

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE CIENCIAS

**PRUEBAS BÁSICAS FISIOLÓGICAS EN SEMILAS PROCEDENTES
DE PLANTAS ENDÉMICAS Y EN PELIGRO DE EXTINCIÓN
DEL VALLE DE TEHUACÁN-CUICATLÁN**

T E S I S

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

P R E S E N T A

MARÍA ADELAIDA OCAMPO LÓPEZ

DIRECTORA DE TESIS: DRA. PATRICIA DOLORES DÁVILA ARANDA

MÉXICO, D. F.

NOVIEMBRE 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi profundo agradecimiento a la Dra. Patricia Dávila Aranda por la dirección de esta tesis, por su ininterrumpida ayuda para realizarla, por sus acertadas sugerencias y revisiones a la misma, y por el apoyo incondicional brindado.

A las Dras. Guadalupe Judith Márquez Guzmán y Alicia Enriqueta Brechú Franco, por haber fungido como tutores y de quienes recibí siempre un gran apoyo y mucha paciencia para revisar esta tesis, por los innumerables consejos y valiosos comentarios a ésta, y por fungir como sinodales. A la Dra. Alma Delfina Lucia Orozco Segovia y al Dr. Rafael Lira Saade por revisar cuidadosamente la tesis y corregir la misma con un sentido crítico positivo y por fungir como sinodales.

Un especial agradecimiento a los Dres. Hugh Pritchard, Roger Smith y Simon Linington del Millennium Seed Bank de los Jardines Botánicos Reales de Kew, Inglaterra, por las sugerencias y comentarios sobre la tesis. Al Consejo Británico por el apoyo otorgado para realizar la primera estancia en el Banco de Semillas de Kew y al Biólogo Michael Way por el apoyo otorgado para realizar la segunda estancia en el mismo. También, expreso un agradecimiento a los Biólogos Janet Terry y James Wood y al Dr. Robin Probert por compartir sus conocimientos y por todo lo que aprendí en el banco de semillas del milenio.

Al Departamento de Botánica del Instituto de Biología UNAM, por las facilidades de desarrollar esta tesis y el final de las correcciones en la misma. A los Dres. Gerardo Salazar, Claudio Delgadillo y Miguel Ulloa por su apoyo para llevar a término esta tesis y el acceso a la biblioteca y a una computadora.

**“IF YOU CAN LOOK INTO THE SEEDS OF TIME,
AND SAY WHICH GRAIN WILL GROW
AND WHICH WILL NOT,
SPEAK, THEN TO ME”
SHAKESPEARE, MACBETH I, III (1606)**

ÍNDICE

RESUMEN	
AGRADECIMIENTOS	
INTRODUCCIÓN	
Conservación de Germoplasma	1
ANTECEDENTES	
Bancos de Germoplasma	7
OBJETIVOS	
Objetivos Particulares	9
ÁREA DE ESTUDIO	
VALLE DE TEHUACÁN-CUICATLÁN	10
MATERIALES Y MÉTODO	
Trabajo de Herbario y Campo	11
Trabajo de Laboratorio	15
Limpieza de Frutos	15
Número de Diásporas	16
Morfología de las Diásporas	16
Contenido de Humedad Inicial	17
Deshidratación Parcial	17
Empaquetamiento y Almacenamiento	18
Germinación	19
Disección, Tricloruro de Tetrazolio y Rayos X	22
RESULTADOS	
Características Morfológicas	25
Humedad y Deshidratación Parcial.....	37
Germinación antes del Almacenamiento	42
Germinación después del Almacenamiento	47
Clasificación del tipo de Germinación y Plántulas	67
Viabilidad y Calidad de las Muestras	68
DISCUSIÓN GENERAL	74
CONCLUSIONES	89
RIESGOS Y PROBLEMAS	92
LITERATURA CITADA	94

RESUMEN

Con base en la información florística-taxonómica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán y con la imperiosa necesidad de iniciar un banco de germoplasma que conserve diásporas de especies silvestres provenientes principalmente de la flora endémica y amenazada de esta zona, se propuso un proyecto de investigación que nos permite ligar la formación de un Banco de Semillas en México, con la recopilación de evidencias morfológicas y fisiológicas de las diásporas bajo las condiciones de almacenamiento a largo plazo. Para cumplir con este objetivo se ha contado con el apoyo y se han seguido los métodos y técnicas desarrollados por el Banco de Semillas de los Jardines Botánicos Reales de Kew, en Inglaterra y por el IBPGR International Board Plant Genetic Resources (ahora IPGRI). Un periodo de entrenamiento, la obtención de equipo y la adaptación de los métodos propuestos a nuestras necesidades e infraestructura representó el inicio de este proyecto. En este estudio se ha hecho especial énfasis en el reconocimiento de los atributos morfológicos y fisiológicos de las especies de *Acanthothamnus aphyllus*, *Buxus mexicana*, *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis*. Para estas especies se discuten los principios metodológicos, los parámetros de evaluación tomados en cuenta y los resultados obtenidos. A través de los valores generados durante las pruebas de germinación y viabilidad, se ha visto que los procesos de deshidratación parcial y almacenamiento a baja temperatura han sido favorables, ya que han permitido un almacenamiento exitoso de las semillas de estas taxa. Por último se discuten las perspectivas y limitaciones de este tipo de banco de semillas.

ABSTRACT

On the basis of a comprehensive taxonomic and floristic information of the Valley of Tehuacan-Cuicatlan and with the need to initiate a germplasm bank that can conserve the seeds of wild species from major arid and semiarid regions of Mexico, especially those that are endemic or endangered, this project was carried out. The main goals of the project were to initiate the formation of a seed bank of wild species in Mexico, in order to generate morphological and physiological seed data of endemic and endangered plant species under long term storage conditions. To overcome these objectives the methods and techniques developed by the Seed Bank of Royal Botanic Gardens, Kew, in England and for the IBPGR, International Board Plant Genetic Resources (now IPGRI) have been followed. A period of training at RBG Kew, the reception of equipment and the adaptation of the RBG, Kew seed bank methods to our needs and infrastructure, represented the beginning of this project. In this study a special emphasis has been done, for the recognition of the morphological and physiological characteristics of the following species: *Acanthothamnus aphyllus* (Celastraceae), *Buxus mexicana* (Buxaceae), *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* (Cactaceae) and *Hechtia fragilis* (Bromeliaceae). For these species the methodological principles, the evaluation of seed banking and basic seed physiological parameters are discussed. The germination and viability values show that the partial dehydration and subzero temperature of storage are favorable to the seeds, since its successful storage has been accomplished. Finally, the perspectives and limitations of this type of seed bank are discussed.

INTRODUCCIÓN

La preservación de la biodiversidad vegetal es una tarea prioritaria a realizarse. Para ello deberán combinarse métodos y técnicas de conservación **in situ** y **ex situ**, las cuales a su vez permitirán conocer y mantener la variabilidad genética de las especies.

En ocasiones la conservación **in situ** de la diversidad vegetal no puede realizarse en toda su extensión debido a la alta devastación de hábitats y a la actual presión existente sobre las áreas naturales que aún nos quedan. Tal es el caso de México, cuya vegetación está siendo deteriorada y disminuida cada día principalmente por factores humanos, lo cual hace muy compleja la tarea de protección de grandes áreas a nivel de reservas o parques nacionales. Por lo tanto, la vía complementaria para los recursos vegetales silvestres es la conservación **ex situ**, la cual, aunque no soluciona el problema completamente, sí ayuda en gran parte a este fin (Cromarty *et al.*, 1985; Ellis *et al.*, 1985a; Prendergast *et al.*, 1992; Smith *et al.*, 1998).

En un país como México, con una gran riqueza biótica y una alta tasa de endemismo, la conservación **in situ** y **ex situ** de su germoplasma es una tarea prioritaria, de esta manera se logrará obtener una preservación y un posible manejo de los recursos genéticos silvestres. Particularmente, es importante tratar de conservar el germoplasma de las especies silvestres que son endémicas o parientes silvestres de plantas económicamente útiles o aquellas cuya distribución se restringe a las zonas áridas y semi-áridas del país.

Al igual que las zonas tropicales húmedas, las zonas áridas están entre los ambientes más amenazados, un claro ejemplo es la desertificación, cuyo proceso de origen climático se ve reforzado aún más por las presiones humanas (Dávila *et al.*, 1995, 2002; Dávila y Herrera-MacBryde, 1997; Rzedowsky, 1991 b, 1993; Slageren, 2003). Un caso muy particular lo encontramos en las especies endémicas y de distribución restringida de la zona árida del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, cuyas poblaciones están siendo deterioradas y disminuidas rápidamente, por acciones tales como pastoreo, saqueo, incendios y uso del suelo para terrenos de cultivo (Casas *et al.*, 2001; Dávila *et al.*, 1995, 2002; Dávila y Herrera-MacBryde, 1997; Osorio *et al.*, 1996). Se considera que el efecto de todos estos factores puede ocasionar en el futuro, una baja tasa de sobre vivencia de las poblaciones, hasta, en algunos casos, llegar al grado de desaparecerlas.

De acuerdo con Flavel (1991), Jenkins (1977), Sala *et al.* (2000), Smith *et al.* (1998), un banco de germoplasma constituye un recurso genético importante para la conservación de la biodiversidad, y representa la materia prima para la propagación de las especies silvestres. Complementariamente, el almacenamiento de semillas en un banco de germoplasma, implica una estrategia de conservación selectiva de las especies silvestres, ya sea por uso tradicional, endemismo, distribución restringida, por estar en peligro de extinción o por otras razones (Cromarty *et al.*, 1985; Ellis *et al.*, 1985 a; Prendergast *et al.*, 1992; Smith, 1995; Smith *et al.*, 1998; Walters *et al.*, 1998; Wu *et al.*, 1998).

Los objetivos principales de este tipo de bancos son: a) la conservación de semillas a mediano y largo plazo; b) la regeneración, multiplicación y distribución de las mismas; c) la evaluación de sus parámetros fisiológicos; y d) la documentación de la variabilidad genética de las especies (Cromarty *et al.*, 1985; Ellis *et al.*, 1985 a; Linington y Smith, 1985; Prendergast *et al.*, 1992). El éxito de un banco de germoplasma a largo plazo depende de factores tales como el grado de madurez de los frutos y semillas en el momento de la recolecta, del contenido de humedad inicial y final de las semillas y de su tolerancia o intolerancia a la deshidratación.

Es decir, es muy importante conocer el contenido de humedad con el que las semillas son almacenadas, la longevidad de las mismas en temperaturas bajo cero, la mantención de sus tasas aceptables de viabilidad y de germinación, así como su habilidad para regenerar cantidades adecuadas de estas diásporas antes que la viabilidad decaiga más del 50% (Cromarty *et al.*, 1985; Ellis *et al.*, 1985 a; Linington y Smith, 1985; Smith, 1995).

El almacenamiento de semillas secas a temperaturas de congelación, involucra un comportamiento de tolerancia ó sensibilidad a estas condiciones, lo que se refleja en una alta o baja tasa de viabilidad y por consiguiente repercute en la longevidad de las mismas a través del tiempo (Cromarty *et al.*, 1985; Ellis *et al.*, 1985 a; Hong *et al.*, 1998; Tompsett, 1982). Con base en las características antes mencionadas, se ha establecido una clasificación del comportamiento de las semillas bajo almacenamiento. Así, se habla de que existen semillas "ortodoxas" (Roberts, 1972, 1973), "intermedias" (Ellis *et al.*, 1989 b, 1990 b) y "recalcitrantes" (Roberts, 1973).

El primer tipo de semillas son tolerantes a la deshidratación y específicamente cuando son almacenadas a temperaturas por debajo de cero, su viabilidad se incrementa y su longevidad se prolonga debido a que se mantienen en un estado

quiescente (Chin *et al.*, 1989; Ellis *et al.*, 1985 a; Roberts, 1972, 1973; Pammenter y Berjak, 1999; Smith *et al.*, 1998; Vertucci y Roos, 1991).

Por su parte, las semillas intermedias toleran un cierto grado de deshidratación; sin embargo, son muy sensibles al frío cuando son almacenadas a temperaturas sobre y bajo cero (Ellis *et al.*, 1989 b, 1990 b; Pammenter y Berjak, 1999; Tompsett y Pritchard, 1998; Wood *et al.*, 2000).

Sin embargo, las semillas recalcitrantes no toleran grandes deshidrataciones y pierden viabilidad o son dañadas cuando se almacenan a temperaturas cercanas a cero (Berjak *et al.*, 1990; Chin *et al.*, 1984, 1989; Ellis *et al.*, 1985 a; Fansworth, 2000; Pammenter y Berjak, 1999, 2000; Roberts, 1973; Roberts *et al.*, 1984).

Asimismo, se ha encontrado que la respuesta de las semillas de tolerancia y/o sensibilidad a la desecación y al almacenamiento a temperaturas bajas, están directamente relacionadas tanto con los aspectos del hábitat y hábito de la planta, como con las características morfológicas y fisiológicas de las mismas (Baskin y Baskin, 1998; Cromarty *et al.*, 1985; Chin *et al.*, 1984, 1989; Dickie y Pritchard, 2002; Ellis *et al.*, 1985 a; Hong y Ellis, 1996 a, b; Smith, 1995).

De acuerdo con la información disponible, las semillas recalcitrantes generalmente provienen de frutos grandes, carnosos y jugosos, pueden presentar una cubierta seminal esclerosada e impermeable o delgada y permeable o bien pueden estar recubiertas por un arilo jugoso y carnosos. Estas semillas son típicas de árboles perennes de los trópicos húmedos como es el caso de *Theobroma cacao*, de las zonas templadas y acuáticas como son *Quercus* spp., *Taxus* spp. y *Avicennia* sp. (Chin *et al.*, 1989; Dickie y Pritchard, 2002; Ellis *et al.*, 1985 a; Hong y Ellis, 1996 a; Pammenter y Berjak, 1999, 2000).

Por su parte, las semillas intermedias generalmente proceden de frutos jugosos y carnosos, tales como: *Coffea arabica* y *Carica papaya*. Estas semillas provienen de árboles y arbustos de las zonas tropicales (Chin *et al.*, 1989; Dickie y Pritchard, 2002; Ellis *et al.*, 1990 b; Hong y Ellis, 1996 a; Wood *et al.*, 2000).

En contraste, las semillas ortodoxas generalmente se originan de frutos secos y semi-carnosos. Ellas provienen por lo general de árboles, arbustos y hierbas anuales y perennes de las zonas áridas y semi-áridas (Chin *et al.*, 1989; Hong y Ellis, 1996 a). Por la literatura disponible, se sabe que la mayoría de las especies de las familias Asteraceae, Chenopodiaceae, Combretaceae, Lamiaceae, Leguminosae, Solanaceae y Pinaceae presentan semillas ortodoxas (Dickie y Pritchard, 2002; Ellis *et al.*, 1985 a;

Hong y Ellis, 1996 a; Hong *et al.*, 1998). Sin embargo, no existe información suficiente de otras familias, tales como: Buxaceae, Celastraceae, Bromeliaceae, Cactaceae, Arecaceae y Nolinaceae, por mencionar algunas.

Por otro lado, el contenido de humedad ha sido considerado como el factor más importante que controla las reacciones fisiológicas en las semillas y sus cambios dependen sobre todo de la humedad relativa y la temperatura del medio donde se encuentran, lo que trae como resultado una reducción o incremento en los porcentajes del contenido de humedad de las mismas.

En estudios previos, se ha registrado que un alto porcentaje del contenido de humedad se encuentra distribuido en el embrión y en el endospermo, mientras que un bajo porcentaje de este mismo se encuentra en la cubierta seminal, lo que se refleja en el peso y volumen de las semillas (Bewley y Black, 1994; Leopold y Vertucci, 1989). Sin embargo, la reducción extrema del contenido de humedad en estas estructuras durante la etapa de desecación de los frutos sobre la planta madre, puede ocasionar una no sobre vivencia de las semillas, debido a que los tejidos o estructuras se pueden colapsar y/o desintegrar (Kermode y Finch-Savage, 2002; Leprince y Golovina, 2002).

En el caso de las semillas recalcitrantes maduras se han registrado intervalos entre 45 y 70% de contenido de humedad, con base en el peso fresco, con un tamaño y peso promedio por unidad de dispersión de 42 mm y 14 g, respectivamente. En cambio para las semillas intermedias se ha encontrado entre un 25 y 60% de humedad, con base en el peso fresco, con un tamaño y peso promedio por unidad de dispersión de 31 mm y 7 gr, respectivamente. Para las semillas ortodoxas se han determinado valores entre 5 y 23% de humedad, con base en el peso fresco, con un tamaño y peso promedio por unidad de dispersión de 20 mm y 0.1 g, respectivamente (Chin *et al.*, 1989; Hong y Ellis, 1996 a, b; Hong *et al.*, 1998; Smith, 1995).

Con base en la experiencia adquirida en diferentes bancos de semillas, el IBPGR en colaboración con Cromarty *et al.* (1985) y Ellis *et al.* (1985 a) establecieron que, para una exitosa conservación del germoplasma, los estándares más adecuados de almacenamiento de semillas son: la temperatura (-18°C y -20°C) y la humedad relativa (15%). Bajo éstas condiciones, la actividad metabólica de las semillas es fuertemente reducida sin afectar su viabilidad, siempre y cuando se haya reducido en principio el contenido de humedad de las mismas, por medio de un proceso de deshidratación parcial y gradual (Dickie *et al.*, 1990; Ellis *et al.*, 1988, 1990 a; Roberts y Ellis, 1977, 1989).

Los modelos probados en especies recalcitrantes, intermedias y ortodoxas han indicado que el contenido de humedad de las semillas se incrementa conforme la humedad relativa aumenta y decrece al incrementarse la temperatura del medio y viceversa. En este sentido, el contenido de humedad de las semillas se reduce conforme decrece la humedad relativa y la temperatura del ambiente, hasta que, llegan al punto de equilibrio con la humedad relativa del medio (Ellis *et al.*, 1988, 1990 a; Roberts y Ellis, 1977, 1989).

Así, muchas semillas en un ambiente controlado con aire seco y frío pueden disminuir su contenido de humedad en un intervalo que oscila de 12 a 3%, en un tiempo promedio de 4 a 6 semanas para llegar al equilibrio con el medio (Cromarty *et al.*, 1985; Hong y Ellis, 1996 a, b; Ocampo *et al.*, 2003; Smith, 1995). Sin embargo, una deshidratación extrema de estas semillas a contenidos de humedad entre 0 y 3% y un almacenamiento a temperaturas entre 25 y 65°C, generalmente reducen significativamente la viabilidad y la longevidad de las mismas (Ellis *et al.*, 1990 a, 1995; Ellis, 1998; Hong y Ellis, 1996 a, b; Vertucci y Roos, 1991; Walters y Engels, 1998; Walters, 1998).

Si tomamos en cuenta estos parámetros extremos y consideramos las diversas condiciones que existen en la naturaleza (humedad, desecación, temperatura, luz), es evidente porque el monitoreo de la calidad y la viabilidad de las semillas es uno de los grandes retos que tienen que enfrentar los bancos de germoplasma (Linnington *et al.*, 1995; Smith, 1995; Smith *et al.*, 1998). Para evaluar la viabilidad de las semillas, existen diferentes métodos o pruebas. La mejor y más utilizada corresponde a la evaluación de la germinación. Complementariamente, se pueden llevar a cabo otras pruebas tales como la de tricloruro de tetrazolio, rayos "X" y la de disección bajo microscopio estereoscópico con el fin de determinar la viabilidad y calidad de las semillas, respectivamente (Ellis *et al.*, 1985 a, b; Linnington *et al.*, 1995).

A través de las pruebas de germinación, se han estudiado factores relevantes tales como la humedad, oxígeno, temperatura y luz principalmente, los cuales afectan a las semillas y determinan su respuesta y velocidad de germinación (Bewley y Black, 1994; Ellis *et al.*, 1985 a, b, 1989 a, 1995; Ellis y Barrett, 1994; Ocampo *et al.*, 2003; Orozco-Segovia, 1986, 1989; Orozco-Segovia y Vázquez-Yanes, 1989; Pritchard y Miller, 1995; Xiang-yun *et al.*, 2003).

La latencia es otro factor importante que también afecta la respuesta de germinación de las semillas, la cual se presenta aún cuando ellas se encuentren en las

condiciones más adecuadas. Esta latencia puede ser de tipo exógena (a nivel de la cubierta seminal) ó endógena (a nivel del embrión), por lo que estas semillas requieren de la aplicación de un tratamiento pre-germinativo que permite romper este mecanismo. Para inducir el rompimiento de la latencia, se utilizan técnicas como la escarificación mecánica o química, la imbibición con enfriamiento conocido como estratificación (Baskin y Baskin, 1998; Bewley y Black, 1994; Ellis, *et al.*, 1985 a, b; Ellis y Barrett, 1994).

En lo que se refiere a la temperatura de germinación, se sabe que este factor afecta la respuesta de los taxa de manera diferencial. Por ejemplo, se sabe que las semillas de *Manfreda virginica*, *Quercus robur*, *Castanea sativa* y *Lens culinaris*, requieren temperaturas entre 13 y 18°C para alcanzar su máxima tasa de germinación, en tanto que las semillas de algunas celastráceas requieren una temperatura entre 20 y 30°C (Baskin, 2003; Ellis y Barrett, 1994; Hong *et al.*, 1998; ISTA, 1999; Pritchard y Manger, 1990; Pritchard y Miller 1995).

En algunas cactáceas tales como *Echinocactus* spp., *Mammillaria* spp., *Pachycereus* spp. y *Stenocereus* spp., las semillas requieren temperaturas entre 10, 20 y 30°C, quienes además, tienen un requerimiento de luz. Algo semejante ocurre con las semillas de algunas bromelias, en donde las temperaturas están entre 9 y 25°C, y también requieren de luz blanca para germinar (Hong *et al.*, 1998; Ocampo *et al.*, 2003; Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997, 1998, 2001, Flynn *et al.*, 2004; Xiang-yun *et al.*, 2003).

ANTECEDENTES

I. Bancos de germoplasma en el mundo

En el mundo existen bancos de germoplasma particularmente con colecciones de especies cultivadas y forestales. Entre ellos están el Centro Internacional para la Investigación de la Agricultura en las Áreas Secas (ICARDA) en Siria (con semillas de trigo), el Centro Internacional para la Investigación en Agroforestal (ICRAF) en África (con semillas de especies forestales), el Centro Internacional de Agricultura Tropical

(CIAT) en Perú, Brasil, India, China y Europa del Este (con semillas de todas las variedades de frijol y especies agroforestales), el Centro Internacional de la papa (CIP) en Perú (con explantes y semillas de todas las variedades de papa), el Instituto Internacional de Investigación de Plantas Cultivadas para los Trópicos Semiáridos (ICRISAT) en África e India (con semillas de sorgo, mijo y frijol) y el Instituto Internacional de Investigación del Arroz (IRRI) en Filipinas (con todas las variedades del arroz).

Asimismo, existen otros bancos de semillas que tienen en sus colecciones a especies silvestres nativas, forestales, forrajeras, así como aquellas de uso potencial. En este caso se incluyen, el Instituto Vavilov en Rusia (con especies comestibles, forestales y forrajeras para uso industrial), el Berry Botanic Garden en Estados Unidos de América (con especies raras y amenazadas del noroeste del país).

El Centro Nacional para la Preservación de los Recursos Genéticos (National Seed Storage Laboratory "NSSL") en Fort Collins, Colorado USA (con especies comestibles, forrajeras, forestales, silvestres y malezas), el Centro de Semillas de la Flora Amenazada y la Mancomunidad Científica y Organización de Investigación Industrial (CSIRO) de Australia (con especies nativas, amenazadas y en peligro de extinción del oeste del país).

Finalmente, el banco más importante, por su impresionante colección de especies silvestres del mundo, es el Banco de Semillas del Milenio de los Jardines Botánicos Reales de Kew en Wakehurst Place, Inglaterra, el cual está enfocado a la conservación de especies vegetales de los trópicos áridos, semiáridos y templados de todo el mundo.

II. Bancos de germoplasma en México

En México también existen bancos de germoplasma de especies cultivadas. Entre ellos destacan el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) que mantiene una colección de estos grupos vegetales procedentes de diversos lugares del mundo, el Banco Nacional de Germoplasma Vegetal de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH), con semillas de especies de uso agrícola y medicinal, la Productora Nacional de Semillas (PRONASE) y la Comisión Nacional de Fruticultura (CONAFRUT), con semillas de especies de importancia hortícola y frutícola y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) de la SAGARPA, con semillas de especies forestales.

Otro ejemplo son las colecciones de semillas que están depositadas en los Jardines Botánicos del país (38 registrados ante el INE, Razgado *et al.*, 1994), los cuales conservan pequeñas cantidades de semillas bajo condiciones ambientales. En este caso se encuentran el Jardín Botánico Estatal de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y el Jardín Botánico Exterior del Instituto de Biología de la UNAM. Estos jardines botánicos tienen como objetivo común la conservación de las colecciones a corto plazo, para el intercambio y propagación de algunas especies vegetales.

Sin embargo, en México era evidente la carencia de un banco de semillas de especies silvestres, especialmente interesado en especies endémicas o bien en aquellas parientes silvestres de plantas económicamente importantes, de distribución restringida y/o en peligro de extinción. Por tanto, se creó la necesidad de realizar un proyecto a largo plazo, encaminado a desarrollar y consolidar un banco de semillas de plantas silvestres y endémicas de las zonas áridas y semiáridas de México.

Dentro de este contexto, tal proyecto se inició en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, el cual es un claro ejemplo de una región árida que presenta una alta riqueza biológica y un elevado porcentaje de endemismos de amplia y restringida distribución. En esta forma, el inicio y desarrollo del proyecto contó con el apoyo técnico del Banco de Semillas de los Jardines Botánicos Reales de Kew.

En esta institución, desde hace más de dos décadas se han desarrollado métodos precisos para el almacenamiento de semillas a largo plazo (Linington y Smith, 1985; Linington y Pritchard, 2000; Slageren, 2003). Estos métodos han sido retomados y adaptados al banco de semillas que, en el marco, de este proyecto de investigación se ha iniciado con el estudio de cuatro especies endémicas y de distribución restringida del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

OBJETIVOS

General

El objetivo del presente estudio es obtener información sobre aspectos morfológicos y fisiológicos básicos de las diásporas de *Acanthothamnus aphyllus* (Schldl.) Stabdley, *Buxus mexicana* Brandegees, *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto f. *grandis* (Rose) H. Brav.-Holl. y *Hechtia fragilis* B. Utlely & Utlely, con el fin de utilizarla

para su manejo adecuado y conservación en un banco de semillas.

Particulares

- Evaluar en las diásporas de estas especies, el efecto de la deshidratación parcial sobre la viabilidad antes y después de su almacenamiento.
- Adecuar los métodos de Cromarty *et al.*, (1985), Ellis *et al.*, (1985 a, b, 1988), ISTA (1999), Linington y Smith (1985), relativos a la deshidratación parcial y almacenamiento, y los de germinación y viabilidad a las especies de la zona árida del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, para su conservación a -20°C.
- Determinar las condiciones de temperatura y luz favorables, para la germinación de las especies en estudio.
- Evaluación del potencial de respuesta germinativa de las semillas, por medio de pruebas de germinación y viabilidad.
- Evaluar la tolerancia o sensibilidad de las semillas a las condiciones de deshidratación parcial, temperatura (-20°C) y tiempo de almacenamiento.
- Establecer una clasificación de plántulas con base en su morfología.
- Evaluar la relación que se presenta entre las características climáticas y micro climáticas del hábitat y la morfología de las semillas, con su comportamiento en almacenamiento.
- Establecer las bases que sirvan como una plataforma inicial, para desarrollar una base de datos, la cual permita el manejo de información que se genera en un banco de semillas convencional.

ÁREA DE ESTUDIO

I. Localización

El Valle de Tehuacán-Cuicatlán, está situado en la porción sureste del estado de Puebla, extendiéndose hasta la parte norte del estado de Oaxaca. El Valle está enclavado en la Provincia Fisiográfica denominada Mixteca-Oaxaqueña (Ferrusquía-Villafranca, 1993). El Valle queda incluido en su mayor parte, en la Cuenca Alta del Papaloapan, con una pequeña porción perteneciente a la Cuenca Alta del Balsas. Presenta una orientación noroeste a sureste y está comprendido entre los 96° 55' y 97°

44' de longitud Oeste y los 17° 39' y 18° 53' de latitud Norte (Villaseñor, 1982).

II. Diversidad florística

La Provincia Florística del Valle de Tehuacán-Cuicatlán abarca una superficie aproximada de 10,000 km² y forma parte de la región Xerófita Mexicana (Villaseñor *et al.*, 1990). Smith (1965) da una idea muy generalizada de la flora y destaca su alto número de endemismos. Villaseñor, Dávila y Chiang (1990) describen alrededor de 630 géneros y 1,400 especies de Fanerógamas, y destacan que a nivel específico el endemismo es todavía más importante. Actualmente, la diversidad de flora se ha estimado en 184 familias, 914 géneros y 2686 especies de plantas vasculares (Dávila, *et al.*, 2002).

III. Endemismo

Además de su riqueza florística, el Valle de Tehuacán-Cuicatlán se caracteriza por su alta tasa de endemismos (Arias *et al.*, 1997; Casas *et al.*, 2001; Dávila *et al.*, 1995, 2002; Dávila y Herrera-MacBryde, 1997; Osorio *et al.*, 1996; Ramamoorthy y Elliott, 1993; Rzedowski, 1991 a, b, 1993; Smith, 1965; Turner y Neson, 1993; Valiente-Banuet *et al.*, 1997, 1998; Villaseñor, 1982, 1990; Villaseñor *et al.*, 1990). Dávila *et al.* (2002), señalan la existencia de 74 familias y 203 géneros de angiospermas que al menos presentan una especie endémica en el Valle. En total se han registrado 361 especies endémicas, lo que representa un 14.3% del total de especies presentes en la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

TRABAJO DE GABINETE Y HERBARIO

De acuerdo con las fuentes bibliográficas sobre conservación de germoplasma y la escasa información de estudios en especies silvestres de zonas secas, se justifica la necesidad de estudiar diferentes especies endémicas dentro del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

Por lo anterior, la selección de las especies en estudio se fundamentó en los siguientes parámetros:

- Pertenecen a las familias Bromeliaceae, Buxaceae, Cactaceae y Celastraceae, las cuales son filogenéticamente alejadas.
- Ocupan habitats diferentes, por lo que el clima, la topografía y altitud difieren entre las mismas.
- Tienen formas de vida y ciclos de vida diferentes.
- Aunque las especies son endémicas al valle, sus patrones de distribución (amplios o restringidos) también difieren.
- Además, no existe información en bancos de semillas de las especies y muy poca a nivel de familia e incluso ninguna para una de ellas, en aspectos tales como tolerancia a la desecación y tolerancia a las condiciones de almacenamiento a largo plazo, comportamiento de la germinación, morfología interna de las semillas y descripción de plántulas.

Para este estudio, las colecciones botánicas fueron consultadas en el Herbario Nacional (MEXU) del Instituto de Biología de la UNAM, con el fin de obtener información sobre los periodos de floración y fructificación y para reconocer las estructuras de dispersión de las especies estudiadas. Asimismo, las colecciones de diásporas recolectadas por cada especie fueron depositadas en el Banco de Semillas FESI-UNAM (clave: MEX-FLO-150-0903), de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

TRABAJO DE CAMPO

Con base en la información recabada sobre las especies de este estudio, se realizaron 6 expediciones al Valle de Tehuacán-Cuicatlán en los estados de Oaxaca y Puebla. Durante estas salidas se llevó a cabo la recolección del germoplasma de las mismas y se tomaron notas del hábitat, hábito y de las poblaciones. Siempre se recolectaron diásporas maduras de poblaciones donde existiera un número de individuos disponibles con frutos maduros. La recolección de las muestras de germoplasma se realizó de acuerdo a Newman (com. pers. 1993) y Smith (1995), la cual se describe brevemente a continuación:

- La recolección de las muestras de diásporas fue realizada en poblaciones que tuvieran un mínimo de 30 a 50 individuos.
- De cada individuo, siempre que fue posible, se tomó el 20% del total de las diásporas.

- Para evitar la acumulación y retención de humedad relativa en las diásporas y con el fin de evitar una reducción de su viabilidad, las muestras se guardaron en bolsas de papel. Asimismo, las muestras se mantuvieron ventiladas y en lugares frescos durante el viaje de campo, hasta su arribo al laboratorio.
- De cada una de las muestras recolectadas se preparó un ejemplar de herbario como respaldo, para su posterior verificación taxonómica.

Con base en la literatura disponible para las especies en estudio (Arias *et al.*, 1997; Brandegee, 1909; Bravo, 1980; Buxbaum, 1978; Danilova *et al.*, 1995; Elizondo *et al.*, 1994; Gentry, 1978; Pax, 1896; Rose, 1906; Standley, 1923; Utley y Utley, 1987), con la información de la base de datos, de los ejemplares de herbario (MEXU) y las observaciones de campo, se describieron las características generales de las mismas, así como los periodos de floración y fructificación registrados y su distribución dentro del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

En la figura 1 se muestran las localidades donde fueron muestreadas las poblaciones para recolectar el germoplasma de las especies estudiadas, en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

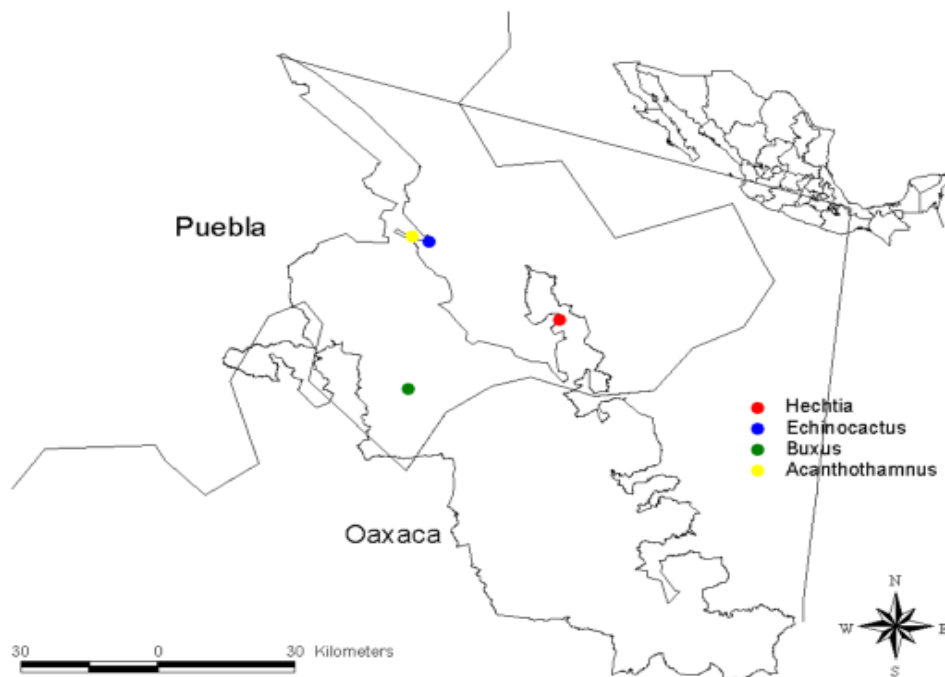


Figura 1. Distribución conocida de *Acanthothamnus aphyllus*, *Buxus mexicana*, *Echinocactus platyacanthus f. grandis* y *Hechtia fragilis* en la Reserva de la Biósfera del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México.

En la familia se incluyen 50 géneros y 800 especies, las cuales se distribuyen en las regiones pantropicales y templadas. *A. aphyllus* es una especie arbustiva y perenne, endémica a la Reserva de la Biósfera de Tehuacán-Cuicatlán.

Se distribuye en una vegetación de matorral xerófilo, sobre pendientes rocosas, en suelo negro con predominancia de roca caliza. Su periodo de floración es entre marzo y mayo y el de fructificación entre julio y septiembre. Las plantas se utilizan para ornato, forraje y combustible.

Localidades: Puebla. Municipio de Tehuacán, El Riego 18°28' N 97°28' W, 1676 msnm; Tehuacán 18°28' N 97°24' W, 1640 msnm; Meseta de San Lorenzo y Teotipilco 18°28' N 97°26' W, 1700 msnm. Municipio de Zapotitlán, Zapotitlán Salinas 18°19' N 97°27' W, 1500 msnm; San Antonio Texcala, 18°24' N 97°26' W, 1800 msnm; Tepanco de López 18°33' N 97°34' W, 1800 msnm y Cacaloapan 18°35' N 97°35' W, 1880 msnm.

➤ **Fam. Buxaceae. *Buxus mexicana*** Brandegee

En la familia se incluyen 5 géneros y alrededor de 60 especies, las cuales se distribuyen en las regiones tropicales, subtropicales y templadas. *B. mexicana* es una especie arbustiva y perenne, endémica y restringida a una localidad de la Reserva de la Biósfera de Tehuacán-Cuicatlán.

Se distribuye en una vegetación de matorral xerófilo alrededor de la cima del Cerro Coatepe, sobre suelo negro con abundante roca caliza. Su periodo de floración ocurre durante febrero, marzo, abril, junio, julio y agosto y el de fructificación durante febrero, julio, agosto y septiembre. Las plantas se utilizan para ornato, cerca viva y combustible.

Localidad: Puebla. Municipio Caltepec, Cerro El Coatepe 18°09' N 97°26' W 2240 msnm.

➤ **Fam. Cactaceae. *Echinocactus platyacanthus*** Link & Otto f. ***grandis*** (Rose) Bravo

En la familia se incluyen 100-110 géneros y 1500 especies, las cuales se distribuyen en las regiones tropicales, templadas y áridas del Nuevo Mundo. Sin embargo, varias especies del género *Opuntia* se han naturalizado en el Viejo Mundo y Australia. *E. platyacanthus* f. *grandis* es una especie arbustiva y perenne, la forma es endémica a la Reserva de la Biósfera de Tehuacán-Cuicatlán.

Se distribuye en matorral xerófilo, sobre pendientes rocosas, en suelo negro con predominancia de roca caliza. Su periodo de floración es entre junio y septiembre y el de fructificación es entre agosto, octubre y noviembre. Las plantas se utilizan para ornato, forraje y combustible, pero, sobre todo, se usan para elaborar el acitrón (fruta cristalizada).

Localidades: Oaxaca y Puebla. Puebla, Municipio de Tehuacán, Tehuacán 18°28' N 97°24' W, 1640 msnm. Municipio de Zapotitlán, Zapotitlán Salinas 18°19' N 97°27' W, 1500 msnm; San Antonio Texcala 18°24' N 97°26' W, 1800 msnm. Oaxaca, Municipio de Santiago Chazumba, San Sebastián Frontera 18°15' N 97°40' W, 1800 msnm.

➤ **Fam. Bromeliaceae. *Hechtia fragilis* B. Utley & Utley**

En la familia se incluyen aproximadamente 45 géneros y 2000 especies, las cuales se distribuyen en las regiones áridas, tropicales y templadas de América, a excepción de una especie de África. *H. fragilis* es una especie herbácea y perenne, endémica y de distribución restringida a la Reserva de la Biósfera de Tehuacán-Cuicatlán.

Se distribuye en una vegetación de matorral xerófilo y bosque tropical caducifolio, sobre pendientes rocosas, moderadamente sombreadas y húmedas, en suelo pardo oscuro con predominancia de rocas sedimentarias (lutitas) y escasa roca caliza. Su periodo de floración es entre marzo y mayo y el de fructificación entre junio y agosto. Las plantas se utilizan para ornato, forraje y combustible.

Localidades: Oaxaca y Puebla. Puebla, Municipio de Coxcatlán, Barranca de Los Mangos 18°18' N 97°09' W, 1210 msnm; Calipán 18°18' N 97°10' W, 1100 msnm. Oaxaca, Municipio de Teotitlán del Camino, Teotitlán del Camino 18°07' N 97°04' W, 1050 msnm. Municipio de San Juan Bautista Cuicatlán, Santiago Quiotepec 17°54' N 96°59' W, 600 msnm.

TRABAJO DE LABORATORIO

Los métodos para llevar a cabo el procesamiento de las diásporas en el laboratorio fueron de acuerdo con Cromarty *et al.* (1985), Ellis *et al.* (1985 a, b), Hong y Ellis (1996 a, b), ISTA (International Seed Testing Association, 1999), Linington y Smith (com. pers. 1993), Linington *et al.* (1995) y Smith (1995).

1) **Base de datos**

Los datos de cada accesión se incorporarán a una base de datos diseñada para el Banco de Semillas FESI-UNAM, con la cual se pretende relacionar la información florística y taxonómica con los datos morfológicos y fisiológicos de las semillas de las especies en estudio (BIOTICA 4.3 con un modulo de germoplasma).

2) **Limpieza de las muestras**

En el laboratorio, las muestras recolectadas se colocaron sobre una mesa de trabajo a una temperatura ambiente del laboratorio de 22°C ±2°C. Mientras se llevaba a cabo la limpieza de las muestras, se colocaron algunos recipientes con pequeñas cantidades de gel de sílice sobre la mesa con el propósito de mantener a las mismas en un ambiente seco, con esto se logró mantener una humedad relativa entre 25-30%.

Este procedimiento permitió reducir la humedad en las muestras y al mismo tiempo se dio una pre-aclimatación a las mismas a un medio más seco, evitándose así una disminución de su viabilidad. La limpieza de las muestras fue manual, se seleccionaron siempre las diásporas maduras y sanas (llenas) y se desecharon tanto las que se encontraron dañadas por insectos y hongos, como las inmaduras (incoloras y colapsadas).

En el caso de los frutos semicarnosos de *Acanthothamnus aphyllus* y *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis*, éstos fueron abiertos para extraer a las semillas, las cuales se colocaron sobre un tamiz y se enjuagaron bajo el agua corriente. Posteriormente, las semillas fueron colocadas sobre una superficie plana para su secado.

3) **Determinación del número de diásporas por muestra**

El número de diásporas almacenadas por colección y por especie fue determinado a través de un método gravimétrico y de una estimación estadística propuesto por el ISTA (1999), el cual es mostrado a continuación:

a) Peso de 5 réplicas con 50 diásporas cada una = **3 X = A**

b) peso de la muestra restante = **B**

c) peso promedio de **X** = \bar{X}

d) $\delta \bar{x} = \sqrt{\sigma n^{-1} \div n}$

(el error estándar de la media es = a la raíz cuadrada del valor de la varianza entre n=5)

$$e) \delta \bar{x} \times 2.776 + \bar{x} = C$$

2.776 proviene de los valores de T-tablas, para un 95% de límite de confianza para n-1 y 4 grados de libertad (para n=5)

f) **A + B = Total**

g) **Total ÷ C x 50 = número total de diásporas por colección**

4) Morfología de las diásporas

Para llevar a cabo la descripción morfológica de las diásporas se utilizaron muestras de 100 frutos y 100 semillas maduras de cada especie, las cuales fueron observadas y medidas bajo un microscopio estereoscópico (American Optical mod. sz-stu, con un aumento de 1.5-2.0; 15XW.F.). La descripción de cada especie fue complementada con fotografías de la planta, frutos y semillas.

En este estudio, la estructura utilizada en las descripciones morfológicas de las diásporas fue la siguiente:

- **Forma.** Se utilizaron las formas planas simples propuestas por el Systematics Association Committee for Descriptive Terminology (1962).
- **Color.** En la descripción del color se usó el mapa de colores del atlas de semillas de Berggren (1981). El color fue determinado a la luz del día.
- **Medidas del fruto y de la unidad de dispersión.** Se midieron tres ejes, el primero se refiere al largo, el segundo al ancho y el tercero al grosor.
- **Cubierta seminal, endospermo y/o perispermo.** Para la descripción de estas estructuras se utilizó la terminología disponible en Corner (1976) y Harris y Harris (1997).
- **Medidas del embrión.** Se consideraron 2 estructuras ó regiones, el primer valor corresponde a al largo y ancho del hipocótilo y la radícula, y el segundo valor al largo y ancho del epicótilo y los cotiledones.
- **Tipo de embrión y cotiledones.** Se realizó con base en la clasificación de embriones propuesta por Martin (1946).

5) Contenido de humedad inicial de las diásporas

Una vez finalizada la limpieza de las muestras, se determinó el contenido de humedad de las diásporas por medio de su completa desecación en un horno de convección, siguiendo el método de Ellis *et al.* (1985 a) e ISTA (1999). El porcentaje del contenido de humedad inicial se obtuvo como resultado de la diferencia del peso antes de la desecación y después de la desecación total de las diásporas, dicho porcentaje fue expresado con base en el peso fresco “bpf” o base húmeda (Chin *et al.*, 1989; Ellis, 1998; Roberts y Ellis, 1989; Walters *et al.*, 1998).

Para este estudio se pesaron cinco cajas desecadoras de aluminio de 2 x 5 cm en una balanza analítica Sartorius. Enseguida, se repartieron 10 diásporas por caja y se pesaron nuevamente, para obtener el peso inicial de las mismas (caja más las diásporas frescas). Para la desecación total, las cajas con las diásporas se metieron en un horno de convección marca Precision (mod. 18 EM) a una temperatura controlada de 130°C y durante una hora. Transcurrido este tiempo, las cajas se colocaron dentro de un desecador con gel de sílice por media hora, con el propósito de enfriarlas y remover la humedad superficial que hubiera quedado en las diásporas y en los contenedores. Una vez más, se determinó el peso del contenedor con las diásporas desecadas.

Los porcentajes del contenido de humedad inicial se obtuvieron con base en la siguiente fórmula:

$\% \text{ C. H. bpf} = (M2 - M3) / (M2 - M1) \times 100$ donde

M1 = peso en gramos de la caja desecadora

M2 = peso en gramos de la caja desecadora más las diásporas frescas

M3 = peso en gramos de la caja desecadora más las diásporas desecadas en el horno

6) Tratamiento de deshidratación parcial de las diásporas

Después de que se determinó el contenido de humedad inicial de las diásporas, se llevó a cabo el tratamiento de deshidratación parcial en todas las muestras ya limpias, para lo cual se siguió el método de gel de sílice (Cromarty *et al.*, 1985; Ellis *et al.*, 1989 b, 1990 a; Hong y Ellis, 1996 a, b).

En este tratamiento se utilizaron cajas desecadoras de aluminio de 5 x 9 cm, desecadores de vidrio Pyrex con placas de porcelana y gel de sílice como desecante (J.T. Baker, con indicador), y además, se probó una relación promedio de 1:1.25 de g semilla por g gel de sílice. El gel de sílice, se colocó dentro de los desecadores de vidrio

y, se reemplazó, en igual cantidad cuando viraba de color azul intenso hacia azul claro, lo cual indicaba que se había saturado de humedad. Durante la primera semana e inicio de la segunda, el gel de sílice se cambió cada tres días. Para la tercera y cuarta semana, el gel de sílice se reemplazó cada ocho días.

Previamente, las cajas de aluminio con las diásporas se pesaron en una balanza con el fin de registrar su peso inicial. Enseguida, las cajas con las diásporas se colocaron dentro de los desecadores de vidrio para su deshidratación a una temperatura dentro del mismo de $18 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de $16 \pm 2\%$ (termómetro-higrómetro). Diariamente, se pesaron los contenedores con las diásporas en la balanza, para registrar la disminución de los pesos a través del tiempo de deshidratación (4 semanas). Por último, se determinó el contenido de humedad final de las diásporas por medio de las diferencias entre los pesos inicial y final de las mismas. Los porcentajes de humedad final alcanzados por las diásporas se expresaron con base en el peso fresco “bpf”.

Asimismo, se elaboraron dos gráficas con el fin de evaluar el curso de la deshidratación parcial de las diásporas. La primera gráfica está mostrando las diferencias entre los porcentajes promedio del contenido de humedad de las diásporas obtenidos antes (inicial) y después de su deshidratación parcial (final). La segunda gráfica está mostrando los porcentajes promedio del contenido de humedad registrados a través del tiempo de deshidratación, lo que permitió estimar la velocidad de deshidratación, la tasa de pérdida de humedad y el punto en el cual las diásporas alcanzaron un equilibrio con la atmósfera de deshidratación.

7) Empaquetamiento y almacenamiento

Después de la deshidratación parcial y en un ambiente seco, se realizó el empaquetamiento de las muestras, en esta forma se evitó que las diásporas reabsorbieran humedad del medio, lo cual podría provocar un rompimiento del equilibrio en el contenido de humedad alcanzado por las mismas (Cromarty *et al.*, 1985; Ellis *et al.*, 1985 a; Hong y Ellis 1996 a, b).

Para su almacenamiento, las diásporas se guardaron en bolsas laminadas de aluminio y se sellaron herméticamente con calor. Dentro de la bolsa y sobre la superficie de cada bolsa se pegó un rótulo con los datos de la especie y fecha de almacenamiento. Por último, las bolsas se colocaron en un ultracongelador REVCO para su almacenamiento a una temperatura de -20°C (Cromarty *et al.*, 1985; Dickie *et al.*, 1990;

Hong *et al.*, 1998; Hong y Ellis, 1996 a, b; Roberts y Ellis, 1977).

8) Pruebas de germinación

➤ **Substrato**

Para llevar a cabo las pruebas de germinación, se utilizó el método de agua-agar al 1% como substrato. El medio ya esterilizado, fue vaciado en cajas de Petri de plástico estériles desechables de 100 x 15 mm (Ellis *et al.*, 1985 a).

➤ **Esterilización**

Las diásporas se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 10% a diferente tiempo de inmersión (15 y 30 minutos), con el propósito de esterilizar la cubierta seminal y determinar si el tiempo de esterilización inhibe en menor o mayor grado el desarrollo de bacterias y hongos que pudieran contaminar a las diásporas (Ellis *et al.*, 1985 a, b; ISTA, 1999).

➤ **Temperatura.**

Para las pruebas de germinación se utilizaron tres temperaturas constantes (18, 25 y 30°C), las cuales han sido citadas para otras especies de bromeliáceas, buxáceas, cactáceas y celastráceas (Ellis, *et al.*, 1985 b; Hong *et al.*, 1998; ISTA, 1999; Ocampo *et al.*, 2003; Xiang-yun *et al.*, 2003; Young y Young, 1986, 1994). Asimismo, los intervalos seleccionados coincidieron con las temperaturas promedio anuales mínima, media y máxima registradas para el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (García, 1987). En este estudio, se usaron cámaras de germinación (Seedburo 548RS) con temperaturas controladas y con lámpara de luz fluorescente blanca de 45 watts.

➤ **Fotoperiodo breve / luz.**

La primera prueba de germinación se realizó antes de la deshidratación parcial y con un fotoperiodo breve (oscuridad casi de 24 h, con 2 min de exposición de luz), con el fin de determinar preliminarmente si la condición inhibía la respuesta germinativa de las diásporas, tal y como lo registraron en otras especies Ellis, *et al.* (1985 b, 1989 a); Ellis y Barrett (1994); Hong *et al.* (1998); ISTA (1999); Ocampo *et al.* (2003); Orozco-Segovia (1986, 1989); Orozco-Segovia y Vázquez-Yanes (1989); Xiang-yun *et al.* (2003). En esta

prueba, se usaron lotes de 450 diásporas por especie y las cajas de Petri se cubrieron con papel aluminio, la germinación de las semillas se registró diariamente en el laboratorio, exponiendo las semillas a la luz durante 2 minutos.

Debido a que se obtuvo una baja respuesta de germinación en las especies estudiadas, se determinó preliminarmente que un fotoperiodo breve no inducía la germinación de las diásporas. Por lo que las diásporas después de la deshidratación parcial y almacenamiento fueron expuestas tanto a la condición de fotoperiodo breve como con luz blanca fluorescente constante (24 h d^{-1}), utilizando para ello un lote más de 450 diásporas por especie.

➤ **Tiempo de almacenamiento.**

Las pruebas de germinación se llevaron a cabo antes y después de un almacenamiento de 1, 5 y 26 meses, con el fin de evaluar la respuesta de germinación, viabilidad y longevidad de las diásporas almacenadas en seco (reducido contenido de humedad) y una temperatura de -20°C .

➤ *Lotes experimentales*

El desarrollo y formación de los lotes experimentales para las pruebas de germinación fue el siguiente: a) se separó una muestra de 900 diásporas y se formaron dos lotes de 450 diásporas; b) ambos lotes se sumergieron en hipoclorito de sodio para su esterilización, el primer lote se dejó por 15 minutos y el segundo lote por 30 minutos; c) transcurrido este tiempo, los lotes se enjuagaron con agua esterilizada y c) se sembraron 25 diásporas en cada caja de Petri con agar.

Posteriormente, cada lote de diásporas sembradas se dividió a su vez en dos juegos de 9 cajas de Petri (9 cajas para fotoperiodo breve y 9 cajas para luz continua). De cada juego, se tomaron tres cajas para la cámara de germinación de 18°C , tres para la de 25°C y tres más para la de 30°C . De tal manera que por especie, cada cámara de temperatura contenía 6 cajas de Petri con diásporas esterilizadas por 15 minutos (3 fotoperiodo breve y 3 luz constante), más 6 cajas de Petri con diásporas esterilizadas por 30 minutos (3 fotoperiodo breve y 3 luz constante).

➤ *Evaluación de la germinación*

Se consideró que una diáspora había germinado cuando la emergencia del hipocótilo y radícula medía 3 ± 1 mm fuera de la cubierta seminal. La germinación se registró diariamente durante 50 días. Al final de la prueba de germinación, se registraron las diásporas no germinadas, infestadas y embebidas, lo que significa que se manejó una variable numérica discreta y la escala de medición fue absoluta (Ellis *et al.*, 1985 a; ISTA, 1999).

Asimismo, la respuesta de germinación fue con dos probables resultados: presencia de germinación y ausencia de germinación. Los porcentajes de germinación obtenidos se manejaron como la variable dependiente de las variables independientes utilizadas tales como la temperatura, fotoperiodo breve, luz y tiempo de almacenamiento (ISTA, 1999; Sokal y Rohlf, 1979).

➤ *Análisis de la germinación*

La tasa de germinación (emergencia de la radícula) fue estimada como el tiempo promedio en que las semillas viables germinaron. El tiempo promedio para alcanzar un 50% de germinación "TMG" fue evaluado en días y expresado como la relación de $\Sigma (Dn) / \Sigma n$, donde n es el número de diásporas que germinaron en el día D y D es el número de días transcurridos a partir del inicio de la prueba de germinación (Tompsett y Pritchard, 1998).

Las diferencias entre los porcentajes promedio de germinación de los tratamientos y su efecto significativo sobre la germinación fueron estimados mediante un análisis de varianza ($p= 0.05$) factorial de $3 \times 2 \times 2 \times 4$, utilizando el programa estadístico SYSTAT 5.0 para Windows. Previamente, los porcentajes promedio de germinación fueron transformados al valor arco seno, para tener una distribución cercana a la normal (Sokal y Rohlf, 1979). Los niveles registrados fueron los siguientes:

- ❖ Tres niveles de temperatura: 18°C, 25°C, 30°C.
- ❖ Dos niveles de iluminación: fotoperiodo breve, luz blanca.
- ❖ Dos niveles de tiempo de esterilización: 15 min, 30 min.
- ❖ Cuatro niveles de almacenamiento (tiempo): 0, 1 mes, 5 meses, 26 meses.

9) Pruebas de disección, tetrazolio y rayos X

Con el fin de estimar cualitativamente la viabilidad y calidad de las colecciones almacenadas se llevaron a cabo pruebas de disección, tetrazolio y rayos X. Las pruebas antes mencionadas se realizaron en las diásporas que no germinaron en los diferentes tratamientos de germinación, así como en muestras representativas de las colecciones almacenadas, para lo cual se siguieron los métodos adecuados para cada prueba (Ellis *et al.*, 1985 a; ISTA, 1999; Linington *et al.*, 1995; Overaa, 1981; Pasha y Das, 1982; Simak y Sahlén, 1981).

➤ *Prueba de disección*

En el caso de las muestras almacenadas, se disectaron longitudinalmente 50 diásporas bajo el microscopio estereoscópico. Durante las observaciones, se registraron las diásporas llenas y aparentemente sanas y las que se encontraban vacías o colapsadas. A las diásporas llenas se les asignó un valor de 100% de probabilidad de que estuvieran sanas o viables y a las vacías se les dio un valor de 0% de probabilidad. Mientras que las diásporas dañadas en la región de los cotiledones o en el material de reserva, se les asignó un 80% de probabilidad de que estuvieran viables. En la misma forma fueron evaluadas las diásporas que no germinaron en las diferentes pruebas de germinación (después de 50 días), las cuales ya cortadas fueron sometidas a la prueba de tetrazolio.

➤ *Prueba de tricloruro de tetrazolio (TTZ)*

Para el estudio de la viabilidad con tetrazolio, se usó una solución acuosa al 1% de 2, 3, 5-cloruro de trifeníl tetrazolio, la cual se preparó disolviendo 1 g de la sal de tetrazolio en 100 ml de una solución buffer de fosfatos (60 ml de una solución de Na_2HPO_4 por 40 ml de una solución de KH_2PO_4), para obtener una solución con un pH entre 7 y 7.5 (ISTA, 1999).

En esta prueba, se utilizaron muestras de 50 diásporas cortadas longitudinalmente, otras con 50 diásporas enteras y una más con embriones aislados, las cuales se colocaron dentro de los contenedores de plástico negro (5 replicas para cada caso), para mantenerlas en oscuridad mientras se imbibieron en agua durante 24 horas. Después de este tiempo, en cada contenedor se agregó 5 mililitros de la solución de tetrazolio (volumen suficiente para cubrir a las diásporas) y se mantuvieron en el

laboratorio a una temperatura ambiente de $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 10 días como tiempo máximo de la prueba (Ellis *et al.*, 1985 a; ISTA, 1999; Overaa, 1981; Pasha y Das, 1982).

Cuando transcurrieron 48 horas de incubación, los segmentos, los embriones y las diásporas enteras fueron revisadas en el microscopio estereoscópico, para registrar el patrón de tinción conforme al criterio de Ellis *et al.* (1985 a) e ISTA (1999). En esta forma el patrón de tinción se estimó con base en las siguientes características:

- ❖ Se consideraron con un 100% de posibilidad de estar viables, aquellas diásporas cuyo material de reserva, embrión y radícula se observaron completamente teñidos de color rojo a rojo intenso y brillante.
- ❖ Se consideraron entre un 80% y 75% de probabilidad de estar vivas, aquellas estructuras de las diásporas que presentaron una tinción de color de rojo a rojo pálido.
- ❖ Se consideraron con un valor de 60 a 70% de posibilidad de estar viables, las diásporas cuyas estructuras mostraron una tinción de rojo muy pálido a rosa y rosa pálido.
- ❖ Se consideraron como no viables, aquellas diásporas cuyo embrión y radícula después de 10 días no presentaron ninguna tinción ó bien mostraron un color blanco lechoso, amarillo ó pardo oscuro.
- ❖ Los porcentajes promedio de probabilidad de que estuvieran viables se estimó por medio de la fórmula $V (\%) = \text{No. de diásporas teñidas} \div \text{total de diásporas} \times 100$.

➤ *Prueba de rayos X*

La prueba de rayos X, se realizó con el propósito de distinguir a través de las imágenes de las radiografías, las diásporas con embrión y material de reserva completo (llenas), y diferenciar las vanas (vacías ó colapsadas) y las infestadas por insectos. Al mismo tiempo, esta técnica permitió observar rápidamente el estado y calidad de las diásporas almacenadas y ayudó a detectar una probable latencia exógena en las mismas, impuesta por una cubierta seminal lignificada y gruesa (Ellis *et al.*, 1985 a; Linington *et al.*, 1995; Simak y Sahlén, 1981).

Esta prueba se llevó a cabo en muestras de 50 diásporas, para lo cual se usó un aparato de Rayos X Hewlett Packard Faxitron (serie 43804N), con una película radiográfica Kodak TMG-1 y soluciones Kodak DX80 como revelador y Kodafix como

fijador. Las radiografías se tomaron en un rango de 10 mA, con un tiempo de exposición de 20 segundos de acuerdo con Linington *et al.* (1995).

En el caso de *Acanthothamnus aphyllus* se aplicó un voltaje de 25 Kv, debido a que las diásporas son grandes y tienen una cubierta seminal gruesa y lignificada. En cambio, en *Buxus mexicana*, *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis* se aplicó un voltaje de 15 Kv, debido a que las diásporas de estas especies tienen una cubierta seminal delgada (Linington *et al.*, 1995).

Las radiografías reveladas fueron revisadas a contra luz, sobre una lámpara con una placa de vidrio blanco, con el fin de evaluar sobre las imágenes de las diásporas, las condiciones físicas de las mismas (vacías contra llenas).

Este estudio fue complementado con una prueba de disección en el microscopio estereoscópico, para lo cual se utilizaron las diásporas irradiadas. A partir de los resultados de ambas pruebas se estimaron los porcentajes de probabilidad de que las diásporas estuvieran viables, por medio de la fórmula $V (\%) = \text{No. Diásporas vacías} \div \text{total de diásporas} \times 100$.

RESULTADOS

I. Número de diásporas

El número de diásporas recolectadas por cada especie fue dependiente de la disponibilidad de frutos y semillas maduras de cada población. Para la especie de *Acanthothamnus aphyllus* se almacenaron aproximadamente 3,312 diásporas provenientes de un muestreo de 50 individuos, mientras que para *Buxus mexicana* fueron 1,181 de 60 individuos muestreados. En el caso de *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* se almacenaron 29,869 semillas de 120 individuos muestreados, en tanto que para *Hechtia fragilis* se almacenaron 4,954 semillas de 15 individuos muestreados.

II. Características morfológicas de los frutos y la unidad de dispersión

Acanthothamnus aphyllus (Schlecht.) Standley

➤ Fruto

Carnoso indehiscente. Drupa: ovoide, de 5-7 mm de largo, y 4-6 mm de ancho, roja cuando madura. Exocarpo delgado, rojo (No. 31). Mesocarpo carnoso, amarillo. Endocarpo, con reticulación primaria y secundaria, de patrón irregular, células estriadas, esclerosadas y algo lignificadas (contiene una semilla), ovada a ampliamente ovada, pardo claro (No. 24), 4-6 mm de largo, y 3-4 mm de ancho (Fig. 3).

➤ Unidad de dispersión

Endocarpo con la semilla, peso 0.027-0.028 g. Semilla, ovada; testa y tegmen fusionados, formando una cubierta delgada con una superficie irregular, amarillo pálido (No. 3). Embrión recto y espatulado, de amarillo pálido a blanco (No. 3-4). Cotiledones (2) grandes, planos y foliáceos, de verde amarillento a verde (No. 5-7), el ápice redondeado; hipocótilo y radícula delgados y cortos. Endospermo formando una capa delgada que envuelve al embrión, rico en almidón y con gotas de aceite, hialino hacia amarillo pálido. Hipocótilo y radícula de 0.67-0.73 mm de largo, y 0.40-0.47 mm de ancho. Epicótilo y cotiledones de 1.93-2.13 mm de largo, y 1.60-1.67 mm de ancho (Fig. 3).

➤ **Ejemplares de herbario examinados**

Chiang *et al.* F-2044, F-2252a, F-2267, F-2271; González-Medrano *et al.* F-795, F-1053; Miranda 3491, 4419; Prigge 3254; Purpus 3171; Salinas *et al.* 5902; Smith *et al.* 3784 a. La especie se distribuye en el estado de Puebla (Fig. 2).

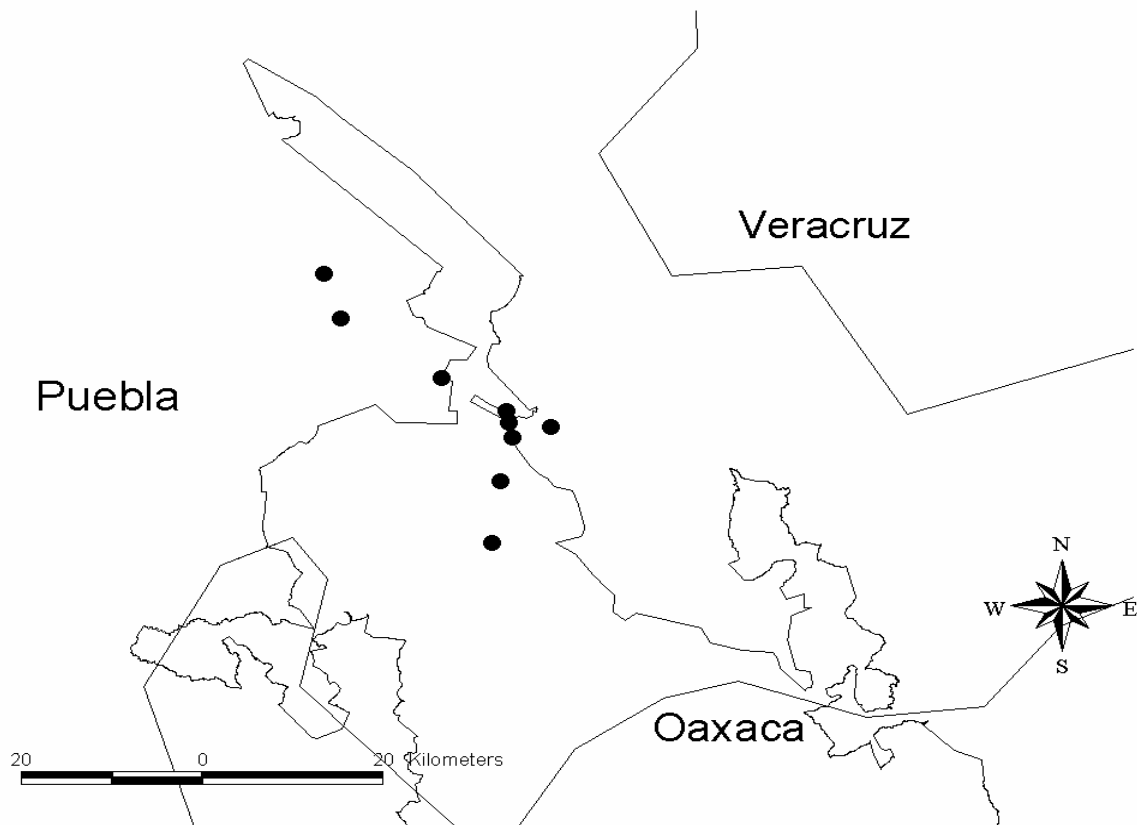
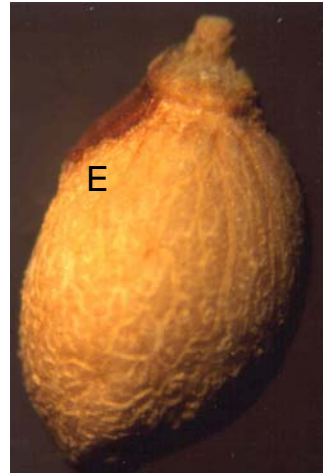
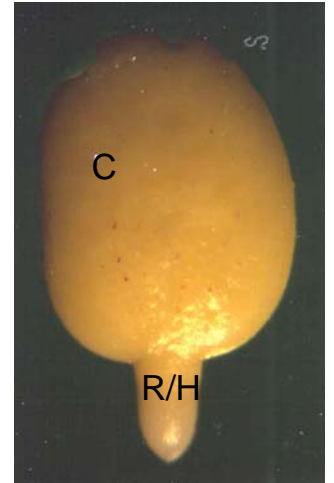


Figura 2. Distribución conocida de *Acantothamnus aphyllus* (Celastraceae) en la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán, México.



2 mm



1 mm

Figura 3. Características morfológicas de la planta con frutos (A), diáspora (B) y embrión (C) de *Acanthothamnus aphyllus*. E = Endocarpo; C = Cotiledones; R/H = Eje Radícula / Hipocótilo.

***Buxus mexicana* Brandege**

➤ **Fruto**

Seco con dehiscencia loculicida. Cápsula: trilocular, elíptica a ampliamente elíptica, de 6-8 mm de largo, y 5-6 mm de ancho, de pardo brillante a pardo oscuro (No. 25-27); con tres estigmas fructíferos (cuernos), densamente papilosos de 2.5-3.5 mm de largo, y 1.5-2.5 mm de ancho, incurvos y suberectos hacia la mitad inferior. Exocarpo y mesocarpo fusionados, coriáceo y esclerizado. Endocarpo de varias capas de células que forman el septo y las valvas, respectivamente. Dos semillas por cada lóculo, 6 en total (Fig. 5).

➤ **Unidad de dispersión**

Semilla, peso 0.005-0.006 g; con una carúncula subapical (1-1.5 mm de largo, y 0.3-0.5 mm de ancho), oblonga triquetra, negro brillante (No. 37), 4-5 mm de largo, 2-2.4 mm de ancho, y 1.7-1.8 mm de grosor. Testa y tegmen fusionados, formando una cubierta delgada, dura, con células prismáticas de paredes gruesas y superficie lisa, reticulación primaria y secundaria regular. Embrión linear, delgado, de blanco hacia amarillo pálido (No. 3-4). Cotiledones (2) delgados, planos, ligeramente alargados, de color amarillo pálido a verde pálido (No. 5-6), ápice redondeado; hipocótilo y radícula largos. Endospermo formando una capa gruesa que envuelve al embrión, succulento y oleaginoso, hialino hacia amarillo pálido. Hipocótilo y radícula de 1.8-2.1 mm de largo, y 0.3-0.4 mm de ancho. Epicótilo y cotiledones de 0.7-0.8 mm de largo, y 0.4-0.5 mm de ancho (Fig. 5).

➤ **Ejemplares de herbario examinados**

Panero *et al.* 2598; Purpus 2972; Salinas *et al.* 5569; Tenorio 12491; Tenorio y Romero 11206; Tenorio *et al.* 14322. La especie se distribuye solamente en una localidad del estado de Puebla (Fig. 4).



Figura 4. Distribución conocida de *Buxus mexicana* (Buxaceae) en la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán, México.

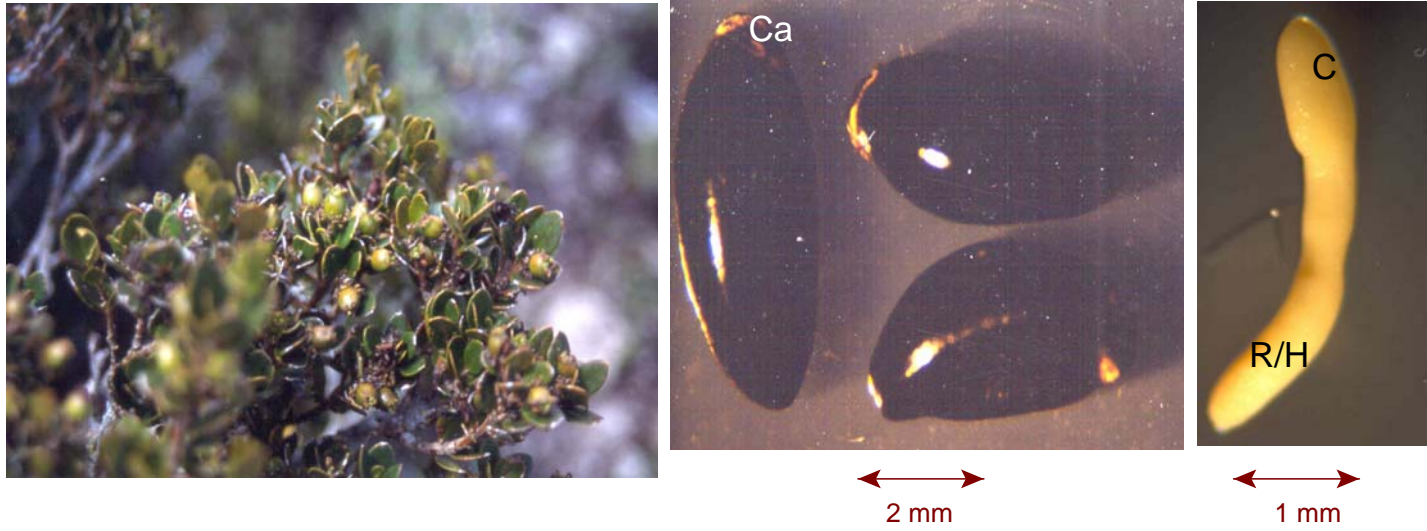


Figura 5. Características morfológicas de la planta con frutos (A), diásporas (B) y embrión (C) de *Buxus mexicana*. Ca = Carúncula; C = Cotiledones; R/H = Eje Radícula / Hipocótilo.

***Echinocactus platyacanthus* Link & Otto f. *grandis* (Rose) Bravo.**

➤ **Fruto**

Semicarnoso indehiscente. Baya: oblonga-piriforme, de 4-7 cm de largo, y 1-2 cm de ancho. Exocarpo y mesocarpo fusionados, delgado y semicoriáceo, con brácteas lineares y abundante lana blanca hacia amarillo pálido (No. 3-4). Endocarpo reticulado, esponjoso, semiseco y seco al madurar, blanco, contiene más de cien semillas (Fig. 7).

➤ **Unidad de dispersión**

Semilla, peso 0.0025-0.0027 g; semiobovada-piriforme, negra brillante (No. 37), 2-3 mm de largo, 1.5-2.1 mm de ancho, y 1-1.3 mm de grosor. Testa y tegmen fusionados, formando una cubierta delgada y dura, con células de paredes gruesas y superficie lisa, reticulación primaria y secundaria regular. Embrión periférico, marcadamente recurvado hacia el epicótilo y cotiledones, blanco hacia amarillo pálido (No. 3-4). Cotiledones (2) como botones, cortos y suculentos, uno más conspicuo que el otro, de color verde pálido a verde (No. 5-7), el ápice redondeado; hipocótilo largo y suculento, radícula corta. Perispermo blanco lechoso, persistente como tejido de nutrición, ubicado sobre el lado incurvado del embrión y la región calazal, pero, sin cubrir a los cotiledones. Hipocotilo y radícula de 1.5-1.7 mm de largo, y 0.6-0.7 mm de ancho. Epicótilo y cotiledones de 0.2-0.3 mm de largo, y 0.2-0.3 mm de ancho (Fig. 7).

➤ **Ejemplares de herbario examinados**

Arias *et al.* 859, 933; Bravo s.n.; Cota y Dorado 7802; Leuenberger y Schiers 2552; Pringle 6696; Sánchez-Mejorada 71-0306, 2812. La especie se distribuye en los estados de Oaxaca y Puebla (Fig. 6).

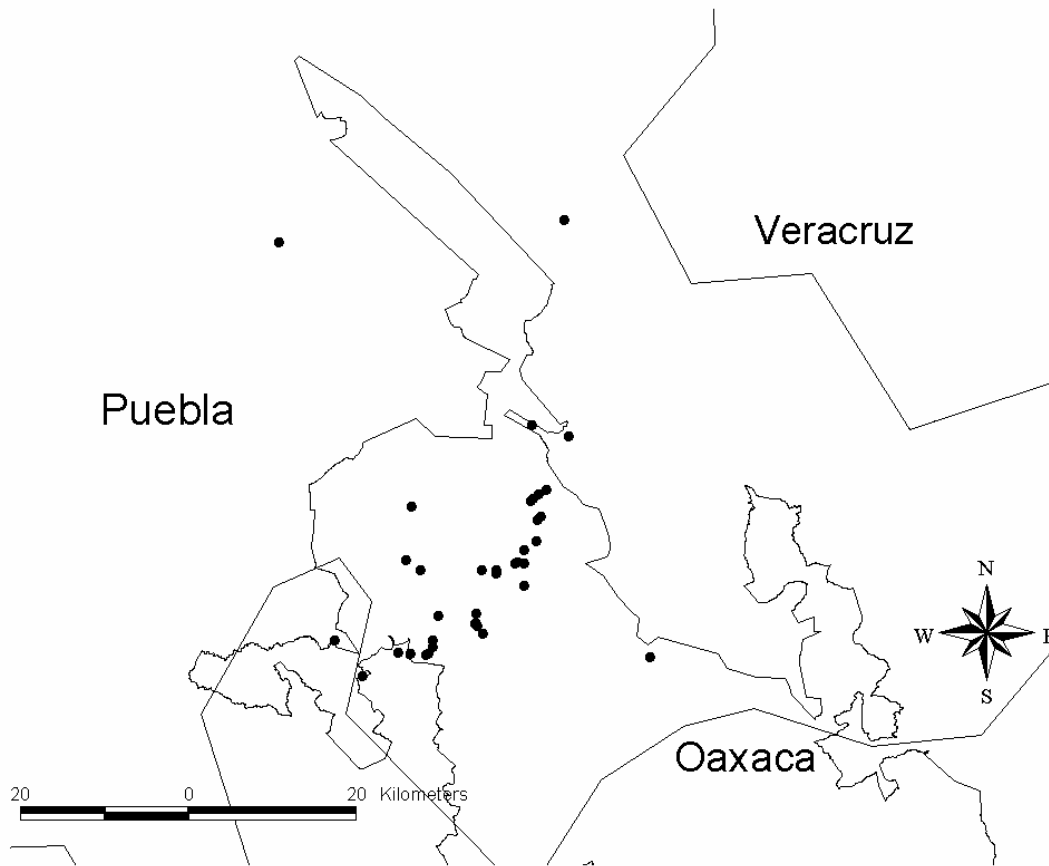


Figura 6. Distribución conocida de *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* (Cactaceae) en la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán, México.

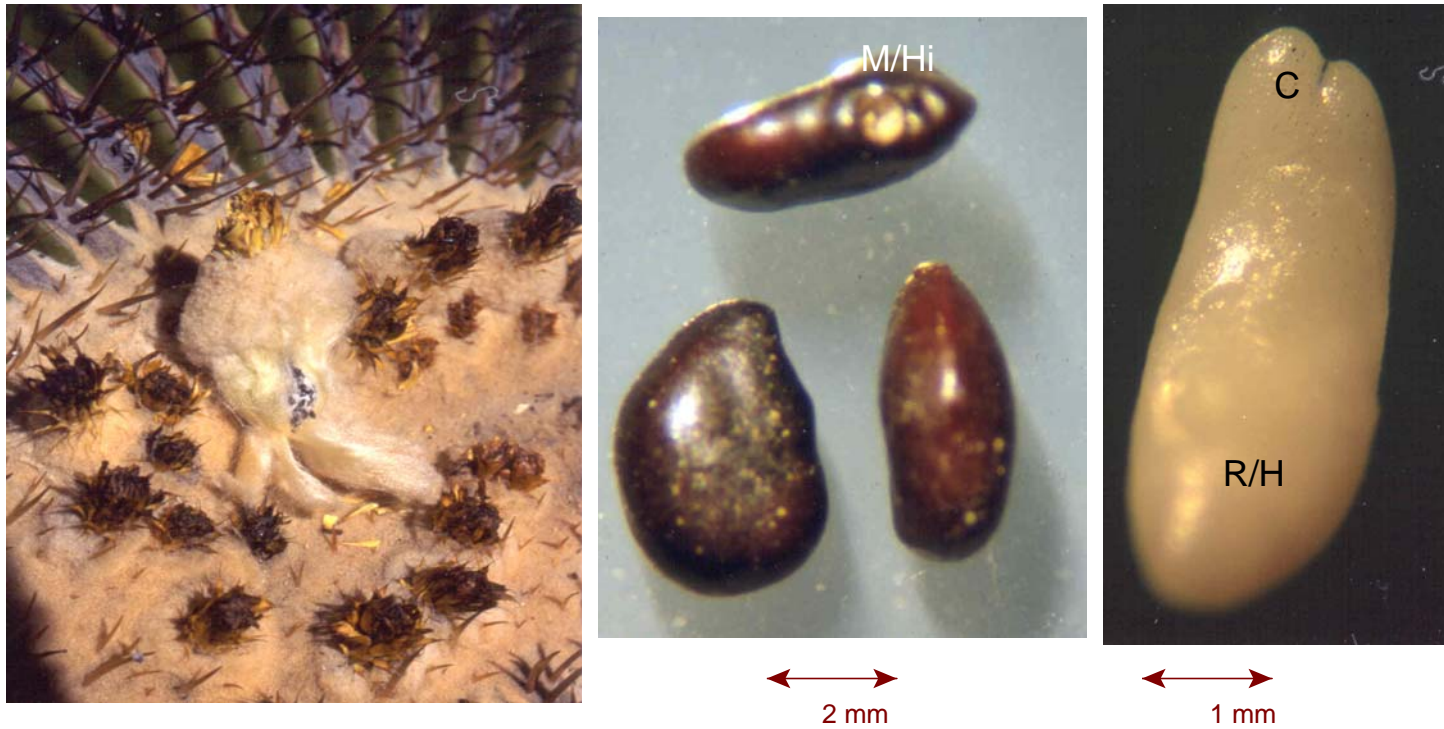


Figura 7. Características morfológicas de la planta con frutos (A), diásporas (B) y embrión (C) de *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis*. C = Cotiledones; R/H = Eje Radícula / Hipocótilo; M/H Región Micrópilo / Hilar.

***Hechtia fragilis* Burt-Utley & Utley**

➤ **Fruto**

Seco con dehiscencia longitudinal septicida. Cápsula: trilocular, ovada triquetra, de 5.5-8 mm de largo, y 3-5 mm de ancho, de gris a pardo rojizo (No. 39-40). Exocarpo, mesocarpo y endocarpo fusionados formando un pericarpo, glabro, delgado, nervado y papiráceo. Contiene más de 50 semillas por lóculo (Fig. 9).

➤ **Unidad de dispersión**

Semilla, peso 0.00018-0.00021 g; estrechamente rómbica, fusiforme y escultrada, pardo oscuro a pardo rojizo (No. 29-30), 3-6 mm de largo, 0.6-1.1 mm de ancho, y 0.2-0.8 mm de grosor. Testa formando una cubierta delgada, membranácea, con dos capas de células suberizadas y paredes lignificadas lisas, reticulación primaria irregular y reticulación secundaria verrucosa, la cubierta también forma una ala estrecha lateral y apicalmente, que funciona para ser transportada por el viento. Tegmen formando la capa protectora, delgada, escariosa, con dos capas de células de diferente arreglo y forma, pardo rojizo (No. 31). Embrión pequeño, linear (axial), cilíndrico, que ocupa una cuarta parte de la semilla, de blanco hacia amarillo pálido (No. 3-4). Cotiledón (1) como una vaina, cónico, largo, moderadamente succulento, de hialino hacia amarillo pálido, ápice apiculado; hipocótilo y radícula cortos. Endospermo abundante, rico en almidón, rodeando al ápice del cotiledón, hialino hacia amarillo pálido. Hipocótilo y radícula de 0.6-0.8 mm de largo, y 0.2-0.3 mm de ancho. Epicótilo y cotiledón de 0.2-0.4 mm de largo, y 0.12-0.20 mm de ancho (Fig. 9).

➤ **Ejemplares de herbario examinados**

Smith y Tejeda 3705; Utley y Utley 6613, 6980. La especie se distribuye en los estados de Oaxaca y Puebla (Fig. 8).

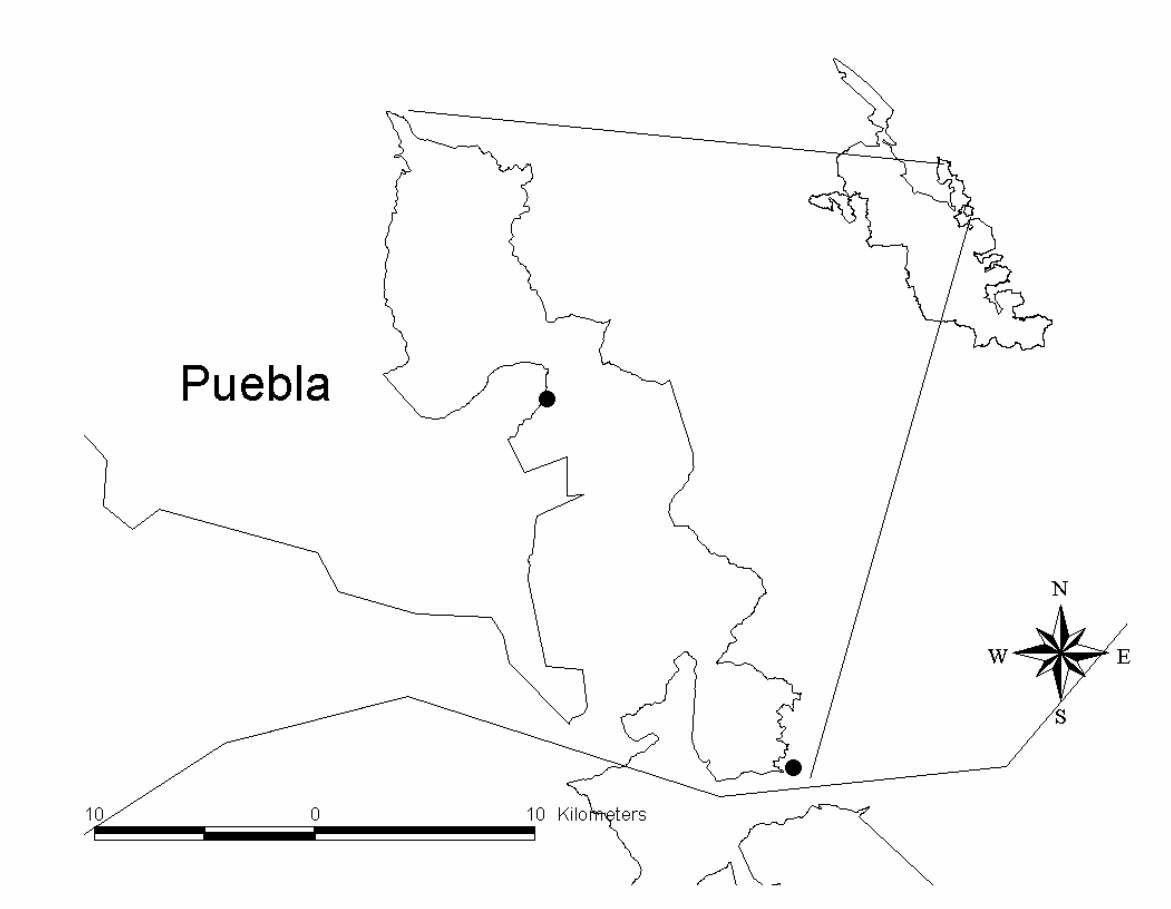


Figura 8. Distribución conocida de *Hechtia fragilis* (Bromeliaceae) en la Reserva de la Biósfera Tehuacán-Cuicatlán, México.

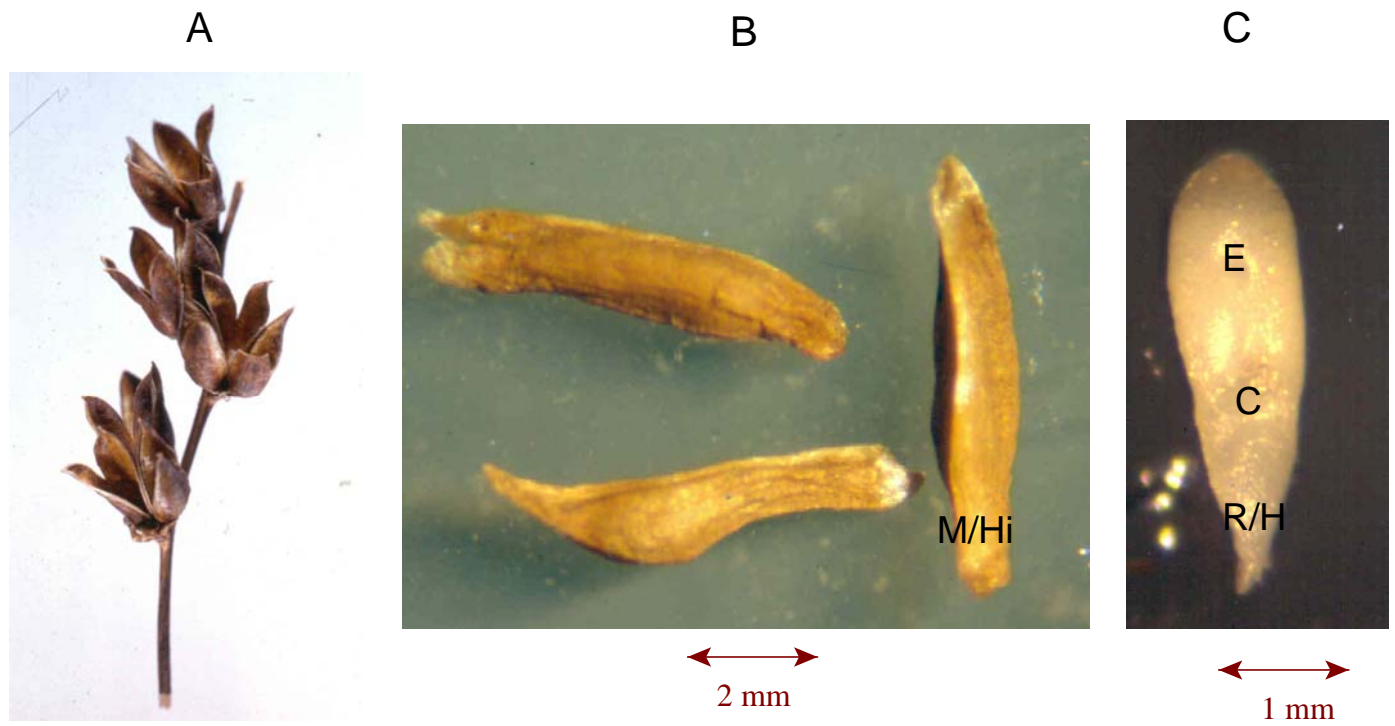


Figura 9. Características morfológicas de los frutos (A), diásporas (B) y embrión (C) de *Hechtia fragilis*. C = Cotiledón; R/H = Eje Radícula / Hipocótilo; En = Endospermo; M/Hi = Región Micrópilo / Hilar.

III. Contenido de humedad inicial de las diásporas

Los valores del contenido de humedad inicial de las diásporas son presentados en el cuadro 1, los cuales fueron obtenidos después de su desecación total en un horno a una temperatura de 130°C. Los resultados mostraron que las especies más contrastantes por su contenido de humedad máximo y promedio fueron *Acanthothamnus aphyllus* (7%) y *Hechtia fragilis* (18.4 y 17%), valores considerados como extremos cuando se compararon con los valores de humedad de las otras especies.

Asimismo, los contenidos de humedad promedio de las diásporas de *Buxus mexicana* (11.4%) y de *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* (11%) fueron muy semejantes, entre si, por lo que se consideraron como los valores intermedios. Los bajos valores de la desviación estándar y el coeficiente de variación obtenidos en cada caso, sugieren que el contenido de humedad de las diásporas maduras tiende a ser homogéneo dentro de las poblaciones de cada especie en su hábitat natural.

Cuadro 1. Relación y comparación entre los contenidos de humedad inicial (porcentajes mínimo, máximo y promedio) registrados, a partir de la desecación total de las diásporas de los taxa estudiados.

TAXA	CONTENIDO DE HUMEDAD INICIAL			DE**	C.V. (%)**
	Mínimo	Máximo (%) bpf*	Promedio		
<i>Acanthothamnus aphyllus</i>	6.6	7	7	0.1	1.6
<i>Buxus mexicana</i>	9.3	13.5	11.4	1.7	15
<i>Echinocactus platyacanthus</i> f. <i>grandis</i>	9.4	12.4	11	0.1	9
<i>Hechtia fragilis</i>	13	18.4	17	2	12

* Los porcentajes del contenido de humedad inicial se expresaron con base en el peso fresco.

** DE= Desviación Estándar y C. V.= Coeficiente de Variación.

IV. Deshidratación parcial de las diásporas

Las condiciones controladas de la atmósfera del desecador de vidrio, con una humedad relativa de 18% y temperatura de 20°C, así como la cantidad gel de sílice utilizados durante la deshidratación parcial de las diásporas, fueron adecuados y

efectivos para reducir el contenido de humedad de las mismas. En estas condiciones, las diásporas de las especies estudiadas cedieron más o menos agua dependiendo de sus características morfológicas y fisiológicas. Produciéndose una tasa y curva de deshidratación gradual hasta que ellas alcanzaron el contenido de humedad en equilibrio con la atmósfera del desecador, el cual se obtuvo en un tiempo de 3 a 4 semanas (Fig. 10 y 11). Los porcentajes promedio del contenido de humedad inicial y final se expresaron con base en el peso fresco (bpf).

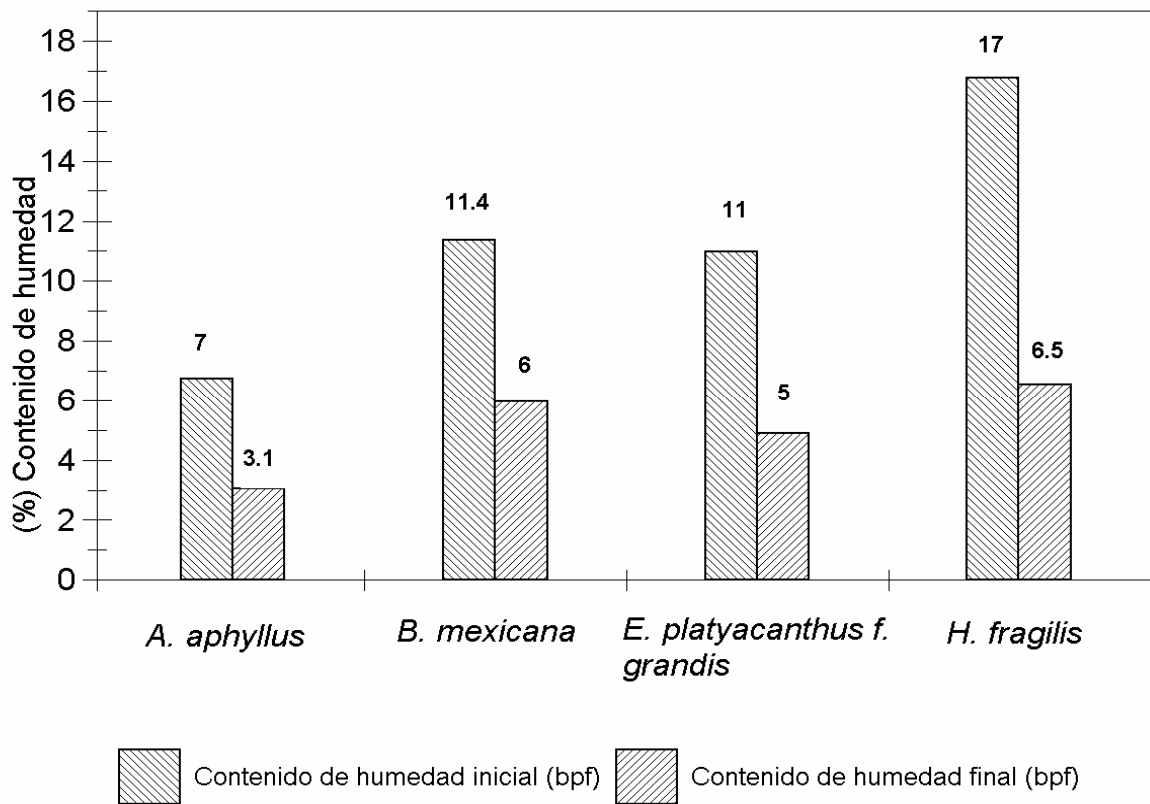


Figura 10. Relación entre el contenido de humedad inicial (antes de la deshidratación parcial) y el final alcanzado por las especies en estudio, después de la deshidratación parcial sobre gel de sílice. Los porcentajes del contenido de humedad son expresados con base en el peso fresco (bpf).

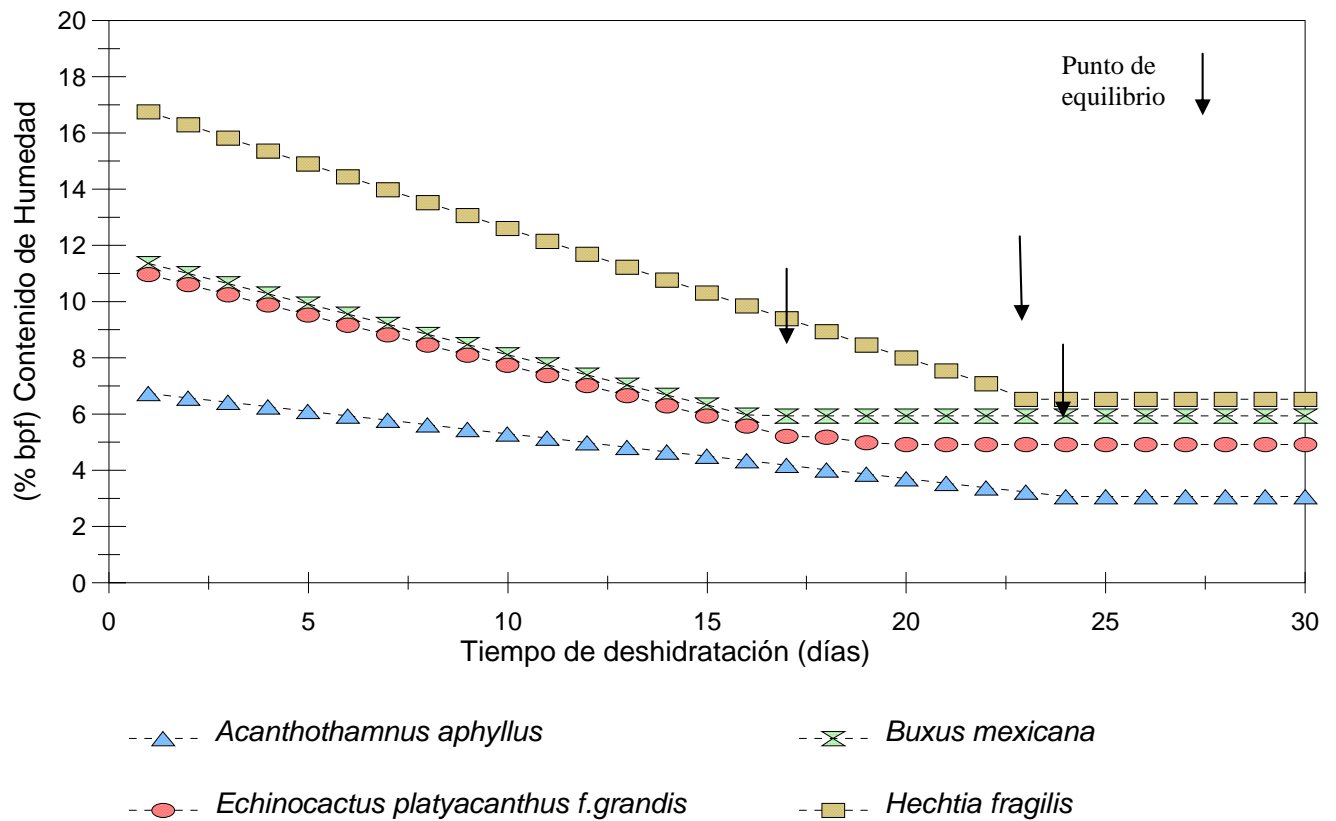


Figura 11. Curso de la deshidratación parcial de las diásporas y el tiempo transcurrido para alcanzar un contenido de humedad en equilibrio con la atmósfera del desecador (gel de sílice, humedad relativa de 18% y temperatura de 20°C). Los porcentajes promedio del contenido de humedad son expresados con base en el peso fresco (bpf).

➤ ***Acanthothamnus aphyllus***

El contenido de humedad inicial de las diásporas (7%), descendió hasta un 3.1% (bpf), lo que representó una pérdida del 55% de su humedad inicial (Fig. 10). Después de haber transcurrido 23 días de deshidratación, las diásporas alcanzaron el punto de equilibrio, con un contenido de humedad final de 3.1% (Fig. 11). La tasa promedio de deshidratación fue de 0.16% de humedad por día, debido a que el endocarpo lignificado de las diásporas contribuyó a que la pérdida de humedad fuera menor con respecto a las otras especies.

➤ ***Buxus mexicana***

El contenido de humedad inicial de las diásporas (11.4%), bajó hasta un 6% (bpf), lo que significó una pérdida del 48% de su humedad inicial (Fig. 10). Transcurridos 16 días de la deshidratación parcial, las diásporas alcanzaron el punto de equilibrio, con un

contenido de humedad final de 6% (Fig. 11). La tasa promedio de deshidratación fue de 0.32% de humedad por día, debido a que la testa delgada de las diásporas permitió mayor pérdida de humedad con respecto a las otras especies.

➤ ***Echinocactus platyacanthus f. grandis***

El contenido de humedad inicial de las diásporas (11%), declinó hasta un 5% (bpf), lo que representó una pérdida del 55.2% de su humedad inicial (Fig. 10). Después de 16 días de deshidratación, las diásporas alcanzaron el punto de equilibrio, con un contenido de humedad final de 5% (Fig. 11). La tasa promedio de deshidratación fue de 0.36% de humedad por día. Al igual que la especie anterior, la testa delgada de las diásporas contribuyó a que la pérdida de humedad fuera mayor con respecto a la primera especie.

➤ ***Hechtia fragilis***

El contenido de humedad inicial de las diásporas (17%) descendió hasta un 6.5% (bpf), lo que representó una pérdida del 61% de su humedad inicial (Fig. 10). Después de 22 días de deshidratación, las diásporas alcanzaron el punto de equilibrio, con un contenido de humedad final de 6.5% (Fig. 11). La tasa promedio de deshidratación fue de 0.47%, debido a que la testa delgada y membranosa de las diásporas permitió mayor pérdida de humedad con respecto a las demás especies.

➤ **Características morfológicas de las diásporas y el hábitat de las especies**

La información obtenida sobre las características morfológicas de las diásporas se relacionó con el hábitat y el clima de las especies estudiadas (cuadro 2 y 3), con el fin de evaluar y categorizar si estas características están relacionadas con la tolerancia a la deshidratación y almacenamiento.

Cuadro 2. Tamaño, peso y contenido de humedad (*bpf = base peso fresco) entre las diásporas de las especies estudiadas.

Especies	Tamaño largo x ancho	Peso de 1000 diásporas	Contenido de humedad total
	mm.	gr.	% Promedio bpf*
<i>Acanthothamnus aphyllus</i>	4-6 x 3-4	26.3	7
<i>Buxus mexicana</i>	4-5 x 2-2.4	3.2	11.4
<i>Echinocactus platyacanthus</i> f. <i>grandis</i>	2-3 x 1.5-2.1	2.7	11
<i>Hechtia fragilis</i>	3-6 x 0.6-1.1	0.32	17

Cuadro 3. Características del fruto, hábitat y clima de las especies estudiadas

Especies	Fruto	Hábitat	Clima
Celastraceae <i>Acanthothamnus aphyllus</i> (Schlecht.) Standley	Drupa, semilla (1)	Matorral xerófilo	Alt. 1500-1880 m. Estación de sequía (6-7 meses), con lluvias invernales esporádicas; temperatura min. de 16 a 18°C y max. entre 26-30°C.
Buxaceae <i>Buxus mexicana</i> Brandeggee	Cápsula loculicida, semillas (6)	Matorral xerófilo	Alt. 2240 m. Estación de sequía (6-7 meses), con lluvias invernales esporádicas; temperatura min. de 14 a 17°C y max. entre 24-27°C.
Cactaceae <i>Echinocactus platyacanthus</i> f. <i>grandis</i> (Rose) Bravo	Baya, más de 100 semillas	Matorral xerófilo	Alt. 1100-2400 m. Estación de sequía (6-7 meses), con lluvias invernales esporádicas; temperatura min. de 16 a 19°C y max. entre 25-35°C.
Bromeliaceae <i>Hechtia fragilis</i> B. Utley & Utley	Cápsula loculicida, más de 100 semillas	Bosque tropical caducifolio y matorral xerófilo	Alt. 600-1210 m. Estación de sequía (6-7 meses), con lluvias invernales esporádicas; temperatura min. de 16 a 19°C y max. entre 23-35°C.

Los datos de los cuadros 2 y 3 mostraron que este tipo de información es complementaria, ya que, en cierta medida sugiere la probabilidad que tienen las diásporas de estas especies para mostrar un comportamiento de tolerancia a las condiciones de un almacenamiento seco y frío. En este sentido, la información sugirió que sí las especies estudiadas pueden tolerar sequías prolongadas en su hábitat natural, entonces las diásporas tuvieron la capacidad de tolerar una deshidratación parcial, al menos en los niveles probados en este estudio.

Por lo tanto, los valores de volumen, peso y contenido de humedad de las diásporas obtenidos en las especies estudiadas tenderían a ser menores si fueran comparados con los valores y características de las especies que se distribuyen en las regiones tropicales húmedas. Regiones, en donde hay especies con semillas recalcitrantes e intermedias y también ortodoxas (Chin *et al.*, 1989; Dickie y Pritchard, 2002; Hong y Ellis, 1996 a; Hong *et al.*, 1998; Roberts *et al.*, 1984). Lo que muestra la necesidad de realizar un estudio comparativo con las especies de estas regiones.

V. Germinación antes de la deshidratación parcial

Si bien, las diásporas de los taxa en estudio fueron sometidas a las mismas condiciones de germinación (fotoperiodo breve, luz continua y temperaturas de 18, 25 y 30°C), cada especie presentó un comportamiento de germinación muy particular a través del tiempo (30 días). El cuadro 4 y la figura 12 están mostrando las diferencias obtenidas en las especies y entre los porcentajes promedio de germinación, el tiempo en el que se inició la germinación, el tiempo promedio para alcanzar el 50% de germinación (TMG) y el tiempo para obtener la máxima capacidad germinativa.

En lo que se refiere al efecto de los dos tiempos de esterilización, los porcentajes de germinación no fueron diferentes en las especies, lo cual indicó que no hubo ningún efecto en la respuesta de germinación de las diásporas estudiadas y tampoco en el desarrollo de hongos que pudieran contaminar a las diásporas y al medio (Cuadro 4). Sin embargo, los porcentajes de viabilidad registrados (82-95%) en las pruebas de tetrazolio para las diásporas que no germinaron después de las pruebas, mostraron que la condición de fotoperiodo breve sí tuvo un efecto sobre las mismas, lo cual sugirió que la oscuridad inhibió su respuesta de germinación.

Acanthoamnus aphyllus

- La máxima respuesta de germinación registrada en las diásporas de esta especie fue de 18.7%, bajo una temperatura de 18°C. Mientras que en los 30°C la respuesta de

germinación fue de 4%, lo cual sugiere que esta temperatura inhibió la germinación y posiblemente impuso un estado de latencia en las mismas. El coeficiente de variación registrado fue de 36.4 y 141.2%, esto indicó que la respuesta de germinación de las diásporas fue muy heterogénea en las réplicas y en cada una de las temperaturas utilizadas (Cuadro 4).

- En cuanto a la velocidad de germinación de las diásporas de *A. aphyllus*, los resultados mostraron que la germinación se inició entre los 17 y 19 días en las temperaturas de 18 y 25°C y en los 30°C se presentó entre los días 5 y 23. Mientras tanto, el tiempo promedio para alcanzar el 50% de germinación (TMG) se extendió de 19 a 23 días en los 18°C, de 20 días en los 25°C y de 14 a 24 días en los 30°C. El tiempo promedio para alcanzar la máxima capacidad germinativa fue de 24 a 30 días (Fig. 12). Hasta este punto los resultados mostraron que las diásporas de esta especie iniciaron la germinación aproximadamente a los 18 días, en las temperaturas usadas.

Buxus mexicana

- Las diásporas de esta especie presentaron una única respuesta de germinación en las temperaturas de 18 y 25°C, con un coeficiente de variación de 142% (Cuadro 4). En los 18°C, la respuesta de germinación comenzó después de 19 días y en los 25°C a los 8 días. También, el tiempo promedio para alcanzar el 50% de germinación en 18°C y 25°C fue de 19 y 8 días, respectivamente. Estos resultados mostraron que la respuesta y tiempo promedio de germinación en esta especie ocurrió en menor tiempo en los 25°C (Fig. 12).

Echinocactus platyacanthus f. grandis

- En las diásporas de esta especie, se registró un germinación máxima de 25.3% en los 30°C y de 6.7% para los 18°C, es probable que la temperatura de 18°C haya producido una lenta respuesta de germinación en las mismas. El coeficiente de

variación de la germinación fue de 39 y 98%, señalando que la respuesta germinativa de las diásporas fue heterogénea (Cuadro 4).

- Respecto a la velocidad de germinación de las diásporas de *E. platyacanthus* f. *grandis*, la respuesta de germinación se inició a los 5 días para las temperaturas de 18 y 30°C, en tanto que para los 25°C se presentó entre los 8 y 11 días. En lo que se refiere al tiempo promedio para alcanzar el 50% de germinación (TMG), éste se acortó a 7 y 9 días para las temperaturas de 18 y 30°C, respectivamente y, se extendió a 11 y 13 días para los 30°C. El tiempo para obtener la máxima capacidad germinativa fue de 10 y 25 días. Estos resultados señalaron que las semillas de esta especie requieren en promedio 5 días para iniciar la germinación en los 18 y 30°C y, de 9 días para los 25°C (Fig. 12).

Hechtia fragilis

- Las diásporas de esta especie presentaron una germinación máxima de 32% en la temperatura de 18°C y en los 30°C, la germinación se redujo entre 5 y 6.7%, lo cual sugiere que esta temperatura posiblemente retardó la respuesta de germinación en las mismas (Cuadro 4). El coeficiente de variación de la germinación fue entre 27 y 36%, lo que indicó que la respuesta germinativa de las diásporas fue homogénea.
- La respuesta de germinación de las diásporas de *H. fragilis* se inició a partir de los 6 días y continuó hasta los 14 días, en las tres temperaturas usadas. Asimismo, el tiempo promedio para alcanzar el 50% de germinación (TMG) fue entre 13, 12 y 9-15 días para las temperaturas de 18, 25 y 30°C, respectivamente. Por lo que el tiempo para la máxima capacidad de germinación se extendió de 11 a 24 días. Estos resultados mostraron que las diásporas de esta especie requieren en promedio 9 días, para iniciar su germinación en las temperaturas usadas (Fig. 12).

Cuadro 4. Relación entre el contenido de humedad inicial y la germinación de las diásporas estudiadas, antes de la deshidratación parcial. Las diásporas fueron esterilizadas durante 15 y 30 minutos e incubadas en las temperaturas de 18, 25 y 30°C y en oscuridad con 2 min de exposición a la luz (cuando se registraba su germinación, fotoperiodo breve). Los valores subrayados son los porcentajes promedio de germinación obtenidos después de 30 días de incubación, entre paréntesis están la desviación estándar de la media de tres réplicas y debajo de ellos el coeficiente de variación.

Especies	Contenido de humedad (%) Inicial	Esterilización Tiempo	Germinación (%)		
			Temperaturas (°C)		
			18	25	30
		T1= 15 min T2= 30 min			
<i>Acanthothamnus aphyllus</i>	7	T1	<u>18.7</u>	<u>13.3</u>	<u>4</u>
	(0.1)		(6.8)	(1.9)	(3.3)
	1.6		36.4	14.2	82
		T2	<u>8</u>	<u>5.3</u>	<u>2.7</u>
			(6.5)	(5)	(3.8)
			81.6	93.6	141.2
<i>Buxus mexicana</i>	11.4	T1	<u>1.3</u>	<u>1.3</u>	<u>0.00</u>
	(1.7)		(1.9)	(1.9)	
	15		142	142	
		T2	<u>0.00</u>	<u>0.00</u>	<u>0.00</u>
<i>Echinocactus platyacanthus</i> f. <i>grandis</i>	11	T1	<u>6.7</u>	<u>12</u>	<u>25.3</u>
	(0.1)		(2)	(11.8)	(10)
	9		28.3	98.2	39.4
		T2	<u>0.00</u>	<u>17.3</u>	<u>0.00</u>
			(2)	11	
<i>Hechtia fragilis</i>	17	T1	<u>32</u>	<u>9.3</u>	<u>6.7</u>
	(2)		(8.6)	(2)	(2)
	12		27	20.3	28.3
		T2	<u>16</u>	<u>5.3</u>	<u>5.3</u>
		(0)	(2)	(2)	
		0	36	36	

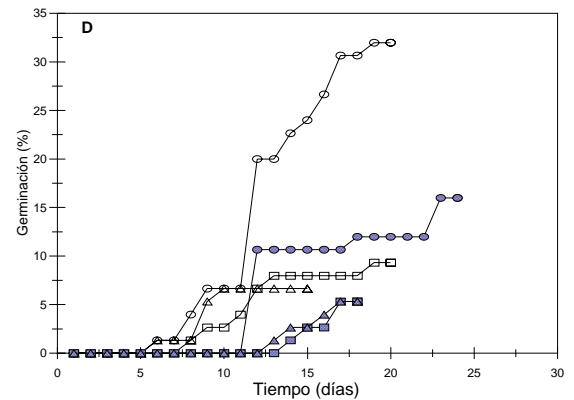
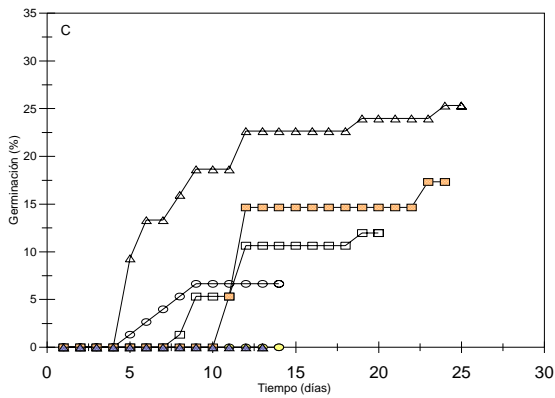
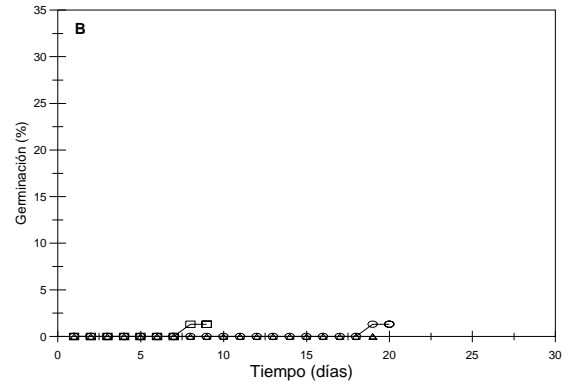
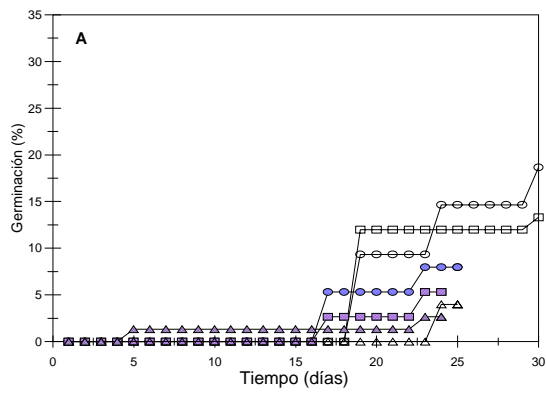


Figura 12. Efecto de un fotoperiodo breve (oscuridad, con 2 min. de exposición a la luz cuando se registraba su germinación), temperaturas (\circ 18°C, \square 25°C y \triangle 30°C) y tiempo de esterilización (15 min. símbolos abiertos; 30 min. símbolos cerrados), sobre el desarrollo de la germinación (30 días) en las diásporas de (A) *Acanthothamnus aphyllus*, (B) *Buxus mexicana*, (C) *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y (D) *Hechtia fragilis*, antes de la deshidratación parcial. La germinación fue evaluada como la emergencia del hipocótilo y radícula fuera de la cubierta seminal.

VI. Germinación después de la deshidratación parcial y almacenamiento

En este estudio, se evaluó el efecto de la deshidratación parcial de las diásporas y el tiempo de almacenamiento sobre la respuesta de germinación de las mismas. El bajo contenido de humedad final con el que fueron almacenadas las diásporas de estas especies, fue conservado por las mismas a través su almacenamiento a -20°C .

En este sentido, se determinó que el tratamiento de deshidratación parcial de las diásporas y el bajo contenido de humedad mantenido durante 1, 5 y 26 meses, no redujeron su respuesta de germinación. Debido a que los porcentajes de germinación después de la deshidratación parcial fueron más altos por las condiciones de luz continua y fotoperiodo breve, que los registrados antes de la deshidratación parcial y solamente con un fotoperiodo breve. Por lo que estos resultados mostraron que este almacenamiento seco y frío fue adecuado para mantener la viabilidad de las diásporas estudiadas.

Acanthothamnus aphyllus

- El análisis de varianza de la tasa de germinación de *A. aphyllus* mostró que la temperatura ($F= 15.064$, $p < 0.0001$) y la iluminación ($F= 18.311$, $p < 0.0001$) por sí solas tuvieron una influencia significativa, ya que, incrementaron la respuesta de germinación en las diásporas. De manera muy semejante, la interacción de la temperatura con la iluminación ($F= 3.174$, $p < 0.057$) influyeron significativamente en la germinación (Cuadro 6).
- Después de que transcurrió un mes de almacenamiento, las diásporas de esta especie presentaron una germinación máxima de 6.7% con un fotoperiodo breve y temperatura de 30°C . En luz continua y los 18 y 25°C , la respuesta de germinación se incrementó a 18.7 y 20%, respectivamente. En ambas condiciones, el coeficiente de variación de la germinación fue de 28.2 y 145.4%, lo que mostró que la respuesta de germinación fue heterogénea (Cuadro 5, Fig. 13). Las diásporas no germinadas en los tratamientos fueron cortadas y se determinó que se encontraban llenas y sanas (con embrión y material de reserva no embebidos).

- En los cinco meses de almacenamiento, las diásporas incrementaron su respuesta de germinación a 10.7% en la temperatura de 18°C y fotoperiodo breve. En luz continua, la germinación se incrementó a 20 y 21.3% en los 18 y 25°C, respectivamente. El coeficiente de variación de la germinación fue de 23.4 y 139.3%, lo que mostró la heterogeneidad de la respuesta en las diásporas de esta especie.
- Para los 26 meses de almacenamiento, las diásporas presentaron una germinación de 18% en la temperatura de 18°C y fotoperiodo breve. En esta misma temperatura y luz continua, la respuesta de germinación se incrementó a un 50%.
- En la prueba de tetrazolio, las diásporas que no germinaron en las diferentes pruebas de germinación mostraron un 95% de probabilidad de que estuvieran viables. Estos resultados sugieren que el almacenamiento seco y frío no redujeron la viabilidad de las mismas.
- Asimismo, el análisis de los porcentajes de germinación a través del tiempo de almacenamiento mostraron que los tratamientos de luz continua y fotoperiodo breve con la temperatura de 18°C tuvieron un efecto significativamente positivo en el rompimiento gradual de la latencia de las diásporas de esta especie. Mientras que las temperaturas de 25 y 30°C, retardaron la respuesta de germinación de las mismas. Por lo tanto, el tratamiento más favorable para la germinación de las diásporas de *A. aphyllus* fueron la temperatura de 18°C con luz continua.

Cuadro 5. Efecto de un almacenamiento seco y frío (-20°C), sobre la germinación de las diásporas de *Acanthoathamnus aphyllus*. Después de un almacenamiento de 1, 5 y 26 meses, las diásporas ya esterilizadas por 15 y 30 min. fueron sembradas y germinadas en condiciones de fotoperiodo breve (oscuridad, con 2 min. de exposición a la luz), luz continua y temperaturas de 18, 25 y 30°C. Los valores subrayados están representando los porcentajes promedio de germinación, entre paréntesis están los valores de la desviación estándar de la media de tres réplicas y debajo de ellos se encuentran los coeficientes de variación.

Contenido de humedad Final 3.1% *		Porcentaje promedio de germinación durante tres períodos de almacenamiento								
Esterilización tiempo	Iluminación Fotoperiodo breve / Luz continua	1 mes			5 meses			26 meses		
		Temperaturas (°C)								
T1= 15 min T2= 30 min	F.b.= 2 min. L.c.= 24 hr.	18	25	30	18	25	30	18	25	30
T1	F. b.	<u>2.7</u> (1.89) 70	<u>1.3</u> (1.89) 145.4	<u>5.3</u> (1.89) 35.7	<u>10.7</u> (9.98) 93.3	<u>8</u> (3.27) 40.9	<u>2.7</u> (3.77) 139.6	<u>18</u> (2) 11.1	<u>4</u> (0.0)	<u>4</u> (0.0)
T2	F. b.	<u>4</u> (0.0) 70	<u>2.7</u> (1.89) 70	<u>6.7</u> (1.89) 28.2	<u>9.3</u> (4.99) 53.7	<u>5.3</u> (4.99) 94.2	<u>4</u> (3.77) 94.3	<u>12</u> (0.0)	<u>12</u> (0.0)	<u>4</u> (0.0)
T1	L. c.	<u>14.7</u> (1.89) 12.9	<u>17.3</u> (16.1) 93.1	<u>6.7</u> (1.89) 28.2	<u>21.3</u> (4.99) 23.4	<u>16</u> (6.53) 40.8	<u>8</u> (3.27) 40.9	<u>50</u> (2.0) 4	<u>8</u> (0.0)	<u>4</u> (0.0)
T2	L. c.	<u>18.7</u> (4.99) 26.7	<u>20</u> (14.2) 71	<u>8</u> (0.0)	<u>20</u> (8.64) 43.2	<u>14.7</u> (3.77) 25.6	<u>6.7</u> (1.89) 28.2	<u>46</u> (2.0) 4.4	<u>14</u> (2.0)	<u>4</u> (0.0) 14.3

*Contenido de humedad final de las diásporas después de la deshidratación parcial con gel de sílice. El porcentaje de humedad es expresado con base en el peso fresco. Iniciales F. b. (Fotoperiodo breve), L. c. (Luz continua).

Cuadro 6. Análisis de varianza de las germinaciones de *Acanthoathamnus aphyllus* bajo los tratamientos de temperatura (Temp), iluminación (Illum), esterilización (Esteril) y tiempo de almacenamiento (Talm).

Análisis de Varianza					
Fuente	S. de C.	G. L.	C. M.	F	P
Temp	0.303	2	0.151	15.064	0.0001
Illum	0.184	1	0.184	18.311	0.0001
Esteril	0.000	1	0.000	0.001	0.977 ns
Temp*Illum	0.064	2	0.032	3.174	0.057
Temp*Esteril	0.004	2	0.002	0.181	0.836 ns
Illum*Esteril	0.002	1	0.002	0.241	0.627 ns
Temp*Illum*Esteril	0.002	2	0.001	0.107	0.899 ns
Talm	0.009	1	0.009	0.863	0.361 ns
Error	0.291	29	0.010		

ns= no significativo P> 0.10; C. M.= Cuadrado medio; S. de C.= Suma de cuadrados; F.= Valor del estadístico F; G.L.= Grados de libertad; P= probabilidad

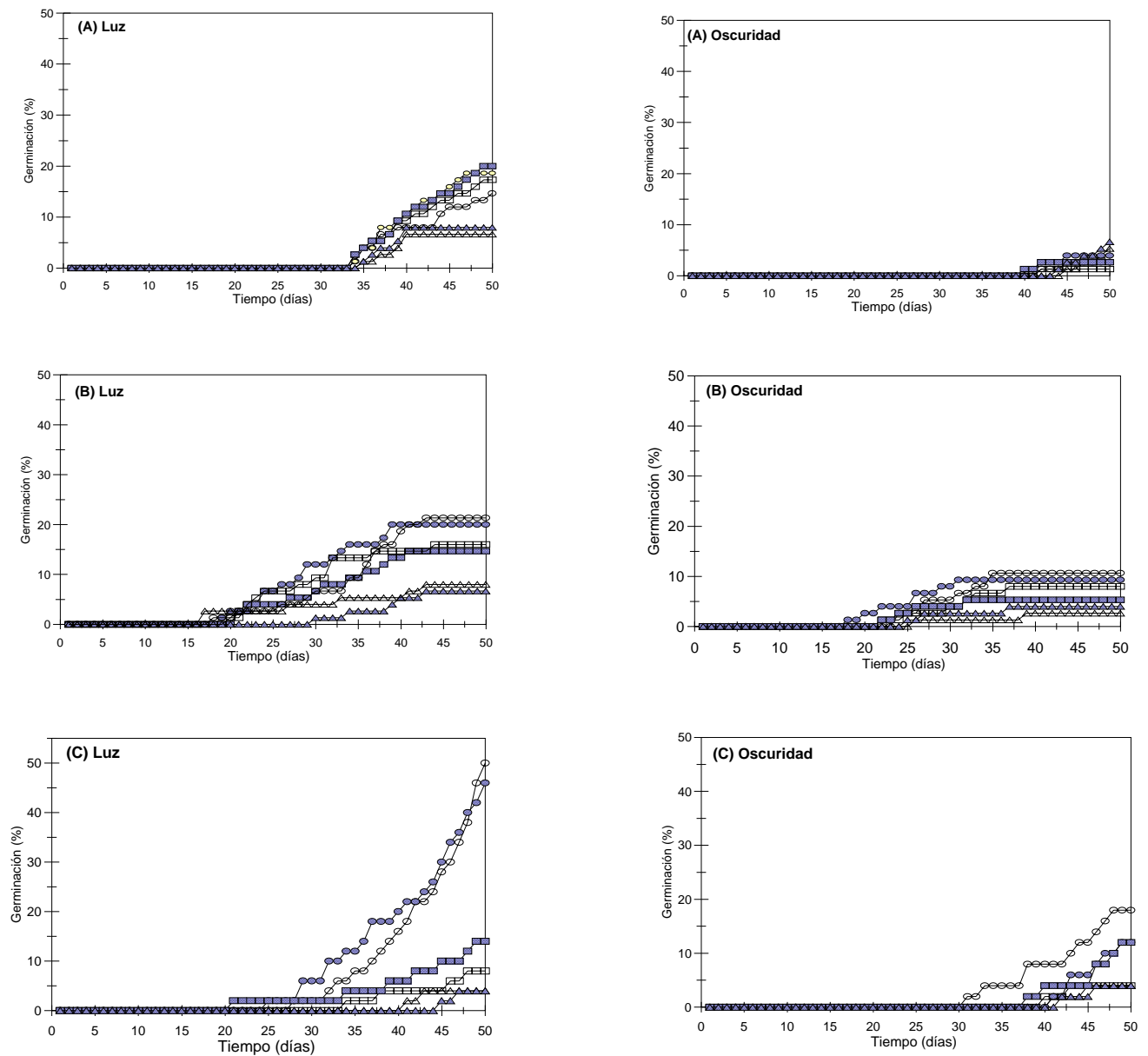


Figura 13. Efecto de la oscuridad (fotoperiodo breve, 2 min. de exposición a la luz cuando se registraba su germinación), luz continua, temperaturas (○ 18°C, □ 25°C y △ 30°C) y tiempo de esterilización (15 min. símbolos abiertos, 30 min. símbolos cerrados) sobre el desarrollo de la germinación en las diásporas de *Acanthoamnus aphyllus*, después de (A) uno, (B) cinco y (C) 26 meses de almacenadas a -20°C. La germinación fue evaluada como la emergencia del hipocótilo y radícula fuera de la cubierta seminal.

Buxus mexicana

- Las diásporas de esta especie presentaron una respuesta germinativa de 4%, después de 26 meses de almacenamiento. Debido a que la mayoría de las diásporas se encontraron vacías y en otras, el material de reserva y embrión se observó colapsado y/o desintegrado (Cuadro 7).
- El análisis de varianza de la tasa de germinación de *B. mexicana* dio a conocer que factores tales como la temperatura, iluminación y tiempo de almacenamiento no tuvieron ningún efecto significativo sobre la respuesta de germinación (Cuadro 8), lo cual fue esperado dada la baja calidad y viabilidad de las diásporas.
- Tomando en cuenta que esta especie está en peligro de extinción, debido a que la población está restringida sólo a una localidad, y que además, ha mostrado bajos índices de viabilidad, se considera importante buscar otras vías de propagación y conservación para la misma. La propagación por medios vegetativos, como ocurre en condiciones naturales, podría ser una de las alternativas a seguir o bien por medio de cultivo de tejidos y conservación *in vitro*.
- Por otro lado, surge la necesidad de determinar que factores están contribuyendo o influyendo en la producción de un gran número de semillas de baja calidad y viabilidad, a través de un estudio ecológico de polinizadores y un análisis de genética de poblaciones.

Echinocactus platyacanthus f. grandis

- El análisis de varianza de la tasa de germinación de *E. platyacanthus f. grandis* mostró que la temperatura ($F= 3.343, p < 0.049$) y la iluminación ($F= 37.006, p < 0.0001$) de forma independiente, tuvieron una influencia significativa en la respuesta de germinación de las semillas, promoviendo altos porcentajes de germinación en las mismas (Cuadro 10). La interacción de las temperaturas de germinación con la iluminación ($F= 4.840, p < 0.015$) también influyeron positivamente en los porcentajes

de germinación. En particular, el tiempo de almacenamiento ($F= 42.142$, $p < 0.0001$) tuvo un efecto significativo sobre el incremento de la respuesta de germinación en las diásporas, lo cual probablemente está mostrando el rompimiento gradual de la latencia en las mismas.

- Después de que transcurrió un mes de almacenamiento, las diásporas de esta especie mostraron una germinación máxima de 64% en la temperatura de 25°C y fotoperiodo breve. En luz continua y los 30°C, los porcentajes de germinación se incrementaron a 90.7%. El coeficiente de variación fue de 24 y 31.5%, lo que indicó que la respuesta de germinación en las diásporas fue homogénea (Cuadro 9, Fig. 14). Las diásporas que no germinaron en estas pruebas fueron cortadas y se determinó que se encontraban llenas y sanas (embrión y material de reserva no embebido).
- En los cinco meses de almacenamiento, la respuesta de germinación de las diásporas fue de 70.7% en la temperatura de 25°C y fotoperiodo breve. En luz continua y los 30°C, la germinación fue de 97.3%. Los coeficientes de variación fueron de 1.9 y 46.3%, indicando que la respuesta de germinación fue homogénea.
- Para los 26 meses de almacenamiento, las diásporas incrementaron su germinación a 94% en oscuridad y temperatura de 25°C. En la misma forma en luz y temperaturas de 25 y 30°C, la germinación llegó al 100%.
- En la prueba de tetrazolio, las diásporas que no germinaron en las diferentes pruebas de germinación mostraron un 100% de probabilidad de que estuvieran viables.
- Asimismo, el análisis de los porcentajes de germinación a través del tiempo de almacenamiento mostraron que las diásporas de *E. platyacanthus* f. *grandis* fueron sensibles a los tratamientos de fotoperiodo breve y luz continua, así como a las tres temperaturas utilizadas en este estudio, lo que sugiere la gran plasticidad de su respuesta de germinación para diferentes condiciones ambientales.

Cuadro 7. Efecto de un almacenamiento seco y frío (-20°C), sobre la germinación de las diásporas de *Buxus mexicana*. Después de un almacenamiento de 1, 5 y 26 meses, las diásporas ya esterilizadas por 15 y 30 min. fueron sembradas y germinadas en condiciones de fotoperiodo breve (oscuridad, con 2 min. de exposición a la luz), luz continua y temperaturas de 18, 25 y 30°C. Los valores subrayados están representando los porcentajes promedio de germinación, entre paréntesis están los valores de la desviación estándar de la media de tres réplicas y debajo de ellos se encuentran los coeficientes de variación.

Contenido de humedad Final 5.95% *		Porcentaje promedio de germinación durante tres períodos de almacenamiento								
Esterilización tiempo	Iluminación Fotoperiodo breve / Luz continua	1 mes			5 meses			26 meses		
		Temperaturas (°C)								
T1= 15 min T2= 30 min	F. b.= 2 min. L. c.= 24 hr.	18	25	30	18	25	30	18	25	30
T1	F. b.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T2	F. b.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T1	L. c.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	<u>4.0</u> (0.0)	0.0	0.0
T2	L. c.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

*Contenido de humedad final de las diásporas después de la deshidratación parcial con gel de sílice. El porcentaje de humedad es expresado con base en el peso fresco. Iniciales F. b. (Fotoperiodo breve), L. c. (Luz continua).

Cuadro 8. Análisis de varianza de las germinaciones de *Buxus mexicana* bajo los tratamientos de temperatura (Temp), Iluminación (Illum), esterilización (Esteril) y tiempo de almacenamiento (Talm).

Análisis de Varianza					
Fuente	S. de C.	G. L.	C. M.	F	P
Temp	0.004	2	0.002	1.295	0.289 ns
Illum	0.000	1	0.000	0.065	0.800 ns
Esteril	0.004	1	0.004	2.776	0.106 ns
Temp*Illum	0.002	2	0.001	0.605	0.553 ns
Temp*Esteril	0.004	2	0.002	1.295	0.289 ns
Illum*Esteril	0.000	1	0.000	0.015	0.902 ns
Temp*Illum*Esteril	0.002	2	0.001	0.605	0.553 ns
Talm	0.001	1	0.001	0.313	0.580 ns
Error	0.047	29	0.002		

ns= no significativo P> 0.10; C. M.= Cuadrado medio; S. de C.= Suma de cuadrados;
F= Valor del estadístico F; G. L.= Grados de libertad; P= Probabilidad

Cuadro 9. Efecto de un almacenamiento seco y frío (-20°C), sobre la germinación de las diásporas de *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis*. Después de un almacenamiento de 1, 5 y 26 meses, las diásporas ya esterilizadas por 15 y 30 min. fueron sembradas y germinadas en condiciones de fotoperiodo breve (oscuridad, con 2 min. de exposición a la luz), luz continua y temperaturas de 18, 25 y 30°C. Los valores subrayados están representando los porcentajes promedio de germinación, entre paréntesis están los valores de la desviación estándar de la media de tres réplicas y debajo de ellos se encuentran los coeficientes de variación.

Contenido de humedad Final 4.92% *		Porcentaje promedio de germinación durante tres períodos de almacenamiento								
Esterilización tiempo	Iluminación Fotoperiodo breve / Luz continua	1 mes			5 meses			26 meses		
		Temperaturas (°C)								
T1= 15 min T2= 30 min	F. b.= 2 min. L. c.= 24 hr.	18	25	30	18	25	30	18	25	30
T1	F. b.	<u>54.7</u> (1.89) 3.5	<u>61.3</u> (8.22) 13.4	<u>33.3</u> (10.5) 31.5	<u>22.7</u> (10.5) 46.3	<u>70.7</u> (3.77) 5.3	<u>28</u> (6.53) 23.3	<u>94</u> (2.0) 2.1	<u>94</u> (2.0) 2.1	<u>24</u> (4.0) 17.7
T2	F. b.	<u>53.3</u> (1.89) 3.5	<u>64</u> (5.66) 0.97	<u>36</u> (8.64) 24	<u>22.7</u> (8.22) 36.2	<u>68</u> (3.27) 4.8	<u>30.7</u> (6.80) 22.1	<u>94</u> (2.0) 2.1	<u>94</u> (6.0) 6.4	<u>62</u> (2.0) 3.2
T1	L. c.	<u>72</u> (11.8) 16.4	<u>78.7</u> (4.99) 6.3	<u>89.3</u> (7.54) 8.4	<u>61.3</u> (8.22) 13.4	<u>92</u> (3.27) 3.6	<u>94.7</u> (4.99) 5.3	<u>94</u> (2.0) 2.1	<u>100</u>	<u>96</u> (4.0) 4.2
T2	L. c.	<u>77.3</u> (8.2) 10.6	<u>80</u> (3.27) 4.1	<u>90.7</u> (6.80) 7.5	<u>60</u> (9.80) 16.3	<u>93.3</u> (1.89) 2.0	<u>97.3</u> (1.89) 1.9	<u>90</u> (6.0) 6.7	<u>94</u> (2.0) 2.1	<u>100</u>

*Contenido de humedad final de las diásporas después de la deshidratación parcial con gel de sílice. El porcentaje de humedad es expresado con base en el peso fresco. Iniciales F. b. (Fotoperiodo breve), L. c. (Luz continua).

Cuadro 10. Análisis de varianza de las germinaciones de *E. platyacanthus* f. *grandis* bajo los tratamientos de temperatura (Temp), iluminación (Illum), esterilización (Esteril) y tiempo de almacenamiento (Talm).

Análisis de Varianza					
Fuente	S. de C.	G.L.	C.M.	F	P
Temp	0.307	2	0.154	3.343	0.049
Illum	1.700	1	1.700	37.006	0.0001
Esteril	0.001	1	0.001	0.015	0.904 ns
Temp*Illum	0.445	2	0.222	4.840	0.015
Temp*Esteril	0.012	2	0.006	0.130	0.879 ns
Illum*Esteril	0.002	1	0.002	0.049	0.826 ns
Temp*illum*Esteril	0.019	2	0.009	0.206	0.815 ns
Talm	1.936	1	1.936	42.142	0.0001
Error	1.332	29	0.046		

ns= no significativo P>0.10; C. M.= Cuadrado medio; S. de C.= Suma de cuadrados; F= Valor del estadístico F; G. L.= Grados de libertad; P= Probabilidad

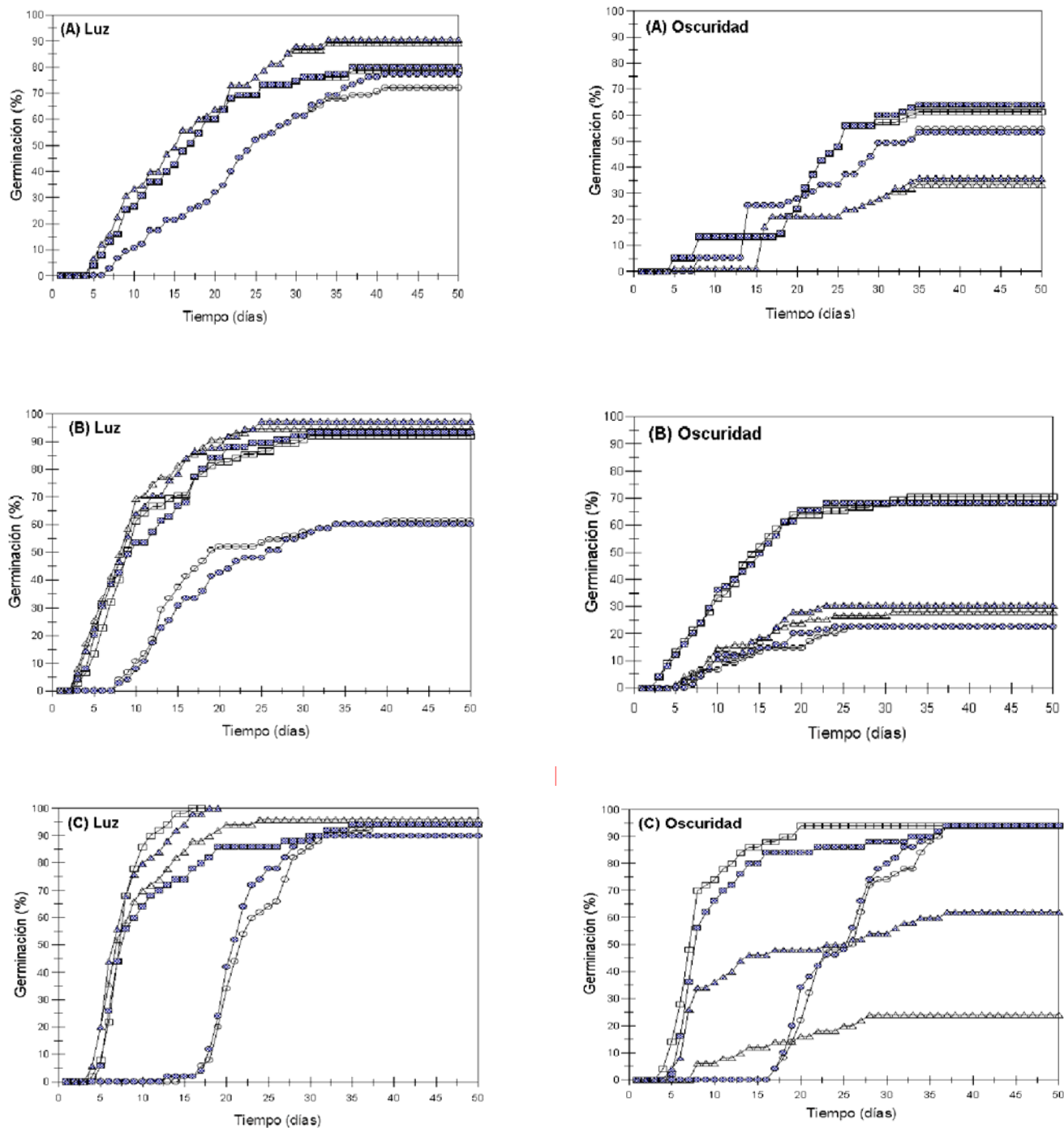


Figura 14. Efecto de la oscuridad (fotoperiodo breve, 2 min. de exposición a la luz cuando se registraba su germinación), luz continua, temperaturas (○ 18°C, □ 25°C y △ 30°C) y tiempo de esterilización (15 min. símbolos abiertos, 30 min. símbolos cerrados) sobre el desarrollo de la germinación en las diásporas de *Echinocactus platyacanthus f. grandis*, después de (A) uno, (B) cinco y (C) 26 meses de almacenadas a -20°C. La germinación fue evaluada como la emergencia del hipocótilo y radícula fuera de la cubierta seminal.

Hechtia fragilis

- El análisis de varianza de la tasa de germinación de *H. fragilis* mostró que la iluminación ($F= 69.831$, $p < 0.0001$) y el tiempo de almacenamiento ($F= 60.193$, $p < 0.0001$) por sí solos tuvieron una influencia significativa en el incremento de la respuesta de germinación de las diásporas (Cuadro 12).
- Después de que transcurrió un mes de almacenamiento, las diásporas de esta especie mostraron una germinación máxima de 28% en la temperatura de 30°C y fotoperiodo breve. En luz continua y los 18°C, los porcentajes de germinación se incrementaron a 62.7%. El coeficiente de variación fue de 17%, por lo que la respuesta de germinación fue homogénea (Cuadro 11, Fig. 15). Las diásporas que no germinaron en estas pruebas se cortaron y se registraron como llenas y sanas (embrión no embebido).
- En los cinco meses de almacenamiento, las diásporas incrementaron su respuesta de germinación a 40% en la temperatura de 25°C y fotoperiodo breve. En esta misma temperatura y luz continua, la germinación se incrementó a 78.7% (Cuadro 11, Fig. 15). En ambos tratamientos el coeficiente de variación fue de 18.7%, por lo que la respuesta de germinación fue homogénea.
- Para los 26 meses de almacenamiento, la respuesta de germinación se incrementó a 66% en la temperatura de 25°C y fotoperiodo breve. En esta misma temperatura y luz continua, los porcentajes de germinación fueron de 82%. En la prueba de tetrazolio, las diásporas que no germinaron en las diferentes pruebas mostraron un 90% de probabilidad de que estuvieran viables.
- Asimismo, el análisis de los porcentajes de germinación a través del tiempo de almacenamiento mostraron que las diásporas de *H. fragilis* fueron muy sensibles al estímulo de la luz (fotoperiodo breve y luz continua) y a las temperaturas usadas en este estudio, lo que sugiere la gran plasticidad de su respuesta de germinación para diferentes condiciones ambientales.

Cuadro 11. Efecto de un almacenamiento seco y frío (-20°C), sobre la germinación de las diásporas de *Hechtia fragilis*. Después de un almacenamiento de 1, 5 y 26 meses, las diásporas ya esterilizadas por 15 y 30 min. fueron sembradas y germinadas en condiciones de fotoperiodo breve (oscuridad, con 2 min. de exposición a la luz), luz continua y temperaturas de 18, 25 y 30°C. Los valores subrayados están representando los porcentajes promedio de germinación, entre paréntesis están los valores de la desviación estándar de la media de tres réplicas y debajo de ellos se encuentran los coeficientes de variación.

Contenido de humedad Final 6.53% *		Porcentaje promedio de germinación durante tres períodos de almacenamiento								
Esterilización tiempo	Iluminación Fotoperiodo breve /Luz continua	1 mes			5 meses			26 meses		
		Temperaturas (°C)								
T1= 15 min T2= 30 min	F. b.= 2 min. L. c.= 24 hr.	18	25	30	18	25	30	18	25	30
T1	F. b.	<u>22.7</u> (1.89) 8.3	<u>10.7</u> (1.89) 17.7	<u>28</u>	<u>30.7</u> (1.89) 6.2	<u>38.7</u> (1.89) 4.9	<u>26.7</u> (4.99) 18.7	<u>52</u>	<u>66</u> (2.0) 3.0	<u>40</u>
T2	F. b.	<u>21.3</u> (1.89) 8.9	<u>12</u>	<u>28</u>	<u>18.7</u> (1.89) 10.1	<u>40</u> (3.27) 8.2	<u>32</u> (3.27) 10.2	<u>52</u>	<u>66</u> (2.0) 3.0	<u>20</u>
T1	L. c.	<u>58.7</u> (1.89) 3.2	<u>38.7</u> (3.77) 9.7	<u>46.7</u> (1.89) 4.0	<u>53.3</u> (1.89) 3.5	<u>74.7</u> (3.77) 5.0	<u>69.3</u> (6.80) 9.8	<u>80</u>	<u>80</u> (4.0) 5.0	<u>78</u> (2.0) 2.6
T2	L. c.	<u>62.7</u> (3.77) 6.0	<u>36</u> (3.27) 9.1	<u>48</u>	<u>62.7</u> (1.89) 3.0	<u>78.7</u> (1.89) 2.4	<u>74.7</u> (4.99) 6.7	<u>76</u>	<u>82</u> (2.0) 2.4	<u>72</u>

*Contenido de humedad final de las diásporas después de la deshidratación parcial con gel de sílice. El porcentaje de humedad se expresó con base en el peso fresco. Iniciales F. b. (Fotoperiodo breve), L. c. (Luz continua).

Cuadro 12. Análisis de varianza de las germinaciones de *Hechtia fragilis* bajo los tratamientos de temperatura (Temp), iluminación (Illum), esterilización (Esteril) y tiempo de almacenamiento (Talm).

Análisis de Varianza					
Fuente	S. de C.	G. L.	C. M.	F	P
Temp	0.019	2	0.009	0.629	0.540 ns
Illum	1.051	1	1.051	69.831	0.0001
Esteril	0.003	1	0.003	0.188	0.668 ns
Temp*Illum	0.013	2	0.007	0.442	0.647 ns
Temp*Esteril	0.002	2	0.001	0.062	0.940 ns
Illum*Esteril	0.010	1	0.010	0.687	0.414 ns
Temp*Illum*Esteril	0.004	2	0.002	0.124	0.884 ns
Talm	0.906	1	0.906	60.193	0.0001
Error	0.437	29	0.015		

ns= no significativo P> 0.10; C. M.= Cuadrado medio; S. de C.= Suma de cuadrados;
F.= Valor del estadístico F; G.L.= Grados de libertad; P= probabilidad

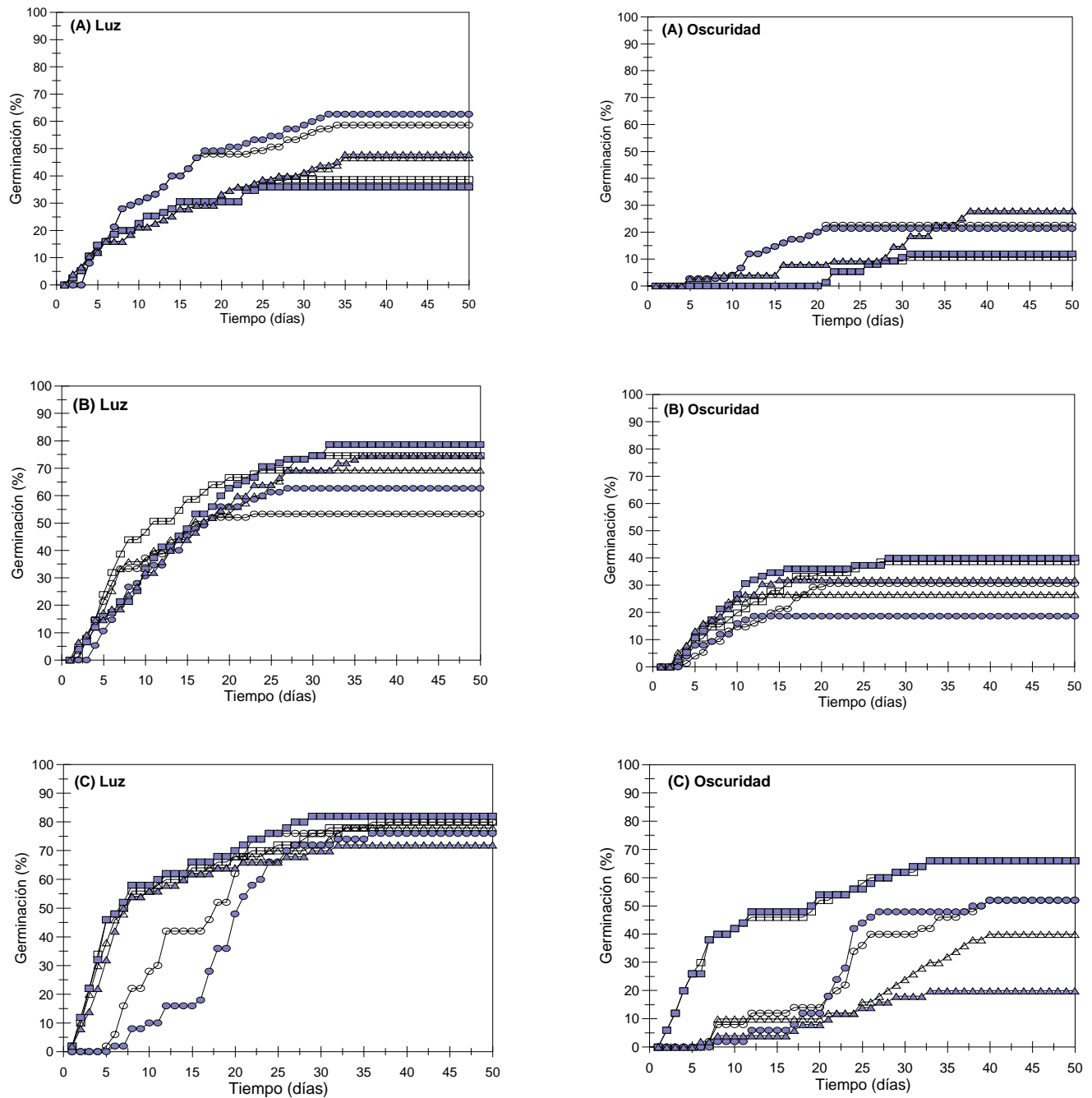


Figura 15. Efecto de la oscuridad (fotoperiodo breve, 2 min. de exposición a la luz cuando se registraba su germinación), luz continua, temperaturas (○ 18°C, □ 25°C y △ 30°C) y tiempo de esterilización (15 min. símbolos abiertos, 30 min. símbolos cerrados) sobre el desarrollo de la germinación en las diásporas de *Hechtia fragilis*, después de (A) uno, (B) cinco y (C) 26 meses de almacenadas a -20°C. La germinación fue evaluada como la emergencia del hipocótilo y radícula fuera de la cubierta seminal.

VI.i. Tiempo promedio para alcanzar un 50% de germinación (TMG)

El efecto del tiempo de almacenamiento sobre el tiempo promedio para alcanzar el 50% de germinación (TMG) con un fotoperiodo breve y luz continua, para las especies de *Acanthothamnus aphyllus* (Fig. 16), *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* (Fig. 17) y *Hechtia fragilis* (Fig. 18) estuvo estrechamente relacionado con las temperaturas de germinación utilizadas. Temperaturas que coincidieron con algunos de los valores de las temperaturas promedio mínima, promedio y máxima registradas en las áreas de distribución de estas especies (Cuadro 13 y 14).

Asimismo, los resultados del tiempo promedio de germinación están apoyando estudios previos, en los cuales se menciona que algunas especies de cactus de las zonas áridas tienden a presentar una máxima respuesta de germinación en intervalos de temperatura entre los 20 y 30°C (Baskin y Baskin, 1998; Ocampo *et al.*, 2003, Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000; Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997, 1998, 2001; Xiang-yun *et al.*, 2003).

Acanthothamnus aphyllus

- Después de un mes de almacenamiento, el tiempo promedio para alcanzar el 50% de germinación (TMG) fue de 47 días con un fotoperiodo breve, disminuyendo éste a 39 días con luz continua y en las tres temperaturas usadas (Fig. 16).
- Después de cinco meses de almacenamiento y en las tres temperaturas, el TMG se acortó a 38 días con un fotoperiodo breve y de 25 días con luz continua.
- Para los 26 meses de almacenamiento, el TMG fue de 45 días con un fotoperiodo breve y de 40 días en luz continua.
- En general, los TMG obtenidos para *A. aphyllus* mostraron que la temperatura de 30°C retardó la respuesta de germinación de las diásporas y por consiguiente el tiempo promedio se extendió. Mientras que en luz continua y la temperatura de 18°C

influyeron positivamente en la velocidad de germinación.

Echinocactus platyacanthus f. grandis

- Después de un mes de almacenamiento y en las tres temperaturas utilizadas, el tiempo promedio para alcanzar el 50% de germinación (TMG) fue entre 20 y 25 días con un fotoperiodo breve. En luz continua y las temperaturas de 25 y 30°C, el TMG se fue de 16 días y de 22 días para los 18°C (Fig. 17).
- Después de cinco meses de almacenamiento y las mismas temperaturas, el TMG para ambas condiciones disminuyó a 10 días.
- Para los 26 meses de almacenamiento, el TMG fue de 11 y 13 días con un fotoperiodo breve y las temperaturas de 25 y 30°C, respectivamente. En luz continua y temperaturas de 30 y 25°C, el TMG disminuyó a 7 y 10 días, respectivamente. Mientras que en la temperatura de 18°C con un fotoperiodo breve y luz continua, el TMG se extendió a 25 días.
- En particular, los TMG obtenidos para *E. platyacanthus f. grandis* mostraron que el tiempo de almacenamiento, las temperaturas de 25 y 30°C y la luz continua influyeron positivamente en la velocidad de germinación de las diásporas de esta especie, acortando el TMG a 5 y 9 días.

Hechtia fragilis

- Después de un mes de almacenamiento, el TMG fue de 25 días con un fotoperiodo breve y temperaturas de 25 y 30°C. En luz continua y las temperaturas de 18, 30 y 25°C, el TMG se redujo a 15, 13 y 10 días respectivamente (Fig. 18).
- Después de cinco meses de almacenamiento y en las tres temperaturas usadas, el TMG fue de 7 días con un fotoperiodo breve y de 12 días con luz continua.

- Para los 26 meses de almacenamiento y con un fotoperiodo breve, el TMG fue de 22 y 23 días para las temperaturas de 18 y 30°C y, de 12 días para los 25°C. Mientras que con luz continua y los 18°C, el TMG fue de 18 días y de 9 días en los 25 y 30°C.
- Los TMG obtenidos para *H. fragilis* mostraron que el tiempo de almacenamiento, las temperaturas de 25 y 30°C y la luz continua influyeron positivamente en la velocidad de germinación de las diásporas de esta especie, acortando el TMG a 2 y 7 días.

Cuadro 13. Semejanza entre las temperaturas utilizadas para una germinación mayor del 50%, con las temperaturas de las áreas de distribución de las especies estudiadas. Las temperaturas de los sitios de distribución corresponden a los valores mínimo-máximo y promedio anual registrados (Téllez, 2002).

Especies	Germinación Fotoperiodo breve (2 min. de luz) (%)	Germinación Luz continua (24 hrs.) (%)	Temperaturas de germinación (°C)	Temperaturas promedio anuales (°C)
<i>Acanthothamnus aphyllus</i>	18	50	18	17.1 - 24.6 19.2
<i>Buxus mexicana</i>	0	4	18	16.7 - 16.1 16.4
<i>Echinocactus platyacanthus</i> f. <i>grandis</i>	94	100	25, 30	16.6 - 24.5 19.6
<i>Hechtia fragilis</i>	66	82	18, 25, 30	18.3 - 23.2 20.7

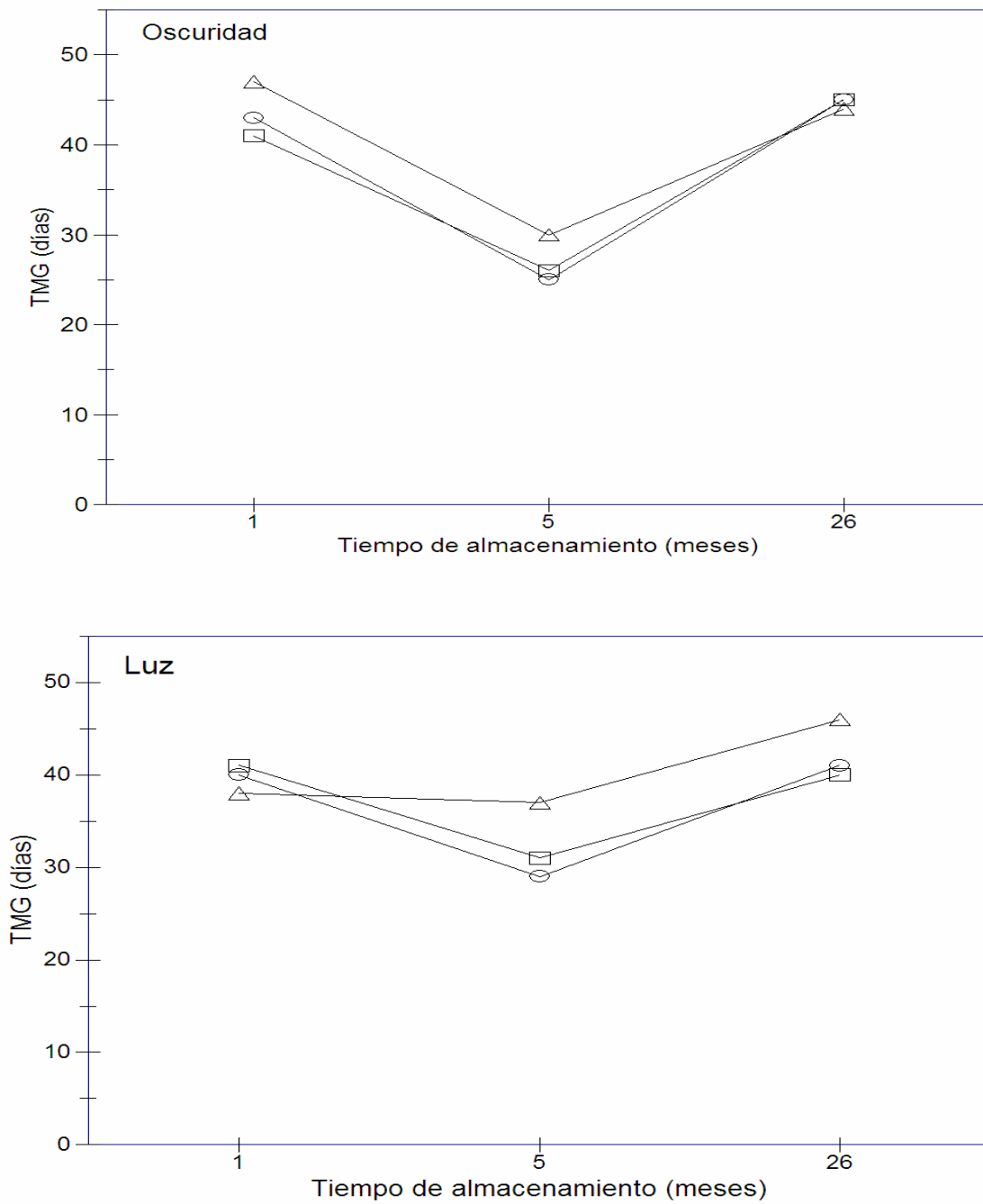


Figura 16. La influencia del tiempo de almacenamiento a -20°C , de las temperaturas de germinación (\circ 18°C , \square 25°C y \triangle 30°C), oscuridad (fotoperiodo breve, 2 min. de exposición a la luz cuando se registraba su germinación) y luz continua, sobre el tiempo promedio de germinación (TMG) en las diásporas de *Acanthothamnus aphyllus*.

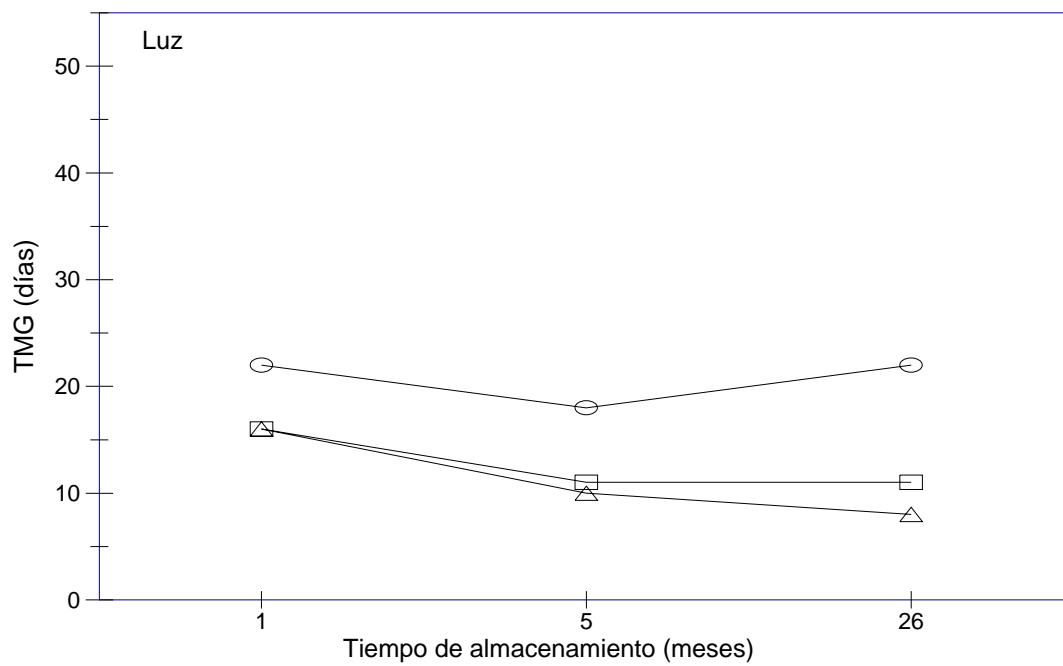
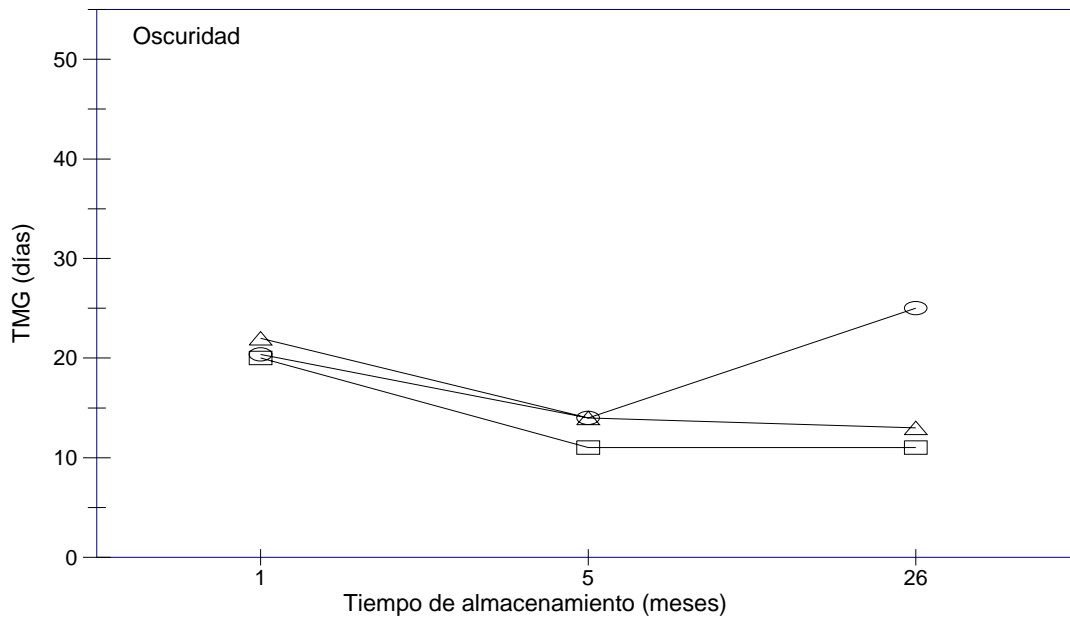


Figura 17. La influencia del tiempo de almacenamiento a -20°C , las temperaturas de germinación (\circ 18°C , \square 25°C y \triangle 30°C), oscuridad (fotoperiodo breve, 2 min. de exposición a la luz cuando se registraba su germinación) y luz continua, sobre el tiempo promedio de germinación (TMG) en las diásporas de *Echinocactus platyacanthus f. grandis*.

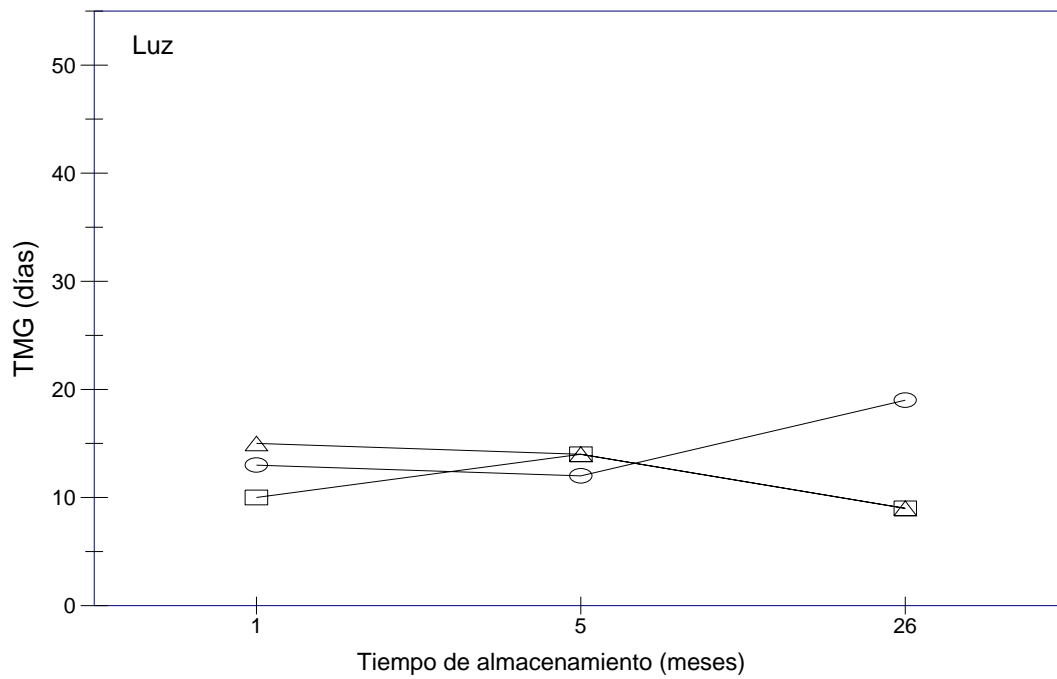
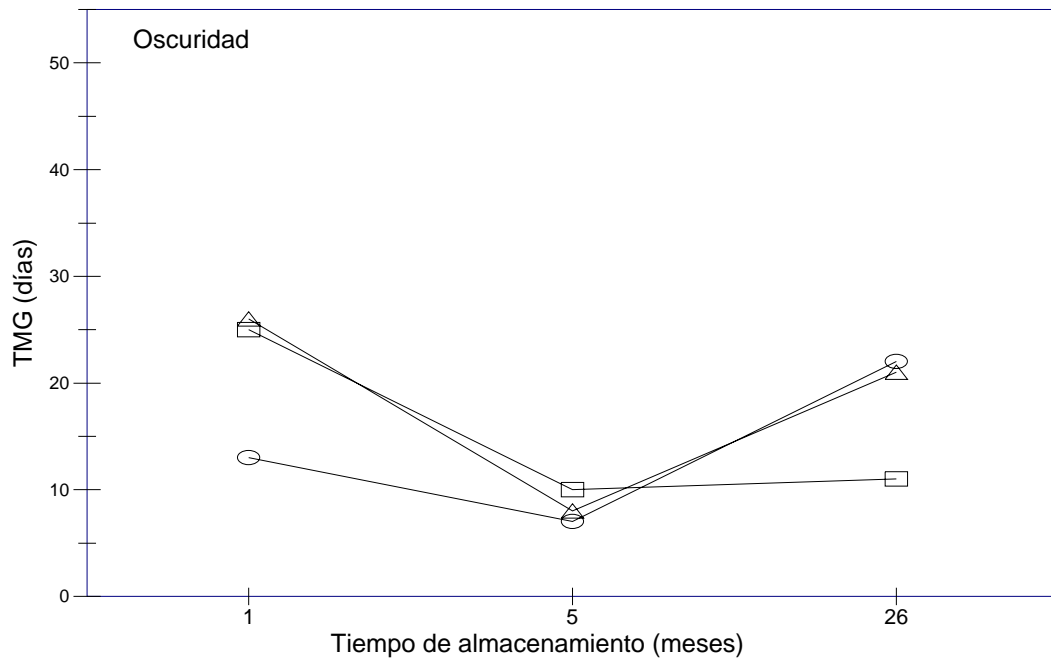


Figura 18. La influencia del tiempo de almacenamiento a -20°C , las temperaturas de germinación (\circ 18°C , \square 25°C y Δ 30°C), oscuridad (fotoperiodo breve, 2 min. de exposición a la luz cuando se registraba su germinación) y luz continua, sobre el tiempo promedio de germinación (TMG) en las diásporas de *Hechtia fragilis*.

Cuadro 14. Valores de temperatura del perfil bioclimático de las especies en estudio, los valores corresponden al mínimo, máximo y promedio registrados para su área de distribución (Téllez, 2002).

Especies	Mínima	TMPPC	TMPPF	TPCH	TPCS	TPCC	TPCF
	Máxima	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)	(°C)
	Promedio						
<i>Acanthothamnus</i>		28.8	5.1	18.9	14.4	19.4	14.4
<i>aphyllus</i>		35.1	13.7	26	21.7	27	21.6
		30	8	20.4	16.6	21.4	16.5
<i>Buxus mexicana</i>		26.4	6.2	17	14.2	18	14.1
		27.2	6.4	17.9	14.4	18.7	14.4
		26.8	6.3	17.5	14.3	18.4	14.3
<i>Echinocactus</i>		27.5	5.7	18	14.1	18.7	14.1
<i>platyacanthus</i> f.		35	13.6	25.9	21.7	26.8	21.5
<i>grandis</i>		30.6	8.3	20.9	17.1	21.8	17
<i>Hechita fragilis</i>		28.2	8.9	18.9	17.4	20.5	15.8
		34.9	11.2	24.4	20.7	25.8	20.1
		31.5	10	21.6	19.1	23.1	18

Simbología: Temperatura promedio máxima del periodo más cálido (TMPPC), temperatura promedio mínima del periodo más frío (TMPPF), temperatura promedio del cuarto más húmedo (TPCH), temperatura promedio del cuarto más seco (TPCS), temperatura promedio del cuarto más cálido (TPCC), temperatura promedio del cuarto más frío (TPCF).

VI.ii. Relación de la masa de las diásporas con el requerimiento de luz para la germinación

Con el fin de determinar si existía una relación entre la masa y/o volumen de las diásporas en estudio con su requerimiento de luz para la germinación, se analizó la correlación entre los pesos y los porcentajes máximos de germinación obtenidos con un fotoperiodo breve (2 min. de luz cuando se registraba su germinación) y luz continua (24 hrs.). El análisis mostró que no hubo una correlación significativa entre la masa de las diásporas con el requerimiento de luz para su germinación ($R^2 = 0.999$, $p = 0.022$).

Independientemente del tamaño, las diásporas si fueron sensibles a un breve estímulo de luz (2 min.), aún cuando la primera especie presentó una latencia física y las otras especies presentaron una latencia innata (Cuadro 15). Por lo que este análisis está confirmando el efecto positivo y significativo del estímulo de la luz sobre el incremento de la germinación tal y como fue registrado en el análisis de varianza de la germinación para estas especies.

Cuadro 15. Análisis de la relación entre la masa de las diásporas en estudio y el requerimiento de luz para la germinación. Se utilizaron los valores de germinación con un fotoperiodo breve (oscuridad con 2 min. de exposición a la luz cuando se registraba su germinación) y luz continua (24 hrs.) después de 26 meses de almacenamiento, para el análisis de regresión lineal entre el promedio Relativo de Germinación en Luz (RGL) y el \log_{10} del promedio de la masa de 100 diásporas.

Especies	Germinación fotoperiodo breve (%)	Germinación luz continua (%)	RGL= Glc.* / (Gfv.* + Glc.*)	Masa de 1000 diásporas en gr. (\log_{10})
<i>Acanthothamnus aphyllus</i>	18	50	0.735	27.5 (1.439)
<i>Echinocactus platyacanthus</i> f. <i>grandis</i>	94	100	0.515	2.6 (0.4149)
<i>Hechita fragilis</i>	66	82	0.569	0.2 (0.699)
Regresión lineal	Error estándar 0.006	R^2 0.999	P 0.022	N 3

*Gfv. (Germinación con un fotoperiodo breve), *Glc. (Germinación con luz continua)

VI.iii. Clasificación de la germinación y las plántulas

Por la presencia, tipo y origen del material de reserva, las diásporas de *Acanthothamnus aphyllus*, *Buxus mexicana* y *Hechtia fragilis* se clasificaron como endospermicas, en tanto que las de *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* se determinaron como perispermicas. En cuanto a la germinación de las diásporas estudiadas, los cotiledones y el tallo joven emergieron a la superficie del medio, dejando el tallo inferior y la raíz por debajo de la superficie.

Con base en las características antes mencionadas, y siguiendo los criterios de clasificación de plántulas de Garwood (1996) y de Ibarra-Manríquez *et al.* (2001), las plántulas de *Acanthothamnus aphyllus* y *Buxus mexicana* se clasificaron como del tipo fanerocotilar epigea con cotiledones foliáceos (PEF). En ambas especies, la cubierta seminal que cubría a los cotiledones foliáceos y fotosintéticos se desprendió por la presión de los mismos en poco tiempo (Fig. 19).

Asimismo, las plántulas de *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis* se clasificaron como del tipo criptocotilar epigea con cotiledones de reserva y absorción (CER). En *E. platyacanthus* f. *grandis*, la testa permaneció adherida a los cotiledones pequeños de reserva por más de 10 semanas, hasta el momento en que comenzó a desarrollarse la primera areola. En *Hechtia fragilis*, la testa permaneció adherida al cotiledón hasta que se desarrollaron las dos primeras hojas (Fig. 19).

Respecto al tipo de dispersión, las especies de *A. aphyllus* con plántulas PEF y *E. platyacanthus* f. *grandis* con plántulas CER mostraron un síndrome de dispersión animal, mientras que el modo de dispersión presentado por *B. mexicana* con plántulas PEF fue del tipo explosivo y el de *H. fragilis* con plántulas CER fue por el viento.

En lo que se refiere al vigor de las plántulas de *A. aphyllus*, *E. platyacanthus* f. *grandis* y *H. fragilis*, estas fueron normales y vigorosas. Sin embargo, las plántulas de *B. mexicana* fueron anormales y de bajo vigor, debido a la baja calidad de las diásporas.

La sobrevivencia de las plántulas de *A. aphyllus*, *B. mexicana*, *E. platyacanthus* f. *grandis* y *H. fragilis* fue muy baja. Debido posiblemente a la sensibilidad y respuesta de las mismas, a las condiciones del medio y del suelo donde fueron trasplantadas. También, influyó el deterioro que presentaron las mismas después de que germinaron, por el desarrollo de hongos patógenos identificados en este estudio como *Rhizopus nigricans*,

Alternaria sp., *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium* sp. y *Fusarium* sp. Para evitar el desarrollo de hongos y bacterias se sugiere un proceso de esterilización del sustrato, así como mantener a las plántulas en un periodo de aclimatación en condiciones de laboratorio previo a las condiciones de invernadero, para lograr un desarrollo y establecimiento exitoso de las plantas.

VII. Viabilidad y calidad

Con el propósito de evaluar la viabilidad de las diásporas almacenadas a -20°C y determinar la vida media de las mismas bajo esta condición, se llevaron a cabo pruebas de disección, tricoloruro de tetrazolio y de rayos X (ISTA, 1999; Linington *et al.*, 1995). El cuadro 16 está mostrando la relación y diferencias entre los porcentajes promedio de germinación de las diásporas en condiciones de luz y temperaturas de 18, 25 y 30°C , con los porcentajes de probabilidad de que estuvieran viables las mismas.

En la prueba de tetrazolio, las diásporas que no fueron cortadas y que tampoco se removió su cubierta seminal, el patrón de tinción fue difuso (rojo a rosa muy pálido y pardo rojizo) y en pequeñas áreas (después de 10 días de inmersión). Debido principalmente a la lenta difusión de la sal de tetrazolio a través de la cubierta seminal y hacia el endospermo y embrión.

En contraste, en las diásporas que fueron cortadas y se removió su cubierta seminal se observó un patrón de tinción homogéneo de rojo brillante a rojo después de 72 horas de inmersión, lo que permitió registrar los porcentajes de probabilidad de que las mismas estuvieran viables (Fig. 20).

Asimismo, la prueba de disección facilitó en gran medida la evaluación de la calidad y probabilidad de que las diásporas estuvieran viables (con embrión y material de reserva y maduros), no viables (sin embrión ni material de reserva) e inmaduras (con ambas estructuras pero colapsados). El método de rayos X permitió evaluar a través de las radiografías, el patrón morfológico interno de las diásporas para describirlas como llenas (con embrión y material de reserva), vacías (sin embrión ni material de reserva), infestadas por insectos o parcialmente llenas (Fig. 21).

La mayoría de las diásporas de *A. aphyllus* y *E. platyacanthus* f. *grandis* se observaron maduras, completas y llenas. En ambas especies, el embrión y el endospermo se tiñeron de rojo intenso a rojo, o rojo pálido en la solución de tetrazolio. De forma semejante, las diásporas de *H. fragilis* se determinaron como maduras, completas y llenas, y el embrión y endospermo se tiñeron de rojo a rojo pálido en la solución (Fig. 20). En otras diásporas de esta misma especie, el embrión y endospermo se tiñeron de rojo muy pálido a pardo rojizo.

En el caso de *B. mexicana*, a través de la prueba de disección se observó que la mayoría de las diásporas se encontraban vacías, inmaduras y/o que el material de reserva y el embrión estaban colapsados o desintegrados e infestados por hongos. Sin embargo, una pequeña cantidad de diásporas sí presentaron material de reserva y embrión completos y sanos, los cuales se tiñeron de rojo a rojo pálido (Fig. 20).

Cuadro 16. Resultados de las pruebas de germinación, tetrazolio, disección y rayos X, después de 26 meses de almacenamiento seco a -20°C. Los valores representan los porcentajes promedio de viabilidad.

Especies	Método de ISTA	Método de	Linington <i>et al.</i>	
	Germinación*	Tetrazolio 1%	Disección	Rayos X
	%	%	%	%
<i>Acanthothamnus aphyllus</i>	4-50	100	98	98
<i>Buxus mexicana</i>	0-4	2.7	4	2
<i>Echinocactus platyacanthus</i> f. <i>grandis</i>	90-100	98.9	100	97
<i>Hechtia fragilis</i>	72-82	89.9	85	87

*Los intervalos de germinación de cada taxa corresponden al tratamiento de luz y temperaturas de 18, 25 y 30°C, después de 26 meses de almacenamiento (ver Cuadros 5, 7, 9 y 11).

En las diásporas de *A. aphyllus*, los resultados de viabilidad entre los métodos mostraron que los altos valores obtenidos en las pruebas de tetrazolio, disección y rayos X contrastaban con los bajos niveles de germinación. Esto significa que la viabilidad en estas diásporas fue más alta que su respuesta de germinación en las condiciones aquí usadas, lo que sugiere la necesidad de realizar estudios más completos sobre la pérdida de latencia en las mismas.

En el caso de las diásporas de *B. mexicana*, la correlación encontrada entre los métodos para evaluar la viabilidad de las mismas, confirmó el problema de una alta producción de diásporas de baja calidad (vacía y/o colapsada).

En las diásporas de *E. platyacanthus* f. *grandis* y *H. fragilis*, las diferencias registradas entre los métodos para evaluar la viabilidad de las mismas fueron pequeñas, pero sin duda, están apoyando en gran medida los niveles de germinación obtenidos, lo cual indica una correlación directa y positiva entre los métodos utilizados.

Estos resultados mostraron que las pruebas de germinación por sí solas, no fueron suficientes para detectar y evaluar la viabilidad de las colecciones de diásporas de estas especies. Por lo que se recomienda la utilización de los métodos de tetrazolio y disección y o bien disección y rayos X, como pruebas complementarias a la prueba de germinación.

De acuerdo con el ISTA (1999), Ellis *et al.* (1985a) y el Banco de Semillas de Kew (Linington *et al.*, 1995), los resultados de las pruebas de tetrazolio, disección y rayos X se consideran precisas cuando, bajo condiciones normales, se registren diferencias entre un 5 y 10% en relación con los resultados de las pruebas de germinación. Dentro de este contexto, las pequeñas diferencias obtenidas en los resultados de las pruebas de tetrazolio, disección, rayos X y germinación, confirmaron la precisión de estos métodos (Cuadro 16).

A

B

C

D

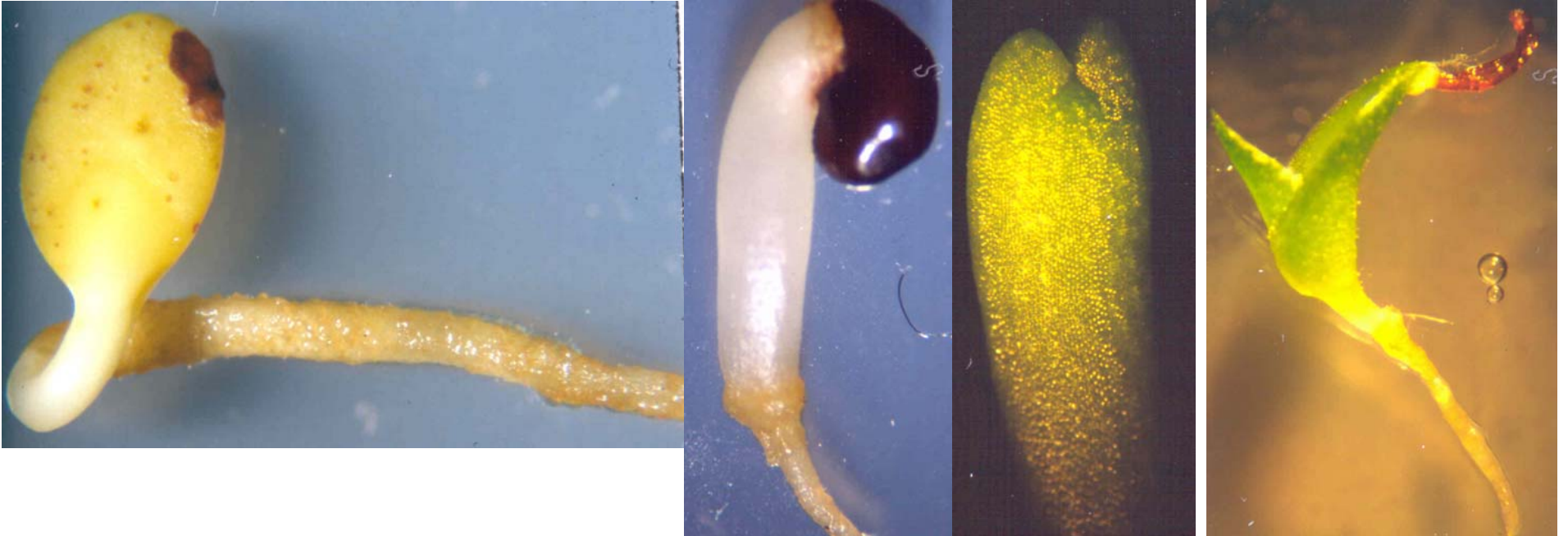


Figura 19. Tipos de plántulas: PEF, fanerocotilar epigea con cotiledones foliáceos en *Acanthothamnus aphyllus* (A); CER, criptocotilar epigea con cotiledones de reserva y absorción en *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* (B, C) y *Hechtia fragilis* (D).

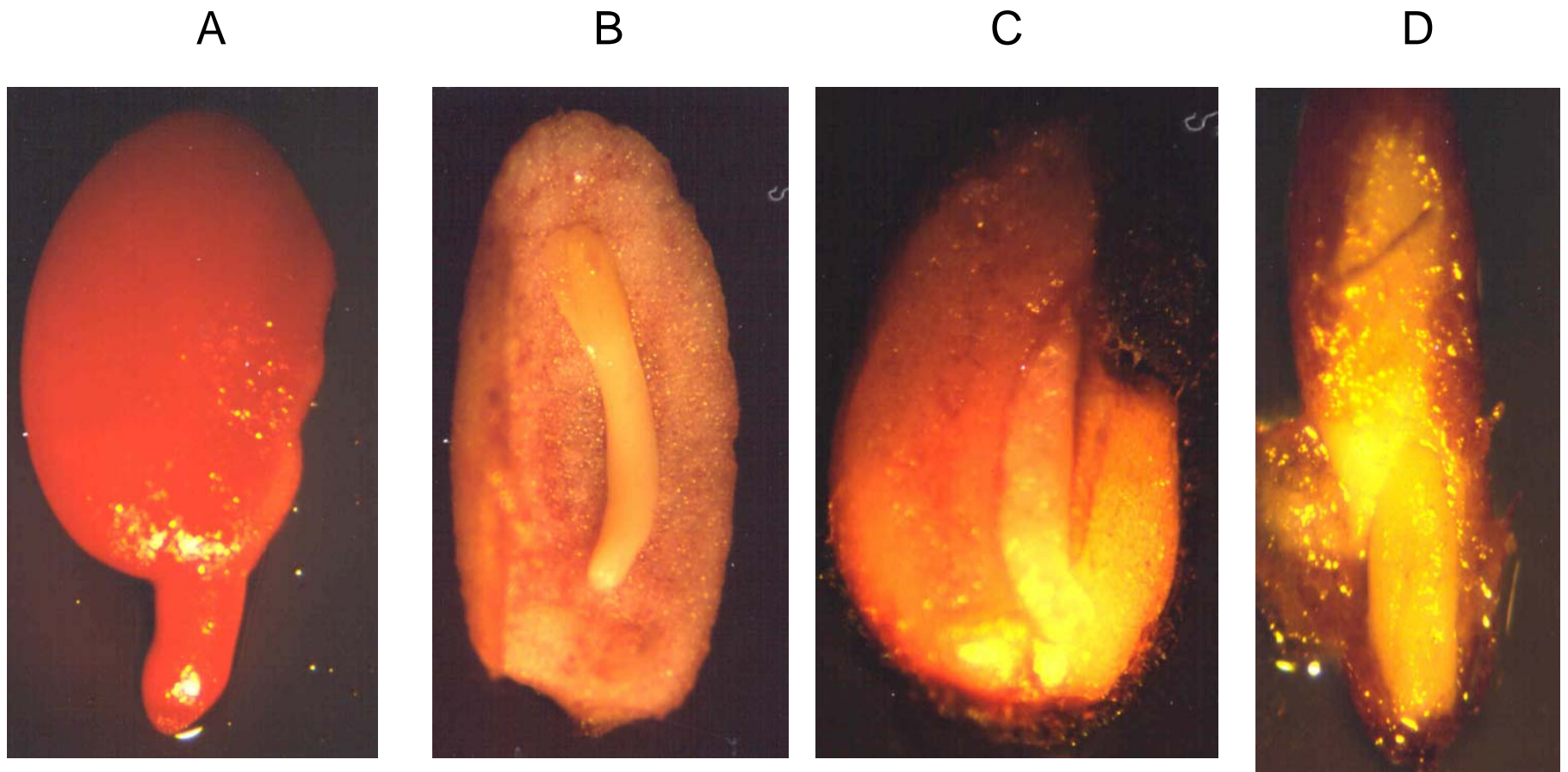


Figura 20. Patrón de tinción en la prueba de viabilidad con tricloruro de tetrazolio para los embriones y material de reserva de (A) *Acanthothamnus aphyllus*, (B) *Buxus mexicana*, (C) *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y (D) *Hechtia fragilis*.

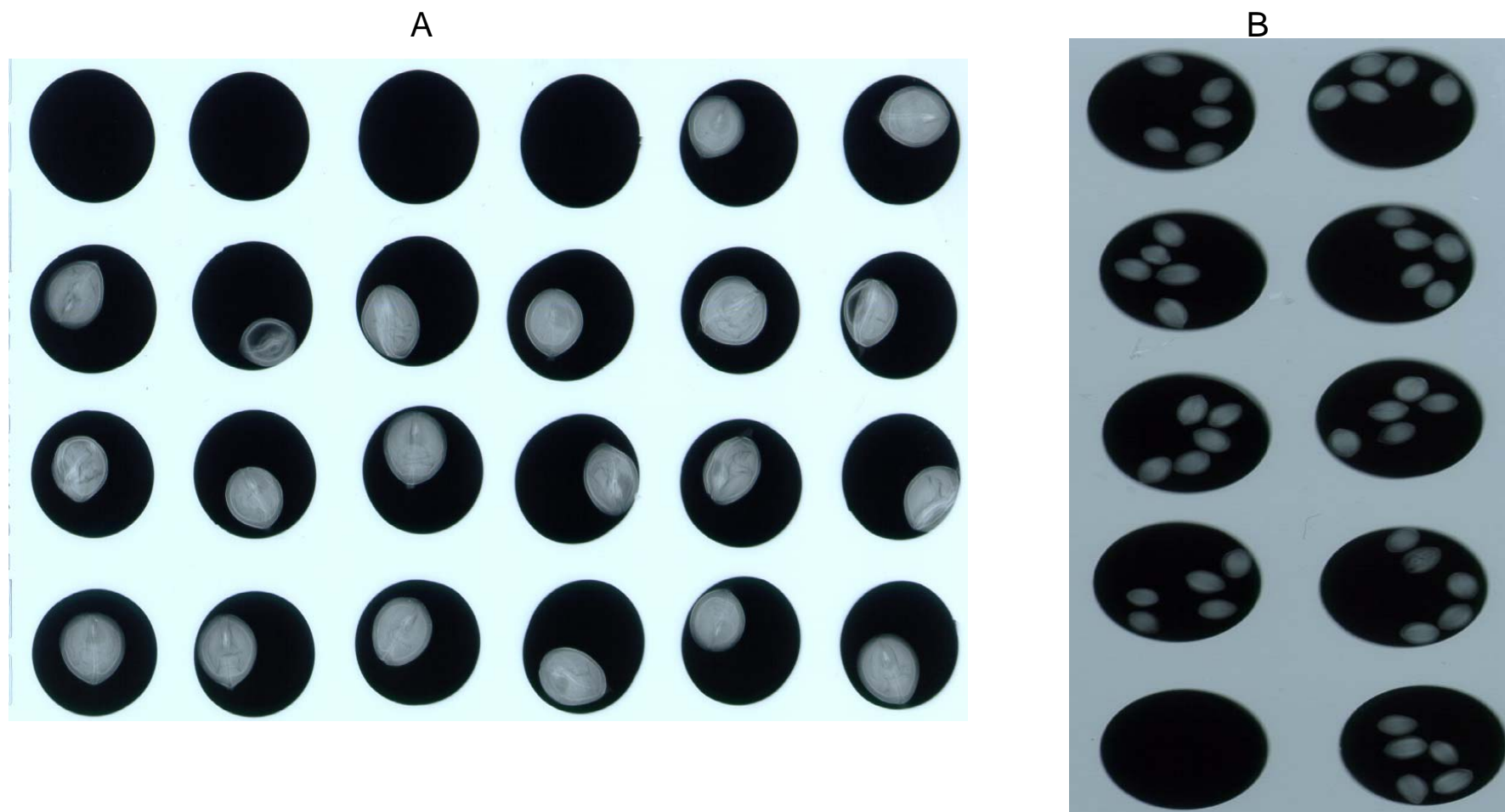


Figura 21. Positivo de las radiografías de las diásporas de (A) *Acanthothamnus aphyllus* y (B) *Echinocactus platyacanthus f. grandis* para evaluar el patrón de calidad y posibilidad de estar viables con base en la unidad llena (embrión maduro y completo), vacía (sin embrión), infestada o colapsada.

VIII. DISCUSIÓN GENERAL

Hábito y hábitat

Los resultados de este estudio mostraron que *Acanthothamnus aphyllus*, *Buxus mexicana* y *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* son especies arbustivas que se distribuyen en matorral xerófilo, en altitudes entre los 1100 y 2400 m, sobre laderas que frecuentemente están expuestas al deterioro. Mientras que *Hechtia fragilis*, es una especie herbácea perenne que se distribuye en matorral xerófilo y en bosque tropical caducifolio, en altitudes entre los 600 y 1210 m, sobre cañadas y laderas de pendiente muy pronunciada y bajo la sombra de arbustos y árboles.

Asimismo, en el campo se encontró que las poblaciones de *A. aphyllus* y *E. platyacanthus* f. *grandis* se distribuyen entre 9 y 12 localidades dentro del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, las cuales están conformadas por más de 300 individuos. Esta distribución y abundancia sugieren que aún cuando ambas especies están restringidas al valle, no están en peligro de extinción. Sin embargo, sí existe la posibilidad de que se vean amenazadas a corto plazo por actividades antropogénicas tales como la construcción de carreteras, la expansión hacia nuevas áreas de cultivo, las actividades de forrajeo, el uso de las especies como combustibles, etc.

Significativamente, las especies de *B. mexicana* y *H. fragilis* sí presentaron una distribución muy restringida, debido a que el número de individuos que forman a las poblaciones fue muy bajo. La primera especie se encuentra solamente en una localidad, en tanto que la segunda especie se encuentra en dos localidades del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. La población de *B. mexicana* está formada por aproximadamente 600 individuos y las poblaciones de *H. fragilis* las forman entre 20 a 30 individuos.

Estos resultados sugieren que ambas especies están en el nivel de amenazadas y probablemente en peligro de extinción, lo cual está mostrando la necesidad de desarrollar y planificar estrategias de conservación vía *ex situ* e *in situ* antes de que desaparezcan estos valiosos recursos genéticos.

Contenido de humedad

En las especies estudiadas, las características del tipo de fruto, así como la relación entre el peso y el contenido de humedad de la unidad de dispersión registrada fueron muy similares entre las mismas.

En cuanto al tipo de fruto, los de *A. aphyllus* y *E. platyacanthus* f. *grandis* fueron carnosos no dehiscentes, en tanto que los de *B. mexicana* y *H. fragilis* fueron secos dehiscentes. Por otro lado, las especies de *A. aphyllus* y *H. fragilis*, presentaron los valores más extremos en cuanto al peso de 1000 diásporas (27.5 y 0.2 gr.) y el contenido de humedad registrado en las mismas (7 y 17%), respectivamente.

Mientras que las especies de *B. mexicana* y *E. platyacanthus* f. *grandis*, presentaron los valores intermedios sobre el peso de 1000 diásporas (3.2 y 2.6 gr.) y el contenido de humedad registrado en ellas (11 y 11.3%), respectivamente. Sí bien el peso y volumen de las diásporas reflejaron el peso y contenido de humedad presente en el embrión y material de reserva, así como la humedad de la cubierta seminal. Sería conveniente evaluar en *B. mexicana* una muestra de diásporas vacías y una muestra de diásporas llenas (con embrión y material de reserva), para que a partir de estas estructuras se estimen las diferencias entre el peso y volumen y contenido de humedad de las vacías contra las llenas.

Registros muy parecidos al de estas especies sobre el peso de 1000 semillas y contenido de humedad son reportados para otras especies de celastráceas, cactáceas y buxáceas de las zonas áridas del sur de Estados Unidos de América y norte de México en donde se incluye a Baja California (Hong *et al.*, 1998; Xiang-yun *et al.*, 2003). En estos trabajos también mencionan que la alta sobrevivencia de las semillas se debió principalmente al contenido de humedad presente en ellas y el mantenimiento del mismo en el ambiente del laboratorio.

Asimismo, estas características mostraron que el peso y contenido de humedad estuvieron directamente relacionados con las estructuras de las diásporas tales como el tipo de cubierta seminal, el material de reserva y el embrión y, la cantidad de agua libre presente en estos últimos. Lo que permite sugerir que estos valores están mostrando una tendencia para las diásporas de las especies presentes en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, lo cual podría ser utilizado como una predicción para futuros estudios sobre las especies de esta zona.

Deshidratación

Los resultados de este estudio mostraron que las especies alcanzaron el equilibrio reduciendo su contenido de humedad bajo la atmósfera de deshidratación (desecador con gel de sílice). Al mismo tiempo, se observó que el tratamiento de deshidratación no tuvo efectos negativos sobre la capacidad de germinación de las diásporas, debido a que durante el almacenamiento mantuvieron el bajo contenido de humedad e incrementaron la respuesta de germinación a través del mismo.

Después de 26 meses de almacenamiento a baja temperatura, las diásporas de *Acanthothamnus aphyllus* no perdieron viabilidad (98%) ni tampoco longevidad aún cuando fue reducido su contenido de humedad en un 55%. Estos resultados sugieren que las diásporas de esta especie probablemente toleran deshidrataciones mayores a las obtenidas en este estudio (< 3% de contenido de humedad). Un comportamiento similar de tolerancia a la deshidratación se cita para otras especies de celastráceas como *Celastrus scandens* y *Euonymus* spp., cuyas semillas lograron mantener una tasa alta de viabilidad en condiciones muy secas y baja temperatura de almacenamiento. Inclusive, mencionan que las semillas de estas especies se deshidrataron, pero, no reportan el contenido de humedad residual y tampoco el medio de deshidratación para las mismas (Hong *et al.*, 1998; Pence, 1991; Rudolf, 1974).

Las diásporas de *Buxus mexicana* y *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis*, tampoco redujeron su viabilidad y longevidad aún cuando perdieron un 48 y 55.2% de su contenido de humedad, respectivamente. En caso muy particular fue *B. mexicana*, en donde la baja viabilidad de las diásporas (4%) después de la deshidratación se debió al reducido número de diásporas llenas y sanas observadas. Al respecto, la información que existe sobre las especies de este género y a nivel de familia es muy escasa, solamente en tres publicaciones se menciona que las semillas de *Buxus sempervirens* se guardaron a temperatura ambiente del laboratorio (Hong *et. al.*, 1998; Dent, 1948; Young y Young, 1994).

En la misma forma, las diásporas de *E. platyacanthus* f. *grandis* tampoco redujeron su viabilidad con la pérdida de humedad, por el contrario mantuvieron un alto porcentaje de viabilidad (100%). Estos resultados señalan la alta probabilidad que pueden presentar las diásporas de esta especie para tolerar deshidrataciones menores del 4% de contenido de humedad con respecto al inicial. Tal y como lo citan para

Mammillaria supertexta, cuyas semillas deshidratadas con gel de sílice y con un contenido de humedad final de 2.3% se mantuvieron viables bajo un almacenamiento frío (Ocampo *et al.*, 2003). Asimismo, se reporta que las semillas desecadas de *Cereus giganteus* y *Opuntia hyptiacantha* se mantuvieron viables por más de un año en almacenamiento frío, pero, no reportan el contenido de humedad de las semillas almacenadas ni la temperatura de almacenamiento (Alcorn y Martín, 1974; Hong *et al.*, 1998; Stanwood y Bass, 1981).

En la especie de *Hechtia fragilis*, las diásporas perdieron un 61% de su contenido de humedad, esta reducción de humedad no disminuyó la viabilidad ni la longevidad de las mismas después de 26 meses de almacenamiento, ya que, lograron mantener porcentajes de germinación de 82%. Estos resultados están mostrando la capacidad de las diásporas de esta especie y las posibilidades de tolerar deshidrataciones menores del 6% de contenido de humedad final como las obtenidas en este estudio. Probablemente, este tipo de respuesta también la presentaron las especies de *Guzmania monostachia*, *Hechtia pedicellata* y las de *Puya berteroniana* y *P. raimondii*, de quienes se menciona que las semillas deshidratadas mantuvieron una tasa alta de viabilidad bajo un almacenamiento frío y prolongado (Downs, 1964; Hong *et al.*, 1998; Pytlewski, 1992).

Asimismo, el estudio de deshidratación mostró que las características morfológicas de la cubierta seminal de las diásporas de cada especie jugaron un papel muy importante en el proceso de deshidratación con gel de sílice, ya que, dependiendo del grado de permeabilidad de las mismas cedieron mayor o menor cantidad de humedad (agua). Por lo que el comportamiento mostrado por las diásporas de estas especies se interpretó como una tolerancia a la deshidratación. Tal y como se describe para otras especies de las familias amarantáceas, brassicáceas, cucurbitáceas, leguminosas, poáceas y solanáceas, cuyas semillas toleraron una ultra-deshidratación con gel de sílice (Chai, 1998; Hong *et al.*, 1998; Hu *et al.*, 1998; Kong y Zhang, 1998; Shen y Qi, 1998; Walters, 1998; Walters y Engels, 1998; Walters *et al.*, 1998).

En esta forma, los datos de contenidos de humedad inicial y final obtenidos en las diásporas de estas especies conducen a proponerlos como un posible estado de carácter variable en las otras especies presentes en la zona árida del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.

Estas especies por su origen y carácter endémico al valle fueron el mejor ejemplo para observar la capacidad de sobrevivencia a las altas y bajas temperaturas y sequías prolongadas que se presentan en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Sin embargo, surge la necesidad de realizar más estudios sobre aspectos de deshidratación y sobrevivencia de las semillas bajo diferentes condiciones de almacenamiento, particularmente con las especies silvestres cuyo objetivo sea su conservación vía *ex situ*.

Germinación

Los resultados de germinación fueron diferentes entre las especies y aún más entre las pruebas de la misma especie, lo cual está mostrando la gran plasticidad natural de su respuesta. Inclusive, la máxima respuesta de germinación entre las especies varió dentro de las temperaturas usadas.

Antes del tratamiento de deshidratación, las diásporas maduras de *Acanthothamnus aphyllus*, *Buxus mexicana*, *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis* tuvieron una baja respuesta de germinación en la condición de fotoperiodo breve (2 min. de exposición a la luz), lo cual sugirió un requerimiento de luz para incrementar la respuesta de germinación en las mismas. Posteriormente, cuando las diásporas fueron deshidratadas y expuestas tanto a las condiciones de fotoperiodo breve (oscuridad con 2 min. de luz) como de luz continua (24 hrs.), los porcentajes de germinación fueron significativamente más altos que en la condición de fotoperiodo breve, lo cual demostró la sensibilidad y respuesta de las mismas al estímulo de la luz.

Por otro lado, el bajo contenido de humedad de las diásporas, la temperatura de congelación (-20°C) y el tiempo de almacenamiento tuvieron un efecto significativo en el incremento de la germinación en oscuridad parcial y aún más en luz, lo que posiblemente sugiere un incremento de la sensibilidad de las diásporas a la temperatura y la luz.

Acanthothamnus aphyllus

En las diásporas de esta especie, la temperatura de 18°C y la luz promovieron la máxima respuesta de germinación (50%), con un tiempo promedio de germinación (TMG) de 30 días. Mientras que las temperaturas de 25 y 30°C y oscuridad parcial

promovieron una germinación menor del 12% con un TMG de 40 días, lo que indica que la respuesta de germinación ocurrió más lentamente bajo estas temperaturas que en los 18°C.

Por otro lado, se encontró que la temperatura de 18°C coincide y se aproxima con las temperaturas promedio registradas en los periodos del cuarto más húmedo (18.9°C), el cuarto más cálido (19.4°C) y la anual (19.2°C) del perfil bioclimático de *A. aphyllus*. Esta relación encontrada entre la temperatura para una máxima germinación y las temperaturas de perfil bioclimático sugiere que las diásporas de esta especie tienden a requerir de bajas temperaturas de germinación.

Similares respuestas de germinación fueron registradas para las especies de *Celastrus scandens* y *Euonymus europaea* (Celastraceae), cuyas diásporas alcanzaron la máxima germinación bajo las temperaturas de 18 y 22°C y un TMG de 14 y 30 días, respectivamente. En ambas especies, las diásporas presentaron una latencia fisiológica, la cual lograron romper por medio de un tratamiento previo a la germinación. En este caso, las diásporas sembradas se dejaron bajo temperaturas de 3 y 5°C durante 45 y 90 días, respectivamente (Baskin y Baskin, 1998; Hong *et al.*, 1998; ISTA, 1999; Young y Young, 1994).

Los resultados reportados para estas especies de celastráceas sugieren que las diásporas de *A. aphyllus* podrían incrementar su germinación en más de un 50% en las temperaturas de 13 y 19°C, intervalos promedio que se presentan en el periodo más frío, en el cuarto más húmedo, seco, cálido y frío del perfil climático, del área estudiada.

Inclusive y con el fin de romper la latencia de las diásporas y acortar aún más el TMG, podrían someterse a un enfriamiento bajo los 5 y 8°C, que son las temperaturas mínima y máxima registradas en el periodo más frío del perfil. Posteriormente y sin omitir la condición de luz, se podrían incubar a las mismas bajo temperaturas de 18, 20 y 26°C, intervalos que se presentan en el cuarto más húmedo del perfil. Tal vez, este periodo húmedo junto con estas temperaturas sea el más adecuado para inducir la respuesta de germinación en su área de distribución (Cuadro 14).

Buxus mexicana

En las diásporas de esta especie, la luz y la temperatura de 18°C promovieron la máxima germinación (4%), en comparación con las otras temperaturas. En esta especie, los resultados obtenidos fueron producto del azar debido a que presentó un número muy

reducido de diásporas maduras y sanas. Por otro lado, la baja calidad de las diásporas de esta especie es interesante y esta mostrando la necesidad de llevar a cabo un estudio ecológico y genético para determinar qué factores son los que están influyendo en este tipo de resultados (Pritchard com. pers. RBG Kew, 2002).

Al mismo tiempo, las observaciones realizadas en campo mostraron que las plantas de esta especie se propagan más frecuentemente de forma vegetativa que sexualmente, debido a la presencia de estolones entre los individuos. Además, la población tiene una limitada presencia de plántulas, ya que, durante el muestreo se observaron sólo 3 plántulas entre las cavidades de una roca. Lo que permite sugerir que no hay una población de juveniles tal vez porque la germinación y emergencia no ocurren frecuentemente y, cuando llega a ocurrir, puede existir el riesgo de una alta mortalidad de plántulas y como resultado la tasa de reclutamiento de las mismas es baja. Por efectos tales como el bajo número de diásporas viables dispersadas de la planta madre, la depredación de las mismas por hormigas, lagartijas y roedores y, a la proporción de plántulas que mueren inmediatamente después de la germinación por desecación o bien las plántulas que mueren más por depredación que por sequía.

Problemas similares sobre una tasa baja de viabilidad se mencionan para *Buxus harlandii*, *B. microphylla* y *B. sempervirens* (6%), especies que son difíciles de propagar por semillas (Hong *et al.*, 1998; Young y Young, 1994). Es posible que estas especies presenten el mismo problema de establecimiento que *B. mexicana*, ya que se ha tenido más éxito propagándolas por esquejes, los cuales han sido capaces de producir raíces con o sin tratamiento enraizante (Hong *et al.*, 1998; Young y Young, 1994).

Echinocactus platyacanthus f. grandis

El análisis de la germinación de esta especie mostró el efecto significativo del tiempo de almacenamiento sobre el incremento en la respuesta de germinación en las tres temperaturas utilizadas, lo que sugirió la presencia de una latencia innata en las diásporas, la cual probablemente se fue perdiendo en el ambiente de almacenamiento (-20°C).

En este sentido, en estudios previos sobre cactáceas se describe que las semillas maduras de *Carnegieia gigantea*, *Cereus griseus*, *Echinocactus grusonii*, *Ferocactus histrix*, *F. glaucescens*, *Mammillaria* spp. *Opuntia discata* y *Stenocereus stellatus*

incrementan su germinación bajo temperaturas constantes y fluctuantes a través del tiempo de almacenamiento en el laboratorio. Por lo que este tipo comportamiento lo interpretan como una latencia fisiológica innata de las diásporas, la cual se fue perdiendo durante su almacenamiento (Baskin y Baskin, 1998; Benítez-Rodríguez *et al.*, 2004; Del Castillo, 1986; Potter *et al.*, 1984; Rojas -Aréchiga *et al.*, 2001; Williams y Arias, 1978).

Sin embargo, en estos trabajos no reportan las condiciones de almacenamiento ni los periodos de almacenamiento en los que fueron realizadas las pruebas de germinación en las mismas.

En otros estudios, se señala que la latencia en las diásporas de cactáceas se removió con el uso de diferentes tratamientos tales como la escarificación química, el ácido giberélico, un enfriamiento previo a la germinación, temperaturas constantes y alternantes de germinación en combinación con luz roja, blanca y fotoperiodos (Benítez-Rodríguez *et al.*, 2004; Flores y Briones, 2001; Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet, 1998; Hong *et al.*, 1998; Ocampo *et al.*, 2003; Otero-Arnaiz *et al.*, 2003; Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997, 1998; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000).

Asimismo, Mandujano y colaboradores (1997), Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, (2000), Rojas-Aréchiga y colaboradores (2001) mencionan que las semillas de algunas cactáceas en las que se incluye a *E. platyacanthus* necesitan de un periodo de post-maduración para obtener altos porcentajes de germinación, lo que les condujo a proponer un requerimiento de envejecimiento en las mismas.

En este estudio, las diásporas de *E. platyacanthus* f. *grandis* alcanzaron su máxima germinación (100%) en las temperaturas de 18, 25 y 30°C y en luz (24 h), con un TMG que se fue acortando de 20 a 10 días. Estas temperaturas de germinación coinciden con los intervalos registrados para el periodo más cálido, el cuarto más húmedo y cálido de su perfil bioclimático (Cuadro 14), lo cual está mostrando la gran plasticidad que tienen las diásporas de esta especie para germinar en diferentes condiciones de temperatura y humedad en su medio natural.

Las temperaturas utilizadas en este estudio son semejantes a las que se citan en el estudio de la germinación de las diásporas de las especies de forma de barril tales como *Ferocactus robustus*, *F. flavovirens*, *F. recurvus* y para la misma *E. platyacanthus* f. *grandis*, donde relacionan significativamente la forma de barril con el fotoblastismo positivo de las diásporas de estas especies y para otras especies globosas como las de *Mammillaria* spp. (Benítez-Rodríguez *et al.*, 2004; Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997, 1998).

Considerando los puntos anteriores y con el fin de determinar el envejecimiento a través del tiempo de almacenamiento, se podrían llevar a cabo experimentos adicionales con las semillas de las especies antes mencionadas. Evaluando el incremento de la germinación de las mismas con respecto al tiempo de almacenamiento en condiciones de laboratorio y temperaturas cercanas a cero, tomando en cuenta las semillas recién colectadas en campo.

Hechtia fragilis

En esta especie, el análisis de la germinación también mostró un efecto significativamente positivo del tiempo de almacenamiento sobre el incremento de la germinación, lo cual sugiere que una latencia presente en las diásporas se fue perdiendo por el ambiente de almacenamiento (banco de semillas).

Respuestas muy parecidas a las de esta especie fueron observadas en las semillas de otras bromeliáceas tales como *Billbergia ellegans*, *Neoregelia concentrica* y *Hechtia pedicellata*, cuya respuesta de germinación fue alta después de un almacenamiento a temperaturas de 5 y -20°C (Downs, 1964; Hong *et al.*, 1998; Smith y Downs, 1974; Flynn *et al.*, 2004). La información sobre latencia es casi nula, solamente Baskin y Baskin (1998) mencionan que es muy probable que la mayoría de las especies de bromeliáceas no presenten una latencia.

En lo que se refiere a las condiciones de germinación de las bromeliáceas, se ha citado que las temperaturas de 16, 20, 25 y 30°C incrementan la respuesta de germinación de las diásporas y que, las mismas en la madurez germinan rápidamente a temperatura ambiente (Baskin y Baskin, 1998; Downs, 1964; Hong *et al.*, 1998; Smith y Downs, 1974; Flynn *et al.*, 2004). Algunos de estos intervalos coinciden con las temperaturas utilizadas en *H. fragilis*, así como estas mismas temperaturas son parecidas a las temperaturas promedio registradas para el periodo más cálido, para el cuarto más húmedo, cálido y frío de su perfil bioclimático (Cuadro 14).

Por otro lado, el análisis de la germinación en las tres temperaturas y en luz mostró que las diásporas de *H. fragilis* requieren del estímulo de la luz para incrementar la respuesta de germinación tal y como lo registraron para la germinación de *Billbergia ellegans*, *Neoregelia concentrica*, *Hechtia pedicellata* y *Tillandsia usneoides* (Baskin y Baskin, 1998; Downs, 1964; Hong *et al.*, 1998; Smith y Downs, 1974; Flynn *et al.*, 2004).

En estos trabajos reportan que estas especies así como otras bromeliáceas tienen la capacidad de germinar en oscuridad. Inclusive, citan que algunas especies requieren sólo de un pequeño estímulo de luz, el cual puede ser de 2 y 15 minutos de exposición por día. Por lo que describen que las irradiaciones cíclicas son tan efectivas en promover la germinación de las diásporas de las bromeliáceas, como puede llegar a ocurrir con la luz continua (Baskin y Baskin, 1998; Downs, 1964; Hong *et al.*, 1998; Smith y Downs, 1974; Flynn *et al.*, 2004).

Este mismo comportamiento de respuesta a la luz lo presentaron las diásporas de *H. fragilis*, donde se obtuvo una respuesta de germinación de 66% con una exposición a la luz de 2 minutos mientras se registraba su germinación. Por lo que estos resultados están mostrando que las diásporas de *H. fragilis* presentaron un requerimiento de luz, lo que se interpretó como un fotoblastismo positivo. Asimismo, este estudio mostró la gran plasticidad de las diásporas de *H. fragilis* para germinar en condiciones extremas de temperatura y la gran capacidad que tienen las mismas para poder establecerse fuera de su área de distribución, ya que son dispersadas por el viento y por el agua.

Desde una perspectiva global, este estudio mostró que la máxima germinación en *E. platyacanthus* f. *grandis* y *H. fragilis* tiende a ocurrir en intervalos de temperaturas más cálidas, mientras que en *A. aphyllus* ocurre en temperaturas templadas (hacia lo frío). Este comportamiento de germinación fue similar a lo observado para otras especies de las zonas áridas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán y Baja California, cuya máxima germinación (>90%) ocurrió en condiciones de luz y temperaturas entre 20 y 30°C (Baskin y Baskin, 1998; Flores y Briones, 2001; Ocampo *et al.*, 2003; Rojas-Aréchiga *et al.* 1997, 1998, 2001; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000; Xiang-yun *et al.*, 2003).

Asimismo, en otros estudios sobre cactáceas del Valle de Tehuacán-Cuicatlán y de Baja California proponen que el uso de temperaturas alternantes tiene un efecto promotor sobre la germinación, cuando las mismas se combinan con el estímulo de la luz en forma de fotoperiodos (Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet, 1998; Otero-Arnaiz *et al.*, 2003; Rojas-Aréchiga *et al.* 1997, 1998, 2001; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000; Xiang-yun *et al.*, 2003).

Con base en la información de este estudio y con el fin de promover una máxima germinación en menor tiempo con las especies estudiadas, se podrían llevar a cabo experimentos bajo temperaturas constantes y alternantes en combinación con el factor luz (termoperiodos-fotoperiodos). También, estos estudios aportarían información sobre

las condiciones óptimas de propagación de estas especies, para planificar futuras estrategias y programas de propagación, establecimiento y reintroducción de las mismas para una adecuada restauración de sus áreas de distribución.

Viabilidad

Los resultados de las pruebas de disección y rayos X mostraron la alta calidad de las diásporas de *A. aphyllus*, lo cual coincidió con el 99% de viabilidad obtenido en las pruebas de tetrazolio en las diásporas no germinadas durante las pruebas y en una muestra de la colección original. En esta especie, las diferencias registradas entre los altos porcentaje de viabilidad y los bajos porcentajes de germinación obtenidos sugieren que la respuesta de germinación fue inhibida por una latencia física, la cual fue impuesta por la cubierta seminal de las diásporas (endocarpo lignificado). Sin embargo, es necesario realizar estudios más detallados sobre la latencia en esta especie, con el fin de estimar que otros factores influyen positivamente en la pérdida de la misma.

En el caso de *B. mexicana*, los resultados mostraron que la calidad y viabilidad de las diásporas fue tan baja como la respuesta de germinación. El problema de una baja calidad en las diásporas cosechadas sobre la planta madre y por ende tasa baja de viabilidad en las mismas se debe posiblemente a causas genéticas, o a los eventos ocurridos durante los procesos de polinización, de histodiferenciación y desarrollo del embrión.

En las especies de *E. platyacanthus* f. *grandis* y *H. fragilis*, los resultados de la alta calidad y viabilidad de las diásporas coincidieron positivamente con los altos porcentajes de germinación obtenidos a través del tiempo de almacenamiento (80-100%). El incremento de la germinación a través del tiempo de almacenamiento sugirió que las diásporas de ambas especies es probable que presenten una latencia innata. Por lo que sería necesario llevar a cabo otros estudios que permitan evaluar este tipo de latencia y determinar que factores influyen en la pérdida de la misma.

Por otro lado, la evaluación de la calidad y viabilidad de las diásporas a través de diferentes métodos antes y después de su almacenamiento, permitió estimar en forma prospectiva la vida media de las colecciones y especies almacenadas, así como el evaluar la potencialidad de las mismas para crecer y desarrollarse como plántulas.

Plántulas

Con el estudio de las plántulas se reconocieron y relacionaron los requerimientos ecológicos y los vectores de dispersión de las especies, tal y como fue registrado para especies vegetales de las zonas tropicales húmedas por De Vogel (1980), Garwood (1996), Howe y Smallwood (1982) e Ibarra-Manríquez *et al.* (2001).

La clasificación de las plántulas dio a conocer la presencia de plántulas del tipo PEF y CER para el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, las cuales se reportan en este estudio como los primeros registros para las especies de zonas áridas.

Sobre estos tipos, Ibarra-Manriquez y colaboradores (2001) encontraron que las plántulas PEF tienen mayor tasa fotosintética que las CER, debido a la presencia de cotiledones foliáceos y fotosintéticos, los cuales contrastan con los cotiledones reducidos de almacenamiento de reservas y/o absorción de las plántulas de tipo CER. También, dieron a conocer que las plántulas PEF se establecen en zonas abiertas y muy deterioradas, en tanto que las CER lo hacen en áreas poco perturbadas.

Con base en esta descripción para las especies tropicales húmedas y con la información obtenida en este estudio, se encontró que las plántulas PEF de *A. aphyllus* y *B. mexicana* presentaron cotiledones foliáceos y fotosintéticos, lo cual hace probable que estos cotiledones tiendan a ser más demandantes de la luz por su gran área foliar. En ambas especies, las plántulas se establecen en áreas muy abiertas y perturbadas, sólo que la primera lo hace en planicies y laderas, en tanto que la segunda especie lo hace en el pico de una montaña.

Las plántulas CER de *E. platyacanthus f. grandis* y *H. fragilis* presentaron cotiledones muy reducidos y fotosintéticos, lo cual aumenta la probabilidad de que estos diminutos cotiledones tiendan a ser muy sensibles a la luz y de que la tasa fotosintética sea menor. Las plántulas de ambas especies se establecen en áreas conservadas y abiertas, sobre las laderas y cañadas del valle y bajo la sombra de otras plantas.

Al relacionar el tipo de plántulas con el fruto y los vectores de dispersión de las diásporas, se encontró que las plántulas PEF y CER provienen de frutos secos dehiscentes y carnosos no dehiscentes y, el síndrome de dispersión es animal y por el viento. Por lo que no se determinó asociación alguna entre el tipo de plántulas con el tipo de diáspora y su dispersión.

En este sentido, surge la necesidad de realizar más estudios sobre la identificación y desarrollo de plántulas para las especies de zonas áridas, con el fin de generar información sobre aspectos tales como establecimiento y crecimiento *in situ*, determinación de la posición y función de los cotiledones, si la posición y función de los cotiledones es un carácter que pueda ser reconocido a niveles taxonómicos como género y familia y, analizar si el carácter es obligado o conservado en estos niveles.

Comportamiento en almacenamiento

La información sobre la conservación de las especies de zonas áridas de México fue escasa y aún más la información sobre aspectos de conservación de germoplasma y la viabilidad de las diásporas bajo las condiciones de un almacenamiento a largo plazo.

Hasta el momento, la información disponible que se tiene sobre almacenamiento de semillas es para algunas especies de cactáceas, leguminosas, agaváceas y nolináceas. En la mayoría de los estudios realizados, las diásporas se conservaron en bolsas de papel y/o frascos de vidrio a una temperatura ambiente del laboratorio y con un tiempo de almacenamiento de unos días a 6 años después de su recolección (Baskin y Baskin, 1998; Flores y Briones, 2001; Flores-Martínez y Manzanero-Medina, 2003; Godínez-Alvarez y Valiente-Banuet, 1998; Nolasco *et al.*, 1996, 1997; Otero-Arnaiz *et al.*, 2003; Rojas-Aréchiga *et al.* 1997, 1998, 2001; Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000; Xiang-yun *et al.*, 2003).

Un estudio sobre *Mammillaria supertexta* endémica del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, señala que las semillas toleraron una ultra-deshidratación y un almacenamiento por 6 años a una temperatura de -20°C. Durante este tiempo, las diásporas mantuvieron una tasa alta de viabilidad (93%), por lo que su comportamiento bajo estas condiciones de almacenamiento se determinó como del tipo ortodoxo (Ocampo *et al.*, 2003).

Asimismo, en el Compendio sobre Comportamiento de Semillas Almacenadas de Hong y colaboradores (1998) y en la Base de Datos de Semillas del Banco de Semillas del Milenio de los Jardines Botánicos Reales de Kew (Flynn *et al.*, 2004) hay información sobre el comportamiento de semillas almacenadas a nivel de familia o género y especies. Con base en esta información Dickie y Pritchard (2002) relacionan las características filogenéticas y ecológicas de las especies y sus semillas con el fin de

determinar desde un punto de vista evolutivo, si el comportamiento de las semillas almacenadas se da a nivel de familia, género y/o especie.

Para la familia Celastraceae citan que hay especies cuyo comportamiento es intermedio, debido a que las diásporas son sensibles a la deshidratación y no toleran un almacenamiento a temperaturas bajo cero. En cambio la especie *Celastrus scandens* presenta un comportamiento de tipo ortodoxo, debido a que las diásporas toleran temperaturas de almacenamiento entre 0 y -15°C (Dickie y Pritchard, 2002; Flynn *et al.*, 2004; Hong *et al.*, 1998).

En *Acanthothamnus aphyllus*, los resultados mostraron que las diásporas toleraron en alto grado un almacenamiento con un reducido contenido de humedad y temperatura bajo cero (-20°C). Esto significa que las diásporas de *A. Aphyllus* no presentaron ningún daño por congelamiento después de 26 meses de almacenadas, manteniendo una tasa alta de viabilidad a través del tiempo de conservación.

Para familia Buxaceae, Hong y colaboradores (1998) citan que *Buxus sempervirens* tiene un comportamiento incierto después de que se almacenó un año en el laboratorio a una temperatura ambiente. Por lo que sugieren que con base en el tipo de fruto y peso tan bajo de las semillas, la mayoría de las especies de esta familia pueden presentar un comportamiento en almacenamiento de tipo ortodoxo.

En el caso de *Buxus mexicana*, los resultados de una baja calidad y viabilidad de las diásporas demostraron que los bajos porcentajes de germinación registrados en las mismas no se debieron al efecto negativo del almacenamiento. Por el contrario, la respuesta de germinación del 4% sugiere una alta sobrevivencia de las diásporas a las condiciones de almacenamiento.

Para las familias Cactaceae y Bromeliaceae proponen que la mayoría de las especies de estas familias pueden tener un comportamiento de tipo ortodoxo (Hong *et al.*, 1998; Ocampo *et al.*, 2003; Flynn *et al.*, 2004; Xiang-yun *et al.*, 2003).

En *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis*, los resultados mostraron que las diásporas de ambas especies toleraron exitosamente 26 meses de almacenamiento a temperatura bajo cero con una alta tasa de viabilidad, lo que sugiere que la longevidad de las diásporas almacenadas tampoco fue reducida.

Si bien las diásporas maduras y viables de *Acanthothamnus aphyllus*, *Buxus mexicana*, *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis* toleraron un almacenamiento seco y frío, entonces su comportamiento está mostrando la gran

capacidad y plasticidad que tienen las mismas para tolerar condiciones climáticas extremas en su hábitat natural.

Relacionando esta información con los datos de sus perfiles bioclimáticos, se determinó que las diásporas de estas especies son capaces de sobrevivir sequías prolongadas de 6 meses y periodos fríos con temperaturas de 5.1, 6.2, 5.7 y 8.9°C. Debido a que las diásporas logran alcanzar un equilibrio fisiológico con el medio (reduciendo su humedad), aún cuando se encuentran en un estado de quiescencia.

Esta gran plasticidad y capacidad de adaptación y sobrevivencia a través del tiempo en condiciones naturales y con las obtenidas en este estudio, sugieren significativamente que las especies estudiadas presentan un carácter de tolerancia a la deshidratación y a las temperaturas frías cercanas a la de congelación.

En este sentido, Dickie y Pritchard (2002) postulan que la tolerancia de las diásporas a la desecación y al frío, es un carácter conservado en las especies y que ha sido retomado a diferentes tiempos, en respuesta a diversos factores ecológicos durante la evolución de las angiospermas y su expansión a diferentes hábitats. Sin embargo, mencionan que el carácter de tolerancia a la desecación y frío puede variar en especies dentro del mismo género y entre las poblaciones, aún cuando se distribuyan en las regiones tropicales semi-secas y secas.

Los resultados obtenidos en *Acanthothamnus aphyllus*, *Buxus mexicana*, *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis* mostraron que las condiciones de almacenamiento a largo plazo fueron una adecuada estrategia de conservación *ex situ*. Estrategia que podría permitir preservar el germoplasma vegetal de estas especies por más de 200 años, tal y como lo predicen Roberts y Ellis (1977, 1989), Ellis (1998), Linington (2003), Pritchard y Dickie (2003) y Terry y colaboradores (2003). Sin que para ello decline significativamente la viabilidad y que tampoco sea reducida la vida media de las diásporas almacenadas (longevidad).

Finalmente, la información generada en este estudio sobre las especies endémicas y de distribución restringida fue una herramienta valiosa y esencial para la proyección de un método de conservación de germoplasma para las especies de las zonas áridas, en un banco de semillas convencional.

IX. CONCLUSIONES

Este estudio contribuyó al conocimiento sobre pruebas básicas fisiológicas de las diásporas bajo condiciones de un almacenamiento a largo plazo, las cuales provienen de especies endémicas y en peligro de extinción de la zona árida de la Reserva de la Biosfera del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Asimismo, durante este estudio se generó información sobre aspectos de recolección, procesamiento y almacenamiento de las diásporas, en orden de presentar protocolos adecuados para el manejo y conservación del germoplasma vegetal y para desarrollar el modelo de un módulo de germoplasma que contenga la información que se genera en un banco de semillas convencional (módulo de germoplasma en BIOTICA 4.3, CONABIO).

Por lo que los resultados obtenidos en este trabajo permitieron concluir lo siguiente:

- Las diásporas deshidratadas de *Acanthothamnus aphyllus*, *Buxus mexicana*, *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis* incrementaron la capacidad de germinación con un fotoperiodo breve de 2 min. de exposición de luz y luz continua (24 hrs.), en comparación con los bajos porcentajes germinación obtenidos en las diásporas no deshidratadas ni almacenadas. Probablemente, el tratamiento de deshidratación parcial y el ambiente de almacenamiento influyeron positivamente en el incremento de la respuesta de germinación de las diásporas, induciendo el rompimiento de una latencia innata en las mismas.
- Debido a que la deshidratación parcial con gel de sílice no tuvo efectos negativos sobre la respuesta de germinación de las diásporas a través del tiempo de almacenamiento (26 meses), se infiere la posibilidad de que las mismas toleren reducciones mayores en su contenido de humedad en condiciones naturales, como en el laboratorio.
- Lo anterior hace suponer que hay un verdadero potencial en la tecnología de ultradeshidratación para conservar diásporas a temperaturas ambiente, cuando no se cuenta con los recursos suficientes para las condiciones de congelación (-20°C). En

este sentido, la capacidad para deshidratar a las diásporas y reducir su contenido de humedad, usando un sistema cerrado y gel de sílice como desecante, permiten proponer a este método como el menos costoso y más eficiente y accesible, cuando no se tiene la disponibilidad de un cuarto de desecación con condiciones de temperatura y humedad relativa controladas (sistemas de refrigeración y deshumidificación).

- Los resultados de *Acanthothamnus aphyllus* mostraron que la luz continua y la temperatura de 18°C promovieron significativamente la germinación de las diásporas e influyeron en la pérdida de la latencia física de las mismas. A diferencia del fotoperiodo breve (2 min. de luz) y las temperaturas 25 y 35°C, las cuales inhibieron en cierto grado la germinación de las diásporas. Es probable que a temperaturas más bajas, cercanas o iguales a las registradas para su perfil bioclimático incrementen la germinación de las diásporas y reduzcan favorablemente su tiempo promedio de germinación.
- En *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis*, los resultados mostraron que la máxima germinación ocurrió en luz continua y temperaturas de 25 y 30°C. No obstante, las diásporas de ambas especies germinaron en menor porcentaje en la temperatura de 18°C y fotoperiodo breve (2 min de luz), lo que indicó la sensibilidad a la luz y la gran capacidad y natural plasticidad de su respuesta.
- El análisis de la germinación en *E. platyacanthus* f. *grandis* y *H. fragilis* mostró que el tiempo de almacenamiento tuvo un efecto significativamente positivo en el incremento de la respuesta de germinación en las diásporas deshidratadas, así como acortó el tiempo promedio para alcanzar un 50% de germinación. El análisis de *A. aphyllus* mostró que el tiempo de almacenamiento no tuvo ningún efecto significativo en la germinación de las diásporas ni en el tiempo promedio de germinación.
- Los resultados obtenidos en las pruebas de germinación, disección, tetrazolio y rayos X demostraron que un método por sí solo no fue suficiente para evaluar y determinar la calidad y viabilidad de las diásporas estudiadas. Por lo que los métodos de

tricloruro de tetrazolio (TTZ), de disección y de rayos X se recomiendan como pruebas complementarias muy precisas de los experimentos de germinación.

- Por su origen, el tipo del material de reserva presente en las diásporas de *A. aphyllus*, *B. mexicana* y *H. fragilis* fue endospermo, por lo que las diásporas se clasificaron como endospérmicas. Las diásporas de *E. platyacanthus* f. *grandis* presentaron perispermo como material de reserva, por lo que se clasificaron como diásporas perispérmicas. Todas ellas presentaron una germinación de tipo epígea y las plántulas fueron normales.
- Las plántulas de *A. aphyllus* y *B. mexicana* fueron del tipo fanerocotilar epígea con cotiledones foliáceos (PEF). Mientras que las plántulas de *E. platyacanthus* f. *grandis* y *H. fragilis* son del tipo criptocotilar epígea con cotiledones de reserva y absorción (CER). Estos tipos de plántulas son los primeros registros para las especies de la zona árida del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Asimismo, surge la necesidad de realizar estudios más detallados sobre los caracteres y frecuencia de los tipos de plántulas, con las especies presentes en los diferentes tipos de vegetación del valle de Tehuacán-Cuicatlán y con diferentes formas de vida.
- El análisis global de la germinación señaló una relación dada entre el microclima de las especies, con las características morfológicas y fisiológicas de las diásporas y su comportamiento de tolerancia mostrado durante la deshidratación parcial y el almacenamiento. Lo que sugiere la adquisición de un carácter de tolerancia a la desecación y al frío a través de la evolución de estas especies. Carácter en las diásporas que les permitió mantener una alta viabilidad y longevidad en las condiciones utilizadas en este estudio y que probablemente también les permita sobrevivir y mantener su viabilidad en condiciones naturales, en los bancos de semillas del suelo de la zona árida del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.
- Hasta este punto, los resultados generados indicaron que las diásporas de *Acanthothamnus aphyllus*, *Buxus mexicana* y *Echinocactus platyacanthus* f. *grandis* y *Hechtia fragilis* toleraron una deshidratación y un almacenamiento de 26 meses a una

temperatura de un banco de semillas convencional, lo que sugiere que el tipo de comportamiento en almacenamiento en las mismas es de semillas ortodoxas.

- Finalmente, este estudio está apoyando la noción de que la conservación *ex situ* de las especies de zonas áridas y semiáridas es posible vía almacenamiento de su germoplasma, bajo las condiciones de un reducido contenido de humedad y una temperatura tradicional de -20°C.

RIESGOS Y PROBLEMAS

No podemos olvidar que en el establecimiento de un Banco de Germoplasma se presentan riesgos y problemas inherentes a la conservación y almacenamiento de los taxa. Algunos de ellos son:

- El trabajo enorme que implica el establecimiento y la estructuración y adecuación del mismo, así como también de la planificación de las especies a recolectar con base en la información recabada, junto con el trabajo de campo y las áreas naturales prioritarias a visitar y muestrear.
- El alto costo del mantenimiento y la obtención de una buena infraestructura para el Banco de Semillas, sin olvidar la parte que corresponde al trabajo de campo y el trabajo de laboratorio y el procesamiento de las muestras, cuyos gastos también deben ser contemplados.
- La búsqueda de poblaciones representativas (> 50 individuos) en el periodo de fructificación y la recolecta de germoplasma suficiente y de alta calidad y viabilidad (madurez fisiológica), para llevar a buen término una exitosa conservación y almacenamiento a largo plazo de los taxa silvestres.
- La obtención de un contenido de humedad adecuado para el almacenamiento de diásporas en un Banco de Semillas, el cual varía de acuerdo a cada especie. Se puede correr el riesgo de bajar exageradamente este contenido de humedad y dañar así su viabilidad y por consiguiente reducir su longevidad. Por lo tanto, el monitoreo

de las muestras durante su deshidratación parcial es importante y debe hacerse cuidadosamente para cada especie.

- La disponibilidad y accesibilidad del equipo y material para llevar a cabo un método de deshidratación parcial, el cual es un paso básico e indispensable para lograr un exitoso almacenamiento a largo plazo del germoplasma vegetal.
- La determinación de la tolerancia a la desecación y almacenamiento a bajas temperaturas por sí solas no hacen posible la determinación del comportamiento de las semillas almacenadas en un Banco de Germoplasma. Por lo tanto, es necesario desarrollar un criterio múltiple predictivo de trabajo, el cual ayude a sugerir o indicar como es el comportamiento de las semillas almacenadas a corto, mediano y largo plazo.

Hay mucho más por aprender y entender acerca del manejo de un Banco de Semillas con estos objetivos y solamente estamos mostrando un trabajo inicial y básico que sirvió como plataforma para formarlo y tener al mismo tiempo un entendimiento más claro del mismo.

LITERATURA CITADA

- Alcorn, S. M. y S. C. Martín. 1974. *Cereus giganteus*. In: Seeds of woody plants in the United States. Agriculture Handbook No. 450. Washington, D.C. Forest Service, United States Department.
- Arias, M. S., S. Gama L. y L. U. Guzmán C. 1997. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 14. Cactaceae. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Baskin, C. C. y J. M. Baskin. 1998. Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego, California.
- Baskin, C.C. 2003. Breaking physical dormancy in seeds, focusing on the *Lens*. *New Phytologist* 158 (2): 229-232.
- Benedí, C. 1997. Buxaceae. En: Castroviejo, S., Aedo, C. Benedí, C. Laínz, M. Muñoz Garmendia, F. Nieto Feliner, G. y Paiva, J. (eds.). Flora Ibérica: Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol. III. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid. España.
- Benítez-Rodríguez, J.L., A. Orozco Segovia y M. Rojas-Aréchiga. 2004. Light effect on seed germination of four *Mammillaria* species from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central Mexico. *The Southwestern Naturalist* 49 (1): 11-17.
- Berggren, G. 1981. Atlas of seeds 3. Swedish Natural Science Research Council, Stockholm, Sweden.
- Berjak, P., J. M. Farrat, D. J. Mycok y N. W. Pammenter. 1990. Recalcitrant (homoiohydrous) seeds: The enigma of their desiccation-sensitivity. *Seed Science and Technology* 18: 297-310.
- Bewley, J. D. y M. Black. 1994. Seeds physiology of development and germination. Second edition. Plenum Press, New York. USA.
- Brandege, T. S. 1909. *Plantae mexicanae purpusianae*. University of California Publication Botany 3 (8): 382-383.
- Bravo, H. H. 1980. Nuevas combinaciones V. Cactáceas y Suculentas Mexicanas 24 (3): 64-65.
- Buxbaum, F. 1978. Morphology of cacti. Section III. Fruits and seeds. Abbey Garden Press, Pasadena California. USA.
- Casas, A., A. Valiente-Banuet, J. L. Viveros, J. Caballero, L. Cortés, P. Dávila, R. Lira y I. Rodríguez. 2001. Plant resources of the Tehuacán Valley, Mexico. *Economic Botany* 54: 129-166.

- Chai, J. 1998. Optimum moisture content of seeds stored at ambient temperatures. *Seed Science Research* 8, Supplement No. 1, 23-28.
- Chin, H. F., Y. L. Hor y M. B. Lassim. 1984. Identification of recalcitrant seeds. *Seed Science and Technology* 12: 429-436.
- Chin, H. F., B. Krishnapillay y P. C. Stanwood. 1989. Seed Moisture: Recalcitrant vs. orthodox seeds. In: Stanwood, P.C. y McDonald, M.B. (eds.). *Seed Moisture* (Special Publication No. 14). Crop Science Society of America Madison, Wisconsin, USA.
- Corner, E.J.H. 1976. *The Seeds of Dicotyledons*. Vol. 1 y 2. Cambridge University Press, New York. USA.
- Cromarty, A. S., R. H. Ellis, y E. H. Roberts. 1985. *Handbooks for Genebanks: No. 1, The design of seed storage facilities for genetic conservation*. IBPGR, Rome.
- Cronquist, A. 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia University Press, New York. USA.
- Dahlgren, R. M. T., H. T. Clifford y P. F. Yeo. 1985. *The families of the monocotyledons*. Springer-Verlag. Berlin.
- Danilova, M. F., E. N. Nemirovich-Danchenko, G. A. Komar y M. M. Lodkina. 1995. The seed structure of monocotyledons. En: P. J. Rudall, P. J. Cribb, D. F. Cutler y C. J. Humphries (eds.). *Monocotyledons; Systematics and evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew. U. K.
- Dávila, A. P., R. Medina, A. Ramírez, A. Salinas y P. Tenorio. 1995. Análisis de la flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, endemismo y diversidad. En: E. Linares, P. Dávila, F. Chiang, R. Bye, y T. Elias (eds.). *Conservación de plantas en peligro de extinción: Diferentes enfoques*. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Dávila, P. y Herrera-MacBryde, O. 1997. Tehuacan-Cuicatlan Region, Mexico. En: Davis, S. D., Heywood, V. H., Herrera-MacBryde, O., Villa-Lobos, J. y Hamilton, A. C. (eds.). *Centres of plant diversity: A guide and strategy for their conservation*. Vol. 3 The Americas, The World Wide Fund For Nature (WWF) y IUCN-The World Conservation Union.
- Dávila, P., M. C. Arizmendi, A. Valiente-Banuet, J. L. Villaseñor, A. Casas y R. Lira. 2002. Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 11: 421-442.
- Del Castillo, R.F. 1986. Semillas, germinación y establecimiento de *Ferocactus histrix*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 31: 5-11.
- Dent, R. S. 1948. Seed storage with particular reference to the storage of seed of indian forest plants. *Indian forest records*. *Silviculture* 7 (1), Delhi.

- De Vogel, E. F. 1980. Seedlings of dicotyledons, structure, development, types. Description of 150 woody malasian taxa. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, The Netherlands.
- Dickie, J. B., R. H. Ellis, H. L. Kraak, K. Ryder y P. B. Tompsett. 1990. Temperature and seed storage longevity. *Annals of Botany* 65: 197-204.
- Dickie, J.B. y Pritchard, H.W. 2002. Systematic and evolutionary aspects of desiccation tolerance in seeds. En: Black, M. & Pritchard, H.W. (eds.). *Desiccation and survival in plants: Drying without dying*. CABI, Wallingford.
- Downs, R.J. 1964. Photocontrol of germination of seeds of the bromeliaceae. *Phyton* 21: 1-6.
- Ellis, R. H., T. D. Hong y E. H. Roberts. 1985 a. *Handbooks for Genebanks: No. 2, Handbook of seed technology for genebanks, Vol. 1, principles and methodology*. IBPGR, Rome.
- Ellis, R. H., T. D. Hong y E. H. Roberts. 1985 b. *Handbooks for Genebanks: No. 3, Handbook of seed technology for genebanks, Vol. II, Compendium of specific germination information and test recommendations*. IBPGR, Rome.
- Ellis, R. H., T. D. Hong y E. H. Roberts. 1988. A moisture content limit to logarithmic relation between seed moisture content and longevity. *Annals of Botany* 61: 405-408
- Ellis, R. H., T. D. Hong y E. H. Roberts. 1989 a. Quantal response of seed germination in seven genera of cruciferae to white light of varying photon flux density and photoperiod. *Annals of Botany* 63: 145-159.
- Ellis, R. H., T. D. Hong y E. H. Roberts. 1989b. A comparison of the low-moisture-content limit to the logarithmic relation between seed moisture and longevity in twelve species. *Annals of Botany* 63: 601-611.
- Ellis, R. H., T. D. Hong, E. H. Roberts y K-L. Tao. 1990a. Low-moisture-content limits to relations between seed longevity and moisture. *Annals of Botany* 63: 493-504.
- Ellis, R. H., T. D. Hong y E. H. Roberts. 1990b. An intermediate category of seed storage behavior? I. Coffee. *Journal of Experimental Botany* 41: 1167-1174.
- Ellis, R. H. y S. Barrett. 1994. Alternating temperatures and rate of seed germination in Lentil. *Annals of Botany* 74: 519-524.
- Ellis, R. H., T. D. Hong y E. H. Roberts. 1995. Survival and vigor of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds at low and very low moisture contents. *Annals of Botany* 76: 521-534.
- Ellis, R. H. 1998. Longevity of seeds stored hermetically at low moisture contents. *Seed Science Research* 8, Supplement No. 1, 9-10.

- Elizondo, E. J., J. Valdés R., S. Arias M. y S. L. Hatch. 1994. Micromorfología de las semillas de algunas especies de la tribu Cacteeae (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 39: 59-67.
- Fansworth, E. 2000. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. *Annual Review of Ecology and Systematic* 31: 107-138.
- Fernández, N. R. 1994. Buxaceae. En: *Flora del Bajío y de regiones adyacentes*. Fascículo 27. Instituto de Ecología A. C. Pátzcuaro, Michoacán. México.
- Ferrusquía-Villafranca, I. 1993. Geology of Mexico: A synopsis. En: Ramamoorthy, T.P., Bye, R., Lot, A. and Fa, J.E. (eds.). *Biological diversity of Mexico: Origins and distribution*. Oxford University Press, New York.
- Flavel, R. B. 1991. Molecular biology and genetic conservation programmes. *Biological Journal Linnean Society* 43: 73-80.
- Flores, J. y O. Briones. 2001. Plant life-form and germination in a mexican intertropical desert: effects of soil water potential and temperature. *Journal of Arid Environments* 47: 485-497.
- Flores-Martínez, A. y G. L. Manzanero-Medina. 2003. Comparative germination of endemic species of *Mammillaria* from Oaxaca, Mexico. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*. 48: 36-51.
- Flynn, S., R. Turner y J. B. Dickie. 2004. Seed information database. Millennium Seed Bank Project, Royal Botanic Gardens, Kew. U. K. (<http://www.rbgekew.org.uk/data/sid>).
- García, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Enriqueta García. México, D.F.
- Garwood, N. C. 1996. Functional morphology of tropical tree seedlings. En: M. D. Swaine (eds.). *The ecology of tropical forest tree seedlings*. Man and the biosphere series, vol. 17. UNESCO, Paris and Parthenon, Paris, France.
- Gentry, A. H. 1978. Buxaceae. En: *Flora de Panama*. *Annals of Missouri Botanical Gardens* 65: 5-8.
- Godínez-Álvarez H. y A. Valiente-Banuet. 1998. Germination and early seedling growth of Tehuacan Valley cacti species: The role of soils and seed ingestion by dispersers on seedling growth. *Journal of Arid Environments* 39: 21-31.
- Harris, J. G. y M. W. Harris. 1997. *Plant identification terminology and illustrated glossary*. Spring Lake Publishing, Utah. USA.
- Hong, T. D. y R. H. Ellis. 1996 a. A protocol to determine seed storage behavior. IPGRI Technical Bulletin No. 1. J. M. M. Engels and J. Toll (eds.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

- Hong, T. D. y R. H. Ellis. 1996 b. *Ex situ* biodiversity conservation by seed storage: Multiple-criteria keys to estimate seed storage behavior. *Seed Science and Technology* 25: 157-161.
- Hong, T. D., S. Linington y R. H. Ellis. 1998. Compendium of information on seed storage behavior. Royal Botanic Gardens, Kew / University of Reading / IPGRI.
- Howe, H. F. y J. Smallwood. 1982. Ecology of seed dispersal. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13: 201-228.
- Hu, C., Y. Zhang, M. Tao, X. Hu y C. Jiang. 1998. The effect of low water contents on seed longevity. *Seed Science Research* 8, Supplement No. 1, 35-39.
- Ibarra-Manríquez, G., M. Martínez y K. Oyama. 2001. Seedling functional types in a low land rain forest in Mexico. *American Journal of Botany* 88 (10): 1801-1812.
- ISTA. 1999. International Rules for Seed Testing, 1999. *Seed Science and Technology* 27:Supplement 333.
- Jenkins, R. E. 1977. Rare plant conservation through elements of diversity information. En: Morse, L. E. y Henifin, M. S. (eds.). *Rare plant conservation: In geographical data organization*. 1981. The New York Botanical Garden, Bronx, New York, USA.
- Kermode, A. R. y B.E. Finch-Savage. 2002. Desiccation sensitivity in orthodox and recalcitrant seeds in relation to development. En: Black, M. and Pritchard, H. W. (eds.). *Desiccation and survival in plants: drying without dying*. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing.
- Kong, X. –H. y H. –Y, Zhang. 1998. The effect of ultra-dry methods and storage on vegetable seeds. *Seed Science Research* 8, Supplement No. 1, 41-45.
- Leopold, A. C. y Vertucci, C. W. 1989. Moisture as a regulator of physiological reaction in seeds. En: Stanwood, P. C. and McDonald, M. B. (eds.). *Seed Moisture (special publications No. 14)*. Madison, Wisconsin, Crop Science Society of America.
- Leprince, O. y E. A. Golovina. 2002. Biochemical and Biophysical methods for quantifying desiccation phenomena in seeds and vegetative tissues. En: Black, M. and Pritchard, H. W. (eds.). *Desiccation and survival in plants: drying without dying*. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing.
- Linington, S. H. y R. D. Smith. 1985. Deferred regeneration: A manpower-efficient technique for germplasm conservation. *FAO/IBPGR, Plant Genetic Resources Newsletter* 70: 2-12.
- Linington, S. H., J. Terry y J. Parsons. 1995. X-ray analysis of empty and insect-damaged seeds in an *ex situ* wild species collection. *Plant Genetic Resources Newsletter* 102: 18-25.
- Linington, S. H. y Pritchard, H.W. 2000. Genebanks. En: Levin, S. (eds.). *Encyclopedia of biodiversity*. Academic Press.

- Linington, S. H. 2003. The design of seed banks. En: Smith, R. D. Dickie, J. B., Linington, S. H., Pritchard, H. W., Probert, R. J. (eds.). Seed conservation: Turning science into practice. Royal Botanic Gardens Kew, U. K.
- Mandujano, M.C., J. Golubov y C. Montaña. 1997. Dormancy and endozoochorous dispersal of *Opuntia rastrera* seeds in the southern Chihuahuan Desert. Journal of Arid Environments 36: 259-266.
- Martin, A. C. 1946. The comparative internal morphology of seeds. American Midland Naturalist 36:513-660.
- Nolasco, H., F. Vega-Villasante, H. L. Romero-Schmidt y A. Diaz-Rondero. 1996. The effects of salinity, acidity, light and temperature on the germination of seeds of cardon (*Pachycereus pringlei* (S. Wats.) Britton & Rose, Cactaceae). Journal of Arid Environments 33: 87-94.
- Nolasco, H., F. Vega-Villasante y A. Diaz-Rondero. 1997. Seed germination of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) under different solar irradiation levels. Journal of Arid Environments 36: 123-132.
- Ocampo, L. A., P. Dávila, A. Flores y H. W. Pritchard. 2003. Longevity of *Mammillaria supertexta* (Cactaceae) seeds under ultra-dry long-term storage. En: Smith, R. D. Dickie, J. B., Linington, S. H., Pritchard, H. W., Probert, R. J. (eds.). Seed conservation: Turning science into practice. Royal Botanic Gardens Kew, U. K.
- Orozco-Segovia, A. 1986. Fisiología ecológica del fotoblastismo en semillas de cuatro especies del género *Piper* L. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Orozco-Segovia, A. 1989. Fisiología y ecología del fitocromo: su función en las semillas. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 49: 71-84.
- Orozco-Segovia, A. y C. Vázquez-Yanes. 1989. Light effect on seed germination in *Piper* L. Acta Oecológica. 10: 123-146.
- Osorio O, A. Valiente-Banuet, P. Dávila y R. Medina. 1996. Tipos de vegetación y diversidad en el valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. Boletín de la Sociedad Botánica de México 59: 35-58.
- Otero-Arnaiz, A., A. Casas, C. Bartolo, E. Perez-Negron y A. Valiente-Banuet. 2003. Evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacan Valley, Central Mexico: reproductive biology. American Journal of Botany. 90: 593-602.
- Overaa, P. 1981. Report of the tetrazolium test committee 1977-1980. Seed Science and Technology 9: 157-163.

- Pammenter, N. W. y P. Berjak. 1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. *Seed Science Research* 9: 13-38.
- Pammenter, N. W. y P. Berjak. 2000. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. *Seed Science Research* 8: 463-471.
- Pasha, M.K. y R. K. Das. 1982. Quick viability test of soybean seeds by using tetrazolium chloride. *Seed Science and Technology* 10:651-655.
- Pax, F. 1896. Buxaceae. En: A. Engler (eds.). *Die natürlichen pflanzenfamilien*. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig. Germany, 130-135.
- Pence, V.C. 1991. Cryopreservation of seeds of Ohio native plants and related species. *Seed Science and Technology*. 19: 235-251.
- Potter, R.L., Petersen, J.L. y Veckert, D.N. 1984. Germination responses of *Opuntia* spp. to temperature, scarification and other seed treatments. *Weed Science* 32: 106-110.
- Prendergast, H. D. V., S. Linington y R. D. Smith. 1992. The kew seed bank and the collection, storage and utilization of semi-arid zone grasses. En: *Desertified grasslands: Their biology and management*. The Linnean Society of London. Academic Press, London.
- Pritchard, H. W. y Manger K. R. 1990. Quantal response of fruit and seed germination rate in *Quercus robur* L. and *Castanea sativa* Mill. to constant temperature and photon dose. *Journal of Experimental Botany* 41: 1549-1557.
- Pritchard, H. W. y A. P. Miller. 1995. The effects of constant temperatures, light and seed quality on the germination characteristics of *Agave americana*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 57: 11-14.
- Pritchard, H. W. y Dickie, J. B. 2003. Predicting seed longevity: the use and abuse of seed viability equations. En: Smith, R. D. Dickie, J. B., Linington, S. H., Pritchard, H. W., Probert, R. J. (eds.). *Seed conservation: Turning science into practice*. Royal Botanic Gardens Kew, U. K.
- Pytlewski, C. A. 1992. The effects of storage on the viability of Bromeliad seeds. *Prace Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach. Seria B, Roślina Ozdobne*. 17: 23-31 (Seed Abstracts. 1994, 17 (7). No. 2265).
- Ramamoorthy, T. P. y M. Elliott. 1993. Mexican Lamiaceae: Diversity, distribution, endemism, and evolution. En: Ramamoorthy, T. P., Bye, R., Lot, A. y Fa, J. F. (eds.). *Biological diversity of Mexico: Origins and distribution*. Oxford University Press, New York. USA.
- Razgado, P., N. Pedraza, M. A. Cuéllar, R. Hernández y G. Solano. 1994. *Catálogo de jardines botánicos mexicanos y colecciones afines*. Instituto Nacional de Ecología, México D.F.
- Roberts, E. H. 1972. *Viability of seeds*. Chapman and Hall Ltd., London.

- Roberts, E. H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology* 1: 499-514.
- Roberts, E. H. y R. H. Ellis. 1977. Prediction of seed longevity at sub-zero temperatures and genetic resources conservation. *Nature* 268: 431-433.
- Roberts, E. H. , H. King y R. H. Ellis. 1984. Recalcitrant seeds: their Recognition and Storage. En: Holden, J. H. y Williams, J. T. (eds.). *Crop genetic resources conservation and evaluation*. George Allen and Unwin, London.
- Roberts, E. H. y R. H. Ellis. 1989. Water and seed survival. *Annals of Botany* 63: 39-52.
- Rojas-Aréchiga, M., A. Orozco-Segovia y C. Vázquez-Yanes. 1997. Effect of light on germination of seven species of cacti from the Zapotitlan Valley in Puebla, México. *Journal of Arid Environments* 36: 571-578.
- Rojas-Aréchiga, M., C. Vázquez-Yanes y A. Orozco-Segovia. 1998. Seed response to temperature of mexican cacti species from two life forms: and ecophysiological interpretation. *Plant Ecology* 135: 207-214.
- Rojas-Aréchiga, M. y C. Vázquez-Yanes. 2000. Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments* 44: 85-104.
- Rojas-Aréchiga, M., A. Casas y C. Vázquez-Yanes. 2001. Seed germination of wild and cultivated *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, central México. *Journal of Arid Environments* 49: 279-287.
- Rose, J. N. 1906. Mexican and central american plants. *Contribution U. S. National Herbarium* 10:126-127.
- Rudolf, P.O. 1974. *Euonymus* L. En: *Seeds of woody plants in the United States*. Agriculture Handbook No. 450. Washington DC. Forest Service, United States Department.
- Rzedowski, J. 1991a. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana*. 14: 3-21.
- Rzedowski, J. 1991b. El Endemismo en la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar. *Acta Botánica Mexicana*. 15: 47-64.
- Rzedowski, J. 1993. Diversity and origins of the phanerogamic flora of Mexico. En: Ramamoorthy, T.P., Bye, R., Lot, A. y Fa, J.F. (eds.). *Biological diversity of Mexico: origins and distribution*. Oxford University Press, New York. USA.
- Sala O. E. *et al.* 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287:1770-1774.
- Shen, D. y X. Qi. 1998. Short-and long-term effects of ultra-drying on germination and growth of vegetable seeds. *Seed Science Research* 8, Supplement No.1, 47-53.

- Simak, M. y K. Sahlén. 1981. Report of the forest tree seed committee working group on X-ray testing 1977-1980: comparison between the X-radiography and cutting test used in seed quality analysis. *Seed Science and Technology* 9: 205-225.
- Slageren, van M. W. 2003. The Millennium Seed Bank: building partnerships in arid regions for the conservation of wild species. *Journal of Arid Environments* 54: 195-201.
- Smith, C. E., Jr. 1965. Flora of Tehuacan Valley. *Fieldiana Botany* 31 (4): 107-143.
- Smith, L. B. y R. J. Downs. 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). Part I. Flora Neotropica. Monograph 14: 648. New York Botanical Garden USA.
- Smith, R. D. 1995. Collecting and handling seeds in the field. En: Guarino, L., V. Ramanatha Rao y R. Reid (eds.). *Collecting plant genetic diversity, technical guidelines*. Wallingford, Oxon, UK: CABI Publishing.
- Smith, R. D., S. H. Linington y G. E. Wechsberg. 1998. The Millennium Seed Bank, the convention on biological diversity and the dry tropics. En: Prendergast, H.D.V., N. L. Etkin, D. R. Harris y P. J. Houghton (eds.). *Plants for food and medicine: Proceedings of the joint conference of the society for economic botany and the international society for ethnopharmacology*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1979. *Biometría: principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. H. Blume. Madrid, España.
- Standley, P. C. 1923. Trees and shrubs of Mexico (Oxalidaceae-Turneraceae). Part 3. *Contribution U. S. National Herbarium* 23: 1-684.
- Stanwood, P.C. y L. N. Bass. 1981. Seed germplasm preservation using liquid nitrogen. *Seed Science and Technology* 9: 423-437.
- Systematics association committee for descriptive terminology. 1962. Terminology of simple symmetrical plane shapes. *Taxon* 11: 145-156, 245-247.
- Téllez, O. 2002. Base de datos bioclimática del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Laboratorio de recursos naturales. Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos (UBIPRO). FES-Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Tompsett, P. B. 1982. The effect of desiccation on the longevity of seeds of *Araucaria hunsteinii* and *A. cunninghamii*. *Annals of Botany* 50: 693-704.
- Tompsett, P.B. & Pritchard, H.W. 1998. The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastanum* L. seeds. *Annals of Botany* 82: 249-26.
- Turner, B. L. y Neson, G. L. 1993. Biogeography, diversity, and endangered or threatened status of mexican Asteraceae. En: Ramamoorthy, T.P., Bye, R., Lot, A. and Fa, J.F. (eds.).

- Biological diversity of Mexico: Origins and distribution. Oxford University Press, New York. USA.
- Terry, J., Probert, R. J. & Linington, S. H. 2003. Processing and maintenance of the Millennium Seed Bank collections. En: Smith, R. D. Dickie, J. B., Linington, S. H., Pritchard, H. W., Probert, R. J. (eds.). Seed conservation: Turning science into practice. Royal Botanic Gardens Kew, U. K.
- Utley, B. y Utley. 1987. *Hechtia*. Brittonia. 39: 40-42.
- Valiente-Banuet, A., A. Rojas-Martínez, A. Casas, Ma. Del C. Arizmendi y P. Dávila. 1997. Pollination biology of two winter-blooming giant columnar cacti in the Tehuacán Valley, central Mexico. Journal of Arid Environments 37: 331-341.
- Valiente-Banuet, A., N. Flores-Hernández, M. Verdú y P. Dávila. 1998. The chaparral vegetation in Mexico under non mediterranean climate: the convergence and madrean-tethyan hypotheses reconsidered. American Journal of Botany 85: 1398-1408.
- Vertucci, C. W. y E. E. Ross. 1991. Seed moisture content, storage, viability and vigor. Seed Science Research 1: 275-279.
- Villaseñor, R. J. L. 1982. Las Compositae del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, flora genérica. Tesis (Biología). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Villaseñor, R. J. L. 1990. The genera of Asteraceae endemic to Mexico and adjacent regions. ALISO 12 (4): 685-692.
- Villaseñor, R. J. L., P. Dávila y F. Chiang. 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Boletín de la Sociedad Botánica de México 50: 135-149.
- Walters, C. 1998. Ultradry technology: Perspective from the National Seed Storage Laboratory, USA. Seed Science Research 8, Supplement No. 1, 11-14.
- Walters, C. y Engels, J. 1998. The effects of storing seeds under extremely dry Conditions. Seed Science Research 8, Supplement No. 1, 3-7.
- Walters, C., Kameswara Rao, N. y Hu, X. 1998. Optimizing seed water content to improve longevity in *ex situ* genebanks. Seed Science Research 8, Supplement No. 1, 15-22.
- Williams, P. M. y Arias, I. 1978. Physio-ecological studies of plant species from the arid and semiarid regions of Venezuela. I. The role of endogenous inhibitors in the germination of seeds of *Cereus griseus* (Haw) Britton & Rose (Cactaceae). Acta Científica Venezolana 29: 93-97.
- Wood, C. B., Pritchard, H. W. y Amritphale, D. 2000. Desiccation-induced dormancy in papaya (*Carica papaya* L.) seeds is alleviated by heat shock. Seed Science Research 10: 135-145.

- Wu, X. M., Wu, N. F., Qian, X. Z., Li, R. G., Huang, F. H. y Zhu, L. 1998. Phenotypic and genotypic changes in rapeseed after 18 years of storage and regeneration. *Seed Science Research* 8, Supplement No. 1, 55-64.
- Xiang-yun, Y., Pritchard, H. W. y Nolasco, H. 2003. Effects of temperature on seed germination in six species of mexican Cactaceae. En: Smith R. D. Dickie J. B., Linington S. H., Pritchard H. W., Probert R. J. (eds.). *Seed conservation: Turning science into practice*. Royal Botanic Gardens Kew, U. K.
- Young, J. A. y C. G. Young. 1986. *Collecting, processing and germinating seeds of wildland plants*. Timber Press Portland, Oregon. USA.
- Young, J. A. y C. G. Young. 1994. *Seeds of woody plants in North America*. Dioscorides Press Portland, Oregon. USA.