



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

Características Ecológicas y Fisiológicas del Banco de Semillas  
de *Polaskia chende*

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

P R E S E N T A

CESAR ALEJANDRO ORDOÑEZ SALANUEVA

DIRECTOR DE TESIS: DR. CESAR MATEO FLORES ORTIZ

MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE 2008



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM

Al CONACYT por la beca recibida (No. 199293)

Al Proyecto PAPIIT No. IN201405-2, Conservación de Cactaceas Columnares.

Al Proyecto de Conservación del Germoplasma Vegetal de Zonas Áridas de México, apoyado por The Royal Botanic Gardens , KEW y la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

A los miembros del Comité Tutorial:

Dra. Alma Delfina Orozco Segovia

Dra. Patricia Dolores Dávila Aranda

Dr. Cesar Mateo Flores Ortiz

A los miembros del Jurado:

Dr. Ignacio Peñalosa Castro

M. en C. Mariana Rojas Aréchiga

## ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	8
HIPÓTESIS	30
OBJETIVOS	30
ÁREA DE ESTUDIO	32
<i>Polaskia chende</i>	33
MATERIALES Y MÉTODOS	35
RESULTADOS	40
DISCUSIÓN	50
CONCLUSIONES	58
REFERENCIAS	59

## SOIL SEED BANK ECOPHYSIOLOGY OF *Polaskia chende*

### Abstrac

Seed banks enable populations to maintain their genetic variability, withstand periods of adversity and persist over time. Despite its importance in the recruitment of sexual origin, knowledge of seed banks in arid lands is scanty. In particular, there have been no systematic studies monitoring the processes that affect the seed bank of perennial species like cacti, although it is possible that many of its species has characteristics that help to train them. In the present study we determined the existence of a seed bank formed by *Polaskia chende* as well as its density and distribution. On the other hand, we studied the effect of different environmental conditions and time of aging on the viability and germination of these seeds. Additionally, we tested the NIRS technique as an alternative non-destructive to evaluate and predict the viability of the seeds of *P. chende*. Fruits of *P. chende* were collected from Tehuacan –Cuicatlán Valley, Puebla and Oaxaca. The initial crop was divided into three: one for seed bank establishment under natural conditions, the second one was exposed to accelerated aging and the third one was stored in the laboratory. Germination and viability was tested bimonthly in each of these three batches during the study period. At the same time soil samples were taken bimonthly and the emergence and seedling survival in the field were recorded. The seeds of *P. chende* are positive photoblastic and have no deep physiological dormancy. They increase their response or sensitivity to far-red light with aging. These seeds meet six features proposals to form persistent seed banks. Seedling survival increases under canopy conditions. The seeds of *P. chende* are very tolerant to accelerated aging conditions (55% RH and 45 ° C). The method of NIRS is appropriate to estimate their viability. Finally, it is considered that there is enough evidence to establish that *P. chende* form short term persistent seed banks.

## CARACTERÍSTICAS ECOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DEL BANCO DE SEMILLAS DE *Polaskia chende*

### Resumen

Los bancos de semillas permiten a las poblaciones mantener su variabilidad genética, resistir periodos de adversidad y persistir a través del tiempo. A pesar de su importancia en el reclutamiento de individuos de origen sexual, el conocimiento de bancos de semillas en zonas áridas es escaso. En particular, no se han hecho estudios sistemáticos para monitorear los procesos que afectan el banco de semillas de especies perennes como las cactáceas, aunque es posible que muchas de sus especies presenten características que les ayuden a formarlos. En el presente trabajo se determinó la existencia de un banco de semillas formado por *Polaskia chende* así como su densidad y distribución. Por otro lado, se estudió el efecto de diferentes condiciones ambientales y del tiempo de envejecimiento en la germinación y viabilidad de estas semillas. Adicionalmente se probó el uso de la técnica de NIRS como una alternativa no destructiva para evaluar y predecir la viabilidad de las semillas de *P. chende*. Se colectaron frutos de *P. chende* del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, en Puebla y Oaxaca. El lote inicial de semillas se dividió en tres: uno para establecimiento de banco de semillas en condiciones naturales, el segundo para pruebas de envejecimiento acelerado y el tercero para almacenamiento en laboratorio. De cada uno de estos tres lotes se realizaron pruebas de germinación y viabilidad bimestrales durante el periodo de estudio. Al mismo tiempo se realizaron muestreos bimestrales de suelo y se registró la emergencia y sobrevivencia de las plántulas de esta especie *in situ*. Las semillas de *P. chende* resultaron ser fotoblásticas positivas. Poseen latencia fisiológica no profunda. Aumentan su respuesta y/o sensibilidad a la luz rojo lejano conforme avanza su edad. Estas semillas reúnen seis de las características propuestas para formar bancos persistentes. La emergencia de las plántulas de esta especie no es afectada por la condición de dosel, en contraste su sobrevivencia está fuertemente relacionada con la presencia de un dosel. Las semillas de *P. chende* son muy tolerantes a las condiciones de envejecimiento acelerado de 55% HR y 45°C. El método de NIRS resulta adecuado para la estimación de la viabilidad de las semillas de esta especie. Finalmente, se considera que existen suficientes evidencias para determinar que las semillas de *P. chende* forman bancos de semillas persistentes de corto término.

# CARACTERÍSTICAS ECOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DEL BANCO DE SEMILLAS DE *Polaskia chende*

## INTRODUCCION

Las semillas viables disponibles en el suelo que potencialmente germinarán y darán lugar al reclutamiento de nuevas plántulas constituyen el banco de semillas (Baskin y Baskin, 1998). El banco de semillas juega un importante papel en la composición de las diferentes comunidades vegetales y por lo tanto en su conservación (Grubb, 1977; Leck *et al.*, 1989; Wisheu y Keddy, 1991; citados por Guo *et al.*, 1998). La estructura del banco depende de la composición de la vegetación existente y de su reproducción, así como también de la longevidad de las semillas de cada especie bajo condiciones ambientales locales. Cuando hay un disturbio en la comunidad, el banco de semillas puede intervenir en el re-establecimiento de la comunidad original (López-Mariño *et al.*, 2000). Los bancos de semillas permiten a las poblaciones mantener su variabilidad genética, resistir periodos de adversidad y persistir a través del tiempo. Además, son importantes componentes de la dinámica de las poblaciones vegetales afectando la resistencia y resiliencia de los ecosistemas (Bassin y Baskin, 1998; Guo *et al.*, 1998).

A pesar de su importancia en el reclutamiento de individuos de origen sexual, el conocimiento de bancos de semillas en zonas áridas es escaso. Aunque se han realizado algunos estudios referentes a la estructura, dinámica y composición de los bancos de semillas en zonas áridas (Kemp, 1989; García-Fayos *et al.*, 1995; Cabin *et al.*, 1998; Guo *et al.*, 1998; Mayor *et al.*, 1999, 2003; Cabin y Marshall, 2000; Moriuchi *et al.*, 2000; Pugnaire y Lázaro, 2000; Wang *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2007; Ribas-Fernández *et al.*, 2008); no se han hecho trabajos sistemáticos para monitorear los procesos que afectan dichos bancos particularmente en especies perennes. Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes (2000), concluyen que no hay información disponible en la literatura acerca del banco de semillas de cactáceas, aunque suponen que muchas de sus especies presenten algún tipo de latencia por lo que podrían estar formando, por lo menos, un banco temporal, si son capaces de evitar la depredación.

Hasta el momento solamente existen cinco trabajos que abordan específicamente el tema: De Viana (1999); Montiel (1999), Bowers (2000), Montiel y Montaña (2003) y Bowers (2005). No obstante que la información obtenida en estos trabajos ha contribuido al conocimiento de los bancos de semillas en cactáceas, siguen siendo pocos los estudios realizados al respecto. Por lo tanto, es necesario realizar trabajos que amplíen el rango de especies estudiadas en esta familia, para conocer los procesos que determinan la formación y la dinámica de sus bancos de semillas.

Según Thompson (1997, citado por Fenner y Thompson, 2005), los bancos de semillas naturales pueden ser clasificados como: 1) persistentes de largo término (longevidad de las semillas  $\geq 5$  años), 2) persistentes de corto término ( $> 1$  año a  $\leq 4$  años) ó 3) transitorios ( $\leq 1$  año). Bajo estos criterios, en el trabajo realizado por De Viana (1999), se establece que *Trichocereus pasacana* forma un banco de semillas persistente de corto término. Por su parte, Montiel (1999) y Montiel y Montaña (2003), muestran resultados que también sugieren la presencia de un banco de semillas persistente de corto término de *Opuntia rastrera*. Finalmente, Bowers (2000) y (2005) demuestra que *Ferocactus wislizeni* forma bancos de semillas persistentes de largo término. Así mismo, confirma que *Carnegiea gigantea* forma un banco de semillas de tipo transitorio y propone que *Mammillaria grahamii* forma un banco de semillas persistente de largo término.

Para que las semillas puedan persistir en el suelo por algún tiempo determinado, deben tener ciertas características fisiológicas y/o morfológicas y otras de tipo ecológico, que les permitan mantenerse viables bajo condiciones naturales (Bowers, 2000). Estas características incluyen: 1) un tamaño pequeño y compacto (Thompson, 1993), 2) requerimiento de luz para germinar (Pons, 2000), 3) requerimiento de un periodo de post-maduración para germinar (Bewley, 1997) 4) longevidad ecológica larga (Baskin y Baskin, 1998) y 5) presencia de ciclos anuales de latencia y no latencia en respuesta a factores ambientales específicos (Probert, 2000). Aún cuando es claro que algunas semillas de cactáceas parecen tener los atributos necesarios para formar un banco de semillas, la presión de depredadores puede ser tan fuerte después de su dispersión, que impide la formación de un banco de semillas, aún del tipo transitorio (Rojas–Aréchiga y Batis, 2001).



Existen algunos trabajos que abordan directamente el estudio de la formación de bancos de semillas en cactáceas en relación a un periodo de post-maduración antes de su germinación. En estos trabajos se establece que las semillas colocadas en la superficie o en el suelo permanecen en éste por un periodo de tiempo variable para cada especie, antes de germinar. Por ejemplo, Silvius (1995) menciona que las semillas de *Stenocereus griseus*, de una área semi-árida en Venezuela, permanecen en el suelo por cuatro meses y posteriormente comienzan a germinar. Por otro lado, Bowers (2000) propone que las semillas de *Ferocactus wislizeni* pueden persistir en el suelo por lo menos 18 meses y, si no son consumidas por predadores, pueden formar un banco de semillas. Además, Bowers (2005) encuentra plántulas de *Ferocactus wislizeni* y *Mammillaria grahamii* después de 6 años de encontrarse en el suelo, en jaulas protegidas de aves y roedores.

Existen otro tipo de trabajos que describen la germinación en diferentes especies de cactáceas. En estos estudios se encuentra, que las semillas almacenadas en el laboratorio por diferentes periodos presentan mayores porcentajes de germinación conforme aumenta el tiempo de almacenamiento. Por ejemplo, De la Barrera y Nobel (2003), encuentran que las semillas de *Stenocereus queretaroensis* mostraron mayor porcentaje de germinación de los 3 a los 18 meses de almacenamiento. Este mismo fenómeno ha sido reportado por Potter *et al.* (1984) en *Opuntia lindheimeri* y *Opuntia spp.*, Mandujano *et al.* (1997) en *Opuntia rastrera*, Bowers (2000) en *Ferocactus wislizeni* y Rojas-Aréchiga *et al.*, (2001) en *Stenocereus stellatus*. Estos resultados implican la presencia de latencia primaria, por lo que estas especies podrían también formar bancos de semillas en el suelo.

Por otro lado, se han realizado algunos estudios en donde se determina el porcentaje de semillas que permanecen en el suelo después de su dispersión. En este apartado sobresale el trabajo realizado por Montiel y Montaña (2003). Estos autores establecen que en los pastizales el 12% del total de las semillas producidas en un año por *Opuntia rastrera*, son capaces de permanecer en el suelo durante un año después de su dispersión. También encuentran que en las nopaleras la permanencia se reduce a 6%. Además, concluyen que la viabilidad del total de las semillas encontradas en los pastizales fue de 2% y en las nopaleras fue de 1%. Por su parte Bowers (2000), menciona que es difícil saber qué porcentaje de las semillas

producidas en un año por *Ferocactus wislizeni*, es consumido por granívoros. Sin embargo, calcula que alrededor del 2% de estas semillas permanecen en la superficie o enterradas en el suelo cada año. Adicionalmente encuentra que, inclusive bajo condiciones óptimas para la germinación, las semillas de *F. wislizeni* almacenadas en campo o en el laboratorio presentan porcentajes de germinación inferiores al 50%, indicando que una proporción importante de éstas podría formar bancos de semillas naturales. Sin embargo, no realiza pruebas de viabilidad para determinar si las semillas se encuentran vivas o no.

En un estudio biogeográfico de la latencia en semillas, Baskin y Baskin (2003a) reportan que en los desiertos cálidos, el 90% de las especies (de un total de 675 estudiadas) presentan alguna clase de latencia, y que de éstas, el 60% corresponde a la latencia fisiológica. Estos mismos autores proponen que la germinación de las semillas en varias especies tiende a aumentar de los primeros meses después de la dispersión, como resultado de la interrupción de la latencia, manteniéndose al máximo por varios años y después eventualmente disminuye (Baskin y Baskin, 1998).

En todos los casos, los resultados indican que las semillas frescas o jóvenes se encuentran en un estado de latencia innata o primaria, y que su envejecimiento interrumpe este estado promoviéndose su germinación. Por otro lado, el almacenamiento de las semillas por periodos más prolongados, de los que causan la remoción de su latencia primaria, ocasionan una disminución en su porcentaje de germinación, esto se explica por la inducción de la latencia secundaria en estas semillas. Esta compleja relación entre la germinación, la latencia y la viabilidad establece un esquema en donde el tiempo y las condiciones de almacenamiento de las semillas son factores decisivos para entenderla.

En los ecosistemas áridos, los bancos de semillas están caracterizados por una alta variabilidad espacial y temporal (Thompson, 1987 y Rundel y Gibson, 1996; citado por Pugnaire y Lázaro, 2000), debido a que la abundancia de las semillas en cualquier micro hábitat depende de la entrada de semillas durante ambas fases de la dispersión (Fase I: movimiento de las semillas de la planta madre a un primer sitio de dispersión. Fase II: movimientos horizontales y verticales subsecuentes después de

la Fase I.) (Guo *et al.*, 1998). En las zonas áridas el viento, las corrientes de agua, el consumo de semillas por animales y la micro-topografía de la superficie del suelo son los principales factores que afectan la dispersión y distribución de las semillas (Goodall *et al.*, 1972, citado por Guo *et al.*, 1998; Reichman, 1984). Sin embargo, la distribución y la dinámica del banco de semillas después de la dispersión están correlacionados con diferentes factores tales como: la depredación, la germinación, la pérdida local de la viabilidad y el movimiento de las semillas en el suelo. Para que las semillas de muchos cactus puedan germinar y las plántulas sobrevivir, necesitan la sombra de plantas nodriza, las cuales son resistentes al calor y a la desecación (Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991), generando condiciones micro-ambientales más favorables para que ocurran estos eventos. El crecimiento bajo las plantas nodriza puede producir una distribución agregada (Flores-Martínez *et al.*, 1994), la cual representa una interacción vegetal relevante en las comunidades de zonas áridas.

Desde el punto de vista ecológico, es útil identificar los factores en el ambiente que pueden promover la germinación de las semillas *in situ* en cualquier momento. El entendimiento de estos estímulos y de cómo actúan en la población de semillas con diferentes niveles de latencia, es crucial si se quiere predecir la emergencia de plántulas del banco de semillas en el suelo (Murdoch, 1998). Hay dos pre-requisitos fisiológicos básicos para la sobrevivencia de las semillas en el suelo: 1) la germinación debe ser evitada por medio de la latencia y la viabilidad debe ser mantenida y 2) el estado de la latencia debe ser removido y la germinación promovida (Murdoch y Ellis, 2000). Fisiológicamente, la disminución de la latencia en condiciones naturales, es promovida por: un periodo de post-maduración y por estratificación (Finch-Savage y Leubner-Metzger 2006). En varias especies la latencia en el periodo de post-maduración es afectada principalmente por: la temperatura y el contenido de humedad en la semilla (Murdoch y Ellis, 2000). También se sabe que la germinación y la latencia son reguladas por varias hormonas tales como: el etileno, el ácido giberélico (GA) y los brasinoesteroides. Sin embargo, se ha reconocido que el ácido abscísico (ABA) es el principal regulador de la latencia en las semillas.

En síntesis, la existencia de bancos de semillas de cactáceas ha sido poco estudiada, por lo que resulta interesante impulsar trabajos tendientes a explorar el potencial que tienen las diferentes especies de cactáceas para formar dichos bancos y observar su dinámica espacial y temporal (Rojas-Aréchiga y Batis, 2001). Desde una perspectiva ecofisiológica, el conocimiento de las características del banco de semillas en las zonas áridas tales como estructura, distribución y densidad, debe incluir características fisiológicas de las semillas como son: tipo y periodicidad de la latencia, longevidad en condiciones naturales, velocidad de la germinación y su relación con el porcentaje de germinación. La integración de estas características permitirá una comprensión más profunda de los procesos involucrados en la formación de bancos de semillas en zonas áridas (Rojas-Aréchiga y Vázquez-Yanes, 2000).

## MARCO TEÓRICO

### Banco de semillas.

Las semillas son dispersadas por la planta madre y tarde o temprano se encuentran en la superficie del suelo. La germinación de estas semillas puede ocurrir inmediatamente o puede retrasarse por un periodo indefinido. Durante este tiempo, las semillas que se encuentran en o sobre el suelo forman un banco de semillas (Fenner y Thompson, 2005). La clasificación de bancos de semillas más recientemente propuesta está basada en la longevidad de estos propágulos en el suelo. Así, las semillas de especies transitorias permanecen en el suelo menos de un año. Las semillas de especies persistentes de periodo corto permanecen en el suelo por lo menos un año pero no más de cinco años. Por último, las semillas de especies persistentes de periodo largo permanecen en el suelo por lo menos cinco años (Thompson *et. al.*, 1997; citado por Fenner y Thompson, 2005).

El estudio de los bancos de semillas naturales puede proveer evidencias directas de la longevidad de las semillas en el suelo, ya que frecuentemente hay especies que no están presentes en la comunidad, pero se encuentran todavía como semillas en el suelo (Fenner y Thompson, 2005). La longevidad de las semillas en el campo ha sido calculada directamente de plantaciones de las cuales se conoce su edad, de semillas enterradas en construcciones antiguas y de experimentos de enterramiento, en los cuales las semillas son deliberadamente enterradas y exhumadas en diferentes periodos de tiempo (Op cit).

El tiempo que las semillas de una especie permanecen latentes en el suelo antes de germinar, morir o ser atacadas por parásitos o depredadores, está determinado por factores fisiológicos innatos a la semilla y por las condiciones ambientales del sitio en que se encuentran (Vázquez-Yanes, *et al.*, 1997). Las semillas han desarrollado una amplia diversidad de mecanismos que les permiten detectar todas estas variables. En los desiertos, por ejemplo, las semillas de algunas especies son capaces de detectar la cantidad de lluvia necesaria para germinar, únicamente después de que ciertos inhibidores de la germinación han sido lavados de la cubierta seminal por la lluvia (Went, 1949; citado por Thompson, 2000).

La densidad de las semillas en el suelo varía ampliamente. Las densidades más bajas se encuentran en el bosque tropical, bosque templado, la tundra y la vegetación alpina. En contraste, las densidades más altas se encuentran en habitats perturbados tales como campos de cultivo, tierras malas y algunos humedales (Leck *et al.*, 1989). Debido a que la producción de semillas pequeñas es mayor que la de semillas grandes, y a que es más probable que las pequeñas persistan en el suelo, la densidad de cada especie está fuertemente relacionada al tamaño de la semillas (Fenner y Thompson, 2005).

Por otro lado, tratando de conocer la longevidad ecológica de las semillas en climas templados se ha encontrado que su persistencia en el suelo está estrechamente relacionada con el tamaño de las mismas (Thompson y Grime, 1979; Leck, 1989). En general, las semillas pequeñas que poseen cubiertas seminales lisas tienen más probabilidades de formar bancos de semillas persistentes (Baskin y Baskin, 1998).

El paso crucial en la formación de un banco de semillas persistente es el enterramiento. Mientras que la semilla se encuentre en la superficie del suelo, es muy probable que su destino sea la germinación o la depredación. Al parecer, es más fácil que las semillas pequeñas consigan enterrarse, y por lo tanto es más probable que posean requerimientos de luz para germinar (Milberg *et al.*, 2000) y a su vez es menos factible que éstas sean consumidas por depredadores (Hulme, 1998). Esta coincidencia entre tamaño, enterramiento y depredación conduce a una relación predecible y casi universal, a partir de la cual se supone que las semillas de tamaño pequeño permanecen más tiempo en el suelo (Lek, 1989; Tsuyuzaki, 1991; Thompson *et al.*, 1993; Funes 1999; Kyereh *et al.*, 1999; Dalling y Hubbell, 2002; citados por Fenner y Thompson, 2005).

Sin embargo, se ha observado que en climas áridos esta relación no se presenta ya que en estos habitats las semillas de mayor tamaño que permanecen en el suelo por periodos largos, generalmente presentan latencia física; este comportamiento se ha observado en miembros de las familias Fabaceae, Mimosaceae y Caesalpinaceae (Leishman y Westoby, 1998). Este tipo de semillas poseen testas o pericarpos que son impermeables al agua y por lo cual, el embrión se encuentra seco lo que contribuye a que se mantenga el estado de latencia (Fenner y Thompson, 2005). Así

surge la pregunta ¿De qué manera es que las semillas de climas áridos rompen esta regla, en la cual, se ha encontrado una buena correlación entre el tamaño de la semilla, su enterramiento y su depredación?. La respuesta no se sabe pero evidentemente es una de las respuestas más urgentes en la ecología de los bancos de semillas (Thompson, 2000)

Las semillas en el suelo se pueden encontrar en varios estados fisiológicos, muchos de ellos muy alejados del estado de latencia. Un análisis reciente de la relación entre la latencia y la permanencia en el suelo demuestra que, aunque las semillas no latentes muestran una tendencia a permanecer por menos tiempo en el suelo, la latencia no es una condición necesaria ni suficiente para la formación de un banco de semillas persistente (Fenner y Thompson, 2005).

Las características fisiológicas de la latencia de las semillas son muy importantes para determinar el tipo de banco que forma cada especie. Algunas semillas presentan latencia secundaria o ciclos de latencia/no latencia, las cuales varían de acuerdo al ciclo de vida y al hábitat de cada especie. Las características morfológicas de la semilla pueden tener un efecto en su longevidad, en su latencia, así como en su posición en el banco. Sin embargo, es oportuno preguntarse ¿Hay una relación entre la persistencia de las semillas en el suelo y su latencia? La respuesta sencilla a esta pregunta es no (Thompson, 2000). De hecho, existen evidencias que así lo indican, por ejemplo, las semillas de muchas especies persisten en el suelo durante años ó inclusive décadas en un estado no latente (Kivilan y Bandursky, 1981, citados por Baskin y Baskin, 1998).

Por otro lado, las semillas de algunas especies que permanecen en el suelo por periodos de tiempo corto, pueden presentar una latencia profunda durante su estancia en el suelo. De hecho, la mayoría de los tipos de latencia, incluyendo la latencia fisiológica, no tienen una participación importante en la formación de los bancos de semillas. El único tipo de latencia que contribuye, en gran medida, a la persistencia de las semillas es la latencia física, debido a la presencia de cubiertas seminales duras (Thompson, 2000).

Por su parte, Baskin y Baskin (1998), establecen que la principal razón por la cual las semillas que se encuentran en el suelo y que no son latentes no germinen, es debido a que la mayoría tienen requerimientos de luz para germinar. En este sentido, los mecanismos de percepción de la luz que poseen las semillas, les permiten detectar las condiciones lumínicas para germinar o bien para incorporarse a un banco de semillas (Rojas- Aréchiga y Batis, 2001).

El requerimiento de luz para germinar asegura que las semillas muy enterradas no germinen y que se constituya un banco de semillas persistente (Pons, 2000; Milberg et.al. 2000). El requerimiento de luz para germinar que poseen algunas cactáceas pudiera verse como un desventaja si se toma en cuenta que las semillas sólo podrán germinar, cuando se encuentren sobre la superficie del suelo, justo donde están más expuestas a la depredación y a la deshidratación (Rojas- Aréchiga y Batis, 2001). Sin embargo, Rojas- Aréchiga y colaboradores (1997) y Benítez-Rodríguez y colaboradores (2004), demostraron que en varias especies de cactáceas con fotoblastismo positivo, las semillas también pueden germinar bajo el rojo lejano. Esto significa que las semillas que se encuentren enterradas a poca profundidad pueden ser capaces de germinar a pocos milímetros de la superficie del suelo, donde se encuentran protegidas de las altas temperaturas y depredadores y donde la tasa de evaporación es menor, manteniendo la humedad por periodos más prolongados (Rojas- Aréchiga y Batis, 2001).

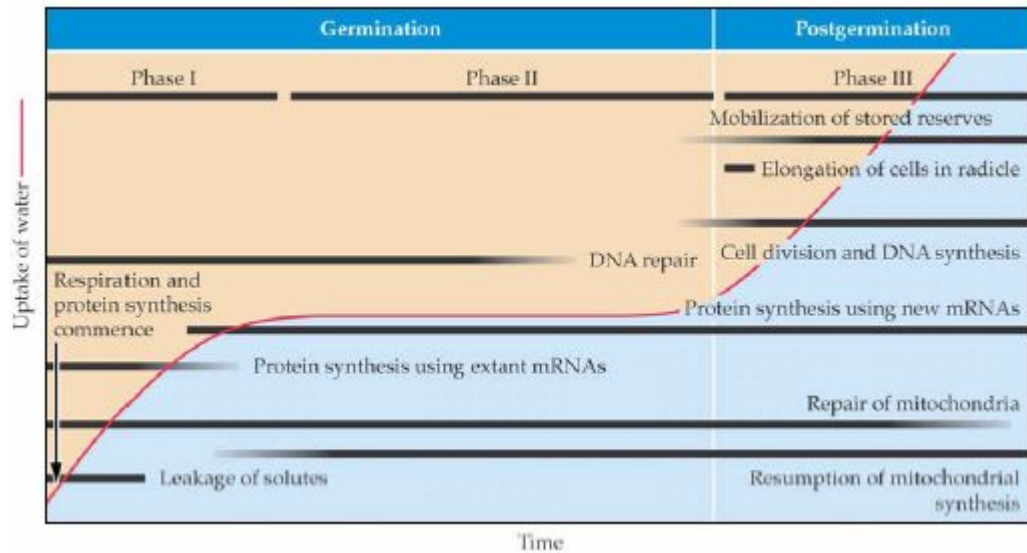
## **Germinación**

Por definición, la germinación incorpora aquellos eventos que comienzan con la captación de agua por una semilla seca en estado quiescente y termina con la elongación de los ejes embrionarios (Bewley y Black, 1994). La muestra visible de que la germinación se ha completado, es usualmente la penetración de las estructuras que rodean al embrión por la radícula. Los eventos subsecuentes, incluyendo la movilización de las reservas de almacenamiento, están asociados con el crecimiento de la plántula (Bewley, 1997).

La captación de agua por una semilla seca y madura es trifásica (Fig. I). Incluye una fase inicial de rápida captación (fase I), seguida por otra de tipo estacionario (fase II).



Finalmente al presentarse un aumento posterior en el contenido de agua ocurre la última fase (fase III), cuando los ejes embrionarios se alargan. Las semillas latentes no pueden completar la germinación, por lo que no entran en la fase III (Bewley, 1997).



**Figura I. Patrón trifásico de la captación de agua durante la imbibición de las semillas y eventos metabólicos asociados (Tomado de Bewley, 1997).**

La fase inicial de la captación de agua por la semilla es un proceso físico dirigido por el gradiente de potencial hídrico ( $\psi$ ) entre la semilla y su ambiente (Bradford, 2004). La entrada de agua en las células de las semillas secas durante la fase I produce perturbación estructural momentánea, particularmente de las membranas, lo cual conduce a una rápida e inmediata pérdida de solutos y de metabolitos de bajo peso molecular en la solución circundante. Después de poco tiempo de rehidratación las membranas regresan a su configuración estable, en la cual la pérdida de solutos es reducida (Bewley, 1997).

Las estructuras y enzimas necesarias para la reactivación inicial del metabolismo están presentes en las semillas secas, habiendo sobrevivido por lo menos parcialmente a la fase de desecación que culmina la maduración de la semilla. La reintroducción de agua durante la imbibición es suficiente para reactivar el metabolismo hasta que se alcanza un estado metabólico completo (Bewley, 1997).

Uno de los principales cambios después de la imbibición es la restauración de la actividad respiratoria, la cual puede ser detectada en minutos (Bewley, 1997). Durante la respiración se presenta un patrón de comportamiento similar a la imbibición (Bradford, 2004). En la mayoría de los casos, las mitocondrias son capaces de realizar fosforilación oxidativa inmediatamente después de la imbibición, por lo tanto, la respiración aerobia es la principal fuente de adenosina tri-fosfato (ATP) antes de la emergencia de la radícula. En algunos casos, la penetración del oxígeno al embrión es restringida por la cubierta de la semilla y la generación inicial de ATP se produce por la ruta de la glicólisis o respiración anaerobia. En estos casos la respiración mitocondrial inicia durante la emergencia de la radícula (Bradford, 2004).

El ATP y la nicotiamida-adenina dinucleotido fosfato (NADPH) generados por la vía de la respiración, son utilizados para comenzar con la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. Las primeras actividades de síntesis en las semillas, están asociadas con la reparación de los daños que pudieron haberse acumulado durante el almacenamiento, como por ejemplo la reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN). La síntesis de proteínas se inicia con los ácidos ribonucleicos mensajeros (mRNAs) almacenados durante el desarrollo pero rápidamente se utilizan nuevos mRNAs recién sintetizados. Muchas de las enzimas necesarias para la movilización de las reservas son sintetizadas de novo y por lo tanto son algunos de los primeros productos de la síntesis de proteínas (Bradford, 2004).

Durante la fase II de la imbibición, la semilla viable activa sus sistemas de producción de energía, repara cualquier daño que haya sufrido durante el almacenamiento o la dispersión y se prepara para iniciar el crecimiento del embrión. La duración de esta fase depende de la temperatura y del  $\psi$  de la semilla, mientras menor sea la temperatura y el  $\psi$  más larga será la fase II. Durante esta fase las semillas son tolerantes a la deshidratación (Bradford, 2004).

Durante el crecimiento del embrión se pueden presentar procesos de división y expansión celular dependiendo de la especie. Adicionalmente, en muchas semillas los tejidos que cubren al embrión (endospermo y/o testa) pueden restringir mecánicamente la emergencia de la radícula. En estos casos el ablandamiento de

estas estructuras controla el momento de la emergencia de la radícula. La emergencia de la radícula ocurre cuando el potencial de crecimiento del embrión es suficiente para superar la restricción ejercida por la cubierta de la semilla. Al parecer, mientras que el ácido giberelico (GA) estimula la germinación por inducir el ablandamiento del endospermo, el ácido abscisico (ABA) la inhibe a través de diversos procesos (Bradford, 2004).

La fase III de la imbibición se caracteriza por el incremento en el contenido de agua de la semilla, debido a la absorción asociada con el inicio del crecimiento del embrión. Una vez que el crecimiento de la radícula ha comenzado, las semillas rápidamente pierden su tolerancia a la deshidratación (Bradford, 2004). Después de una etapa inicial de aumento en el consumo de oxígeno, esta tasa de consumo disminuye hasta que la radícula penetra las estructuras que la rodean. En este momento ocurre otro incremento en la actividad respiratoria (Bewley, 1997).

Con pocas excepciones, la extensión de la radícula a través de las estructuras que rodean al embrión, es el evento que culmina la germinación y marca el comienzo del crecimiento de la plántula. Esta extensión puede o no estar acompañada por división celular. Después de la imbibición ocurren dos fases de síntesis de ADN en las células de la radícula. La primera se presenta inmediatamente después de la imbibición y probablemente involucra la reparación del ADN dañado durante la maduración y rehidratación de la semilla, así como también la síntesis de ADN mitocondrial. La segunda fase de síntesis de ADN está asociada con la división celular después de la germinación (Zlatnova *et al.*, 1987; Osborne y Boubriak, 1994; citados por Bewley, 1997)

La movilización de reservas ocurre durante la fase III y esencialmente es el proceso inverso a la depositación durante el desarrollo de la semilla. Los substratos iniciales para la germinación son los azúcares solubles (sacarosa y oligosacáridos), pero las reservas de almacenamiento como lípidos y almidón también son rápidamente procesados (Bradford, 2004).

La fuente principal de carbohidratos que requieren los ejes embrionarios son la sacarosa, rafinosa y otros oligosacáridos. Generalmente, la movilización significativa

de reservas del endospermo o de los cotiledones comienza únicamente después de la protusión de la radícula. En los cereales existe una capa externa de células especializadas denominada capa de aleurona, la cual rodea al endospermo que es rico en almidón. Después de la imbibición y bajo el control de señales (particularmente GA) del embrión y el escutelo, las células de la capa de aleurona sintetizan un grupo de enzimas hidrolíticas que son secretadas dentro del endospermo. La enzima  $\alpha$ -amilasa es la más conocida, esta enzima corta los enlaces internos  $\alpha$ -1,4 de la cadena de glicanos, produciendo cadenas de amilosa más cortas, que posteriormente son hidrolizadas a maltosa (un disacárido) por la enzima  $\beta$ -amilasa.

A su vez, la maltosa es convertida en glucosa por la enzima  $\alpha$ -glucosidasa y finalmente la glucosa es convertida en sacarosa por dos enzimas, la UDP-Glc pirofosforilasa y la sacarosa-6-P sintetasa. La enzima almidón fosforilasa también puede producir Glc-1-P directamente de la amilosa o la amilopectina. Procesos similares están involucrados en la movilización del almidón de las dicotiledóneas (Bradford, 2004).

En la movilización de reservas lipídicas interviene un organelo especializado llamado glioxisoma. A partir de los triacilglicéridos las enzimas lipasas producen ácidos grasos, los cuales son transportados a los glioxisomas. Dentro de éstos y a través del ciclo de la  $\beta$ -oxidación se produce acetil CoA, el cual es convertido en malato y succinato en el ciclo del glioxilato. En este ciclo intervienen dos enzimas: la malato sintetasa y la isocitrato liasa, las cuales permiten la síntesis de succinato, a partir de dos moléculas de acetil CoA, por medio del ciclo de los ácidos tricarbónicos. Posteriormente el succinato es convertido en oxaloacetato en la gluconeogénesis y eventualmente se produce la síntesis de glucosa y sacarosa (Bradford, 2004).

Las enzimas denominadas proteinasas hidrolizan las proteínas almacenadas convirtiéndolas en péptidos pequeños o aminoácidos (Müntz *et al.*, 2001; citado por Bradford, 2004). Se conocen tres tipos de proteinasas: 1) las endopeptidasas, las cuales cortan los enlaces peptídicos internos de la proteína para generar polipéptidos más pequeños; 2) las aminopeptidasas, las cuales cortan liberando un

grupo carboxilo del enlace peptídico más próximo al extremo amino de la cadena polipeptídica; y 3) las carboxipeptidasas, las cuales cortan liberando un grupo amino de la unión peptídica más corta próxima al extremo carboxilo de la cadena polipeptídica. Los aminoácidos liberados son utilizados en la síntesis de proteínas o son transportados directamente a la plántula (Bradford, 2004).

Durante la germinación una enzima llamada fitasa hidroliza la fitina, liberando grupos fosfato, cationes y grupos mio-inositol. El fósforo es necesario en el metabolismo y en la síntesis de ácidos nucleicos y fosfolípidos. En los cereales, la mayoría de la fitina se encuentra en la capa aleurona. La enzima fitasa también se localiza en la capa aleurona durante el desarrollo, pero aparentemente no está activa durante el almacenamiento de la fitina sino hasta después de la imbibición. En las dicotiledóneas, la actividad de la fitasa aumenta en el tejido de almacenamiento durante la germinación (Bradford, 2004).

Fisiológicamente, se sabe que la germinación es regulada por varias hormonas tales como: el ácido abscísico (ABA), el etileno, el ácido giberélico y los brasinoesteroides. Refiriéndose al ABA se sabe que, su presencia en la semilla ó en el medio que la rodea inhibe su germinación. La forma en que esto ocurre no se conoce todavía. Se ha sugerido que el ácido abscísico previene el alargamiento de la pared o aumenta el umbral para el alargamiento de la pared celular en la radícula (Srivastava, 2002). También se ha observado que la germinación es regulada por el balance entre las cantidades relativas de ácido giberélico y ácido abscísico en la semilla, así como por la sensibilidad de los tejidos de la semilla a estas hormonas.

Los primeros estudios acerca de la germinación en cactáceas fueron realizados por Alcorn y Kurtz (1959) y Mc Donough (1964). Desde entonces se han realizado una gran cantidad de estudios acerca del efecto de la luz en la germinación (Nobel, 1988; Nolasco, *et al.*, 1996; Rojas-Aréchiga; *et al.*, 1997; Olvera-Carrillo *et al.*, 2003; Benítez-Rodríguez *et al.*, 2004; Flores *et al.*, 2006), la relación de la luz con otros factores como la temperatura (Rojas-Aréchiga; *et al.*, 1997; Olvera-Carrillo *et al.*, 2003; Benítez-Rodríguez *et al.*, 2004), la adición de ácido giberélico para sustituir los requerimientos de luz (Alcorn y Kurtz, 1959; Mc Donough, 1964; Olvera-Carrillo *et al.*, 2003), el efecto de la temperatura en la germinación (constantes y alternantes)

(Potter *et al.*, 1984; Nobel, 1988; Rojas-Aréchiga; *et al.*, 1998; Godínez-Álvarez. y Valiente-Baunet, 1998; De la Barrera y Nobel, 2003; Olvera-Carrillo *et al.*, 2003; Yang, *et al.*, 2003; Benítez-Rodríguez *et al.*, 2004), el efecto de la imbibición en la germinación (Godínez-Álvarez. y Valiente-Baunet, 1998), el efecto de la escarificación química y mecánica (Potter *et al.*, 1984; Nolasco *et al.*, 1996; Godínez-Álvarez. y Valiente-Baunet, 1998; Olvera-Carrillo *et al.*, 2003), la presencia de inhibidores en la testa de la semilla (Potter *et al.*, 1984) , el efecto de la edad de la semilla en la germinación (Potter *et al.*, 1984; Mandujano *et al.*, 1997; De la Barrera y Nobel, 2003; Olvera-Carrillo *et al.*, 2003), el efecto de la ingestión por animales (Godínez-Álvarez. y Valiente-Baunet, 1998), el efecto de la salinidad en la germinación (Romero- Schmidt *et al.*, 1992; Nolasco *et al.*, 1996), el efecto de la estratificación (Olvera-Carrillo *et al.*, 2003), el efecto de la hidratación y desecación de las semillas (Dubrovski, 1996 y 1998) y el efecto del envejecimiento en condiciones naturales bajo diferentes periodos de tiempo (Bowers, 2000 y 2005). De manera que se cuenta con un cúmulo de información importante en este tema.

## **Latencia**

La latencia puede ser considerada simplemente como un bloqueo para completar la germinación de una semilla intacta y viable, bajo condiciones favorables (Hilhorst, 1995; Bewley 1997). La latencia ha evolucionado de diferente forma en las especies por medio de adaptaciones al ambiente prevaleciente (Hilhorst, 1995; Bewley 1997). Así, existen diferentes tipos de mecanismos de latencia, en concordancia con la diversidad de habitats y climas en los cuales operan (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Actualmente se ha comenzado a emplear una definición propuesta por Baskin y Baskin (2004), la cual establece que una semilla latente no tiene la capacidad de germinar en un periodo específico, bajo ninguna combinación de factores ambientales y físicos normales que de otra manera, son favorables para su germinación.

La latencia no debe ser vista únicamente como la ausencia de la germinación, sino como una característica de la semilla que le permite determinar las condiciones necesarias para la germinación (Fenner y Thompson, 2005). Por lo tanto cualquier característica que amplía los requerimientos ambientales para la germinación, debe

ser considerada como un factor de interrupción de la latencia (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

Las semillas de la mayoría de los grupos taxonómicos en los principales biomas del mundo, excepto el bosque tropical y el bosque tropical caducifolio, son latentes en su madurez. De acuerdo con Baskin y Baskin (2003a), la latencia de las semillas puede ser clasificada dentro de las siguientes clases: latencia física, morfológica, fisiológica, morfofisiológica y combinada. Estas clases de latencia pueden ser divididas en niveles y los niveles en tipos, dependiendo de las características específicas de cada especie. En esta clasificación no se reconocen la latencia mecánica y química como tipos de latencia *per se*. La latencia mecánica es vista como parte de la latencia fisiológica (Bewley y Black, 1994; Baskin y Baskin, 1998) y respecto a la latencia química se concluye que las evidencias en la naturaleza son débiles (Mayer y Pojakoff-Mayber, 1989; Bewley y Black, 1994 y Baskin y Baskin, 1998; citados por Baskin y Baskin, 2003a).

Latencia física (PY): Esta clase de latencia ocupa el segundo lugar en proporción (20.8%), de un total de 3653 especies que presentan semillas latentes (Baskin y Baskin 2003b). Es causada por una capa de células en empalizada, o semejantes a éstas, que son impermeables al agua en la cubierta de la semilla o el fruto. Esta latencia se rompe bajo condiciones naturales o artificiales e implica la formación de una apertura (water-gap), en una estructura anatómica especializada de la semilla o fruto, a través de la cual el agua entra al embrión (Baskin y Baskin, 2003a). Los métodos para romper esta clase de latencia incluyen: la escarificación mecánica y con ácido sulfúrico concentrado, la aplicación de altas temperaturas por incubación o inmersión en agua hirviendo, temperaturas alternantes, la utilización de etanol, el exponer a las semillas al fuego, entre otros (Baskin y Baskin, 2003a). En la naturaleza la ruptura de esta latencia involucra la disrupción física o la remoción de la(s) estructura(s) que impiden el paso de agua por cambios en los factores ambientales físicos (por ejemplo, fuego ó fluctuaciones diarias en la temperatura de la superficie del suelo). Probablemente estos cambios ambientales se vinculan posteriormente a ciertas condiciones favorables para la germinación, establecimiento y sobrevivencia. Por consiguiente, esta apertura en la cubierta de la semilla o el fruto sirve como un detector de señales ambientales con gran significado adaptativo

(Baskin y Baskin, 2000 citado por Baskin y Baskin, 2003b). Se han encontrado semillas con latencia física por lo menos en un miembro de las siguientes familias: Anacardiaceae, Bombacaceae, Cannaceae, Cistaceae, Convolvulaceae, Curcubitaceae, Fabaceae, Caesalpinoideae, Mimosoideae, Papilionoideae, Geraniaceae, Malvaceae, Musaceae, Nelumbonaceae, Rhamnaceae, Sapindaceae, Sterculiaceae y Tiliaceae (Baskin y Baskin, 1998).

Latencia fisiológica (PD): Es la que presenta mayor porcentaje de incidencia en las especies estudiadas (64.8%) (Baskin y Baskin, 2003b). Es causada por un bajo potencial de crecimiento del embrión que previene la emergencia de la radícula a través de las capas de la cubierta. Cuando la PD se rompe el potencial de crecimiento del embrión aumenta y la acción de las estructuras que previenen la germinación disminuye (Baskin y Baskin, 2003b). De acuerdo con Nikolaeva (1969 y 1977, citados por Baskin y Baskin, 1998) hay tres niveles de PD: profunda, intermedia y no-profunda. Además, existen cinco tipos de PD no-profunda que han sido identificados, basados en el patrón de cambios de los requerimientos de temperatura para la germinación durante la ruptura de la latencia (Baskin y Baskin, 1998). Se han encontrado semillas con latencia fisiológica por lo menos en un miembro de las siguientes familias: Lauraceae, Fabaceae, Rhamnaceae, Fagaceae, Betulaceae, Juglandaceae, Lythraceae, Bignoniaceae, Lamiaceae, Brassicaceae, Anacardiaceae, Aizoaceae, Crassulaceae, Ericaceae, Gentianaceae, Campanulaceae, Euphorbiaceae, Polemoniaceae, Apocynaceae, Rubiaceae, Oleaceae, Asteraceae, Cornaceae, Rutaceae, Rosaceae, Liliaceae, Primulaceae, Solanaceae, Cyperaceae, Commelinaceae, Poaceae, Juncaceae, Eriocaulaceae, Cactaceae, Polygonaceae, Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae, y Nyctaginaceae (Baskin y Baskin, 1998).

Latencia morfológica (MD): Esta clase de latencia se presenta en el 2.1% de las especies estudiadas (Baskin y Baskin, 2003b). En esta clase, el embrión es subdesarrollado e indiferenciado o subdesarrollado y diferenciado. En caso de que el embrión esté diferenciado, éste sólo necesita tiempo para alcanzar su tamaño normal antes de germinar. El periodo de latencia es el tiempo requerido para completar el crecimiento del embrión; se considera un periodo de 30 días para que el embrión madure. Así, las semillas que germinan en un periodo de tiempo mayor



se les considera que presentan latencia morfofisiológica. Se han encontrado semillas con latencia morfológica por lo menos en un miembro de las siguientes familias: Amaryllidaceae, Amborellaceae, Annonaceae, Apiaceae,, Aquifoliaceae, Araceae, Araliaceae, Arecaceae, Aristolochiaceae, Berberidaceae, Buxaceae, Canetlaceae, Cannaceae, Caprifoliaceae, Chloranthaceae, Convallariaceae, Cycadaceae, Daphniphyllaceae, Degeneriaceae, Dilleniaceae, Escalloniaceae, Eupomatiaceae, Fumariaceae, Garrayaceae, Ginkgoaceae, Grossulariaceae, Haemodoraceae, Hydrophyllaceae, Illiciaceae, Iridaceae, Lactoridaceae, Lardizabalaceae, Loranthaceae, Liliaceae, Magnoliaceae, Melanthaceae, Menyanthaceae, Monimiaceae, Myristicaceae, Nandinaceae, Oleaceae, Paeoniaceae, Papaveraceae, Piperaceae, Pittosporaceae, Podocarpaceae, Ranunculaceae, Santalaceae, Sarraceniaceae, Schisandraceae, Smilacaceae, Stylidiaceae, Taxaceae, Trochodendraceae y Winteraceae (Baskin y Baskin, 1998).

Latencia morfofisiológica (MPD): Se presenta en el 11.6 % de las especies latentes que se han reportado (Baskin y Baskin, 2003b). Las semillas con esta clase de latencia tienen un embrión subdesarrollado con un componente de latencia fisiológica. Hay ocho niveles de esta latencia (Baskin y Baskin, 1998). Se han encontrado semillas con latencia morfofisiológica por lo menos en un miembro de las siguientes familias: Apiaceae, Aquifoliaceae, Araceae, Arahaceae, Aristolochiaceae, Berberidaceae, Fumariaceae, Illiciaceae, Lardizabalanceae, Liliaceae, Magnoliaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae y Schisandraceae (Baskin y Baskin, 1998).

Latencia combinada (PY+PD): Esta clase de latencia es la que se presenta en menor proporción 0.7% (Baskin y Baskin, 2003b), y se caracteriza por que la cubierta de la semilla o el fruto es impermeable al agua y el embrión es fisiológicamente latente. El componente fisiológico parece ser no-profundo en todos los casos estudiados (Baskin y Baskin, 2003a). Se han encontrado semillas con latencia combinada por lo menos en un miembro de las siguientes familias: Rhamnaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Sapindaceae, Malvaceae, Anacardiaceae, Curcubitaceae y Tiliaceae (Baskin y Baskin, 1998).

Se ha aceptado ampliamente que la temperatura regula tanto la latencia como la germinación y que la luz regula la germinación. Un amplio rango de factores puede alterar la latencia en el caso de la latencia fisiológica. Sin embargo, hay una distinción importante en la respuesta de las semillas a estos factores. Hay factores que están relacionados a cambios estacionales lentos. Estos factores (temperatura, cantidad y calidad de la luz) son detectados en el tiempo para alterar el grado de la latencia y la sensibilidad a otros factores como por ejemplo la luz. Existen otros factores que indican de manera inmediata si las condiciones son favorables para la germinación (luz), la cual puede considerarse que termina con la latencia y por lo tanto induce la germinación. Cada uno de estos factores altera el grado de latencia para conducir a la germinación, sin embargo, este proceso usualmente necesita realizarse en un determinado orden para que funcione. Por ejemplo, en el proceso descrito, la luz debe presentarse al último para que sea efectiva (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

Una distinción generalmente aceptada en estudios de latencia establece dos tipos: primaria y secundaria. Se dice que las semillas latentes permeables al agua, maduras y recién colectadas tienen latencia primaria, la cual ha sido inducida por el ABA durante la maduración de la semilla en la planta madre (Hilhorst, 1995; Kucera et.al., 2005; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). Subsecuentemente, la interrupción de la latencia en el campo, después de la dispersión, puede involucrar cualquiera de los factores comúnmente usados en el laboratorio como son: un periodo de postmaduración en un estado relativamente seco o la interrupción de la latencia por tratamientos en estado de imbibición. Estos tratamientos de imbibición incluyen estratificación (cálida o fría), luz, giberelinas y otras hormonas (Kucera *et al.*, 2005), substancias producidas por algún tipo de combustión tales como butenólido (Kroch *et al.*, 2002; Flematti et.al., 2004; citado por Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006) y compuestos tales como óxido nítrico (Baillio 2004; Bethke et.al., 2006; citados por Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

En contraste a la latencia primaria, la secundaria puede ser inducida en semillas con latencia fisiológica no profunda después de su dispersión, y frecuentemente se asocia con ciclos anuales de latencia en el banco de semillas (Baskin y Baskin, 2004; Fenner y Thompson, 2005). La semilla puede entrar y salir de la latencia

secundaria repetidamente por cambios estacionales hasta que las condiciones requeridas para la germinación se presenten, por ejemplo, la perturbación del suelo. Estos cambios en el nivel de la latencia son graduales. Se dice que las semillas en estados intermedios tienen latencia relativa o condicional, porque el rango de los factores ambientales que son permisivos para la germinación es limitado. Este es un proceso fluido y la inducción a un estado más profundo puede ocurrir en cualquier momento durante la pérdida de la latencia, en respuesta a cambios en el ambiente (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006).

### **Viabilidad y longevidad ecológica**

La capacidad de las semillas para permanecer vivas y viables, sin germinar por diferentes periodos en el suelo de la comunidad a la que pertenecen, se conoce como longevidad ecológica. Por otra parte, la capacidad para permanecer viables en una condición óptima de almacenamiento artificial por algún tiempo se conoce como longevidad potencial. La longevidad ecológica varía mucho entre las diferentes especies y tiene estrecha relación con las características del hábitat que ocupan (Vázquez–Yanes, *et al.*, 1997). El estudio de la longevidad ecológica es muy importante, ya que un banco de semillas sólo es funcional, si las semillas que lo conforman mantienen su viabilidad (Baker, 1989). La mayoría de los estudios sobre longevidad se basan en experimentos realizados bajo condiciones controladas de laboratorios. Se ha reportado que varias semillas de arbustos de desierto pueden mantener su viabilidad por lo menos 9 años, cuando son almacenadas a baja humedad. Para las semillas de cactáceas, se ha encontrado que la pérdida de viabilidad bajo condiciones de laboratorio (longevidad potencial), puede ser muy variable entre las diferentes especies, mientras que para algunas especies la viabilidad decrece considerablemente durante un año. En otros casos la viabilidad puede mantenerse por más de 5 años (Rojas- Aréchiga y Vázquez- Yanes, 2000).

En toda comunidad natural es posible encontrar especies con semillas de longevidad potencial larga y corta. La longevidad ecológica (y como consecuencia la potencial) está relacionada con varias características de las plantas que las producen como son: la historia de vida de la planta, la distancia temporal entre el periodo de fructificación y diseminación, la estacionalidad climática, el tiempo que transcurre

entre la germinación y el establecimiento y el grado de discontinuidad en el hábitat. Es decir, que las plantas requieren para establecerse de condiciones ambientales especiales que sólo aparecen esporádicamente en la comunidad en la que viven (Vázquez–Yanes *et al.*, 1997). La sobrevivencia de las semillas en el suelo no depende meramente en evitar la germinación por quiescencia o latencia, sino que la viabilidad pueda ser preservada. La pérdida en la viabilidad de la semilla es la etapa final en el deterioro de la misma. Antes de la muerte, el envejecimiento resulta en un deterioro de muchos aspectos del funcionamiento potencial de la semilla, tal como la velocidad de germinación (Ellis y Roberts, 1981).

### **Influencia del tiempo post-maduración, temperatura y contenido de humedad de la semilla en la latencia.**

El periodo de postmaduración, usualmente dura varios meses de almacenamiento en seco a temperatura ambiente de las semillas maduras recién cosechadas, es un método común usado para la interrupción de la latencia (Bewley, 1997; Probert, 2000; Kusera *et al.*, 2005). El periodo de post-maduración es un requerimiento importante que se asocia con la formación y persistencia del banco de semillas. Este periodo puede ser caracterizado, según Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006, por:

- (1) La ampliación del rango de temperaturas admisibles para la germinación.
- (2) La disminución en la concentración y sensibilidad al ABA, y el aumento en la sensibilidad al GA o la pérdida de requerimientos de GA.
- (3) La pérdida de requerimientos de luz para germinar en semillas que no germinan en la oscuridad.
- (4) El aumento en la sensibilidad de las semillas a la luz en semillas que no germinan incluso en presencia de luz.
- (5) La pérdida de los requerimientos de nitratos.
- (6) El aumento en la velocidad de la germinación.

Los parámetros que determinan la postmaduración de las semillas son la humedad, el contenido de lípidos, las estructuras que cubren a la semilla y la temperatura (Mamz *et al.*, 2005; citados por Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). En las semillas que están muy secas no se presenta el proceso de postmaduración, ya que

éste requiere un contenido de humedad arriba de un umbral. Este umbral en el contenido de humedad es específico para cada especie. Sin embargo se ha encontrado que entre el 8 % y 15 % de contenido de humedad es el rango más favorable para el proceso de post-maduración en semillas de *Arabidopsis thaliana* (Hay *et al.*, 2003), *Lactuca sativa* y *Helianthis annuus* (Ellis *et al.*, 1995) *Hordeum vulgare* (Roberts y Ellis, 1989) y *Nicotiana tabacum* (Leubner-Metzger, 2005).

La pérdida progresiva de la latencia durante el periodo de post-maduración está en función del ambiente y del tiempo. Debido a esto, la velocidad del tiempo de post-maduración aumenta con la temperatura de una manera predecible (Murdoch y Ellis, 2000). Las evidencias sugieren que muchas semillas se comportan como los miembros de las *gramíneas*, en las cuales el logaritmo del periodo promedio de la latencia es una función lineal negativa de la temperatura. De esta manera mientras mayor sea el tiempo de almacenamiento y más cálido el ambiente de almacenamiento, la pérdida de la latencia será mas rápida. Por ejemplo en un lote de semillas de *Oryza glaberrima* expuestas a 11.2 % de contenido de humedad y 30 °C , la mitad de ellas perdieron la latencia después de 65 días, mientras que a 40 °C solo 20 días fueron requeridos para la pérdida de dicha latencia.(Ellis *et al.*, 1983; citado por Murdoch y Ellis, 2000).

También hay evidencias con respecto a que el contenido de humedad en la semilla puede afectar la velocidad de la pérdida de la latencia en el periodo de post-maduración, por lo menos sobre cierto rango de contenido de humedad. Este contenido de humedad es de 30 % a 50 % en arroz (Ellis *et al.*, 1983) y algunas gramíneas (Sharif-Zadeh, 2001). Por todo lo mencionado, no es sorprendente que los procedimientos empleados para la investigación de la latencia durante la colecta, cosecha y secado de las semillas, junto con su posterior almacenamiento, modifiquen su latencia.

En especies adaptadas a regiones de sequía estacional y suelos áridos, los cambios fisiológicos registrados durante el almacenamiento en la postmaduración pueden reflejar un mecanismo natural, el cual puede controlar el tiempo de germinación anual en la naturaleza (Probert, 2000). En regiones templadas, las semillas pueden tener un ciclo a través de diferentes grados de latencia en el banco de semillas por

tiempo prolongado, pero pueden también permanecer en un estado que sólo requiere luz para interrumpir la latencia e inducir la germinación (Fenner y Thompson, 2005) En algunos casos este mecanismo puede ser más complicado cuando se requieren variaciones de temperaturas diurnas (temperaturas alternantes) para interrumpir la latencia y promover la germinación y esto puede ser influenciado por otros factores ambientales, particularmente luz. Las fluctuaciones en el contenido de agua en el suelo también pueden afectar el nivel de la latencia en el banco de semillas (Batlla y Benech-Arnold, 2006).

### **Envejecimiento de semillas**

El envejecimiento de las semillas, se manifiesta por una reducción en la capacidad de germinación o por la producción de plántulas débiles (Stewart y Bewley, 1980). Este envejecimiento se ha ligado a cambios en las moléculas biológicamente activas del embrión. Las principales modificaciones de esas moléculas pueden incluir desde una variación en sus concentraciones o bien sufrir transformaciones químicas. En las semillas, el envejecimiento determina el vigor de las mismas, así como su nivel fisiológico de deterioro (Priestley, 1986). El deterioro empieza después de que las semillas alcanzan su maduración fisiológica y continúa hasta perder su capacidad de germinar (Delouche, 2002). Todos los cambios, incluyendo las alteraciones fisiológicas deletéreas que ocurren en las semillas durante el almacenamiento se deben al tiempo, además de otros factores tales como condiciones de maduración e integridad física de la semilla (Priestley, 1986).

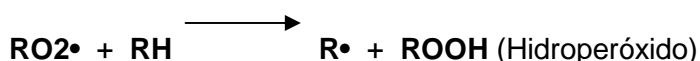
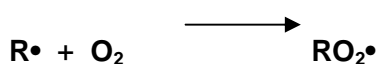
A pesar de que los mecanismos del envejecimiento no son claros, este fenómeno ha sido asociado a diferentes procesos tales como: eventos estresantes, la conformación del ADN y del ARN, la estructura de lípidos y la funcionalidad de las membranas, junto con la capacidad de reparar ADN alterado o cambio en lípidos (Hendry, 1997). En relación a la modificación de los lípidos, en particular de los ácidos grasos insaturados, se pueden encontrar numerosos reportes en la literatura que documentan ampliamente el proceso de peroxidación como uno de las causas más importantes de la disminución de la viabilidad de las semillas en almacenamiento (Wilson y Mac Donald, 1986). En este contexto se ha ubicado a los radicales libres como los responsables del mecanismo causal de la pérdida de vigor

o de la viabilidad las cuales son las principales características del envejecimiento en las semillas.

#### INICIACIÓN



#### PROPAGACIÓN



#### TERMINACIÓN



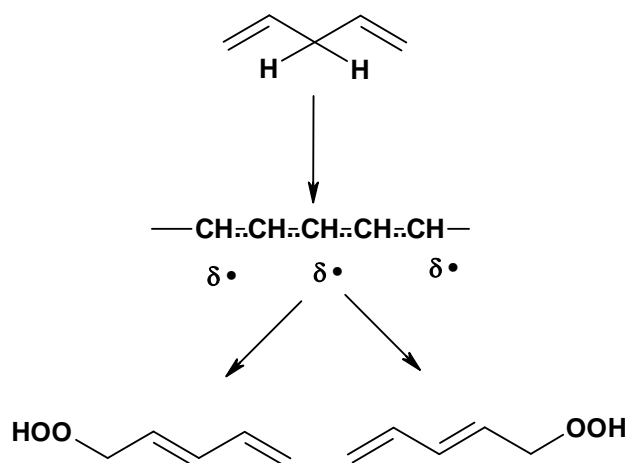
**Figura II. Mecanismo de formación de radicales libres. El electrón desapareado se simboliza como un punto (•).**

En presencia de oxígeno, los enlaces  $\pi$  pueden oxidarse espontáneamente produciendo especies químicas con electrones no apareados. Los radicales libres formados son especies químicas altamente reactivas que se propagan en forma autocatalizada a través de una secuencia de eventos que van desde la iniciación de la formación de radicales, la propagación de éstos y la terminación, que ocurre cuando dos radicales reaccionan entre sí (Fig. II).

La correlación entre la disminución de la capacidad de germinación de la semillas y la peroxidación de los lípidos presentes fue establecida inicialmente en semillas de pino. Diversos enfoques se han planteado desde entonces para elucidar el

mecanismo de la formación de radicales libres en la semilla y el efecto de la oxidación de los ácidos grasos insaturados sobre la viabilidad.

En los ácidos grasos insaturados, comúnmente los enlaces  $\pi$  se encuentran en relaciones 1:4, con lo cual el carbono alílico común a las insaturaciones es muy susceptible de radicalizarse generando las formas oxidadas correspondientes a cada extremo del carbono alílico, tal como se muestra en la (Fig. III).



**Figura III. Modelo de peroxidación de ácidos grasos insaturados.**

Entre los factores que favorecen la formación de radicales libres en la semilla se pueden mencionar los de origen físico y biológico. En cuanto a los efectos biológicos de la peroxidación de ácidos grasos se ha sugerido que es el común denominador implicado en procesos de deterioro celular tales como mutaciones, carcinogénesis y envejecimiento. En particular, las biomembranas son las estructuras más sensibles a los daños producidos por la peroxidación de ácidos grasos, entre otros daños, la peroxidación provoca cambios en la permeabilidad de la membrana y eventualmente la pérdida de su fluidez e integridad (Dell'Aquila, 1994), por otro lado, las membranas de organelos como las mitocondrias al ser peroxidadas pierden su funcionalidad, incluyendo su capacidad para mantener el gradiente electroquímico necesario para la fosforilación oxidativa en la síntesis de ATP.

El establecimiento inequívoco de la correlación entre la peroxidación de los ácidos grasos insaturados y el deterioro de las semillas, se ha logrado a través de dos aproximaciones. La primera de ellas es la determinación directa de los cambios en



la proporción de insaturaciones que presentan los ácidos grasos de una semilla a través de algún proceso de envejecimiento, natural o inducido. La segunda aproximación se presenta a través de subproductos de la peroxidación como es el caso del malondialdehído, o bien el mismo peróxido de hidrógeno presente en las semillas. En general se ha demostrado que las proporciones de ácidos grasos insaturados como oleico y linoleico, pueden disminuir desde valores de 70% hasta 10%.

La técnica de espectroscopia de infra-rojo cercano (NIRS) recientemente ha adquirido enorme atención, debido al potencial de uso que presenta en el estudio de la calidad de las semillas en programas de manejo y selección de germoplasma. Esta técnica permite el análisis simultáneo de varios componentes en semillas completas sin destruir los tejidos. En especies de *Brassica* se ha demostrado que pueden ser determinados con elevado grado de certeza y exactitud, componentes como lípidos totales, proteínas, contenido de clorofilas, contenido de glucosinolatos y otros aspectos como color y peso seco de la semilla. El valor de predicción que se puede obtener mediante los análisis no destructivos de ácidos grasos saturados e insaturados a través del NIRS, ha sido demostrado validando los niveles predichos contra métodos convencionales como es el caso del método de AOCS (American Oil Chemists Society), resonancia magnética nuclear (Robertson y Barton, 1984) y cromatografía de gases con detector de ionización de flama (Velasco *et al.*, 1997) encontrando en todos los casos niveles de correlación significativos.

En relación a la composición de los ácidos grasos, se ha determinado en semillas de *Brassica carinata* el contenido de los ácidos palmítico, esteárico, oleico, linolénico, eicosanóico y erúico; todos ellos con niveles de correlación aceptables con los métodos convencionales de referencia (Velasco *et al.*, 1997). Adicionalmente, se ha establecido la utilidad de la técnica de NIRS en la cuantificación no destructiva de derivados de lípidos en especies de *Brassica*, como es el caso de los ésteres de ácido sinápico (Velasco *et al.*, 1998). Por otro lado, la utilidad de la técnica de NIRS para la determinación no destructiva de ácidos grasos insaturados en semillas intactas fue demostrada en *Helianthus annuus*, donde el análisis de las semillas completas, de la testa y de la harina no muestran diferencias significativas en los niveles de ácidos grasos insaturados como palmitoléico, oleico y linoleico (Pérez-

Vich *et al.*, 1998). Una ventaja adicional de esta técnica, es que su análisis solamente requiere de una semilla (Velasco *et al.*, 1999).

La determinación de los niveles de organización químicos mediante la técnica de NIRS, ha sido posible por el uso de programas quimiométricos, los cuales están basados en algoritmos de correlación multivariada de mínimos cuadrados parciales (PLS, por sus siglas en inglés), que generan una huella digital fisicoquímica que permite realizar predicciones (Munck *et al.*, 2001). Las ventajas que ofrecen los programas quimiométricos mediante la técnica de NIRS, permite evitar procesos elaborados en la extracción de analitos. Se emplean pequeñas cantidades de muestra y sobre todo la baja energía del rango electromagnético que se emplea, permite realizar ensayos no destructivos de las semillas (Velasco *et al.*, 1998).

La técnica de NIRS ha sido implementada recientemente en estudios de viabilidad. Por ejemplo, en las semillas de *Brassica napus* y *Stenocereus stellatus*, se obtiene una correlación significativa en la predicción de la concentración de ácidos grasos, en la cual los tratamientos de envejecimiento 7% de humedad relativa (HR)-25°C, 58% HR- 25°C, 7% HR-40°C y 58% HR-40°C, generan una disminución en los ácidos grasos siendo más clara para los insaturados en ambas especies. No obstante estos tratamientos no lograron producir una disminución significativa de la germinación (Vergara, 2002). Por otro lado, las semillas de *Beaucarnea gracilis* y *Hechtia podantha* mostraron valores altos de predicción de ácidos grasos y viabilidad. En este trabajo se observó una reducción en la germinación del 96 al 1.33% en las semillas de *Hechtia podantha* y de 98 a 3.3% en *Beaucarnea gracilis*, acompañada por la disminución en el contenido de ácidos grasos insaturados (Zavaleta, 2003). En otro trabajo las semillas de *Neobuxbaumia tetetzo* y *Neobuxbaumia mezcalaensis* muestran una disminución no significativa en el contenido de ácidos grasos insaturados durante el tratamiento de envejecimiento acelerado (45°C / 65% HR) (Lozada, 2005), aunque si genera un gradiente de envejecimiento. Adicionalmente, la correlación de los valores de germinación obtenidos mediante la técnica de NIRS y los tratamientos de germinación real en las semillas de *N. tetetzo* y *N. mezcalaensis* fue satisfactoria (Lozada, 2005).

## **HIPÓTESIS**

Las semillas de *Polaskia chende* presentan características fisiológicas y/o morfológicas que les podrían permitir permanecer en el suelo formando un banco de semillas.

La densidad y distribución de las semillas de *P. chende*, así como la sobrevivencia de sus plántulas podrían estar determinadas por la influencia de las plantas nodriza.

La germinación y viabilidad de las semillas de *P. chende in situ* están reguladas por la interacción de factores ambientales y por el tiempo de permanencia en el suelo.

El envejecimiento acelerado bajo diferentes condiciones de tiempo de almacenamiento, temperatura y humedad relativa de las semillas de *P. chende*, disminuye su longevidad potencial y su viabilidad.

## **OBJETIVOS GENERALES**

- Determinar si las semillas de *Polaskia chende* cumplen con una o varias de las características propuestas para la formación de un banco de semillas persistente.
- Determinar la influencia del nodrizaje en los parámetros poblacionales de distribución, densidad y sobrevivencia.
- Determinar el efecto de los tratamientos de envejecimiento acelerado en la germinabilidad y viabilidad de *P. chende*.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar si las semillas de *P. chende* presentan algún tipo de latencia.
- Evaluar la respuesta germinativa de las semillas de *P. chende* a diferentes condiciones de luz.
- Determinar la longevidad ecológica de las semillas de *P. chende*.
- Determinar la densidad y distribución de las semillas de *P. chende*.
- Determinar la sobrevivencia de las plántulas de *P. chende*.
- Determinar el efecto del periodo de post-maduración en la viabilidad, porcentaje de germinación acumulado (G), tasa máxima germinativa (TMG), tiempo promedio de germinación (TPG) y sincronía de la germinación (S) de las semillas de *P. chende*.
- Determinar el efecto de la temperatura y la humedad relativa en la viabilidad, porcentaje de germinación acumulado (G), tasa máxima germinativa (TMG), tiempo promedio de germinación (TPG) y sincronía de la germinación (S) de las semillas de *P. chende*.
- Probar el uso de la técnica de NIRS como una alternativa no destructiva para evaluar y predecir la viabilidad de las semillas de *P. chende* en diferentes condiciones de envejecimiento.

## ÁREA DE ESTUDIO

La provincia florística del Valle de Tehuacán-Cuicatlán forma parte de la región xerofítica mexicana y se localiza en la parte sureste del estado de Puebla y noreste de estado de Oaxaca, entre los 17° 39´ y 18° 53´ de latitud Norte y los 96° 55´ y 97° 44´ de longitud Oeste (Rzedowski, 1978). Desde el punto de vista fisiográfico forma parte de la provincia denominada Mixteca-Oaxaqueña y abarca varios valles, entre los que destacan los de Cuicatlán, Huajuapán, Tehuacán, Tepelmeme y Zapotitlán, que forman parte de la Cuenca Alta del Río Papaloapan principalmente, y en menor proporción de la Cuenca Alta del Río Balsas. Sus límites orográficos principales son al este y noreste la Sierra Madre Oriental, aquí llamada Sierra de Zongolica y la Sierra de Juárez al sur. Todos estos valles que conforman la provincia están limitados por una serie de serranías que en su conjunto determinan la Sierra Mixteca, la cual forma parte de la Sierra Madre Oriental (Villaseñor *et al.* 1990).

Su clima corresponde al tipo semiárido, con condiciones de temperatura cálida y con poca a extrema oscilación de temperatura. Este clima se debe fundamentalmente al efecto de sombra de lluvia que producen las Sierras de Juárez y Zongolica (García, 1988). Los tipos de vegetación, siguiendo la clasificación de Rzedowski (1978), son: Bosque Tropical Caducifolio, Bosque Espinoso, Bosque de Encinos, Pastizal y Matorral Xerófilo; éste último es el más ampliamente distribuido y presenta una gran variación (Villaseñor *et al.*, 1990).

En el valle de Tehuacán, Puebla, se ha demostrado el efecto de nodricismo entre *N. tetetzo* y la planta nodriza *Mimosa luisana* (Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991). Así mismo se han detectado patrones de distribución de cactáceas columnares (*N. tetetzo*, *Cephalocereus columna-trajani*) y globosas (*Mammillaria colina*, *Mammillaria casoi* y *Coryphantha pallida*) con respecto a diferentes especies de plantas perennes, que indican el efecto de nodricismo en el Valle de Zapotitlán de las Salina Puebla (Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991)

La población de *Polaskia chende* objeto de este estudio se ubica a 3 km del poblado de San Luis Atolotitlán en el municipio de Caltepec, Puebla (18° 10´ 47" N, 97° 26´ 41" O), a 2100 msnm, en suelos derivados de roca volcánica. Las principales

especies presentes en el área son *Pachycereus marginatus* (F. Buxbaum), *Stenocereus dumortieri* (F. Buxbaum), *S. pruinosus* (Weber), *Myrtillocactus schenkii* (Weber), *Opuntia pilifera* (Weber), *Agave potatorum* (Zucc.), *Senecio praecox* (Cav.) DC, *Ipomea arborecens* (G. Don), *Ipomea murocoides* (Poemmar y Schultes) *Acacia cochlyacantha* (Humb. y Bonpl.), *Acacia constricta* (Benth.), *Mimosa luisiana* (Brandege), *Eyisenhardtia polisthachya* (Ortega), *Ferocactus latispinus* (Britton y Rose), *Polaskia chende* (Backeberg).y *Polaskia chichipe* (Backeberg).

***Polaskia chende*** (Backeberg).

Cactácea columnar endémica del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Se distribuye en el matorral xerófilo conocido como Chichipera, en donde forma una asociación con *Polaskia chichipe* siendo elementos dominantes en la vegetación. Esta vegetación se localiza en parches de suelos derivados de rocas volcánicas entre los 1600 y 2200 msnm. Las poblaciones silvestres de estas especies se encuentran en densidades de 10 a 14 individuos por hectárea (Cruz y Casas, 2002; Carmona y Casas, 2005). La estación de floración en ambas especies comienza en diciembre y termina entre marzo y mayo. La antesis es diurna, aunque en *Polaskia chichipe* también es nocturna. La polinización es conducida por abejas *Xylocopa mexicanorum*, *Bombus pensylvanicus*, *Apis mellifera*, *Plabeia spp.* y probablemente por algunas aves que también visitan las flores de ambas especies *Amazilia violiceps*, *Cyananthus latirostris* y *C. sordidus*. Los frutos maduros de *Polaskia chende* están disponibles de marzo a mayo, mientras que los de *Polaskia chichipe* se presentan hasta junio o julio (Cruz y Casas, 2002; Carmona y Casas, 2005).

Los frutos de esta especie son altamente apreciados por los pobladores del valle, ya que son consumidos por su alto contenido de azúcares. Estos se consumen frescos o en conservas. Las ramas y también los frutos son utilizados como forraje y madera. Cruz y Casas (2002), establecen que esta especie se encuentra en proceso de domesticación encontrándose un gradiente de manejo desde las poblaciones silvestres hasta las domesticadas.

La conservación del germoplasma de esta especie es particularmente importante no solamente por ser endémica y con una distribución restringida, en la reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán, además, sus poblaciones son escasas y con pocos individuos. Esta especie es un componente importante de un tipo particular de asociación vegetal desempeñando un papel crucial en la comunidad, interactuando con insectos y aves los cuales participan en la polinización y dispersión de estas y otras especies. A pesar de su importancia, las poblaciones de esta especie se encuentran en peligro por diferentes factores como son:

- 1) Las poblaciones silvestres se han reducido debido a la expansión de las tierras de cultivo. Estas poblaciones han sido reducidas a parches de “chichiperas” localizadas principalmente en la punta de cerros y colinas. El flujo genético entre poblaciones distantes parece ser posible porque la gente deja individuos de estas especies en zonas desmontadas. Sin embargo, los efectos de la fragmentación podrían estar favoreciendo la endogamia y reduciendo la variación genética en las poblaciones.
- 2) El pastoreo de cabras y vacas pueden tener efectos directos en las poblaciones de esta especie por el consumo de las plántulas, plantas jóvenes o plantas nodriza.
- 3) El manejo de las poblaciones que se encuentran dentro y cerca de los poblados es benéfico con fines de conservación, sin embargo, no hay reemplazo de los individuos que mueren o son utilizados como leña. Adicionalmente, la selección artificial ejercida sobre estas poblaciones puede reducir su variación.
- 4) El uso de insecticidas con fines agrícolas afecta a las poblaciones de abejas, las cuales son cruciales para la polinización de estas especies. Este factor afecta principalmente a los individuos de las poblaciones manejadas y podría ser una limitante para el flujo de polen hacia las poblaciones silvestres.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Colecta de Semillas:** Se colectaron frutos maduros de *Polaskia chende* del Valle de Tehuacán –Cuicatlán Puebla, en la zona de San Luis Atolotitlán. Los frutos se tomaron directamente de la planta madre obteniéndose una muestra representativa por individuo (30%), el número de individuos muestreados fueron 12. Posteriormente los frutos fueron colocados en bolsas de papel y mantenidos en un ambiente fresco y seco. Las semillas fueron extraídas de los frutos y lavadas con agua corriente, el exceso de agua se quitó con papel absorbente. Inmediatamente, se colocaron en una malla metálica de 0.5 mm de criba y fueron secadas a la sombra durante 72 horas en el laboratorio y almacenadas a temperatura ambiente. Se seleccionaron 30 frutos para obtener el número de semillas por fruto. Posteriormente, del lote total se seleccionaron 30 semillas para obtener su masa y dimensiones. Se tomó una muestra de este lote de semillas para aplicar tratamientos previos con el propósito de conocer si la especie tiene requerimientos específicos para su germinación e identificar la presencia y tipo de latencia. Posteriormente, el lote inicial de semillas se dividió en tres lotes: uno para establecimiento de banco de semillas en condiciones naturales, el segundo para pruebas de envejecimiento acelerado y el tercero para almacenamiento en laboratorio. De cada uno de estos tres lotes se realizaron pruebas de germinación y viabilidad bimestrales durante el periodo de estudio.

**Tratamientos previos:** se colocaron 25 semillas en cajas petri (n = 4) para cada condición de cada tratamiento, los tratamientos empleados fueron:

Imbibición: se pusieron a imbibir semillas durante 12, 24 y 48 hrs y posteriormente se sembraron en cajas petri y se pusieron a germinar en condiciones de luz y oscuridad.

Reguladores del crecimiento: se aplicó ácido giberelico (AG<sub>3</sub>) en el medio de cultivo a 1000 ppm, posteriormente se pusieron a germinar las semillas en condiciones de luz y oscuridad.

Luz: se analizaron las condiciones de luz blanca, oscuridad y luz rojo-lejano. Para el tratamiento en condiciones de oscuridad se forraron las cajas petri con cinco capas de papel aluminio, para los tratamientos de luz rojo-lejano se colocaron las cajas petri dentro de una caja de acrílico rojo y azul (plexiglás No. serie 2424 y 2423,



respectivamente) en la cual hubo una proporción de rojo y rojo-lejano (R:FR) igual a 0.05, y una densidad de flujo fotónico de  $9.715 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Las mediciones se realizaron con un espectroradiómetro portátil (LI-COR, Inc., Nebraska, U.S.A.) la luz roja-lejana se midió entre 724-736 nm, la densidad de flujo fotónico se midió entre 400 y 750 nm.

**Pruebas de germinación:** Antes de sembrar las semillas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 2% durante un minuto y después con una solución fungicida (Tween al 1%) durante cinco minutos, posteriormente se enjuagaron con agua destilada. Para cada condición experimental se sembraron 25 semillas ( $n = 4$ ) en una caja petri con agar bacteriológico al 1% en agua, a  $25^{\circ}\text{C}$  con fotoperiodo de 12 hrs. Todos las pruebas de germinación se realizaron en una cámara de germinación equipada con lámparas de luz fluorescente de día (Silvana, Octron 4100K de 32 W) y lámparas de luz incandescente (General Electric de 25 W). Se registró la germinación de las semillas diariamente durante 15 días y posteriormente cada tercer día durante un periodo de 90 días. El criterio para considerar una semilla germinada fue la emergencia de la radícula.

**Colecta de suelo:** se colectaron muestras de suelo de 25 cm x 25 cm ( $625 \text{ cm}^2$ ) y 3 cm de profundidad, cuando la capa de suelo lo permitió. Esta especie se distribuye en suelos derivados de rocas volcánicas en donde difícilmente se encuentran profundidades superiores a los 5 cm. En el área de estudio la colecta de suelo fue bimestral desde el momento de la maduración de los frutos hasta completar un año de muestreo, cabe aclarar que en cada ocasión se muestrearon puntos distintos. Se consideraron dos condiciones ambientales espacio abierto ( $n = 10$ ) y bajo la sombra de un dosel ( $n = 10$ ). Para determinar las plantas nodriza se tomaron en cuenta la(s) especie(s) fisonómicamente dominantes, el tamaño de la planta, así como el tamaño de la sombra que proyectaba y su orientación con respecto a la trayectoria del sol. Las muestras de suelo se colocaron en bolsas de papel para transportarlas y se mantuvieron en un ambiente fresco, si el suelo estaba húmedo se colocaron sobre papel aluminio y se secaron a la oscuridad.

**Extracción de semillas del suelo:** Para eliminar la materia orgánica y las partículas de suelo grandes y pequeñas, en relación al tamaño de las semillas de la especie en

estudio, las muestras de suelo fueron tamizadas a través de un gradiente de apertura de 0.4 cm a 0.5 mm de criba con ayuda de tamices USA Standard Testing Sieve No. 5, 18 y 35 Fisher Scientific Company (con una apertura de 4 mm, 1 mm y 0.5 mm, respectivamente). Una vez concentradas las semillas en una fracción de suelo se realizó la técnica de flotación, para eliminar las partículas de suelo que se mantenían mezcladas con las semillas, utilizando una solución al 30% de  $K_2CO_3$ . Finalmente, las semillas de *P. chende* fueron extraídas con ayuda de un microscopio estereoscópico (Motic SMZ-168).

**Tratamientos de envejecimiento acelerado:** Para establecer las condiciones de envejecimiento acelerado se realizó un ensayo para generar un gradiente de longevidad. Se utilizaron tres humedades diferentes 45%, 55% y 65% de HR cada una de las cuales se combinó con tres temperaturas 45°C, 55°C y 65°C; en total se tuvieron nueve tratamientos. Las condiciones de humedad relativa fueron controladas con soluciones saturadas de LiCl que proporcionaron las humedades relativas citadas anteriormente. La muestra blanco se mantuvo en una cámara de envejecimiento a temperatura y humedad relativa ambiental en condiciones de oscuridad. Para cada una de estas condiciones se sembraron 25 semillas ( $n = 4$ ) cada 5 días durante un mes y se midió el porcentaje de germinación. Con los datos arrojados por este ensayo se seleccionó la condición de 55% HR y 45°C para generar un envejecimiento de mediano plazo. De este tratamiento se tomaron muestras bimestrales para realizar pruebas de germinación y viabilidad. Se registró el contenido de HR de las semillas a lo largo del experimento con ayuda de un higrómetro (Hygropalm AW-DIO sensor), para esto se tomaron muestras aleatorias de semillas a las cuales se les midió la humedad en el higrómetro. También se midió la humedad relativa de la solución de LiCl a lo largo del experimento para asegurarnos que la humedad dentro de la cámara fuera la adecuada.

**Banco de semillas en condiciones naturales:** se colocaron jaulas de malla de alambre de 20 x 30 x 12 cm (longitud x profundidad x altura) en el área de estudio, considerando condiciones de espacio abierto y bajo la sombra de un dosel ( $n = 10$  para cada condición ambiental). En cinco de estas jaulas se enterraron bolsas de tela de organza que contenían 100 semillas cada una ( $n = 6$  para cada condición ambiental), las semillas se enterraron a una profundidad no mayor a 1 cm de la

superficie del suelo. Adicionalmente, en cada una de las jaulas restantes (5) se colocó un recipiente de malla de alambre de 8 cm de diámetro y 6 cm de altura, cubierto por tela de organza para evitar la depredación y la llegada de nuevas semillas. En estos recipientes se esparcieron 100 semillas en la superficie del suelo. De las dos condiciones se realizaron muestreos bimestrales, las semillas enterradas fueron extraídas junto con el suelo adyacente cubriendo con dos capas de papel aluminio 1 m<sup>2</sup> para evitar el contacto con la luz; a estas semillas se les realizaron análisis de germinación y viabilidad. Diariamente se registró el porcentaje de emergencia de las semillas colocadas superficialmente durante dos semanas, a mediados de la época de lluvias, y posteriormente cada dos meses. Para realizar registros de la temperatura del suelo se enterró un Data logger, HOBO Pendant Data Logger, Onset Computer Corporation.

**Sobrevivencia de plántulas:** En este ensayo se utilizaron todas las plántulas que emergieron en el campo, dentro de los recipientes de malla de alambre, así que se transplantaron *in situ* al exterior de los recipientes en donde todavía se encontraban protegidas por las jaulas descritas anteriormente. Se tomó el tiempo de germinación máxima, en cada condición ambiental, como el tiempo cero para comenzar a evaluar la sobrevivencia de las plántulas. Se registró la sobrevivencia cada mes durante los primeros tres meses y posteriormente cada dos meses durante 528 días.

**Pruebas de viabilidad:** Prueba de NIRS: Se colocaron 100 semillas en la macrocopa portamuestra del accesorio de Reflectancia difusa (Spectra Tech) y se leyó en el espectrofotómetro de Infrarrojo (Perkin Elmer Spectrum 2000) con las condiciones siguientes: Intervalo de lectura de 7,800 a 600 cm<sup>-1</sup>, 14 barridos, resolución de 4 cm<sup>-1</sup> y una distancia de paso de 1 cm<sup>-1</sup>. Se leyó cada muestra en dos unidades diferentes, porcentaje de Transmitancia (%T) y logaritmo del inverso de la reflectancia (log 1/R). Con estos espectros se alimentó el programa QUANT+ de análisis quimiométrico para determinar el grado de correlación existente entre los espectros específicos para cada muestra y los datos obtenidos en la prueba de germinación.

**Análisis estadístico:** El porcentaje de germinación acumulado de cada réplica fue transformado al arcoseno (Zar, 1999) y fue ajustado a un modelo exponencial

sigmoide ( $Y = a / \{1 + b \exp [- cx]\}$ ) para obtener la tasa máxima de germinación (TMG) con la primera derivada máxima (Olvera-Carrillo et al. 2003). La primera derivada de la curva exponencial sigmoide fue ajustada a un modelo Gausiano ( $Y = a + b \exp (-0.5 \{ [ x - c ] / d \}^2)$ ), para obtener el tiempo medio de germinación (TPG) y la sincronía (S) (Boas, 1983; Finkelstein y Carson, 1986; citados por Olvera-Carrillo et al. 2003). El porcentaje final de germinación, la tasa máxima de germinación, el tiempo promedio de germinación y la sincronía de cada réplica fue comparado por ANOVA seguido por una prueba de la diferencia mínima significativa (LSD).

Para evaluar el patrón de distribución espacial se utilizó el número de semillas por cuadrante de cada una de las localidades. El patrón de distribución se determinó con base en el coeficiente de dispersión, el cual se calculó como:  $C D = s^2 / x$  en donde  $s^2$  es la varianza y  $x$  la media del número de semillas por cada localidad. Esta prueba se basa en la igualdad de la varianza y la media de la distribución de Poisson; si el  $C D$  es = 1 la distribución es azarosa,  $C D$  menor a 1 la distribución es regular y  $C D$  mayor a 1 la distribución es agregada. Para evaluar la densidad se realizó un análisis de densidad relativa en donde la densidad relativa es igual al promedio del número de semillas por unidad de área  $D R = \# \text{ semillas} / \text{área}$ . Los datos de porcentaje de sobrevivencia en el tiempo fueron transformados a su arco seno para realizar el análisis de la sobrevivencia por medio de ANOVA, seguido de una prueba de la diferencia mínima significativa (LSD). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurion XV, versión 15.1.02, Statistical Graphics Corporation, Graphic Software System.

## RESULTADOS

### Morfología de la semilla

En promedio un fruto de *P. chende* contiene 503 semillas  $\pm$  152 (D.E.). El peso de la semilla es de 0.75 mg  $\pm$  0.11 mg (D.E.). El tamaño de la semilla es de 2 mm altura x 1.6 mm largo x 0.8 mm ancho  $\pm$  0.2 x 0.2 x 0.1 (D.E.).

### Tratamientos previos

Las semillas de *P. chende* requieren luz para germinar ya que no se observó la germinación de estas semillas en condición de oscuridad. En esta especie la semilla no presenta barreras físicas que impidan la imbibición. Las semillas de un mes de edad que fueron expuestas a tratamientos con ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) a 1000 ppm, mostraron una fuerte promoción de la germinabilidad tanto en luz como en oscuridad. En presencia de luz el porcentaje de germinación, al inicio de la misma, aumentó significativamente en relación al grupo control (luz blanca) ( $t = -848$ ;  $P = 0.0002$ ) de 34% a 64%, lo cual representó un incremento de 88% (Fig. 1).

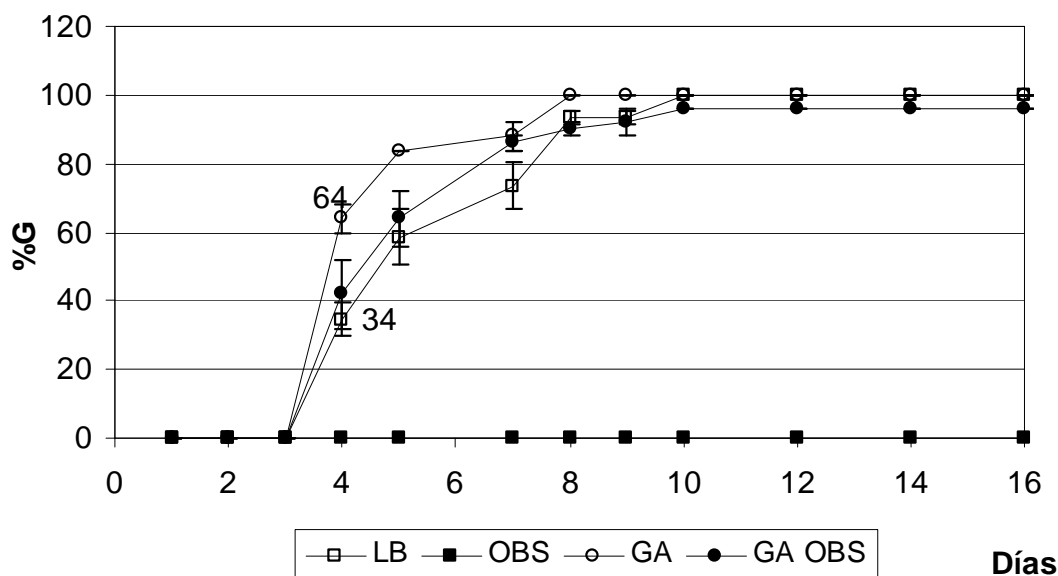
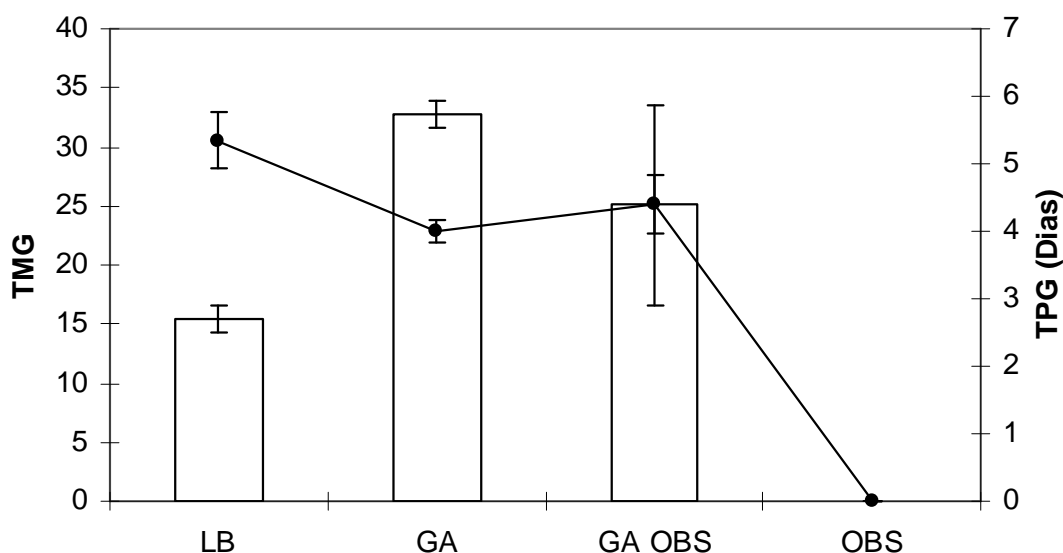


Figura 1. Porcentajes de germinación acumulada en el tiempo de los tratamientos en luz blanca (LB), oscuridad (OBS), ácido giberélico a 1000 ppm en luz (GA) y ácido giberélico a 100 ppm en oscuridad (GA OBS) a 25°C con fotoperiodo de 12 hrs (n = 4).

En la figura 2 se observa que la tasa máxima germinativa (TMG) aumenta significativamente ( $F_{3,15} = 42.28$ ;  $P = 0.0000$ ) y que el tiempo promedio de germinación (TPG) disminuye significativamente ( $F_{3,15} = 221.21$ ;  $P = 0.0000$ ) en los tratamientos con hormona, tanto en luz como en oscuridad, con respecto al tratamiento con luz blanca. El análisis de varianza mostró que también existieron diferencias significativas entre los tratamientos en el porcentaje de germinación acumulado (G) ( $F_{3,15} = 33507165.44$ ;  $P = 0.0000$ ) y la sincronía de la germinación (S) ( $F_{3,15} = 28.33$ ;  $P = 0.0000$ ). Sin embargo, la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) con un intervalo de confianza de 95% indica que entre los tratamientos de luz blanca y  $GA_3$  no existen diferencias significativas en el porcentaje de germinación acumulado.



**Figura 2. Tasa máxima germinativa y tiempo promedio de germinación de los tratamientos en luz blanca (LB), oscuridad (OBS), ácido giberélico a 1000 ppm en luz (GA) y ácido giberélico a 100 ppm en oscuridad (GA OBS) a 25°C con fotoperiodo de 12 hrs (n = 4).**

### Envejecimiento natural

El porcentaje de germinación acumulado de las semillas de 0 meses de edad fue de 70% y el tiempo promedio de germinación fue de 8 días. El tratamiento de envejecimiento natural en condición de luz blanca mostró diferencias significativas, respecto al tiempo de almacenamiento en el G, la TMG y el TPG ( $F_{8,33} = 7.69$ ,  $P = 0.0000$ ;  $F_{8,33} = 4.36$ ,  $P = 0.0021$ ;  $F_{8,33} = 92.77$ ,  $P = 0.0000$ , respectivamente).

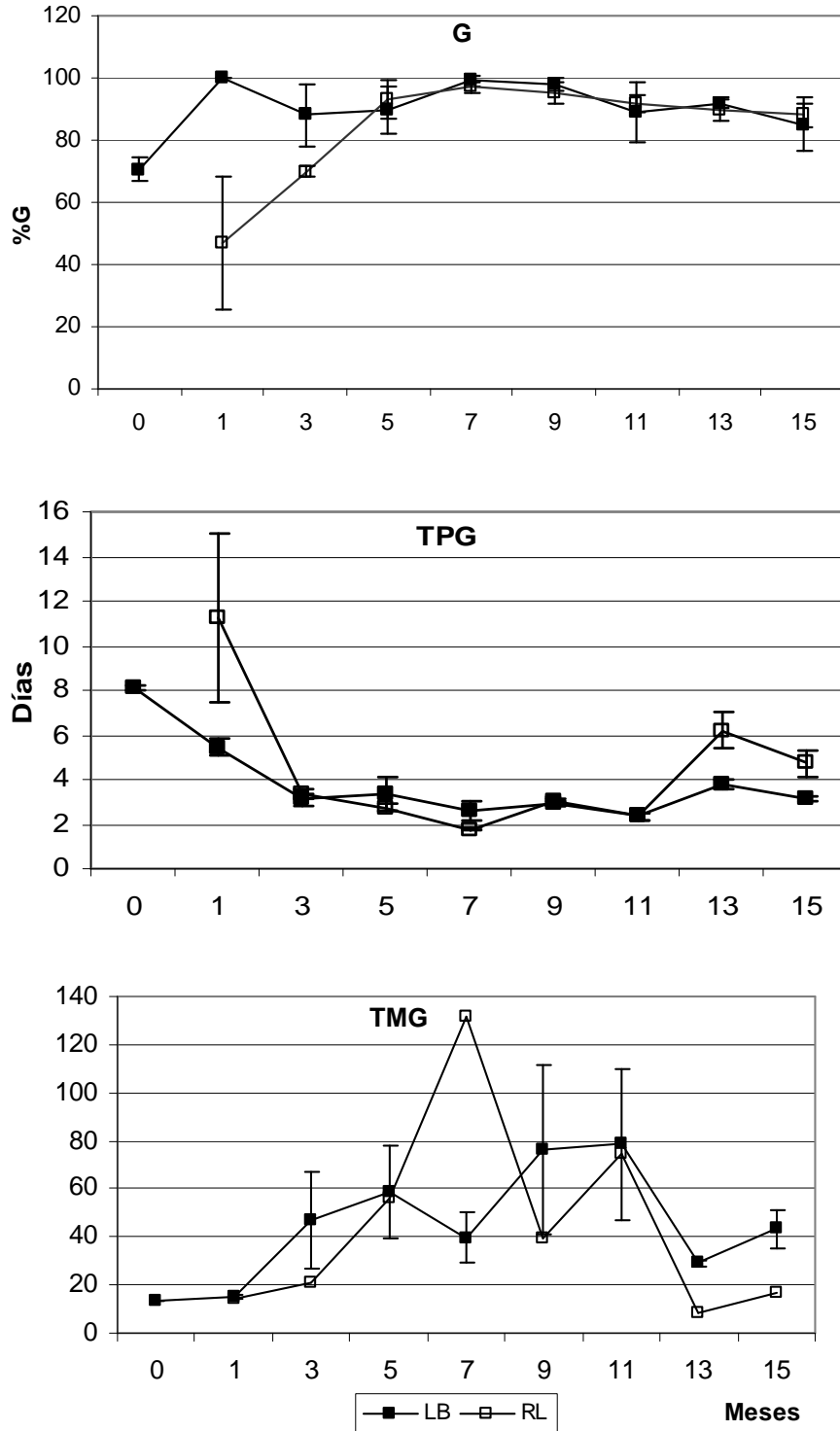


Figura 3. Porcentaje de germinación final (G), tiempo promedio de germinación (TPG) y tasa máxima germinativa (TMG) de las semillas almacenadas en el laboratorio durante un periodo de 0 a 15 meses. Luz blanca (LB) y rojo lejano (RL). El número de repeticiones es de cuatro en todos los casos excepto en el mes 5 en ambas condiciones de luz y en el mes 13 en luz blanca en donde sólo se tuvieron tres repeticiones.

Por su parte, el tratamiento de envejecimiento natural en condición de rojo lejano mostró diferencias significativas en el G ( $F_{7,30} = 6.98$ ,  $P = 0.0002$ ); la TMG ( $F_{7,30} = 26.13$ ,  $P = 0.0000$ ); el TPG ( $F_{7,30} = 14.34$ ,  $P = 0.0000$ ) y la S ( $F_{7,30} = 4.93$ ,  $P = 0.0016$ ) (Fig.3).

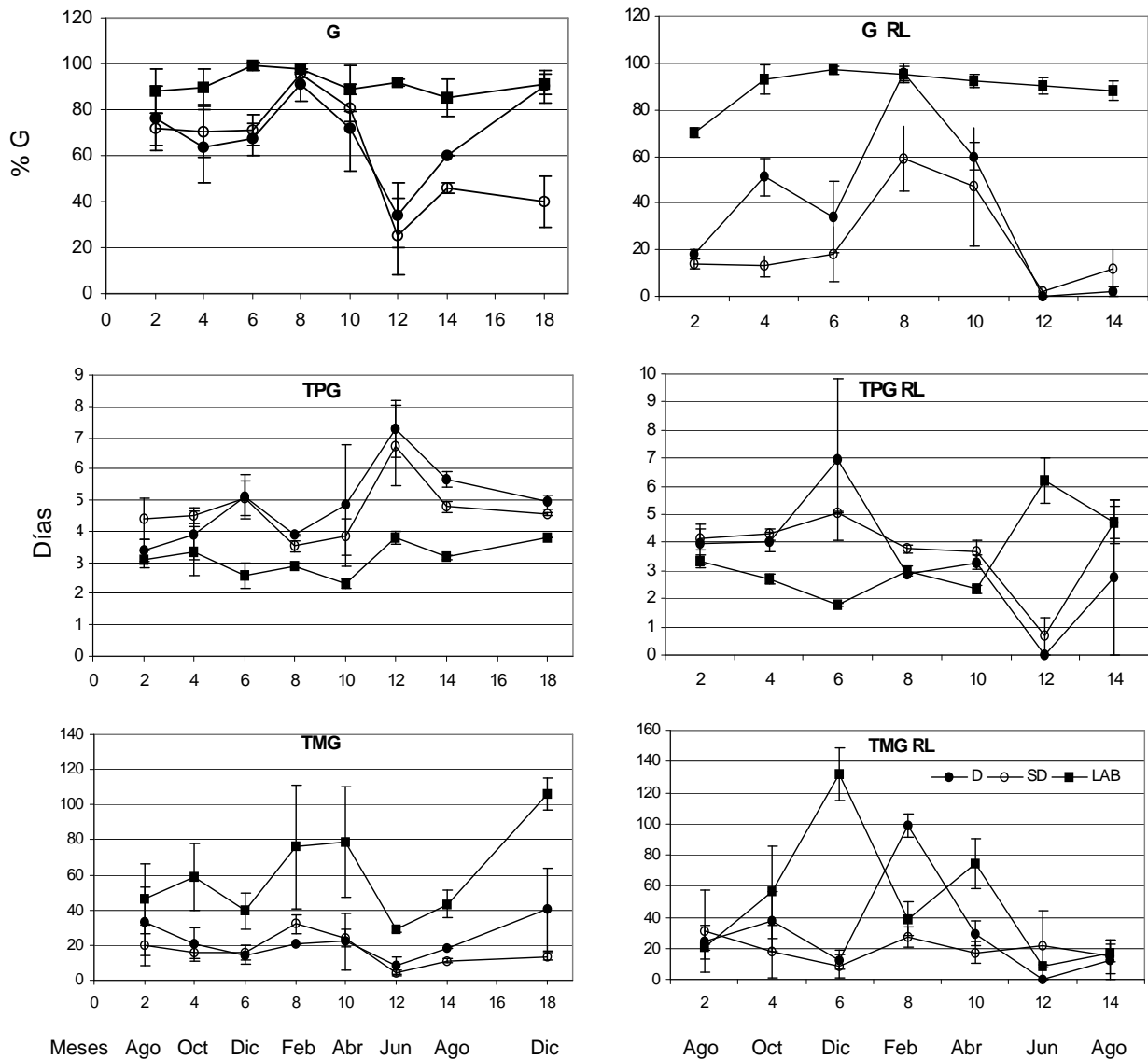
También se encontró diferencia significativa respecto a la condición de luz en la cual germinaron las semillas en el G ( $F_{1,60} = 14.96$ ,  $P = 0.0004$ ) y el TPG ( $F_{1,60} = 12.59$ ,  $P = 0.0009$ ). Aunque, la prueba de LSD reveló que las diferencias significativas en estos dos parámetros se concentraron en los primeros tres meses del experimento. Este patrón de comportamiento fue el mismo en luz blanca y en rojo lejano (Fig.3).

Adicionalmente, en este estudio se encontró que en condición de luz rojo lejano existió una correlación positiva entre el tiempo de almacenamiento y el potencial germinativo de la especie, durante los primeros meses del experimento. Ya que, el coeficiente de correlación de Pearson a los 5 meses de edad produjo un valor de  $r = 1$  y a los 7 meses un valor de  $r = 0.966$ , significativo en ambos casos.

#### Germinación de semillas exhumadas

Las semillas que se mantuvieron enterradas bajo un dosel y fuera de éste, y que fueron germinadas en luz blanca, mostraron diferencias altamente significativas en relación al tiempo de permanencia en el suelo en el G, el TPG y la TMG ( $F_{7,83} = 12.07$ ,  $P = 0.0000$ ;  $F_{7,83} = 10.98$ ,  $P = 0.0000$ ;  $F_{7,83} = 5.88$ ,  $P = 0.0001$ , respectivamente). En lo referente al sitio de enterramiento, la prueba de LSD reveló que hubo diferencias significativas en la germinación de las semillas exhumadas en dosel y sin dosel en el G. Al comparar la germinación de estas semillas, con las de la misma edad que fueron almacenadas en el laboratorio, se encontró una diferencia altamente significativa en el G, la TMG y el TPG ( $F_{2,83} = 46.45$ ;  $F_{2,83} = 51.36$ ;  $F_{2,83} = 46.71$ , respectivamente; con una  $P = 0.0000$  en todos los casos). La interacción entre el tiempo de enterramiento de las semillas y la condición ambiental de la cual provenían produjo diferencias significativas en el G y el TPG ( $F_{14,83} = 4.27$ ,  $P = 0.0000$ ;  $F_{14,83} = 2.45$ ,  $P = 0.0086$ , respectivamente) (Fig .4).





**Figura 4. Porcentaje final de germinación (G), tiempo promedio de germinación (TPG) y tasa máxima germinativa (TMG) en luz blanca y rojo lejano (RL), de las semillas exhumadas, en diferentes condiciones ambientales dosel (D), sin dosel (SD) y laboratorio (LAB). El número de repeticiones es igual a tres en las siguientes muestras: luz blanca D (2, 4, 6, 8), SD (2, 4, 6, 8, 10, 12) y LAB (4, 12); rojo lejano LAB (4); en el resto de las muestras el número de repeticiones es de cuatro.**

Por otro lado, las semillas exhumadas que se germinaron en condición de rojo lejano, mostraron diferencias significativas respecto al tiempo de enterramiento en todos los parámetros estudiados (G ( $F_{6,82} = 47.60$ ,  $P = 0.0000$ ); TMG ( $F_{6,82} = 15.08$ ,  $P = 0.0000$ ); TPG ( $F_{6,82} = 3.63$ ,  $P = 0.0038$ ); y la S ( $F_{6,82} = 8.28$ ,  $P = 0.0000$ ). Bajo esta condición de luz se encontró una diferencia altamente significativa en relación a la condición ambiental de enterramiento en el G, la TMG y la S ( $F_{2,82} = 270.07$ ,  $P =$

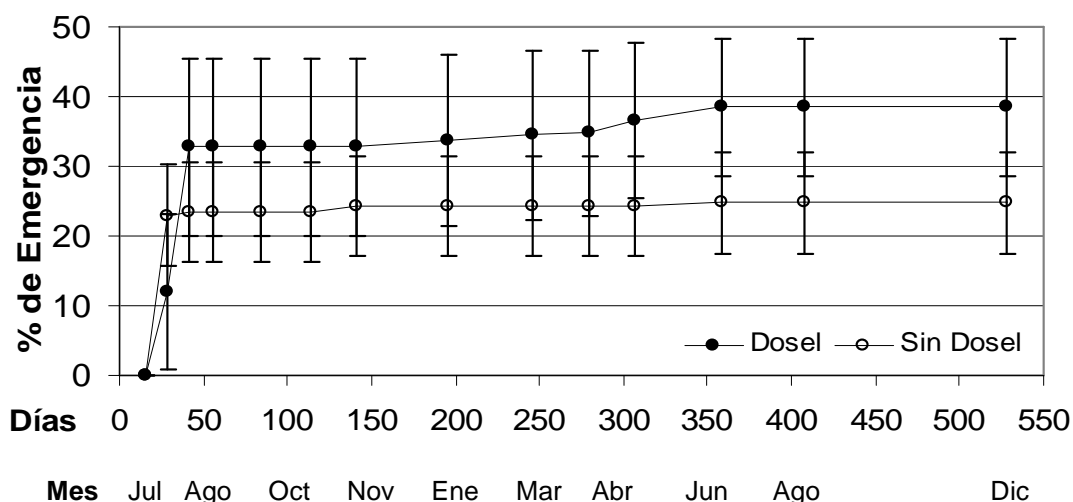
0.0000;  $F_{2,82} = 26.47$ ,  $P = 0.0000$ ;  $F_{2,82} = 6.20$ ,  $P = 0.0035$ ; respectivamente). De la misma manera la interacción entre el tiempo de enterramiento y el sitio donde éste se produjo muestra diferencias significativas en el G, la TMG, el TPG y la S ( $F_{12,82} = 12.57$ ,  $P = 0.0000$ ;  $F_{12,82} = 16.63$ ,  $P = 0.0000$ ;  $F_{12,82} = 7.67$ ,  $P = 0.0000$ ;  $F_{12,82} = 3.13$ ,  $P = 0.0016$ , respectivamente) (Fig.4).

Las gráficas del porcentaje de germinación en la figura 4, muestran que las semillas de *P. chende* se mantienen viables por lo menos durante 18 y 14 meses en luz blanca y rojo lejano, respectivamente. Además, se observa que el máximo porcentaje de germinación en ambas condiciones ambientales se obtuvo a los 8 meses de enterramiento, este periodo corresponde al mes de Febrero. El análisis de LSD mostró que la capacidad germinativa de las semillas enterradas en el suelo, disminuyó significativamente a los 10 y 12 meses, al mismo tiempo que el TPG aumentó significativamente durante el mismo periodo. Este patrón de comportamiento también se observó en las semillas germinadas en luz rojo lejano. La gráfica correspondiente a la condición de luz blanca muestra que después de 12 meses de enterramiento, el G y la TMG aumentaron significativamente mientras que el TPG disminuyó de los 12 a los 18 meses.

#### Germinación y viabilidad de semillas en el campo

La germinación y viabilidad de semillas en el campo se estudió a través de la emergencia de plántulas. La condición ambiental en la que se encontraban las semillas no intervino en la respuesta germinativa de esta especie, ya que no se observó que el efecto del dosel favoreciera significativamente el porcentaje final de emergencia ( $F_{1,7} = 3.83$ ,  $P = 0.0980$ ). El porcentaje de emergencia máximo en condición de dosel, se presentó a los 38 días y tuvo un valor de 32%; en cambio, el porcentaje de emergencia máximo en las semillas sin dosel ocurrió más rápido (23 días), pero fue menor (22%). El tiempo promedio en la emergencia de plántulas para las semillas que se encontraban bajo el dosel de un arbusto fue de 32 días y para las que se encontraban sin dosel fue de 27 días, aunque tampoco se encontraron diferencias significativas ( $F_{1,7} = 3.08$ ,  $P = 0.1298$ ) (Fig. 5).

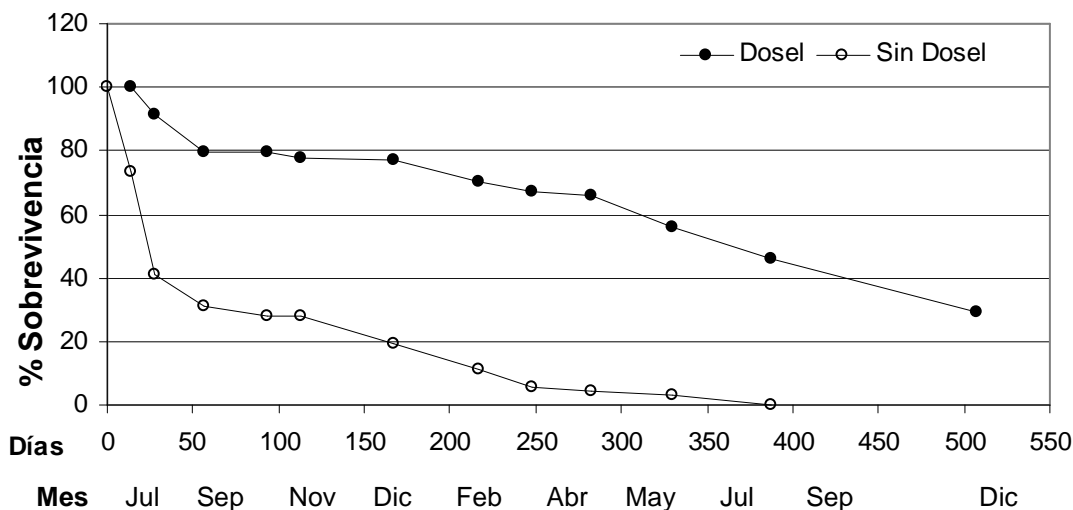
Un dato importante que se observó es que las semillas de *P. chende* permanecen viables en el suelo más de 408 días de enterramiento, ya que el periodo de tiempo en donde se registró el ultimo evento germinativo fue entre 408 a 528 días, en ambas condiciones ambientales (Fig. 5)



**Figura 5. Porcentaje de emergencia acumulado de las semillas en el suelo en condición ambiental de dosel y sin dosel. El número de repeticiones en ambas condiciones ambientales es igual a cuatro.**

### Sobrevivencia de plántulas en el campo

Después de que las semillas alcanzaron su máxima capacidad germinativa en condiciones naturales, y a pesar de que en esa época del año recibieron agua de lluvia (las semillas fueron sembradas a finales de junio del año pasado), se observó que las plántulas comenzaron a morir. Inclusive, una de las causas de su muerte fue precisamente la lluvia, por deslave o enterramiento de la plántula. De tal manera que, se tomó el tiempo de germinación máxima en cada condición ambiental como el tiempo cero para comenzar a evaluar la sobrevivencia de las plántulas. La figura 6 muestra el efecto de la condición ambiental en la sobrevivencia de las plántulas de *P. chende*. Estos resultados indican que existe un efecto altamente significativo ( $F_{1,95} = 124.95$ ,  $P = 0.0000$ ) del sitio en donde germina la plántula en su sobrevivencia.



**Figura 6. Porcentaje de sobrevivencia acumulado de las plántulas de *P. chende* en condición de dosel y sin dosel. El número de repeticiones para ambas condiciones ambientales fue igual a cuatro y se evaluó en 12 tiempos.**

### Banco de semillas

El número de semillas encontradas en el suelo a lo largo del tiempo, mostró diferencias significativas ( $F_{5,105} = 9.44, P = 0.0000$ ). También se encontró una diferencia altamente significativa respecto a la condición ambiental de la cual provenían las semillas ( $F_{1,105} = 94.01, P = 0.0000$ ). Sin embargo, la prueba de LSD con 95% de confianza indica que únicamente existieron diferencias significativas en función del tiempo en el mes de marzo. Aunado a esto durante este mismo mes se encontró la densidad de semillas más alta en ambas condiciones ambientales (Fig. 7). El coeficiente de dispersión resultó mayor a 1 en todos los meses.

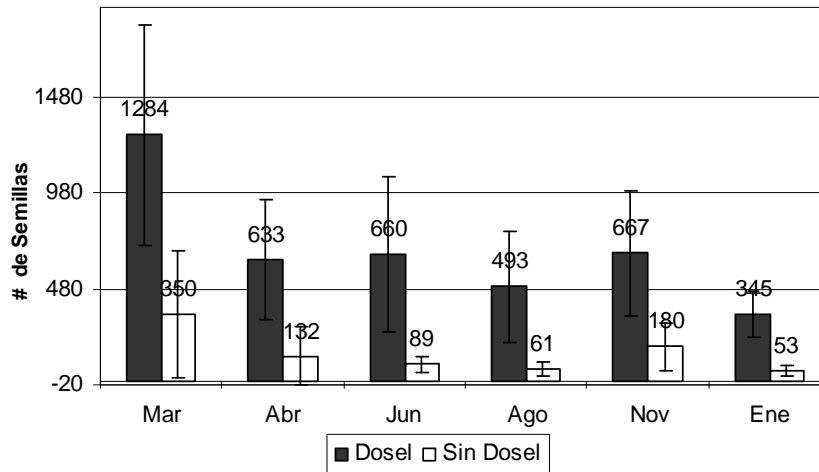


Figura 7. Densidad de semillas en el suelo por metro cuadrado durante el periodo de Marzo de 2006 a Enero de 2007, en condición de dosel y sin dosel. El número de repeticiones en el mes de marzo fue de 8 en ambas condiciones ambientales, en el resto de los meses el número de repeticiones fue de 9 en ambas condiciones ambientales.

### Envejecimiento acelerado

Las condiciones de envejecimiento acelerado a las que fueron sometidas las semillas (45 °C y 55% HR), no afectaron su capacidad germinativa, ya que no se obtuvo diferencia significativa en el G, entre las semillas envejecidas naturalmente y el tratamiento de envejecimiento acelerado ( $F_{1,85} = 0.15$ ,  $P = 0.6993$ ) a lo largo de un periodo de 25 meses (Fig. 8).

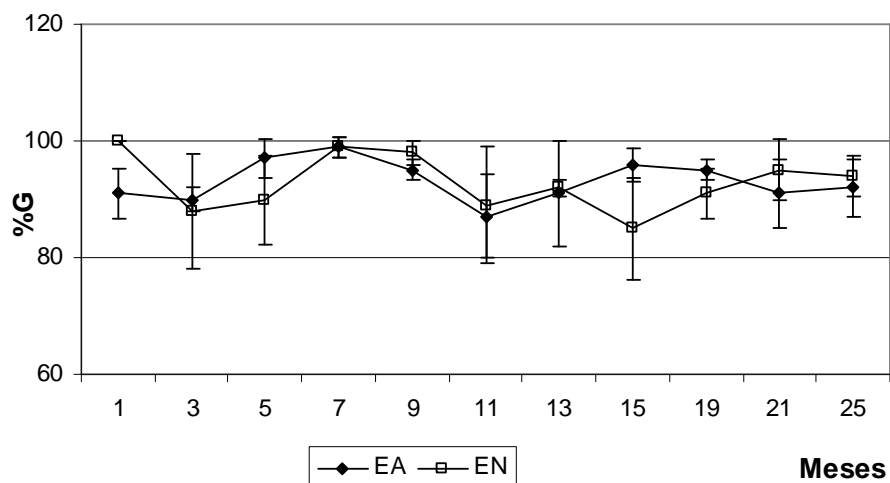
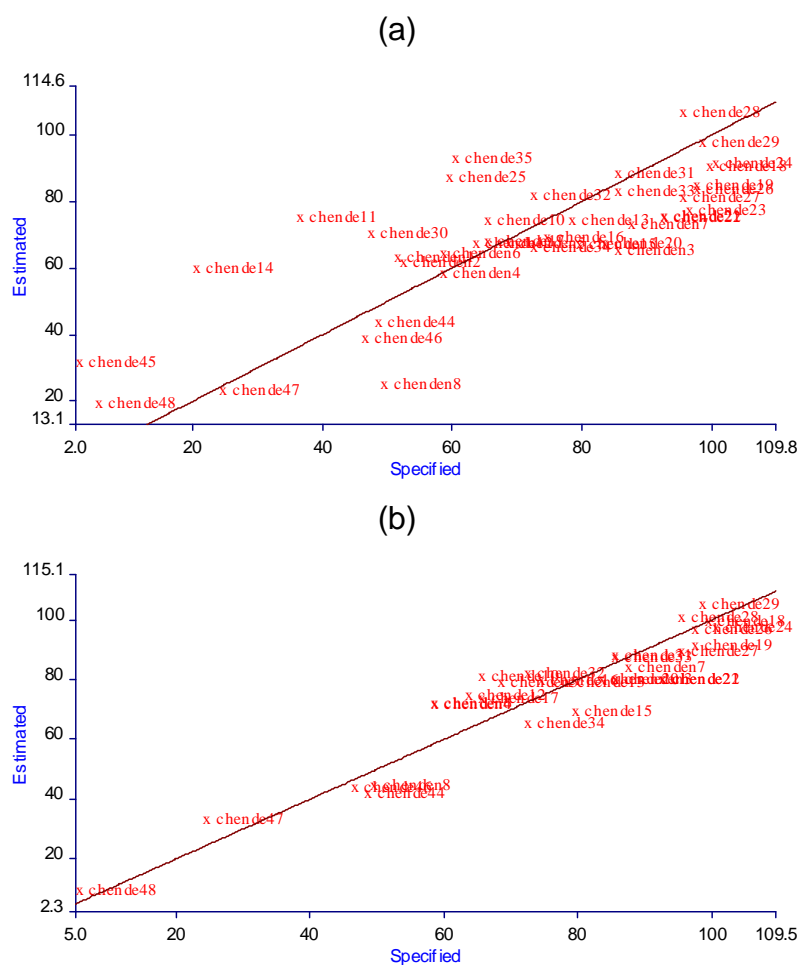


Figura 8. Porcentaje de germinación acumulada de las semillas de *P. chende* sometidas a envejecimiento acelerado (EA) (45°C - 55% de HR) y envejecimiento natural (EN). El número de repeticiones es de cuatro en todos los casos, excepto en el mes 5 y el mes 13 de envejecimiento natural en donde solamente se contó con tres repeticiones.

## Viabilidad y análisis quimiométrico

La estimación de la viabilidad por medio del método de NIRS, utilizando los espectros de infrarrojo correspondientes a todas las condiciones ambientales y de envejecimiento, generó una correlación de  $r = 0.77$  en relación a la viabilidad obtenida a través de pruebas de germinación. (Fig. 9a). En cambio, la correlación obtenida por este mismo método sin tomar en cuenta las semillas que fueron germinadas en luz rojo-lejano generó una correlación de  $r = 0.93$  (Fig. 9b).



**Figura 9. Viabilidad estimada por el método quimiométrico vs la viabilidad especificada, la cual se obtuvo por pruebas de germinación. (a) Incluyendo todas las condiciones ambientales y de envejecimiento. (b) Excluyendo los tratamientos de luz rojo-lejano.**

## DISCUSIÓN

El peso de las semillas de *P. chende* (0.75 mg) se sitúa dentro del umbral establecido por algunos autores para la persistencia de las semillas en el suelo. No se ha encontrado un patrón de comportamiento claro en la forma de las semillas, sin embargo, se ha sugerido que las semillas compactas y esféricas presentan más probabilidades de formar bancos de semillas persistentes. El tamaño y la forma de las semillas fueron propuestos como indicadores para predecir la persistencia de semillas en el suelo en plantas herbáceas del Reino Unido (Thompson *et al.*, 1993), encontrándose que las semillas pequeñas (hasta 3 mg) y con forma esférica son capaces de formar bancos de semillas persistentes. Esta hipótesis ha sido comprobada en diferentes tipos de vegetación del Reino Unido (Hodkinson *et al.*, 1998), Argentina (Funes *et al.*, 1999), Iran (Thompson *et al.*, 2001), Italia (Cerabolini *et al.*, 2003) y España (Peco *et al.*, 2003).

Los resultados obtenidos en los tratamientos previos indican que las semillas de *P. chende* germinan estrictamente en presencia de luz, por lo tanto estas semillas poseen fotoblastismo positivo. La existencia de requerimientos de luz para germinar es otro atributo que ha sido relacionado con el tamaño pequeño de las semillas (Grime *et al.*, 1981; Pons, 2000; Milberg *et al.*, 2000). Este fenómeno es importante porque ha sido señalado como una de las características que puede favorecer la formación de bancos de semillas en el suelo. (Pons, 1991; Bowers, 2000).

Por otro lado, el fotoblastismo positivo encontrado en *P. chende* concuerda con lo reportado por varios autores en diversas especies de cactáceas, algunas de ellas columnares, (Alcorn y Kurtz, 1959; McDonough, 1964; -Zimmer, 1969; Romero-Schmidt *et al.*, 1992; May, 1994; Maiti *et al.*, 1994- citados por Rojas-Aréchiga y Bátis, 2001; Nobel, 1988; Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997, 2001; Yang *et al.*, 2003; -Arias y Lemus, 1984; Campbell, 1988- citados por Benítez-Rodríguez, 2004; Flores *et al.*, 2006). Sin embargo, en cactáceas columnares no se ha encontrado un patrón de comportamiento en base al tipo de fotoblastismo que éstas presentan. Benítez-Rodríguez y colaboradores (2004) sugieren que la respuesta fotoblástica de las cactáceas columnares podría estar relacionada a su distribución geográfica o a su origen filogenético.

El aumento observado en el potencial germinativo de *P. chende* durante los primeros meses, y la promoción en su germinabilidad en los tratamientos con GA<sub>3</sub> revelan que las semillas de *P. chende* presentan una latencia fisiológica no profunda, como la mayoría de las especies (Baskin y Baskin, 2004). Estos datos concuerdan con un estudio biogeográfico llevado a cabo por Baskin y Baskin (2003a), quienes establecen que el 60 % de las especies que se distribuyen en desiertos cálidos presentan algún tipo de latencia fisiológica. Así mismo coincide con Finch-Savage y Leubner-Metzger (2006) quienes proponen un árbol filogenético de las semillas en donde ubican a las cactáceas en un grupo en el cual solo se presentan semillas con latencia fisiológica o sin latencia.

Las diferencias encontradas en los parámetros germinativos de los tratamientos con GA<sub>3</sub>, en relación al aumento en la TMG y la disminución en el TPG, se explican por que una de las funciones del GA es aumentar el potencial de crecimiento del embrión y promover su germinación (Kucera *et al.*, 2005). Adicionalmente, el GA promueve la germinación de especies latentes por su habilidad de superar el requerimiento de factores ambientales que son necesarios para la germinación, incluyendo post-maduración, luz y frío (Hilhorst *et al.*, 2006). Esto ha conducido a la hipótesis de que estos factores ambientales pueden inducir la biosíntesis de GA durante etapas tempranas de la germinación (Hilhorst y Karssen, 1992)

En este estudio se observó una diferencia significativa en el porcentaje de germinación acumulada y el tiempo promedio de germinación entre el mes cero y el primer mes de edad. A pesar de que el periodo es corto, se puede considerar que estas semillas necesitan este tiempo de envejecimiento para salir del estado de latencia en el cual se encuentran. Algunos autores han establecido que las semillas maduras, permeables al agua y recién colectadas se encuentran en un estado de latencia primaria; el cual ha sido inducido por la acción del ABA durante la maduración de la semilla en la planta madre (Hilhorst, 1995; Kucera *et al.*, 2005). Se ha reportado la interrupción de la latencia por un periodo de post-maduración en algunas especies de cactáceas (Zimmer, 1967, 1969, 1980, citado por Rojas-Aréchiga y Batis, 2001; Mandujano *et al.*, 1997, 2005; Bowers, 2000; Rojas-Aréchiga *et al.*, 2001; De la Barrera y Nobel, 2003; Flores *et al.*, 2004). Uno de los argumentos



que ha surgido para explicar el efecto del periodo de post-maduración establece que: la interrupción de la latencia por post-maduración presumiblemente causa un cambio en el catabolismo del ABA, resultando en una disminución en el contenido de ABA en el embrión y el aumento correspondiente en metabolitos inactivos del ABA (Gubler, *et al.*, 2005)

Adicionalmente, los resultados obtenidos en este trabajo mostraron una correlación positiva muy alta entre la edad de las semillas y su respuesta al tratamiento de luz rojo lejano. Ya que la sensibilidad de las semillas a la luz rojo lejano aumenta gradualmente hasta los siete meses, y se mantiene constante durante 15 meses sin diferencias respecto al tratamiento con luz blanca. Algunos estudios han demostrado el efecto promotorio de la luz roja y el efecto inhibitorio de la luz rojo lejano en la germinación de cactáceas (Alcorn y Kurtz, 1959; McDonough, 1964). Otros estudios demuestran que algunas especies de cactáceas son capaces de germinar en luz rojo lejano, en algunos casos sin diferencias significativas respecto a la luz blanca (Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997; Benítez-Rodríguez, 2004). Sin embargo, no se ha reportado el efecto promotorio de la edad de la semilla en la germinación bajo condiciones de luz rojo lejano.

La capacidad de las semillas de esta especie para germinar en luz rojo lejano, indica que estas semillas pueden germinar a unos cuantos milímetros de la superficie del suelo. Este comportamiento ha sido observado en varias especies de la misma área de estudio tales como: *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus robustus*, *F. flavovirens*, *F. recurvus*, *Pachycereus hollianus*, *Cephalocereus chrysacanthus* y *Neobuxbaumia tetetzo* (Rojas-Arechiga *et al.*, 1997) *Mammillaria haageana*, *M. carnea*, *M. mystax* y *M. supertexta* (Benítez-Rodríguez., 2004). Algunos autores han señalado que los requerimientos acerca de la calidad de la luz y la densidad de flujo fotónico pueden ser una desventaja para estas especies, ya que para poder germinar necesitan estar muy cerca de la superficie del suelo en donde están más expuestas a la depredación y la deshidratación (Steenbergh y Lowe, 1977, citado por Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997). En contraste, Benítez –Rodríguez y colaboradores (2004), establecen que la habilidad de germinar a bajas proporciones de R:RL probablemente facilita la germinación a cierta profundidad del suelo en donde hay mayor disponibilidad de humedad y la depredación es menor.

El comportamiento germinativo de las semillas exhumadas muestra un ciclo de latencia estacional producido por las condiciones ambientales que se presentan a lo largo del año. Esto es evidente por que la disminución en la germinabilidad de estas semillas estuvo relacionada a los meses de febrero a junio, periodo en el cual se presentaron las temperaturas más elevadas (30-35°C) y la temporada más seca del año, (datos no mostrados). Esto concuerda con lo reportado por Went y colaboradores (1948,1956, citados por Kigel, 1995), quienes propusieron que la lluvia y la temperatura son las principales variables que afectan la germinación de especies desérticas. Los ciclos anuales de latencia han sido ampliamente descritos y en la mayoría de los casos es la temperatura y/o la humedad las responsables de inducir la latencia secundaria en las semillas (Meyer y Kitchen, 1992; Probert, 2000; Baskin y Baskin 1993,1998, 2004; Hilhorst, 1998; Fenner y Thompson, 2005; Batlla y Benech-Arnold, 2006). Es importante señalar que, la característica de presentar ciclos de latencia en respuesta a factores ambientales está asociada con la formación de bancos de semillas persistentes en el suelo (Vleeshouwers *et al.*, 1995; Baskin y Baskin, 1998).

En este estudio, la emergencia de plántulas en el campo no fue significativamente afectada por la condición ambiental del dosel. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Flores *et al.*, (2004), quienes trabajaron con *Neobuxbaumia tetetzo* y *Pachycereus hollianus*, dos cactáceas columnares del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. En contraste, algunos autores han reportado que la emergencia de plántulas de cactáceas columnares es mayor bajo la sombra de arbustos que en espacios abiertos (Nobel, 1988; Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991; Nolasco *et al.*, 1997). Inclusive, Godínez-Álvarez y Valiente-Banuet (1998), trabajando con las mismas especies que Flores *et al.* (2004), no encontraron emergencia de plántulas en espacios abiertos. Por su parte, en *Carnegia gigantea* se observó que la disponibilidad de humedad en el suelo controla la emergencia de plántulas (Turner *et al.*, 1966; Steenbergh y Lowe, 1969; citados por Flores *et al.*, 2004), de manera que este factor puede explicar la diferencia entre los resultados obtenidos.

El tiempo promedio para la emergencia de las semillas en el campo fue muy semejante con lo reportado por Flores y colaboradores (2004), quienes establecen

una media de 34 días para la emergencia de plántulas de *N. tetetzo* y *P. hollianus*. Además, nuestros resultados indican que la emergencia de plántulas ocurre principalmente entre finales de julio y principios de agosto, y posteriormente la emergencia de plántulas es escasa. Esto se debe a que en los desiertos ocurren germinaciones masivas solamente después de que se presenta un umbral en la cantidad de precipitación (lluvias efectivas) (Kigel, 1995). Adicionalmente, este umbral debe ser mayor en desiertos con lluvias en verano por la alta tasa de evapotranspiración (Kigel, 1995). Los eventos germinativos posteriores deben ser producto de las condiciones micro ambientales (principalmente humedad y temperatura) prevalecientes en cada uno de los sitios en donde se encontraban las semillas.

Los experimentos de exhumación y la germinación *in situ* mostraron que las semillas de *P. chende* son capaces de mantenerse viables de una temporada de germinación a la siguiente. Esta característica es importante porque varios autores han señalado que las semillas que forman bancos persistentes deben ser capaces de permanecer viables bajo condiciones naturales, por lo menos durante 13 meses (Thompson y Grime, 1979; Ellis y Roberts, 1981) o permanecer viables de una temporada de germinación a la siguiente (Baskin y Baskin, 1998). Dentro del nuevo sistema de clasificación propuesto por Thompson y colaboradores (1997, citado por Fenner y Thompson, 2005), los datos obtenidos indican que las semillas de *P. chende* son capaces de formar un banco de semillas persistente de corto término.

En el presente estudio la sobrevivencia de plántulas en el campo concuerda con lo observado por Flores *et al.* (2004), en relación a que las plántulas que crecieron debajo de un dosel presentan mayor porcentaje de sobrevivencia. La presencia de vegetación frecuentemente previene el establecimiento de plántulas por la competencia de recursos. Sin embargo, en algunos casos la vegetación existente puede crear micro-habitats que fomentan el establecimiento de plántulas. A este fenómeno por el cual unas especies vegetales favorecen el establecimiento de otras es referido como facilitación (Fenner y Thompson, 2005). Este proceso ha sido reconocido ampliamente en zonas áridas, incluyendo algunas especies de cactáceas, y los principales beneficios obtenidos son: protección contra la radiación

solar, disminución en la temperatura del suelo, aumento en la humedad relativa, protección contra bajas temperaturas, aumento en el contenido de nitrógeno y protección contra depredadores (Turner *et al.*, 1966; Steenbergh y Lowe, 1969-citados por Flores *et al.*, 2004; McAuliffe, 1984; Franco y Nobel 1989; Valiente – Banuet y Ezcurra 1991; Flores-Martínez *et al.*, 1994; Nolasco *et al.*, 1997; Godínez-Álvarez *et al.*, 1999). Estas características pueden actuar en la formación de sitios seguros al proveer condiciones favorables para el establecimiento de las plántulas (Harper 1977).

Es importante mencionar que en base a los resultados obtenidos, las plántulas de *P. chende* sobrevivieron por más tiempo que las plántulas de *N. tetetzo* y *P. hollianus* reportadas por Flores y colaboradores (2004), la diferencia en las curvas de sobrevivencia de estas especies se puede deber a su tolerancia a la desecación y a las condiciones micro-ambientales prevalecientes durante cada estudio. Se ha reconocido que el principal factor de mortalidad para las plántulas de cactáceas es la desecación por irradiación solar (Valiente-Banuet y Godínez-Álvarez, 2002). Por su parte Noy-Meir (1985, citado por Kigel, 1995), propone que las principales causas de mortalidad en zonas áridas son la falta de agua y la depredación por herbívoros. La elevada mortalidad de plántulas en los desiertos refuerza la importancia de las características de los micro-habitats que pueden aumentar la disponibilidad de agua (Kigel, 1995). Este tipo de sitios son más importantes para las especies perennes porque estas tienen que sobrevivir a una temporada seca, en la cual están expuestas a temperaturas extremas y sequía (Kigel, 1995).

Por otro lado, basados en el coeficiente de dispersión, los resultados indican que la distribución del banco de semillas es agregada. Este tipo de distribución en las semillas se ha encontrado tanto en desiertos cálidos como en desiertos fríos y se atribuye a la dispersión por animales, viento y el arrastre ocasionado por lluvias fuertes (Reichman, 1979, 1984; Price y Reichman, 1987; Kemp, 1989; Kigel, 1995). La dispersión abiótica usualmente es importante en los desiertos, y la estructura de la vegetación así como la micro-topografía del suelo tienen una gran influencia en la redistribución de las semillas provocando arreglos de las semillas muy heterogéneos (Reichman, 1984).

Los datos obtenidos en relación al número de semillas en el suelo, no permiten establecer con claridad la permanencia de las semillas en el suelo por un periodo mayor de siete meses. Esto es debido a que durante el mes de octubre se presentó una época de floración que ocasionó un aumento en el número de semillas presentes en el suelo. En un estudio de la dinámica de bancos de semillas en zonas áridas, Kemp (1989), concluye que las especies perennes de desiertos cálidos no tienen bancos de semillas persistentes. También menciona que las especies perennes en el desierto del Gran Bassin, que parecen tener bancos de semillas persistentes, probablemente tienen continuas aportaciones al banco de semillas por floraciones múltiples o retardadas, en lugar de una población de semillas persistente.

En este estudio se observó que el 27% (dosel) y 15% (sin dosel) de las semillas encontradas inicialmente en el suelo permanecen en éste hasta el mes de enero. Esta disminución en el número de semillas fue ocasionada por depredación, algunos autores señalan que la principal causa de que las especies perennes en los desiertos no tengan bancos de semillas persistentes es la alta depredación (Kemp, 1989; Kigel, 1995). Los principales depredadores de semillas de cactáceas son aves, roedores y hormigas (Chew y Chef, 1970; Sosa-Fernández, 1997, citados por Montiel y Montaña 2003; Mares y Rosenzweig, 1978; Reichman, 1979; Davidson *et al.*, 1985; Montiel y Montaña, 2003). Aunque no es posible saber cuantas de estas semillas provienen de la primera época de dispersión y tomando en cuenta que el último muestreo se realizó faltando un mes para la nueva temporada de dispersión, se considera que un porcentaje de semillas es capaz de escapar a la depredación y permanecer en el suelo de una temporada de dispersión a la siguiente. Este fenómeno ha sido reportado por Bowers (2000), quien observó que los depredadores no necesariamente remueven todas las semillas disponibles, aun cuando tienen suficiente tiempo para hacerlo, y establece que alrededor del 2% de las semillas producidas por *Ferocactus wislizeni* permanecen en ó sobre el suelo cada año. Por su parte Montiel y Montaña (2003), encontraron que en las nopaleras y los pastizales del desierto de Chihuahua alrededor del 1 y 2%, respectivamente, de las semillas producidas por *Opuntia rastrera*, permanecen viables en el suelo de una temporada de dispersión a la siguiente.

Por último, las semillas de *P. chende* resultaron ser muy tolerantes a las condiciones de envejecimiento acelerado a las que fueron sometidas. En los análisis quimiométricos el porcentaje de varianza es equivalente al coeficiente de correlación y los valores aceptados para la validación del modelo son de 80% en adelante (Munck *et al.*, 2001). Los resultados obtenidos por el análisis quimiométrico demuestran que la estimación de la viabilidad por el método de NIRS es muy semejante a la obtenida en las pruebas de germinación, de acuerdo al valor del coeficiente de correlación calculado. Además, el porcentaje de varianza encontrado (88%) valida el modelo para predecir la viabilidad de las semillas de esta especie. En este estudio se pudo comprobar la funcionalidad del modelo generado, cuando se integran en el análisis los espectros correspondientes a las semillas que germinaron en luz rojo-lejano, ya que el coeficiente de correlación y el porcentaje de varianza disminuyeron notablemente en estas condiciones. Esto quiere decir que las semillas exhumadas germinadas en rojo-lejano tenían el potencial para germinar más pero la luz fue la limitante que condicionó este comportamiento. De manera que el análisis quimiométrico predice un porcentaje de germinación mayor para estas semillas, ya que se encontraban en un estado fisiológico semejante al de las semillas que fueron germinadas en luz blanca. Algunos autores han encontrado coeficientes de correlación y porcentajes de varianza semejantes en semillas de *Beaucarnea gracilis* (Zavaleta, 2003); *Neobuxbaumia mezcalaensis* y *N. tetetzo* (Lozada, 2005) y *Pachycereus hollianus* (Manuell, 2006).

## CONCLUSIONES

Basados en estos resultados se puede concluir que:

- 1) Las semillas de *P. chende* son fotoblásticas positivas, poseen latencia fisiológica no profunda y aumentan su repuesta y/o sensibilidad a la luz rojo lejano conforme avanza su edad.
- 2) Estas semillas reúnen seis de las características propuestas para formar bancos persistentes, las cuales son: semillas pequeñas, forma esférica, requerimiento de luz para germinar, un periodo de post-maduración, mantienen su viabilidad de una temporada de germinación a la siguiente, y presentan un ciclo de latencia anual.
- 3) Las semillas de *P. chende* mantienen una longevidad ecológica por lo menos durante 18 meses ya que mantienen una viabilidad arriba del 20% durante este periodo.
- 4) La emergencia de plántulas en el campo no es promovida por la condición ambiental de dosel.
- 5) La condición ambiental de dosel favorece la sobrevivencia de las plántulas de esta especie.
- 6) Las semillas de *P. chende* muestra un patrón de distribución agregada.
- 7) Las semillas de *P. chende* son muy tolerantes a las condiciones de envejecimiento acelerado de 55% HR y 45°C.
- 8) El método de NIRS resulta adecuado para la estimación de la viabilidad de las semillas de esta especie.
- 9) Finalmente, se considera que existen suficientes evidencias para determinar que las semillas de *P. chende* forman bancos de semillas persistentes de corto término.

## REFERENCIAS

- Alcorn, S. M. y Kurtz, E. B. 1959. Some factors affecting the germination of seed of the saguaro cactus (*Carnegiea gigantea*). American Journal of Botany **46**: 526–529.
- Alvarez-Aguirre, M. G. y Montaña; C. 1997. Germinación y supervivencia de cinco especies de cactáceas del Valle de Tehuacan: implicaciones para su conservación. Acta Botánica Mexicana **40**: 43-58.
- Baker, H. G. 1989. Some aspects of the natural history of seed banks, pp 9-21. En: M.A. Leck, V.T. Parker, y R.L. Simpson (eds) Ecology of Soil Seed Banks. Ac. Press Inc. San Diego, CA.
- Baskin, C. C. y Baskin, J. M. 1998. SEEDS: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination. San Diego, CA: Academic Press.666 pp.
- Baskin, C.C. y Baskin, J.M. 2003a. Classification, Biogeography and Phylogenetic Relationships of seed dormancy, pp. 517-544. En: R. Smith, J. Dickie, S. Linington, H. Pritchard and R. Probert (eds) Seed conservation: turning science into practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Baskin, C.C. y Baskin, J.M. 2003b. New approaches to the study of the evolution of physical and physiological dormancy, the two most common classes of seed dormancy on earth, pp. 371-380. En: G. Nicolás, K. J. Bradford, D. Côme y H.W. Pritchard (eds). The Biology of Seeds. Recent research advances. CABI Publishing Wallingford, Oxon,UK.
- Baskin, J.M. y Baskin, C.C.2004. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research **14**: 1-16.
- Batlla, D y Benech-Arnold, R.L. 2006. The role of fluctuations in soil water content on the regulation of dormancy changes in buried seeds of *Polygonum aviculare* L. Seed Science and Research **16**: 47-59.
- Benítez-Rodríguez, J. L., Orozco-Segovia, A. y Rojas-Arechiga, M. 2004. Light effect on seed germination of four *Mamillaria* species from the Tehuacan-Cuicatlan valley, central Mexico. The Southwestern Naturalist **49**: 11-17.
- Bewley, J. D. 1997. Seed germination and dormancy. Plant Cell **9**: 1055-1066.
- Bewley, J. D. y Black, M. 1994. Seeds – physiology of development and germination, 2nd edn. New York, NY, USA: Plenum Press.
- Bowers, J. E. 2000. Does *Ferocactus wislizeni* (Cactaceae) have a between-year seed bank? Journal of Arid Environments **45**: 197-205
- Bowers, J. E. 2005. New evidences for persistent or transient seed banks in three Sonora Desert cacti. South-western Naturalist **50**: 482-487.
- Bradford, K.J. 2004. Seed Production and Quality. Davis, CA: University of California. 138pp.
- Cabin, R. J., Mitchell, R. J. y Marshall, D. L. 1998. Do Surface Plant and Soil Seed Bank Population Differ Genetically? A Multipopulation Study of the Desert Mustard *Lesquerella fendleri* (Brassicaceae). American Journal of Botany **85**: 1098-1109.
- Cabin, R. J. y Marshall. D. L. 2000. The Demographic Role of Soil Seed Banks. I. Spatial and Temporal Comparisons of Below- and Above-Ground Populations of the Desert Mustard *Lesquerella fendleri*. The Journal of Ecology **88**: 283-292.



- Carmona, A. y Casas, A. 2005. Management, phenotypic patterns and domestication of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) in the Tehuacian Valley, Central Mexico. *Journal of Arid Environments* **60**:115–132
- Cerabolini, B., Ceriani, R.M., Caccianiga, M., De Andreas, R. y Raimondi, B. 2003. Seed size, shape and persistence in soil: A test on Italian flora from Alps to Mediterranean coasts. *Seed Science Research* **13**:75-85.
- Cruz, M. y Casas, A. 2002. Morphological variation and reproductive biology of *Polaskia chende* (Cactaceae) under domestication in Central Mexico *Journal of Arid Environments* **51**: 561–576
- Davidson, D. W. Samson, D. A. y Intuye, R. S. 1985. Granivory in the Chihuahuan Desert: interactions within and between trophic levels. *Ecology* **66**: 486-502.
- Dávila, P., Villaseñor, J. L., Medina, R., Ramírez, R., Salinas, T.; Sánchez-Ken y Tenorio, L. 1993. Listados florísticos de México X. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán. Inst. Biol., UNAM. Méx.
- De la Barrera, E. y Nobel, P. S. 2003. Physiological ecology of seed germination for the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis* *Journal of Arid Environments* **53**: 297-306
- Dell'Aquila, A. 1994. Wheat seed ageing and embryo protein degradation. *Seed Science and Research*. **4**: 293-298.
- Delouche, J. C. 2002. Germinación, deterioro y vigor de semillas. *Seed news*. [http://www.seednews.inf.br/espanhol/seed66/artigocapa66\\_esp.shtml](http://www.seednews.inf.br/espanhol/seed66/artigocapa66_esp.shtml) Fecha de consulta: Agosto 2003.
- Ellis, R. H. y Roberts, E. H. 1981. The quantification of aging and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology* **9**: 373–409.
- Ellis, R. H., Hong, T. D. y Roberts, E. H. 1983. Procedures for the safe removal of dormancy from rice seeds. *Seed Science and Technology* **11**: 72-112.
- Ellis, R. H., Hong, T. D. y Roberts, E. H. 1989. 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., Hong, T. D. y Roberts, E. H. 1995. Survival and vigour of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds stored at low and very low moisture contents. *Annals of Botany* **76**: 521-534
- Fenner, M. y Thompson, K. 2005. *The Ecology of Seeds*. Cambridge University Press, UK. 250p.
- Finch-Savage y Leubner-Metzger. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* **171**:501-523.
- Flores-Martínez, A., Ezcurra, E. y Sanchez-Colon, S. 1994. Effect of *Neobuxbaumia tetetzo* on growth and fecundity of its nurse plant *Mimosa luisana*. *Journal of Ecology* **82**: 325-330.
- Flores, J., Briones, O., Flores, A. y Sanchez-Colon, S. 2004. Effect of predation and solar exposure on the emergence and survival of desert seedlings of contrasting life-forms. *Journal of Arid Environments* **58**: 1-18.
- Flores, J., Jurado, E. y Arredondo, A. 2006. Effect of light on germination of seeds of *Cactaceae* from the Chihuahuan Desert, Mexico. *Seed Science and Research* **16**: 149-155

- Franco, A. C. y Nobel, P. S. 1989. Effect of nurse plants on the microhabitat and growth of cacti. *Journal of Ecology* **77**: 870-886
- Funes, G., Basconcelo, S., Díaz, S. y Cabido, M. 1993. Seed size and shape are good predictors of seed persistence in soil in temperate mountain grasslands of Argentina. *Seed Science Research* **9**: 341-345.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM, México. 153 p.
- García-Fayos, P., Cerdá, A., Recatalá, T. M. y Calvo, A. 1995. Seed population dynamics on badland slopes in SE Spain. *Journal of Vegetation Science* **6**: 691-696.
- Godínez-Álvarez, H. y Valiente-Banuet, A. 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.
- Godínez-Álvarez, H., Valiente-Banuet, A. y Valiente-Banuet, L. 1999. Biotic interactions and the population dynamics of the long-lived columnar cactus *Neobuxbaumia tetetzo* in the Tehuacan valley Mexico. *Canadian Journal of Botany* **77**: 203-208.
- Grime, J. P., Mason, G., Curtis, A. V., Roden, J., Band, S. R., Mowforth, M. A. G., Neal, A.M. y Shaw, S. 1981. A comparative study of germination characteristics in a local flora. *Journal of Ecology* **69**: 1017-1059.
- Gubler, F., Millar, A. y Jacobsen, J. 2005. Dormancy release, ABA and pre-harvest sprouting. *Current Opinion in Plant Biology* **8**: 183-187.
- Guo, Q. Rundel, F. y Goodall, D. 1998. Horizontal and vertical distribution of desert seed banks: patterns, causes, and implications. *Journal of Arid Environments* **38**: 465-478.
- Harper, J.L. 1977. *Population Biology of Plants*. Academic Press, London, 892p.
- Hay, F. R., Mead, A., Manger, K. y Wilson, F. J. 2003. One-step analysis of seed storage data and the longevity of *Arabidopsis thaliana* seeds. *Journal of Experimental Botany* **54**: 993-1011.
- Hendry, G. 1997. Free radical in seeds-moving the debate forward, 657-663 pp. En: R. Ellis, M. Black, A. Murdoch y T. Hong (eds) *Basic and Applied Aspects of Seed Biology*. Kluwer Academic Publishers. GB..
- Hernández, H.M. y Gomez-Hinostrosa, C. 2002. An integrated approach to the conservation of cacti in Mexico, pp. 348-367. En: C. Hankamer, M. Maunder, C. Clubbe y M. Groves (eds) *Plant conservation in the tropics perspective and practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Hilhorst, H. W. M y Karssen, C. M. 1992. Seed dormancy and germination: The role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants. *Plant Growth Regulation* **11**:225-238.
- Hilhorst, H. W. M. 1995. A critical update in seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science and Research* **5**: 61-73.
- Hilhorst, H. W. M. 1998. The regulation of secondary dormancy: the membrane hypothesis revisited. *Seed Science and Research* **8**: 77-90.

- Hilhorst, H. W. M., Bentsink, L. y Koornneef, M. HB. 2006. Chapter 10 Dormancy and Germination, pp 271-302. En: A.S. Basra, (ed) Handbook of Seed Science and Technology. CRC Press.
- Hodkinson, D. J., Askew, A. P., Thompson, K., Hodgson, J. G., Bakker, J. P. y Bakker, R. M. 1998. Ecological correlates of seed size in the British floral. *Functional Ecology* **12** 762-766.
- Hulme, P. E. 1998. Post-dispersal seed predation: consequences for plant demography and evolution. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **1**: 32–46.
- Kemp, P. R. 1989. Seed banks and vegetation processes in deserts, pp.257-281. En: M.A. Leck, V.T. Parker, y R.L. Simpson (eds) *Ecology of Soil Seed Banks*. Ac.Press Inc. San Diego, CA.
- Kigel, J. 1995. Seed germination in arid and semiarid regions, pp. 645–699. En: J. Kigel y G. Galili (eds) *Seed development and germination*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Kucera, B., Cohn, M.A. y Leubner-Metzger. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science and Research* **15**: 281-307.
- Leck, M.A. 1989. Wetland seed banks, pp.283-305. En: M.A. Leck, V.T. Parker, y R.L. Simpson (eds) *Ecology of Soil Seed Banks*. Academia Press Inc. San Diego, CA
- Leishman, M. R. y Westoby, M. 1998. Seed size and shape are not related to persistence in soil in Australia in the same way as in Britain. *Functional Ecology* **12**: 480-485.
- Leubner-Metzger, G. 2005.  $\beta$ -1,3-Glucanase gene expression in low-hydrated seeds as a mechanism for dormancy release during tobacco after-ripening. *The Plant Journal* **41**: 133-145.
- Liu, Z., Yan, Q., Liu, B., Ma, J. y Luo, Y. 2007. Persistent soil seed bank in *Agriophyllum squarrosum* (Chenopodiaceae) in a deep sand profile: Variation along a transect of an active sand dune. *Journal of Arid Environments* **71**: 236-242.
- López-Mariño, A., Luís-Calabuig, E., Fillat, F. y Bermúdez, F. F. 2000. Floristic composition of established vegetation and the soil seed bank in pasture communities under different traditional management regimes. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **78**:273-282.
- Lozada Villegas Yolanda. 2005. Peroxidación de ácidos grasos de semillas de *Neobuxbaumia tetetzo* y *Neobuxbaumia mezcalaensis* en condiciones de almacenamiento a largo plazo. Tesis de Licenciatura ( Biología), FES-Iztacala UNAM. Mexico.
- Mandujano, M. C., Golubov, J. y Montana, C. 1997. Dormancy and endozoochorous dispersal of *Opuntia rastrera* in the Southern Chihuahua Desert. *Journal of Arid Environments* **36**:259–266.
- Mandujano, M. C., Montaña, C. y Rojas-Aréchiga, M. 2005. Breaking seed dormancy in *Opuntia rastrera* from the Chihuahuan Desert. *Journal of Arid Environments* **62**:15-21.
- Mares, M. A. y Rosenzweig, M. L. 1978. Granivory in North and South American deserts: rodents, birds, and ants. *Ecology* **59**: 235–241.
- Mayor, M. D., Bóo, R. M., Peláez, D. V. y Elía, O. R. 1999. Seasonal variation of the seed bank of *Medicago minima* and *Erodium cicutarium* as related to grazing history and presence of shrubs in central Argentina. *Journal of Arid Environments* **43**: 205–212.
- Mayor, M. D., Bóo, R. M., Peláez, D. V. y Elía, O. R. 2003. Seasonal variation of the soil seed bank of grasses in central Argentina as related to grazing and shrub cover. *Journal of Arid Environments* **53**: 467-477.

- McAuliffe, J. R. 1984. Sahuaro-nurse tree association in the Sonoran Desert: competitive effects of sahuaros. *Oecologia* **64**: 319-321.
- McDonough, W. 1964. Germination responses of *Carnegie gigantea* and *Lemaireocereus thurberi*. *Ecology* **45**:155–159.
- Meyer, S. E. y Kitchen, S. G. 1992: Cyclic Seed Dormancy in the Short-Lived Perennial *Penstemon Palmeri*. *The Journal of Ecology* **80**: 115-122.
- Milberg, P., Andersson, L. y Thompson, K. 2000. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research* **10**: 99-104.
- Montiel Ortega, S. 1999. Ecología de la dispersión y banco de semillas de *Opuntia rastrera* (Cactácea) en el sureste del Desierto Chihuahuense, México. Tesis de Doctorado. Instituto de Ecología, A.C. UNAM. Mexico.
- Montiel, S. y Montaña, C. 2003. Seed bank dynamics of the desert cactus *Opuntia rastrera* in two habitats from the Chihuahuan Desert. *Plant Ecology* **166**: 241-248.
- Moriuchi, K. S., Venable, D. L., Pake, C. E. y Lange, L. 2000. Direct Measurement of the Seed Bank Age Structure of a Sonoran Desert Annual Plant. *Ecology* **81**: 1133-1138.
- Munck, L., Pram, N., Moller, B., Jacobsen, S., Sondergaard, I., Engelsen, S., Norgaard, L. y Bro, R. 2001. Exploring the phenotypic expression of a regulatory proteome-altering gene by spectroscopy and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* **446**: 171-186.
- Murdoch, A. J. 1998. Dormancy cycles of weed seeds in soil. *Aspects of Applied Biology* **51**: 119-126.
- Murdoch, A. J. y Ellis, R. H. 2000. Dormancy, viability and longevity Chapter 8, pp. 183-214. En: M. Fenner (ed) *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. CAB International.
- Nobel, P. S. 1988. *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. Cambridge University Press: New York.
- Nolasco, H., Vega-Villasante, F. y Díaz-Rondero, A. 1997. Seed germination of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) under different solar irradiation levels. *Journal of Arid Environments* **36**: 123-132.
- Olvera Carrillo, Yadira. 2001. Estudio ecofisiológico de la germinación sobrevivencia y crecimiento de *Opuntia tomentosa* S.D. en la Reserva del Pedregal de San Angel. Tesis Licenciatura (Biología), Facultad de Ciencias UNAM. Mexico
- Olvera-Carrillo, Y., Márquez-Guzmán, J., Barradas, V., Sánchez-Coronado, M. E. y Orozco-Segovia, A. 2003. Germination of the hard seed coated *Opuntia tomentosa* S.D., a cacti from the México valley. *Journal of Arid Environments* **55**: 29–42
- Peco, B., Traba, J., Levassor, C., Sanchez, A. M. y Azcarate, F. M. 2003. Seed size, shape and persistence in dry Mediterranean grass and scrublands. *Seed Science Research* **13**: 87-95.
- Pérez-Vich B., Velasco, L. y Fernández-Martínez J. 1998. Determination of seed oil content and fatty acid composition in sunflower through the analysis of intact seeds, husked seeds, meal and oil by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists Society* **75**: 547-555.
- Pons, T. L. 2000. Seed responses to light, pp. 237-260. En: M. Fenner (ed) *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. Wallingford: CABI Publishing,

- Potter, R. L., Petersen, J. L. y Ueckert, D. N. 1984. Germination responses of *Opuntia spp.* to temperature, scarification and other seed treatments. *Weed Science* **32**: 106–110.
- Priestley, D. 1986. Seed ageing. Cornell University Press. USA. 39-75.
- Price, M. V. y Reichman, O. J. 1987. Distribution of Seeds in Sonoran Desert Soils: Implications for Heteromyid Rodent Foraging. *Ecology* **68**: 1797-1811.
- Probert, R. J. 2000. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination, pp. 261–292 En: M. Fenner (ed). *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- Pugnaire, F. I. y Lázaro, R. 2000. Seed bank and Understorey Species Composition in a Semi-arid Environment: The Effect of Shrub Age and Rainfall. *Annals of Botany* **86**: 807-813.
- Reichman, O. J. 1979. Desert granivore foraging and its impact on seed densities and distributions. *Ecology* **60**: 1095–1092.
- Reichman, O.J. 1984. Spatial and temporal variation in seed distributions in Sonoran Desert soils. *Journal of Biogeography* **11**: 1–11.
- Ribas-Fernández, Y., Quevedo-Robledo, L. y Pucheta, E. 2008. Pre- and post-dispersal seed loss and soil seed dynamics of the dominant *Bulnesia retama* (Zygophyllaceae) shrub in a sandy Monte desert of western Argentina  
*Journal of Arid Environments*, In Press, Corrected Proof, Available online 29 January 2008.
- Roberts, E. y Ellis, R. 1989. Water and seed survival. *Annals of Botany* **63**: 39-52.
- Robertson, J. y Barton, F. 1984. Oil and water analysis of sunflower seed by near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists Society* **61**: 543-547.
- Rojas-Aréchiga, M., Orozco-Segovia, A. y Vázquez-Yanes, C. 1997. Effect of light on the germination of seven species of cacti from the Zapotitlán Valley in Puebla, México. *Journal of Arid Environments* **36**: 571–578.
- Rojas-Aréchiga, M., Vázquez-Yanes, C. y Orozco-Segovia, A. 1998. Seed response to temperature of two life forms of Mexican cacti species: an ecophysiological interpretation. *Plant Ecology* **135**: 207-214.
- Rojas-Aréchiga, M. y Vázquez-Yanes, C. 2000. Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments* **44**: 85-104:
- Rojas-Aréchiga, M., Casas, A. y Vázquez-Yanes, C. 2001. Seed germination of wild and cultivated *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) from the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Central México: *Journal of Arid Environments* **49**: 279-287
- Rojas- Aréchiga, M. y Batis, A. I. 2001. Las semillas de cactáceas... ¿forman bancos en el suelo?. *Cactáceas y suculentas mexicanas* **46** (4): 76- 82
- Rzedowski, J. 1978. *Vegetación de México*. Editorial Limusa. México. 432 p.
- Sharif-Zadeh, F. y Murdoch, A. J. 2001. The effects of temperature and moisture on after-ripening of *Cenchrus ciliaris* seeds. *Journal of Arid Environments* **49**: 823-831.
- Silvius, K. M. 1995. Avian consumers of cardon fruits (*Stenocereus griseus*: Cactaceae) on Margarita Island, Venezuela. *Biotropica* **27**: 96–105.
- Srivastava, L.M. 2002. *Plant Growth and Development*. Academic Press. China. 772 p.

- Stewart, R. y Bewley, P. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology* **65**: 245-248.
- Thompson, K. 1987. Seed and seed banks. *New Phytologist* **106**: 23-48.
- Thompson, K y Grime, J. P. 1979. Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. *Journal of Ecology* **67**: 893-921.
- Thompson, K., Band, S.R. y Hodgson, J.G. 1993. Seed size and shape predict persistence in soil. *Functional Ecology* **7**: 236-241
- Thompson, K. 2000. The functional ecology of soil seed banks Chapter 9. pp. 215-235. En: M. Fenner (ed) *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. CAB International
- Thompson, K., Jalili, A., Hodgson, J.G., Hamzeh'ee, B., Asri, Y., Shaw, Shirvany, A., Yazdani, S., Khoshnevis, M., Zarrinkamar, F., Ghahramani, M. y Safavi, R. 2001. Seed size, shape and persistence in the soil in an Iranian flora. *Seed Science Research* **11**:345-355
- Valiente-Banuet, A y Ezcurra, E. 1991. Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse shrub *Mimosa luisina* in the Tehuacan Valley, Mexico. *J. of Ecology* **79**:961-971.
- Valiente-Banuet, A. y Godínez-Álvarez, H. 2002. Chapter 6 Population and Community Ecology. En: P.S. Nobel (ed). *CACTI: Biology and Uses*. University of California Press, Berkley USA. pp. 91-108.
- Vázquez-Yanes, C., Orozco-Segovia, A., Rojas-Aréchiga, M., Sanchez-Coronado, M.E. y Cervantes, V. 1997. La reproducción de las plantas: semillas y meristemas. *La Ciencia Para Todos*. Fondo de Cultura Económica. Mexico, D.F.
- Velasco, L., Fernández-Martínez, J. y De Haro, A. 1997. Determination of the fatty acid composition of the oil in intact-seed mustard by near-infrared reflectance spectroscopy. *American Oil Chemists' Society* **74**: 1595-1602.
- Velasco, L., Matthäus, B. y Möllers, C. 1998. Nondestructive assessment of sinapic acid esters in *Brassica* species: I. Analysis by near infrared reflectance spectroscopy. *Crop Science* **38**: 1645-1650.
- Velasco L., Möllers, C. y Becker, H. 1999. Estimation of seed weight, oil content and fatty acid composition in intact single seeds rapeseed (*Brassica napus* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy. *Euphytica* **106**: 79-85.
- Vergara, Fred. 2002. Inducción de envejecimiento artificial en semillas de *Stenocereus stellatus* y *Brassica napus* L. y su posible relación con la peroxidación de ácidos grasos. Tesis de Licenciatura (Biología), FES-Iztacala UNAM. Mexico
- Villaseñor, J. L.; Dávila, P. y Chiang, F. 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacan-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. México* **50**:135-149.
- Vleeshouwers, L. M., Bouwmeester, H. J. y Karssen, C. M. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology* **83**: 1031-1037.
- Wang, S. M., Zhang, X., Li, Y., Zhang, L., Xiong, Y.C. y Wang, G. 2005. Spatial distribution patterns of the soil seed bank of *Stipagrostis pennata* (Trin.) de Winter in the Gurbantonggut Desert of north-west China. *Journal of Arid Environments* **63**: 203-222.

- Wilson, D. O. jr., MacDonlad, M. B. jr. 1986. The lipid peroxidation model of seed ageing. *Seed Science and Technology* **14**: 269-300.
- Zavaleta Pastor Maritza. 2003. Relación entre los niveles de ácidos grasos insaturados y la viabilidad en semillas de *Hechtia podantha* y *Beaucarnea gracilis* durante el envejecimiento acelerado. Tesis de Licenciatura (Biología), FES-Iztacala UNAM. Mexico
- Yang, X., Pritchard, H. W. y Nolasco, H. 2003. Effects of temperature on seed germination in six species of Mexican *Cactaceae* pp. 575-588. En: R. Smith, J. Dickie, S. Linington, H. Pritchard and R. Probert (eds) *Seed conservation: turning science into practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey, 929p.