experimental Botany* **39**:935-950.
- Fenner M. 1985. *Seed ecology*. Chapman and Hall, Great Britain.
- Finch-Savage W.E. y McQuistan C.I. 1991. Abscisic acid an agent to advance and synchronise germination for tomato (*Lycopersicon esculentum*, Lill.) seeds. *Seed Science Technology* **19**:537-544.
- Fu J.R., Lu X.H., Chen R.Z., Zhang B.Z., Liu Z.S., Li Z.S. y Cai D.Y. 1988. Osmoconditioning of peanut seeds with PEG to improve vigour and some biochemical activities. *Seed Science and Technology* **16**:197-212.
- Fujikura Y. y Karssen C.M. 1992. Effects of controlled deterioration and osmopriming on protein synthesis of cauliflower seeds during early germination. *Seed Science and Technology* **16**:197-212.
- Fujikura Y., Kraak H.L., Basra A.S. y Karssen C.M. 1993. Hydropriming a simple and inexpensive priming method. *Seed Science and Technology* **21**:639-642.
- Fujikura Y. y Karssen C.M. 1995. Molecular studies on osmoprimed seeds of cauliflower: a partial amino acid sequence of a vigor-related protein and osmopriming-enhanced expression of putative aspartic protease. *Seed Science Research* **5**:177-181.
- Haigh A.H., Barlow E.W., Mitrope E.L. y Sinclair P.J. 1997. Field emergence of tomato, carrot and onion seeds primed in an aerated salt solution. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **111**:660-665.
- Heydecker W., Higgins J. y Gulliver R.L. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* **246**:43-44.
- Heydecker W. y Coobear P. 1977. Seed treatment for improve performance—survey and attempted prognosis. *Seed Science Technology* **5**:353-421.
- Job C., Kerstulec A., Ravasio L., Chareyre S., Pepin R. y Job D. 1997. The solubilization of the basic subunit of sugarbeet seed 11- α globulin during priming and early germination. *Seed Science Research* **7**:225-243.
- Karssen C.M., Haigh, A.H., Van der Toorn P. y Weges R. 1990. Physiological mechanisms involved in seed priming. En: Taylorson R.B. Ed. *Recent advances in the developmental germination of seeds*. Plenum Press, London, New York.
- Kester S.T., Griseve R.L. y Hou R.L. 1997. Priming and accelerated aging affect bisoaspartyl methyltransferase activity in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seed. *Journal of Experimental Botany* **8** (309): 943-949.
- Landa R., Meese J., Carabias J. 1997. Environmental dete-

En: *Handbook of seed biology and biotechnology*, ed. by J. Baskin & I. Baskin, pp. 43-57. CRC Press, Boca Raton.

- floración en maíz México, un examen de la evidencia. *Ecología Aplicada* 7:1:216-229.
- Lanzetta S., Krasik L., De Vos C.H.R. & Bawa R.J. 1993. Effects of osmotic pre-imbibition on various regulatory activities in seeds of pepper (*Capiscum annuum* L.). *Physiology Plantarum* 89: 433-440.
- Lanzetta S., Barrios L., De Vos C.H.R. & Bawa R.J. 1995. Effects of osmotic pre-imbibition on nuclear replication activity in seeds of *Capiscum annuum* L. and tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Seed Science Research* 4:81-87.
- Lepoint G., Hendry G.A.E. & Mc Keevie J.D. 1993. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Science Research* 3:237-246.
- Lepoint G., Hendry G.A.E. & Delton R. 1990. Changes in starch and soluble sugars in relation to the acquisition of desiccation tolerance during maturation of *Bombus terrestris* seeds. *Plant Growth Responses* 13:393-406.
- Lin Y., Bawa R.J., Van der Burg W.J., Gerson, S.P.C. & Hillier J.W.M. 1996. Effects of osmotic priming on dormancy and storability of tomato (*Lycopersicon esculentum* MILL.) seeds. *Seed Science Research* 6: 39-55.
- Menes C., Bawa A.S., Hanson C.M. & van Loon L.C. 1993. The mechanism of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Science Research* 3:237-246.
- Olson J.J., Klumetzziel L., Bartels D., Kucantarek M. & Karssen C.M. 1995. Role of abscisic acid in the induction of desiccation tolerance in developing seeds of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 108:1105-1111.
- Perkins A.P.S. & Eise M.T.S. 1993. Hydration and dehydration treatments on tomato seeds. *Lycopersicon esculentum* MILL.). *Seed Science and Technology* 21:309-317.
- Perez-Alfaro F., Escrib M., Carr M. & Britton M.C. 1993. Response of various cultivars to salinity. *Plant Sci* 100:203-211.
- Perez-Alfaro F., Escrib M., Carr M. & Gurrer G. 1993. Osmotic adjustment in *Lycopersicon esculentum* L. and *L. peruvianum* under NaCl and polyethylene glycol 6000 osmotic stresses. *Physiology Plantarum* 87:493-498.
- Rouse H.R. 1996. Drum priming a non common method of priming seeds. *Seed Science and Technology* 24:291-294.
- Serizawa F., Bawa R.J., Bergerson J.H.W. & Lanzetta S. 1993. Influence of priming induced nuclear replication activity on storability of pepper (*Capiscum annuum* L.) seed. *Seed Science Research* 3:25-29.
- Song W.Q. & Longwell A.C. 1993. Acquisition of desiccation tolerance in sorghum. *Physiology Plantarum* 87:405-409.
- Song W.Q., Keli D.C., & Ong C.H. 1997. Correlation of modified water absorption properties with the decline of storage stability of osmotically-primed seed of *Vigna radiata* L. Wilczek. *Seed Science Research* 7:303-307.
- Song F.J.M. & Chang Y.H. 1993. Biochemical activities associated with priming of maize corn seeds to improve vigor. *Seed Science and Technology* 21:97-103.
- Lotz J. & Ziegler E. 1991. *Plant Physiology*. Cummings Publishing Company, U.S.A.
- Lotze A.M. & Bradford K.J. 1992. Pre-hydration and priming treatment that advances germination also the rate of desiccation of lettuce seeds. *Journal of experimental Botany* 43:249-267-617.
- Kanrar S. A., Sakumoto E.1987. The effects of light, temperature and osmotic stress on the germination of *Phaseolus vulgaris* and *Phaseolus tricolor* seeds. *Seed Science and Technology* 15:103-114.
- Varela-Vayas L. & Bawa A. 1996. Adquisición de tolerancia osmótica durante la germinación endógena y la imbibición de semillas de la Sotobola (*Bombus de México*). *88:73-84*.
- Varela-Vayas C. & Cervantes V. 1993. Estrategias para la conservación de las semillas nativas de México. *Gamify* 26:44-56.
- Vivian J.C.W. & Farrar J.M. 1993. Acquisition and Loss of Desiccation Tolerance For Kigel, J. & Gold, G. Eds, *Seed development and germination*. Marcel Dekker, Inc. New York. 257-272.
- Vantamon I., Turgeon A.J. & Dutch J.M. 1997. Seeding emergence and growth of Solid Matrix Primed Kentucky Bluegrass seeds. *Crop Science* 37:225-228.
- Vantamon I., Turgeon A.J. & Dutch J.M. 1997. Field emergence of solid matrix seed primed Turfgrasses. *Crop Science* 37:229-232.
- Zamora R.L. & Bawa C.M. 1989. Biochemical and physiological changes during osmotic priming and germination of seed seeds. *Plant Physiology* 8:11-16.

EFECTO DEL PRIMING

Efecto de diferentes tratamientos de endurecimiento (*hidropriming* y *osmopriming*) en el comportamiento germinativo de dos poblaciones de semillas de *Buddleja cordata*. Se determinó el efecto de las condiciones ambientales locales durante el desarrollo y sobre la respuesta de las semillas a los tratamientos de endurecimiento en el laboratorio. Artículo publicado en *Seed Science & Technology* 2002 **30** :535-548

González-Zertuche, L., Orozco-Segovia, A., Baskin, C. and Baskin, J.M.
(2002). *Seed Sci. & Technol.* **30**: 535–548

Effects of priming on germination of *Buddleja cordata* ssp. *cordata* (Loganiaceae) seeds and possible ecological significance

L. GONZÁLEZ-ZERTUCHE¹, A. OROZCO-SEGOVIA^{2*}, C. BASKIN^{3,4} AND J.M. BASKIN⁴

¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México

² Instituto de Ecología, UNAM, Apartado Postal 70-273, Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F. México (E-mail: aorozco@miranda.ecologia.unam.mx)

³ School of Biological Sciences, University of Kentucky, Lexington, Kentucky 40506-0225, USA

⁴ Department of Agronomy, University of Kentucky, Lexington, Kentucky 40546-0091, USA

(Accepted November 2001)

Summary

In order to improve seed germination and establishment of wild trees for restoration and reforestation, the effects of priming on seeds from two populations of *Buddleja cordata* were studied. Seeds were hydroprimed or osmoprimed with polyethylene glycol (-0.3 MPa) in a 12 h daily photoperiod at 12°C for 0, 1, 2, 4, 5, or 6 days. Priming treatments reduced germination percentages of seeds incubated in light at 25°C and decreased mean germination time. Rates and synchrony of germination were highest in hydroprimed seeds from Ajusco and in osmoprimed seeds from Pedregal. Primed seeds from the least water-stressed site (Ajusco) germinated to higher percentages than those from the most water-stressed site (Pedregal). Further, osmoprimed seeds from both populations germinated to higher percentages than hydroprimed seeds. Increased synchrony and germination rate were retained in osmoprimed seeds (hydropriming not tested) from both populations when stored dry. Germination percentages of primed seeds decreased and increased during storage, but after 78 wk they were not significantly different from those of recently collected seeds. Nonprimed seeds from Ajusco also showed fluctuation in dormancy, but nonprimed seeds from Pedregal had reduced germination through time. The significance of using primed seeds of *B. cordata* for restoring disturbed lands is discussed.

Introduction

The Valley of Mexico has been widely impacted by urbanization and agriculture (76% of 147, 900 ha) and the few remaining forests and shrublands on volcanic soils are highly disturbed (Flores and Gerez, 1988). Thus, it has been proposed to reforest these areas with some of the few woody species that grow on the lava fields in the southern area of Mexico City. One of the strategies for reforestation programs in Mexico is to use native species (Vázquez-Yanes and Batis, 1996), but very little information is available on seed germination of these plants. There is now some evidence that seed priming treatments, so widely used in agriculture, could be successfully applied to forestry to increase the efficiency of restoration and reforestation programs (González-Zertuche *et al.*, 2000, 2001).

* Author for correspondence

Priming treatments of seeds consist of incubation in water or in osmotic solutions under conditions that prevent germination but permit certain metabolic processes to occur (Bray, 1995). The priming solute and osmotic potential of the incubation solution used to carry out the controlled hydration (water, solutions of polyethylene glycol, or salt solutions such as NaCl), as well as temperature and duration of the treatment, may vary depending on the study (Fujikura *et al.*, 1993; Bray, 1995). Cellular and molecular changes that occur during priming can result in increased seed vigour and more rapid and uniform germination and seedling development (Davison and Bray, 1991; Bray, 1995; Cruz-García *et al.*, 1995; Job *et al.*, 1997). However, most studies of priming have been carried out on seeds of cultivated plants and little is known about the effects of priming on seeds of wild plants. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effectiveness of seed priming as a technique to improve seed germination in a native woody species useful for reforestation and to establish the relation between seed response to priming and seed ecology.

The species chosen for study was *Buddleja cordata* ssp. *cordata*, local name "Tepozán" (hereafter *B. cordata*), which is a tree (about 4-10 m tall) that grows in the Valley of Mexico from 2250-3000 m above sea level (Rzedowski and Rzedowski, 1985). Seedling mortality in this species is very high due to adverse temperature and/or moisture conditions of the shallow soils in which it grows (personal observations). Reforestation efforts make it desirable to find techniques that increase the probability of successful seedling establishment and seed priming may be an effective means of doing this. Thus, the effects of hydropriming and osmopriming on germination of *B. cordata* seeds were determined for two populations of this wild species. Effects of priming were evaluated in terms of germination percentage, germination rate, mean germination time and synchrony of germination. Further, the effects of dry storage on the retention of the benefits of priming on germination were investigated.

Materials and methods

Plant material

Buddleja cordata flowers at the end of summer/early autumn (September, October) and its fruits mature in late autumn (November, December). Seeds are shed during the winter-dry season (January, February, March) (Meave *et al.*, 1994), which is interrupted by some rainy days and seedlings become established during the summer-wet season. The winged and very small seeds ($0.07\text{-}0.05 \times 0.01$ mm, 0.0278 ± 0.0005 SD mg, $n = 5$ replications of 1000 each) are produced in large quantities. They are capable of germinating to high percentages immediately following dissemination, but drought and/or darkness may prevent this from happening. Seeds are positively photoblastic, but they can germinate in far-red light (Vázquez-Yanes and Orozco-Segovia, 1990).

One population of *B. cordata* seeds was collected in the "Parque Ecológico de la Ciudad de México" located on the slope of the Ajusco Volcano at 2600 m above sea level. A second population of seeds was collected in the reserve "Pedregal de San Ángel" located at 2240 m above sea level, at the bottom of the Valley of Mexico. Both locations are in the southern part of Mexico City. At both sites, *B. cordata* was growing in shrubland with shallow soil, but soil depth and forest cover were generally greater at Ajusco than at Pedregal. Seeds were

PRIMING EFFECTS ON BIOTIC SEEDS

collected at both sites during the dispersal season (January-March 1998) and stored in paper bags in the laboratory at 23-25°C and 40-50% relative humidity (RH) for 4 months before experiments were initiated.

Germination experiments and priming treatment

For all germination tests, three replicates of 50 seeds were sown in Petri dishes (10 cm diameter) on the surface of 1% agar in distilled water. Dishes were incubated in light (12 h daily photoperiod, R:FR = 1.7, PFD = 33.2 $\mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) at 25°C in a germination chamber (Biotronette 844, Lab-Line Instruments, Inc, Melrose Park, ILL, USA). Germination was recorded daily during a 3-week period.

For priming, 2 g of seeds from each population were placed in Petri dishes on a nylon mesh circle to avoid deprivation of oxygen and primed with 5 ml of pure water (hydroprimed) or with a 5 ml solution of polyethylene glycol (PEG 8000, Baker, USA) at a water potential of -0.3 MPa (osmoprimed). Seeds were distributed on the nylon mesh and only part of each seed was in contact with water or with the solution. Dishes were placed into two closed plastic bags to avoid loss of water. The osmotic potential of the PEG solution was measured with a Dew Point Microvoltmeter HR-33T-R in a C52 thermocouple psychrometer chamber (Wescor, Inc., Logan, Utah, U.S.A). Preliminary tests showed that compared to seeds primed at -0.3 MPa, those primed at a lower water potential germinated to a lower percentage when subsequently incubated in light at 25°C. Since the objective of the study was to increase germination rate and synchrony and not inhibit germination, -0.3 MPa was chosen as the water potential of the osmopriming solution.

Seeds from each of the two collection sites were hydroprimed or osmoprimed for 0 (nonprimed seeds), 1, 2, 4, 5, or 6 days in light (12 h daily photoperiod, as described above) at 12°C, for a total of 12 treatments (2 treatments \times 6 times) per site. After priming, seeds were washed with tap water for 30 seconds and then air-dried in the laboratory for 1 wk (23-25°C, 40-50% RH), after which they were tested for germination. Additionally, nonprimed seeds and seeds osmoprimed for 4 days were stored in glass vials at the same ambient laboratory conditions for 26 or 52 wk and then tested for germination. Seed hydration/dehydration was determined by weighing five replicates of 1000 seeds each with a electronic balance (GA200D, OHAUS, Co, Florham Park, N.J., USA) before and after imbibition (48 h) and then following 30, 45, 60, 75 and 90 min of drying at 23-25°C and 40-50% RH. Also, germination capacity of nonprimed and osmoprimed seeds was tested after 78 wk of dry storage.

Data analysis

Cumulative arcsine transformed germination percentages were fitted to exponential sigmoid curves $y = a/[1 + b^{-x}]$. Germination rates (percentage of seeds that germinated per day) were calculated from the slope at the inflection point of the exponential sigmoid curves (first derivative maximal). Germination synchrony was calculated from the standard deviation of the gaussian curves described by the first derivative along the exponential sigmoid curves (Zar, 1974; Boas, 1983; Finkelstein and Carson, 1986) (figure 1). Final germination percentage, germination rate, mean germination time and germination synchrony were compared by ANOVA tests and/or by regression analysis. Germination parameters were

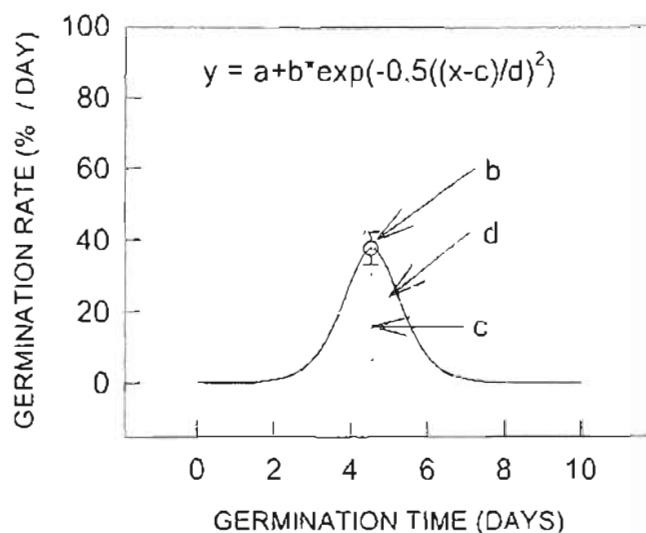


Figure 1. Figure illustrates the first derivative in each point of an exponential sigmoid curve and represents the instantaneous rate in each point (seeds germinated/time). First derivatives were fitted to a gaussian curve. The parameters of this curve were used to calculate: (b) germination rate (maximal derivative) (c) mean germination time (time where the maximal derivative occurs) and (d) germination synchrony (standard deviation of the gaussian curve)

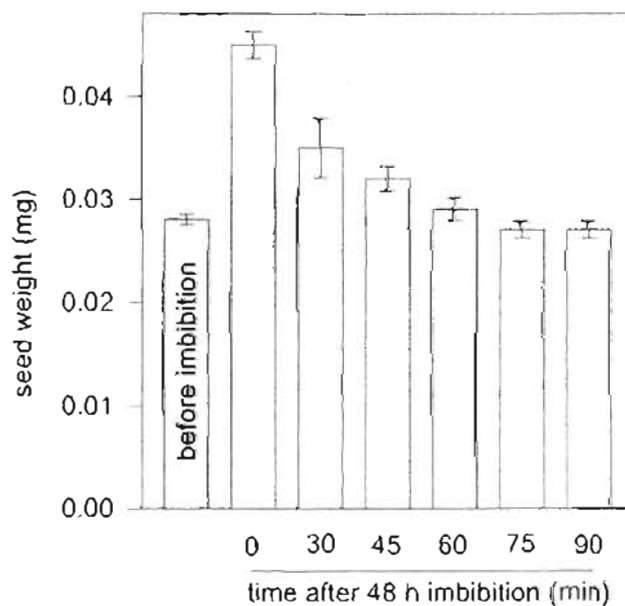


Figure 2. Effect of drying time on weight loss of imbibed seeds of *Buddleja cordata*. Seeds were air-dried at 23-25°C and 40-50% of RH (n = 5 replications of 1000 seeds each). Bars indicate mean \pm standard error.

PRIMING EFFECTS ON *BUMBLEBEE* SEEDS

fitted to power curves to estimate relationship between days of imbibition and the various germination parameters ($y = a + b \cdot [x^c]$). Statistical analysis and curve fitting were conducted with Statgraphics, ver 5.0 (Statistical Graphics Corporation, Englewood Cliffs, New Jersey, USA) and Table Curve 2D, ver 5.0 (2000AISN Software Inc., Chicago, Illinois, USA).

Results

Length of hydropriming and osmopriming treatments

After imbibition ended, seeds dried to their initial weight within 75 min (figure 2). In the Ajusco population the final germination was reduced significantly following 1 and 2 days priming (figure 3A; table 1, 2). Regression analysis of hydroprimed and of osmoprimed seeds from Ajusco showed a positive relationship between treatment time and germination (table 3). In contrast both hydropriming and osmopriming led to a significant reduction in the final germination of Pedregal seeds (figure 3B; table 1, 2) and there were not a significant relationship between treatment time and germination percentage (table 3).

All hydropriming treatments of seeds from Ajusco led to significantly more rapid germination compared to that of nonprimed seeds in the first 4 days of germination (figures 3C, D, table 1, 2). Germination rates increased significantly with days of hydropriming (figure 3C, table 3). However, in osmoprimed seeds germination rate did not increase with days of treatment and it always was lower in primed than in nonprimed seeds (figure 3D, table 3). In contrast, germination rates in the Pedregal seeds were higher for osmoprimed than for hydroprimed seeds (figures 4C, D) and only osmoprimed seeds showed a positive relationship between germination rate and treatment time (table 3).

Mean germination time of hydroprimed and of osmoprimed seeds from the Ajusco population was reduced significantly with an increase in priming time, because lag time also was reduced (figures 3C, D, table 3). Germination synchrony increased as treatment time increased from 1 to 6 days for hydroprimed seeds and from 0 to 6 days for osmoprimed seeds. Hydropriming improved seed germination more than did osmopriming (table 3).

Storage of osmoprimed seeds

After 26 wk of storage, osmoprimed seeds from Ajusco germinated to significantly higher percentages than nonprimed seeds (figures 5A, B). After 52 wk of storage, germination percentages of both osmoprimed and nonprimed seeds from Ajusco were reduced significantly in relation to the initial germination percentage of nonprimed seeds (table 4, figures 5A, B). In Pedregal seeds, germination percentages in nonprimed seeds were reduced significantly with storage time. Germination of osmoprimed seeds stored for 52 wk after priming was significantly lower than that of seeds stored for 1 wk. However, after 78 wk of dry storage, germination percentages of both osmoprimed and nonprimed seeds from Ajusco increased and thus were not significantly different from nonprimed seeds in storage for 1 wk.

Germination rates of nonprimed and of osmoprimed seeds from Ajusco in relation to storage time were not significantly different. However, germination rate of nonprimed seeds generally was significantly lower when germination percentage was lower (figure 5C). Germination rate of primed seeds was significantly higher after 52 wk of storage than

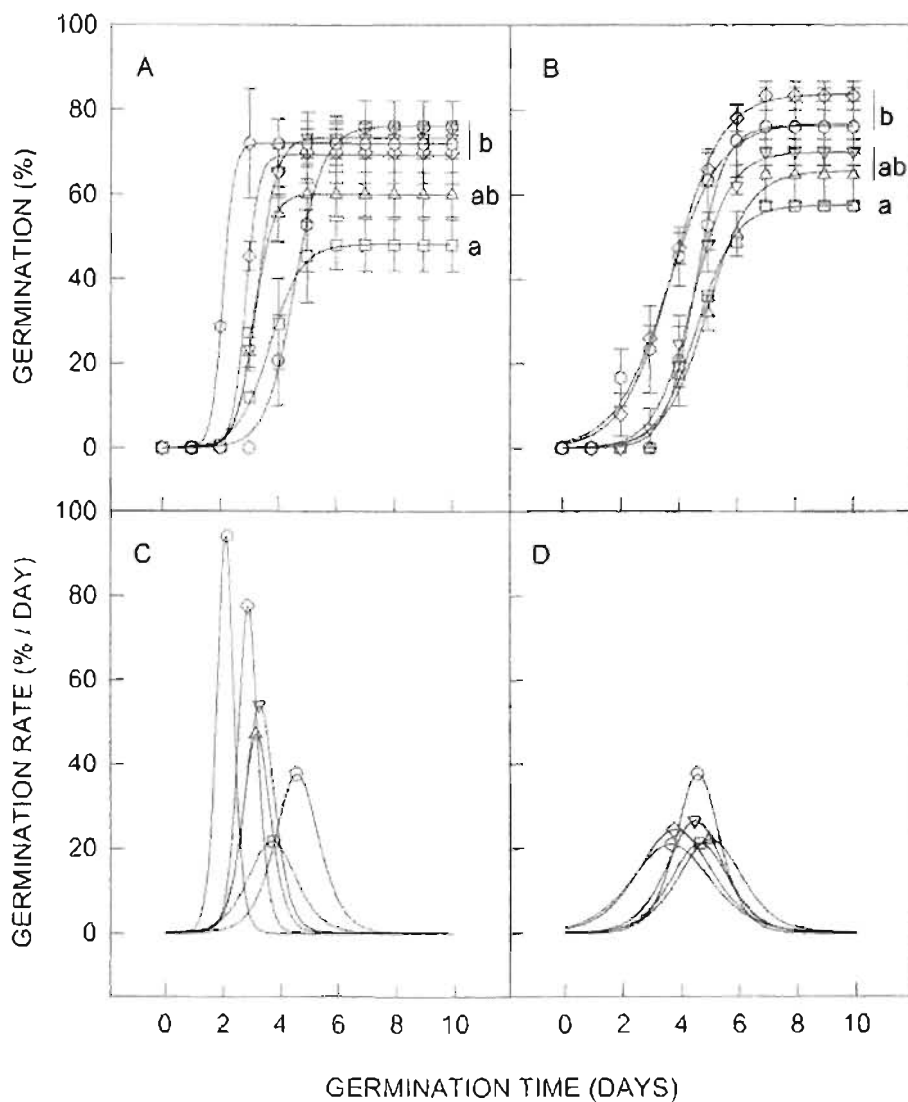


Figure 3. Cumulative germination percentages and germination rates of hydroprimed (A and C) and osmoprimed (B and D) seeds of *Buddleja cordata* from Ajusco. Seeds were treated for 0, nonprimed (○); 1 (□); 2 (△); 4 (▽); 5 (◇); or 6 (⊞) days. Bars indicate mean \pm 1 standard error.

PRIMING EFFECTS ON BIODEGAS SEEDS

Table 1. Parameters of the regression analysis showing the relationship between hydropriming (H) or osmo-priming (O) time and germination parameters (GP) in seed populations (Sp) of *Budleja cordata* from Ajusco (A) and Pedregal (P), germination percentage (G), germination rate (GR), mean germination time (MGT) and germination synchrony (S). T= treatment.

Sp	GP	T	r ²	F	P	Sp	GP	T	r ²	F	P		
A	G	H	0.57	7.9	0.006	*	P	G	H	0.20	1.6	0.2	n.s.
A	G	O	0.44	4.8	0.03	*	P	G	O	0.21	1.67	0.2	n.s.
A	GR	H	0.58	8.39	0.05	*	P	GR	H	0.01	0.9	0.9	n.s.
A	GR	O	0.002	0.01	0.98	n.s.	P	GR	O	0.48	5.6	0.02	*
A	MGT	H	0.73	19.9	0.001	*	P	MGT	H	0.41	5.3	0.02	*
A	MGT	O	0.47	6.6	0.001	*	P	MGT	O	0.67	10.54	0.002	*
A	S	H	0.70	14.0	0.0001	*	P	S	H	0.02	0.17	0.8	n.s.
A	S	O	0.44	5.96	0.01	*	P	S	O	0.13	2.57	0.12	n.s.

Table 2. Comparison of seed germination parameters (GP) between seed populations (Sp) of *Budleja cordata* from Ajusco and from Pedregal by analysis of variance: seed germination percentage (G); seed germination rate (GR); source of variation (SV); priming treatment (Pt): nonprimed, hydroprimed, or osmo-primed in PEG solution at an osmotic potential of -0.3 MPa; priming time (It): 0, 1, 2, 4, 5, or 6 days; and degrees of freedom (d.f.). Seeds were primed in light at 12°C in aerated conditions, stored dry for 1 wk, at ambient conditions and then tested for germination in light at 25°C.

GP	SV	d.f.	F	P	GP	SV	d.f.	F	P		
G	Sp	1	2.19	0.15	n.s.	GR	Sp	1	3.9	0.05	n.s.
	Pt	1	5.4	0.02	*		Pt	1	6.63	0.01	*
	It	5	14.7	0.001	*		It	5	7.63	0.001	*
	Sp/Pt	1	0.33	0.06	n.s.		Sp/Pt	1	29.4	0.001	*
	Sp/It	5	6.73	0.001	*		Sp/It	5	0.6	0.74	n.s.
	Pt/It	5	0.39	0.92	n.s.		Pt/It	5	3.65	0.007	*
	Sp/Pt/It	5	1.26	0.29	n.s.		Sp/Pt/It	5	5.71	0.001	*
	Total	71				Total	71				

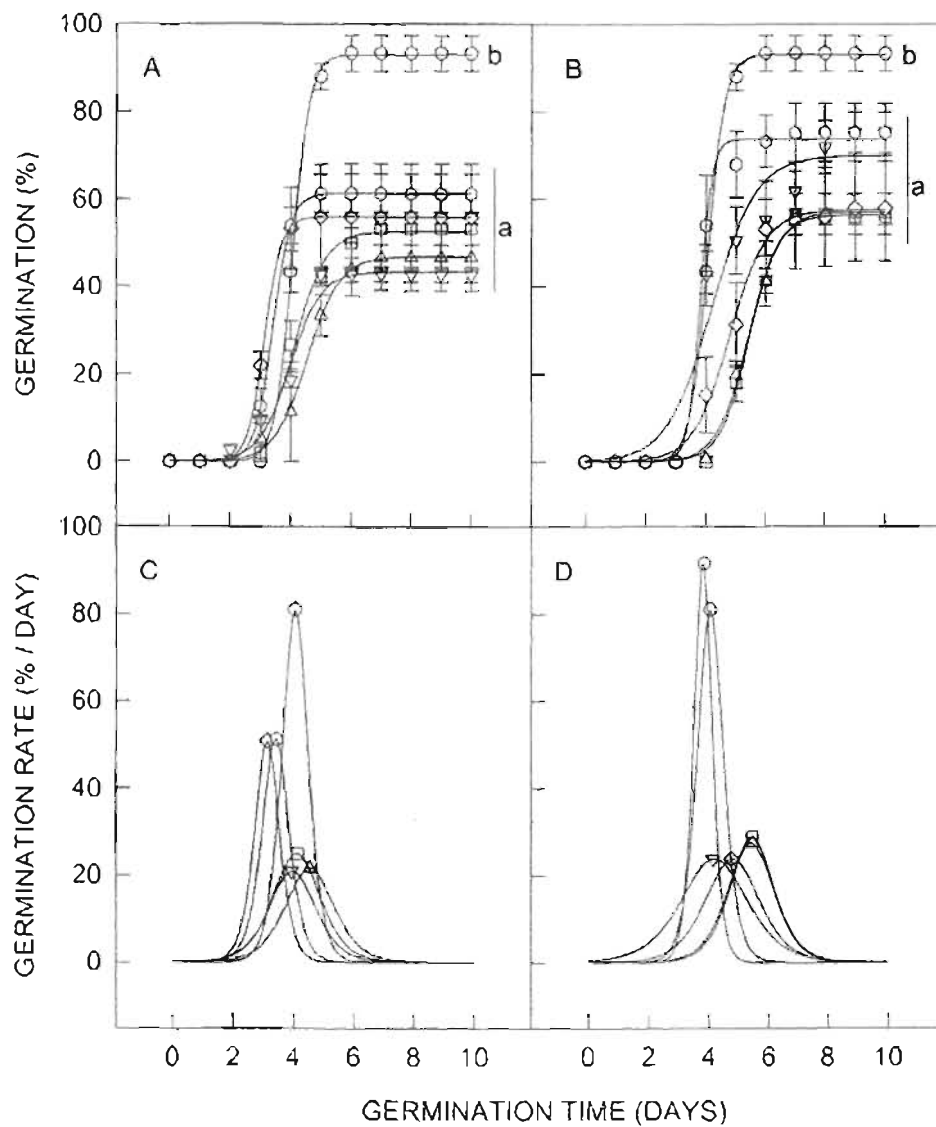


Figure 4. Cumulative germination percentages and germination rates of hydroprimed (A and C) and osmoprimed (B and D) seeds of *Buddleja coriata* from Pedregal. Seeds were treated for 0, nonprimed (○); 1 (□); 2 (△); 4 (▽); 5 (◇); or 6 (◊) days. Bars indicate mean \pm 1 standard error.

542

PRIMING EFFECTS ON *Buddleja cordata*

Table 3. Comparison of seed germination parameters (GP) within seed populations (Sp) of *Buddleja cordata* from Ajusco (A) and from Pedregal (P) by analysis of variance: seed germination percentage (G); seed germination rate (GR); source of variation (SV); priming treatment [treatment priming] (Pt): nonprimed, hydroprimed, or osmoprimed in a PEG solution at an osmotic potential of -0.3 MPa; priming time (It): 0, 1, 2, 4, 5, or 6 days; and degrees of freedom (d.f.). Seeds were primed in light at 12°C in aerated conditions, stored dry for 1 wk at ambient conditions and tested for germination in light at 25°C.

Sp	GP	SV	d.f.	F	P		Sp	GP	SV	d.f.	F	P	
A	G	Pt	1	1.88	0.18	n.s.	P	G	Pt	1	3.54	0.07	n.s.
			5	5.16	0.002	*				5	14.5	0.001	*
			5	0.56	0.66	n.s.				5	0.96	0.57	n.s.
	Total	35			Total	35							
A	GR	Pt	1	35.66	0.001	*	P	GR	Pt	1	3.69	0.07	n.s.
			5	4.84	0.01	*				5	4.32	0.046	*
			5	5.43	0.002	*				5	4.07	0.006	*
	Total	35			Total	35							

it was after 1 wk of storage (figure 5D). In contrast, germination rates of nonprimed and of osmoprimed seeds from Pedregal in relation to storage time were significantly different (figures 6C, D, table 4). Germination rates followed the same pattern as germination percentages with an increase in time of storage. In nonprimed and in osmoprimed seeds, the multiple range test showed that germination rates were significantly higher at the beginning of the experiment than after 52 wk of storage.

Mean germination time of nonprimed and of osmoprimed seeds from both Ajusco and Pedregal differed significantly in relation to storage time. Mean germination time 1 wk after osmopriming was always significantly lower than for any other storage time. Lag time increased sharply with storage time in osmoprimed seeds but not in nonprimed seeds (figures 5C, D, table 4).

Synchrony of germination of nonprimed and of osmoprimed seeds from Ajusco in relation to storage time did not differ significantly. Nevertheless, germination synchrony in nonprimed seeds was significantly greater after 1 wk of storage than after 26 wk of storage (figure 5C, table 4). In osmoprimed seeds, germination was significantly more synchronous after 52 than after 1 or 26 wk of storage (figure 5D, table 4). Synchrony of germination of nonprimed and of osmoprimed seeds from Pedregal in relation to storage time differed significantly. The multiple range test showed that nonprimed seeds from Pedregal followed the same pattern of germination synchrony as those from Ajusco. However, synchrony of osmoprimed Pedregal seeds was least after 52 wk of storage and greatest after 1 wk of storage (figures 6C, D, table 4).

Discussion

The two priming treatments reduced germination percentages and decreased mean germination time in seeds from both populations of *Buddleja cordata*. However, important differences in responses of seeds to each priming treatment were found between the two

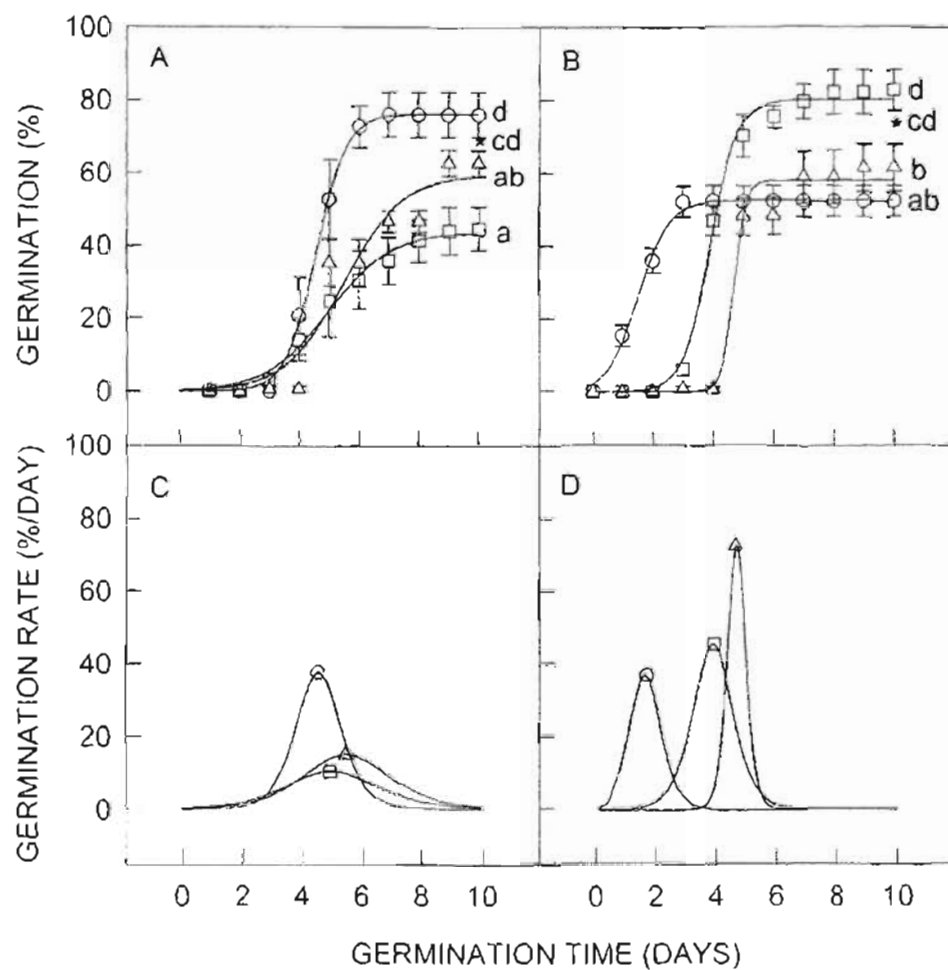


Figure 5. Cumulative germination percentages (A and B) and germination rates (C and D) of nonprimed (A and C) and osmoprimed (B and D) seeds of *Buddleja cordata* from Ajusco tested for germination after 1 wk (○), 26 wk (□), or 51 wk (△) of storage following priming. Germination capacity tested after 78 wk (*). Seeds were stored in the laboratory at 23–25°C and 40–50% RH. Bars indicate mean \pm 1 standard error.

Table 4. Comparison of seed germination parameters (G) within seed populations of *Buddleja cordata* (Sp) from Ajusco (A) and Pedregal (P) by analysis of variance: seed germination percentage (G); germination rate (GR); mean germination time (MGT); and germination synchrony (S); source of variation (SV); priming treatment (Pr), nonprimed or osmoprimed; storage time (St): 1, 26, or 52 wk of dry storage; and degrees of freedom (d.f.). Seeds were primed for 4 days in light at 12°C in well aerated conditions and tested for germination in light at 25°C.

Sp	GP	SV	d.f.	F	P		Sp	GP	SV	d.f.	F	P	
A	G	Pr	1	3.22	0.09	n.s.	P	G	Pr	1	16.11	0.001	*
			3	3.05	0.06	n.s.				3	10.3	0.001	*
			3	14.65	0.001	*				3	5.5	0.009	*
		Total	23		Total	23							
A	GR	Pr	1	1.23	0.29	n.s.	P	GR	Pr	1	1.89	0.19	n.s.
			2	6.9	0.01	*				2	7.64	0.01	*
			2	2.2	0.15	n.s.				2	9.87	0.003	*
		Total	17		Total	17							
A	MGT	Pr	1	41.77	0.001	*	P	MGT	Pr	1	2.9	0.11	n.s.
			2	33.67	0.001	*				2	87.67	0.001	*
			2	26.53	0.001	*				2	14.66	0.001	*
		Total	17		Total	17							
A	S	Pr	1	2.81	0.13	n.s.	P	S	Pr	1	0.46	0.52	n.s.
			2	19.08	0.001	*				2	3.23	0.08	n.s.
			2	3.74	0.06	n.s.				2	10.71	0.002	*
		Total	17		Total	17							

populations that could be related to different environmental conditions in their respective habitats. Seeds from Ajusco were more responsive to hydropriming than to osmopriming, as has been reported for *Brassica oleracea* (Fujikura *et al.*, 1993; Fujikura and Karssen, 1992, 1995) and those from Pedregal were more responsive to osmopriming than to hydropriming. Due to greater soil depth, forest cover and occurrence of dew and fog at Ajusco (2600 m above sea level) than at Pedregal (2240 m above sea level), plants growing at this site are exposed to higher soil moisture and air RH during the early rainy season than are those at Pedregal (Rzedowski, 1994). Thus, moisture stress during germination probably would be greater at Pedregal than at Ajusco.

In the Valley of Mexico, rains are irregular at the beginning of the rainy season. Consequently, these intermittent rains may effectively act as a priming treatment on the seeds, thus inducing rapid germination after the soil becomes continuously moist, as occurs in *Wigandia urens* seeds during the time they are in the soil (González-Zertuche *et al.*, 2001). In nature, variation of soil osmotic potential due to differences in soil depth and irregular distribution of early precipitation could cause variation in timing of germination in seeds of both populations.

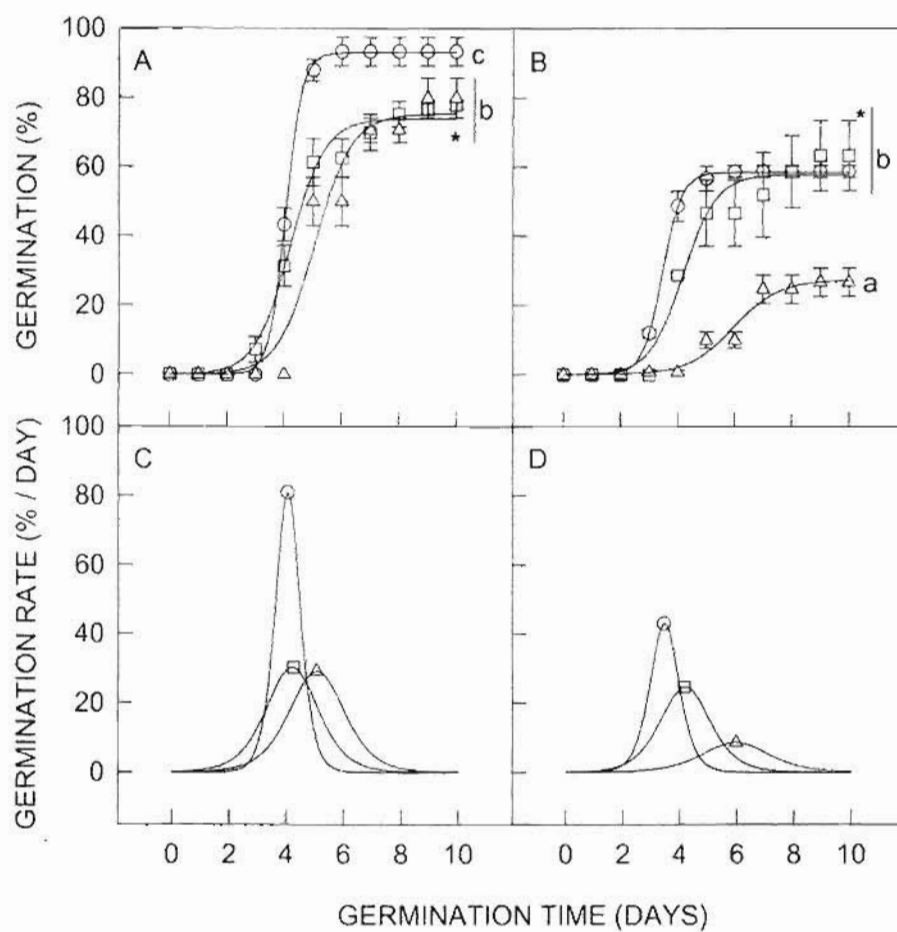


Figure 6. Cumulative germination percentages (A and B) and germination rates (C and D) of nonprimed (A and C) and osmoprimed (B and D) seeds of *Buddleja cordata* from Pedregal tested for germination after 1 wk (O), 26 wk (□), or 52 wk (Δ) of storage following priming. Germination capacity tested after 78 wk (*). Seeds were stored in the laboratory at 23-25°C and 40-50% relative humidity. Bars indicate mean ± 1 standard error.

Hydropriming was more effective in increasing germination rates and in decreasing mean germination times and lag times of Ajusco seeds, while osmopriming was more effective for Pedregal seeds. Rapid germination at the beginning of the rainy season is necessary for establishment of this species, since seedlings must develop a deep root system in about 4 mo in order to reach water stored in the crevices of the volcanic rock (unpublished data). The quickness and synchrony of germination induced by priming of *B. cordata* seeds are important responses that could favor establishment of seedlings in a sharply seasonal area (e.g., Baskin and Baskin, 1982).

For the Mediterranean area, it has been proposed that the syndrome for slow germination has evolved because synchronous germination after the first rains could be a survival risk for the cohort of seedlings (Thanos *et al.*, 1995). However, slow germination in nonprimed seeds could increase the chance that seeds become primed in the soil after the first rains and then germinate synchronously when the rainy season is established in sharply seasonal areas.

Priming treatments induced germination inhibition and during storage germination percentages increased or decreased, depending on the population. However, after 78 weeks both populations showed higher germination percentages. These data suggest that (1) osmopriming induced a portion of the seeds into dormancy, (2) these dormant seeds afterripened, (3) nondormant seeds re-entered dormancy, and (4) seeds that re-entered dormancy afterripened again. Therefore, initial decrease in germination of primed seeds from both populations were due to entrance of the seeds into dormancy and not to loss of viability. The fact that nonprimed seeds from Ajusco also showed fluctuation in dormancy during storage demonstrated that priming did not affect the ability of seeds to undergo change in dormancy that could be inherent in the species. However, primed seeds from Pedregal recovered almost all of their initial germination capacity after 78 wk, whereas nonprimed seeds did not. Secondary dormancy induced by priming previously has not reported; however, several reports about secondary dormancy induced by burial could be related to this phenomenon (Karssen 1980a, b).

It is important to emphasize that the benefits of priming were not expressed in all parameters of *B. cordata* germination. However, the combined changes in primed seeds from the two populations of *B. cordata* could increase the possibility of germination and establishment of seedlings at the respective population sites, making the priming treatments a technique potentially useful to increase reforestation and restoration success proposed by González-Zertuche *et al.* (2000). Results obtained with both *B. cordata* populations emphasize the necessity to exercise caution in selecting a seed stocktype for reforestation and restoration. The stocktype could have a profound impact on stand establishment, due to each seed population having a particular performance in relation to its environment of development (Hobbs, 1984).

Acknowledgements

We thank M. Sc. María Esther Sánchez Coronado and M. Sc. Mariana Rojas Aréchiga for assistance. This research was funded by the National Council of Science and Technology of Mexico (CONACYT): Research Grant Ref. G0011-N9607.

References

- Baskin, J.M. and Baskin, C.C. (1982). Effects of wetting and drying cycles on the germination of seeds of *Cyperus inflexus*. *Ecology*, **63**, 248–252.
- Blas, M.L. (1983). *Mathematical methods in the physical sciences*. John Wiley & Sons, New York. 793 pp.
- Bray, C.M. (1995). Biochemical processes during the osmo-priming of seeds. In *Seed development and germination* (eds Kigel, J. and Galili, G.), pp. 767–789. Marcel Dekker, New York.
- Cruz-García, F., Jiménez, L.F. and Vázquez-Ramos, J.M. (1995). Biochemical and cytological studies in osmo-primed maize seeds. *Seed Science Research*, **5**, 15–23.
- Davison, P.A. and Bray, C.M. (1991). Protein synthesis during osmo-priming of Irish *Adiantum patrum* L. seeds. *Seed Science Research*, **1**, 29–35.
- Finkelstein, L. and Carson, E.R. (1986). *Mathematical modeling of dynamic biological systems*. Research Studies Press, LTD, New York. 355 pp.
- Flores, O. and Gerez, P. (1988). *Conservación en México: síntesis sobre vertebrados terrestres, vegetación y uso del suelo*. Instituto de Investigaciones Sobre Recursos Bióticos, Veracruz, México. 302 pp.
- Fujikura, Y. and Karssen, C.M. (1992). Effects of controlled deterioration and osmo-priming on protein synthesis of cauliflower seeds during early germination. *Seed Science Research*, **2**, 23–31.
- Fujikura, Y. and C.M. Karssen. (1995). Molecular studies on osmo-primed seeds of cauliflower: a partial amino acid sequence of a vigor-related protein and osmo-priming-enhanced expression of putative aspartic protease. *Seed Science Research*, **5**, 177–181.
- Fujikura, Y., Krsak, H.L., Bora, A.S. and Karssen, C.M. (1993). Hydropriming, a simple and inexpensive priming method. *Seed Science and Technology*, **21**, 639–642.
- González-Zertuche, L., Ortizo-Segovia, A. and Vázquez-Yanes, C. (2000). El ambiente de la semilla en el suelo: su efecto en la germinación y en la sobrevivencia de la plántula. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, **65**, 73–81.
- González-Zertuche, L., Vázquez-Yanes, C., Gumbao, A., Sánchez-Cototado, M.E., Aguilera, P. and Ortizo-Segovia, A. (2001). Natural priming of *Wigandia urens* seeds during burial: Effects on germination, growth and protein expression. *Seed Science Research*, **11**, 27–34.
- Hobbs, S.D. (1984). The influence of species and stocktype selection on stand establishment: an ecophysiological perspective. In *Seedling physiology and reforestation success* (eds M. Duryea and G.N. Brown), pp. 177–224. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Job, C., Kersulec, A., Ravasio, L., Chareyre, S., Pepin, P. and Job, D. (1997). The solubilization of the basic subunit of sugarbeet seed II-s globulin during priming and early germination. *Seed Science Research*, **7**, 225–243.
- Karssen, C.M. (1980a). Environmental conditions and endogenous mechanisms involved in secondary dormancy of seeds. *Israel Journal of Botany*, **29**, 45–64.
- Karssen, C.M. (1980b). Patterns of changes in dormancy during burial of seeds in soil. *Israel Journal of Botany*, **29**, 65–73.
- Mcave, J., Carabias, J., Arriaga, V. and Valiente-Banuet, A. (1994). Observaciones fenológicas en el Pedregal de San Ángel. In *Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. Ecología Historia Natural y Manejo* (ed. Rojo, A.), pp. 91–106. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Rzedowski, J. (1994). Vegetación del Pedregal de San Ángel. In *Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. Ecología Historia Natural y Manejo* (ed. Rojo, A.), pp. 9–65. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Rzedowski, J. and Rzedowski, G.C. (1985). *Flora Fanerogámica del Valle de México*, Vol. II. Dicotiledoneae. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, D.F. 674 pp.
- Thamm, C.A., Kalis, C.C. and Skarou, E. (1995). Ecophysiology of germination in the aromatic plants thyme, saw-ory and reiganar (Labiatae). *Seed Science Research*, **5**, 161–170.
- Vázquez-Yanes, C. and Ortizo-Segovia, A. (1990). Ecological significance of light controlled seed germination in two contrasting tropical habitats. *Oecologia*, **83**, 171–175.
- Vázquez-Yanes, C. and Baris, A. (1996). Adopción de árboles nativos valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, **58**, 73–84.
- Zar, J.H. (1974). *Biostatistical analysis*, Prentice Hall, London. 718 pp.

ENDURECIMIENTO NATURAL

Efecto del endurecimiento natural (durante la permanencia en el suelo) en la germinación, emergencia, crecimiento y expresión de proteínas en semillas de *Wigandia urens*. Se estableció que el endurecimiento natural tiene efectos similares al endurecimiento en el laboratorio. Se incluyen resultados sobre la sobrevivencia en la casa de sombra. Artículo publicado en: *Seed Science Research* 2001 **11** :27-34

Natural priming of *Wigandia urens* seeds during burial: effects on germination, growth and protein expression

Lourdes González-Zertuche¹, Carlos Vázquez-Yanes² (in memoriam), Alicia Gamboa², M. Esther Sánchez-Coronado², Patricia Aguilera² and Alma Orozco-Segovia^{2*}

¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, UNAM, ²Instituto de Ecología, UNAM, Apartado Postal 70-275, Ciudad Universitaria, 04510 México, D. F. México

Abstract

To determine whether seeds of the weedy shrub *Wigandia urens*, from the Valley of Mexico, undergo natural priming when buried in soil, comparative experiments were performed with seeds: (1) harvested directly from the plants; (2) buried in three natural habitat conditions; and (3) laboratory primed with polyethylene glycol. Seeds were sown in a growth chamber and in a shade house. Final germination percentages, emergence, germination and emergence rates, survival and initial growth were determined. Burial and priming enhanced the germination and emergence parameters evaluated in the laboratory and in the shade house. Effects of treatments on survival were not significantly different. Nevertheless, burial improved emergence and mean survival, and induced differences in specific leaf area of seedlings that could have ecological significance. Heat-stable proteins were extracted and electrophoresed. Proteins formed in *W. urens* seeds during burial had molecular weights (14–21 kDa) similar to those reported for late embryogenesis abundant (LEA) proteins induced by priming in other species. Nevertheless, the presence and abundance of proteins expressed (14–23, 36 and more than 45 kDa) differed among control, primed and buried seeds. During soil burial, molecular and physiological responses were induced that were similar to the effects of priming.

Keywords: germination, heat-stable proteins, LEA proteins, priming, seed burial, seedling emergence, *Wigandia urens*

Introduction

The longevity and the changes in the physiology of seeds remaining in the soil seed bank have been studied in many different plant communities (Fenner, 1985; Priestley, 1986; Baskin and Baskin, 1998). Seed burial can improve the chances of establishment through the development or breaking of specific types of dormancy (Baskin and Baskin, 1998). However, very little is known about the possible effect of burial as a natural priming treatment to enhance germination, seedling establishment and growth, in a manner similar to priming-enhanced performance of celery, leek and tomato, among others (Bray, 1995; Job *et al.*, 1997; Allen and Meyer, 1998).

Priming consists of a regulated hydration, in water or osmotic solutions, that permits the improvement of some metabolic processes but prevents germination. Advantages obtained during priming are retained after seed dehydration. These benefits include increased seed vigour with rapid and uniform germination and seedling development (Bray, 1995). These traits have been related to cellular and molecular changes that take place during priming (Davison and Bray, 1991; Bray, 1995; García *et al.*, 1995; Job *et al.*, 1997). The ecological significance of priming and evolutionary origin of these traits remain to be studied.

In the soil seed bank, seeds endure a variable environment. Temperature, water potential, oxygen and other soil factors vary widely during a day, among days and over a year. This variation induces changes in physiology, allowing the seeds to respond to conditions favourable for germination and growth (Allen and Meyer, 1998). Recently, the role of hydrothermal time in seed dormancy loss and improvement of non-dormant seed germination has been stressed (Bradford, 1995; Allen and Meyer, 1998).

Since several soil environmental factors are also involved in laboratory priming treatments, we hypothesized that priming exists in nature and

*Correspondence
Tel: 0229 6 22 90 08
Fax: 0229 6 16 19 76 and 6 22 89 95
Email: amrosc@miranda.ecologia.unam.mx

increases the chances of successful seedling establishment from the soil seed bank of different plant communities. Laboratory priming treatments would imitate natural seasonal changes that take place in the soil, and the physiological processes inducing priming would constitute an acclimation mechanism of the plants to their environment. Therefore, we performed experiments in a shade house and under laboratory controlled conditions that included burial of *Wigandia toona* seeds in the soil and laboratory priming, seed germination, seedling survival and growth, and changes in heat-stable protein content were measured.

Materials and methods

Plant material

The species utilized was *Wigandia toona* (Ruiz & Pavón) HBK (*Hedydyphyllaceae*), a common weedy shrub widely distributed in Mexico, primarily in areas over 1000 m above sea level. It grows in old lava fields, road slopes and many types of dry and disturbed environments. This species flowers and sets fruit during winter, sheds seeds during the dry season in spring and becomes established during the summer wet season. Seeds may lie in the soil for a few months before germination occurs. The seeds are very small (seed weight 0.0016 ± 0.0002 g), their moisture content is $6.4 \pm 0.3\%$ after shedding, and they are produced in large quantities. Most seeds (around 70%) of the population are germinable after dissemination, are indifferent to light and germinate at a wide range of temperatures in the laboratory ($12\text{--}33^\circ\text{C}$; Reyes-Ortega, personal communication).

The study area was located in the Parque Ecológico de la Ciudad de México, situated on the slope of the Ajusco Volcano at 2600 m above sea level (southern part of México City). The vegetation of the area is a disturbed oak forest on soil of volcanic origin. Seeds for all the laboratory and field treatments were collected during the natural shedding season in April 1998. Seeds were mixed and stored in paper bags in the laboratory at $23\text{--}25^\circ\text{C}$ and 40–50% RH.

Burial and priming treatments

Two-gram seed samples were enclosed in nylon mesh bags and buried under 3 cm of soil during the dry season (May 1998) at three different sites of the study area: an open place, in the forest and in a forest gap. Five replicates of 50 seeds were buried in each place in order to detect germination during burial. All temperatures were recorded over 3 weeks (Table 1) with HOBO Temp data loggers (HO1-01-01, Onset

Table 1. Soil temperatures ($^\circ\text{C} \pm \text{SE}$) at 3 cm depth at the three burial sites

	Open	Forest	Forest gap
Mean	18.8 ± 3.7	14.7 ± 2.4	15.6 ± 3.0
Minimum	5.6	10.9	11.3
Mean maximum	12.7 ± 0.3	12.3 ± 0.8	13.1 ± 0.7
Maximum	11.9	17.8	21.0
Mean maximum	20.4 ± 1.7	18.0 ± 0.7	21.8 ± 1.1

Temperatures were measured at 10-minute intervals over 30 days.

Company Corporation, Focasset, Massachusetts, USA). Four months later, the mesh bags were exhumed and air-dried at room temperature ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). During the burial time (May–August 1998), there were two rain showers separated by 12 days. This year was atypical because of the occurrence of the phenomenon of 'El Niño'. The rainy season occurred later than in other years, and the beginning was random. No *in situ* germination occurred during the burial period.

The rest of the original seed sample was used for laboratory priming treatments. Seeds were primed in a solution (–0.3 MPa) of polyethylene glycol (PEG 5000, Baker, USA) for: (1) 4 days at 12°C and 12 h light/12 h darkness; (2) 21 days at 5°C and 12 h light/day; and (3) 21 days at 5°C in darkness in germination chambers (Biotronette 844, Lab-Line instruments, Inc, Melrose Park, Illinois, USA). Seeds were primed in Petri dishes on a nylon mesh circle to avoid oxygen deprivation. The last two priming treatments were carried out to extend the priming period, since seeds can remain inhibited for a long time in the soil before germination. After treatment the seeds were washed with water for 30 seconds and air-dried for a week at $23 \pm 2^\circ\text{C}$ and 40–50% RH. The osmotic potential of the PEG solutions was measured with a Dew Point Microvolt meter HR-33T-R in a model C52 thermocouple psychrometer chamber (Wescor, Inc., Logan, Utah, USA).

Germination, emergence, survival and plant growth analyses

Three replicates of 50 seeds each from the burial sites, the primed treatment at 12°C , and unprimed controls were sown in Petri dishes on the surface of 1% agar in distilled water. Dishes were placed in an incubator at 25°C , and germination was recorded during a 2-week period.

Three replicates of 50 seeds each from the above treatments were also sown directly on sterilized soil in trays ($10 \times 10 \times 5$ cm) placed in a shade house at

the University in Mexico City. Mean, maximum and minimum temperatures at the shade house were 18.5, 37.6, 10.52°C, respectively. Trays were watered daily, and seedling emergence was recorded over a 15-day period.

In the shade house, survival of all the seedlings that emerged was recorded for 7 weeks. After this time, at least nine seedlings from each treatment were harvested and separated into roots, stems and leaves; roots were washed with tap water. The leaf area was measured with an area meter (LI 3000 A, LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA), and dry weight was obtained after drying at 70°C for 48 h and weighing samples with an electronic balance (GA 200D, OHAUS Co., Florham Park, New Jersey, USA). Total dry weight (TDW), specific leaf area (SLA, leaf area per leaf weight, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$), and root to shoot ratio (RS, root weight per shoot weight) were determined (Hunt, 1982).

Germination and emergence were not evaluated with the seeds primed at 5°C because seed samples were insufficient.

Extraction of proteins

Heat-stable proteins were extracted from controls, buried seeds in the forest gap, and the three priming treatments. Protein extracts were obtained only from seeds buried in the forest gap due to insufficient seed samples. Heat-stable protein extraction was performed using a modified technique of Blackman *et al.* (1991). Seeds (100 mg) were frozen with liquid nitrogen and stored at -80°C until extraction. Soluble proteins were extracted from seeds ground in a mortar with liquid nitrogen and a buffer containing 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 10 mM MgCl₂, and 1 mM phenyl methyl sulphate fluoride. The crude homogenate was centrifuged at 13,000 g for 30 min, after which the supernatant was incubated for 10 min at 80°C. The supernatant of the sample primed at 12°C was incubated at 100°C. Proteins were precipitated by centrifugation at 10,000 g for 30 min, and heat-stable proteins were quantified in the supernatant fraction with the Coomassie Plus Protein Assay Reagent (Pierce), using bovine albumin as a standard. Protein samples, each of 50 µg, were loaded onto 12.5% gels for SDS-PAGE, electrophoresed at 20 mA for 2 h in a Mighty Small Hoefer electrophoresis unit at 25 ± 3°C, and stained with Coomassie Blue.

Data analysis

Cumulative germination percentages and seedling emergence data were fitted to exponential sigmoid curves of the equation, $y = a/[1 + b^{-x}]$. The germination and seedling emergence rates were

calculated from the slope at the inflection point of the exponential sigmoid curves (first derivative maxima) (Boas, 1983; Finkelstein and Carson, 1986). Final germination and first derivative maxima were compared by ANOVA. Survival was fitted to exponential curves. Final survival and survival rates were calculated from the first derivative maxima of the exponential curves ($y = a + b^{(x-c)}$). Means of total dry weight, specific leaf area and root to shoot ratio were compared by ANOVA. Percentages were arcsine transformed before analysis. Statistical analysis was conducted with Statgraphics, version 5.0 (Statistical Graphics Corporation, Englewood Cliffs, New Jersey, USA) and Table Curve 2D, version 3.0 (AISN Software, Inc., Chicago, Illinois, USA).

Results

Seeds of *W. urens* did not germinate during the burial period. Germination of seeds incubated in the growth chamber showed significant differences among treatments ($F_{(4, 14)} = 53.5$, $P = 0.0001$). Buried seeds germinated to significantly higher percentages than control and PEG-treated seeds (4 d at 12°C, 12 h light/day), and control seeds germinated significantly higher than PEG-treated seeds (Fig. 1A). Buried seeds from the open and forest gap germinated more uniformly, and the germination rate was higher than those for primed and control seeds (Fig. 1B). Only the germination rate for seeds buried in the forest gap was significantly higher than that for primed seeds ($F_{(4, 14)} = 4.1$, $P = 0.032$). The germination rate of primed seeds did not differ from that of the control seeds.

In the shade house final emergence was significantly different among treatments ($F_{(4, 14)} = 4.5$, $P = 0.025$). The multiple range test indicated that percentage emergence was significantly higher in the buried seeds than in controls. Primed seeds had an intermediate emergence between both groups (Fig. 2A). Emergence uniformity also had significant differences among treatments ($F_{(4, 14)} = 5.1$, $P = 0.02$). The multiple range test indicated that the emergence rate in the samples previously buried in the open, in the forest, and laboratory-primed seeds was significantly higher than for the controls. The emergence rate in the sample buried in the forest gap was significantly higher than in the other treatments (Fig. 2B). There were no significant differences in the survival rates of seedlings after 7 weeks ($F_{(4, 14)} = 0.52$, $P = 0.72$ and $F_{(4, 14)} = 1.9$, $P = 0.18$, respectively) (Fig. 3).

Total seedling biomass was not significantly different among treatments ($F_{(4, 53)} = 2.3$, $P = 0.07$; Fig. 4A). There were significant differences in specific leaf area among treatments (Fig. 4B). The seedlings grown from seeds buried in the open had a significantly

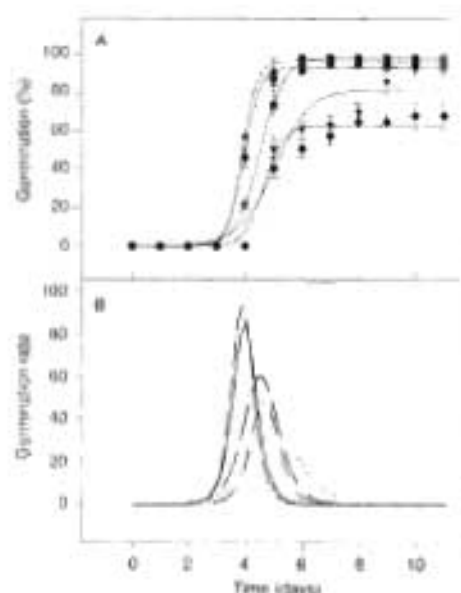


Figure 1. (A) Cumulative germination of seeds sown on $-\frac{1}{2}$ Petri dishes placed in a germination chamber at 25°C. Before sowing, the seeds were buried in an open place (●), in the forest (▲), in the forest gap (■), or primed (◆). Control seeds (▼). Data were fitted to exponential sigmoid curves. Bars indicate standard errors. (B) Seed germination rates calculated from the first derivative of the exponential sigmoid curves fitted to cumulative germination of seeds buried in an open place (—), in the forest (---), in the forest gap (---), or primed (---). Control seeds (---).

lower specific leaf area than the other treatments ($F_{4, 75} = 3.6$, $P = 0.01$). Only the seedlings from seeds buried in the forest had a significantly higher root to shoot ratio ($F_{4, 75} = 4.8$, $P = 0.002$; Fig. 4C).

Electrophoresis of extracts incubated at 80°C showed that at least four heat-soluble proteins were formed during seed burial. Most of them were not present in control and primed seeds, or they were less abundant. The molecular mass of these proteins was between 14 and 23 kDa. Extracts from the two samples of seeds primed for 15 d at 5°C contained more proteins than those primed for only 4 d at 12°C. Nevertheless, in extracts from primed seeds, high molecular weight proteins (more than 45 kDa) were detected. These proteins were absent, or were less abundant, in buried and control seeds (Fig. 5A). Priming carried out at 5°C with 12 h light each day elicited two high molecular weight proteins that were less abundant in primed seeds at the same temperature and darkness. Electrophoresis of buried

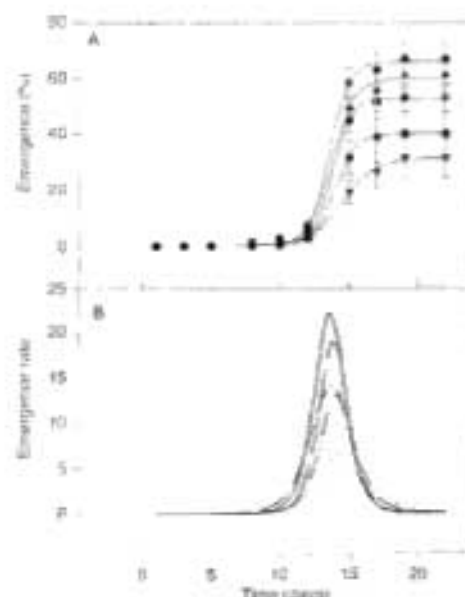


Figure 2. (A) Cumulative seedling emergence in trays placed in the shade house. Before sowing, the seeds were buried in an open place (●), in the forest (▲), in the forest gap (■), or primed (◆). Control seeds (▼). Data were fitted to exponential sigmoid curves. Bars indicate standard errors. (B) Emergence rates were calculated from the first derivative of the exponential sigmoid curves fitted to cumulative seedling emergence of the samples previously buried in an open place (—), in the forest (---), in the forest gap (---), or primed (---). Control seeds (---).

and primed seed extracts incubated at 100°C showed higher abundance of one protein around 23 kDa compared to extracts from control seeds. Buried seed extracts also contained a protein around 21 kDa. In control and primed seeds proteins of 36 kDa were formed; they were less abundant in buried seeds. Low molecular weight proteins (14 kDa) were also more conspicuous in buried seeds than in others (in a similar way to the samples incubated at 80°C) (Fig. 5B). Identification of some of these proteins is in progress.

Discussion

Burial enhanced final germination and favoured uniform and rapid germination of *W. ovata* seeds in a similar manner as priming treatments in other species (Reas 1995). However, there were differences when primed or buried seeds were incubated in

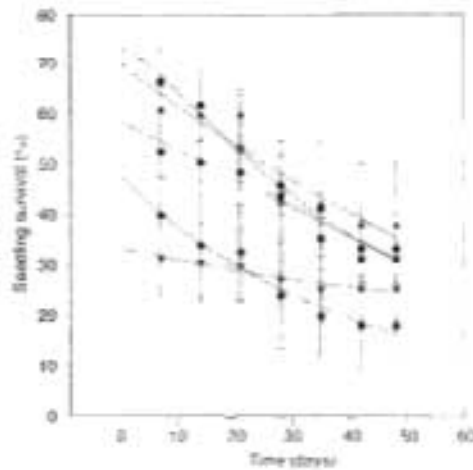


Figure 3. Survival of seedlings grown in trays placed in the shade house. Before sowing, the seeds were buried in an open place (●), in the forest gap (■), in the forest gap (▲), or primed (▼). Control seeds (▼).

germination chambers or in the shade house. The germination chamber was a homogeneous, safe site for all the seven seeds. They remained just on the surface of the agar and were exposed to constant moisture and temperature (25°C). In contrast, the shade house was not a safe site because these small seeds could easily reach different depths in the soil during irrigation. They were also exposed to temperature and moisture fluctuations each day. These environmental differences were reflected in the results obtained. In the germination chamber, priming inhibited seed germination, probably inducing secondary dormancy, and germination rate was not significantly enhanced. In contrast, in the shade house final emergence, synchrony and emergence rate were improved by priming. In other species the potential advantages of priming are also expressed under unfavourable conditions because seed vigour is crucial for emergence in these conditions (Ellis and Baskin, 1988; Zheng *et al.*, 1994; Sun *et al.*, 1997; Yamamoto *et al.*, 1997a).

In the shade house burial also induced significantly higher emergence than in control and primed seeds. Furthermore, the macroenvironmental differences among the three sites of burial induced differences in seed responses that were not detected in the laboratory. Seeds buried in the open and in the forest showed higher germination rates than control

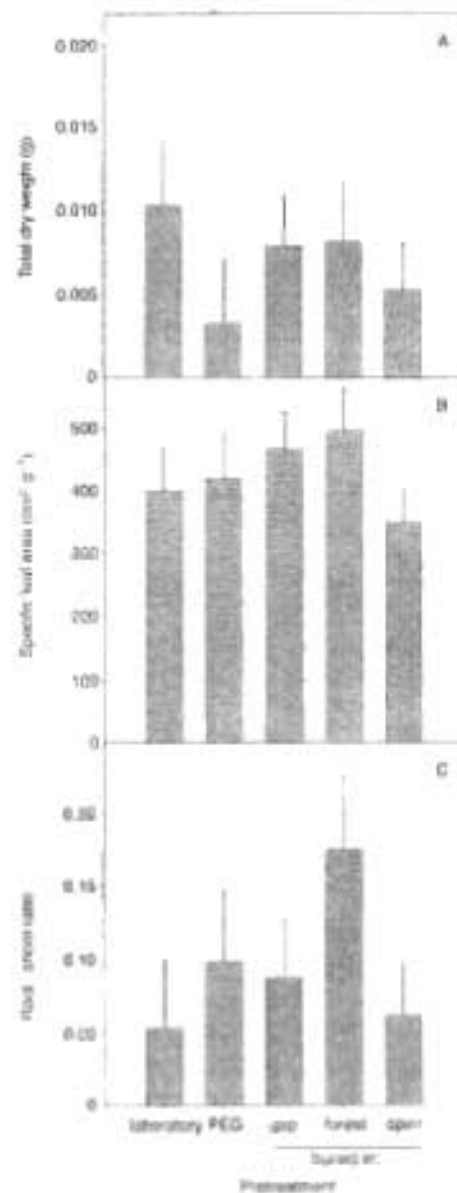


Figure 4. (A) Total dry mass, (B) specific leaf area, and (C) root:shoot ratio of seedlings coming from primed seeds and grown in trays placed in the shade house. Bars indicate standard errors.

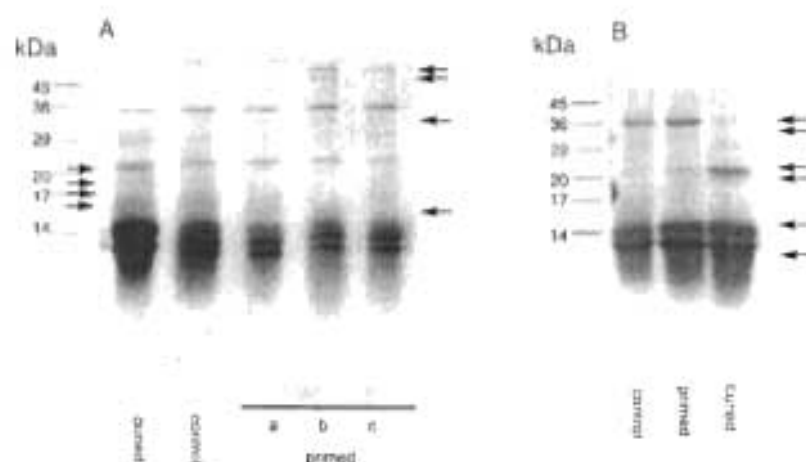


Figure 3. (A) SDS-PAGE analysis of heat-stable proteins incubated at 80°C from buried, control and primed seeds (primed in PEG solution for 4 d in the light and 12°C (a), primed for 15 d at 5°C, in the light (b), and in darkness (c)). Molecular masses of standard proteins are indicated. Arrows indicate positions of migration of heat-stable proteins present in buried seeds. (B) SDS-PAGE analysis of heat-stable proteins incubated at 100°C from control, primed in the light at 12°C, or buried seeds.

and primed seeds. Seeds buried in the open site endured stressful environmental conditions due to wide temperature and moisture fluctuations, while seeds buried in the forest withstood relatively lower temperatures and higher and more constant soil moisture. These results emphasize the role of the field environment experienced by seeds; the hydrothermal time endured by seeds induces complete germination and improves seedling success (Finch-Savage and Phelps, 1993; Bradford, 1995; Christensen *et al.*, 1996; Allen and Meyer, 1998).

Seedling survival rates did not differ among treatments, because of the wide variation among replicates. However, mean survival was highest in seedlings from buried seeds because emergence was highest, and this could be an important advantage to successful seedling recruitment, as occurs in priming (Zheng *et al.*, 1994; Yamamoto *et al.*, 1997a, b).

Most of the growth parameters evaluated did not show consistent effects due to treatments. However, the seedlings from buried seeds in the open place had a significantly lower specific leaf area than the seedlings from the buried seeds in the forest. This could indicate acclimation during burial, to an open environment and to shade forest environment, respectively, more than to the shade house conditions. In a similar way, Bazzaz (1996) suggested that rhizomes could be acclimated in the soil and

acclimation increases with time of burial. Therefore, rhizomes have relatively higher phenotypic plasticity than individuals derived from seeds that had not previously experienced the soil environment. However, it is difficult to evaluate physiological and morphological acclimation at the early stages of development (Cayuela *et al.*, 1996; Yamamoto *et al.*, 1997b).

Burial and priming induced the synthesis of proteins that were not detected in control seeds, or increased protein concentration. This suggests that both treatments induced a similar response, but buried seeds showed a higher number of proteins. Temperature, light conditions and/or PEG priming duration altered the polypeptides that were expressed, as reported for other species (Davison and Bray, 1991). Therefore, several soil factors may determine the protein expression of the buried seeds in the forest gap. However, we could not analyze protein expression of buried seeds in the open and in the forest due to an insufficient seed sample. Nevertheless, protein patterns indicated that there is intense protein synthesis of seeds in the soil that may be associated with improved germination and emergence of buried seeds in comparison with primed and control seeds.

In the patterns of protein synthesis, two heat-stable proteins formed in buried seeds are of

particular interest. The molecular masses of these were between 34 and 23 kDa, similar to those reported for LEA proteins of other species, and to those reported in seedlings pretreated with abscisic acid (ABA) and PEG (Bruggink and van der Toorn, 1995). LEA proteins may confer increased desiccation tolerance to germinating seeds (Blackman *et al.*, 1991). In this experiment seeds were buried for a relatively prolonged time, and they probably endured fluctuations of concentrations of oxygen, temperature and soil water potential. All these factors not only play an important role during laboratory priming treatments, but they are also meaningful in determining the fraction of the seed population that will remain dormant (Bradford, 1990, 1996; Christensen *et al.*, 1996; Özbüyük *et al.*, 1996). In the soil, some of these factors, or their additive effects, inhibited germination of *W. urens* seeds, which were able to germinate immediately after exhumation.

During burial in the soil, seeds of *W. urens* may also be exposed to stratification conditions. Changes that occur during stratification have been related mainly to changes in seed sensitivity to gibberellins and changes in ABA content (Lilhorst, 1995), instead of changes in DNA, RNA or protein expression that occur during priming. However, fresh dormant seeds of tomato primed at 20°C required gibberellic acid (GA) to initiate DNA replication (Liu *et al.*, 1996). In a similar way, alternate soil wetting and drying periods can induce the germination of numerous species (Baskin and Baskin, 1998), and may represent a priming treatment. Apparently, similar or complementary events are occurring during priming and stratification (in laboratory or soil). Therefore, seed burial itself could be a successful pretreatment for seedling recruitment.

The physiological variables evaluated in this study indicated that priming and burial induced changes that were primarily expressed in a heterogeneous environment. The microenvironment of the burial site induced differences in seed responses. To understand the ecological meaning of these contrasting constraints on seed germination of *W. urens*, it will be necessary to carry out more field experiments and to study the role of hydrothermal time under controlled simulated natural conditions. Preliminary data from studies with this species indicate that the maternal environment and the burial site of seeds are crucial for successful seedling establishment.

During burial of *W. urens*, not only the partial dormancy in the population was overcome by seed exposure to soil factors (moisture and temperature), but also heat-soluble proteins were synthesized, as occurs during priming. Priming effects could be an expression of processes that evolve in the soil seed bank. The permanence of seeds buried in the soil is crucial, not only as a pool of germplasm, but also to

break dormancy and to prepare seeds for a rapid, uniform and successful colonization.

Acknowledgements

We thank Dr V.L. Berrués-Miranda and Dr P. Huante for critical review of the manuscript and technical support during the soil temperature measurements and Dr C.C. Baskin and Dr J.M. Baskin for helpful discussions. This research was funded by the National Council of Science and Technology of Mexico (CONACyT), Research Grant Ref. G0011-N9607.

References

- Allen, E.S. and Meyer, S.E. (1990) Ecological aspects of seed dormancy loss. *Seed Science Research*, **8**, 181-191.
- Baskin, C.C. and Baskin, J.M. (1998) *Seed Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego: Academic Press.
- Bazzaz, F.A. (1996) *Flora in changing environments: Linking physiological, population, and community ecology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Blackman, S.A., Wettlaufer, S.H., Obendorf, R.L. and Leopold, A.C. (1991) Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. *Plant Physiology*, **96**, 868-874.
- Beal, M.L. (1983) *Mathematical methods in the physical sciences* (2nd edition). New York: John Wiley & Sons.
- Bradford, K.J. (1990) A water relations analysis of seed germination rates. *Plant Physiology*, **94**, 840-849.
- Bradford, K. (1995) Water relations in seed germination. pp. 251-296 in Kigel, J., Galili, G. (Eds) *Seed development and germination*. New York: Marcel Dekker.
- Bradford, K.J. (1996) Population-based models describing seed dormancy behaviour: implications for experimental design and interpretation. pp. 313-339 in Long, G.A. (Ed.) *Plant dormancy: Physiology, biochemistry and molecular biology*. Wallingford, CAB International.
- Bray, C.M. (1993) Biochemical processes during the imbibition of seeds. pp. 767-789 in Kigel, J., Galili, G. (Eds) *Seed development and germination*. New York: Marcel Dekker.
- Bruggink, T. and van der Toorn, B. (1995) Induction of desiccation tolerance in germinated seeds. *Seed Science Research*, **5**, 1-4.
- Cayula, E., Pérez-Alfonso, E., Cano, M. and Bulant, M.C. (1996) Priming of seeds with NaCl induces physiological changes in tomato plants grown under salt stress. *Physiologia Plantarum*, **96**, 211-216.
- Christensen, M., Meyer, S.E. and Allen, E.S. (1996) A hydrothermal time model of seed after-ripening in *Brassica hirsuta* L. *Seed Science Research*, **6**, 335-343.
- Davies, P.A. and Bray, C.M. (1991) Protein synthesis during imbibition of jack-o-lantern (*Cucurbita*) seeds. *Seed Science Research*, **1**, 29-35.
- Ellis, R.H. and Batchelor, P.D. (1989) The effects of priming and 'natural' differences in quality amongst onion seed

- lots on the response of the rate of germination to temperature and the identification of the characteristics under genotypic control. *Journal of Experimental Botany* **39**, 935-950.
- Jeffer, M. (1985) *Seed ecology*. London, Chapman and Hall.
- Finch-Savage, W.E. and Phelps, K. (1993) Onion (*Allium cepa* L.) seedling emergence patterns can be explained by the influence of soil temperature and water potential on seed germination. *Journal of Experimental Botany* **44**, 407-414.
- Finkelstein, L. and Carson, E.R. (1980) *Mathematical modeling of dynamic biological systems* (2nd edition). New York, Research Studies Press.
- García, F.C., Jiménez, L.F. and Vázquez-Ramos, J.M. (1995) Biochemical and cytological studies on osmo-primed maize seeds. *Seed Science Research* **5**, 15-23.
- Hilhorst, H.W.M. (1995) A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research* **5**, 61-73.
- Hunt, R. (1982) *Plant growth curves: The functional approach to plant growth analysis*. London, Edward Arnold.
- Jub, C., Keryulec, A., Ravasin, L., Chazeyre, S., Pepin, B. and Job, D. (1997) The solubilization of the basic subunit of sugarbeet seed 11S globulin during priming and early germination. *Seed Science Research* **7**, 225-243.
- Liu, Y.Q., Binn, R.J., van der Burg, W.J., Groot, S.P.C. and Hilhorst, H.W.M. (1996) Effects of osmotic priming on dormancy and stability of tomato (*Lycopersicon-esculentum* Mill.) seeds. *Seed Science Research* **6**, 49-55.
- Drbiński, N., Corbinneau, F. and Clime, D. (1999) Response of tomato seeds to osmoconditioning as related to temperature and oxygen. *Seed Science Research* **9**, 377-384.
- Pringle, D.A. (1986) *Seed aging: Implications for seed storage and persistence in the soil*. Ithaca, NY, Cornell University Press.
- Sun, W.Q., Koh, D.C.Y. and Ong, C.M. (1997) Correlation of modified water sorption properties with the decline of storage stability of osmotically-primed seeds of *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Seed Science Research* **7**, 291-297.
- Yamamoto, I., Turgenev, A.J. and Duich, J. M. (1997a) Field emergence of solid matrix seed-primed watergrass. *Crop Science* **37**, 220-225.
- Yamamoto, I., Turgenev, A.J. and Duich, J. M. (1997b) Seedling emergence and growth of solid matrix primed Kentucky bluegrass seed. *Crop Science* **37**, 221-226.
- Zheng, G.H., Wilson, R.W., Stinkard, A.E. and Costa, L.V. (1994) Enhancement of citrus seed germination and seedling emergence at low temperature by priming. *Crop Science* **34**, 1569-1573.

Received 3 June 1999

accepted after revision 22 October 2000

© CAB International, 2001

GERMINACIÓN

Comportamiento germinativo de dos poblaciones de semillas de *Buddleja cordata* y *Wigandia urens* con *osmopriming* y endurecimiento natural

Lourdes González-Zertuche y Alma Orozco Segovia

Resumen

Con el fin de estudiar la relación entre la variación de las condiciones microambientales (durante el desarrollo de la semilla, la permanencia de la semilla en el suelo y la germinación) y el comportamiento germinativo, se colectaron semillas de *Buddleja cordata* y de *Wigandia urens* de dos localidades del sur de la Ciudad de México con diferente altitud (2240 y 2400 m.s.n.m.). Las semillas de cada población se

enterraron en tres sitios de cada localidad durante cuatro meses. Las semillas exhumadas y deshidratadas de las ambas especies, se sembraron e incubaron a temperatura constante (25°C) y alternante (20-35°C). Los resultados se compararon con un lote control de semillas almacenado en el laboratorio y con un lote de semillas con *osmopriming*.

La variación en las condiciones ambientales durante el desarrollo, *osmopriming* o enterramiento y durante la germinación, modificaron el comportamiento germinativo. En los lotes control de *B. cordata*, las semillas de las poblaciones que provenían de la localidad con estrés hídrico (Pedregal) presentaron una capacidad germinativa mayor que aquellas que provenían de la localidad con menor estrés hídrico (Ajusco) y en *W. urens* ocurrió lo contrario.

El *osmopriming* mejoró el vigor de las semillas de *B. cordata*, pero en *W. urens* lo redujo, sobre todo en temperatura alternante. En ambos regímenes temperaturas, el endurecimiento natural, aumentó la capacidad y la tasa germinativa y mejoró la sincronía. Las condiciones que optimizaron la germinación de *B. cordata* fue el enterramiento en el mismo sitio de origen de la población. En *W. urens* la optimización ocurrió en ambos sitios de enterramiento.

El microambiente durante el enterramiento y la germinación tiene un papel importante en la aclimatización y por lo tanto en el éxito del establecimiento de la plántula. El endurecimiento natural mejora el desempeño de las semillas de *B. cordata* y *W. urens* por lo que el enterramiento podría ser un pre-tratamiento con posibilidades de aplicación en los programas de reforestación y restauración.

Palabras claves: *Buddleja cordata*, Endurecimiento natural, Enterramiento de semillas, Germinación de semillas, *Osmopriming*, *Wigandia urens*.

Introducción

Los proyectos de restauración se basan en los principios de la dinámica de comunidades (composición de especies e interacción entre ellas), por lo que en función de las condiciones ambientales una de las primeras decisiones que se toman es la elección de especies que formarán la nueva comunidad. Por lo tanto, se necesita información sobre el papel que juegan las especies en la modificación del ambiente, sobre su fisiología y su propagación en áreas perturbadas (Bazzaz 1996, Vázquez-Yanes 1999). Una de las alternativas para la propagación de las plantas es a través de semillas, por lo que los estudios sobre el comportamiento germinativo de especies útiles para la restauración de zonas perturbadas son de gran relevancia (Vázquez-Yanes y Batis 1996, Cervantes *et al.* 2001).

En los últimos años se le ha dado gran relevancia al cuidado que se debe tener al seleccionar la población de semillas con que se va a reforestar o restaurar un área (González Zertuche *et al.* 2002) ya que una adecuada selección podría tener un gran impacto en el establecimiento (Hobbs 1984), debido a que la variación en las condiciones ambientales durante el desarrollo de la semilla tiene un efecto en su comportamiento germinativo y en el desempeño de la plántula (Guterman 1993).

La selección de las semillas también ha sido un punto crucial para la agricultura, por lo que además de la selección de la población o variedad, se han desarrollado técnicas para mejorar el vigor de las semillas y aumentar las probabilidades de éxito en el establecimiento de la plántula (Davison and Bray 1991, Bray 1995, Job *et al.* 1997). Una de las técnicas más exitosas ha sido el endurecimiento (*priming, hardening*), que consiste en hidratar en forma regulada a las semillas de manera que se lleven a cabo una gran variedad de procesos bioquímicos y metabólicos propios de las primeras dos fases de la imbibición, sin llegar a la tercera, donde ocurre la elongación de la radícula,

es decir, la germinación (Taylorson 1990, Bray 1995). La permanencia en la segunda fase se logra mediante el uso de soluciones osmóticas o reduciendo la energía libre del agua mediante temperaturas bajas (Bradford y Haigh 1994). Los cambios en el vigor de la semilla inducidos por el endurecimiento pueden estar en función de la procedencia de las semillas, dando como resultado que diferentes poblaciones expresen diferentes respuestas fisiológicas debidas a un mismo tratamiento de endurecimiento (Gonzalez-Zertuche *et al.* 2002).

Existen evidencias de que durante la permanencia de la semilla en el banco de semillas, la variación de los factores ambientales no sólo inducen cambios metabólicos que rompen la latencia primaria o inducen latencia secundaria (Baskin y Baskin 1998, Allen y Meyer 1998), sino que la variación en el estado de hidratación del suelo también produce cambios bioquímicos y fisiológicos similares a los producidos por el endurecimiento (González-Zertuche *et al.* 2001).

En este trabajo se propone comparar en el laboratorio el efecto del endurecimiento con una solución osmótica y del endurecimiento natural en la respuesta germinativa de dos poblaciones de dos especies potencialmente útiles para la restauración. Para ello se seleccionaron dos poblaciones de *Buddleja cordata* y dos poblaciones de *Wigandia urens*, especies nativas del Valle de México.

Método

Las especies estudiadas son *Buddleja cordata* ssp *cordata* Kunth (Loganiaceae) un árbol (4-10 m de altura) cuyo nombre común es 'tepozán' y *Wigandia urens* (Ruiz & Pavón) Kunth (Hydrophyllaceae), una planta arbustiva (1-8 m de altura) de nombre común 'Tabaquillo'; estas especies son características de zonas perturbadas del Valle de México. Las semillas se colectaron en dos localidades ubicadas en el sureste de la Ciudad de México. El *Parque Ecológico de la Ciudad de México* (2600 m s.n.m), donde hay matorral xerófilo, bosques de pino, pino-

encino y encino, con un alto grado de perturbación (Rzedowski y Rzedowski 1995, González-Hidalgo *et al.* 2001) y *Reserva del Pedregal de San Ángel* (2240 m snm) donde hay matorral xerófilo (Cano y Meave 2002). La colecta de semillas de *B. cordata* (B) y *W. urens* (W) se realizó durante la época de dispersión de cada especie (febrero-marzo y marzo-abril de 1998, respectivamente) en dos localidades el *Parque Ecológico de la Ciudad de México* (Ajusco, A) y en la *Reserva del Pedregal de San Ángel* (Pedregal, P) Las semillas de cada población (BA, BP, WA y WP) se secaron durante 48 h a la sombra, se limpiaron y posteriormente se almacenaron en bolsas de papel en el laboratorio (25°C y 50% HR).

Cada población de semillas de ambas especies se separó en tres lotes: el primer lote se mantuvo en el laboratorio, el segundo recibió tratamiento de *osmoprimering*, las semillas se embebieron en una solución de polietilenglicol (PEG 8000, Baker, USA), con un potencial osmótico de -0.3 Mp, durante cuatro días en una temperatura constante de 12°C y un fotoperiodo de 12 h; por último, el tercer lote se dividió en seis submuestras, cada una de las cuales se empacó en bolsas de tela nylon y se enterró en tres sitios del Pedregal y del Ajusco: una zona abierta, un claro en la vegetación y en una zona sombreada por árboles. En el mes de agosto, las semillas enterradas se exhumaron, se secaron en un cuarto oscuro ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) y se sembraron, al mismo tiempo que el lote control (almacenado en el laboratorio) y el lote con tratamiento de *osmoprimering*.

Las semillas se sembraron en cajas de Petri sobre la superficie de una placa de agar al 1%. Las cajas de Petri se incubaron en cámaras de germinación (*Biotrenette 844*, Lab Line Instruments Inc., Melrose Park, Illinois, USA) en temperatura constante (25°C) o en temperatura alternante (20-35°C) con un fotoperiodo de 12 h.

Análisis de resultados

Los datos de germinación se registraron diariamente durante 2 semanas. Se calcularon los siguientes parámetros de germinación: capacidad germinativa (cg: *máximo número de semillas germinadas*), sincronía de la germinación (sg: *intervalo de tiempo en el que germinaron*), tasa máxima de germinación (tmg), tiempo promedio de germinación (tpg: *día en que se alcanza la máxima tasa de germinación*), tiempo para el inicio de la germinación (tig: *tiempo que se requiere para que las semillas empiecen a germinar o lagtime*).

Para obtener los parámetros de la germinación se realizó el siguiente procedimiento: los datos de germinación acumulada se normalizaron con una función arcoseno y se ajustaron a una función sigmoide exponencial $y = a / (1 + b * (\exp(-cx)))$. Para obtener la tasa máxima de germinación se calculó la primera derivada máxima (corresponde a la pendiente de la tangente en el punto de inflexión de la curva). Además, se calculó la primera derivada para cada punto de la curva y estos datos se ajustaron a una función gaussiana $y = a + b * (\exp(0.5 * ((x-c)/d)^2))$ para obtener el tiempo promedio de germinación (c) y la sincronía de la germinación (d) (González-Zertuche *et al.* 2002). Para comparar las diferencias entre los parámetros estimados para cada tratamiento se realizaron pruebas de ANDEVA. Para realizar los ajustes de las curvas se utilizó el programa *Table Curve 2D, V. 3 AISN. Software, Inc.* y para efectuar las pruebas de ANDEVA se utilizó el programa *Statgraphics, V. 5 Graphic Software Systems, Inc.*

Resultados

Comportamiento germinativo de B. cordata.

Las semillas de las dos poblaciones de *B. cordata* incubadas a temperaturas constantes (Fig. 1) o temperaturas alternantes (Fig. 2), con tratamientos de *osmoprining* (Os) o previamente

enterradas y exhumadas (EN) en dos localidades diferentes, mostraron diferencias significativas en su respuesta germinativa. En temperatura constante (25°C) la capacidad germinativa (Cg) y la tasa germinativa (tg) del lote control de *B. cordata* del Pedregal (BP) fueron mayores que en *B. cordata* del Ajusco (BA) (Figs. 1A y 1D). Con el *osmoprining*, la Cg y tg de BA aumentó y la de BP disminuyó con respecto al control (Figs. 1A y 1D). El enterramiento, tanto en el Ajusco (Fig. 1B) como en el Pedregal (Fig. 1C), aumento la CG y Tg de BA. Sin embargo en BP solo cuando se entierran en el Pedregal (Fig. 1F) mejora la Cg y la sincronía.

En temperatura alternante (20-35°C) las semillas del lote control de BP tuvieron una Cg mayor que la de BA (Figs. 2 A y D). Con *osmoprining*, la Cg y la tg de BA aumentaron con respecto al lote control, sin embargo en BP no hay diferencias significativas (Figs. 2 A y D). Las semillas de las dos poblaciones de *B. cordata* enterradas en el Ajusco (Figs. 2 B y C) y en el Pedregal aumentaron su Cg con respecto a las tratadas por *osmoprining* y al lote control (Figs. 2 C y F). A 20-35°C, el lote control y las semillas tratadas con *osmoprining* de BA tienen una Cg, tg y sincronía menor que cuando se incuban a 25°C (Figs. 1 y 2 A y D). Las semillas de *B. cordata* no presentaron diferencias significativas en los parámetros de germinación, en ninguna de temperaturas (Figs. 1 y 2 B, E, C y F).

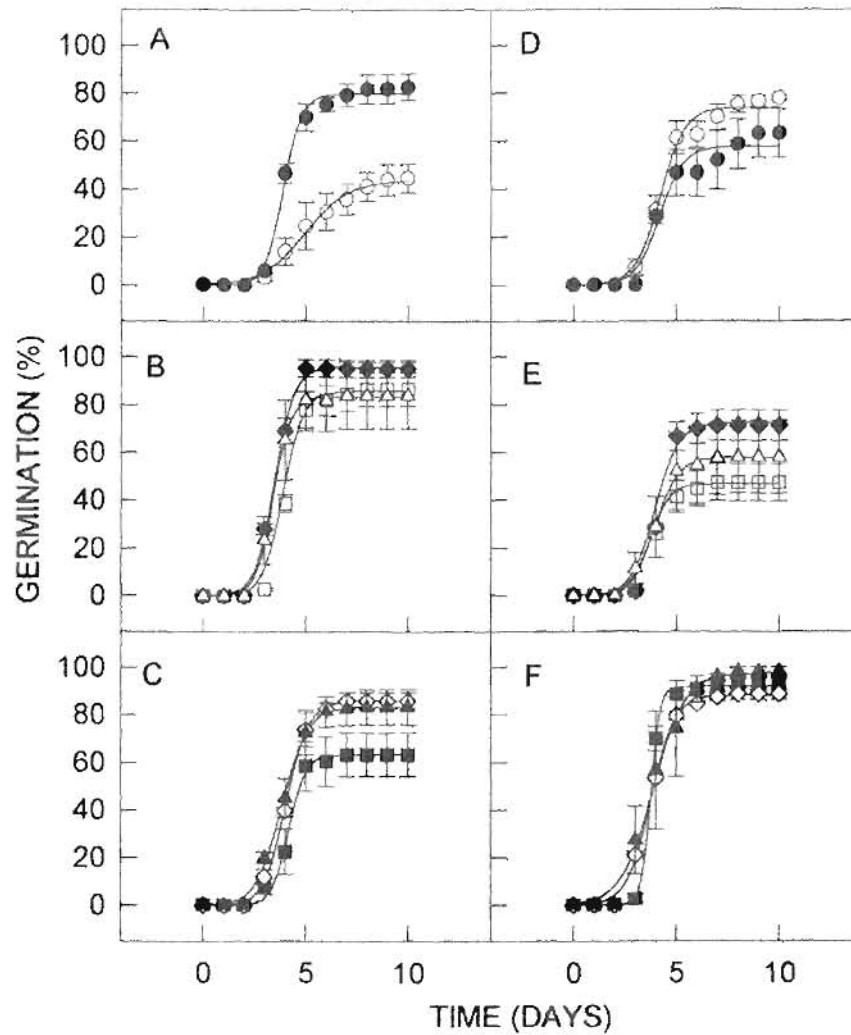


Fig. 1. Distribución en el tiempo de la germinación acumulada de semillas de la población del Ajusco (A, B y C) y del Pedregal (D, E y F) de *B. cordata* incubadas en una cámara de germinación con temperatura constante (25°C). Lote control (●), con tratamiento por osmopriming (imbibición en PEG durante 4 días a 12°C) (○), con tratamiento por enterramiento (durante cuatro meses) en un sitio abierto (□), en un bosque (◆) y en un claro (△) del Ajusco y en un sitio abierto (■), en un sitio sombreado (◇) y en un claro (▲) del Pedregal.

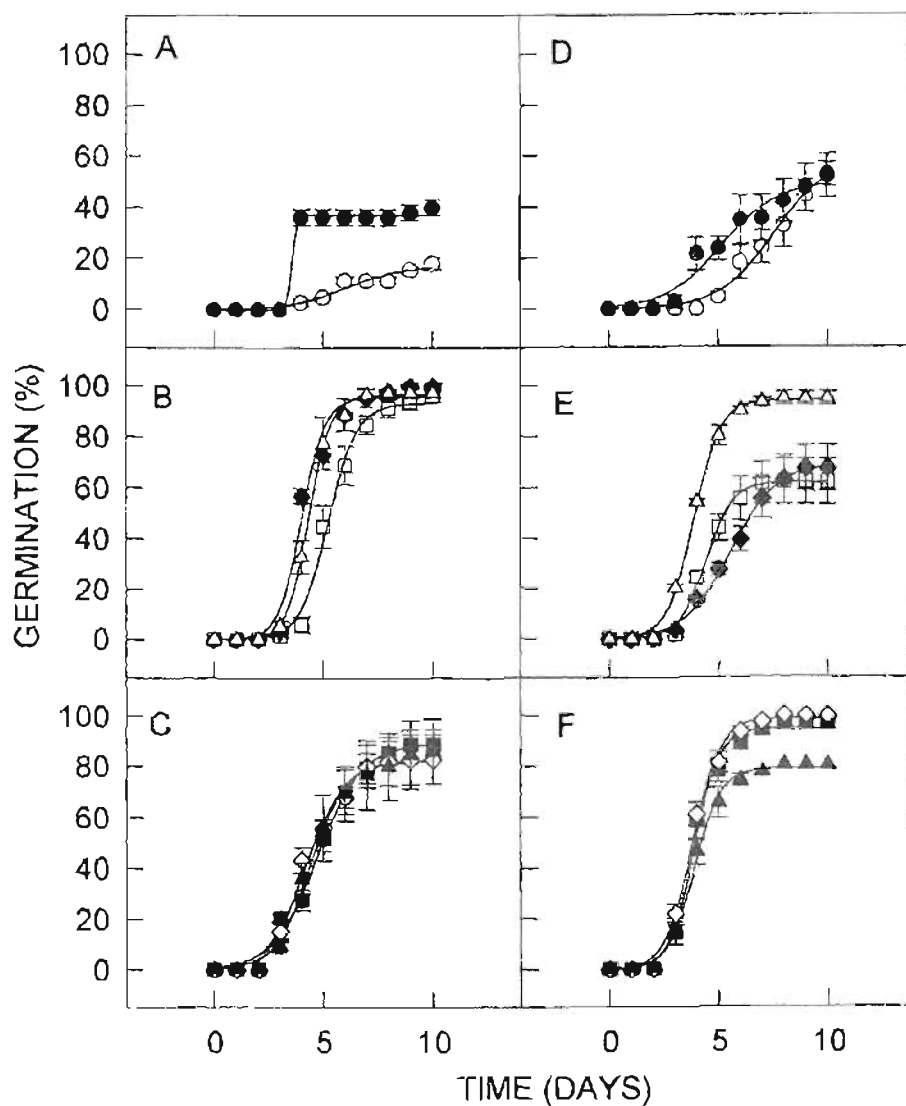


Fig. 2. Distribución en el tiempo de la germinación acumulada de semillas de la población del Ajusco (A, B y C) y del Pedregal (D, E y F) de *B. cordata* incubadas en una cámara de germinación con temperatura alternante (20°C a 35°C). Lote control (●), con tratamiento por osmopriming (imbibición en PEG durante 4 días a 12°C) (○), con tratamiento por enterramiento (durante cuatro meses) en un sitio abierto (□), en un bosque (◆) y en un claro (△) del Ajusco y en un sitio abierto (■), en un sitio sombreado (◇) y en un claro (▲) del Pedregal.

Comportamiento germinativo de W. urens .

Las semillas de las dos poblaciones de *W. urens* tratadas con *osmoprining* o previamente enterradas en las dos localidades, mostraron diferencias significativas en los parámetros de germinación (Figs. 3 y 4) cuando se incuban tanto en temperaturas constante como fluctuante. A 25°C, los lotes control de las dos poblaciones de *W. urens* no presentaron diferencias significativas en la Cg y tg, sin embargo el tpg fue mayor y la sincronía menor de la población del Ajusco que en la del Pedregal (Figs. 3A y D)

Con el *osmoprining*, la Cg de ambas poblaciones disminuye con respecto al lote control, sin embargo, en la población del Ajusco la tg y la sincronía aumenta y el tpg disminuye con respecto al control (Figs. 3 A y B). La Cg de las semillas de ambas poblaciones de *W. urens* enterradas en el Ajusco aumenta con respecto a las tratadas con Os (Fig. 3C) y en el caso de la población del Ajusco aumenta también la tasa de germinación (Fig. 3E). La Cg de las semillas de ambas poblaciones de *W. urens* enterradas en el Pedregal, aumenta con respecto al lote control y al lote tratado con *osmoprining*, sin embargo la tg de la población del Pedregal disminuye con respecto a las enterradas en el Ajusco (Figs.3C y F).

En temperatura fluctuante de 20-35°C, la Cg es similar en ambas poblaciones, pero el tpg y la sincronía de la población del Pedregal es mayor que en la del Ajusco (Figs. 4 A y D). En temperatura fluctuante de 20-35°C, la Cg de semillas con *osmoprining* disminuye con respecto al control en ambas poblaciones de *W. urens*, solo en la población del Pedregal la tg y la sincronía aumenta y el tpg disminuye (Figs. 4 A y D).

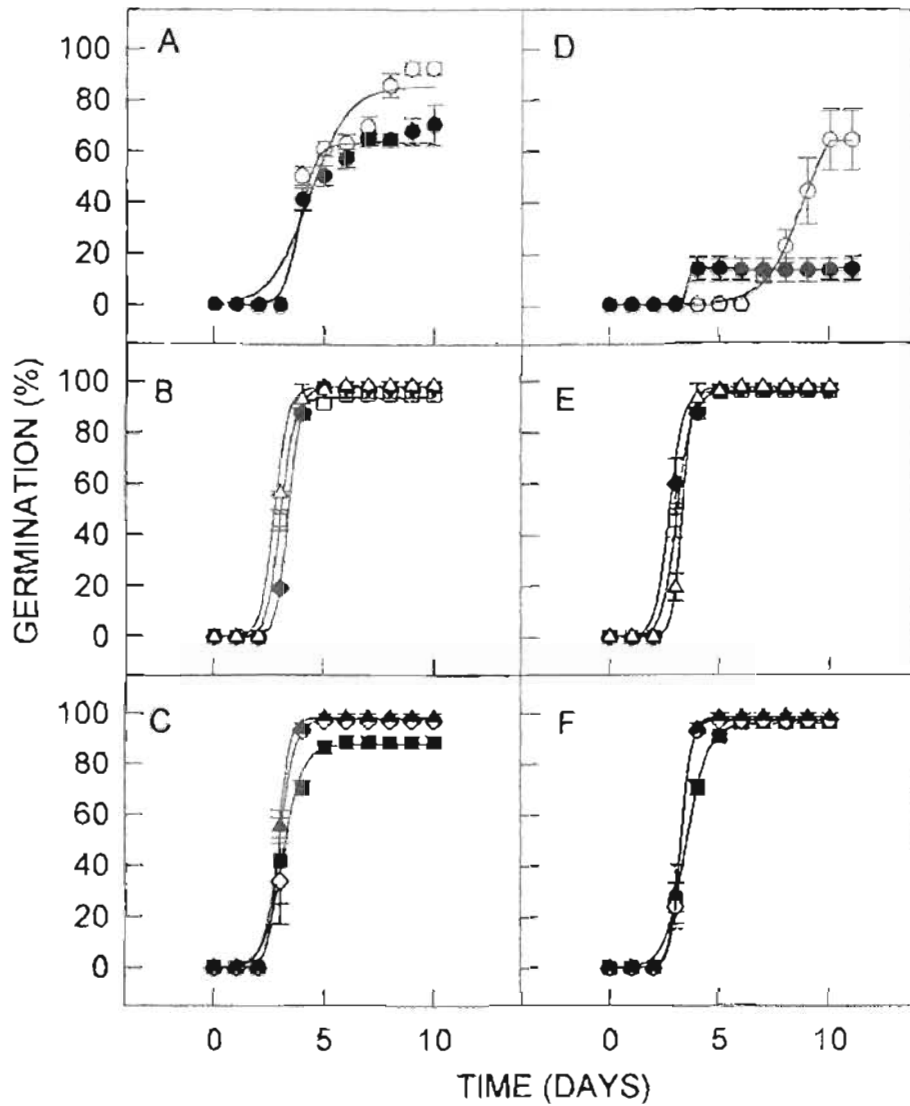


Fig. 3. Distribución en el tiempo de la germinación acumulada de semillas de la población del Ajusco (A, B y C) y del Pedregal (D, E y F) de *W. urens* incubadas en una cámara de germinación con temperatura constante (25°C). Lote control (●), con tratamiento por osmopriming (imbibición en PEG durante 4 días a 12°C) (○), con tratamiento por enterramiento (durante cuatro meses) en un sitio abierto (□), en un bosque (◆) y en un claro (△) del Ajusco y en un sitio abierto (■), en un sitio sombreado (◇) y en un claro (▲) del Pedregal.

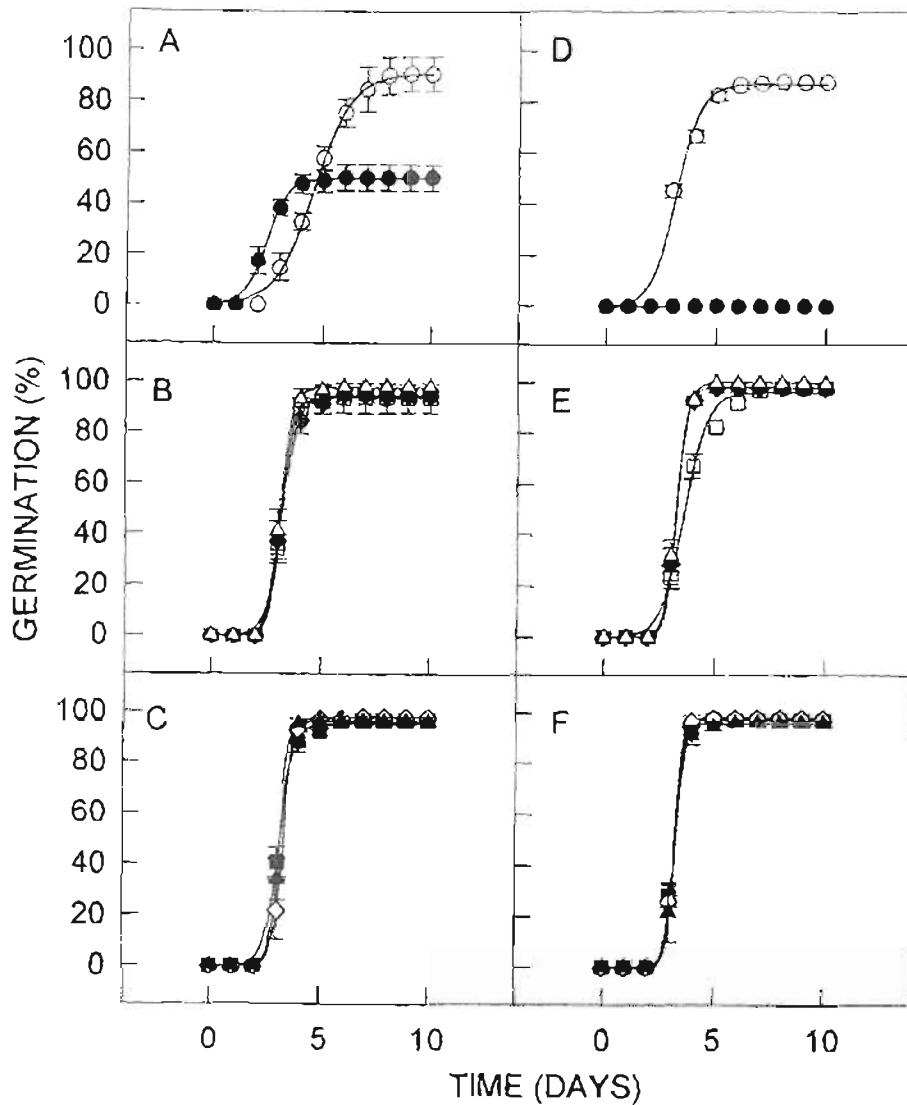


Fig. 4. Distribución en el tiempo de la germinación acumulada de semillas de la población del Ajusco (A, B y C) y del Pedregal (D, E y F) de *W. urens* incubadas en una cámara de germinación con temperatura alternante (20°C a 35°C). Lote control (●), con tratamiento por osmopriming (imbibición en PEG durante 4 días a 12°C) (○), con tratamiento por enterramiento (durante cuatro meses) en un sitio abierto (□), en un bosque (◆) y en un claro (△) del Ajusco y en un sitio abierto (■), en un sitio sombreado (◇) y en un claro (▲) del Pedregal.

La Cg y la tg de ambas poblaciones de semillas *W. urens* enterradas tanto en el Ajusco (Figs. 4 B y E) como en el Pedregal (Figs. 4 C y F), aumenta con respecto al lote control y las tratadas con Os. Sin embargo, en la población del Ajusco la tasa de germinación de las enterradas en el Ajusco es mayor que de las enterradas en el Pedregal. El lote control de *W. urens* incubada en temperatura fluctuante de 20-35°C tiene una Cg, tg y sincronía similar que cuando se incuban a 25°C; sin embargo, con *osmopriming* la Cg, la tg y el tpg en la población del Ajusco, en temperatura fluctuante de 20-35°C es menor que cuando se incuban a 25°C, en la población del Pedregal sólo disminuye la Cg (Figs. 3 y 4 A y D).

En temperatura constante o fluctuante no hay diferencias significativas en los parámetros de germinación de las semillas de dos poblaciones de *W.urens* enterradas en dos localidades diferentes (Figs. 3 y 4 B, E, C y F).

Discusión

Las respuestas germinativas de *W. urens* y *B. cordata* fueron polimórficas, es decir, se expresaron diferencias en el comportamiento germinativo interpoblacional e intrapoblacional. Varios autores han propuesto que la información genética individual y las condiciones ambientales externas e internas (efecto materno) durante el desarrollo de la semilla son los componentes que modulan este polimorfismo (Gutterman 2000, Allen y Meyer 1998, Baskin y Baskin 1998).

Aunque el Pedregal de San Ángel y Ajusco son dos localidades cercanas, entre ellas existen diferencias debidas principalmente a la altitud y al grado de exposición del sustrato rocoso, tales como la amplitud de la fluctuación de temperatura y la disponibilidad de agua. La heterogeneidad de los pedregales del sur de la Ciudad de México puede actuar como un mosaico ambiental, el cual de acuerdo con Bazzaz (1996) puede modificar

la capacidad de respuesta y por lo tanto la historia de vida de las poblaciones que se establecen en ellos, sobre todo en el Pedregal, donde algunas de las condiciones ambientales son más adversas que en el Ajusco. Esta mayor variabilidad en las condiciones ambientales podría estar relacionada con una mayor variabilidad genética y fisiológica, y por lo tanto podría esperarse una mayor variabilidad en la respuesta germinativa de la población del Pedregal. Sin embargo, estas diferencias sólo pudieron apreciarse en *B. cordata* del Pedregal.

Cuando uno interpreta los resultados del comportamiento germinativo se requiere tomar en cuenta las condiciones ambientales que rodearon a la semilla antes de la germinación, porque existen autores (Chambers y MacMahon 1994, Baskin y Baskin 1998) que han sugerido que las condiciones ambientales, en las que se encuentran las semillas después de la diseminación pero antes de germinar, incrementan o reducen el polimorfismo generado por la variabilidad genética y los efectos maternos, al modificar características fisiológicas y morfológicas de las semillas que se expresan durante la latencia, la germinación y el establecimiento.

En este estudio, *W. urens* presentó diferencias en la capacidad germinativa interpoblacional. Previamente se había reportado que sus poblaciones distribuidas en un gradiente altitudinal en el Valle de México y sus alrededores, presentan diferencias significativas en la capacidad germinativa y en las temperaturas cardinales constantes, sin embargo, en las poblaciones de esta especie ubicadas a las mismas altitudes que las estudiadas (Pedregal y Ajusco) no se reportan diferencias en estos parámetros (Reyes-Ortega 2001). En este caso, de *W. urens* la población del Pedregal presentó una latencia condicionada que se rompió bajo el régimen de temperatura alternante, mientras que la población del Ajusco no presentó latencia alguna. Por esta razón, podemos establecer que las condiciones ambientales durante el desarrollo de las semillas (variaciones

interanuales) modifican las características del reposo en las semillas de esta especie.

En el caso de *B. cordata*, las dos poblaciones presentaron latencia parcial en ambas temperaturas y tuvieron una mejor respuesta a temperatura constante que a temperatura alternante. Sin embargo, también se encontraron diferencias entre poblaciones; la población del Pedregal tiene una mayor capacidad germinativa que la del Ajusco en ambas temperaturas. Esta diferencia en la capacidad germinativa puede deberse a la presencia de latencia endógena inducida por las condiciones ambientales de cada sitio, ya que se ha reportado que en el Ajusco esta especie puede presentar, o no, latencia en los distintos años de producción, y en caso de presentarla se rompe con el almacenamiento (Mendoza 2001)

El *osmoprimering* puede modificar el desempeño fisiológico en condiciones ambientales heterogéneas al generar mecanismos de compensación o mecanismos de tolerancia a condiciones adversas (Bray 1995). Sin embargo, a la vez que el *priming* induce algunos procesos, puede inhibir otros, dependiendo de las características de la especie, la variedad, etc., y de las particularidades del tratamiento de *priming* aplicado. Esto se reflejó en la respuesta germinativa de ambas especies y de sus poblaciones. En las dos poblaciones de *W. urens* el *priming* indujo una reducción en la capacidad germinativa, la cual fue especialmente drástica en las semillas del Pedregal. En *B. cordata* sólo en la población del Ajusco los tratamientos de *osmoprimering* rompieron la latencia parcial principalmente en temperatura constante, ya que en temperatura alternante el porcentaje de germinación se incrementó con respecto al control, aunque siguió siendo baja. Por el contrario, en la población del Pedregal la latencia se mantuvo o se profundizó con los tratamientos de *osmoprimering*, al igual que en *W. urens*.

En la literatura se mencionan cuatro factores como causantes de la reducción de la capacidad germinativa después de los tratamientos de *priming*: efectos tóxicos del PEG, falta de oxígeno, la temperatura de imbibición y el estrés hídrico en sí mismo durante el tratamiento (Bray 1995, Özbingol *et al.* 1998, Karssen *et al.* 1990). Esta reducción ha sido asociada con la muerte de la semilla; sin embargo, recientemente se ha demostrado que en *B. cordata* el tratamiento de *osmopriming* induce una latencia secundaria (Gonzalez-Zertuche *et al.* 2001). Probablemente en las semillas de *W. urens* del Pedregal sucede lo mismo, es decir, los tratamientos de *osmopriming* inducen una latencia impuesta. A pesar de que la germinación es una respuesta que generalmente se evalúa con base en la capacidad germinativa (germinó o no) y con eso se establece el éxito o fracaso del tratamiento, hay procesos previos a la germinación (Bewley y Black 1994) que son modulados por el *priming* y que se reflejan en la tasa de germinación o el vigor de la plántula (Argerich 1989, Bradford 1995). En las especies estudiadas ambas se favoreció su respuesta germinativa por el *osmopriming* al incrementarse su tasa de germinación.

A diferencia de los tratamientos de *priming*, en donde se controla el potencial osmótico y las condiciones de luz y temperatura en que se lleva cabo, durante la permanencia de las semillas en el suelo (endurecimiento natural) las condiciones ambientales varían de acuerdo con el clima, el sustrato, la topografía, la vegetación, la acumulación de hojarasca en el suelo, etc. El suelo es un sistema complejo que modifica los procesos fisiológicos de las semillas (Karssen y Hillhorst 2000) al variar en forma heterogénea en el espacio y en el tiempo y produjeron diferencias en la respuesta germinativa de las especies y las poblaciones estudiadas.

Las semillas exhumadas de ambas poblaciones, al incubarse en condiciones controladas, tuvieron una mayor capacidad germinativa, una mayor tasa de germinación y una

mayor sincronía que las semillas control y las endurecidas en el laboratorio (algunos de los tratamientos de enterramiento permitieron que se alcanzara más del 90% de germinación), lo que demuestra la pérdida de las restricciones a la germinación inducida por las condiciones ambientales durante el enterramiento, como la latencia fisiológica (superficial o profunda), distribuida diferencialmente entre los individuos de cada población, como se observa en el comportamiento de los controles.

En *W. urens* los cambios que ocurren durante el enterramiento se limitan a un incremento en la sincronía de la germinación y a un incremento en la tasa de germinación, y en la población del Pedregal también hay una pérdida del requerimiento de fluctuación de temperatura para la germinación, mientras que en *B. cordata* en general se observa una pérdida de la latencia endógena.

Sin embargo, en la población de *B. cordata* del Pedregal no todas las condiciones de los sitios de enterramiento presentaron la misma eficiencia para romper la latencia parcial, en particular, en los sitios ubicados en el Ajusco. Incluso los dos sitios más expuestos a la fluctuación de temperatura y al estrés hídrico (sitio abierto y en el claro del Ajusco) redujeron la capacidad germinativa a temperatura constante. El aumento de la capacidad germinativa en temperatura alternante permite identificar la imposición de latencia secundaria parcial durante el enterramiento, como se ha reportado para otras angiospermas (Karssen 1980a, 1980b, 1982, Baskin y Baskin 1982, 1983, Hillhorst 1998).

En *W. urens* el enterramiento rompe la latencia condicionada de la población del Pedregal y en ningún caso desarrolla latencia impuesta, a pesar de que el *osmopriming* lo induce en forma marcada por el estrés osmótico. Con respecto la fluctuación de temperatura y al estrés osmótico producido por el tratamiento de *osmopriming*, las semillas de *B. cordata*

presentaron un patrón diferente del de *W. urens*. Aparentemente, ambas poblaciones de *B. cordata* son más sensibles a la fluctuación de temperatura y al tratamiento de *osmopriming*. Esto puede relacionarse con los procesos fisiológicos involucrados en los umbrales de respuesta germinativa al potencial osmótico de cada especie, los cuales son más altos para especies de ambientes estresantes, mientras que son mucho más bajos para las especies de ambientes más húmedos (Allen *et al.* 2000). La capacidad de respuesta de las especies a las diferencias en el potencial osmótico del suelo, tiene un enorme significado adaptativo, ya que la hidratación del suelo influiría en el éxito o fracaso no sólo de la germinación sino también del establecimiento (Fenner 2000).

Los cambios en la latencia durante el enterramiento han sido descritos con amplitud en la literatura. En años recientes se ha sugerido que los cambios en el tiempo hidrotérmico de germinación podrían estar involucrados en el rompimiento de la latencia de semillas enterradas (Allen y Meyer 1998), entre los que se incluyen los cambios atribuibles a la estratificación, la cual es más eficiente en condiciones de imbibición (Bradford 1995, Ellis y Butcher 1988). Por otra parte, durante el *priming* y el enterramiento las semillas están sujetas a cambios en el estado de hidratación y en la temperatura, estos cambios pueden promover la síntesis de proteínas resistentes a altas temperaturas. La inducción de la síntesis de estas proteínas (HSP) se ha relacionado con el incremento en el vigor de las semillas y el mejoramiento en el desempeño de la plántula (Job *et al* 1997, Cruz- García 1995, González-Zertuche *et al.* 2001),.

Los resultados del efecto del *osmopriming* en *W. urens* sugieren que el estrés osmótico en condiciones de luz, puede inducir latencia impuesta. Esto no ocurrió durante el enterramiento debido a que el endurecimiento, en condiciones naturales ocurre en un lapso de tiempo mayor y en la oscuridad. Es importante resaltar que *B. cordata* es una especie

fotoblástica positiva (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia 1990), mientras que *W. urens* es una especie indiferente a la luz (Reyes-Ortega 2001). Sin embargo, las semillas de ambas pueden permanecer viables enterradas a la oscuridad. Los factores que mantienen el reposo de semillas indiferentes a la luz durante su permanencia en el suelo son poco claros. Se han mencionado las condiciones de oxigenación (Karssen 1980a, b) y las sustancias inhibidoras presentes en el suelo (Karssen y Hillhorst 2000) como los agentes causales más factibles de este reposo durante la permanencia de las semillas en el suelo.

Dado que en el campo se registró mayor fluctuación de la temperatura y que las temperaturas mínimas pueden llegar a ser más bajas que la temperatura en la que se embebió la semilla durante el *osmoprimering* (12°C), se puede descartar a la temperatura como un factor que imponga latencia secundaria en esta especie.

Los resultados obtenidos en este trabajo enfatizan la relevancia de que en el manejo de las plantas silvestres en los proyectos de restauración ecológica se considere: a) la variabilidad en la latencia y la respuesta germinativa planteada por los ecofisiólogos y cada vez abordada con mayor frecuencia e interés por fisiólogos y agrónomos b) el efecto de la heterogeneidad ambiental durante las diferentes etapas en la vida de la semilla (desarrollo, dispersión, permanencia en el banco de semillas y germinación), c) el endurecimiento natural por enterramiento y exhumación de las semillas, como un tratamiento previo a la germinación capaz de incrementar el vigor de las semillas aun más que los tratamientos de *priming*, e) la elección y manejo del lote de semillas, ya que de las condiciones ambientales de la localidad de la cual provienen y de las condiciones en las que se permanecieron desde su producción, pueden influir en el posible éxito de la germinación de la semilla.

Literatura Citada

- Allen PS Meyer SE y Kahn MA 2000 Hidrotermaltime as a tool in comparative germinative studies :401-410 En: Black M Bradford KJ y Vásquez-Ramos J Eds. Seed Biology Advances and applications CAB International Publishing .
- Allen PS y Meyer SE 1998 Ecological aspects of seed dormancy lost. *Seed Science Research* 8 :183-191
- Argerich CA Bradford KJ y Tarquis AM 1989 The effects of priming and ageing on resistance to deterioration of tomato seeds. *Journal of Experimental Botany* 40 :593-598
- Baskin JM y Baskin CC 1982 Effects of wetting and drying cycles in the germination of seeds of *Cyperus inflexus* *Ecology* 63 :248-252
- Baskin JM y Baskin CC 1983 Seasonal changes in the germination response of buried seeds of *Arabidopsis thaliana* and ecological interpretation *Bot Gaz* 144 (4) :540-543
- Baskin CC y Baskin JM 1985 The annual dormancy cycle in buried weed seeds: a continuum. *BioScience* 35 :492-498.
- Baskin CC y Baskin JM 1998 Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press San Diego USA pp.
- Bazzas FA 1996 Plants in changing environments: Linking physiological, population and community ecology. Cambridge, Cambridge University Press.
- Bewley JD y Black M 1994 Seed physiology of development and germination 2º Edición Plenum Press . USA.
- Bradford KJ 1995 Water relations in seed germination :351-396 En: Kigel y Galili Eds Seed development and germination M. Decker Inc. New York USA
- Bradford KJ y Haigh AM 1994 Relationships between accumulated hydrothermal time during seed priming and subsequent seed germination rates. *Seed Science Research* 4 :63-69
- Bray CM 1995 Biochemical process during the osmopriming seeds. :767-789 En: Kigel y Galili Eds Seed development and germination M. Decker Inc. New York USA
- Cano-Santana Z y Meave J 1996 Sucesión primaria en derrames volcánicos: el caso del Xitle *Ciencias*. 41 :58-68
- Cervantes V, López-González M, Salas-Nava N y Hernández- Cárdenas G. 2001 Técnicas para propagar especies nativas de selva baja caducifolia y criterios para establecer áreas de reforestación UNAM & PRONARE Cd. de México México 174 pp.
- Cruz-García F, Jiménez LF y Vasquez-Ramos M 1995 Biochemical and cytological studies in osmoprimed maize seeds. *Seeds Science Research* 5 :15-23.
- Chambers JC y MacMahon JA 1994 A day in the life of a seed: Movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual. Rev. Ecol. Syst.* 25 :263-292.
- Davison PA, Taylor RM y Bray CM 1991 Changes in ribosomal RNA integrity in leek (*Allium porrum* L.) seeds during osmopriming and drying-back treatments *Seed Science Research* 11 :37-44
- Ellis RH y Butcher PD 1988 The effects of priming and 'natural' differences in quality amongst onion seeds lots on the response of the rate of germination to temperature
-

- and the identification of characteristics under genotypic control. *Journal of Experimental Botany* 39 :935-950
- Fenner M 2000 Seeds. The ecology of regeneration in plant communities 2ªEd. CAB International Wallingford UK pp.
- González-Zertuche L, Vázquez-Yanes C, Gamboa A, Sánchez-Coronado ME, Aguilera P y Orozco-Segovia A 2001 Natural priming of *W. urens urens* seeds during burial: Effects on germination, growth and protein expression *Seed Science Research* 11 :27-34
- González-Zertuche L, Baskin JM, Baskin CC y Orozco-Segovia 2002 Effects of priming on germination of *Buddleja cordata* ssp *cordata* (Loganiaceae) seeds and possible significance *Seed Science & Technology* 30 :535-548
- Gutterman Y 1993 Seed germination in desert plants. Springer-Verlag, Berlin. Alemania.
- Gutterman Y 2000 Genotypic and phenotypic germination survival strategies of ecotype on annual plant species in Negev dessert of Israel :389-399. En: Black M Bradford KJ y Vásquez-Ramos J Eds. Seed Biology Advances and applications CAB International Publishing.
- Hilhorst HWM 1998 The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited *Seed Science Research* 8 :77-90
- Karssen CM y Hilhorst HWM 2000 Effect of chemical environment on seed germination :327-348 En: Fenner M Ed. Seeds. The ecology of regeneration in plant communities 2ªEd. CAB International Wallingford UK.
- Hobbs SD 1984 The influences of species and stocktype selection on stand establishment: an ecophysiological perspective :177-224 En: Duryea ML y Brown GN Eds Seedling physiology and reforested success Dr.W Junk Publishers. Dordrecht .
- Job C, Kersulec A, Ravasio L, Chareyre S, Pepin R, y Job D. 1997 The solubilization of the basic subunit of sugarbeet seed 11-s globulin during priming and early germination. *Seed Science Research* 7 :225-243
- Karssen CM 1980a Environmental conditions and endogenous mechanisms involved in secondary dormancy of seeds *Israel Journal Botany*. 29 :65-73
- Karssen CM 1980b Patterns of changes in dormancy during burial of seeds in soil *Israel Journal of Botany*, 29 : 45-64
- Karssen CM 1982 Seasonal pattern of dormancy in weed seeds :243-270 En: Kahn AA Ed. The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination. Elsevier Biomedical Press Amsterdam. Holanda
- Karssen CM, Haigh AH, van der Toorn P y Weges R 1990 Physiological mechanisms involved in seed priming. pp. En: Taylorson RB Ed. Recent advances in the developmental germination of seeds. Plenum Press. London Great Britain
- Mendoza Hernández PE 2001 Sobrevivencia y crecimiento de los estadios iniciales de *Buddleja cordata* en ambientes contrastantes del Ajusco Medio D.F. México Tesis de Maestría en Ciencias Fac. de Ciencias UNAM México
- Özbingol N, Corbineau F y Côme 1998 Responses of tomato seeds to osmoconditioning as related to temperature and oxygen. *Seed Science Research* 8 :374-384
- Reyes-Ortega, I.M. 2001 Modelo de la respuesta germinativa de diferentes poblaciones de *Wigandia urens* (Ruiz et Pav.) Kunth en un gradiente de temperaturas constantes. Tesis de Maestría en Ciencias Fac. de Ciencias UNAM México

- Rzedowoski J y Rzedowoski GC 1985 Flora Fanerogámica del Valle de México, Vol II. Dicotiledoneae. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Instituto de Ecología A. C. DF México pp.
- Taylorson RB 1990 Recent advances in the developmental germination of seeds. Plenum Press. London, New York. USA pp.
- Vázquez-Yanes C 1999 La fisiología ecológica de las plantas :1-9 En: Orellana R Escamilla JA y Larqué-Saavedra Eds. Ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos CICY A.C. Mérida México
- Vázquez-Yanes C y Batis A 1996b. La restauración de la vegetación, árboles exóticos vs. árboles nativos. *Ciencias*. 43 :16-23.
- Vázquez-Yanes C y Orozco-Segovia A 1990 Ecological significance of light controlled seed germination in two contrasting tropical habitats. *Oecologia* 83 :171-175.

EMERGENCIA

Comportamiento de la emergencia de las plántulas de dos poblaciones de semillas de *Buddleja cordata* y *Wigandia urens* con endurecimiento natural

Lourdes González-Zertuche y Alma Orozco Segovia

Resumen

Con el fin de estudiar la relación entre la variación de las condiciones microambientales (durante el desarrollo de la semilla, la permanencia de la semilla en el suelo y la emergencia; se colectaron semillas de *Buddleja cordata* y de *Wigandia urens* que se producen en dos localidades del Sur de la Zona Metropolitana del Valle de México con diferente altitud (2240 y 2400 m.s.n.m.).

Las semillas de cada población se enterraron en tres sitios de cada localidad durante cuatro meses. Las semillas exhumadas y deshidratadas de las dos poblaciones de las dos especies, se sembraron en canastitas de tela que se colocaron en una casa de sombra y en un sitio abierto y en un claro de cada localidad. Los resultados se compararon con un lote control de semillas que se almacenó en el laboratorio y con un lote de semillas con *osmoprining*.

La variación en las condiciones ambientales durante el desarrollo, *osmoprining* o enterramiento y durante la germinación, modificaron el comportamiento de la emergencia de plántulas. Por lo general las semillas con endurecimiento natural tuvieron un mejor desempeño que las semillas de los lotes control y las tratadas con *osmoprining* en la casa de sombra y en el campo, sin embargo no se puede establecer un patrón en el campo. Las condiciones óptimas para la emergencia en *B. cordata* fueron las semillas enterradas en el sitio abierto y sembradas en el claro del bosque y para *W. urens* las semillas enterradas en el claro del bosque y sembradas en el sitio abierto.

El microambiente durante el enterramiento y la germinación tiene un papel importante en la aclimatización y por lo tanto en el éxito del establecimiento de la plántula. El endurecimiento natural mejora el desempeño de las semillas de *B. cordata* y *W. urens*, por lo que el enterramiento podría ser un pre-tratamiento con posibilidades de aplicación en los programas de reforestación y restauración.

Palabras claves: *Buddleja cordata*, Endurecimiento Natural, Enterramiento de semillas, Emergencia de plántulas, *Osmoprining*, *Wigandia urens*.

Introducción

Los estudios ecofisiológicos, tanto en plantas como animales, han puesto en evidencia que las respuestas funcionales probadas en el laboratorio pueden diferir ampliamente de las que ocurren en el campo; dado que en éste no existe un control absoluto ni sobre las variables bióticas y abióticas, ni sobre el número o periodicidad de éstas.

Esta percepción ha dado lugar a que la experimentación tienda a recrear cada vez con mayor fidelidad las interacciones entre los individuos y su ambiente, y a que la interpretación de las repuestas fisiológicas considere tanto la variabilidad ambiental, como la variabilidad genética y fenotípica de la especie, y las interacciones entre éstas.

Dado que la germinación constituye el punto de partida en la dinámica de las poblaciones y las comunidades, es importante incluir el punto de vista de la ecofisiología en la investigación en los distintos niveles de integración, desde el autoecológico hasta el ecosistémico. También hay que hacer énfasis en ello cuando se diseñan los protocolos de estudios o los planes de restauración ecológica y/o reforestación, ya que las primeras decisiones críticas que se toman son la elección de especies que formaran la nueva comunidad y la estrategia para su introducción (Hobbs 1984).

Una de las alternativas más comunes para la reintroducción de las plantas es la generación de plántulas a través de la germinación, por lo que los estudios sobre el comportamiento germinativo de especies útiles para la restauración de zonas perturbadas son de gran relevancia (Bazzas 1996, Vázquez-Yanes y Batis 1996, Vázquez-Yanes 1999, Cervantes *et al.* 2001).

En la agricultura y la forestería se ha demostrado que no sólo resulta crítica la selección adecuada de especies que favorezcan el proceso de restauración ecológica, sino también la

elección de las poblaciones o variedades (Hobbs 1984) y la aplicación de técnicas de mejoramiento de las semillas, que incrementen su vigor y las probabilidades de éxito en el establecimiento de la plántula (Davison and Bray 1991, Bray 1995, Job et al 1997).

En la agricultura una de las técnicas más exitosas ha sido el endurecimiento (*priming, hardening*), que consiste en una hidratación regulada de las semillas que permita que se lleven a cabo una gran variedad de procesos bioquímicos y metabólicos, propios de las primeras dos fases del proceso de germinación e impida su continuación hasta la elongación de la radícula (fase III); el tratamiento concluye con la deshidratación de las semillas y su almacenamiento, hasta su posterior uso (Taylorson 1989, Bray 1995). La permanencia en la segunda fase se logra mediante el uso de soluciones osmóticas o reduciendo la energía libre del agua mediante temperaturas bajas (Bradford y Haigh 1994).

Los cambios que ocurren durante el *priming* probablemente evolucionaron durante la permanencia de las semillas en el suelo, dado que tanto las proteínas que se expresan durante éste, como la respuesta fisiológica (germinación rápida y sincrónica, mayor vigor de la plántula), son similares a los que se expresan después de que las semillas han estado enterradas en el suelo, sujetas a periodos de hidratación y deshidratación (endurecimiento natural, Gonzalez-Zertuche *et al.* 2001, 2002).

Con base en estas reflexiones, se comparó el efecto de pretratamientos de *priming* y enterramiento sobre la emergencia de plántulas tanto en una casa de sombra como en el campo. Para ello las semillas se sembraron sobre el suelo y se tomó en cuenta principalmente que: 1) que las condiciones ambientales durante el desarrollo de las semillas tiene un efecto en su comportamiento germinativo y en el desempeño de la plántula (Guterman 1993), 2) que las experiencias de la semilla

desde la diseminación hasta la germinación son cruciales para su desempeño posterior (Chambers & MacMahon 1994), y 3) que las modificaciones que induce el ambiente sobre la fisiología de la semilla pueden expresarse durante la latencia, la germinación y la emergencia (Vleeshouwers *et al.* 1995, Baskin & Baskin 1998).

Se seleccionaron dos poblaciones de dos especies nativas del Valle de México, *Buddleja cordata* y *Wigandia urens*, ambas especies han sido propuestas como potencialmente útiles para la restauración de esta región (Bonfil *et al.* 1997). Las semillas de las dos poblaciones de ambas especies se preacondicionaron enterrándolas previamente en tres microambientes distintos, dentro de cada una de las dos localidades de origen, o con osmoprimering; junto con el control (semillas almacenadas en el laboratorio) las semillas preacondicionadas se sembraron en dos sitios en cada localidad y en una casa de sombra.

Método

Las especies estudiadas son *Buddleja cordata* ssp *cordata* HBK (Loganiaceae) un árbol (4-10 m de altura) con nombre común 'Tepozán' y *Wigandia urens* (Ruiz & Pavón) HBK (Hydrophyllaceae) una planta arbustiva (1-8 m de altura) con nombre común 'Tabaquillo'. Estas especies son características de zonas perturbadas y de matorrales xerófilos del Valle de México. En el área protegida *Reserva del Pedregal de San Ángel* (Pedregal, 2240 m. s. n. m.), ubicada en los terrenos de la Universidad Nacional Autónoma de México y en el Parque Ecológico de la Ciudad de México, ubicado en la serranía del Ajusco (Ajusco, 2600 m. s. n. m); los matorrales xerófilos crecen sobre suelo escaso acumulado en la roca de origen volcánico, producto de la erupción de una de las bocas parásitas del volcán Xitle (Rzedowsky y Rzedowsky 1995, González-Hidalgo *et al.* 2001)

Las semillas de *B. cordata* (B) y *W. urens* (W) se colectaron en el Pedregal (P) y en el Ajusco (A) durante la época de dispersión de cada especie (Febrero- Marzo y Marzo-Abril de 1998, respectivamente). Las semillas de cada población (A y P), por separado, se secaron durante 48 h a la sombra, se limpiaron y posteriormente se almacenaron en bolsas de papel en el laboratorio (23-25°C y 40-50% HR).

Cada población de cada especie se separó en tres lotes, uno se mantuvo en el laboratorio, otro recibió tratamiento de *osmopriming* con una solución de polietilenglicol (PEG 8000, Baker, USA), con un potencial osmótico de -0.3 Mpa, durante cuatro días en una temperatura constante de 12°C y un fotoperiodo de 12 h. Por último un tercer lote se dividió en seis submuestras, cada una de ellas se empacó en bolsas de tela nylon y se enterraron en tres sitios del Pedregal y del Ajusco: una zona abierta (Ab), un claro del Bosque (Cl) y en el Bosque (Bo) (en el caso de Pedregal se sustituyó por una zona sombreada por árboles de *B. cordata*).

En el mes de agosto, cuando la época de lluvias estuvo bien establecida, las semillas enterradas se exhumaron, se secaron en un cuarto oscuro ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) y se sembraron, al mismo tiempo que el lote control (almacenado en el laboratorio) y el lote con *osmopriming* (haciendo un total de 5 pretratamientos).

Las semillas se sembraron sobre la superficie de 200 g de suelo esterilizado, contenido en canastitas de tela (10 x 10 x 5 cm). En cada canasta se sembraron 50 semillas. Cada canasta se cubrió con una capa de tul. Se hicieron tres réplicas del control y de cada pretratamiento para cada sitio de siembra. Los sitios de siembra fueron: 1) una casa de sombra (las semillas se regaron cada tercer día) y 2) en tres sitios del Pedregal (un sitio abierto, un claro y una zona arbolada), 3) en tres sitios del Ajusco (un sitio abierto, un claro y el bosque).

En el campo no se aplicó riego, las canastas únicamente recibieron el agua de la lluvia. Cada tercer día, durante 4 semanas, se registró el número de plántulas que emergieron.

Análisis de resultados

La emergencia final se analizó con un análisis binomial de regresión logística y se estimó la probabilidad de emergencia como una función de los sitios de siembra y de los pretratamientos. El análisis se realizó con el programa JMP (vs. 3.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Resultados

Emergencia en la casa de sombra

En la casa de sombra, en el caso de todas las poblaciones, los pretratamientos de enterramiento indujeron una probabilidad de emergencia significativamente mayor que el control y el priming en el laboratorio. Para *W. urens* del Ajusco la emergencia fue significativamente mayor cuando las semillas fueron previamente enterradas en el pedregal. Mientras que, para la población del Pedregal la respuesta fue igual para ambos sitios de enterramiento.

En el caso de *B. cordata* se obtuvo una mayor probabilidad de emergencia cuando el pretratamiento se realizó en la misma localidad de la cual provenían las semillas. Por otra parte el pretratamiento de priming en las dos poblaciones de *W. urens* siempre indujo una emergencia mayor que las semillas control. Esta diferencia sólo fue significativa en la población del Pedregal. En las dos poblaciones de *B. cordata* el control y el priming indujeron una germinación similar.

Para *W. urens* del Ajusco el enterramiento en el bosque del Pedregal y para *W. urens* del Pedregal enterrar en el sitio abierto del pedregal indujeron respuestas de emergencia significativamente mayores. Mientras que para *B. cordata* del

Ajusco y el Pedregal enterrar en el Pedregal Claro indujo una respuesta mayor.

La probabilidad de emerger de las plántulas de *W. urens* del Ajusco fue mayor cuando la siembra se realizó en el bosque y el claro del Ajusco o en el sitio abierto del Pedregal, en estos casos no hubo diferencias significativas entre sitios de siembra. Mientras que, en los otros dos sitios la probabilidad de emerger fue significativamente más baja.

Para esta población el pretratamiento que más incremento la probabilidad de emergencia fue enterrar a las semillas en el claro del pedregal y la probabilidad más baja se obtuvo con las semillas control. La probabilidad de emerger de las plántulas derivadas de semillas con este pretratamiento de enterramiento sólo fue igual a la obtenida para las plántulas de semillas enterradas en los otros dos sitios del pedregal; sin embargo, la probabilidad obtenida para esos dos sitios sólo difirió de la probabilidad alcanzada por las plántulas de semillas enterradas previamente en el bosque, las cuales no difirieron del control, a pesar de que su probabilidad de emerger fue más alta que para el control.

La probabilidad de emerger de *W. urens* del Pedregal también fue más alta y más baja en los mismos sitios que para la *W. urens* del Ajusco, sin embargo en este caso si hubo diferencia significativas entre los sitios de siembra con mayor emergencia. La probabilidad fue mayor cuando emergieron en el pedregal abierto y más baja en el claro del Ajusco.

Las plántulas de esta población no se vieron favorecidas por ninguno de los pretratamientos, incluyendo al pretratamiento de priming y al control. Así mismo en general las plántulas de esta población tuvieron probabilidades más altas de emerger que las plántulas de la población de *W. urens* del Ajusco.

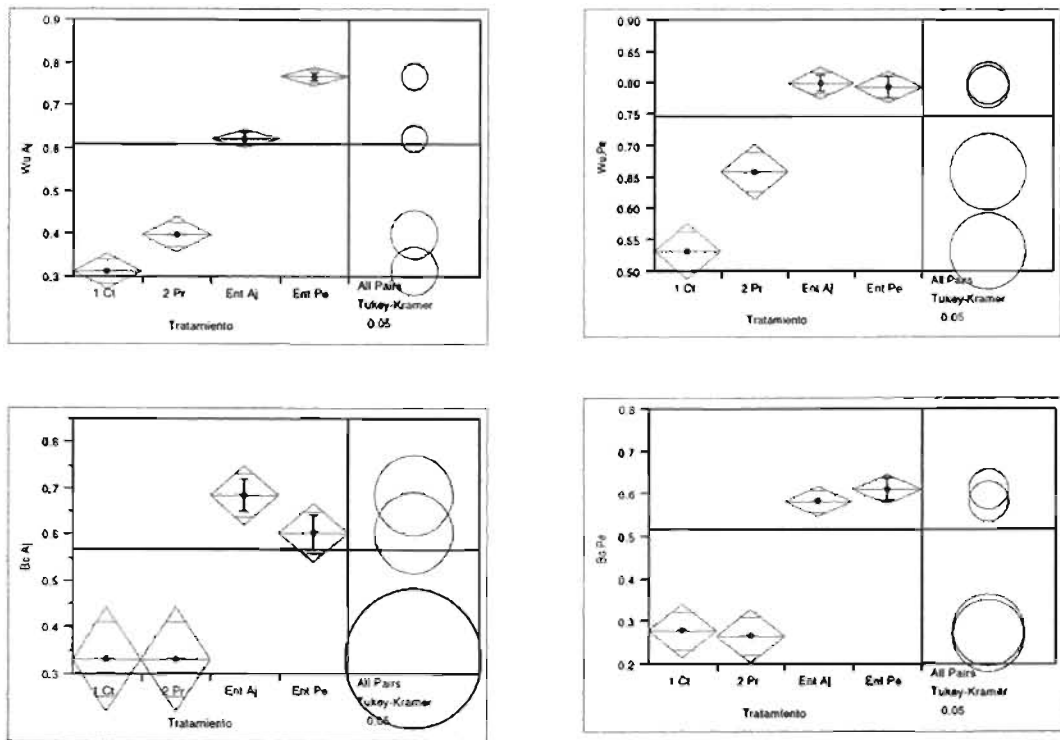


Fig 1. Análisis de regresión logística de la probabilidad de emergencia de semillas de dos poblaciones de *W. urens* y *B. cordata* sembradas en una casa de sombra. Lote control, lote con pretratamientos de osmopriming y lotes con pretratamiento de enterramiento en el Ajusco y en el Pedregal.

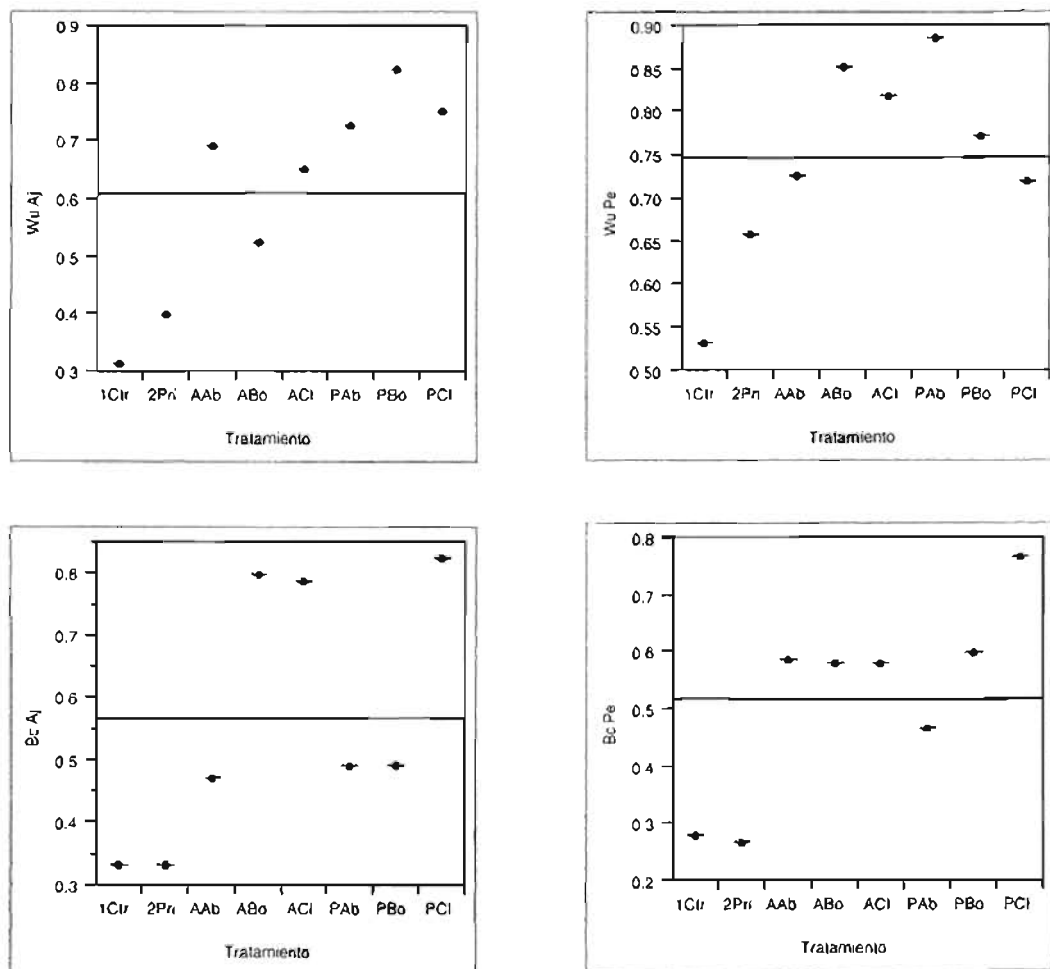


Fig 2. Análisis de regresión logística de la probabilidad de emergencia de semillas de dos poblaciones de *W. urens* y *B. cordata* sembradas en una casa de sombra. Lote control, lote con pretratamientos de osmopriming y lotes con pretratamiento de enterramiento en diferentes sitios.

Emergencia en el campo

La probabilidad de emerger de *B. cordata* del Ajusco tuvo un patrón similar a la registrada en plántulas de *W. urens*, fue mayor cuando las semillas se sembraron en el bosque y el claro del Ajusco, así como en el sitio abierto del Pedregal, no hubo diferencias significativas entre estos sitios de siembra. Así como no la hubo entre los otros dos sitios de siembra, en donde la probabilidad de emerger fue significativamente más baja.

El pretratamiento que produjo una probabilidad más alta de emerger fue enterrar a las semillas en el bosque del Ajusco. La emergencia en este pretratamiento solo difirió significativamente de los pretratamientos control, priming y enterramiento en el bosque del pedregal. Ninguno de los otros pretratamientos difirieron entre si.

El patrón de las probabilidades de emerger para las plántulas de la población de *B. cordata* del Pedregal fueron mayores y menores en los mismos sitios que para las otras tres poblaciones. Sin embargo en este caso el único sitio que tuvo una probabilidad de emergencia significativamente más baja fue el claro del pedregal.

A diferencia de la población de *B. cordata* del Ajusco, las plántulas de *B. cordata* del pedregal, tuvieron una probabilidad de emerger más alta cuando las semillas fueron enterradas previamente en cualquier sitio del pedregal. Estos pretratamientos solo difirieron significativamente de la emergencia de las plántulas de semillas con priming y solo las plántulas de semillas enterradas en el sitio abierto y en el claro del Pedregal tuvieron una emergencia significativamente más alta que las semillas control. Entre el control, el pretratamiento de priming y los sitios de enterramiento en el Ajusco no hubo diferencias significativas. A diferencia de las poblaciones de *W. urens* las poblaciones de *B. cordata* tuvieron en general probabilidades similares de emerger.

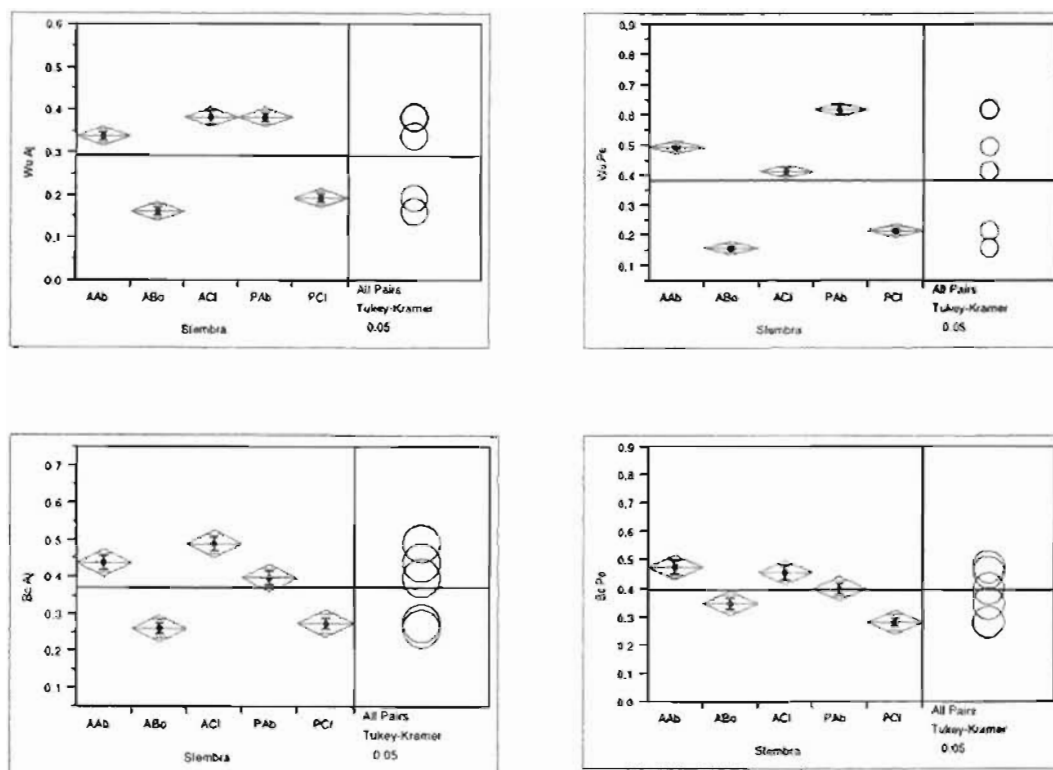


Fig 3. Análisis de regresión logística de la emergencia de semillas de *W. urens* y *B. cordata* con diferentes pretratamientos de endurecimiento sembradas en diferentes sitios del campo.

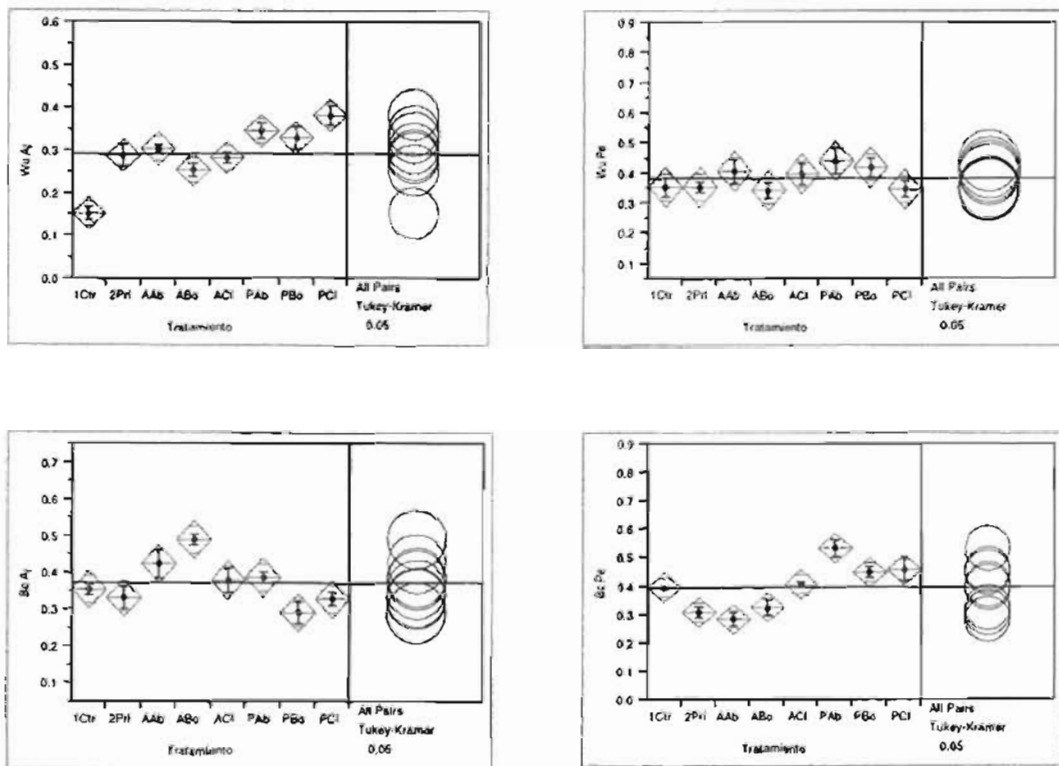


Fig 4. Análisis de regresión logística de la emergencia semillas de *W. urens* y de *B. cordata* del Ajusco y del Pedregal sembradas en el campo comparando el lote control con los diferentes pretratamientos de endurecimiento.

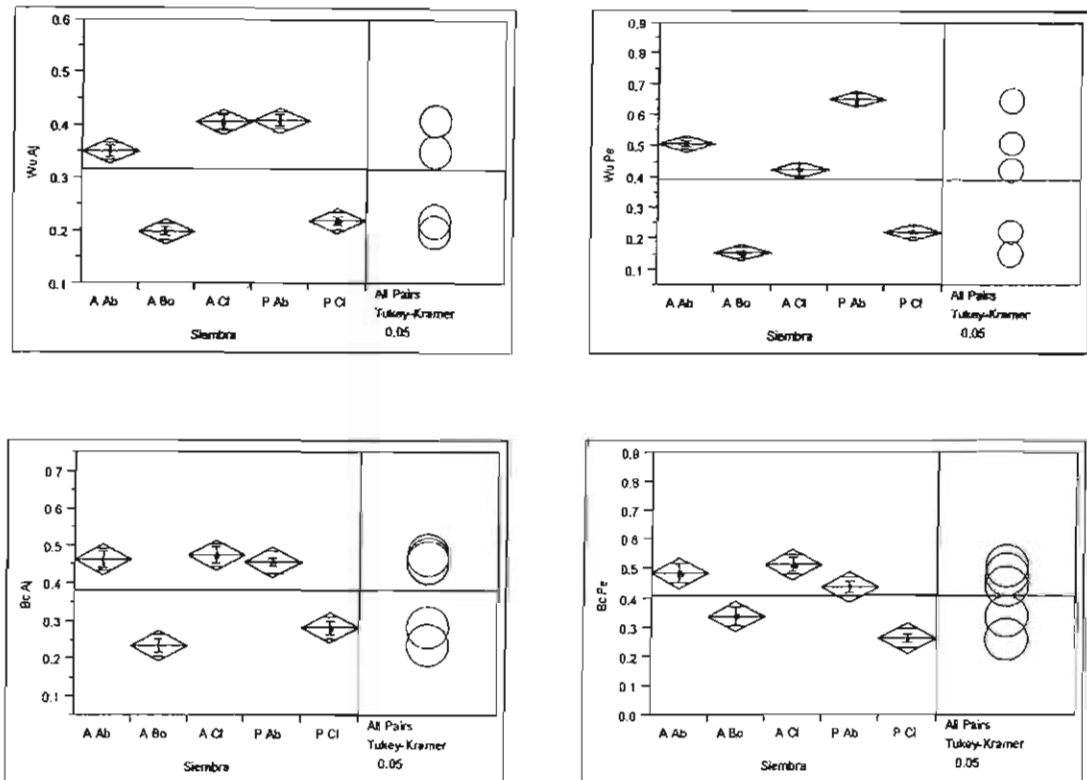


Fig 5. Análisis de regresión logística de la emergencia de semillas de *W. urens* y *B. cordata* con pretratamiento de enterramiento sembradas en el campo.

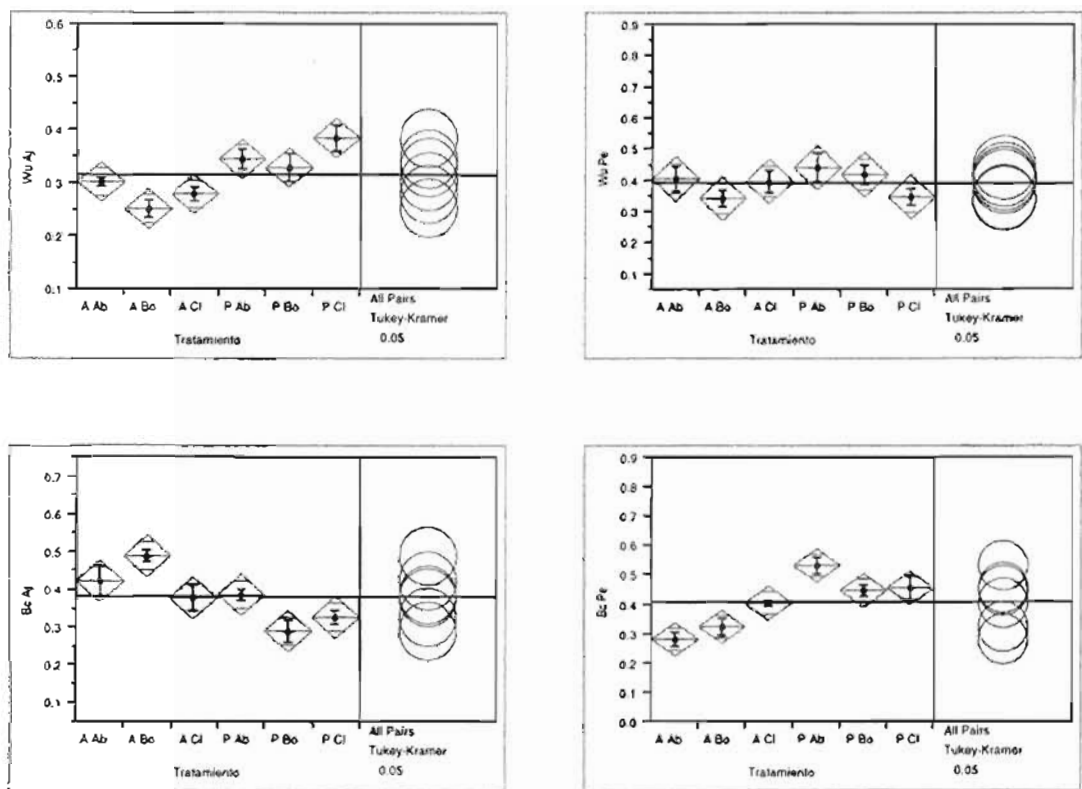


Fig 6. Análisis de regresión logística de la emergencia semillas de *W. urens* y de *B. cordata* del Ajusco y del Pedregal sembradas en el campo con pretratamiento de enterramiento en diferentes sitios.

Tabla 1. Parámetros estimados del análisis de regresión logística aplicado a los datos de emergencia de las semillas con tratamientos de endurecimiento y sembradas en el campo

Especie	Población	T8xS5	Análisis de Varianza				Prueba de Wilcoxon / Kruskal-Wallis			
			F	GL	Prob>F	Signif	ChiSquare	GL	Prob>ChSq	Signif
Bc	Aj	Siembra	28.1	4	<.0001	*	77.9	4	<.0001	*
Bc	Pe	Siembra	13.6	4	<.0001	*	56.8	4	<.0001	*
Wu	Aj	Siembra	71.7	4	<.0001	*	138.88	4	<.0001	*
Wu	Pe	Siembra	236.9	4	<.0001	*	194.55	4	<.0001	*

Especie	Población	T8xS5	Análisis de Varianza				Prueba de Wilcoxon / Kruskal-Wallis			
			F	GL	Prob>F	Signif	ChiSquare	GL	Prob>ChSq	Signif
Bc	Aj	Tratamiento	5.29	7	<.0001	*	38.29	7	<.0001	*
Bc	Pe	Tratamiento	10.2	7	<.0001	*	55.4	7	<.0001	*
Wu	Aj	Tratamiento	11.48	7	<.0001	*	56.4	7	<.0001	*
Wu	Pe	Tratamiento	1.18	7	0.3124	n.s	6.5	7	0.47	n.s

Tabla 2. Parámetros estimados del análisis de regresión logística aplicado a los datos de emergencia de las semillas con pretratamientos de enterramiento y sembradas en el campo

Especie	Población	T6xS5	Análisis de Varianza				Prueba de Wilcoxon / Kruskal-Wallis			
			F	GL	Prob>F	Signif	ChiSquare	GL	Prob>ChSq	Signif
Bc	Aj	Siembra	28.31	7	<.0001	*	68.88	4	<.0001	*
Bc	Pe	Siembra	15.80	7	<.0001	*	52.96	4	<.0001	*
Wu	Aj	Siembra	70.39	7	<.0001	*	121.23	4	<.0001	*
Wu	Pe	Siembra	191.09	7	<.0001	*	148.72	4	<.0001	*

Especie	Población	T6xS5	Análisis de Varianza				Prueba de Wilcoxon / Kruskal-Wallis			
			F	GL	Prob>F	Signif	ChiSquare	GL	Prob>ChSq	Signif
Bc	Aj	Tratamiento	6.22	7	<.0001	*	33.56	5	<.0001	*
Bc	Pe	Tratamiento	9.66	7	<.0001	*	41.53	5	<.0001	*
Wu	Aj	Tratamiento	5.62	7	<.0001	*	19.80	5	0.0014	*
Wu	Pe	Tratamiento	1.14	7	0.3415	n.s	4.50	5	0.4796	n.s

Discusión

En la casa de sombra el efecto del tratamiento de endurecimiento por *priming* y por enterramiento fue más claro que en el campo. Estas diferencias en el comportamiento germinativo tienen relación con la heterogeneidad espacio-temporal del ambiente de germinación y puede interpretarse desde diferentes ángulos: a) la disponibilidad de sitios seguros, b) el efecto del ambiente de germinación en la aclimatización de los individuos y c) la diversidad funcional Inter e intrapoblacional, producto del desarrollo de la semilla en un ambiente heterogéneo y de su variabilidad genética. La variabilidad fisiológica en respuesta a un ambiente heterogéneo se mantuvo a pesar de que se intentó reducirla con los pretratamientos previos (enterramiento y *priming*).

En el campo se pudieron identificar respuestas que ocurrieron a distintos niveles. 1) Para ambas especies y ambas poblaciones la emergencia fue más alta en los dos lugares expuestos del Ajusco (en el sitio abierto y en el claro) y el sitio abierto del Pedregal; lo que refleja las preferencias de hábitat de las especies. El claro del Pedregal es un sitio más sombreado, dado que tiene más abundancia de especies arbustivas y arbóreas que el claro del Ajusco, ahí los árboles solo crecían en los márgenes del claro, lo que pudo reducir la emergencia en ese lugar.

2) Cuando las semillas de la especie de filiación tropical, con una distribución geográfica y ambiental amplia (*W. urens*, crece desde el nivel del mar hasta los 2500 msnm) se desarrollan en un ambiente más adverso como el Pedregal, donde la roca volcánica está más expuesta y tiene suelos someros, por lo que es una isla de calor; las semillas tienen un buen desempeño en cualquier sitio de siembra.

Mientras que, las semillas que crecen en el sitio de mayor altitud (más favorable), con mayor desarrollo de suelo, menos exposición de roca volcánica, más humedad disponible, un

pretratamiento de enterramiento en un sitio más adverso (pedregal incrementó las probabilidades de emergencia).

3) Mientras que en el caso de la especie de filiación templada, con distribución más restringida (*B. cordata* sólo crece a 2250-3000 msnm), las plántulas tuvieron una mayor emergencia cuando las semillas que les dieron origen se desarrollaron estuvieron enterradas en el mismo sitio (Pedregal o Ajusco) en que estuvieron enterradas. Estas respuestas podrían ser derivadas tanto de la información genética de la especie como de la aclimatización en etapas previas a la germinación.

La variabilidad en la respuesta germinativa y la emergencia en el campo no sólo se debe a que las semillas provienen de ambientes heterogéneos, durante el enterramiento y la germinación en el campo, también estuvieron expuestas a un ambiente heterogéneo y cambiante, que pudo amplificar las diferencias entre los individuos e integrar las experiencias acumuladas a través de la historia de la semilla (sensu Chambers & MacMahon 1994, Hilhorst 1997).

El concepto de sitio seguro, plantea que las semillas germinan hasta que se encuentran en un sitio en el que existan las condiciones favorables para la germinación y el establecimiento de la plántula (Harper 1977, Murray 1986). Las condiciones de una cámara de germinación pueden considerarse como las de un sitio seguro, homogéneo y estable. Sin embargo, estas condiciones favorables para la germinación se modifican a medida que el número de variables controladas se reducen. En la casa de sombra hubo una protección relativa a la variación en los factores ambientales (temperatura y humedad disponible en el sustrato), mientras que en el campo no la hubo.

Podría suponerse que en un sitio seguro, homogéneo y estable cualquier individuo o semilla puede germinar, siempre y cuando las condiciones sean las adecuadas para estimular la germinación (Baskin y Baskin 1998). Sin embargo, incluso en

una condición única, homogénea espacialmente y predecible en el tiempo, la respuesta fisiológica esperada no ocurre necesariamente simultáneamente en la totalidad de la población, de las poblaciones de una especie, debido a que en ellas existe una gran variabilidad y diversidad funcional (Spicer y Gastón 1999).

Independientemente de la variabilidad genética, éstas respuestas también son producto de las variaciones en las condiciones ambientales durante el desarrollo, previas a la germinación, o durante la imbibición, las cuales constituyen señales ambientales que preparan a las semillas para germinar en el momento oportuno (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia 1994). Por lo tanto, en la casa de sombra y en el campo, en donde existen condiciones microambientales heterogéneas y azarosas, las diferencias individuales que no se expresan en un sitio homogéneo y estable se expresan en la casa de sombra o en el campo en respuesta a la heterogeneidad ambiental.

Por otra parte, ya sea en la casa de sombra o en el campo, el suelo está constituido por una matriz heterogénea integrada por tres fases (gaseosa, líquida y sólida) que interactúan con los otros factores del ambiente y con la semilla (Karssen y Hillhorst 2000), en esta matriz las relaciones espaciales entre la semilla y el suelo pueden resultar en una resistencia física a la emergencia de la plántula, que imposibilitan la emergencia de plántulas derivadas de semillas muy pequeñas como las especies estudiadas; a diferencia de lo que ocurre sobre la superficie homogénea del agar, en las cajas de Petri,

Desde la siembra, las semillas en la casa de sombra, al igual que en una caja de Petri, estuvieron expuestas a humedad constante durante el periodo de incubación previo a la germinación, mientras que en el campo estuvieron expuestas a fluctuaciones en la humedad del suelo. Dado que la imbibición es un proceso regulado por las relaciones hídricas que se establecen entre la semilla y el sustrato (Taiz y Zeiger 1991), el

grado de hidratación de la semilla también fue fluctuante, lo que pudo dar lugar a que el conjunto de semillas que estuvieron en el campo, incluso las control, estuvieran expuestas a tratamientos de hidratación-deshidratación (priming natural), similares a los que sufrieron las semillas en el suelo durante el tratamiento de enterramiento, por lo que las diferencias atribuibles al priming y al enterramiento en condiciones de campo se reducen.

En la literatura se ha discutido el efecto de la heterogeneidad ambiental, durante las diferentes etapas de la vida de la semilla, en las características fisiológicas de la semilla, en particular su papel en la adquisición o rompimiento de los ciclos de latencia y en la inducción de la aclimatización de la plántula, (Bazzaš 1996, Baskin y Baskin 1998, Allen y Meyer 1998, Gutterman 2000 González-Zertuche *et al.* 2001), con base en los resultados obtenidos se debe subrayar el papel que tiene el ambiente, en el lapso de tiempo en que las semillas permanecen en el suelo, desde la siembra o la diseminación hasta la germinación (Thannos 1997, Thompson K 1992 Hillhorst y Karssen 2000).

Durante su permanencia en el suelo, las semillas están expuestas a las fluctuaciones de humedad producidas por lluvias azarosas y discontinuas, que caracterizan el inicio de esta época, lo que favorece que pasen por periodos de hidratación y deshidratación (caracterizados por temperaturas de incubación particulares), cuyo efecto en las semillas se acumula permitiendo la aclimatización de la futura plántula. En semillas del mediterráneo se ha demostrado que las semillas no germinan en respuesta a la primeras lluvias, germinan rápidamente cuando éstas se establecen (Thannos 1997). Esta conducta germinativa se considera una adaptación al clima mediterráneo, estacional con lluvias azarosas antes del establecimiento de la estación lluviosa.

En este tipo de respuestas juega un papel importante el umbral de respuesta germinativa al potencial osmótico del

suelo, el cual está por arriba o muy cerca de la capacidad de campo en semillas de ambientes áridos, mientras que es más bajo en especies de ambientes méxicos, lo que constituye una adaptación que permite que la germinación ocurra hasta que las lluvias están establecidas (Allen *et al.* 2000). El requerimiento de un alto potencial osmótico en el suelo para la germinación (datos no mostrados) en las especies estudiadas favoreció que todas las semillas sembradas en el campo experimentaran un priming, en forma natural, durante las lluvias iniciales.

Las semillas de *B. cordata* y *W. Urens*, utilizadas en este trabajo, provienen de zonas caracterizadas por su heterogeneidad espacial y su discontinuidad temporal (Rzedowsky y Rzedowsky 1985). Además, germinan en un ambiente con gran variedad de microhabitats entre las rocas, rodeadas de una gran diversidad de especies que pueden funcionar como plantas nodrizas, que pueden proteger a las plántulas de las temperaturas extremas, de la alta radiación solar y de la evaporación del agua del suelo (Valiente-Banuet & Ezcurra 1991), ya sea por el efecto del sombreado permanente o el de sombras efímeras que también pueden reducir el efecto estresante del ambiente.

Dada la heterogeneidad microambiental del Pedregal, la diversidad de sitios seguros también debe estar en función de la variabilidad y la diversidad funcional de las especies, por lo que en las semillas sembradas en el campo probablemente se presentaron altos porcentajes de germinación en sitios seguros que dependieron de la heterogeneidad del sitio y de la historia previa de los individuos.

Por lo tanto, a pesar de que las semillas previamente enterradas germinaron, en general, más en el campo que las semillas control o las que experimentaron un priming en el laboratorio, tuvieron diferencias menos amplias que en el invernadero o que en el laboratorio (capítulo anterior). Sin embargo, durante el enterramiento las semillas debieron haber

acumulado más información del ambiente que las semillas control o con priming.

En condiciones naturales, es difícil predecir que microambiente es seguro, ya que una gran cantidad de posibles combinaciones de condiciones ambientales confluye con una gran variabilidad funcional y/o genética entre los individuos de una especie; los sitios seguros estarían en función de esta interacción organismo-ambiente. Es posible asumir que, en gran medida, el polimorfismo fisiológico que se manifestó en la emergencia es producto del efecto del ambiente en las diferentes etapas de vida de la semilla. Esta interacción entre semilla y ambiente es resultado de un proceso evolutivo que, a través de la variación y la selección, maximiza la adecuación de los individuos a cada uno de los distintos microhabitats (Futuyma, 1989).

La expresión de las ventajas en la germinación adquiridas durante el priming de laboratorio no se expresaron en la casa de sombra o en el campo a diferencia de lo que ocurre en el laboratorio (ver el capítulo anterior). Mientras que, el efecto favorable del enterramiento se expresó en la casa de sombra y en el campo, aunque este efecto se reduce a medida que el ambiente es menos predecible y al tiempo en que las semillas, antes de la germinación, están expuestas a lluvias azarosas.

Existen evidencias significativas de que en la casa de sombra el enterramiento fue un pretratamiento que incrementó la emergencia y por tanto las posibilidades de establecimiento, ya sea porque incrementó la capacidad germinativa en las condiciones ambientales de la casa de sombra o porque incrementó el vigor de las plántulas permitiéndoles alcanzar la superficie.

En el campo las variaciones en la respuesta germinativa debidas a los sitios de enterramiento y sitios de siembra, y la posibilidad de que las semillas control hayan recibido un tratamiento de priming natural después de la siembra, impiden

que las diferencias entre control, priming y enterramiento sean significativas, sin embargo los resultados obtenidos sugieren que en el proceso de aclimatización una estancia prolongada en el suelo (enterramiento) es mejor que un breve periodo (control), como resultado de la integración que hacen los individuos de las señales del ambiente. La cual redundante en el desempeño fisiológico durante la germinación, la emergencia y el establecimiento de la plántula.

El éxito en el establecimiento debe ser resultado de la integración de la información filogenética, tocogenética (efecto materno) y ontogenética que percibe la semilla, sobre el ambiente en el que se encuentra durante la germinación y la emergencia, por lo que se requiere más información acerca del papel de las señales del ambiente, durante la permanencia de la semilla en el suelo.

Literatura citada.

- Allen P.S. y Meyer S.E. 1998. Ecological aspects of seed dormancy lost. *Seed Science Research* **8**:183-191.
- Baskin, C.C. y Baskin, J.M. 1998. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press, New York.
- Bazzaz, F.A. 1996. *Plants in changing environments*. Cambridge University Press, Great Britain
- Chambers J.C. y MacMahon J.A. 1994. A day in the life of a seed: Movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual. Rev. Ecol. Syst.* **25**:263-292.
- Futuyma DJ 1985 *Evolutionary Biology* Sinauers Asoc. Massachusetts USA .
- González-Zertuche L, Vázquez-Yanes C, Gamboa A, Sánchez-Coronado ME, Aguilera P y Orozco-Segovia A 2001 Natural priming of *W. urens urens* seeds during burial: Effects on germination, growth and protein expression *Seed Science Research* **11** :27-34
- Gutterman Y 1992 Maternal effects on seeds during development :27-60 En: Fenner M Ed. *Seeds. The ecology of regeneration in plant communities* 2ªEd. CAB International Wallingford UK
- Harper J L. 1977 *The population biology of plants*. Academic Press, NY. New York USA pp.

-
- Hilhorst HWM 1997 Seed dormancy *Seed Science Research* 7 221-223
- Hilhorst HWM 1998 The regulation of secondary dormancy. The membrane hypothesis revisited *Seed Science Research* 8 :77-90
- Karssen CM and Hilhorst HWM 2000 Effect of chemical environment on seed germination In: Fenner M. Ed *Seeds The ecology of regeneration in plant communities* CAB International Redwood PressUK Cap 11 : 327-348
- Murray, K.G. 1986. Consequences of seed dispersal for gap dependent plants: relationships between seed shadows, germination requirements, and forest dynamic processes. Pp. 187-198. In: Estrada, A. & Fleming, T.H. (eds), *Frugivores and Seed Dispersal*. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Rzedowsky, J. y Rzedowsky, G. 1985 Flora fanerogámica del Valle de México Vol 2 ENCB,IPN e Instituto de Ecología A. C. México.
- Thanos CA, Kadis CC y Skarou F 1995 Ecophysiology on germination in the aromatic plants thyme, savory and oregano (Labiatae) *Seed Science and Research* 5 :161-170
- Thompson K 1992 The functional ecology of seed banks :231-257 En: Fenner M Ed. *Seeds. The ecology of regeneration in plant communities* 2ªEd. CAB International Wallingford UK
- Valiente-Banuet A y Ezcurra E 1991 Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse plant *Mimosa luisana* in the Tehuacan Valley, Mexico. *Journal of Ecology* 79 :961-971.
- Vleeshouwers LM, Bouwmeester HJ and Karssen CM 1995 Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology *Journal of Ecology* 83 1031-1037

DISCUSIÓN GENERAL

El establecimiento de patrones de las respuestas fisiológicas ante la variación de las condiciones ambientales durante la fase de semilla es relevante en los proyectos de restauración. Con el fin de contribuir en el conocimiento y manejo, tanto de las semillas como de las plántulas y aumentar su vigor durante su establecimiento, se realizó este estudio en el sur de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. En esta zona la elevada tasa de desarrollo urbano, ha reducido las áreas con cubierta vegetal a proporciones mínimas.

Las pruebas experimentales se realizaron en dos áreas naturales protegidas que se utilizan para realizar pruebas sobre proyectos de restauración, se utilizaron semillas de *B. cordata* y *W. urens*, especies nativas del Valle de México que se consideran ruderales, por sus mecanismos de propagación y su resistencia al disturbio. El objetivo de este estudio fue establecer

patrones del comportamiento germinativo de estas dos especies, estudiar la posibilidad de aplicar los tratamientos de endurecimiento en especies silvestres y evaluar el efecto del enterramiento tanto en el comportamiento germinativo como en la emergencia de las plántulas, por lo que se realizaron pruebas en el laboratorio, en una casa de sombra y en el campo.

En general, la germinación y emergencia de *B. cordata* y de *W. urens* tiene lugar en una amplia variedad de microambientes, ya que crece desde los lugares más expuestos hasta los más sombreados (Rzedowski y Rzedowski 1985). Sin embargo, la germinación y la emergencia de las semillas de las poblaciones de estas especies variaron en relación con el origen de la semilla, el tratamiento, el sitio de enterramiento y el sitio de siembra. Estos resultados permiten suponer que las semillas de *B. cordata* y *W. urens* presentan un polimorfismo fisiológico en el comportamiento germinativo y en la emergencia de las plántulas.

El origen de esta variabilidad en las respuestas fisiológicas puede separarse teóricamente en el componente genético, tanto a nivel individual como poblacional, y el componente ambiental, tanto en las condiciones externas como las internas (efecto materno) durante el desarrollo de la semilla (Gutterman 1992, Baskin y Baskin 1998, Wulff 1995). Esta variación fisiológica se constató en los resultados para la germinación y la emergencia de las muestras control y las muestras con tratamientos de endurecimiento, tanto en las que se sembraron en las cámaras de germinación como en las que se sembraron en la casa de sombra y en el campo.

En algunas especies de plantas cultivadas se ha tratado de reducir la variabilidad genética y la fisiológica con el propósito de obtener plantas con características homogéneas que hagan predecible la duración de las distintas fenofases del cultivo y la producción. Esto se ha llevado a cabo de un largo proceso de

domesticación y a través del uso de técnicas de preaclimatación tales como el *priming*.

En general, las respuestas germinativas de *B. cordata* y *W. urens* a los tratamientos de *osmopriming*, no difiere de la reportada para plantas cultivadas (Bray 1995). Los tratamientos de *priming* aumentan la tasa de germinación con respecto al control; sin embargo, pueden incrementar o inhibir la capacidad germinativa (Chojnowsky *et al.* 1997, Saracco *et al.* 1995) en condiciones controladas, y esta diferencia se incrementa con la heterogeneidad ambiental presente en el campo.

Se sabe que cada especie y población responde de diferente forma al *priming*. En la misma especie o población la respuesta se puede modificar al variar el protocolo, es decir, al variar las condiciones ambientales (concentración y tipo de sales, luz y oscuridad, temperaturas, tiempo de imbibición, etc) en que se aplique el tratamiento (Bradford 1986, Cayuela *et al.* 1996, Pérez Alfocea *et al.* 1993, Kester *et al.* 1997, Tarquis y Bradford 1992, Fujikura *et al.* 1993). En el caso de *B. cordata*, la población del Ajusco fue más sensible al *hidropriming* y la población del Pedregal al *osmopriming*.

Las diferencias en la respuesta a los tratamientos de *priming* en el laboratorio pueden tener relación con las condiciones ambientales en que se encuentran las poblaciones. En el Pedregal las condiciones ambientales son más fluctuantes y estresantes que en el Ajusco. Así mismo, la población del Pedregal requirió de mayor tiempo de imbibición durante el tratamiento de *priming* para que se observaran los efectos del tratamiento. Con base en los cambios que inducen las condiciones particulares de cada tratamiento de *priming*, se pueden elaborar protocolos de *priming* específicos para cada población o especie, que incrementen su adecuación durante el establecimiento en los distintos microambientes.

Los resultados de las pruebas de germinación, después de varios meses de haberse aplicado el tratamiento, sugieren que la

disminución en los porcentajes de germinación no necesariamente se deben a una pérdida de la viabilidad de la semilla, como se suponía (Bray 1995), sino a la inducción de una latencia secundaria por el tratamiento (González-Zertuche *et al.* 2002).

En la casa de sombra la capacidad, la sincronía y la tasa de emergencia se favorecieron con el *osmopriming*. Sin embargo, en el campo sólo en el claro del Ajusco se mejoraron los parámetros de emergencia. Las ventajas del *priming* se expresaron azarosamente en los diferentes sitios de siembra, aunque en la literatura se ha reportado que se expresan principalmente en condiciones desfavorables (Ellis y Butcher 1988, Zheng *et al.* 1994, Sun *et al.* 1997).

El tratamiento de enterramiento mejoró la capacidad de germinación final y favoreció una germinación rápida y uniforme en una forma similar a los tratamientos de *priming* en especies cultivadas. Por esta razón, suponemos que durante el enterramiento existen condiciones similares a las que se aplican en los tratamientos de *priming*. En la literatura hay elementos que sugieren que durante el enterramiento, las lluvias y el sol, al hidratar y deshidratar las semillas, inducen respuestas similares a las del *priming* (Thannos 1995, Baskin y Baskin 1998, González-Zertuche *et al.* 2001). Éste es un proceso que debe ocurrir normalmente en el banco de semillas. De hecho, los procesos bioquímicos que se presentan durante el *priming* son similares a los que ocurren durante el enterramiento (González-Zertuche *et al.* 2001). Las semillas con enterramiento, tuvieron en general un mejor desempeño en algunos sitios que las tratadas con *osmopriming*; sin embargo, no se presentó un patrón general.

En el laboratorio, el enterramiento mejoró, consistentemente, sobre todo la capacidad de germinación y la sincronía. Las diferencias microambientales entre los diferentes sitios de enterramiento inducen mayores diferencias en la

respuesta de la semilla, que no se detectan en el laboratorio en temperatura constante, pero sí en temperatura alternante. La respuesta en la germinación y la emergencia sugiere que durante el enterramiento ocurrió un proceso de aclimatización de las semillas. Este proceso de aclimatización podría ser similar al que se logra en rizomas durante la permanencia en el suelo (Bazzaz 1996). En cambio durante los tratamientos de *osmoprining* se da un proceso de aclimatación a factores específicos (disponibilidad de agua a temperaturas bajas).

La aclimatización ocurre por la combinación compleja de diferentes factores ambientales que modifican los procesos fisiológicos. Los límites ambientales en los cuales puede ocurrir este proceso estarían genéticamente determinados (Spicer y Gaston 1999). Por ejemplo, se podría incrementar el tiempo de enterramiento durante el proceso de aclimatización de las semillas, hasta alcanzar el límite genético en el que se obtenga la respuesta deseada, de una forma similar a los resultados obtenidos al variar el tiempo de imbibición en los tratamientos de *priming* (González-Zertuche *et al.* 2002).

La permanencia de las semillas en el banco de semillas del suelo no sólo es importante para la regeneración natural de las zonas (Thompson 2000, Karssen y Hilhorst 2000), sino también para romper la latencia y para lograr la aclimatización de las semillas y las futuras plántulas. Los procesos fisiológicos que se llevan a cabo mientras las semillas permanecen en el suelo regulan su nivel de reposo y perciben las condiciones ambientales en las que se encuentran (Vleeshouwers *et al.* 1995).

Las fluctuaciones de luz, temperatura y potencial hídrico durante los tratamientos de *osmoprining* y enterramiento regulan el rompimiento o inducción de la latencia. La estratificación es uno de los principales tratamientos utilizados para romper parcial o totalmente la latencia (Baskin y Baskin 1998). Durante la estratificación ocurren cambios en la

sensibilidad a la luz, a los nitratos, a las GAs y al ABA (Hilhorst 1995); procesos similares pueden ocurrir durante el *priming* y la permanencia de las semillas en el suelo. Estos cambios bioquímicos y fisiológicos también se pueden expresar en el establecimiento de ciclos de latencia secundaria en las semillas (Karssen 1980a, 1980b, Hilhorst 1997, Baskin y Baskin 1998), y durante el *priming* (Gonzalez-Zertuche *et al.* 2002).

En este estudio, las semillas se enterraron en diferentes sitios con condiciones ambientales contrastantes: en el bosque, en un claro del bosque y en un sitio abierto de las dos localidades. En estos sitios la temperatura fluctúa ampliamente durante el día; por ejemplo en el bosque la temperatura disminuye hasta 5°C y en los sitios rocosos asciende hasta 40°C. Además, durante el enterramiento, cuando las lluvias no son continuas las semillas se hidratan y se deshidratan sucesivamente por la variación en la temperatura y humedad y las semillas que no germinan durante las primeras lluvias acumulan el efecto de los factores ambientales.

Esta variación en la temperatura y la humedad, induce o rompe ciclos de latencia fisiológica en las semillas enterradas (Allen y Meyer 1998). También estos ciclos estacionales de latencia pueden ocurrir durante largos periodos y mantener la longevidad de la semilla al ahorrar la energía de la semilla durante la latencia (Hilhorst 1997). Varios autores enfatizan el papel de las condiciones ambientales en el tiempo hidrotérmico (*hidrothermaltime*) de la germinación en las diferentes especies (Bradford 1994, Christensen *et al.* 1996, Allen y Meyer 1998, Finch-Savage *et al.* 2000).

También se han reportado otros tipos de cambios bioquímicos y fisiológicos relacionados con las diferencias en las condiciones de luz y temperatura durante el *osmopriming*, las cuales determinan que diferentes polipéptidos se expresen en las semillas durante el tratamiento (Dell' Aquila y Bewley 1989, Davison y Bray 1991, Bray 1995, Job *et al.* 1997). Los análisis

SDS-PAGE que se realizaron en *W. urens* del Ajusco indicaron que durante el enterramiento se formaron dos proteínas solubles a altas temperaturas que han sido reportadas en plántulas pretratadas con ABA y PEG (Bruggink y van der Torn 1995). Además, el bajo peso molecular de estas proteínas es similar a proteínas LEA que están relacionadas con la tolerancia a la desecación (Blackman *et al.* 1991, 1992). Hilhorst (1996) propuso un modelo para regular la latencia por temperatura a través de cambios en la disponibilidad de receptores para condiciones microambientales como el fitocromo y el nitrato.

Por todas estas evidencias, podemos suponer que la variación en las condiciones de luz, temperatura y potencial hídrico en los microambientes heterogéneos durante el enterramiento, influyen en la expresión de diferentes proteínas en la semilla que favorecen su aclimatización diferencial.

En la evolución de las semillas se han seleccionado mecanismos de percepción de señales de las condiciones del ambiente que regulan la germinación hasta que las semillas se encuentren en un sitio seguro (Harper 1977, Murray 1986). En estos sitios seguros existen condiciones favorables para la germinación y el establecimiento de la plántula. Por ejemplo, en el caso de semillas de especies pioneras como *Buddleja cordata*, las condiciones del sitio al que llega la semilla pueden ser distintas a las condiciones iniciales en las que se desarrollo la semilla.

Las diferencias en el comportamiento germinativo entre las poblaciones de *B. cordata* y *W. urens* que recibieron tratamientos de enterramiento y exhumación apoyan la idea de que después de la dispersión la variación en las condiciones ambientales en las que permanece la semilla en el suelo influyen en las características fisiológicas y morfológicas que se expresan durante la latencia, germinación y el establecimiento (Chambers y MacMahon 1994, Baskin y Baskin 1998).

Estas diferencias en la emergencia entre las poblaciones de *B. cordata* y *W. urens* son una evidencia de que cada población de semillas tiene un desempeño particular de acuerdo a las condiciones ambientales en las que se desarrolló (Guterman 1992, 2000). Por tanto, estos resultados enfatizan la importancia de ser muy cuidadosos en la selección del lote (*stocktype*) de semillas para la reforestación y la restauración, porque las características del lote de semillas puede tener un profundo impacto durante el establecimiento de las plántulas (Hobbs 1984) y por lo tanto, en el éxito del proyecto de reforestación o restauración ecológica (González-Zertuche *et al.* 2002).

CONCLUSIONES

- ◆ El efecto de los tratamientos de endurecimiento en especies **silvestres** es similar al efecto reportado en especies **agrícolas**.
- ◆ Los tratamientos de **endurecimiento mejoraron los parámetros** de germinación y emergencia cuando las semillas de *Buddleja cordata* y *Wigandia urens* se sembraron tanto en el laboratorio, como en las casa de sombra y en el campo.
- ◆ El **enterramiento** actuó como un tratamiento de **endurecimiento natural** (Natural priming) y **aclimatizó** a las semillas a diferentes condiciones ambientales de germinación de *Buddleja cordata* y *Wigandia urens*.
- ◆ Durante el tratamiento de endurecimiento se indujo en las semillas *Wigandia urens* **la expresión de proteínas** similares a las que regulan la desecación y la germinación.

- ◆ Las **condiciones estresantes** de los tratamientos de endurecimiento en las semillas de *Buddleja cordata* **indujeron una latencia impuesta** que se rompió después de un periodo de almacenamiento.
- ◆ Las **condiciones ambientales** en las que se **desarrollaron** las semillas de *Buddleja cordata* y *Wigandia urens* tuvieron un efecto en la respuesta fisiológica de las semillas a los tratamientos de endurecimiento.
- ◆ Las semillas de *Buddleja cordata*, que durante su desarrollo estuvieron en sitios con baja disponibilidad de agua o altas fluctuaciones de temperatura, fueron más sensibles al **endurecimiento** con **soluciones osmóticas** y las semillas que se desarrollaron en sitios con mayor humedad fueron más sensibles al **endurecimiento con agua**.

PERSPECTIVAS

- Estas técnicas en el que se logra un mejoramiento en el desempeño de las plántulas, serían útiles en las **prácticas de agroforestería** porque **reducirían la época de cuidados** en el establecimiento de especies silvestres.
- Los tratamientos de endurecimiento, tienen un **alto potencial** para aplicarse en la **reforestación o restauración ecológica** o en áreas semiáridas en que los periodos de lluvia son cortos y existe baja disponibilidad de agua.

- Los procesos naturales de percepción de las señales del ambiente durante el **desarrollo** y **permanencia** de la semilla en el suelo, son relevantes en los procesos de aclimatación y aclimatización de las semillas a los tratamientos de endurecimiento en el laboratorio.
- El diseño de **protocolos** con mayor efectividad para las condiciones **estresantes** de las zonas perturbadas, y los estudios para establecer criterios para seleccionar los lotes de semillas (especie y población local) adecuados para cada región, son relevantes en el éxito del establecimiento de las plántulas en los programas de reforestación.
- La variación en las respuestas fisiológicas de la semilla durante la germinación y emergencia son producto de la **integración** de la **información** sobre el ambiente que la semilla percibió durante su existencia.
- Parece razonable asumir que el éxito en el establecimiento de la plántula implica una **integración y expresión** de la **información** ontogenética, tocogenética y filogenética que posee la semilla durante la germinación y emergencia.

Literatura citada

- Allen PS y Meyer SE 1998 Ecological aspects of seed dormancy lost. *Seed Science Research* 8 :183-191
- Baskin CC y Baskin JM 1998 Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press San Diego USA
- Bazzas FA 1996 Plants in changing environments: Linking physiological, population and community ecology. Cambridge, Cambridge University Press.
- Blackman SA Obendorf RL y Leopold AC 1992 Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds. *Plant Physiology* 100 :225-230
- Blackman SA Wettlaufer SH Obendorf RL y Leopold AC 1991 Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. *Plant Physiology* 96 :68-874
- Bradford KJ 1986 Manipulation on seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *HortScience* 21 :1105
- Bradford KJ y Haigh AM 1994 Relationships between accumulated hydrothermal time during seed priming and subsequent seed germination rates. *Seed Science Research* 4 :63-69
- Bray CM 1995 Biochemical process during the osmopriming seeds. :767-789 En: Kigel y Galili Eds Seed development and germination M. Decker Inc. New York USA
- Bruggink GT y van der Toorn P 1995 Induction of desiccation tolerance in germinated seeds. *Seed Science Research* 5 :1-4
- Cayuela E, Pérez Alfocea F, Caro M y Bolarin MC 1996 Priming of seeds with Na Cl induce physiological changes in tomato plants grown under salt stress. *Physiologia plantarum* 96 :231-236
- Chambers JC y MacMahon JA 1994 A day in the life of a seed: Movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual Rev. Ecol. Syst.* 25 :263-292.
- Chojnowski M Corbineau F y Come D 1997 Physiological and biochemical changes induced in sunflowers seeds by osmopriming and subsequent drying storage and aging. *Seed Science Research* 7 :323-331
- Christensen MN Meyer S y Allen P 1996 A hydrothermal time model of seed after-ripening in *Bromus tectorum* L. *Seed Science Research* 6 :155-163
- Davison PA y Bray CM 1991 Protein synthesis during osmopriming of leek seeds *Seed Science Research* 1 :29-35
- Dell' Aquila A y Bewley JD 1989 Protein synthesis in the axes of polyethylene glycol treated pea seeds and during subsequent germination. *Journal of Experimental Botany* 40 :1001-1007
- Ellis RH y Butcher PD 1988 The effects of priming and 'natural' differences in quality amongst onion seeds lots on the response of the rate of germination to temperature and the identification of characteristics under genotypic control. *Journal of Experimental Botany* 39 :935-950

- Finch-Savage WE Phelps KL Peach KL y Steckel JRA 2000 Use of threshold germination model under variable field conditions :489-497 En: Black M Bradford KJ y Vásquez-Ramos J Eds. *Seed Biology Advances and applications* CAB International Publishing.
- Fujikura Y Kraak HL Basra AS y Karssen CM 1993 Hydropriming a simple and inexpensive priming method. *Seed Science and Technology* 21 :639-642
- González-Zertuche L, Baskin JM, Baskin CC y Orozco-Segovia 2002 Effects of priming on germination of *Buddleja cordata* ssp *cordata* (Loganiaceae) seeds and possible significance *Seed Science & technology* . in press
- González-Zertuche L, Vázquez-Yanes C, Gamboa A, Sánchez-Coronado ME, Aguilera P y Orozco-Segovia A 2001 Natural priming of *Wigandia urens* seeds during burial: Effects on germination, growth and protein expression *Seed Science Research* 11 :27-34
- Gutterman Y 1992 Maternal effects on seeds during development :27-60 En: Fenner M Ed. *Seeds The ecology of regeneration in plant communities* 2ªEd. CAB International Wallingford UK
- Gutterman Y 2000 Genotypic and phenotypic germination survival strategies of ecotype on annual plant species in Negev desert of Israel :389-399. En: Black M Bradford KJ y Vásquez-Ramos J Eds. *Seed Biology Advances and Applications* CAB International Publishing.
- Harper J L. 1977 *The population biology of plants*. Academic Press, NY. New York USA pp.
- Hilhorst HWM 1997 Seed dormancy *Seed Science Research* 7 :221-223
- Hilhorst HVM 1996 An integrating model for seed dormancy cycling: characterization reversible sensitivity :341-360 En: Lang G Ed. *Plant dormancy physiology, biochemistry and molecular biology* CAB International. Wallingford UK
- Hilhorst HWM 1995 A critical update on seed dormancy I Primary dormancy *Seed Science Research* 5 :61-73
- Hobbs SD 1984 The influences of species and stocktype selection on stand establishment: an ecophysiological perspective :177-224 En: Duryea ML y Brown GN Eds. *Seedling physiology and reforested success* Dr. W Junk Publishers. Dordrecht .
- Job C, Kersulec A, Rivasio L, Chareyre S, Pepin R, y Job D. 1997 The solubilization of the basic subunit of sugar beet seed 11-s globulin during priming and early germination. *Seed Science Research* 7 :225-243
- Karssen CM 1980a Environmental conditions and endogenous mechanisms involved in secondary dormancy of seeds *Israel Journal Botany*. 29 :65-73
- Karssen CM 1980b Patterns of changes in dormancy during burial of seeds in soil *Israel Journal of Botany*, 29 : 45-64
- Karssen CM y Hilhorst HWM 2000 Effect of chemical environment on seed germination :327-348 En: Fenner M Ed. *Seeds The ecology of regeneration in plant communities* 2ªEd. CAB International Wallingford UK.

- Kester ST, Geneve RL y Hout RL 1997 Priming and accelerated ageing affect l-isoaspartyl methyltransferase activity in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) seed. *Journal of Experimental Botany* 8 309 :943-949
- Murray KG 1986 Consequences of seed dispersal for gap dependent plants: relationships between seed shadows, germination requirements, and forest dynamic processes. :187-198. En: Estrada A y Fleming TH Eds. Frugivores and Seed Dispersal. Dr. W. Junk Publishers Dordrecht .
- Pérez-Alfocea F, Estaño M Caro M y Bolarin MC 1993 Response of tomato cultivars to salinity *Plant Soil* 150 :203-211
- Rzedowoski J y Rzedowoski GC 1985 Flora Fanerogámica del Valle de México, Vol II. Dicotiledoneae. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Instituto de Ecología A. C. DF México
- Sarraco F, Bino RJ, Bergevoet JHW y Lanteri S 1995 Influences of priming induced nuclear replication activity on storability of pepper (*Capsicum annum* L.) seed. *Seed Science Research* 5 :25-29
- Spicer JI y Gaston KJ 1999 Physiological diversity and its ecological implications. Blackwell Science Ltd. 241 pp.
- Sun WQ, Koh DC y Ong Ch 1997 Correlation of modified water absorption properties with the decline of storage stability of osmotically-primed seed of *Vigna radiata* L. Wilczek. *Seed Science Research* 7 :391-397
- Tarquis AM y Bradford KJ 1992 Pre-hydration and priming treatment that advances germination also the rate of deterioration of lettuce seeds. *Journal of Experimental Botany* 43 248 :307-317
- Thanos CA, Kadis CC y Skarou F 1995 Ecophysiology on germination in the aromatic plants thyme, savory and oregano (Labiatae) *Seed Science and Research* 5 :161-170
- Thompson K 2000 The functional ecology of seed banks :231-257 En: Fenner M Ed. Seeds. The ecology of regeneration in plant communities 2ªEd. CAB International Wallingford UK
- Vleeshouwers LM Bouwmeester HJ y Karssen CM 1995 Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology *Journal of Ecology* 83 :1031-1037
- Wulff RD 1995 Environmental maternal effects on seed germination :491-505 En: Kigel y Galili Eds. Seed development and germination M. Decker Inc. New York USA
- Zheng G, Wilen RW, Slinkard AE y Gusta LV 1994 Enhancement of canola seed germination and seedling emergence at low temperature by priming. *Crop Science* 34 :1589-1593.

SITIOS DE ESTUDIO Y ESPECIES

SITIO DE ESTUDIO

Las semillas de *Buddleja cordata* y de *Wigandia urens* se colectaron en la *Reserva del Pedregal de San Ángel* y en el *Parque Ecológico de la Ciudad de México*.

Estas áreas protegidas se localizan en el sur de la Ciudad de México, en una amplia zona de pedregales derivados de la erupción del Xitle, que forma parte del Eje Neovolcánico. El derrame volcánico ocurrió hace 2 500 años y cubrió aproximadamente una área de 80 km², desde la falda del Ajusco hasta el pueblo de San Ángel. En la actualidad, la mayoría del pedregal está ocupado por asentamientos humanos.

El pedregal está formado principalmente por roca ígnea basáltica de olivino con afinidad alcalina y arena volcánica. El color de la roca es gris oscuro, presenta gran cantidad de

oquedades y grietas de profundidad y forma variable. Los suelos que se han formado sobre la lava son de origen eolítico y orgánico, con un espesor de muy pocos centímetros. Sus constituyentes son arenosos, limosos, moderadamente ácidos, poseen gran cantidad de potasio y calcio y son pobres en nitrógeno y fósforo (Rzedowsky 1954).

En términos generales, comparte las características climáticas del sur del Valle de México: clima templado, sin estación fría pronunciada, estación lluviosa de junio a octubre, presión atmosférica baja, la humedad absoluta es baja y la relativa varía con la temperatura. De acuerdo con la clasificación de Köepen (modificada por García 1988) es *Cb Wo Wi* equivalente a un clima templado subhúmedo con régimen de lluvias en verano.

El pedregal presenta una topografía accidentada, por las formas caprichosas del derrame de la lava se formaron grietas, fracturas, pendientes y texturas muy diversas que da origen a un medio muy heterogéneo con gran cantidad de microambientes, lo cual ha permitido el establecimiento de una flora muy variada (Diego 1970).

La vegetación en la zona de los pedregales es de muy variado origen y composición. Se encuentra en la zona de transición entre la región neártica y neotropical y contiene elementos florísticos y faunístico de ambas (Álvarez *et al.* 1985). En la parte alta del derrame se encuentran el bosque de *Alnus firmifoliae*, el bosque de *Pinus hartwegi* y *Pinus teocote* y bosques de *Quercus spp.* Hacia el fondo del Valle en las zonas de menor altitud predomina la asociación formada por el palo loco, *Senecio praecox*, que ocupa la mayor extensión del área de la *Reserva del Pedregal de San Ángel*. Este tipo de asociación se clasifica como vegetación tipo matorral xerófilo abierto de estructura heterogénea (Rzedowsky 1988)

RESERVA DEL PEDREGAL DE SAN ANGEL

La *Reserva del Pedregal de San Ángel* forma parte de los terrenos de la Ciudad Universitaria que pertenecen a la Delegación Coyoacán del Distrito Federal. Esta zona se encuentra localizada en el sudoeste del Valle de México entre los paralelos 19°14' y 19°20' latitud norte, y los meridianos 99°08' y 99°14' longitud oeste; una altitud de 2250 m.s.n.m. (Rzedowsky 1954). El área protegida consta de 124.5 hectáreas (Rojo 1990) y está fragmentada en dos áreas por la Avenida de los Insurgentes. Es una de las comunidades menos perturbadas del Valle de México. Para esta zona se reportan 301 especies de plantas fanerógamas (Valiente-Banuet 1990).

Parque Ecológico de la Ciudad de México

El *Parque ecológico de la Ciudad de México* pertenece a la Delegación Tlalpan del Distrito Federal. Esta área se localiza en el km. 6 de la carretera Picacho-Ajusco sobre la ladera noreste del Ajusco, colinda al sur con terrenos que forman parte de la falda del Xitle y al norte con diversos asentamientos humanos. Esta zona se encuentra localizada en el sudoeste del Valle de México entre los paralelos 19°14' y 19°18' latitud norte, y los meridianos 99°10' y 99°15' longitud oeste. La altitud varía entre los 2500 y 2850 m.s.n.m. El sustrato es complejo y predomina el afloramiento de rocas volcánicas producto de la erupción del Xitle y conos adyacentes.

En 1989 se expropió esta área de 727 hectáreas, declarándola zona de conservación ecológica, por ser parte de las laderas del Valle de México donde se recargan los mantos acuíferos que abastecen la ciudad. Esta área estaba ocupada por asentamientos urbanos por lo que presenta grandes parches sin vegetación, pero aún alberga alta riqueza de especies, aproximadamente 420 especies de flora, 104 de aves, 108 de mariposas y 17 de mamíferos (Bonfil *et al.* 1997). Se reconocen

diferentes parches de vegetación, en las zonas de suelo más profundo hay bosque de encino de varias especies. *Quercus rugosa* y *Q. laurina* con *Arbustus jalapensis* y *Buddleia cordata*; en el derrame de lava hay matorral xerófilo similar al del *Pedregal de San Ángel*, en algunos sitios predomina, *Senecio preacox*, *Sedum oxypetalum*, *Dodonea viscosa* y varias especies herbáceas. En las zonas perturbadas surgen matorrales de herbáceas asociadas con *Buddleia cordata* y *Wigandia urens* (González-Hidalgo *et al.* 2001).

LAS ESPECIES

***Buddleja cordata* HBK spp *cordata* (Loganiaceae)**

La altura de *B. cordata* puede variar entre 1 y 20 m de altura por lo que se puede considerar como arbusto o árbol. Es una especie dioica de tallos rectangulares con las ramas más jóvenes con tomento estrellado denso; las hojas tienen líneas estipulares o en ocasiones estípulas foliosas, el pecíolo es de 1 a 7 cm de largo, su limbo es lanceolado, oblongo, ovado o elíptico de 5.5 a 24 cm de largo, serrado, serrulado, irregularmente serrulado o en ocasiones dentado, la base de la hoja es obtusa cuneada, cordada, truncada o raramente atenuada u oblicua, la venación es muy prominente en el envés, su textura es algo coriácea, la pubescencia, muy densa en el envés, es de color blanco brillante y caduca con el tiempo.

La inflorescencia está formada por grandes panículas terminales de (4) 14 a 25 (32) cm de largo, ramificada 2 a 4 veces y con brácteas en cada ramificación; las flores son blancas o amarillentas, campanuladas; el cáliz es tormentoso de 1.5 a 3 mm de largo; la corola de 3 a 4 mm de largo con lóbulos oblongos y extendidos más largos que el tubo, imbricados en el botón, y con pubescencia interna y externa. Los estambres son

sub-sésiles o con filamentos cortos y fuertes; el ovario ovoide con estilo conspicuo, el estigma claviforme, muy ligeramente bilabiado; el fruto es ovoide elipsoide, de 2.5 a 6 mm de diámetro, con dehiscencia septicida y loculicida, produce numerosas semillas semialadas, de 1 a 1.5 mm de largo por 0.2 a 0.4 mm de ancho (Rzedowsky y Rzedowsky, 1985).

Se distribuye desde Chihuahua y Tamaulipas hasta Guatemala. Esta especie está dividida en dos subespecies, de las cuales sólo la típica habita en el Valle de México: *Buddleia cordata* HBK *ssp cordata* (*B. humboldtiana* J. A. & J. H Schultes; *B. macrophylla* Kunth) Esta subespecie es una planta con el envés de las hoja provistos de pelos estrellados aplicados y pelos estrellados laxos, grandes y candelabriformes; la corola es amarillenta, generalmente con un toque anaranjado en la garganta.

Se le conoce con el nombre común de 'Tepozán'. Se encuentra ampliamente distribuida en el Valle de México, desde los 2250 hasta los 3000 m.s.n.m. en matorrales, pastizales y bosques, pero preferentemente en la vegetación secundaria y en los lugares intensamente perturbados, incluyendo las zonas urbanas, en donde en ocasiones se deja como árbol de ornato. Sus hojas se utilizan en infusión para evitar el exceso de sudor y como diurético (Rzedowsky y Rzedowsky 1985).

Se presenta en áreas perturbadas ya que es capaz de prosperar de forma natural en sitios con limitaciones de suelo y humedad, tienen un crecimiento rápido y su hojarasca representa un aporte importante para la formación de suelo. Además, esta planta es alimento para gran cantidad de insectos, también bajo su sombra se pueden formar micrositios para el establecimiento de especies de estadios sucesionales más avanzados (Cano y Oyama 1992).

***Wigandia urens* (Ruiz & Pavón) HBK
(Hidrophyllaceae)**

Wigandia urens (Ruiz & Pavón) HBK *Wigandia caracasana* HBK *Wigandia kuntii* Choisy *Wigandia scorpiodes* Choisy.

Es una planta erecta, robusta, arbustiva o arborescente, hasta de 6 m de altura; hojas con una coloración áurea o blanquecina debido a la pubescencia, esparcida o densamente cerdoso-hirsuta y a los pelos urticantes que muchas veces presentan, los pecíolos de las hojas son de 2.5 a 10 cm de longitud, los limbos son ovados, ovales u orbiculares, de 5.5 a 50 cm de largo en ocasiones mayores de 3.5 a 37 cm de ancho, tienen el ápice por lo general agudo o en ocasiones redondeados u obtuso, tomentoso a cerdoso hirsuto, su pubescencia está esparcida en el haz y es densa en el envés.

Las flores son cimas escorpioideas, generalmente terminales; los lóbulos del cáliz miden de 4 a 15 mm de longitud, pero más comúnmente de 7 a 10 mm y son densamente hirsutos; las corolas miden de 15 a 22 mm de longitud, son moradas violáceas, azules o lilas blanquecinas, ligeramente pilosas externamente en el extremo superior, son anchamente campanuladas con los estambres, de 12 a 15 mm, de largo unidos a la corola en $\frac{1}{4}$ de su longitud, los filamentos son pilosos en sus $\frac{3}{4}$ partes inferiores, las anteras son oblongas, de 3.5 a 6 mm de largo; el ovario es densamente hirsuto, los estilos miden de 8 a 13 mm o a veces más y tienen la mitad superior pilosa, los estigmas son claviformes; la cápsula es densamente hirsuta o hispida de 6 a 10 mm de largo; las semillas son numerosas, de forma variable poliédricas, trícuetras o cilíndricas, de 0.7 mm de largo, por 0.5 mm de ancho, castaño amarillentas, finamente reticuladas o alveoladas.

Se le conoce como 'Tabaquillo', 'ortiga de tierra caliente' ó 'tabaco cimarrón'. En el Valle de México se le ha reportado en Teoloyucán, Contreras, Coyoacán, Tlalpan, Xochimilco y La Paz,

aunque está mejor representada en la parte sudoeste del Valle. En esta región crece de 2250 a 2600 m de altitud, en matorrales, pero con frecuencia en lugares perturbados y como ruderal. Esta especie se distribuye de Sinaloa, Durango y San Luis Potosí a Colombia y Venezuela (Rzedowsky y Rzedowsky 1985).

Se ha usado vulgarmente contra afecciones sifilíticas y la cocción de las hojas se usa para el reumatismo; las hojas de esta planta también son usadas en general contra el insomnio. Muchos autores han distinguido varias especies en este género, pero un análisis realizado con base en material de herbario disponible muestra más bien que se trata de un taxón variable (Rzedowsky y Rzedowsky 1985).

Literatura citada

- Alvarez JR (Coord) 1985 Imagen de la gran capital Enciclopedia de México SA de CV. Cd de México México 316 pp.
- Bonfil C 1998 Dinámica poblacional y regeneración de *Quercus rugosa*: implicaciones para la restauración de bosques de encinos. Tesis de Doctorado en Ecología Inst. de Ecología. UNAM México
- Cano-Santana Z y Oyama K 1992 Variation in leaf pubescence of *Wigandia urens* and its implications for herbivory *Oecologia* 92 :405-409
- Diego N. 1970 Contribuciones a la flora silvestre de los alrededores del Jardín Botánico de la UNAM. Tesis de Licenciatura . Fac. de Ciencias UNAM México
- González-Hidalgo B, Orozco-Segovia A y Diego-Pérez N 2001 La vegetación de la Reserva Ecológica Lomas del Seminario, Ajusco, México *Boletín de la Sociedad Botánica de Mexico* 69 :77-99
- Rojo A 1994 Reserva ecológica "El pedregal de San Angel": Ecología, historia natural y manejo Universidad Nacional Autónoma de México, México DF México pp.
- Rzedowsky J 1988 La vegetación de México Limusa México pp.
- Rzedowsky J y Rzedowsky GC 1985 Flora Fanerogámica del Valle de México, Vol II. Dicotiledoneae. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Instituto de Ecología A. C. DF México pp.
- Rzedowsky J 1954 Vegetación del Pedregal de San Angel *Ann.Esc.Nal. de Cien. Biol. Mex.* 8 :59-129
- Valiente-Banuet A. y Luna E 1990 Una lista florística actualizada para la Reserva del Pedregal de San Angel, México, D.F. *Acta Botánica Mexicana* 9 :13-30.

MÉTODOS

En el diseño de todas las pruebas se utilizaron semillas de *Buddleja cordata* y de *Wigandia urens* que se colectaron durante febrero y abril respectivamente en la *Reserva del Pedregal de San Ángel* y en el *Parque Ecológico de la Cd. de México*.

DISEÑOS EXPERIMENTALES

1. Efecto del priming en la germinación de *Buddleja cordata* a) Endurecimiento en el laboratorio: a) Hidropriming b) Osmopriming. El diseño experimental incluyó una combinación de tratamientos representada por el factorial 2 (poblaciones) x 2 (tratamientos) x 6 (días de imbibición) (24 variables). Se realizaron tres réplicas por cada tratamiento (72 réplicas). Se sembraron 50 semillas por réplica (3600 semillas).

2. Osmoprimering y almacenamiento de semillas de *Buddleja cordata*. Las semillas se almacenaron durante 1, 26 y 52 semanas después de un tratamiento de endurecimiento en el laboratorio: osmoprimering. El diseño experimental incluyó una combinación de tratamientos representada por el factorial 2 (poblaciones) x 2 (control y osmoprimering) x 3 (periodos de almacenamiento) (12 variables). Se realizaron tres réplicas por cada tratamiento (36 réplicas). Se sembraron 50 semillas por réplica (1800 semillas).

3. Endurecimiento natural y su efecto en la germinación de semillas de *Buddleja cordata* y de *Wigandia urens* a) Control: las semillas se almacenaron en el laboratorio b) Endurecimiento en el laboratorio: Osmoprimering c) Endurecimiento natural por enterramiento en tres sitios de la *Reserva del Pedregal de San Ángel* d) Endurecimiento natural por enterramiento en tres sitios del *Parque Ecológico de la Cd. de México*. Las pruebas de germinación se llevaron a cabo: a) En una cámara de germinación con temperatura constante b) En una cámara de germinación con temperatura alternante. El diseño experimental consistió en una combinación de tratamientos representada por el factorial 2 (especies) x 2 (poblaciones) x 8 (control y tratamientos de endurecimiento) x 2 (condiciones de siembra) (64 variables). Se realizaron tres réplicas para cada tratamiento (192 réplicas). Se sembraron 50 semillas para cada réplica (9500 semillas).

4. Endurecimiento natural y emergencia en una casa de sombra de semillas de *Buddleja cordata* y de *Wigandia urens* a) Control: Las semillas se almacenaron en el laboratorio b) Endurecimiento en el laboratorio: Osmoprimering c) Endurecimiento natural: Enterramiento en tres sitios de la *Reserva del Pedregal de San Ángel* d) Endurecimiento natural: Enterramiento en tres sitios del *Parque Ecológico de la Cd. de*

México. Se sembraron las semillas dentro de una casa de sombra localizada cerca de la *Reserva del Pedregal de San Ángel*. El diseño experimental consistió en una combinación de tratamientos representados por el factorial 2 (especies) x 2 (poblaciones) x 8 (control y tratamientos de endurecimiento) (32 variables). Se pusieron tres réplicas por cada tratamiento (96 réplicas). Se sembraron 50 semillas por cada réplica (4800 semillas).

5. Endurecimiento natural y emergencia en el campo

Buddleja cordata* y de *Wigandia urens a) Control: Las semillas se almacenaron en el laboratorio b) Endurecimiento en el laboratorio: osmopriming c) Endurecimiento natural: Enterramiento en tres sitios de la *Reserva del Pedregal de San Ángel* d) Endurecimiento natural: Enterramiento en tres sitios del *Parque Ecológico de la Cd. de México* y siembra. La emergencia se evaluó en dos sitios de la *Reserva del Pedregal de San Ángel* y en dos sitios del *Parque Ecológico de la Cd. de México*. El diseño experimental abarcó una combinación de tratamientos representada por el factorial 2 (especies) x 2 (poblaciones) x 6 (control y tratamientos de endurecimiento) x 4 (sitios de siembra) (96 variables). Se realizaron tres réplicas por tratamiento (288 réplicas). Se sembraron 50 semillas por réplica (14, 400 semillas).

6. Expresión de proteínas en *Wigandia urens*. Se evaluó la expresión de proteínas únicamente en las semillas de en una de las poblaciones (*Wigandia urens* del Ajusco) después de aplicarse endurecimiento en el laboratorio (osmopriming en luz y oscuridad) y endurecimiento natural (en un claro del bosque del Ajusco). Por lo tanto el diseño experimental consistió en control, 2 condiciones de osmopriming y un sitio de enterramiento (4 variables).

PROCEDIMIENTOS GENERALES

Tratamiento de hidropriming. Para los tratamientos de endurecimiento por hidropriming las semillas se embebieron durante cuatro días a 12°C en agua.

Tratamiento de osmopriming. Para los tratamientos de endurecimiento por osmopriming las semillas se embebieron durante cuatro días a 12°C en una solución al 15% (-0.3 MPa) de poliethylene glycol (PEG) 8000 (Baker, USA).

Tratamiento de endurecimiento natural por enterramiento. Para los tratamientos de endurecimiento en el campo por enterramiento las semillas se empacaron en bolsas de organza y se enterraron a 5 cm de profundidad (en Marzo de 1998 las semillas de *Buddleia cordata* y en Mayo 1998 las semillas de *Wigandia urens*), en el suelo de tres sitios diferentes (abierto, bosque y en un claro del bosque) de cada localidad (Reserva y Parque) Cuatro meses más tarde (junio y agosto respectivamente) se desenterraron las bolsas y se secaron en un cuarto oscuro a temperatura ambiente.

Germinación en el laboratorio. Para las pruebas de germinación en el laboratorio se sembraron 3 muestras de 50 semillas en cajas de Petri en la superficie de una solución de agar en agua destilada al 1%. Las cajas de Petri se incubaron en: a) **temperatura constante**, en una cámara de germinación con un fotoperiodo de 12 h y con una temperatura constante de 25°C (455 Labline Instruments, Inc. Melrose Park. Il, USA), provistas de focos incandescentes de 25 watts y fluorescentes de 20 watts (blanco - frío); b) **fluctuación de temperatura**, en una cámara de germinación con un fotoperiodo de 12 h y con un termoperiodo de 20-35°C 16 y 8 h.

Emergencia. Para las pruebas de emergencia se sembraron (en agosto de 1998) 3 muestras de 50 semillas en canastitas de tela (10 X 8 cm) con 200 g de suelo esterilizado como sustrato. Las canastas se colocaron en: a) **casa de sombra**, localizada cerca

de la *Reserva del Pedregal de San Ángel*; b) **en el campo**, en tres sitios del *Parque Ecológico de la Ciudad de México* (abierto, claro del bosque y en el bosque) y en dos de la *Reserva del Pedregal de San Ángel* (abierto y claro).

Expresión de proteínas. Las proteínas se extrajeron con la técnica modificada de Blackman *et al.* (1991) y con un análisis de *Coomasie Plus Protein Assay Reagent* (Pierce).

REGISTRO Y ANÁLISIS DE DATOS.

En el laboratorio fue suficiente que los datos de germinación se registraran diariamente durante 2 semanas, mientras que en el campo cada tercer día se registró el número de plántulas que emergieron durante 4 semanas y cada semana se registró el número de plántulas que sobrevivieron durante 12 semanas.

Se calcularon los siguientes parámetros de germinación y de emergencia. a) Parámetros de germinación: Capacidad germinativa (*máximo número de semillas germinadas*), sincronía de la germinación (*intervalo de tiempo en que germinaron*), tasa máxima de germinación, tiempo promedio de germinación (*día en que se alcanza la máxima tasa de germinación*), tiempo para el inicio de la germinación (*lagtime, tiempo que se requiere para el disparo de la germinación*). b) Parámetros de emergencia: Capacidad de emergencia (*máximo número de plántulas que emergieron*), sincronía de la emergencia (*intervalo de tiempo en que emergieron*), tasa máxima de emergencia, tiempo promedio de emergencia (*día en que se alcanza la máxima tasa de emergencia*), tiempo para el inicio de la emergencia (*lagtime, tiempo que se requiere para el inicio de la emergencia*).

Para obtener los parámetros de la germinación se realizó el siguiente procedimiento: Los datos de germinación o emergencia acumulada se normalizaron con una función

arcoseno y se ajustaron a una función sigmoide exponencial $y = a / (1 + b * (\exp(-cx)))$. Para obtener la tasa máxima de germinación o de emergencia se calculó la primera derivada máxima (corresponde a la pendiente de la tangente en el punto de inflexión de la curva). Además se calculó la primera derivada para cada punto de la curva y estos datos se ajustaron con una función gaussiana $y = a + b * (\exp(0.5 * ((x-c)/d)^2))$ para obtener el tiempo promedio de germinación (c) o de emergencia y la sincronía de la germinación (d) o de emergencia (González-Zertuche *et al.* 2002). Para los ajustes de las curvas se utilizó el programa *Table Curve 2D, V. 3 (AISN. Software, Inc)*. Se realizaron pruebas de ANOVA para comparar los parámetros estimados para cada tratamiento, se utilizó el programa *Statgraphics, V. 5. Graphic Software Systems, Inc*.

La emergencia final se analizó con un análisis binomial de regresión logística y se estimó la probabilidad de emergencia como una función de los sitios de siembra y de los pretratamientos. El análisis se realizó con el programa JMP (vs. 3.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Literatura citada

- Blackman SA, Wettlaufer SH, Obendorf RL y Leopold AC 1991 Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. *Plant Physiology* 96 :68-874
- González-Zertuche L, Baskin JM, Baskin CC y Orozco-Segovia 2002 Effects of priming on germination of *Buddleja cordata* ssp *cordata* (Loganiaceae) seeds and possible significance *Seed Science & technology*