



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

**EFFECTO DEL ACONDICIONAMIENTO HÍDRICO Y NATURAL EN
DOS ESPECIES DE LA SELVA TROPICAL: *CUPANIA GLABRA*
SWARTZ y *CYMBOPETALUM BAILLONII* FRIES**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ÁNGEL GABRIEL BECERRA VÁZQUEZ

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. ALMA DELFINA LUCÍA OROZCO SEGOVIA,
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM**

COMITÉ TUTOR:

**DRA. SOBEIDA SÁNCHEZ NIETO, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM
DR. RICARDO REYES CHILPA, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM**

MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE, 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

**EFFECTO DEL ACONDICIONAMIENTO HÍDRICO Y NATURAL EN DOS
ESPECIES DE LA SELVA TROPICAL: *CUPANIA GLABRA* SWARTZ y
CYMBOPETALUM BAILLONII FRIES**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ÁNGEL GABRIEL BECERRA VÁZQUEZ

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. ALMA DELFINA LUCÍA OROZCO SEGOVIA,
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM**

COMITÉ TUTOR:

**DRA. SOBEIDA SÁNCHEZ NIETO, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM
DR. RICARDO REYES CHILPA, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM**

MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE, 2013

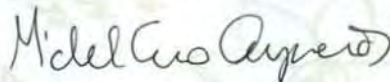
Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas, en su sesión ordinaria del día 03 de junio de 2013, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del Posgrado en Ciencias Biológicas, del alumno **BECERRA VÁZQUEZ ÁNGEL GABRIEL** con número de cuenta: **404058476** con la tesis titulada: "**EFFECTO DEL ACONDICIONAMIENTO HÍDRICO Y NATURAL EN DOS ESPECIES DE LA SELVA TROPICAL: CUPANIA GLABRA SWARTZ Y CYMBOPETALUM BAILLONII FRIES.**" bajo la dirección de la **DRA. ALMA DELFINA LUCIA OROZCO SEGOVIA:**

Presidente: DRA. ALICIA GAMBOA DE BUEN
Vocal: DR. HORACIO ARMANDO PAZ HERNÁNDEZ
Secretario: DRA. SOBEIDA SÁNCHEZ NIETO
Suplente: DR. ROBERTO ANTONIO LINDIG CISNEROS
Suplente: DRA. MARTHA JUANA MARTÍNEZ GORDILLO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 27 de agosto de 2013.



DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del interesado.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM, por constituir una sólida etapa de conocimientos y experiencias teórico-prácticas en mi formación profesional. También, al Programa de Apoyo a Estudiantes de Posgrado (PAEP), de la UNAM, por el apoyo otorgado para asistir al 7º Taller Internacional sobre Manejo Sostenible de los Recursos Forestales, celebrado en el marco del II Simposio Científico Internacional “Universidad de Pinar del Río 2012” (Pinar del Río, Cuba, 2012)

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el otorgamiento de la beca para la realización de mis estudios de posgrado (número de becario 255132).

También extendo mi agradecimiento al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, UNAM, por el financiamiento del Proyecto “Respuesta germinativa de especies de ecosistemas contrastantes al acondicionamiento hídrico y al acondicionamiento natural” (PAPIIT IN201912), del cual el presente trabajo, y además, aportó una beca para la culminación de mis estudios de posgrado.

Agradezco a la Dra. Alma Delfina Lucía Orozco Segovia, por aceptarme como su estudiante, y por dirigir este trabajo de investigación; por brindarme las facilidades académicas, técnicas y personales, todas ellas indispensables para la correcta realización y culminación de este trabajo.

A los miembros de mi Comité Tutor: a la Dra. Sobeida Sánchez Nieto, y al Dr. Ricardo Reyes Chilpa, cuya disposición inmediata, asesoría y comentarios, representaron una parte complementaria en la realización del trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Cuando uno llega a un puerto nuevo, desconoce cómo serán las condiciones que se presentarán. Éstas dependerán en gran medida de la autoridad principal, de la o el líder responsable. Normalmente, existen temores y precauciones. Afortunadamente para mí, puedo decir que llegué a buen puerto, en el que pronto aparecieron las satisfacciones con forma de conocimiento y aprendizaje, y cuya responsable representa una gran fuente de conocimientos y experiencias. Esa responsable es la Dra. Alma Orozco Segovia. Dra. Alma, le agradezco mucho su ayuda en todos los aspectos. Es para mí un placer haberla conocido, y haber trabajado a su lado, pues ha coadyuvado a mi crecimiento profesional y personal. Su gran calidad como persona habla por sí sola, por lo que, sin duda alguna, su amistad es invaluable.

Es mi deseo agradecer profundamente, además, a la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas”. Principalmente, a la Jefa de la Estación, la Bióloga Rosamond Coates, qui en en todo momento mostró disposición y amabilidad para brindarme todas las facilidades durante mis estancias de trabajo en la Estación, y, sobre todo, por brindarme su amistad. Estoy a sus órdenes. Al personal de la Estación, a Doña Artemia, Luz, Don Gilberto, Jorge, Raúl, y Francisco. Y, sobre todo, a la Téc. en Manejo de Vida Silvestre Ismari Ramírez Lucho, por el apoyo técnico. Isma, muchas gracias por toda tu ayuda, eres una persona entregada y tenaz; tu amistad es una muestra de la calidez humana de Los Tuxtlas, y sin duda alguna ha sido muy grato haberte conocido. A los Srs. Heladio Velasco, y Henry Velasco, quienes participaron en la recolecta del material biológico en la región, y cuya gran experiencia agilizó en gran medida el procesamiento de la misma.

A los miembros del Jurado: Dra. Alicia Gamboa de Buen, Dr. Horacio Armando Paz Hernández, Dra. Sobeida Sánchez Nieto, Dr. Roberto Antonio Lindig Cisneros, y Dra. Martha Juana Martínez Gordillo. Todos ellos aportaron observaciones precisas, y sugerencias positivas para el mejoramiento de este trabajo.

A la comunidad de Magallanes, en Tatahuicapan de Juárez, Veracruz, sitio que, a pesar de su pequeñez, destaca por su bella sencillez. Un pedacito de México cuyos ciñentos se ciernen en el Golfo, y en donde los vientos frescos provenientes del mar tornan amable el rudo transcurrir cotidiano. Agradezco enormemente al Sr. Simplicio Mateo González, quien desinteresadamente, y con el ánimo de aprender, concientizar y ayudar, prestó toda la atención necesaria para el trabajo de campo. A su esposa, la Sra. Juana Gutiérrez, por su simpatía, calidez y hospitalidad. Gracias a ambos por extenderme su mano y amistad. A Rubén Mateo Gutiérrez, por el apoyo técnico en campo, en la identificación y recolecta de material biológico. Rubén, tu ayuda fue muy importante por tu gran conocimiento y experiencia en el campo; es bonito para mí decir que cuento con tu amistad, al igual que la de toda tu familia. A Iván Mateo Lorenzo y familia. Iván, gracias por tu disposición en todo momento; gracias por tu amistad. Para todos ellos, mi más sincera felicitación y admiración, pues son un ejemplo palpable de la preocupación real en torno a la conservación y aprovechamiento de nuestros recursos naturales, a pesar de que, ellos, tienen una situación económica delicada, que pone en contexto la realidad del campo mexicano. Esto nos invita, y exige, a acercarnos como profesionistas al contexto social.

Es justo agradecerles al Dr. Noé Velázquez Rosas, y al Ing. Agr. Herminio Ramírez López, cuya ayuda fue primordial al establecer el contacto con la comunidad de Magallanes.

A la Dra. Sobeida Sánchez Nieto, y al Laboratorio del Departamento de Bioquímica, en la Facultad de Química de la UNAM, quienes brindaron la atención necesaria para la realización de ensayos bioquímicos en las semillas. Dra. Sobeida, gracias por su amistad.

Al Laboratorio de Ecología Fisiológica, en el Instituto de Ecología de la UNAM: a la M. en C. María Esther Sánchez Coronado, a la Dra. Diana Soriano Fernández, y al M. en C. Jorge Arturo Martínez Villegas, por su asesoría en el manejo de los datos y el software concerniente, a la aplicación e interpretación de pruebas estadísticas, y en la disposición de bibliografía pertinente. Al M. en C. Pedro Eloy Mendoza Hernández, por el apoyo en el traslado de plántulas y sustrato. A la Dra. Alicia Gamboa de Buen, por su apoyo y cordialidad. A la Técnico Laura Edith Malagón de la Torre, por su apoyo técnico en el trabajo de laboratorio.

Agradezco a las personas que me brindaron apoyo técnico y metodológico: Yoli Mariana Medina Romero, Marisol Sánchez García, María Beatriz Pérez Morales, Laura Alexandra Rengifo Correa, Alejandra Rosete Rodríguez, Ximena Gómez Maqueo, Luis Alberto Herrerías Mier, Jorge Arturo Martínez Villegas, Alfredo González Zamora, Luis Vidal Pedrero López, y Humberto Peraza Villarreal.

Agradecimientos a la Lic. Patricia Martínez Reyes, por su disposición, amabilidad, y en muchos casos, ayuda, flexibilidad y comprensión en la realización de trámites concernientes al Posgrado. Al personal de la Unidad de Información Biblioteca, y de la Unidad de Cómputo, del Instituto de Ecología, por el apoyo recibido.

No todo es chamba, ¡eeeee! Un buen ánimo es fundamental para el correcto desempeño del ser humano en cualquier rubro, por lo que un ambiente sano y divertido es lo ideal para alcanzarlo, pues mitiga el cansancio físico e intelectual, y disipa el estrés. Claro, sin caer en los excesos. A los chavos del lab, quienes de verdad están pintados para estar siempre de buen humor, y para ponerlo a uno en el mismo estado, siendo que yo, como ustedes sabrán, soy tímido, muy juicioso y bien portado (seeee), jejejeje: a Esther, Marimar (Mari), Elsa, Ximena (Mena), Ale 1 y Ale 2 (Ei Rou y Ei Lou), Laura (la comadre), Sandra, Karo, Saraí, Diana, Odette, Luz Elena, Ivonne, Alexis (Grumpy Cat versión culichi), Martín (Boni, el Rey del Mole), Humberto (Humbercóatl, ¡no me des a oler vainilla!), Alfredo (Chock, el nativo de Gómez Palacio), Juan (el compadre, Selección Puma), Jorge (Yorch), Luis (Luisito, no e stornudes ¡eh!), Manuel (Esperón), Álex, y a Erick. A todos, gracias. Prometo a algún día gastarles, dispararles, picharles las famosas carnes, mientras mientras, cómo dijeran en mi tierra; ‘monos pue otro uno, pal fucho y a las bolas... ¡y a las cervezas también! A mi gran amiga Yoli, gracias por tus charlas, tu ayuda y disposición incondicional. A Laura, y a Mario, grandes amigos. Todos ellos del I.E. Ah, también a Paty, la vigilante, que con sus charlas ocasionales en esos días solitarios hizo menos pesados los días de trabajo intenso, gracias.

Agradecimientos especiales para la Lic. María del Rosario Becerra Vázquez, y a la Sra. María del Carmen Vázquez Flores, cuyo financiamiento inicial posibilitó mi supervivencia en las primeras escaramuzas en el Posgrado. ¡Gracias! Y de igual forma, también a mi gran amiga, la Sra. Micaela Morales, y a Doña Meche, por su atención y cordialidad en la etapa inicial de mis estudios. Y finalmente, a la Sra. Guadalupe Méndez, y familia, por acogerme de nuevo, durante una temporada importante, en su seno familiar.

Con gran cariño, dedico este trabajo a las personas esenciales en mi vida, que con su aliento, recuerdos y sentimientos, me proporcionan las fuerzas físicas y espirituales en todo momento:

A mi segunda madre, la Sra. Hermita Flores Velázquez

A mi Mamá, y a mi Papá

A mis hermanos

A mis sobrinos

A Laura Bengifo

También va dedicado:

A Veracruz, y a su bella Región de Los Tuxtlas

A mi Alma Mater, la Universidad Nacional Autónoma de México.

A las instituciones académicas, que noblemente han participado en mi formación profesional y humana: El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), y el Instituto Politécnico Nacional (IPN)

*Veracruz,
rinconcito donde hacen su nido
las olas de mar...*

Agustín Lara

En la Sierra de Los Tuxtlas

*Antes en tierra colorada,
de café, barro y mandarina...
Y ahora, heme aquí:
tuxtleco en tierras tuxtecas
(conejo en tierra de pericos),
con sino pirata, errante,
en piratas de gasolina andantes.
De San Andrés Tuxtla, semitocaya de mi tierra,
con cabezas chipotonas,
a Catemaco, con lago, con tegogolos.
Ahora en Tatahuicapan;
de ahí a Magallanes, mientras como jicacos.
Entre refranes y la realidad
la belleza no se pierde
en la Sierra de Los Tuxtlas.*

*Su mar
se atisba a lo lejos,
por entre las voluptuosidades de la sierra.
Es
como una sábana pálida por vagos recuerdos,
salada por solaces romances.
Es la base de existencias precarias
que, a la vez, son discretas y felices.*

*Su cielo,
también es sábana,
tan azul hoy, tan negra a veces, de repente.
Se ve tan cerca, conquistable.
En el día con el Sol,
vigía de los pobres y del hambre.
En las noches con millares de guiños, besos:
las estrellas.*

*Y con el vaho del verdor, con el sopor del sudor.
Con la Luna,
que vela el buscar de las nauyacas,
y el descanso, caducable, del trajín interminable.
No importa cuál sea el camino,
el cielo baja y bendice
a torrentes, o con ternura;
con chispas permanentes, o fugaces.
O desde lejos, saluda y agradece.*

*Su selva.
Ésta es
como un rompecabezas tangible, inaudito,
irremediable y comprensible.
Relictos de magnificencia.
De historias fantásticas, y reales.
Hoy es,
permanente pasado escollable, no franqueable;
que al igual que el mar, igual que el cielo,
era sábana casi eterna...
Fueron otros tiempos.*

*Sos chula.
La tierra...
La gente...
Las estrellas...
El recuerdo...
Todos, de Ella.
Todos, la voz de vos.
Ya me voy de la Sierra de Los Tuxtlas
no sólo con semillas, no sólo con chagalapoli,
sino con algo, mucho más permanente.
Mañana volveré... sin duda.*

ÍNDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT	iii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	
II.a. La semilla y el proceso germinativo	2
II.b. Establecimiento de las plántulas	4
II.c. Clasificación de las semillas según su comportamiento en almacenamiento	6
II.d. Las semillas recalcitrantes	7
II.e. La tolerancia y la sensibilidad a la desección.....	8
II.f. Almacenamiento de semillas recalcitrantes	12
II.g. Acondicionamiento o priming	14
II.h. El acondicionamiento natural	17
II.i. El acondicionamiento como herramienta de restauración ecológica.....	18
III. OBJETIVOS	21
IV. METODOLOGÍA	
IV.a. Área de estudio	23
IV.b. Especies	
IV.b.1. <i>Cymbopetalum baillonii</i> Fries (Annonaceae)	26
IV.b.2. <i>Cupania glabra</i> Swartz (Sapindaceae)	26
IV.c. Recolecta de frutos y beneficio de las semillas	28
IV.d. Características de las semillas	
IV.d.1. Determinación del peso fresco, peso seco, y contenido de humedad	29
IV.d.2. Determinación del contenido de glucosa y lípidos	30
IV.d.3. Germinación de semillas escarificadas	31
IV.e. Acondicionamiento hídrico	
IV.e.1. Dinámica de hidratación de las semillas.....	31
IV.e.2. Dinámica de deshidratación de las semillas	32
IV.e.3. Determinación de la viabilidad de semillas a bajos contenidos de humedad	34

IV.e.4. Efecto de la deshidratación y del acondicionamiento hídrico en la germinación.....	34
IV.f. Acondicionamiento natural	
IV.f.1. Entierro de semillas en el campo	35
IV.f.2. Germinación de semillas en el campo	36
IV.g. Crecimiento y supervivencia	
IV.g.1. Crecimiento en invernadero	36
IV.g.2. Crecimiento en campo	38
IV.h. Longevidad de las semillas durante el almacenamiento	39
V. RESULTADOS	
V.a. Características de las semillas	
V.a.1. Determinación del peso fresco, peso seco, y contenido de humedad	41
V.a.2. Determinación del contenido de glucosa y lípidos.....	42
V.a.3. Germinación de semillas escarificadas	43
V.b. Acondicionamiento hídrico	
V.b.1. Dinámica de hidratación de las semillas	43
V.b.2. Dinámica de deshidratación de las semillas	44
V.b.3. Determinación de la viabilidad de semillas a bajos contenidos de humedad	45
V.b.4. Germinación	46
V.c. Acondicionamiento natural	
V.c.1. Enterramiento de semillas en el campo	51
V.c.2. Peso y germinación de semillas en campo	52
V.d. Crecimiento y supervivencia	
V.d.1. Crecimiento en invernadero	53
V.d.2. Crecimiento en campo	59
V.d.3. Supervivencia en invernadero y campo	63
V.e. Longevidad de las semillas durante el almacenamiento	64
VI. DISCUSIÓN	
VI.a. Características de las semillas	71
VIb. Acondicionamiento hídrico	
VIb.1. Hidratación y deshidratación de semillas	72
VIb.2. Efecto de la deshidratación y del acondicionamiento hídrico en la germinación	74

VI.c. Acondicionamiento natural	
VI.c.1. Entierro de semillas en el campo	76
VI.c.2. Germinación en el campo	78
VI.d. Crecimiento y supervivencia de plántulas	80
VI.e. Longevidad de las semillas durante el almacenamiento	82
VI.f. Consideraciones sobre el uso y propagación de <i>Cupania glabra</i> y <i>Cymbopetalum baillonii</i> dentro de programas de restauración ecológica	84
VII. CONCLUSIONES	88
VIII. LITERATURA CITADA	90
IX. APÉNDICE	103

RESUMEN

Becerra-Vázquez, A.G. 2013. Efecto del acondicionamiento hídrico y natural en dos especies de la selva tropical: *Cupania glabra* Swartz y *Cymbopetalum bailonii* Fries. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

El acondicionamiento es un tratamiento pregerminativo que consiste en la hidratación controlada de las semillas, seguida de una deshidratación parcial de las mismas. El tratamiento puede mejorar los parámetros germinativos, y además, el crecimiento y supervivencia de las plántulas. Durante el acondicionamiento se produce una movilización temprana de sustancias de reserva, síntesis de componentes esenciales, y reparación de macromoléculas, e estructuras celulares, y organelos. Estos cambios permanecen en las semillas, aún y cuando éstas se almacenan, con lo cual las mejoras germinativas persisten posteriormente, en contraste con las semillas no tratadas. El tratamiento se ha empleado principalmente en plantas de interés comercial; sin embargo, también se ha aplicado con éxito en especies nativas. Por otro lado, se ha observado que cuando las semillas permanecen enterradas en el suelo de su hábitat natural, ocurre en ellas un proceso similar al acondicionamiento; esto ha sido denominado acondicionamiento natural.

Las especies con semillas recalcitrantes son sensibles a la desecación, por lo que su estudio es complicado. Ello ha derivado en sesgos con respecto a la cantidad de información disponible sobre ellas, a pesar de la gran importancia ecológica y evolutiva que tienen. *Cupania glabra* y *Cymbopetalum bailonii* son especies arbóreas de selva tropical, cuyas semillas presentan un comportamiento en almacén de finido como “incierto” y “probablemente recalcitrante”, respectivamente, debido a que en ambas especies se ha observado que una deshidratación parcial de las semillas incrementa la germinación. Es necesario entender la ecofisiología de las semillas de ambas especies, ya que esto tiene una trascendencia en la conservación y aprovechamiento de las mismas. Por ello, se investigó el efecto de la acondicionamiento hídrico (AH) y de la acondicionamiento natural (AN) en la germinación y establecimiento de ambas especies. Se contempló el uso de los tratamientos de acondicionamiento para diseñar un esquema de propagación de estas especies con fines de restauración ecológica.

Se realizaron recolecciones de semillas en los años 2011 y 2012. Se describieron las características de peso y contenido de humedad en estas semillas, y también la dinámica de

hidratación y de shidratación de las mismas. Se hizo una evaluación de la germinación en el campo, en el año 2011. Se evaluaron los parámetros germinativos (porcentaje final de germinación, tiempo de inicio y promedio, y tasa máxima) en condiciones de laboratorio, de los tratamientos siguientes: 1) semillas hidratadas a saturación, y posteriormente deshidratadas a diferentes contenidos de humedad (acondicionamiento hídrico AH), y 2) semillas enterradas en el suelo de la selva alta perennifolia de Los Tuxtlas por doce días (acondicionamiento natural AN) en cámaras de germinación. Posteriormente, se cosecharon las plántulas de los mejores tratamientos para evaluar su crecimiento (altura, diámetro del tallo, número de hojas, y cobertura) y supervivencia, durante su permanencia inicial en invernadero, por tres meses, y en el campo durante un año (Los Tuxtlas). Adicionalmente, se evaluó la longevidad de semillas expuestas a los mismos tratamientos, después de permanecer almacenadas por diferentes tiempos en dos condiciones: a temperatura ambiente (Amb), y a 15 °C (CG).

Se encontraron diferencias en el peso, contenidos de humedad, glucosa y lípidos, en las semillas provenientes de las recolectas de los años 2011 y 2012 en las dos especies, probablemente en respuesta a las condiciones ambientales. Se ha observado que éstas influyen en las variaciones encontradas entre años de recolecta, en otras especies. Las semillas de ambas especies presentan contenidos altos de humedad y de lípidos. También se encontraron diferencias en las tasas de hidratación y deshidratación de las mismas. Los mejores parámetros germinativos y la longevidad mayor se obtuvieron en semillas expuestas al AN en ambas especies, lo que coincide con lo reportado con otras especies nativas. Posiblemente, durante el enterramiento de las semillas ocurrieron en ellas procesos metabólicos, similares a los que se presentan en las semillas de otras especies bajo otros tipos de acondicionamiento. También es posible que se hayan expresado mecanismos que contrarrestaron a los daños por desecación, durante el almacenamiento. En *C. baillonii* se encontraron mejoras en los parámetros de velocidad con el tratamiento de AH, con respecto al control, lo que significa que en esas semillas ocurrieron los avances germinativos. Pero, en general, la deshidratación produjo un decremento en los parámetros germinativos en ambas especies, lo que se es debido a la sensibilidad de sus semillas a los daños metabólicos relacionados con la pérdida de agua. La mejor temperatura de almacenamiento fue 15 °C. Se encontraron diferencias significativas en las variables de crecimiento entre invernadero y campo. Las plántulas provenientes de las semillas con AN mostraron los valores más altos de crecimiento. Es posible que AN haya mejorado la asignación

de recursos para el crecimiento, lo que representa un aspecto fundamental en las estrategias de establecimiento de las especies vegetales que crecen en la selva tropical.

Las semillas de *C. baillonii* y *C. glabra* son de tipo recalcitrante. El enterramiento de las semillas por doce días representa una técnica sencilla, económica y accesible, que podría considerarse dentro de los esquemas de propagación de especies con fines de restauración ecológica. Ambas especies tienen potencial para incluirse en tales esquemas, considerando el valor de uso que tienen en su área de distribución, junto con sus características ecológicas.

ABSTRACT

Seed priming is a pregerminative treatment consisting in the controlled hydration of seeds, followed by a partial dehydration process. This treatment can improve the germinative parameters in general and, in addition, the growth and survival of the seedlings. This improvement is due to the fact that the treatment produces an early mobilization of reserve substances, synthesis of essential components, repair of macromolecules, cellular structures and organelles. These changes remain even after storage of the treated seeds which, when sown, gives them advantages in rate and final germination percentage, in contrast with non-treated seeds. Seed priming has been primarily used in plants of commercial interest, however, it has also been successfully implemented in non-domesticated native species. On the other hand, it has been observed that when the seeds are buried in their natural habitat, they experience a similar process as in priming; this has been designated as natural priming.

Plant species with recalcitrant seeds are sensitive to desiccation, so that their study is complicated. This has resulted in biases with respect to the amount of information available about them, despite their great ecological and evolutionary importance. *Cupania glabra* and *Cymbopetalum baillonii* are tree species of tropical rainforest, whose seeds have a storage behavior defined as "uncertain" and "probable recalcitrant" respectively, due to the fact that in both species has been observed that a partial dehydration of the seeds increases germination. It is necessary to know the ecophysiological parameters of the seeds of both species, since this could be of significance for their conservation and use. Therefore, I investigated the effects of hydropriming (AH) and natural priming (AN) in the germination and establishment of both

species. It is envisaged the use of the priming treatments to design a viable strategy with the purpose of ecological restoration for both species.

Seed collection was done in the years 2011 and 2012. The weight and moisture content in these seeds were described, as well as their hydration and dehydration dynamics. An in-field assessment of germination was made in the year 2011. Germination parameters (final germination percentage, mean time, lag time, and maximum rate), were also measured under laboratory conditions, for the following treatments: 1) seeds hydrated at saturation, and then dehydrated at different moisture content (hydropriming, AH), and 2) seeds buried during twelve days within the soil in the tropical rain forest Los Tuxtlas (natural priming, AN). Later, seedlings from the best treatments were harvested to evaluate their growth (height, basal stem diameter, number of leaves, and coverage) and survival, initially, by placing them in the greenhouse for three months, and subsequently in the field (Los Tuxtlas) for the following year. In addition, we evaluated the storage longevity of seeds exposed to the same treatments, in different time frames and two temperature conditions: at ambient temperature (Amb) and at 15 °C (CG).

Differences were found in seed weight, moisture content, glucose and lipids, between the collects of 2011 and 2012 for the two species, this perhaps due to the influence of environmental conditions, since it has been observed that these conditions produce variations between years of collection in other species. The seeds of both species have high contents of moisture and lipids. There were also differences in the rates of seed hydration and dehydration. The best germinative response and storage longevity were obtained in seeds exposed to AN for both species, in agreement with what was previously reported for other native species. Possibly, during the burial of the seeds in the field occurred several metabolic processes as previously described in other species treated with other priming treatments. It is also possible that the AN triggered several mechanisms that counteract the damage caused by drying that occurs during storage. In *C. baillonii* there were improvements in the germination rate with regards to its control in the seeds from the AH treatment, which means that a metabolic progress must have occurred in these seeds. Nonetheless, while moisture content in the seeds decrease, a gradual decrease in the germinative performance occurs as well in both species, due to the sensitivity of these to the metabolic injury associated with the loss of water. The best storage temperature was 15 °C. Significant differences were found in the growth variables measured at the time when the seedlings were grown in the greenhouse and when grown in the field. The seedlings from the seeds with AN showed the

highest growth values, and it is possible that AN had improved the resource allocation for growth, which is a crucial aspect for the establishment strategies of those plant species that grow in tropical forests.

The seeds of *C. glabra* and *C. baironii* are recalcitrant. The twelve days seed burial represents a simple technique, affordable and accessible, which could be considered to form part of the native species propagation programs for the purpose of ecological restoration. Both species have the potential to be included in such schemes, considering their value and uses given by the local population within their natural distribution area, together with their ecological characteristics.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la pérdida de cobertura forestal en los países de latitudes tropicales ocurre a una velocidad alarmante, de hecho, naciones en esta región figuran en los primeros sitios en cuanto a deforestación (Schmidt, 2000; Hansen *et al.*, 2010; Newton y Tejedor, 2011). Tal situación es evidente en los bosques tropicales, los cuales constituyen el 52% del total del área forestal mundial; cubren aproximadamente el 7% de la superficie terrestre, y son los que contienen la más alta diversidad biológica. Estos bosques están amenazados principalmente por actividades antropogénicas (Khurana y Singh, 2001; Holzman, 2008; Ramage *et al.*, 2012). México no está exento de este problema: se estima que entre 80 y 90% del bosque tropical húmedo originalmente presente en el territorio se ha talado o alterado para diversos fines productivos (Guevara *et al.*, 2004a), y que, a principios de 1990, sólo el 27% del bosque tropical seco originalmente presente en el país permanecía intacto (Trejo y Dirzo, 2000). Por ello, se ha reconocido la necesidad de diseñar estrategias para su conservación, incluyendo realizar las investigaciones que permitan incrementar los conocimientos en torno a las especies nativas. A la par, se deben mejorar las herramientas básicas de la restauración ecológica, como son la propagación y el restablecimiento de las especies vegetales (González-Zertuche *et al.*, 2000; Sautu *et al.*, 2006; Sánchez-Coronado *et al.*, 2007; Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2009).

Entre los procedimientos concernientes al manejo de las semillas con fines de propagación se encuentran los tratamientos pregerminativos (Schmidt, 2000). Éstos están orientados para mejorar el vigor de las semillas, lo que se refleja en que la germinación se inicia en un tiempo más corto y ocurra a una mayor velocidad; y también para incrementar el vigor de las plántulas resultantes (Arriaga *et al.*, 1994). Uno de estos tratamientos es el acondicionamiento o *priming*, tratamiento que es usado comercialmente para incrementar la velocidad y uniformidad de la germinación (Rowse *et al.*, 1999). Con el acondicionamiento, también se integran mejoras en los estadios semilla y plántula del ciclo de vida de las plantas silvestres, al mejorar los parámetros de la germinación (tiempo de inicio, velocidad, y en algunos casos, porcentaje de germinación) y el establecimiento de las plántulas bajo condiciones ecológicas adversas (Sánchez *et al.*, 2006).

II. ANTECEDENTES

II.a. La semilla y el proceso germinativo

La semilla es, en gimnospermas y angiospermas, el óvulo maduro fertilizado que contiene al embrión rodeado por una cubierta protectora y que funciona como una unidad de dispersión que contiene a la próxima generación de una planta (Black *et al.*, 2006). Por lo tanto, una etapa muy importante en el ciclo de vida de una planta es el desarrollo de la semilla. De acuerdo con Kermode y Finch-Savage (2002) y Angelovici *et al.* (2010), este desarrollo se puede dividir en tres etapas. Inicialmente en la morfogénesis, o histodiferenciación, a partir del óvulo fertilizado se desarrolla el embrión por medio de múltiples divisiones mitóticas del cigoto, formándose el plan básico anatómico del embrión (radícula–eje embrionario–cotiledón). Simultáneamente, se desarrolla el endospermo triploide, a la vez que hay un incremento en el contenido de humedad de la semilla. La maduración inicial de la semilla continúa con la fase de acumulación de reservas, o de expansión celular, en la cual el crecimiento se da principalmente por elongación celular, el metabolismo se reorganiza y se sintetizan y acumulan sustancias de reserva como almidón, proteínas de reserva, lípidos y otros carbohidratos. Después, la semilla entra en una fase de maduración final denominada fase de secado, o de maduración y secado, la cual es una fase activa en la expresión de genes y de intensa deshidratación de los tejidos de la semilla que conlleva a una disminución en el metabolismo, con lo cual el embrión entra en un estado de reposo, metabólicamente inactivo. En las dos fases finales, y principalmente en la fase de secado, se activan los mecanismos genéticos y metabólicos relacionados con la adquisición de tolerancia a la desecación, lo cual representa un paso fundamental en el ciclo de vida de una planta, pues ahí se determinan las características ecofisiológicas de la semilla y de la futura planta (Dickie y Pritchard, 2002). Una proporción importante de los eventos genéticos y metabólicos que ocurren en la parte final del desarrollo de las semillas, son semejantes a los que ocurren durante la germinación. Esto significa que la preparación de las semillas para la germinación empieza desde su mismo desarrollo (Angelovici *et al.*, 2010).

Una vez que la semilla es dispersada puede germinar o no, siendo un evento que está determinado por factores tanto intrínsecos como extrínsecos (Filkestein *et al.*, 2008; Angelovici *et al.*, 2010). Cuando la semilla no germina debido a la falta de un factor ambiental esencial (luz,

temperatura, y humedad) presenta un estado de quiescencia, pero si la semilla no germina, aún y cuando los factores esenciales estén presentes, entonces la semilla presenta un estado de latencia (Baskin y Baskin, 2001).

La germinación es, en sentido estricto, el proceso que engloba los eventos que se presentan desde el inicio de la toma de agua o hidratación de la semilla, hasta la aparición del embrión a través de las estructuras circundantes. Se da por medio de la elongación del eje embrionario, y la protrusión generalmente de la radícula, que penetra la cubierta seminal (Bradford, 1995; Bewley, 1997; Black *et al.*, 2006; Nonogaki *et al.*, 2010). De manera sintética, la germinación requiere que el embrión deje el estado de quiescencia, movilice las sustancias de reserva, supere las barreras mecánicas de los tejidos o estructuras que lo rodean, y reactive su desarrollo a través de la división y elongación celular (Filkestein *et al.*, 2008).

De una manera más detallada, y basándonos en Bewley (1997) y Nonogaki *et al.* (2010; Figura 1) la germinación debe ser vista como un proceso que se divide en tres fases: fase I o de imbibición, fase II o de activación o germinación, y fase III o de crecimiento (Bewley, 1997; Figura 1). En la fase I ocurre una rápida ganancia de agua, lo que conlleva a un aumento en el contenido de humedad hasta que todas las membranas, la pared celular y los contenidos celulares se hidratan completamente, y se reactiva la respiración celular. En la fase II disminuye la tasa de absorción de agua, el contenido de humedad se incrementa muy poco, y ocurre una movilización de sustancias de reserva como carbohidratos y proteínas. Además, se inicia la síntesis de proteínas, a partir de RNAs sintetizados durante el desarrollo de la semilla, y se activan los mecanismos de reparación de ácidos nucleicos, organelos (como mitocondrias) y de otras estructuras celulares. La fase continúa con la síntesis de proteínas, a partir de nuevos RNAs transcritos en la semilla. La fase II se prolonga en las semillas que presentan latencia. En la fase III de nuevo ocurre un rápido aumento en el contenido de humedad, lo cual está asociado con la elongación y emergencia de la radícula, además, se presenta una movilización de sustancias de reserva y síntesis de DNA. Se considera que las fases I y II, así como un breve período del inicio de la fase III, constituyen la germinación en sentido estricto (*sensu stricto*), pues la gran expansión celular y el aumento de humedad de la mayor parte de la fase III son debidas al crecimiento de la plántula en su totalidad (Nonogaki *et al.*, 2010).

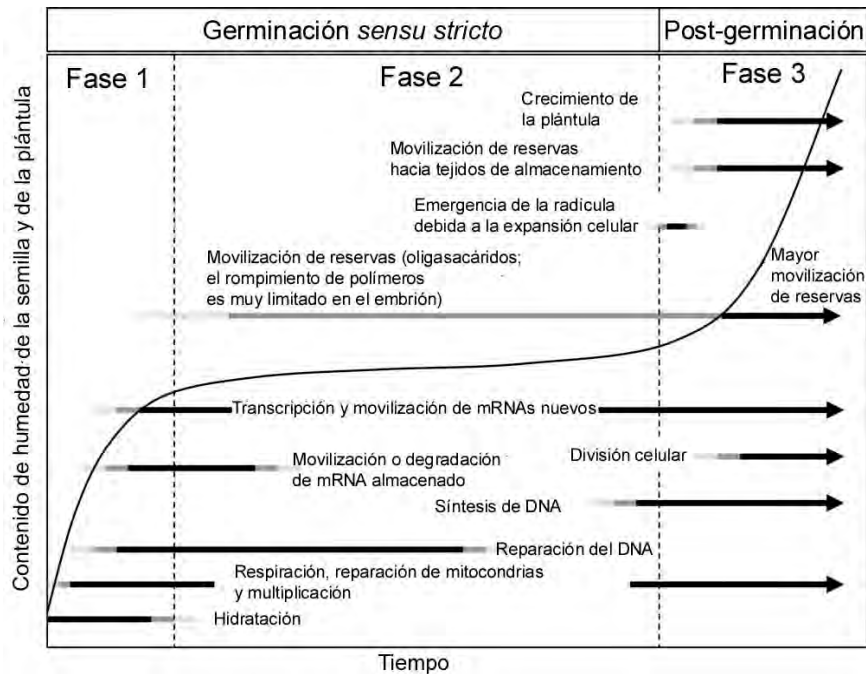


Figura 1. Eventos metabólicos y físicos, y su evolución durante el proceso de germinación. Las líneas horizontales indican la intensidad de los procesos (gris, menor intensidad; negro, mayor intensidad). Modificado de Bewley (1997) y Nonogaki *et al.* (2010).

El modelo germinativo anterior ha sido descrito para las semillas que han pasado por una deshidratación y disminución del metabolismo en la parte final de su ontogenia, la fase de secado: este es el caso de las semillas de tipo ortodoxo. Sin embargo, la deshidratación y cambios en el metabolismo que ocurren en las dos últimas etapas de la germinación, se presentan en diferentes grados en las semillas cuyo nivel de hidratación es alto al momento al final del desarrollo. En estas especies, la interrupción del flujo de agua y hormonas entre la planta madre y las semillas es continua. Estas semillas se denominan recalcitrantes (Vertucci y Farrant, 1995). A pesar de que en estas semillas la fase I no se presenta o es muy breve, aún así se dan los cambios metabólicos propios de las fases II y III (Black *et al.*, 2006).

II.b. Establecimiento de las plántulas

Tanto el estadio de semilla, como el de plántula, son los más vulnerables dentro del ciclo de vida de las plantas (Turner, 2001; Hadas, 2004; Vieira *et al.*, 2010). Los factores bióticos y abióticos ejercen presión permanente sobre las plantas, y éstas responden de forma plástica ante dichas

presiones, de acuerdo con sus características morfológicas y funcionales. Estos factores han participado en la aparición de respuestas adaptativas en las especies a lo largo de su evolución (Harper, 1977; Paz, 2003). Esto ha propiciado que en los bosques tropicales húmedos exista una gran diversidad en la morfología y fisiología de plántulas de especies leñosas (Ibarra-Manríquez *et al.*, 2001).

La habilidad de las plántulas para sobrevivir y crecer en diferentes ambientes, depende de la respuesta integrada de sus órganos aéreos y subterráneos a la disponibilidad de los recursos (Grime, 1979; Paz, 2003). Los recursos que determinan la mayor presión en el establecimiento de las especies son diferentes para cada tipo de hábitat. Por ejemplo, la disponibilidad de agua es el factor más importante en los bosques tropicales secos (González-Rivas *et al.*, 2009), mientras que en los bosques tropicales húmedos lo constituye la luz (Poorter y Rose, 2005). De acuerdo con sus requerimientos germinativos y de crecimiento, las especies arbóreas del bosque tropical húmedo se clasifican en dos grupos: las tolerantes a la sombra, las cuales pueden germinar, crecer y sobrevivir con poca luz, mientras que las demandantes de luz necesitan una condición de alta luminosidad para poder establecerse (Poorter, 1999). Sin embargo, se acepta la presencia de un continuo dentro de estos extremos.

Hay que considerar que existen cambios regulares en los niveles de intensidad de estos recursos. La disponibilidad de agua puede depender de las variaciones en la precipitación pluvial al presentarse años especialmente secos, o bien en los lluviosos, mientras que con relación a la temperatura, existen años con temperatura ambiente promedio más alta, y años con temperaturas promedio más bajas. La dinámica de la formación de claros puede ser más lenta o más rápida, repercutiendo en la cantidad y calidad de la luz. Estos cambios también pueden ser drásticos, como consecuencia directa de la degradación de los bosques, debida a actividades antropogénicas. En respuesta a estas condiciones de estrés, las plántulas, además, poseen mecanismos de tolerancia, y es posible que éstos se expresen desde la etapa del desarrollo de la semilla e incluso durante la germinación (Farrant y Moore, 2011), o posterior a ésta (Buitink *et al.*, 2006; Vieira *et al.*, 2010). La tolerancia a la desecación es una de estas respuestas, y tiene una gran trascendencia si se considera que, en los trópicos, la disponibilidad de agua es el factor más importante que determina el establecimiento de las plantas (Poorter y Markesteijn, 2008).

II.c. Clasificación de las semillas según su comportamiento en almacenamiento

Como se ha señalado, las características funcionales que se manifiestan en la semilla madura y dispersada, dependerán del tipo de eventos metabólicos que se susciten durante su desarrollo. Una consecuencia de lo anterior es la viabilidad de las semillas a través del tiempo, lo cual en términos prácticos repercute en su respuesta germinativa y comportamiento en almacén. Con base en este último, se han clasificado a las semillas en ortodoxas, intermedias y recalcitrantes (Roberts, 1973; Ellis *et al.*, 1990; Hong y Ellis, 1996b). En particular, en el área forestal, las semillas de árboles y arbustos se han clasificado en ortodoxas verdaderas, subortodoxas, recalcitrantes templadas y recalcitrantes tropicales (Booner, 1990).

En general, las semillas ortodoxas presentan bajos contenidos de humedad, pueden deshidratarse a contenidos de humedad menores a los que pueden alcanzar de manera natural en su ambiente (a contenidos de entre 2 y 6%), toleran el almacenamiento a bajas temperaturas, sin pérdidas significativas de viabilidad, y frecuentemente presentan algún tipo de latencia. Su longevidad puede predicarse de una forma cuantificable, y se incrementa a medida que su contenido de humedad y la temperatura a la cual se almacenan decrece (hasta $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Hong y Ellis, 1996b; Berjak y Pammenter, 2008). Según Booner (1990), las ortodoxas verdaderas pueden almacenarse por largos períodos de tiempo, a temperaturas por debajo del punto de congelación, con una reducción del contenido de humedad base húmeda del 5 a 10% con respecto al 100% inicial, mientras que las de tipo subortodoxo pueden almacenarse en las mismas condiciones que las ortodoxas verdaderas, pero por períodos de tiempo menores, debido a su alto contenido de lípidos. Las semillas ortodoxas son el tipo de semilla en contradicción con más frecuencia en la naturaleza, y las que representan a las especies con mayor importancia agronómica y forestal (McDonald, 2004; Booner, 2008).

Las semillas recalcitrantes poseen altos contenidos de humedad al momento de su dispersión (36-90%), y son sensibles a una deshidratación que disminuya su contenido de humedad a porcentajes menores a 15-20%, a los que generalmente pierden su viabilidad (Hong y Ellis, 1996a; Baskin y Baskin, 2001; Kermode y Finch-Savage, 2002). Dicha sensibilidad a la deshidratación varía entre especies. Por ello, estas semillas no pueden almacenarse durante tiempos prolongados comparables a los tolerables por las semillas ortodoxas. En general, no toleran bajas temperaturas debido al daño ocasionado por la formación de cristales de hielo, pero existe una variabilidad

entre especies dependiendo del ambiente del cual proceden, siendo que las de origen templado resisten temperaturas más bajas, pero por encima de 0 °C (Hong y Ellis, 1996b). Booner (1990) menciona que las recalcitrantes templadas pueden almacenarse a una temperatura de 0 °C, o muy cercana a ella, con lo que algunas especies pueden almacenarse hasta por cinco años. Las recalcitrantes tropicales son sensibles a las temperaturas por debajo de 15 °C y su longevidad es cuantificada en meses.

Existen semillas con un comportamiento entre lo ortodoxo y lo recalcitrante (Booner, 2008), las cuales han sido clasificadas como de comportamiento intermedio (Ellis *et al.*, 1990). Las semillas intermedias son más tolerantes a la desecación y a las bajas temperaturas que las recalcitrantes, pero en menor grado que las ortodoxas en ambos aspectos. Toleran una disminución de su contenido de humedad en porcentajes de 10 a 12%, y pueden almacenarse a temperaturas entre 5 y 10 °C, teniendo regularmente una longevidad de unos cuantos años. Debido a la gran variabilidad interespecífica respecto a la tolerancia a la desecación, y al comportamiento en almacén, se ha cuestionado la validez y utilidad de esta categoría; por lo que se sugiere que el comportamiento en almacén debe ser considerado como una variable continua, cuyos límites corresponden a los extremos ortodoxo y recalcitrante (Kermode y Finch-Savage, 2002; Berjak y Pammenter, 2008).

II.d. Las semillas recalcitrantes

Dentro de la totalidad de especies vegetales de las cuales se tiene documentada la sensibilidad a la desecación, las recalcitrantes representan cerca del 10% (Flynn *et al.*, 2006). En el contexto ecológico, éstas germinan relativamente pronto una vez que son dispersadas, debido a sus características fisiológicas; incluso pueden llegar a germinar antes de este evento, dentro del fruto, lo que se conoce como viviparidad (Farnsworth, 2000). Por ello, no persisten en el suelo formando banco de semillas permanentes, sino más bien conforman bancos de plántulas (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1993; Farnsworth, 2000). Las especies de este tipo de semilla generalmente se presentan en ambientes cuyas condiciones propician una pronta germinación y establecimiento de las plántulas (Pammenter y Berjak, 2000; Daws *et al.*, 2005; Farrant y Moore, 2011). Se distribuyen principalmente en los trópicos húmedos, aunque también es posible encontrarlas en zonas templadas y en ambientes acuáticos, y en menor frecuencia en

áridos (Chin *et al.*, 1989; Dickie y Pritchard, 2002). Con relación a lo anterior, se ha observado que la proporción de especies con semillas recalcitrantes es mayor en ambientes húmedos, y esta proporción va disminuyendo conforme los hábitats se van tornando más secos (Tweddle *et al.*, 2003). En las selvas tropicales húmedas una gran proporción de especies presentan semillas recalcitrantes, principalmente en las especies arbóreas dominantes, no pioneras (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1984; Vázquez-Yanes, 1987; Tweddle *et al.*, 2003). Las semillas recalcitrantes generalmente son más grandes que las ortodoxas (Berjak y Pammenter, 2008; Hamilton *et al.*, 2013), y esta característica les confiere ventajas selectivas en ciertos ambientes, por ejemplo, una pronta germinación y desarrollo de la plántula, evitando con ello la depredación en el estadio de semilla, y mejoras en los atributos morfológicos y funcionales relacionados con la competencia intra e interespecífica (Rose *et al.*, 2000; Daws *et al.*, 2005).

En el contexto evolutivo, se había señalado que el carácter recalcitrante era plesiomórfico, es decir, el estado ancestral de la sensibilidad a la desecación en las semillas, a partir del cual derivó la tolerancia a la desecación (von Tichman y van Wyk, 1994; Dickie y Pritchard, 2002). Recientemente se piensa que en realidad el carácter derivado o apomórfico es el recalcitrante, el cual ha aparecido en múltiples ocasiones dentro de los linajes de plantas superiores, como consecuencia de la colonización de ambientes húmedos; ello ocasionó la pérdida o supresión de los genes que participan en la adquisición de tolerancia a la desecación (Tweddle *et al.*, 2003; Berjak y Pammenter, 2008; Farrant y Moore, 2011). A pesar de su importancia en el marco ecológico y evolutivo, las semillas recalcitrantes han recibido poca atención, debido a su poca representatividad en la diversidad vegetal y a su mayor sensibilidad a la desecación (Farnsworth, 2000; Tweddle *et al.*, 2003; Berjak y Pammenter, 2003, 2008). La comprensión teórica y práctica de la sensibilidad a la desecación ayudaría a explicar el papel que este carácter funcional tiene en la regeneración de los bosques, y como consecuencia, en la restauración y conservación de los mismos (Farnsworth, 2000; Dickie y Pritchard, 2002; Leprince, 2003).

II.e. La tolerancia y la sensibilidad a la desecación

El agua representa un elemento primordial dentro del bienestar celular, siendo importante en la constitución del citoplasma, el cual funciona como la matriz en donde se desarrollan los procesos inherentes al metabolismo. El agua proporciona soporte mecánico y presión turgente que confiere

estabilidad estructural, participa como reactivo o producto de diversas reacciones bioquímicas, regulando muchas de ellas, y controla la reactividad de diferentes tipos de moléculas (Walters *et al.*, 2002). Los daños por la pérdida excesiva de agua inducen a un desequilibrio metabólico, producto de daños anatómicos, bioquímicos y fisiológicos a nivel citológico y molecular (Alper y Oliver, 2002; Vertucci y Farrant, 2002). Estos daños se traducen en pérdida de integridad estructural y fisiológica de las células, debida a los cambios en la fluidez del citoplasma y a la alteración de la membrana celular; daños en la maquinaria metabólica y en la estructura de proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y proteínas; así como la falla en los sistemas antioxidantes (Alper y Oliver, 2002). Los organismos enfrentan los problemas de la pérdida de agua a través de mecanismos físicos, fenológicos, morfológicos y fisiológicos que podrían contrarrestarla, lo cual les otorga resistencia a la desecación. De manera general se identifican tres mecanismos de resistencia a la desecación: el escape, en el que las plantas crecen y se reproducen en los períodos de mayor disponibilidad de agua, evitando con ello los períodos de mayor estrés hídrico; la evasión, la cual incluye a los mecanismos que posee una planta para el mantenimiento de niveles de humedad altos en los tejidos, a pesar del ambiente externo con menor humedad; al adquirir de mejor forma el recurso hídrico, almacenándolo, y reduciendo su pérdida, por ejemplo, al incrementar la biomasa y la longitud de las raíces; finalmente, la tolerancia fisiológica, con la cual el organismo mantiene niveles adecuados de homeostasis durante el período de estrés, a través de la regulación osmótica (Kramer, 1983; Lambers *et al.*, 1998; Larcher, 2003).

La tolerancia fisiológica a la desecación está programada en la ontogenia de las semillas, es decir, es táp reprogramada y regulada genéticamente, inicialmente por la planta madre, y posteriormente por el embrión, el cual además responderá a las condiciones ambientales (Berjak y Pammenter, 2008; Farrant y Moore, 2011; Figura 2). Es durante la fase de desecación en donde se culmina con la maduración de la semilla, alcanzándose el menor contenido de humedad y la mayor biomasa, y se incrementa la tolerancia a la desecación, cuantificada por la mayor expresión génica, o la mayor acumulación de compuestos como el ABA (Angelovici *et al.*, 2010). Durante el desarrollo tanto de las semillas ortodoxas como de las recalcitrantes, hay una disminución en el metabolismo y en el contenido de humedad, así como un aumento en las sustancias de reserva, y el embrión paulatinamente es más tolerante a la desecación a medida que madura, y menos tolerante en cuanto se acerca la germinación (Vertucci y Farrant, 1995; Pammenter y Berjak, 1999; Kermode y Finch-Savage, 2002; Anderson *et al.*, 2009). Estos

cambios han sido descritos principalmente para semillas ortodoxas. La diferencia entre ambos tipos de semilla estriba en que las semillas ortodoxas pasan por una considerable deshidratación, y disminución en el metabolismo, en la parte final de su desarrollo, en la planta madre, y la mayor tolerancia a la desecación coincide con el punto de máxima adquisición de biomasa y menor contenido de humedad. Una vez que éstas son dispersadas entran en una fase de quiescencia o latencia, lo que prepara a la semilla para su germinación en el momento adecuado. En cambio, en las semillas recalcitrantes el metabolismo es elevado, se conserva el estado de hidratación y la biomasa aumenta durante todo el desarrollo y hasta el momento de su dispersión, y no hay un punto final discernible en el desarrollo de la tolerancia a la desecación. El alto contenido de humedad las predispone a una germinación inmediata, una vez que son dispersadas (Bewley y Black, 1994; Alpert y Oliver, 2002; Kermode y Finch-Savage, 2002), aunque algunas de ellas pueden presentar latencia, por ejemplo *Omphalea olifera* Hemsl. (Sánchez-Coronado *et al.*, 2007), *Humboldtia laurifolia* Vahl (Jayasuriya *et al.*, 2010) y *Quercus rugosa* Née (Castro-Colina *et al.*, 2012). Los cambios metabólicos que ocurren por la desecación en las semillas recalcitrantes, se relacionan más con el aumento de la sensibilidad que a la desecación con la adquisición de tolerancia a la misma (Hendry, 1992; Fenner y Thompson, 2005).

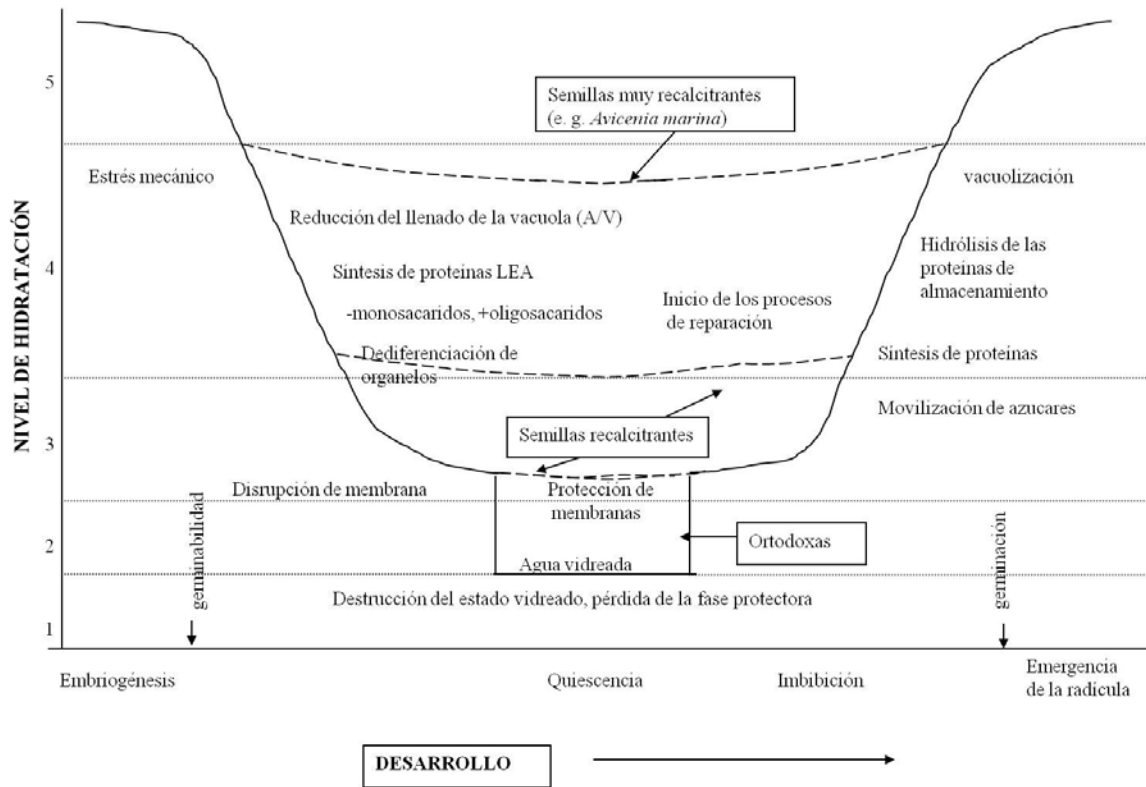


Figura 2. Relación entre la tolerancia a la desecación durante el desarrollo de la semilla con los diferentes niveles de hidratación de las mismas, desde la planta madre, hasta su dispersión y germinación. Las líneas representan los límites hasta los cuales ocurren las respuestas en las semillas frente a la desecación, ya sea de semillas ortodoxas (línea sólida), semillas muy recalcitrantes (línea punteada superior), de semillas recalcitrantes (línea punteada inferior). Por dentro de la línea sólida se encuentran los daños debidos a la desecación, y por fuera los mecanismos de resistencia a esos daños. Modificado por A. Orozco-Segovia de Vertucci y Farrant (1995).

Los mecanismos preventivos y correctivos de la adquisición y mantenimiento de la tolerancia a la desecación, en semillas ortodoxas, se relacionan con la acumulación de sustancias de reserva no solubles, de hormonas como el ácido abscísico (ABA), de proteínas como las LEA (*late embryogenic abundant*), de las cuales las dehidrinas son las principales, proteínas de choque térmico o sHSPs, enzimas antioxidantes como las peroxirredoxinas, así como de carbohidratos solubles como la sacarosa y oligosacáridos, y también con antioxidantes de naturaleza lipídica (Bewley y Black, 1994; Farnsworth, 2000; Kermode y Finch-Savage, 2002; Kalemba y Pukacka, 2007). La acción protectora es a nivel de membrana celular, previniendo cambios en su permeabilidad selectiva; a nivel del citoplasma, estabilizando la estructura molecular y reduciendo la reactividad de las mismas, por medio de un estado vítreo; y a nivel general en las

células, lo que evita un colapso de las mismas y conserva la integridad anatómica (Kermode y Finch-Savage, 2002; Buitink y Leprince, 2008). Se ha estudiado el control genético de estos mecanismos, y muchos de los transcritos encontrados codifican para proteínas implicadas en la tolerancia, siendo un complejo proceso multigénico (Kalemba y Pukacka, 2007; Angelovici *et al.*, 2010). En el estadio de plántula también pueden actuar estos compuestos ante el estrés hídrico, como un mecanismo de tolerancia fisiológica, y es posible que los mecanismos genéticos sean los mismos que actúan desde el desarrollo mismo de la semilla (Buitink *et al.*, 2006; Farrant y Moore, 2011).

Ya que algunos mecanismos de adquisición de tolerancia a la desecación y el control genético de los mismos, concernientes a semillas ortodoxas, han sido encontrados en recalcitrantes (Kermode y Finch-Savage, 2002; Berjak y Pammenter, 2008), es posible que la sensibilidad a la desecación en las semillas de estas especies se deba a la ausencia de estos mecanismos, o a la expresión inadecuada de cualquiera de los mismos (Pammenter y Berjak, 1999). Es por esto que se ha mencionado que la sensibilidad a la desecación es un carácter funcional cuantitativo, el que a su vez está sujeto a variables, tales como: las características morfológicas de las semillas en sí; el contenido de humedad de las mismas y el tiempo que han permanecido en ese nivel, así como las diferentes signaciones en el contenido de humedad entre el embrión y los tejidos que lo rodean; el grado de deshidratación alcanzado en las semillas, y las condiciones en las que el proceso suceda. Además, hay que considerar la variación que se presenta cuando se está estimando la sensibilidad a la desecación en una muestra de semillas (Berjak *et al.*, 1989; Berjak y Pammenter, 2003; Leprince, 2003).

II.f. Almacenamiento de semillas recalcitrantes

En condiciones naturales la longevidad de las semillas es diferente, en comparación con su longevidad en condiciones óptimas de almacenamiento. En general, la longevidad natural es menor que la longevidad potencial (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1993). El almacenamiento de semillas es una forma de conservación *ex situ*, que busca incrementar la longevidad natural, manteniendo viables a las semillas el mayor tiempo posible, hasta que se presenten las condiciones idóneas para su siembra. Los objetivos del almacenamiento de semillas están vinculados al tiempo permisible en que sea posible mantener dicha viabilidad, pudiendo ser

a corto, mediano y largo plazo. Estos períodos de tiempo buscan, desde preservar las semillas en el tiempo entre su recolecta y la siembra, por ejemplo, con fines de silvicultura, hasta por largos períodos, con fines de conservación del recurso genético (Hong y Ellis, 1996a; Booner, 2008). Sin embargo, no hay una forma satisfactoria de almacenar semillas recalcitrantes, ya que invariablemente pierden viabilidad o vigor en las plántulas resultantes en un corto plazo. La corta longevidad de las semillas recalcitrantes es producto de sus características fisiológicas, lo cual repercute en su conservación en bancos de germoplasma con fines de restauración ecológica (Hong y Ellis, 1996a; Farnsworth, 2000).

La única forma de mantenerlas con el mayor vigor y viabilidad posibles, es almacenar lotes de semillas de buena calidad en la temperatura más baja tolerable posible, y en condiciones tales que reduzcan al máximo la pérdida de humedad, así como la proliferación de hongos y bacterias, que se da como resultado de la presencia de humedad (Berjak y Pammenter, 2008). Estas opciones sólo permiten almacenarlas de corto a mediano plazo. Las semillas recalcitrantes de las especies de origen templado, pueden mantener su viabilidad en mayor medida que las de origen tropical, esto debido a su mayor tolerancia a temperaturas menores. Entre las medidas óptimas de almacenamiento para semillas recalcitrantes están, el mantenimiento de un estado de hidratación o semihidratación permanente, en temperaturas de entre 10 a 15 °C para especies tropicales, y de entre 5 a 10 °C para especies templadas, y condiciones adecuadas de aereación (Hong y Ellis, 1996b; Berjak y Pammenter, 2004).

Una opción potencial para almacenar semillas recalcitrantes, a largo plazo, la representa la criopreservación, que consiste en el congelamiento de los embriones con nitrógeno líquido, a -196 °C, o a temperaturas por debajo de -80 °C (Hong y Ellis, 1996b; Berjak y Pammenter, 2008). Sin embargo, aún se presentan problemas metodológicos, que concierne al daño que puede provocársele a los embriones durante la escisión, a las consecuencias por la pérdida de los tejidos de almacenamiento sobre el aporte de nutrientes, así como la mayor propensión al ataque fúngico (Berjak y Pammenter, 2004). Esta técnica aún sigue en proceso de experimentación.

En algunos casos se ha observado una mayor longevidad ecológica, en comparación con la longevidad potencial, en especies tropicales con semillas recalcitrantes (Carvalho *et al.*, 1988; Sánchez-Coronado *et al.*, 2007). Se ha mencionado que una alternativa para almacenar semillas recalcitrantes de origen tropical, es contenerlas dentro de recipientes que permitan el intercambio gaseoso, los cuales deben ser colocados en las condiciones naturales del hábitat del cual

provengan las semillas (Carvalho *et al.*, 1988). En relación a esto, la permanencia de las semillas en el suelo de su hábitat las expone a las condiciones físicas variables desde el momento de su dispersión hasta el momento de su germinación, lo que influye en los procesos bioquímicos y fisiológicos de las mismas. Dependiendo de la severidad de dichas condiciones, las semillas germinan o mueren, y las supervivientes posiblemente expresarán características funcionales positivas que no se presentan en las que no han pasado por dicho estrés.

Se han obtenido mejoras usando el acondicionamiento en la longevidad de semillas de especies silvestres de tipo ortodoxo, como *Buddleja cordata* H.B.K., *Opuntia tomentosa* Salm-Dyck y *Wigandia ur ens* (Ruiz & Pavón) H.B.K. (Royal Botanic Kew, 2008). El acondicionamiento hídrico y osmótico en semillas de *B. cordata* mejoró los parámetros germinativos iniciales o los mantuvo cercanos a éstos, en las semillas almacenadas hasta por más de un año (González-Zertuche *et al.*, 2002). El enterramiento en campo de semillas de *W. urens* por dos meses, y de *O. tomentosa* por siete meses, mejoró los parámetros germinativos, y además, estas mejoras permanecieron en las semillas germinadas luego de dos años con diez meses de almacenamiento, respectivamente, en condiciones de laboratorio (Gamboa-deBuen *et al.*, 2006; Olvera-Carrillo *et al.*, 2009). Una especie de tipo recalcitrante que responde favorablemente al acondicionamiento es *Quercus rugosa* Née, ya que aumenta la velocidad de germinación (Castro-Colina *et al.*, 2012); por lo que resulta interesante profundizar las investigaciones sobre el efecto que el acondicionamiento tiene, en el almacenamiento de semillas de este tipo. Lo anterior puede redundar en las actividades vinculadas con la propagación de las mismas, con fines de conservación y restauración, pues aún un pequeño incremento en la longevidad de las semillas recalcitrantes es útil (Booner, 1990).

II.g. Acondicionamiento o *priming*

El acondicionamiento, o *priming*, conocido también como tratamiento endurecedor, robustecedor, acondicionador, vigorizador, o de hidratación-deshidratación de semillas (May *et al.*, 1962; Henckel *et al.*, 1964; Heydecker *et al.*, 1973; Bewley y Black, 1994; Halmer, 2004), es un procedimiento creado, inicialmente, para posibilitar y mejorar el rendimiento productivo de especies de importancia agrícola (Welbaum *et al.*, 1998; Sánchez *et al.*, 2001; Ashraf y Foolad, 2005). El procedimiento *per se* consiste en embeber o hidratar de forma controlada a las semillas

antes de su siembra, hasta el punto previo a la fase final de la germinación (Figura 3), la cual es observable cuando, regularmente, la radícula protruye a través de la cubierta seminal (Chen y Arora, 2012). La imbibición se puede hacer directamente en agua, o en agua contenida en diversos materiales; y también se aplica controlando las condiciones de temperatura, el aporte de agua a la semilla, así como la duración del proceso (Bewley y Black, 1994; Bray, 1995; Halmer, 2004). Con ello, se promueve que en las semillas se presenten los cambios bioquímicos y fisiológicos que ocurren en las fases I y fase II de la germinación, los cuales significan avances metabólicos. En estas etapas, especialmente en la fase II, hay una intensa activación de la reparación, síntesis y movilización de proteínas, ácidos nucleicos y estructuras celulares (Bewley y Black, 1994; Bray, 1995; Bewley, 1997). Los cambios o avances metabólicos realizados hasta la fase II, pueden permanecer en las semillas aún después de deshidratarlas de nuevo y almacenarlas, lo que posibilita que tengan una mejora en el comportamiento germinativo, posterior al tratamiento.

El beneficio del acondicionamiento se expresa a través de parámetros relacionados a la cantidad, velocidad y homogeneidad de la germinación (Bewley y Black, 1994; Figura 3). El acondicionamiento también influye en el desarrollo de las plántulas, pues promueve un incremento en el vigor de las mismas, en su tolerancia a condiciones ambientales desfavorables, como altas temperaturas y al estrés hídrico o salino, y en plantas agrícolas en el rendimiento de la cosecha (Sánchez *et al.*, 2001; Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2009). Además, con el acondicionamiento es posible romper con la latencia, e incluso es posible reavivar semillas envejecidas durante el almacenamiento (Sánchez *et al.*, 2001).

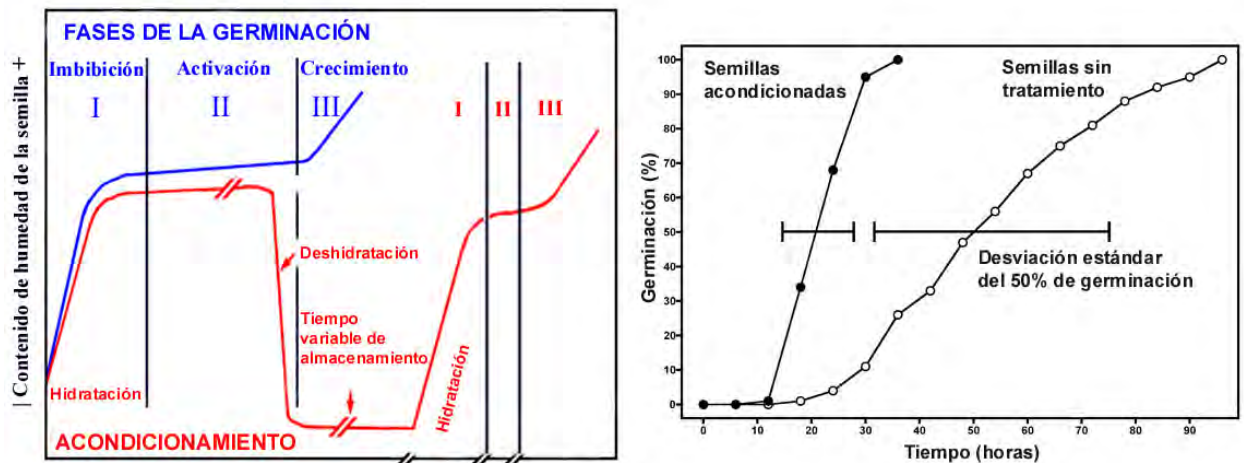


Figura 3. Fundamento general del tratamiento de acondicionamiento (izquierda), así como los beneficios en cuanto a la mejora de la germinación, en comparación con semillas sin tratamiento, o no acondicionadas (derecha). Modificado de Leubner (2006). En azul, se indica el proceso normal de germinación de una semilla; en rojo, el proceso de germinación con acondicionamiento, como tratamiento pregerminativo.

Se han desarrollado diferentes tipos de tratamientos de acondicionamiento, que difieren en el método de hidratación regulada que utilizan; estos tratamientos van desde la utilización de agua, ya sea en estado líquido (acondicionamiento hídrico) o de vapor (drum acondicionamiento), soluciones acuosas en sustancias osmóticas inertes (osmoacondicionamiento), soluciones de sales inorgánicas (haloacondicionamiento), y matrices sólidas con gran capacidad de retención hídrica (acondicionamiento de matriz o mátrico) (Ahsraf y Foolad, 2005). Recientemente, se ha incorporado el uso de otros agentes al par del tratamiento de acondicionamiento, como microorganismos (bioacondicionamiento), fitohormonas, y temperaturas elevadas (termoacondicionamiento), todos ellos con resultados prometedores (Ahsraf y Foolad, 2005; Moeinzadeh *et al.*, 2010). Cualquiera que sea el tratamiento, el nivel de hidratación que deben alcanzar las semillas no es necesariamente el mismo; sin embargo, debe corresponder a aquél en el que se pueden realizar al menos algunos de los procesos fisiológicos y bioquímicos relacionados con la fase 2 de la germinación, además de algunos que no necesariamente ocurren cuando la semilla está totalmente hidratada (Bewley, 1997).

II.h. El acondicionamiento natural

Cuando las semillas de especies nativas están enterradas en el suelo de su hábitat natural, por un tiempo similar al que separa la dispersión de las semillas del establecimiento de la temporada de lluvias, las semillas se exponen a cambios en la temperatura, en la disponibilidad de oxígeno, y en la humedad (Halmer, 2004). El suelo presenta un potencial hídrico, determinado por la textura y tamaño de grano de l mismo, por las c oncentraciones de s olutos, tales co mo s ales, i ones, minerales, y t ambién p or la di sponibilidad de a gua y s u di námica e n t orno a s u r etención (anegación) o pé rdida (drenaje). En l a semilla, el p otencial h ídrico es tará s ujeto a l as concentraciones de s olutos q ue en el la s e en cuentren, as í co mo a s us car acterísticas f ísicas (Bewley y Black, 1994; Hadas, 2004). La diferencia de potencial hídrico, que se establece entre la matriz del suelo y las s emillas, produce que é stas no s e hi draten, o s e de shidraten, completamente; con lo cual se alternan ciclos de hidratación y deshidratación (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2009). Este proceso se ha denominado acondicionamiento natural, el cual es análogo a l a acondicionamiento que s e realiza en c ondiciones c ontroladas (González-Zertuche *et al.*, 2001; Sánchez-Coronado *et al.*, 2007). El acondicionamiento natural produce mejoras en la germinación y establecimiento de especies nativas, por ello podría tener un valor adaptativo en la naturaleza, al a u mentar la ad ecuación d e l as es pecies a s u h ábitat (Halmer, 2004; Gamboa-deBuen *et al.*, 2006).

Durante el acondicionamiento natural, en las semillas ocurre una movilización y degradación de proteínas y carbohidratos, así como cambios en la concentración de enzimas implicadas; estos cambios están relacionados con los avances en el proceso germinativo (Gamboa-deBuen *et al.*, 2006; Armenta-Jaime, 2007; Alvarado-López, 2 009, 2012). Lo a nterior ha s ido r eportado e n especies nativas d e ambientes s ecos, como *B. cordata*, *Dodonaea v iscosa* (L.) J acq., *O. tomentosa* y *W. urens* (González-Zertuche *et al.*, 2001; Aguilera-Jiménez, 2003; Gamboa-deBuen *et al.*, 2006; Armenta-Jaime, 2007; Alvarado-López, 2009), y también en especies de ambientes tropicales, como *Ceiba a esculifolia* (H.B.K.) Britt. & Baker, *Cordia megalantha* S.F. Blake, y *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth (Alvarado-López, 2012). El acondicionamiento natural induce una mejora en los p arámetros germinativos en l as es pecies an tes ci tadas, as í co mo t ambién en *Urera caracasana* (Jacq.) Griseb (Gudiño-González, 2003); y mejora el establecimiento d e l as plantas en campo, como se observó en *D. viscosa* y *W. urens* (González-Zertuche *et al.*, 2001;

Benítez-Rodríguez, 2005), y también en *Zea mays* L., una especie con importancia agrícola, en condiciones de casa de sombra (Nicasio-Arzeta *et al.*, 2011).

Sin embargo, el efecto del acondicionamiento natural sólo ha sido estudiado en especies con semillas que tienen la capacidad de formar banco de semillas permanentes, las cuales generalmente son de tipo ortodoxo (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2009). Aunque, por lo regular, las semillas recalcitrantes no presentan latencia y germinan rápido, su permanencia en el suelo, luego de ser dispersadas, las somete invariablemente al efecto de la deshidratación, por lo que podría constituir también una característica funcional con valor adaptativo, de aquí que resulte necesario investigar el efecto de este tratamiento en este tipo de semillas.

II.i. El acondicionamiento como herramienta de restauración ecológica

La pérdida y degradación de los ecosistemas tropicales en Centroamérica (incluido México) ha sido notable, y esta región ha figurado mundialmente entre las más deforestadas en las últimas décadas (Guevara *et al.*, 2004a; Griscom y Ashton, 2011). Esto ha provocado en corto y mediano plazo la pérdida de servicios ecosistémicos, bienes de importancia social, cultural y económica, y la pérdida de las formas de subsistencia para la gente que habita y depende en primera instancia de ellos (Lamb *et al.*, 2005). La restauración ecológica es una ciencia cuyos enfoques buscan restablecer la estructura, función, productividad, y la diversidad biológica de los ecosistemas degradados (Lamb y Gilmour, 2003; Clewell y Aronson, 2007), hasta su estado original, tal y como están constituidos actualmente los ecosistemas tropicales no perturbados. Sin embargo éste es un objetivo utópico ya que el grado de recuperación que se alcance depende de muchos factores. Dentro de las actividades importantes de la restauración está el conocimiento local en términos del contexto social, económico y político, así como el contexto biológico, es decir la diversidad taxonómica, las características biológicas, ecológicas y evolutivas de las especies nativas, la diversidad funcional, y los métodos y herramientas técnicas de propagación eficientes (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999; Levy-Tacher, *et al.*, 2006; González-Espinosa *et al.*, 2007; Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2009; Ramírez-Marcial *et al.*, 2012).

Recientemente se ha propuesto el uso del tratamiento de acondicionamiento, dentro de las actividades vinculadas a la restauración de bosques, como son la propagación de especies nativas y su establecimiento (González-Zertuche *et al.*, 2000; Sánchez *et al.*, 2001). El

acondicionamiento es un tratamiento de uso común en los esquemas de propagación agrícola (Halmer, 2004); sin embargo, también se han realizado estudios sobre el efecto del acondicionamiento en especies de plantas nativas que poseen potencial dentro de la restauración ecológica (González-Zertuche *et al.*, 2002; de la Vega-Rivera, 2003; Sánchez *et al.*, 2003; Gamboa-deBuen *et al.*, 2006; Brancalion *et al.*, 2008, 2010; Castro-Colina *et al.*, 2012), y se han encontrado mejoras en los parámetros germinativos (*sensu* Bewley y Black, 1994), en la supervivencia y el establecimiento. Se ha establecido la necesidad de más investigaciones al respecto, utilizando nuevos tratamientos y combinaciones de acondicionamiento en el campo y en el laboratorio (Sánchez *et al.*, 2006). Por lo que, el acondicionamiento es una herramienta importante que puede mejorar el éxito de la restauración (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2009; Brancalion *et al.*, 2010).

La tolerancia a la desecación de las semillas es un elemento que se debe considerar al aplicar los tratamientos del acondicionamiento, pues como ya ha sido señalado, las semillas responden de manera diferencial a estas circunstancias, tomando en cuenta que los estudios acerca del efecto del acondicionamiento han sido realizados en semillas ortodoxas. Sin embargo, se ha observado una ligera tolerancia a la desecación en especies con semillas recalcitrantes, tanto de origen tropical como templado. En estas especies, una deshidratación moderada aumenta el porcentaje de germinación final (Probert y Brierley, 1989; Hong y Ellis, 1990; Connor *et al.*, 1996; Rodríguez *et al.* 2000; Castro-Colina *et al.*, 2012), lo cual indica que incluso en estas semillas, es posible que se presenten los procesos fisiológicos y celulares que subyacen en las semillas ortodoxas, y que entonces una desecación, incluso mínima, constituya un evento natural dentro del desarrollo de las mismas (Probert y Brierley, 1989; Hong y Ellis, 1990).

Cupania glabra Swartz y *Cymbopetalum baillonii* Fries son especies arbóreas características de selvas tropicales húmedas en Centroamérica (Standley y Steyermark, 1946, 1949; Pennington y Sarukhán, 2005), con semillas cuyo comportamiento en almacenamiento no ha sido de finido con claridad. A la especie *C. glabra* se le considera como probable recalcitrante, mientras que *C. baillonii* ha sido clasificada como incierta, a pesar de que ambas especies tienen semillas con alto contenido de humedad (Royal Botanic Gardens Kew, 2008). Su respuesta germinativa, después de haber sido expuestas a distintos niveles de deshidratación, ha impedido que se les asigne una categoría específica de conducta en almacenamiento. Rodríguez *et al.* (2000) observaron que una deshidratación parcial controlada incrementa los porcentajes de germinación en *C. glabra* y *C.*

baillonii, lo cual sugiere que podrían tolerar un tratamiento de acondicionamiento en el laboratorio, o que éste ocurra de manera natural en el campo, de manera que se incremente el vigor de las semillas y las plántulas. También es necesario definir el comportamiento en almacén de las semillas de ambas especies, pues este conocimiento es esencial para el desarrollo de estrategias adecuadas de conservación *ex situ* (Hamilton *et al.*, 2013).

C. glabra y *C. baillonii* presentan atributos para su posible uso en la restauración del paisaje forestal en el bosque tropical, pues ambas son especies persistentes o sucesionales tardías (Martínez-Ramos, 1985; Ibarra-Manríquez *et al.*, 2001). La población que habita en sus áreas de distribución las utilizan como árboles de sombra y cercas vivas (Ibarra-Manríquez *et al.*, 1997b; Bejarano-Castillo y Guevara, 2008), y otras especies de ambos géneros presentan características que hacen posible su inclusión dentro de las actividades de restauración ecológica de áreas cubiertas con selva tropical, en los sitios donde son nativas (Pennington y Sarukhán, 2005; Levy-Tacher *et al.*, 2006; Becerra-Vázquez, 2010). Estas características hacen promisorio profundizar sobre los efectos del acondicionamiento en la germinación y establecimiento, con el objetivo de mejorar la propagación y el desempeño en campo, además de su efecto en el almacenamiento con fines de conservación e inclusión en manejos de propagación con fines de restauración.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto del acondicionamiento en la germinación, supervivencia y crecimiento de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*.

Objetivos particulares:

- Describir las características de peso, y contenido de humedad, de las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, así como la dinámica de hidratación y deshidratación de las mismas.
- Determinar el contenido de lípidos y carbohidratos (glucosa) en las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, provenientes de recolectas realizadas en años diferentes.
- En condiciones de laboratorio, estudiar en las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii* el efecto de diferentes niveles de hidratación y del acondicionamiento hídrico (hidratación seguida de deshidratación parcial) en la germinación.
- Analizar, en condiciones de laboratorio, el efecto del acondicionamiento natural (semillas enterradas en campo) en la germinación de las semillas de ambas especies.
- Evaluar la germinación de semillas de ambas especies en condiciones de campo, y los cambios en el contenido de humedad de las mismas durante el proceso.
- Determinar, en las plántulas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, el efecto del acondicionamiento hídrico y del acondicionamiento natural, sobre el crecimiento y supervivencia de las mismas, en condiciones de invernadero y de campo.
- Evaluar la longevidad de semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii* tratadas con acondicionamiento hídrico y natural.
- Diseñar y proponer, para las semillas de ambas especies, un esquema de recolección de las semillas, almacenamiento, propagación y establecimiento con fines de restauración ecológica.

Hipótesis

Si una deshidratación parcial mejora los parámetros germinativos de las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, entonces es posible que los tratamientos de acondicionamiento incrementen el vigor de las semillas y de las plántulas, favoreciendo el establecimiento, crecimiento y supervivencia de estas especies.

IV. METODOLOGÍA

IV.a. Área de estudio

El estudio se realizó en el área geográfica denominada Región de Los Tuxtlas, la cual se localiza en el sureste del estado de Veracruz (Figura 4). Se seleccionaron dos sitios, localizados dentro de la región: la localidad denominada Magallanes, ubicada en el municipio de Tatahuicapan de Juárez; y en la Estación de Biología Tropical (EBT) “Los Tuxtlas”, de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizada en el municipio de San Andrés Tuxtla. Tatahuicapan se localiza a una altitud sobre el nivel de mar de 200-400 m, y está flanqueada por dos de las principales elevaciones de la Sierra de Los Tuxtlas: al noroeste, el volcán Santa Marta o también denominado Sierra de Santa Marta, y al sureste, el volcán San Martín Pajapan (Dirzo *et al.*, 1997; Soto y Gama, 1997). La EBT Los Tuxtlas se encuentra a una altitud de 150-700 m s.n.m., y altitudes mayores se localizan en las pendientes del volcán San Andrés Tuxtla, localizado al oeste de la Estación (Ibarra-Manríquez *et al.*, 1997a).

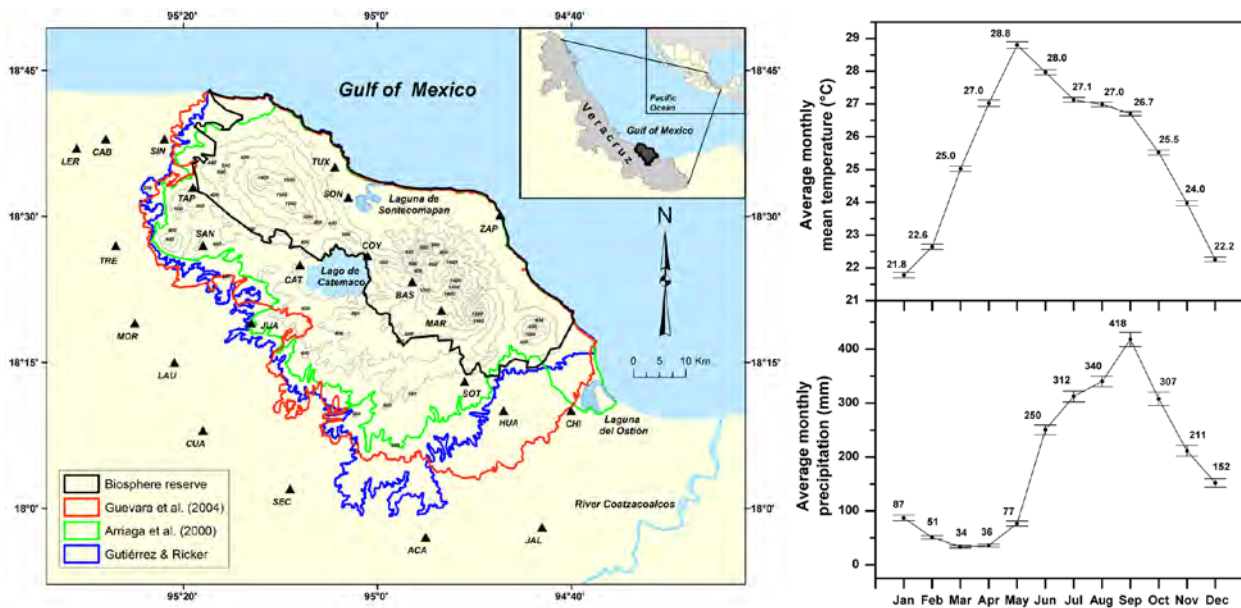


Figura 4. Localización geográfica de la Región de Los Tuxtlas en Veracruz, México (izquierda) y condiciones mensuales de temperatura y precipitación pluvial promedio del clima de la zona (derecha). Tomado de Gutiérrez-García y Ricker (2011). Las líneas color rojo, verde y azul, indican límites definidos para la región de “Los Tuxtlas” por los autores indicados en el mapa.

La Región de Los Tuxtlas se define como el paisaje volcánico superior a los 100 m de altura, con excepción de la parte costera, y comprende 315 525 hectáreas (Gutiérrez-García y Ricker, 2011). Presenta un gradiente latitudinal que va del nivel del mar hasta los 1720 m s nm; en el relieve se destaca la Sierra de Los Tuxtlas (18° 10' y 18° 45' N y 94° 42' y 95° 27' W), formación montañosa conformada por una serie de conos volcánicos de entre 200 y 1 720 m s nm. Esta formación está orientada en dirección NW-SE, con un eje mayor de aproximadamente 78 km y uno menor de 40 km (Villalpando, 1972). El macizo montañoso está dividido en una porción noroeste, constituida por el volcán San Martín Tuxtla (1680 m s nm), y una porción sureste, llamada Sierra de Santa Marta, en donde destacan los volcanes Santa Marta (1720 m s nm) y el San Martín Pajapan (1180 m s nm). Entre ambas porciones se encuentra una depresión, en la que se asienta el lago de Atemaco. Las rocas son de naturaleza volcánica, pliocuaternarias, principalmente basaltos y basanitas. Los afloramientos sedimentarios son escasos, ya que se presenta una gran proporción de depósitos volcánicos más jóvenes y también a la abundante vegetación (Martin-Del Pozzo, 1997).

Debido a la naturaleza montañosa de la región, existen varias corrientes superficiales de agua: en la parte norte, las corrientes fluyen directamente hacia el Golfo de México; y en la parte sur, el río San Andrés se une con otros ríos como el Santiago, el Hueyapan y San Juan, que al final se unen con el Papaloapan (Martin-Del Pozzo, 1997). En la región existen numerosos lagos, como los lagos Encantada, Tecolapan y Amaxtal, aunque el mayor cuerpo de agua lo constituye el lago de Atemaco, el tercer lago más grande de México, con 7254 ha s (Martin-Del Pozzo, 1997; Gutiérrez-García y Ricker, 2011).

De acuerdo con la clasificación de García (2004), el clima en el lugar corresponde al Af(m), cálido húmedo con lluvias todo el año (Soto y Gama, 1997), mientras que con la clasificación de Köppen (1936) se distinguen dos tipos de clima, húmedo tropical (tipo A) en altitudes bajas y medias, y húmedo con inviernos templados (tipo C) en las altitudes altas. La precipitación anual es de 1272 a 4201 mm, siendo marzo es el más seco, con una precipitación de 34 mm, y septiembre es el mes más lluvioso, con 418 mm. La temperatura media anual es de 24.1-27.2 °C, con temperaturas máximas de 32-34 °C, y mínimas de 14-16 °C, mayo es el mes más caliente con 28.8 °C, y enero el mes más frío con 21.8 °C (Soto y Gama, 1997; Gutiérrez-García y Ricker, 2011). Debido a que el área se encuentra del lado de la vertiente del Golfo, se encuentra más expuesta a los vientos húmedos provenientes del Golfo de México.

La vegetación primaria aún evidente en el área corresponde al bosque tropical perennifolio (Rzedowsky, 1978), o selva alta perennifolia (Miranda y Hernández-Xolocotzi, 1963). Sin embargo, el paisaje es dominado ampliamente por vegetación de zonas perturbadas (Ibarra-Manríquez, *et al.*, 1997a), que consiste en potreros, áreas de cultivo, y cahuales en diferentes edades sucesionales. La fauna nativa es rica; mayores detalles se encuentran en González-Soriano *et al.* (1997).

IV.b. Especies vegetales

Las especies contempladas en este estudio se encuentran de manera abundante en la región, tanto en zonas con vegetación primaria, como en zonas perturbadas (Rodríguez *et al.*, 2000, Lira-Noriega *et al.*, 2007; Figura 5). Los principales usos que se les asignan las poblaciones locales son como fuente de combustible, y material para construcción (Ibarra-Manríquez y Sinaca-Colín, 1987; Ibarra-Manríquez *et al.*, 1997b).



Figura 5. *Cupania glabra* (A) y *Cymbopetalum baillonii* (B). Fisonomía del árbol, de los frutos, y de las semillas.

Se describe a las especies de acuerdo de acuerdo con diversos autores (Standley y Steyermark, 1946, 1949; Coates-Estrada y Estrada; 1988; Pennington y Sarukhán, 2005; Ibarra-Manríquez y Oyama, 1992; Ibarra-Manríquez y Cornejo-Tenorio, 2010).

IV.b.1. *Cymbopetalum baillonii* Fries (Annonaceae)

Árbol monopódico de 10 a 25 m de altura, con copa piramidal o extendida, con las ramas horizontales y monopódicas, situadas en la parte superior del tronco, tronco derecho, con fuste muy largo, con corteza de color gris claro u oscuro, las ramillas tienen entrenudos grisáceos y abundantes lenticelas amarillas. Las hojas son simples, alternas, elípticas, glabras, coriáceas, con el margen entero, y con venación secundaria inconspicua, de color verde brillante en el haz y el envés. Flores solitarias, fragantes, de 1.3 a 2.3 cm, pétalos carnosos, color verde o amarillo, frutos de 11 a 23 cm de largo. Frutos de tipo foliceto, con forma de pequeños plátanos, cortamente estipitados, rojos cuando maduros, de 8.5 a 30 cm largo, cada fruto contiene de 8-24 semillas, ariladas, de 14 a 16 mm de largo, por 6.5 a 8 mm de ancho, color pardo brillante. Florece de marzo a junio y fructifica de febrero a mayo.

IV.b.2. *Cupania glabra* Sw. (Sapindaceae)

Árbol de 12 a 15 m de altura, hasta 30 m, con una copa angosta o extendida, con diámetro del tronco a la altura del pecho generalmente de 25 cm o menos, con una corteza lisa, color gris claro; hojas compuestas, dispuestas en espiral, tienen de 7 a 14 folíolos, de 6 a 20 cm de largo, por 2 a 7 cm de ancho, por lo general dispuestos de forma alterna, ovo vado-oblongos a estrechamente oblongos, con el margen serrado, subcoriáceos, verde oscuro en el haz y verde más pálido y opaco en el envés, usualmente glabros en la madurez. El envés es escasamente pubescente en ocasiones, peciólulo corto. Flores blanquecinas, de aproximadamente 1.4 a 2 mm de diámetro, dispuestas en panículas pulverulentas, axilares y subterminales, iguales o más cortas que las hojas, muy ramificadas, los pedicelos miden de entre 2 a 3 mm de largo. Frutos de tipo cápsula loculicida, trivalvados, escasamente lobados, de aproximadamente 1.5 a 2 cm de largo, glabros externa e internamente, color pardo cuando maduros, cada fruto contiene de una a tres

semillas; semillas de color marrón oscuro, de 9 a 12 mm de largo, por 7 a 8 mm de ancho, presentan un arilo oleaginoso. Florece de junio a julio y fructifica de marzo a mayo.

Tabla 1. Características principales de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*.

Especie	Nombre común	Tipo de fruto	Número de semillas por fruto	Tamaño de semilla (largo, ancho mm)	Síndrome de dispersión	Usos
<i>Cymbopetalum baillonii</i>	Huevo de mono, Platanillo, Samñikuy	Foliceto	8-24	14-16, 6.5-8	Aves	Leña, construcción, herramientas, sombra
<i>Cupania glabra</i>	Tepechi, Tres Lomos	Cápsula loculicida	1-3	9-12, 7-8	Aves, mamíferos	Leña, construcción, herramientas, cerca viva

IV.c. Recolecta de frutos y beneficio de las semillas

Se realizaron inspecciones visuales periódicas del estado de maduración de los frutos; los frutos de ambas especies se consideraron aptos para recolectarse cuando comenzaron su proceso de dehiscencia. En este momento, los frutos de *C. glabra* presentaron una coloración pardo-verdosa, mientras que en *C. baillonii* los frutos presentaron una coloración rojiza. La recolección de frutos se realizó directamente de los árboles de forma manual, o bien con ayuda de una garrocha podadora telescópica, trepando en ellos en los casos que se requirió. Se realizó la recolección en al menos 10 árboles de cada especie: *C. glabra* se recolectó en Tatahuicapan, y *C. baillonii* en sitios cercanos a la EBT Los Tuxtlas. Las recolecciones se realizaron en abril y en dos años sucesivos, 2011 y 2012.

Los frutos se colocaron en contenedores de plástico, y se cubrieron con tierra de suelo de la selva, para evitar su deshidratación. Se transportaron de inmediato a las instalaciones del Instituto de Ecología de la UNAM, en la Ciudad de México. La limpieza y extracción de las semillas (beneficio de la semilla, según Aguirre y Peske, 1992), se realizó de acuerdo con los procedimientos y recomendaciones señalados por Niembro *et al.* (2010), para especies arbóreas con características de fruto y semilla similares a los de las especies en estudio. La metodología general se muestra en la Figura 6 y 7, y se detalla en los párrafos posteriores.

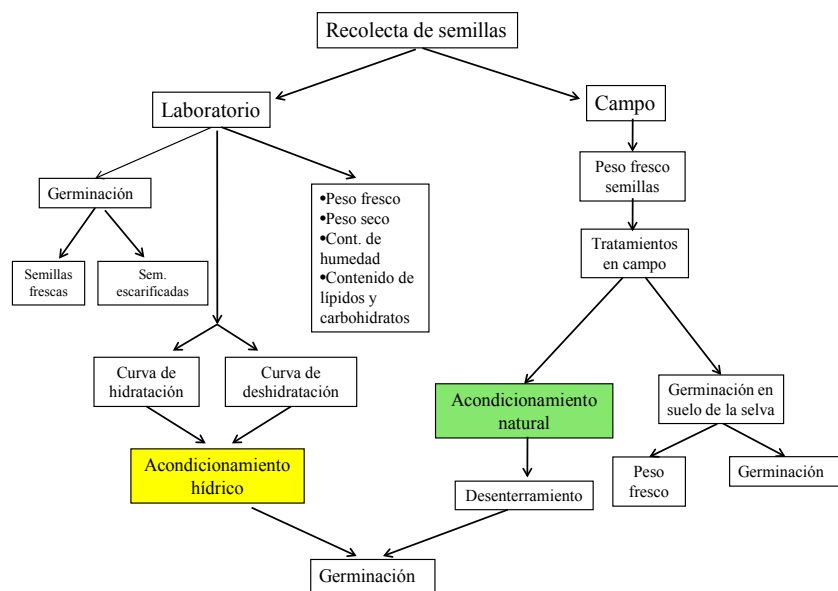


Figura 6. Procedimientos generales del manejo de las semillas, previos a la realización de los tratamientos de acondicionamiento.

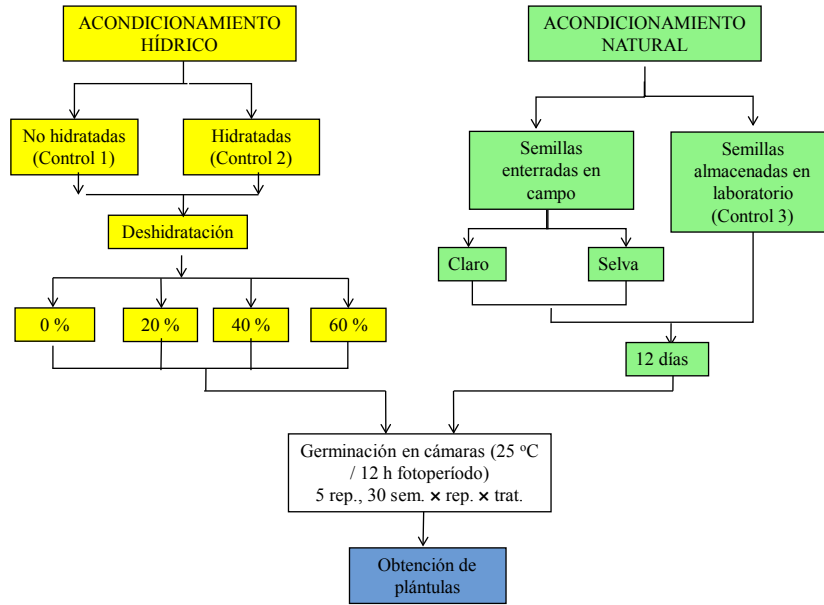


Figura 7. Diagrama de flujo de los experimentos de acondicionamiento hídrico y natural.

IV.d. Características de las semillas

IV.d.1. Determinación del peso fresco, peso seco, y contenido de humedad

Para determinar el contenido de humedad de las semillas, y con ello realizar los cálculos de los contenidos de humedad teóricos para las evaluaciones posteriores, inicialmente se pesaron (peso fresco PF) 100 semillas de cada especie, con una balanza analítica A-200DS (Fisher Scientific, Fairlawn, NJ, precisión 0.001 mm); posteriormente estas semillas se secaron en un horno 107801 (Boekel Industries, Inc. Philadelphia, PA) a 80 °C durante 48 horas, modificando el protocolo del ISTA (1993), dado el alto porcentaje de lípidos de ambas especies. Transcurrido este tiempo, las semillas se pesaron (peso seco PS). Con los valores de PF y PS se calculó el contenido de humedad base seca CH_{bs} y el contenido de humedad base húmeda CH_{bh} usando las siguientes ecuaciones (Hong y Ellis, 1996a; Sun, 2002):

$$CH_{bs} (\%) = ((PF - PS)/PS) \times 100$$

$$CH_{bh} (\%) = ((PF - PS)/PF) \times 100$$

Para inferir el PS a partir del PF, se realizó un análisis de regresión entre ambas variables, a través de su ajuste a la ecuación lineal $y = a + b\chi$. Este análisis se realizó con el programa Table Curve 2D versión 5.01 (AISN Software, Chicago, IL, USA).

Con el fin de evaluar diferencias en las características de las semillas, en tres años de recolecta, se realizó un análisis estadístico, con las medias de PF, PS, CH_{bs} y CH_{bh} como variables de respuesta, y los años como factores. Se realizó una prueba ANOVA de una vía, y la prueba *post hoc*, utilizada para determinar los valores medios significativamente diferentes, fue la de Tukey. En otros casos, en que no se cumplieron los supuestos del ANOVA, se utilizó la prueba Kruskal-Wallis con los valores originales, para comparar los valores reportados por Rodríguez-Hernández (1992) para el año 1989, con los años 2011 y 2012. Se realizó la transformación de los porcentajes de CH con la función logaritmo, cuando lo requirieron (Zar, 1974). Estos análisis se realizaron con el programa Statgraphics Centurion, versión XV (Statistical Graphics Corporation. Graphic Software System, Inc., Rockville, MD, USA).

IV.d.2. Determinación del contenido de glucosa y lípidos

Para investigar el contenido de glucosa y lípidos, así como la posible variación anual de los mismos, se determinó el porcentaje de presentes en las semillas de *C. glabra* y *C. baillonii* de las recolectas correspondientes a los años 2011 y 2012. En el caso de los lípidos, se utilizó el método de Bligh y Dyer (1959), utilizando 0.5 g de material seco de las semillas, mientras que en el caso de los carbohidratos no estructurales se utilizó el Protocolo Kit FA-20 (Sigma), utilizando 0.5 g de material seco de las semillas. Adicionalmente, se expresó el contenido de humedad CH libre del contenido de lípidos base seca (CH_{LLbs}) y base húmeda (CH_{LLbh}), de acuerdo a Caddick (2005), con las siguientes ecuaciones:

$$CH_{LLbs} = (100 \times CH_{bs})(100 - CL_{bs})$$

$$CH_{LLbh} = (100 \times CH_{bf})(100 - CL_{bf})$$

Se realizó una prueba *t* de Student para determinar si existieron diferencias en el contenido de ambas macromoléculas entre las recolectas de los años 2011 y 2012. El análisis se hizo con el programa Statgraphics.

IV.d.3. Germinación de semillas escarificadas

Para averiguar la influencia de la cubierta seminal en la germinación de *C. glabra* y *C. baillonii*, en un lote de semillas frescas de ambas especies, se realizó una escarificación previa a su siembra. Para ello se hizo una pequeña incisión en la cubierta seminal de la semilla con una navaja. Este método es aplicado generalizadamente en especies de la selva amazónica, en Brasil (Ferraz y Varela, 2003).

IV.e. Acondicionamiento hídrico

IV.e.1. Dinámica de hidratación de las semillas

Un lote de semillas se colocó en un recipiente de acrílico oscuro de 35 × 44 × 10 cm, con 1500 ml de agua destilada en su interior, para hidratarlas a saturación. Se siguió la dinámica de hidratación de las semillas, evaluando el peso fresco de 12 semillas en intervalos de 30 minutos, en las primeras seis horas de hidratación, y cada 24 horas a partir de las primeras 24 horas; para esto se tomó una semilla, se secó con papel absorbente, y se registró el peso con la balanza analítica. Se realizó una curva de hidratación en el tiempo, para considerar el momento en el cual las semillas alcanzaron el nivel de hidratación correspondiente a la fase estacionaria o de activación de la germinación (fase II), de acuerdo con el modelo de Bewley (1997), esto es, cuando el peso se estabilizó.

Una vez concluida la hidratación, se realizó un análisis de regresión entre el peso fresco inicial (PF_i) y el peso fresco hidratado (PF_h), por medio del ajuste a la ecuación lineal $y = a + bx$, esto para poder inferir el PF_i a partir del PF_h . Este análisis se realizó con el programa Table Curve.

Para alcanzar los porcentajes de deshidratación deseados (CH_d) en las semillas sometidas a distintos tratamientos, se calculó el contenido de humedad base seca absoluto (CH_{bs}) y el relativo (CH_r), es decir, considerando al porcentaje total de CH_{bs} , como el 100 %, con las siguientes ecuaciones:

$$CH_{bs} (\%) = ((PF - PS)/PS) \times 100$$

$$CH_r (\%) = (CH_d \times 100)/CH_{bs}$$

Para estos cálculos se consideró el CH_{bs} debido a que, regularmente, el CH expresado como un porcentaje del PS expresa de una forma más confiable en contenido de agua de las semillas (Sánchez-Coronado *et al.*, 2007).

Para obtener la tasa máxima de hidratación, los porcentajes de CH_{bs} se transformaron con la función arcoseno (Zar, 1974), y se ajustaron a la ecuación $y = a + b\chi^c$. La tasa máxima de hidratación corresponde a la primera derivada máxima de la curva generada. El ajuste se realizó con el programa Table Curve.

Con tal de evaluar si existieron diferencias en tres años, los porcentajes de CH_{bs} finales se transformaron con la función logaritmo y junto con los valores de las tasas máximas se analizaron con una prueba *t* de Student, para comparar los valores encontrados en los dos años de recolecta, 2011 y 2012. El análisis se hizo con el programa Statgraphics.

IV.e.2. Dinámica de deshidratación de las semillas

El lote de semillas hidratadas a saturación, así como un lote de semillas sin hidratar, se deshidrataron para reducir el contenido de humedad relativo (CH_r): 20 (D20%), 40 (D40%) y 60% (D60%), con lo que las semillas se mantuvieron con tres CH_r 80, 60 y 40%, respectivamente; definidos con base en el trabajo de Rodríguez *et al.* (2000), de acuerdo con el siguiente argumento: una deshidratación al 20% significa que la semilla ha perdido 20% de CH_r original, por lo que el CH_r baja al 80%.

En el caso de la deshidratación del lote de semillas hidratadas que se usaron para el acondicionamiento hídrico (AH), que se explica después, para el cálculo de los CH deseados se tomaron dos CH iniciales como referencia: a) se consideró el CH_{bs} de las semillas recién recolectadas como el 100% de CH (tratamiento: AH- CH_{bs}), y b) el CH de las semillas después de ser hidratadas (CH_h) se consideró el 100% de CH (tratamiento: AH- CH_h) (Figura 8).

Para que las condiciones de deshidratación fueran adecuadas para semillas recalcitrantes (Hong y Ellis, 1996a), la deshidratación se realizó dentro de un dispositivo cerrado (120 × 55 × 37 cm), provisto de un flujo de aire húmedo producido por un humidificador (Ultrasonic Misty cool Sun Shine mod HUM-006, China), colocado en la parte inferior del dispositivo, y un extractor de

aire dispuesto en la parte superior, con lo que se consiguió una humedad relativa de $62.6 \pm 12.1\%$ y una temperatura de $22.4 \pm 1.49 \text{ }^\circ\text{C}$ en el interior del dispositivo. Las semillas se colocaron dentro del dispositivo en cribas de acero inoxidable 0.5 cm de apertura, distribuyéndolas homogéneamente sobre ellas. Para medir la temperatura y la humedad relativa, se colocó un datalogger (HOBO U12-013 Onset Computer Corporation, Pocasset, MA, USA), con un termistor interno (resolución: $\pm 0.03^\circ\text{C}$; exactitud: 0.35). Se siguió la dinámica de deshidratación de las semillas mediante dos opciones, la primera registrando el peso fresco de 10 semillas individuales, y la segunda registrando el peso fresco de 10 réplicas de 10 semillas cada una. El peso fresco se registró primero en intervalos cortos de tiempo en las primeras 12 horas, y subsecuentemente cada 24 horas; para ello se retiraban las semillas o las réplicas, se registraba el peso con la balanza analítica, y se devolvían de inmediato al dispositivo. Se realizó una curva de deshidratación en el tiempo, para considerar el momento en el cual las semillas alcanzaron el CH deseado. Se calculó el CH_{bs} y CH_{r} con las mismas ecuaciones utilizadas en la hidratación de las semillas.

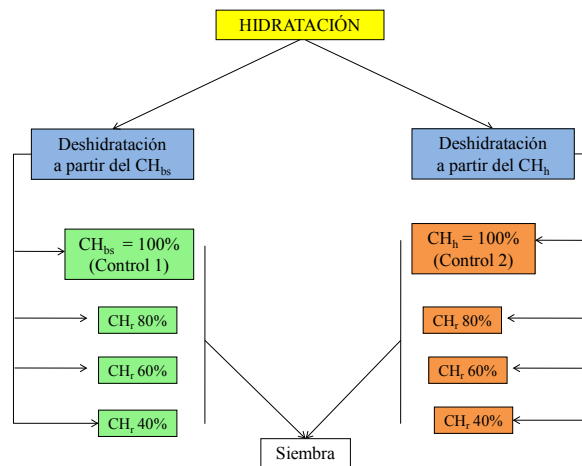


Figura 8. Metodología de los procedimientos de deshidratación y del cálculo del contenido de humedad relativo (CH_{r}), a partir de dos CH referentes iniciales, el CH de las semillas recién recolectadas (CH_{bs}) y el de semillas hidratadas a saturación (CH_{h}).

Para calcular la tasa máxima de deshidratación los porcentajes de CH base seca de las semillas individuales (primera opción) se transformaron con la función arcoseno, y se ajustaron a la ecuación $y = a + b(\lambda/c)$ con el programa Table Curve. La tasa máxima de deshidratación corresponde a la primera derivada mínima de la curva generada.

Para evaluar las posibles diferencias entre los valores de las tasas máximas de deshidratación, se realizó una prueba *t* de Student, para comparar los valores encontrados en la deshidratación de las semillas CH_h y de las semillas CH_{bs} . El análisis se hizo con el programa Statgraphics Centurion.

IV.e.3. Determinación de la viabilidad de semillas a bajos contenidos de humedad

Para investigar la viabilidad a contenidos de humedad bajos, y con ello el posible tipo de comportamiento en almacenamiento de las semillas de *C. glabra* y *C. baillonii*, las semillas de ambas especies se deshidrataron hasta alcanzar el 12% de CH_r con base al CH_{bs} , siguiendo el protocolo de Hong y Ellis (1996a). Inmediatamente, al igual que las semillas de los tratamientos previos, se pusieron a germinar en condiciones de laboratorio, de acuerdo con la metodología descrita en el siguiente párrafo.

IV.e.4. Efecto de la deshidratación y del acondicionamiento hídrico en la germinación

Previo a su siembra, las semillas se desinfectaron con una solución al 10% de hipoclorito de sodio y con una solución fungicida Interguzan 30-30 (pentacloronitrobenzoceno y disulfuro de terametiluram) al 0.2%. Para la germinación de las semillas se utilizaron recipientes de plástico de 17 × 20 × 7 cm, a los cuales se les agregó agar al 1%, en agua destilada. Los tratamientos controles (C) se incluyeron dentro del diseño factorial, el cual fue el siguiente: semillas frescas (Control 1, C1) e hidratadas (Control 2, C2), el Control 2 permite hacer una comparación directa con los tres niveles de deshidratación ($D_{20\%}$, $D_{40\%}$ y $D_{60\%}$), calculados ya sea a partir del CH_{bs} o del contenido de humedad a saturación CH_h , y el Control 1 es una referencia de cómo germinan las semillas sin ningún tratamiento. El diseño factorial tiene 5 niveles, C1, C2, $D_{20\%}$, $D_{40\%}$ y $D_{60\%}$ para cada especie, con cinco repeticiones de 30 semillas por tratamiento. Los recipientes se colocaron en cámaras de germinación a temperatura constante (25 °C) y con un fotoperíodo de 12 h luz. La germinación se contabilizó cada tercer día, considerando una semilla germinada cuando la radícula protruía la cubierta seminal.

Para obtener los valores de los parámetros germinativos: tasa máxima de germinación, el tiempo medio y el tiempo de inicio de la germinación, los porcentajes de germinación se

transformaron al arcoseno, y se ajustaron a una curva exponencial sigmoide [$y = a/(1 + b(-c\chi))$] con el programa Table Curve. La tasa máxima de germinación (máximo porcentaje de semillas que germinan por unidad de tiempo) corresponde a la primera derivada máxima de la curva exponencial sigmoide, y el tiempo promedio de germinación corresponde al día en el cual se presenta la tasa máxima de germinación (González-Zertuche *et al.*, 2002).

Con el fin de evaluar el efecto de los tratamientos, se realizó un análisis estadístico, con las medias de los parámetros germinativos como variables de respuesta, y los tratamientos como factores. Para los análisis paramétricos se realizó un ANOVA de una vía, siendo necesario cumplir previamente con los supuestos del ANOVA (Dytham, 2003), transformando las medias con la función arcoseno (Zar, 1974) en los casos en los que fue necesario, y la prueba *post hoc*, utilizada para determinar los valores medios significativamente diferentes, fue la de Tukey. En los casos en que no se cumplieron los supuestos del ANOVA, se realizó un análisis de Kruskal-Wallis con los valores originales (medianas) de los parámetros, y se diferenciaron los valores significativos a través de la comparación visual de los valores, en una gráfica de cajas y bigotes. El análisis se realizó con el programa Statgraphics.

IV.f. Acondicionamiento natural

IV.f.1. Entierro de semillas en el campo

Semillas recién recolectadas se enterraron a 2 cm de profundidad en dos diferentes sitios en Los Tuxtla: selva y claro. Para ello las semillas se colocaron en bolsas de tela de organza, que a su vez se colocaron dentro de bolsas hechas de malla mosquitera de aluminio. Con base en el patrón de germinación de las especies estudiadas, y su comportamiento en almacenamiento definido como “incierto” (Royal Botanic Gardens Kew, 2008), las bolsas permanecieron enterradas en cada sitio durante 12 días; se consideraron cinco repeticiones de 50 semillas por sitio. Se colocó un datalogger en cada uno de los sitios. Transcurrido el período de permanencia, las semillas se desenterraron, protegiéndolas de la luz natural, al cubrirlas con papel aluminio. De inmediato se transportaron al laboratorio, en donde se limpiaron y pesaron dentro de un cuarto con luz de seguridad, y posteriormente se sembraron para evaluar su germinación. Para estas pruebas los tratamientos control fueron la germinación de semillas de reciente recolecta (C1), y la de semillas

almacenadas en frascos de vidrio oscuro bajo condiciones de laboratorio, por un tiempo igual al que las semillas permanecieron enterradas en el suelo (12 días, C3). De igual forma se colocó un sensor HOBO de temperatura, en el lugar de almacenamiento. Para la germinación se siguió la misma metodología seguida en los tratamientos de acondicionamiento en laboratorio.

IV.f.2. Germinación de semillas en el campo

Para evaluar la germinación de las semillas en la selva, inicialmente se registró el peso fresco de 150 semillas recién recolectadas de *C. glabra* y *C. bailloni*. Posteriormente, estas semillas se colocaron en el suelo de la selva. Para ello, se utilizaron bolsas de tela mosquitera de aluminio para contener a las semillas, y a su vez estas bolsas estuvieron contenidas en bolsas de tela mosquitera de nylon, las cuales se sujetaron a una varilla de acero y permanecieron en la superficie del suelo de la selva. El peso fresco del conjunto de semillas de cada bolsa y la germinación de las semillas se evaluó cada tercer día, registrando el peso de cada una de las semillas con una balanza portátil (precisión 0.01 g). El peso fresco se expresó en CH_r (base seca).

IV.g. Crecimiento y supervivencia

IV.g.1. Crecimiento en invernadero

Las plántulas provenientes de los mejores tratamientos de deshidratación, acondicionamientos hídrico CH_{bs} y CH_h, las plántulas del acondicionamiento natural (campo), así como las plántulas del tratamiento control C1, se cosecharon y se trasplantaron a bolsas de plástico de polietileno de 12 × 25 cm (diámetro × largo), con suelo proveniente de su hábitat natural (selva alta perennifolia de la región de Los Tuxtlas).

Las plántulas se colocaron inicialmente en el invernadero (Figura 10). La supervivencia y el crecimiento de las plántulas se evaluaron, inicialmente, después de transcurrida una semana del trasplante y posteriormente cada mes, en total se hicieron tres evaluaciones, en julio, agosto y septiembre de 2011. Se pusieron 30 individuos de cada tratamiento. En las plántulas se midieron las siguientes variables: altura, diámetro del tallo, número de hojas y cobertura.

Se calculó la tasa relativa de crecimiento (TRC) para las variables de crecimiento. La TRC se define como el incremento en biomasa de la planta por unidad de biomasa por unidad de tiempo (Hunt, 1982), y se calculó con la siguiente ecuación:

$$TRC = (\ln \chi_2 - \ln \chi_1)(t_2 - t_1)^{-1}$$

En esta ecuación, \ln es el logaritmo natural, χ_2 es la medición final, χ_1 es la inicial, y $t_2 - t_1$ es el número de días entre ambas mediciones. La TRC se calculó considerando un período global que abarcó el tiempo entre julio y septiembre.

Para evaluar el crecimiento en biomasa seca se realizaron dos cosechas, con un intervalo de 60 días entre cada una de ellas (junio y agosto de 2011), seleccionando al azar 5 individuos por tratamiento. Se determinó el peso total de la plántula y el peso de hojas, tallo y raíz, por separado, antes y después de su secado en un horno a 80 °C por 48 h. Se determinó, en estas mismas plantas, la relación raíz vástago R:V (en donde el vástago es el tallo más las hojas), en longitud ($Raíz_{cm}:Vástago_{cm}$) y en biomasa seca ($Raíz_g:Vástago_g$).

Con el fin de evaluar el efecto de los tratamientos en el crecimiento, se realizó un análisis estadístico con las medias para cada variable de crecimiento, y de crecimiento en biomasa. Estas variables, y las respectivas TRC de las variables de crecimiento en invernadero, son las variables de respuesta, y los tratamientos los factores. Para los análisis estadísticos paramétricos se realizó una ANOVA de una vía, cumpliendo previamente con los supuestos del ANOVA (Dytham, 2003), transformando los valores de las variables de crecimiento, en los casos que así lo requirieron, con la función raíz, o $\log(\chi + 1)$ (Zar, 1974), y para discernir las medias significativas se utilizó una prueba de Tukey, o bien de Bonferroni, dependiendo de la variación de los tamaños de muestra. En los casos contrarios se realizó un análisis de Kruskal-Wallis, con los valores originales de las medianas, y se diferenciaron los valores significativos a través de la comparación visual de los valores, en una gráfica de cajas y bigotes. Los análisis se realizaron con los programas Table Curve 2D y Statgraphics.

IV.g.2. Crecimiento en campo

Después de tres meses de permanencia en el invernadero, las plántulas se transportaron a la parcela de experimentación, ubicada en la comunidad Magallanes (18° 22' 06.7" N y 94° 45' 55.4" W) de Tatahuicapan, Veracruz (Figura 10). El lugar de trasplante fue un terreno de 535.5 m² (25.5 × 21 m), con una pendiente de 20°; dicho terreno presenta una cobertura arbórea de vegetación secundaria, de aproximadamente 10 metros de altura, con una edad aproximada de entre 15 y 20 años. El número de plántulas trasplantadas dependió de las semillas germinadas, por lo que el número de plántulas por tratamiento y por especie difirió (Tabla 11). Se trasplantaron 238 plántulas en total, de las dos especies, 99 plántulas para *C. glabra*, y 139 para *C. baillonii*. La plantación tuvo un diseño de bloques al azar, totalizando seis bloques (Figura 9A), cada bloque estuvo conformado por tres filas separadas entre sí por 1.5 m; cada fila, a su vez, estuvo formada por 15 plantas separadas entre sí por 1.5 m (Figura 9B). Dentro de cada bloque todos los tratamientos correspondientes a *C. glabra* y a *C. baillonii* se arreglaron en subunidades experimentales cuadrangulares de 3 × 3 plántulas; cada bloque contó con 5 subunidades (Figura 9C).

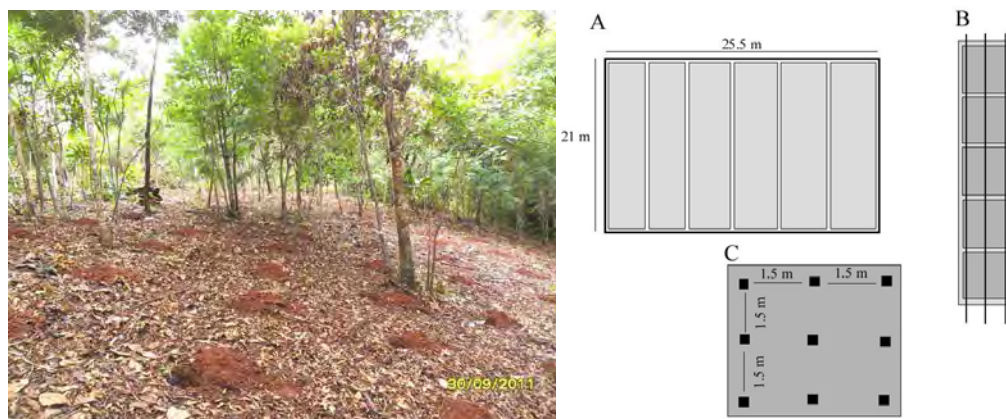


Figura 9. Aspecto general de la parcela experimental (izquierda), además de su diseño y dimensiones (derecha, A), diseño del bloque (derecha, B) y de la subunidad experimental (derecha, C).

El crecimiento y supervivencia se evaluó a lo largo de 12 meses (octubre de 2011 a octubre de 2012), con las mismas variables de crecimiento consideradas en el invernadero, con excepción de la cuantificación de biomasa seca y su asignación a las diferentes partes de la planta, ya que en este caso la evaluación no fue destructiva. Las evaluaciones mensuales comprendieron a partir de octubre del 2011 hasta abril del 2012; posterior a esta fecha se realizaron tres evaluaciones

bimestrales: junio, agosto y octubre de 2012. Para la TRC se consideraron intervalos de tiempo de seis meses (Figs. 25 y 26): dos periodos parciales de seis meses de duración, de octubre de 2011 a abril de 2012, y de abril de 2012 a octubre de 2012; y un periodo global de doce meses, de octubre de 2011 a octubre 2012.

Los análisis estadísticos siguieron los mismos lineamientos establecidos en la evaluación del crecimiento en invernadero. Se utilizó el programa Table Curve 2D y Statgraphics.

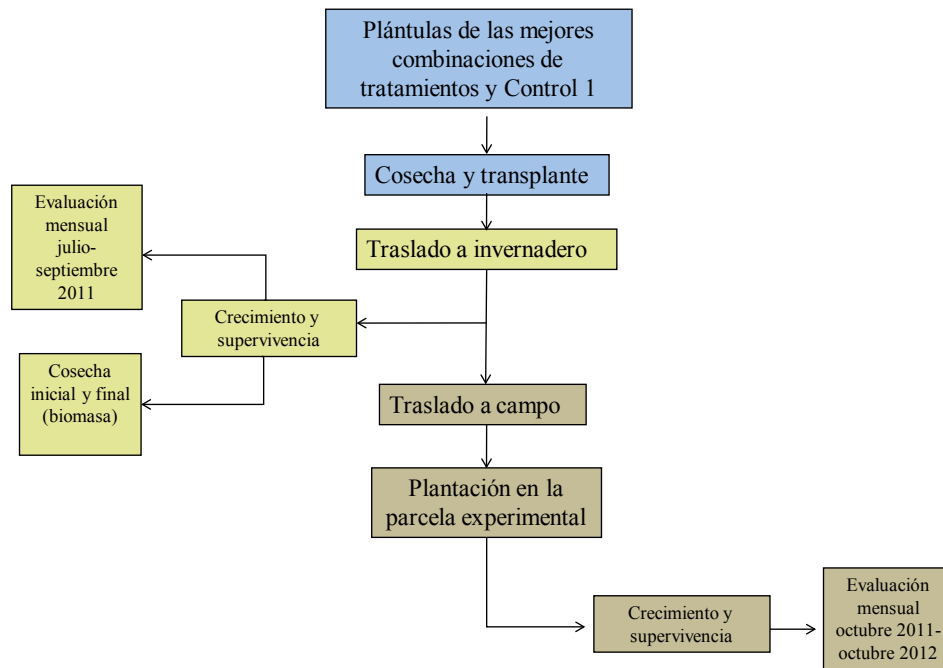


Figura 10. Metodología de la evaluación de crecimiento y supervivencia en plántulas, en invernadero y campo.

IV.h. Longevidad de las semillas durante el almacenamiento

Se realizó una nueva recolecta de frutos en la temporada 2012. En el laboratorio, se almacenaron lotes de semillas tratadas previamente con los siguientes tratamientos: semillas frescas sin acondicionamiento (SA), acondicionamiento hídrico (AH) con $D_{20\%}$ calculado a partir de CH_h o AH, con $D_{20\%}$ calculado a partir de CH_{bs} , para *C. glabra* y *C. baillonii*, respectivamente y acondicionamiento natural (AN), siguiendo la misma metodología usada en el año 2011 (Figura 11). A su vez estas semillas se colocaron en frascos de cristal cerrados con papel adherente (PVC film) y se almacenaron en dos diferentes condiciones: en temperatura ambiente (Amb), y en

cámara de germinación a 15 °C (CG). Se evaluó la germinación cada 15 días durante un período de tiempo de tres meses (90 días). Los frascos se destaparon cada semana para permitir la aeración de las semillas; además, se limpiaron con fungicida para evitar el crecimiento de hongos. El diseño factorial con los tratamientos controles incluidos (Control 1 o semillas frescas sin acondicionamiento, Control 4 o semillas con AH, y Control 5 o semillas con AN, ambas puestas a germinar sin almacenamiento previo) fue el siguiente: tipo de acondicionamiento, 3 tratamientos (SA, AH, AN) × sitio de almacenamiento, 2 sitios (Amb y CG) × tiempo de almacenamiento, 6 tiempos (0, 15, 30, 45, 60 y 90 días) = 36 tratamientos por especie, con tres repeticiones de 30 semillas por tratamiento. Las semillas se colocaron en cámaras de germinación y se evaluó la germinación cada tres días.

El análisis estadístico de los parámetros germinativos siguió las consideraciones expuestas en los párrafos previos (germinación de semillas con acondicionamiento hídrico y natural). Sin embargo, en este caso se realizó un análisis de varianza de tres vías. La prueba *post hoc* fue la de Tukey. El análisis se realizó en el programa Statgraphics.

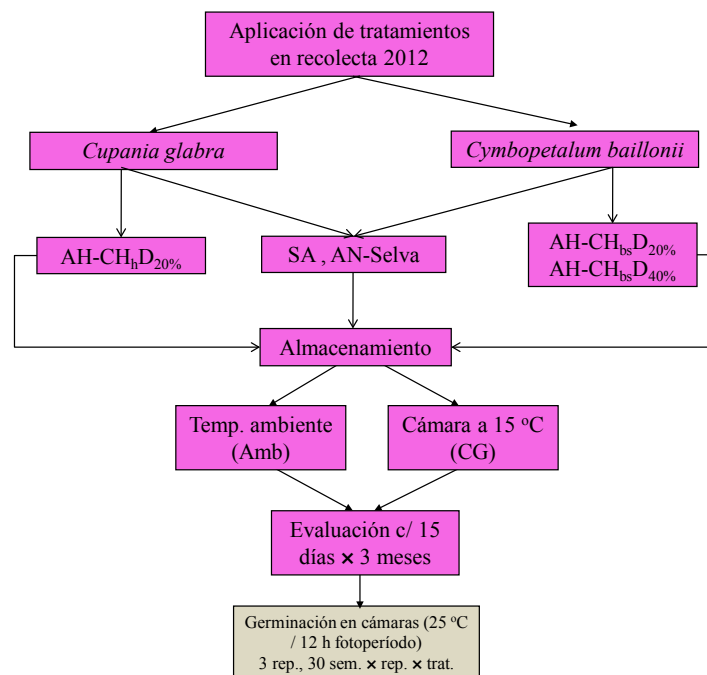


Figura 11. Metodología seguida en la evaluación de la longevidad de las semillas durante el almacenamiento.

V. RESULTADOS

V.a. Características de las semillas

V.a.1. Determinación del peso fresco, peso seco, y contenido de humedad

Los valores de peso fresco PF, peso seco PS, y contenido de humedad base seca CH_{bs} y base húmeda CH_{bh} , que se determinaron en las semillas correspondientes a las recolectas de las temporadas 2010 y 2011, así como su comparación con los datos de la recolecta en el año 1989, se muestran en la Tabla 2. Para *C. glabra* se encontraron diferencias significativas entre ambos años en las variables PF ($H = 61.659$, $P = 0.01$), PS ($H = 42.9943$, $P = 0.0001$), CH_{bs} ($H = 6.40701$, $P = 0.0406$) y CH_{bh} ($H = 6.40701$, $P = 0.0406$), y para *C. baillonii* en las mismas variables PF ($H = 68.8439$, $P = 0.01$), PS ($F_{(2, 297)} = 67.71$, $P = 0.0001$), CH_{bs} ($H = 69.1483$, $P = 0.01$) y CH_{bh} ($H = 69.1483$, $P = 0.01$). En *C. glabra* el 2011 es el año en donde ocurren los mayores valores de las variables de peso, mientras que en *C. baillonii* es el 2012, con excepción de los valores de CH, que son más altos en 1989.

Tabla 2. Características de las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, valores para las semillas recolectadas en 2011 y 2012 (media \pm error estándar). Los datos con asterisco son valores reportados por Rodríguez-Hernández (1992) para semillas de estas mismas especies recolectadas en 1989. Peso fresco (PF), Peso seco (PS), Contenido de humedad base seca (CH_{bs}), Contenido de humedad base (CH_{bh}). Valores de las medias, que no comparten letras iguales, son significativamente diferentes (Prueba de Tukey y Prueba de Kruskal-Wallis, $P < 0.05$).

Especie	Año	PF	PS	CH_{bs} (%)	CH_{bh} (%)
<i>C. glabra</i>	2011	0.313 \pm 0.051 a	0.175 \pm 0.036 a	82.32 \pm 23.51 a	44.46 \pm 5.48 a
	2012	0.284 \pm 0.043 b	0.163 \pm 0.032 a,b	76.71 \pm 16.27 b	42.99 \pm 4.6 b
	1989*	0.263 \pm 0.029 c	0.148 \pm 0.023 b	80.04 \pm 18.05 a	43.99 \pm 4.71 a
<i>C. baillonii</i>	2011	0.59 \pm 0.073 b	0.371 \pm 0.061 a	61.3 \pm 23.4 c	36.96 \pm 7.35 c
	2012	0.64 \pm 0.094 a	0.379 \pm 0.06 a	69.4 \pm 12.6 b	40.66 \pm 4.15 b
	1989*	0.53 \pm 0.07 c	0.293 \pm 0.052 b	84.31 \pm 28.18 a	44.67 \pm 7.31 a

Por otro lado se encontró una correlación significativa entre PF y el PS, y entre PF_i (previo a la hidratación) y el peso fresco después de la hidratación a saturación (PF_h) en ambas especies (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados del análisis de regresión (ajuste a la ecuación $y = a + bx$) realizado entre el peso seco (PS) y el peso fresco (PF), y entre el peso fresco inicial (PF_i) y el peso fresco a saturación (PF_h) de las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*.

Especie	Relación	Año de recolecta	r^2	P
<i>C. glabra</i>	PS vs PF	2011	0.879	0.00001
		2012	0.943	0.00001
	PF _i vs PF _h	2011	0.998	0.00001
		2012	0.993	0.00001
<i>C. baillonii</i>	PS vs PF	2011	0.819	0.00001
		2012	0.834	0.00001
	PF _i vs PF _h	2011	0.974	0.00001
		2012	0.993	0.00001

V.a.2. Determinación del contenido de glucosa y lípidos

Respecto a la determinación de glucosa, el contenido de ésta fue mayor en *C. glabra* que en *C. baillonii* (Figura 12A). Se encontraron diferencias significativas en el contenido de glucosa entre los dos años de recolecta en *C. glabra* ($t = -7.8696$, $P = 0.0002$) y en *C. baillonii* ($t = -10.2276$, $P = 0.0001$), siendo mayor en 2012 que en 2011 en *C. glabra* ($0.9674 \pm 0.02931 \mu\text{g g}^{-1}$ y $0.6328 \pm 0.07981 \mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente) y en *C. baillonii* ($0.0889 \pm 0.00321 \mu\text{g g}^{-1}$ y $0.05541 \pm 0.00572 \mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente).

En relación a los lípidos, el porcentaje de este compuesto fue mayor en *C. baillonii* que en *C. glabra* (Figura B). No se encontraron diferencias significativas entre los dos años de recolecta en cada una de las especies ($t = -2.14702$, $P = 0.0830$ para *C. glabra*; y $t = 0.9814$, $P = 0.3819$ para *C. baillonii*).

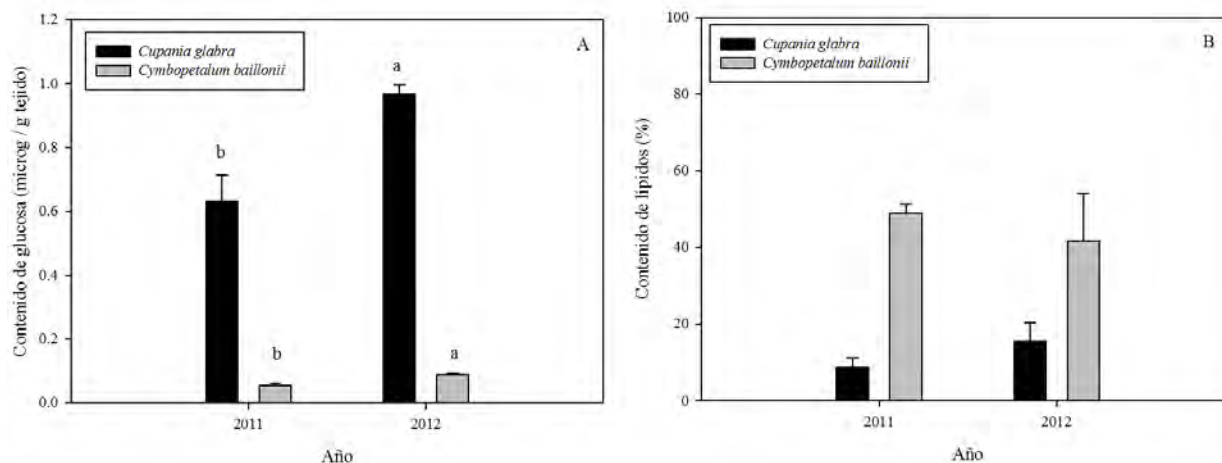


Figura 12. Contenido de glucosa no estructural (A) y contenido de lípidos (base seca, B) en las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii* correspondientes a las recolectas realizadas en los años 2011 y 2012. Las letras indican diferencias significativas entre las medias finales (Prueba de t , $P < 0.05$) de los años, para de cada una de las especies.

V.a.3. Germinación de semillas escarificadas

No hubo germinación en las semillas escarificadas de *C. glabra* y en *C. baillonii*.

V.b. Acondicionamiento hídrico

V.b.1. Dinámica de hidratación de las semillas

Las semillas de *C. glabra* se hidratan en un tiempo mayor en comparación con las de *C. baillonii*, tanto en las semillas del 2011 como en las del 2012. En *C. glabra* se encontraron diferencias significativas en el CH_r final (base seca) así como en el tiempo de hidratación final para los dos años de recolecta ($t = -10.0773$, $P = 0.0001$; $t = -9.6669$, $P = 0.0001$, respectivamente), siendo de $108.9 (\pm 1.15) \%$ y alcanzado en $307.2 (\pm 14.22)$ h en el 2011, y de $116.7 (\pm 1.18) \%$ y alcanzado en $592.4 (\pm 25.84)$ h en el 2012. En *C. baillonii* no se encontraron diferencias entre años para ambas variables ($t = -0.2438$, $P = 0.8105$; $t = -0.1625$, $P = 0.8726$, respectivamente), siendo de $108.3 (\pm 1.05) \%$ y alcanzado en $259.2 (\pm 16.31)$ h en el 2011, y de $108.6 (\pm 0.63) \%$ y alcanzado

en 263.6 (± 21.6) h en el 2012. La mayor pendiente se encuentra dentro de las primeras 48 h, lo que significa que la mayor tasa de hidratación se encuentra en este período inicial.

Se encontraron diferencias significativas en la tasa máxima de hidratación de las semillas de *C. glabra* y *C. baillonii* para los años 2011 y 2012 ($t = 2.3467$, $P = 0.0321$; $t = -2.663$, $P = 0.0170$, respectivamente), siendo significativamente mayor en el 2011 en *C. glabra* ($9820520 \pm 4138210 \text{ } \% \text{ h}^{-1}$ y $108538 \pm 51155.1 \text{ } \% \text{ h}^{-1}$) y significativamente mayor en el 2012 en *C. baillonii* ($9305660 \pm 3758770 \text{ } \% \text{ h}^{-1}$ y $26830000 \pm 5401570 \text{ } \% \text{ h}^{-1}$).

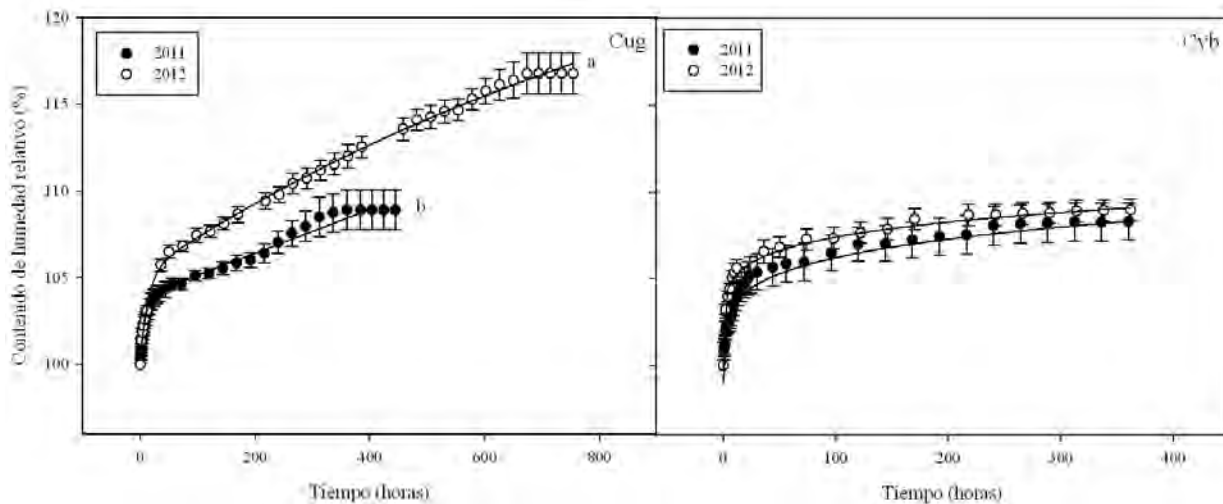


Figura 13 . Cambio en el contenido de humedad relativo durante la hidratación de *Cupania glabra* (Cug) y *Cymbopetalum baillonii* (Cyb). (●) Recolecta del año 2011, (○) recolecta del año 2012. Las letras indican diferencias significativas entre los valores medios finales (t de Student, $P < 0.5$).

V.b.2. Dinámica de deshidratación de las semillas

Por otro lado, se encontraron diferencias significativas en las tasas máximas de deshidratación de las semillas CH_{bs} con respecto a las semillas con acondicionamiento hídrico (AH) en *C. glabra* ($t = 2.4798$, $P = 0.0246$), y en *C. baillonii* ($t = 15.6039$, $P < 0.0001$). En *C. glabra*, la tasa máxima de deshidratación fue más negativa en las semillas AH ($-0.44499 \pm 0.0550839 \text{ } \% \text{ h}^{-1}$) que en las CH_{bs} ($-0.270026 \pm 0.044088 \text{ } \% \text{ h}^{-1}$). En *C. baillonii* ocurrió el mismo comportamiento ($-2.1462 \pm 0.0452275 \text{ } \% \text{ h}^{-1}$ y $-1.01207 \pm 0.0568966 \text{ } \% \text{ h}^{-1}$, respectivamente).

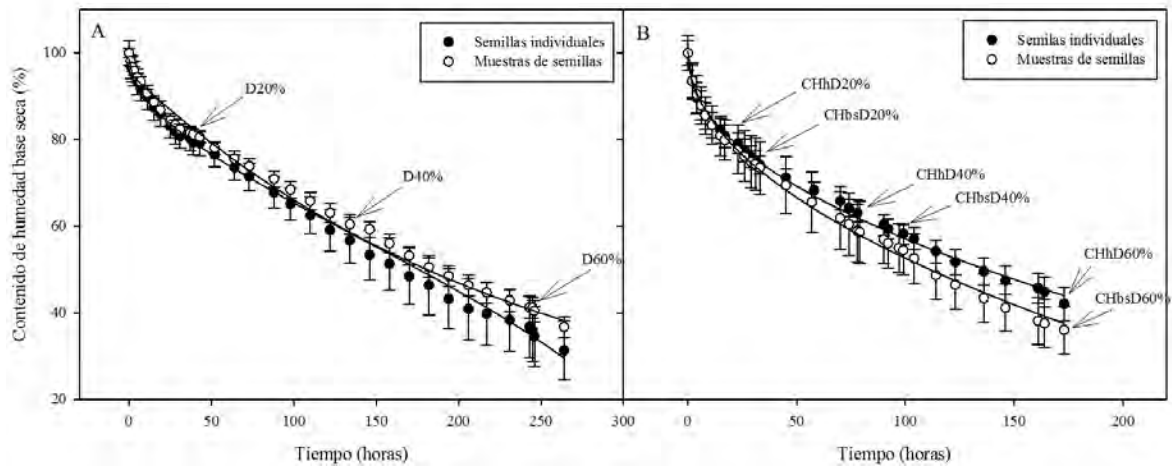


Figura 14. Cambio en el contenido de humedad en la deshidratación de semillas CH_{bs} (A), y del efectuado como parte del acondicionamiento hídrico AH (B) de semillas de *Cupania glabra*; las flechas señalan los contenidos de humedad deseados; para el caso del AH, para la deshidratación con base al CH_h ($CH_hD\%$) y la deshidratación con base al CH_{bs} inicial de la semilla ($CH_{bs}D\%$). (\circ) valor promedio para 10 muestras, cada una de 10 semillas, (\bullet) valores promedio para 10 semillas individuales.

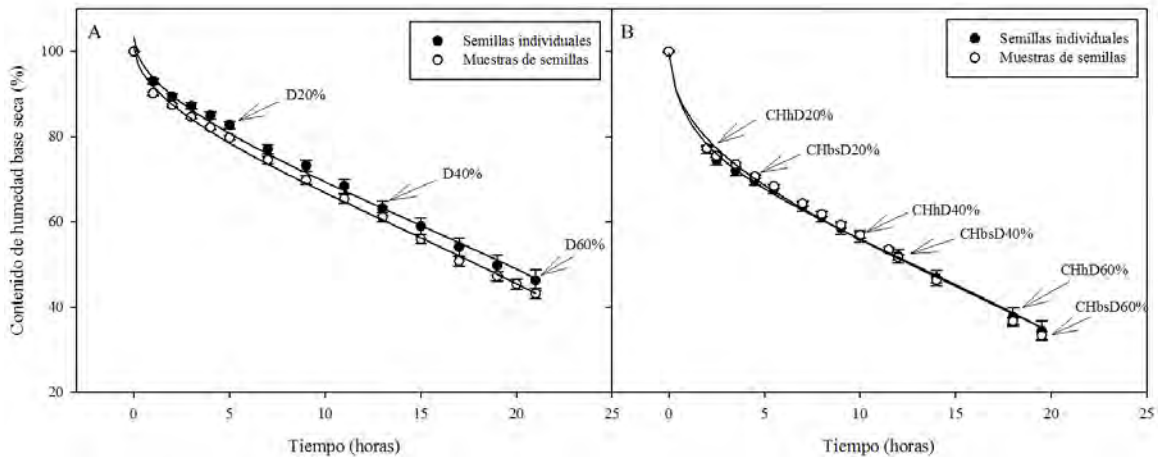


Figura 15. Cambio en el contenido de humedad en la deshidratación de semillas CH_{bs} (A) y del efectuado como parte del acondicionamiento hídrico AH (B) de semillas de *Cymbopetalum baillonii*; las flechas señalan los contenidos de humedad deseados; para el caso del AH, para la deshidratación con base al CH_h ($CH_hD\%$) y la deshidratación con base al CH_{bs} inicial de la semilla ($CH_{bs}D\%$). (\circ) valor promedio para 10 muestras, cada una de 10 semillas, (\bullet) valores promedio para 10 semillas individuales.

V.b.3. Determinación de la viabilidad de semillas a bajos contenidos de humedad

No hubo germinación a CH_r de 12% en *C. glabra* y en *C. baillonii*.

V.b.4. Germinación

La germinación de las semillas para todos los tratamientos se presenta en las Figuras 16 a 19. De acuerdo al ANOVA, se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de germinación entre los tratamientos aplicados a *C. glabra* ($F_{(13, 56)} = 39.15$, $P = 0.0001$) y *C. baillonii* ($F_{(12, 52)} = 41.96$, $P = 0.0001$), y diferencias en los demás parámetros, para *C. glabra* y *C. baillonii*; para cada parámetro se señalan, entre paréntesis, los resultados estadísticos con la prueba de Kruskal-Wallis, en el mismo orden en que se señalan las especies: tiempo de inicio ($H = 63.3265$, $P = 0.0001$; $H = 61.2906$, $P = 0.0001$; Fig. 17A y 17B), tiempo promedio ($H = 61.9429$, $P = 0.0001$; $H = 62.7339$, $P = 0.0001$; Fig. 19C y 19D), y tasa máxima de germinación ($H = 44.041$, $P = 0.0001$; $H = 41.0645$, $P = 0.0001$).

Los porcentajes de germinación finales más altos correspondieron a los tratamientos de acondicionamiento natural (AN) en ambas especies, aunque no se encontraron diferencias significativas entre los sitios de enterramiento (claro y selva), y con respecto a las semillas frescas (Control 1), en ambas especies, y con respecto a las semillas almacenadas durante doce días en laboratorio (Control 3) en *C. baillonii*, pero en *C. glabra* sí hubo diferencia con respecto al Control 3, el cual presentó el menor porcentaje. La germinación disminuyó conforme la deshidratación fue más alta en todos los tratamientos de deshidratación ($D\%$) y acondicionamiento hídrico (AH) con base en CH_{bs} y CH_h en las dos especies.

Los parámetros de germinación más altos en velocidad y más cortos en tiempo de inicio y tiempo promedio se encontraron en los tratamientos de AN, mientras que lo contrario ocurrió en AH y todos los tratamientos $D\%$. En *C. glabra* los tratamientos $D\%$ tuvieron los valores más largos de tiempo de inicio y tiempo promedio, mientras que en *C. baillonii* los tiempos de inicio más largos los tuvieron los AH- CH_{bs} y en tiempo promedio, todos los tratamientos $D\%$. Sin embargo, en *C. glabra*, C2 presentó un tiempo de promedio de la germinación más corto con respecto al C1 y a los AH con todos los niveles de deshidratación. El tratamiento AH con $D_{20\%}$ (tanto CH_{bs} como CH_h) tuvo un tiempo promedio más corto en comparación con C1. En *C. baillonii*, los tratamientos AH con base a la deshidratación al 20 y 40% respecto al CH_{bs} y CH_h presentaron tiempos de inicio y promedio de germinación más cortos, con respecto a C1 y C2.

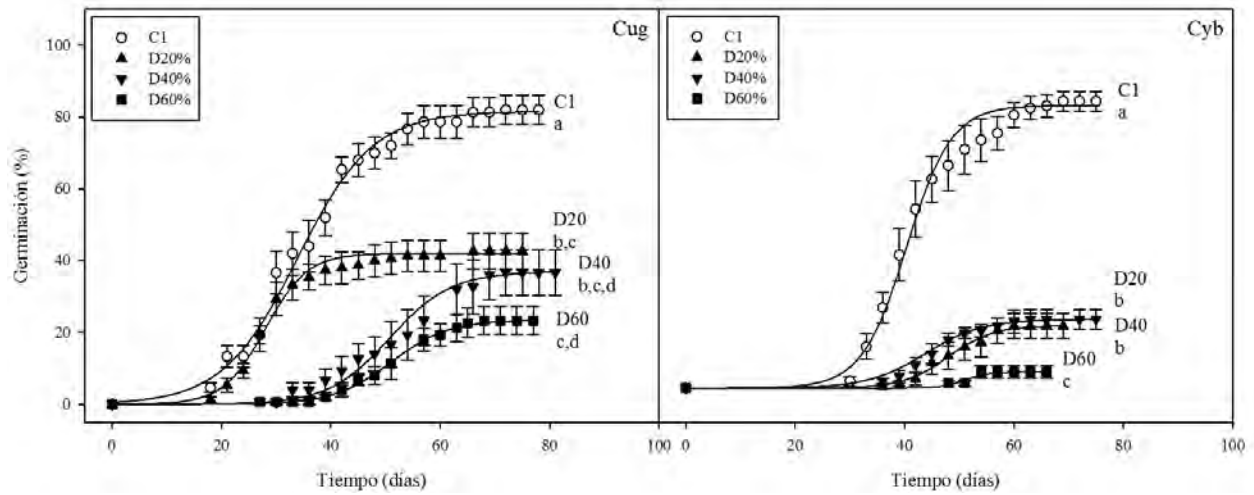


Figura 16. Germinación de semillas de *Cupania glabra* (Cug) y *Cymbopetalum baillonii* (Cyb) con diferentes grados de deshidratación ($D_{\%}$). C1, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de la recolecta; D, deshidratación al porcentaje indicado con base al CH_{bs} . Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los porcentajes finales de germinación (Tukey, $P < 0.05$).

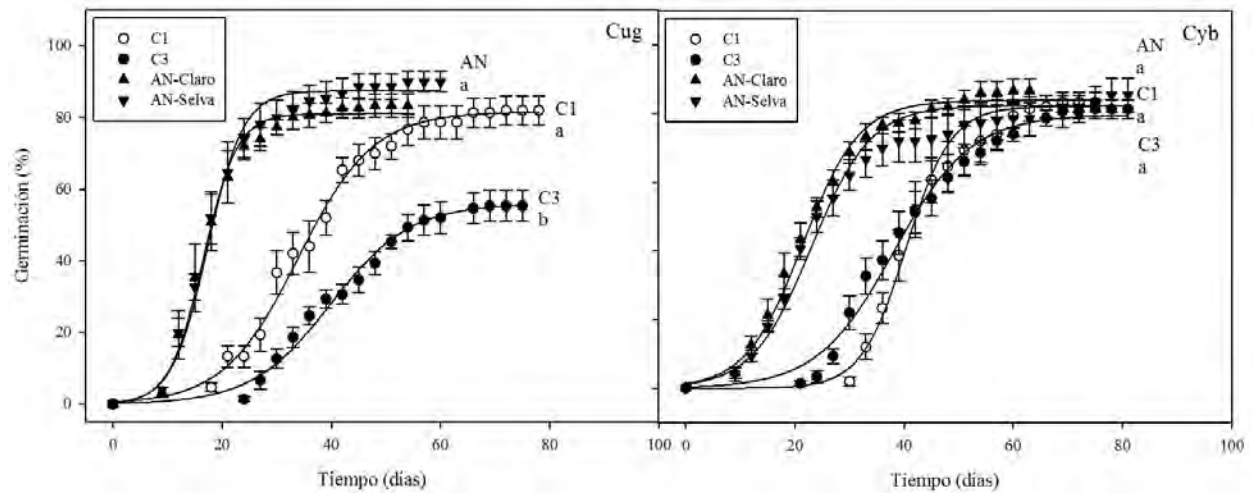


Figura 17. Germinación de semillas de *Cupania glabra* (Cug) y *Cymbopetalum baillonii* (Cyb) con tratamiento de acondicionamiento natural (AN). C1, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de la recolecta; C3, semillas que se pusieron a germinar después de permanecer almacenadas por doce días en el laboratorio; AN-Claro, acondicionamiento natural, al permanecer enterradas por doce días, en un claro, en la selva alta perennifolia en Los Tuxtlas; AN-Selva, acondicionamiento natural, al permanecer enterradas por doce días en la selva alta perennifolia en Los Tuxtlas. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los porcentajes finales de germinación (Tukey, $P < 0.05$).

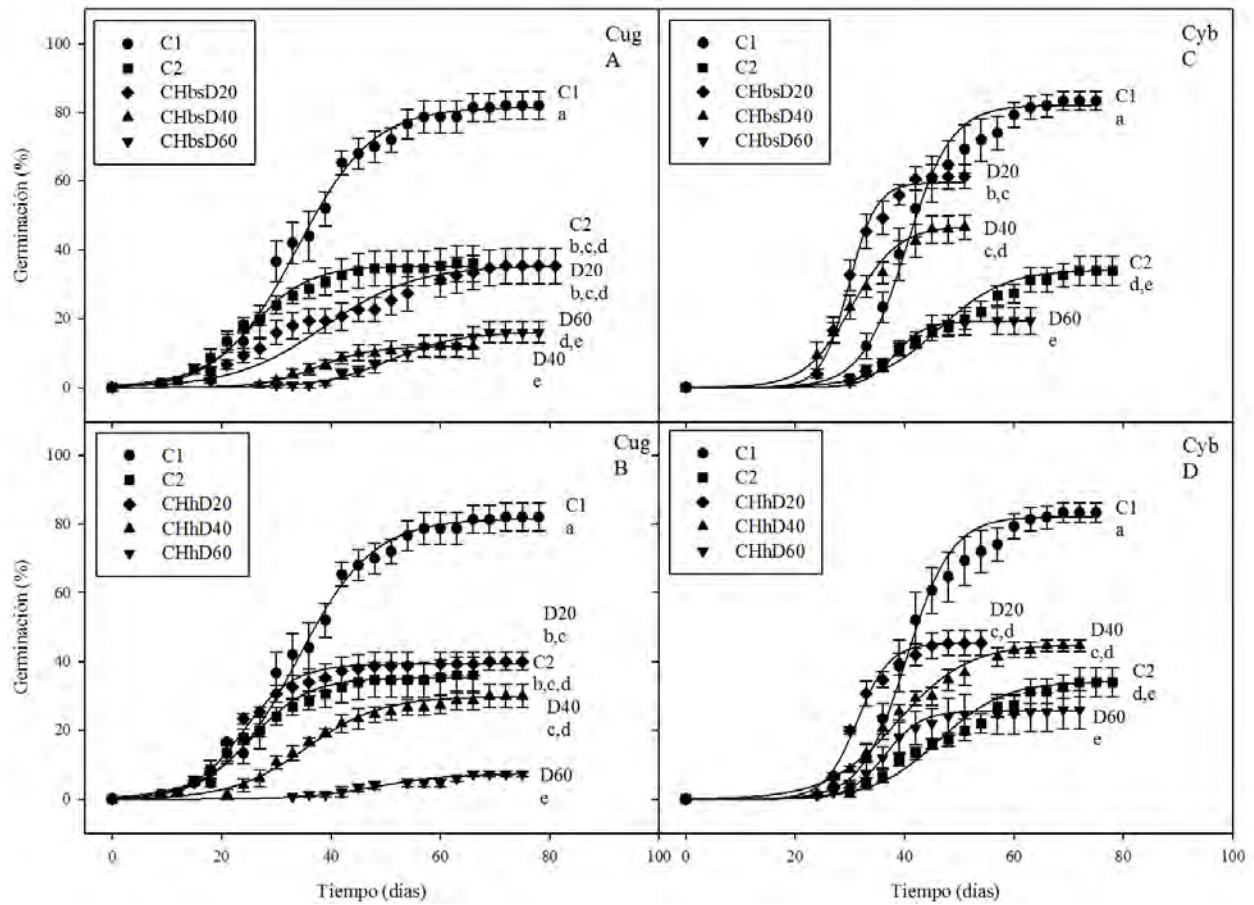


Figura 18. Germinación de semillas de *Cupania glabra* (Cug) y *Cymbopetalum baillonii* (Cyb) con tratamiento de acondicionamiento hídrico (AH), calculado a partir del CH_{bs} (A y C) y del CH_h (B y D). C1, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de la recolección; C2, semillas que se pusieron a germinar después de su hidratación a saturación; D, deshidratación al nivel indicado. Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los porcentajes finales de germinación (Tukey, $P < 0.05$).

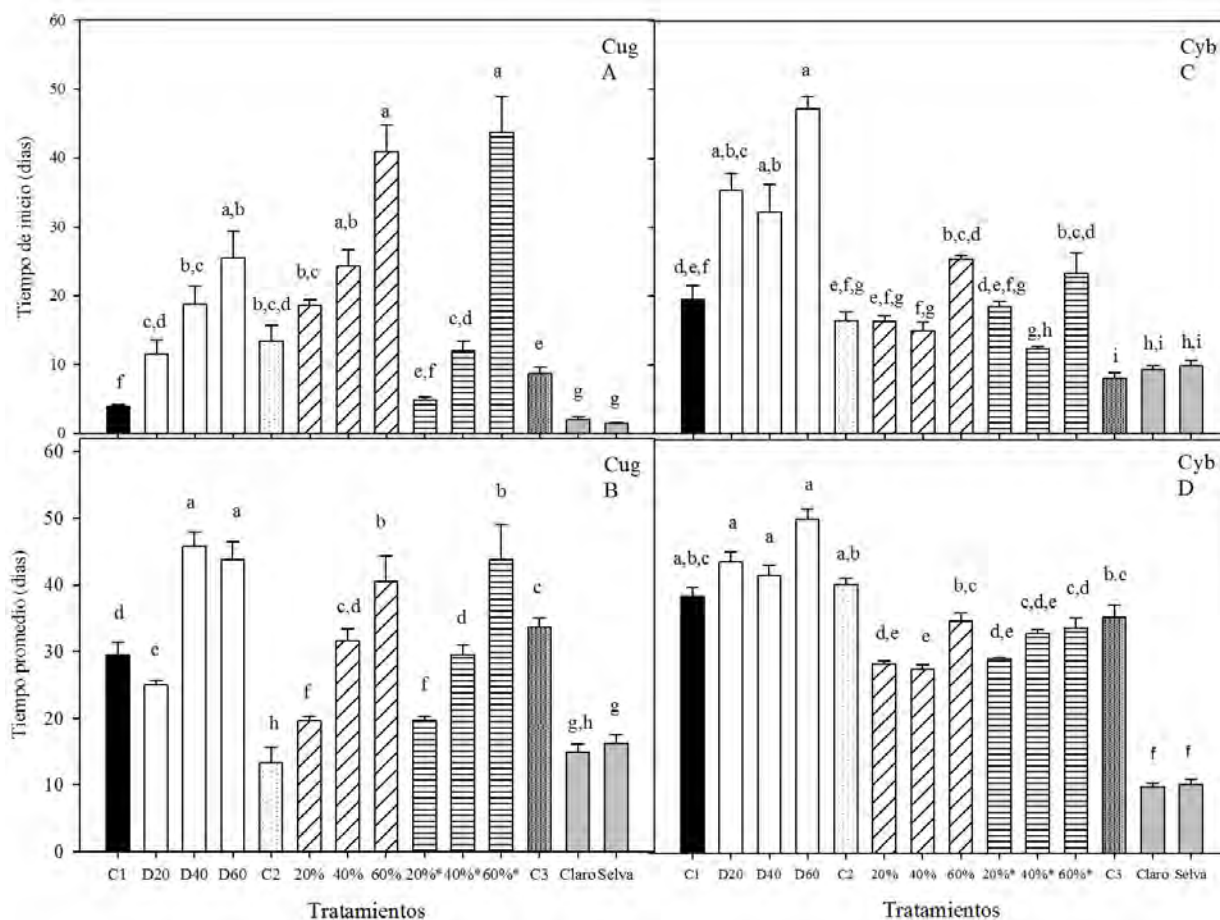


Figura 19. Tiempo de inicio y tiempo promedio de germinación para *Cupania glabra* (Cug A y B) y *Cymbopetalum baillonii* (Cyb C y D) respectivamente. Tratamientos: C1, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de la recolecta (barra negra); D, semillas deshidratadas en diferentes porcentajes (barras blancas); C2, semillas hidratadas a saturación (barra punteada); AH-CH_{bs}D%, semillas hidratadas y después deshidratadas, considerando el peso fresco de las semillas recién recolectadas como el 100% de contenido de humedad (barras con líneas diagonales); AH-CH_hD%, semillas hidratadas y después deshidratadas a diferentes porcentajes, considerando el peso fresco de las semillas hidratadas a saturación como el 100% de contenido de humedad (barras con líneas horizontales); C3, semillas que permanecieron almacenadas en el laboratorio, por un tiempo igual al que las semillas con acondicionamiento natural permanecieron enterradas en campo (barra gris punteada); AN, acondicionamiento natural en un claro, y en la selva alta perennifolia (barras grises). Las letras indican diferencias significativas entre las medias de los valores de inicio, y promedio, de la germinación (Prueba de Tukey y Prueba de Kruskal-Wallis, $P < 0.05$).

Las mejores combinaciones para cada uno de los tratamientos: a acondicionamiento natural AN, acondicionamiento hídrico AH (el óptimo para cada especie) y deshidratación D% (la óptima para cada especie), respecto a los parámetros germinativos se muestran en la Tabla 4. Estos tratamientos se consideraron para la evaluación del crecimiento y supervivencia en invernadero y campo, así como para la evaluación de la germinación en diferentes tiempos de almacenamiento.

Tabla 4. Valores de los parámetros germinativos (media \pm error estándar) de las mejores combinaciones de tratamientos para *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*.

Especie	Tratamiento	Germinación (%)	Tasa máxima (% germ día ⁻¹)	Tiempo promedio germinación (días)	Tiempo de inicio (días)
<i>C. glabra</i>	C1	82 (± 4.03)	2.5 (± 0.14)	29.5 (± 1.81)	3.9 (± 0.3)
	D _{20%}	42.66 (± 4.92)	2.7 (± 0.23)	24.9 (± 0.69)	11.5 (± 2.02)
	AH-CH _h D _{20%}	40 (± 2.58)	2.3 (± 0.1)	19.7 (± 0.52)	4.8 (± 0.51)
	AN-Selva	90 (± 2.82)	5 (± 0.54)	16.2 (± 1.22)	1.4 (± 0.14)
<i>C. baillonii</i>	C1	83.3 (± 2.78)	3.8 (± 0.63)	38.5 (± 1.29)	19.4 (± 1.99)
	D _{40%}	20 (± 2.78)	3.3 (± 0.94)	41.6 (± 1.55)	32.1 (± 4.08)
	AH-CH _{bs} D _{20%}	61.3 (± 3.43)	4.1 (± 0.32)	28.4 (± 0.4)	16.2 (± 0.79)
	AH-CH _{bs} D _{40%}	46.6 (± 3.49)	3.2 (± 0.45)	27.5 (± 0.73)	14.8 (± 1.32)
	AN-Claro	90.6 (± 2.86)	19.7 (± 4.8)	9.9 (± 0.64)	9.3 (± 0.55)

V.c. Acondicionamiento natural

V.c.1. Enterramiento de semillas en el campo

El peso fresco de las semillas enterradas 12 días en el suelo de la selva se presenta en la Tabla 5. Después de permanecer enterradas 12 días en campo, ya sea dentro de la selva o en un claro, el peso fresco final de las semillas no varió con respecto a su peso fresco inicial (Control 1), pero sí se encontró una diferencia significativa entre el peso inicial y el peso de las semillas después de su almacenamiento durante 12 días en el laboratorio (Control 3), y esto sucedió en *C. glabra* por medio del ANOVA ($F_{(3, 196)} = 10.22, P = 0.0001$), y en *C. baillonii* con la prueba de Kruskal-Wallis ($H = 51.4386, P = 0.0001$).

Tabla 5. Peso fresco y contenido de humedad de las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, después de haber permanecido enterradas en el suelo de la selva durante 12 días (media \pm error estándar). Control 1 (C1), peso o contenido de humedad (CH) de las semillas recién recolectadas; Control 3 (C3), peso o contenido de humedad (CH) de las semillas que permanecieron almacenadas en el laboratorio por un tiempo igual al que las semillas con acondicionamiento natural permanecieron enterradas en el suelo de la selva. Los valores de peso fresco (PF) con letras diferentes, indican diferencias significativas entre las medias (Tukey o Kruskal-Wallis, $P < 0.05$).

Especie	Variable	Lugar de permanencia			
		Control (C1)	Selva	Claro	Laboratorio (C3)
<i>C. glabra</i>	PF (g)	0.27 \pm 0.04 a	0.28 \pm 0.04 a	0.29 \pm 0.04 a	0.24 \pm 0.05 b
	CH _{bh} , CH _{bs} (%)	85.7, 46	89.2, 47.8	91.2, 48.8	75.7, 40.6
<i>C. baillonii</i>	PF (g)	0.64 \pm 0.05 a	0.63 \pm 0.06 a	0.59 \pm 0.09 a	0.50 \pm 0.09 b
	CH _{bh} , CH _{bs} (%)	52.6, 34.5	51.7, 33.8	48.8, 31.9	41.4, 27.1

V.c.2. Peso y germinación de semillas en campo

El contenido de humedad relativo base seca varió a través del tiempo, en las semillas de *C. glabra*, mientras que en *C. baillonii* disminuyó hasta 0% en un período de 20 días (Figura 20). En *C. glabra* la germinación ocurrió luego de 100 días de permanencia en el suelo; en *C. baillonii* no hubo germinación.

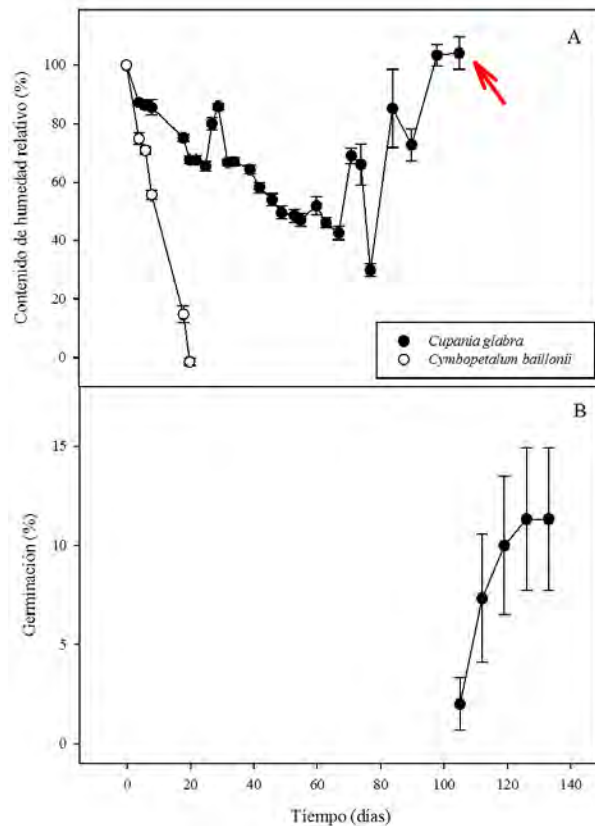


Figura 20 . Variación en el contenido de humedad relativo (base seca) de las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii* (A), y germinación de *C. glabra* (B), cuando permanecieron en la superficie del suelo de la selva. La flecha indica el inicio de la germinación en campo.

V.d. Crecimiento y supervivencia

V.d.1. Crecimiento en invernadero

Los tratamientos que se consideraron para las evaluaciones de crecimiento y supervivencia fueron para *Cupania glabra*: AN-Selva, AH-CH_hD_{20%}, D_{20%} y C 1 (control). Para *Cymbopetalum baillonii* fueron: AN-Claro, AH-CH_{bs}D_{20%}, D_{40%}, y C 1 (control). Para *C. baillonii* se es cogió adicionalmente el tratamiento AH-CH_{bs}D_{40%}.

Las medidas de las variables de crecimiento y de biomasa realizadas en tres evaluaciones con intervalos de un mes entre cada una de ellas (a excepción del tratamiento D_{40%} en *C. baillonii*, en donde sólo se realizaron dos evaluaciones), se muestran en la Figuras 21 a 25 para ambas especies. Se encontraron diferencias significativas en las variables del crecimiento evaluadas (Tabla 6, ver Apéndice) y en la tasa relativa de crecimiento en altura, y en cobertura (Tabla 8, ver Apéndice). En *C. glabra* hubo diferencias significativas en altura y cobertura en las tres evaluaciones, en el número de hojas en la segunda y tercera evaluación, y en el DAB sólo en la primera evaluación. El tratamiento de acondicionamiento natural (AN) es el que muestra los valores más altos; con excepción en el número de hojas, en el cual AN registra los valores más bajos con respecto a los demás tratamientos en las tres evaluaciones. Sin embargo, AN es el que presenta la menor TRC en altura, DAB y cobertura, encontrando diferencias significativas en altura y cobertura. En *C. baillonii* se encontraron diferencias significativas para las cuatro variables de crecimiento en cada una de las tres evaluaciones, siendo que el tratamiento AN presenta los mayores valores en las tres variables, principalmente en la segunda y tercera evaluación en DAB y cobertura, seguido del tratamiento AH-CH_{bs}D_{20%} en altura y cobertura en las tres evaluaciones. El menor valor de cobertura correspondió al tratamiento AH-CH_{bs}D_{40%}. El tratamiento AN mostró los mayores valores de TRC en altura y DAB, con diferencias significativas sólo en la TRC en altura; por lo contrario, AN y los tratamientos AH presentaron los valores más bajos en la TRC en cobertura, y AH-CH_{bs}D_{40%} en altura.

El crecimiento en biomasa registrado en dos evaluaciones, la inicial en junio de 2011 y la final en agosto de 2011, se muestra en las Figuras 23 y 25 para *C. glabra* y *C. baillonii* respectivamente. En *C. glabra* se encontraron diferencias significativas en las dos evaluaciones (Tabla 7, ver Apéndice) en la biomasa seca de la raíz y de la planta completa, y fue el tratamiento

de deshidratación D_{20%} el que mostró los valores más altos. También se encontraron diferencias significativas en los valores de la biomasa seca de las hojas en la evaluación inicial, y aunque en la evaluación final la diferencia no fue significativa, el tratamiento D_{20%} registró los valores más altos. Se encontró diferencia significativa en la relación raíz-vástago R:V en longitud en la evaluación inicial, con AN y AH presentando los mayores valores, y se observó que, para la R:V en longitud, hay un aumento en la relación, mientras que, para la R:V en biomasa seca, disminuye. En *C. baillonii* se encontraron diferencias significativas en la evaluación inicial de la biomasa seca en hojas, siendo los tratamientos C1, D_{40%} y AN los que presentaron los mayores valores de biomasa, y también en la evaluación final de la biomasa seca en raíz, con los tratamientos de AH y AN con los mayores valores. También se encontraron diferencias significativas en la relación R:V en biomasa seca, tanto en la evaluación inicial como en la final, con los tratamientos de AH y AN mostrando los valores más altos, mientras que en la R:V en longitud sólo se encontró diferencia en la evaluación inicial, con los tratamientos AN, AH-CH_{bs}D_{40%} y D_{40%} con los mayores valores. Al igual que en *C. glabra*, en *C. baillonii* se observa que para la R:V en longitud hay un aumento en la relación, excepto en D_{40%}, en donde disminuye, mientras que para la R:V en biomasa seca disminuye en todos los tratamientos.

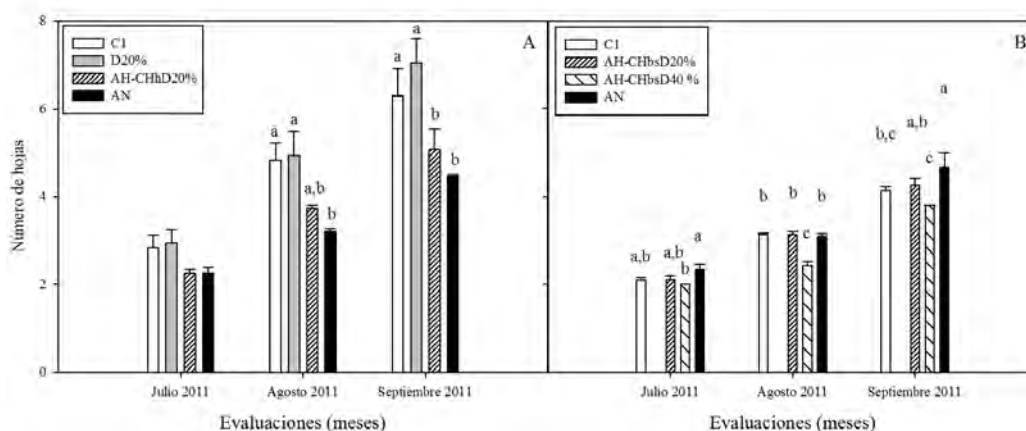


Figura 21. Valores de las medias del crecimiento, en invernadero, en número de hojas, para *Cupania glabra* (A) y *Cymbopetalum baillonii* (B), en las evaluaciones realizadas en julio, agosto y septiembre de 2011. Tratamientos: C1, control; D_%, semillas deshidratadas al nivel indicado; AH, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al 20% (CH_{bs}D_{20%}) y 40% (CH_{bs}D_{40%}), considerando el CH_{bs} como el 100% de contenido de humedad; AH-CH_hD_{20%}, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al 20%, considerando el CH_h como el 100% de contenido de humedad; AN, acondicionamiento natural. Valores que no comparten letras iguales son significativamente diferentes (Prueba de Tukey, $P < 0.05$). La comparación se hizo por variable, al interior de cada tiempo de medición.

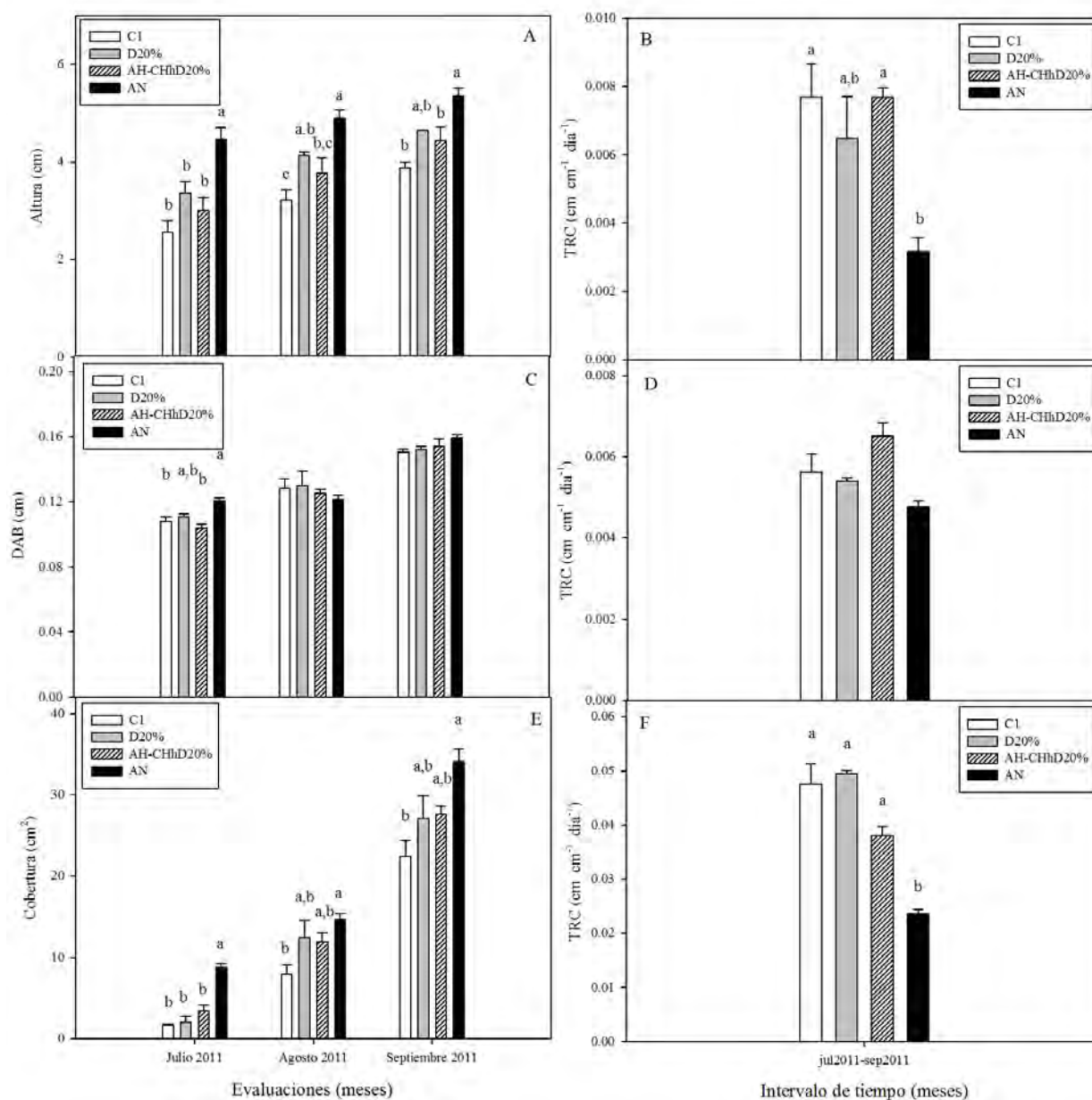


Figura 22. Valores de las medias del crecimiento, y de la tasa relativa de crecimiento (TRC), de *Cupania glabra* en invernadero, para las variables altura (A y B), diámetro a la base del tallo DAB (C y D) y cobertura (E y F), en las evaluaciones realizadas en julio, agosto y septiembre de 2011, y en los intervalos de tiempo entre julio y septiembre de 2011. Tratamientos: C1, control; D20%, semillas deshidratadas al nivel indicado; AH-CHhD20%, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al 20%, considerando el peso fresco de las semillas hidratadas a saturación como el 100% de contenido de humedad; AN, acondicionamiento natural. Valores que no comparten letras iguales son significativamente diferentes (Prueba de Tukey, $P < 0.05$). La comparación se hizo por variable, al interior de cada tiempo de medición.

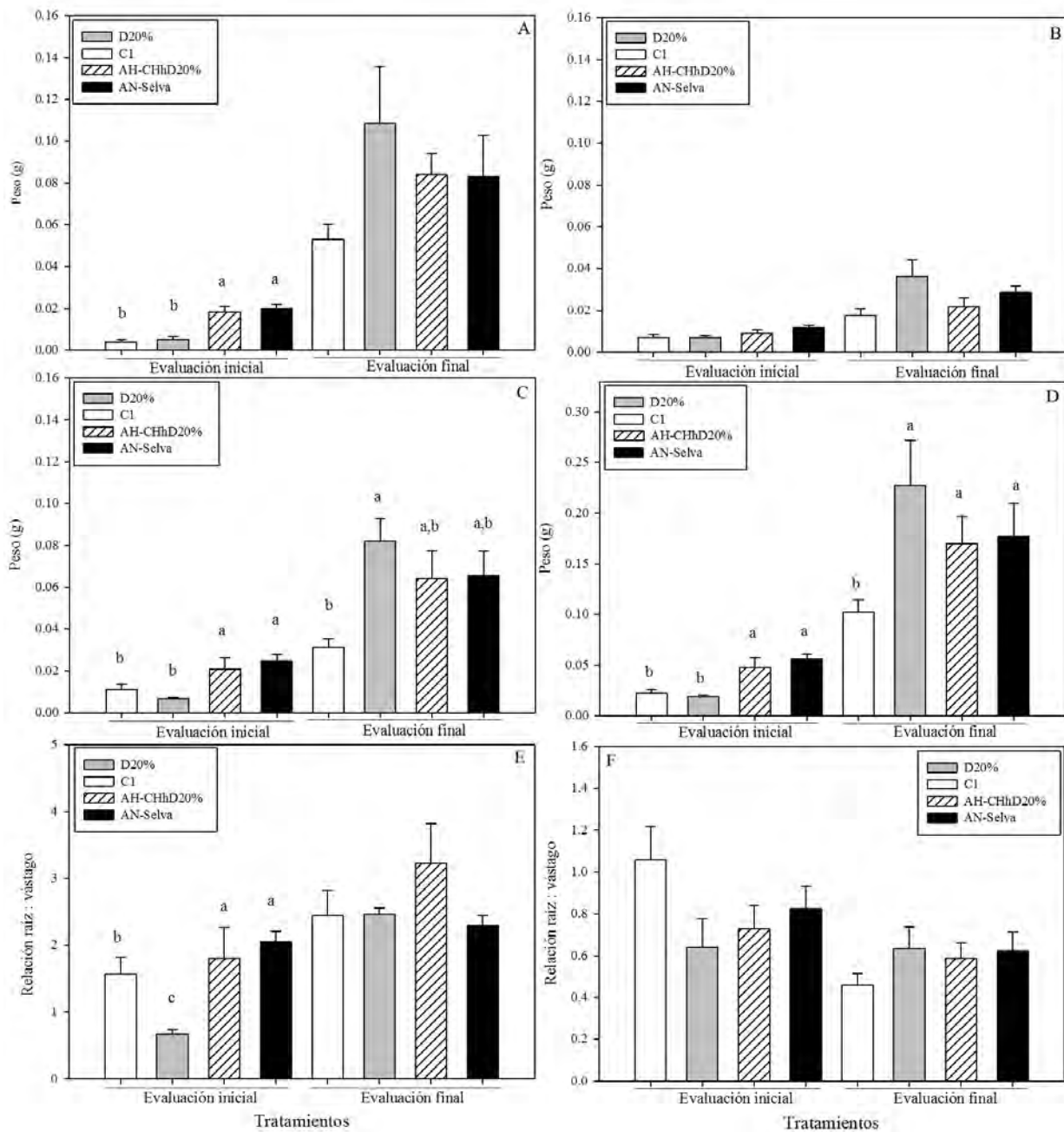


Figura 2.3. Valores de las medias del crecimiento, en biomasa seca, de *Cupania glabra* en invernadero, correspondiente a la evaluación inicial (junio de 2011) y final (agosto de 2011); hoja (A), tallo (B), raíz (C), plántula completa (D), y relación raíz-vástago R:V en longitud (E) y en peso seco (F). Tratamientos, C1, control; D_{20%}, semillas deshidratadas; AH-CH_hD_{20%}, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al 20% considerando el CH_h como el 100% de contenido de humedad; AN, acondicionamiento natural. Valores que no comparten letrales son significativamente diferentes (Prueba de Tukey y Kruskal-Wallis, $P < 0.05$). La comparación se hizo por variable, al interior de cada tiempo de medición.

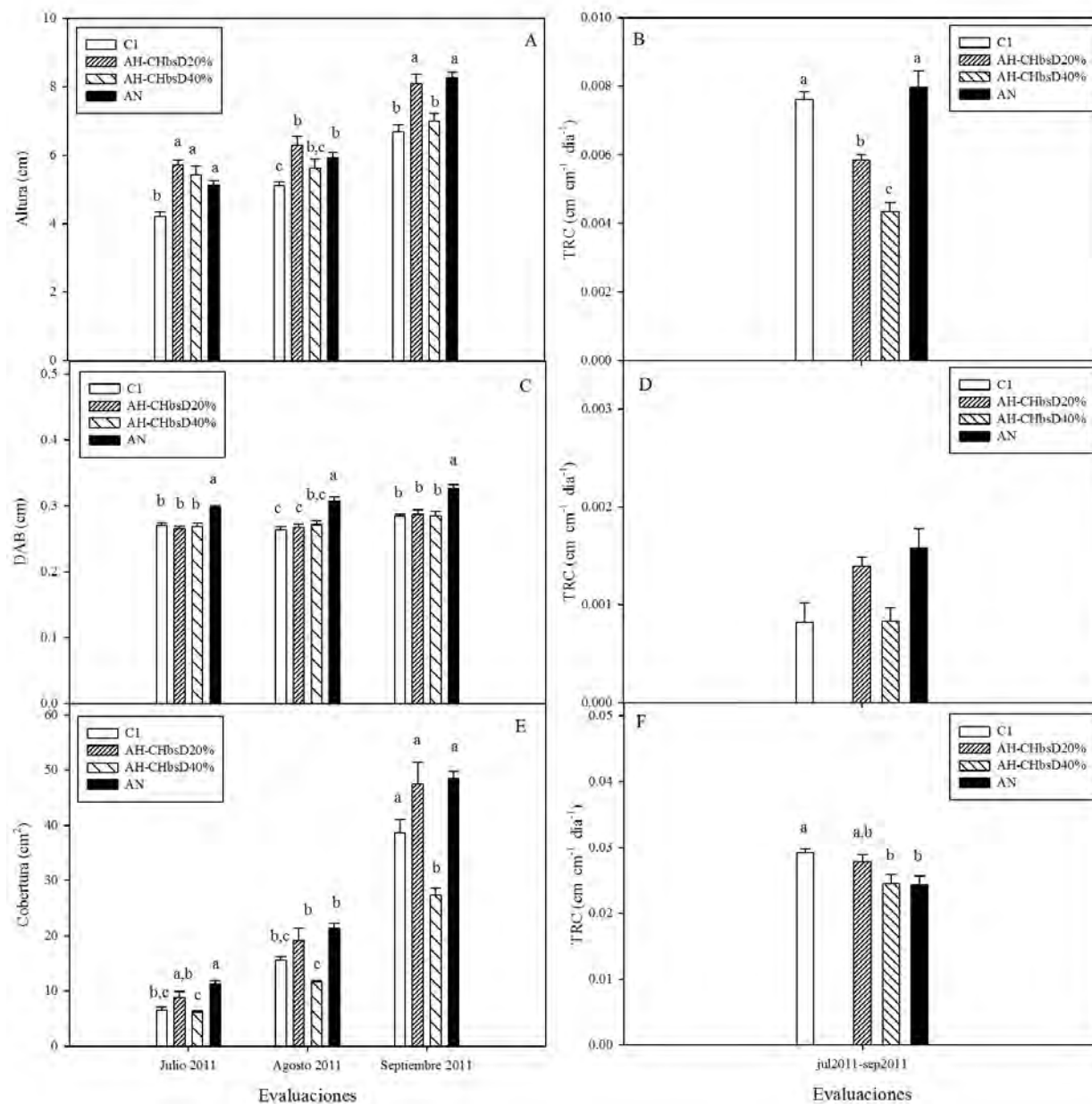


Figura 24. Valores de las medias del crecimiento, y de la tasa relativa de crecimiento TRC, de *Cymbopetalum baillonii* en invernadero, para las variables altura (A y B), diámetro a la base del tallo DAB (C y D) y cobertura (E y F) en las evaluaciones correspondientes a julio, agosto y septiembre de 2011, y a los intervalos de tiempo entre julio y septiembre de 2011. Tratamientos: C1, control; D_{40%}, semillas deshidratadas a nivel indicado; AH, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al 20% (CH_{bs}D_{20%}) y al 40% (CH_{bs}D_{40%}), considerando el CH_{bs} de las semillas recién recolectadas como el 100% de contenido de humedad; AN, acondicionamiento natural. Valores que no comparten letras iguales son significativamente diferentes (Prueba de Tukey y Kruskal-Wallis, $P < 0.05$). La comparación se hizo por variable, al interior de cada tiempo de medición.

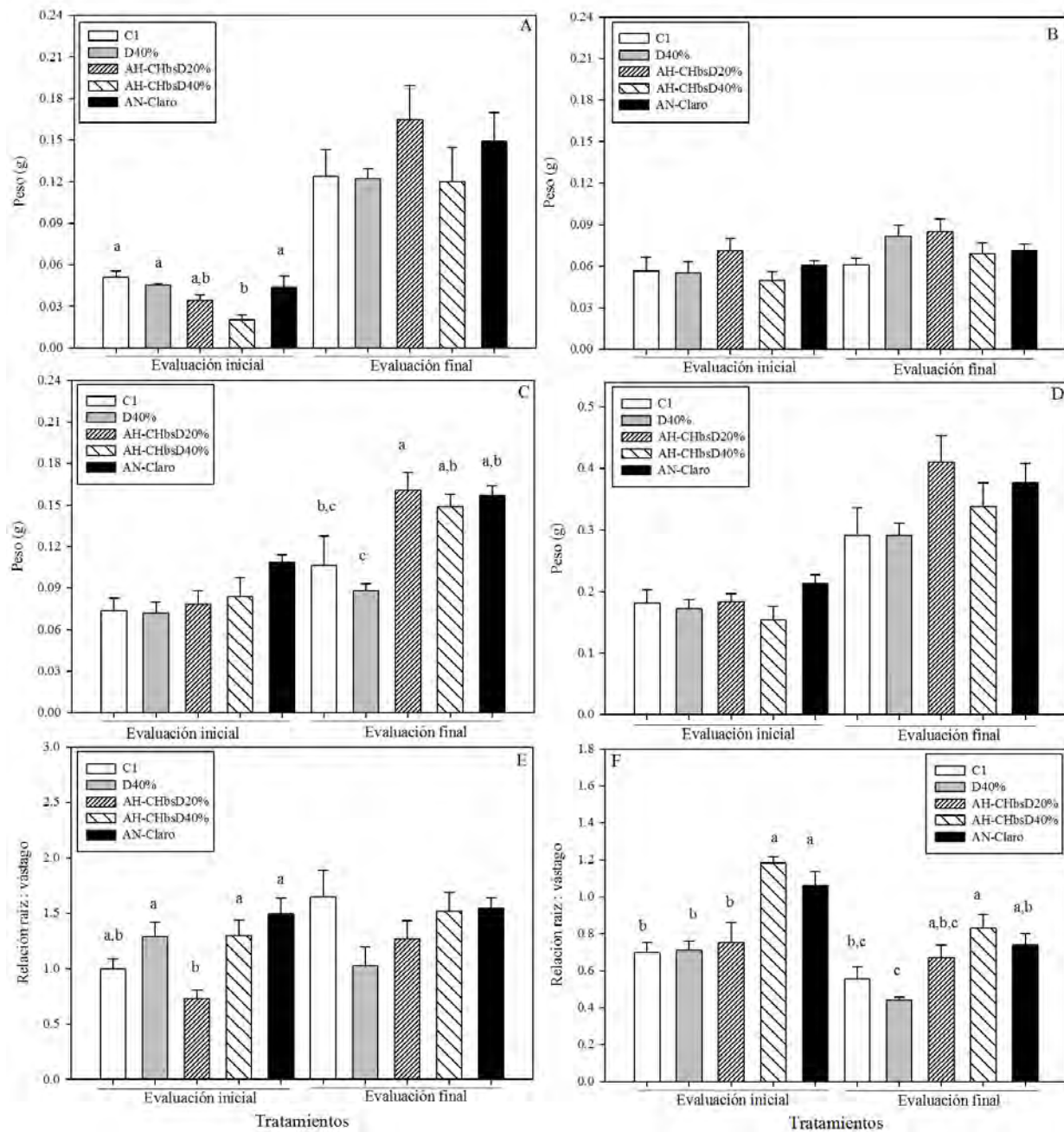


Figura 25. Valores de las medias del crecimiento, en biomasa seca, de *Cymbopetalum baillonii* en invernadero, correspondiente a la evaluación inicial (junio de 2011) y final (agosto de 2011); hoja (A), tallo (B), raíz (C), plántula completa (D), y relación raíz-vástago R:V en longitud (E) y en peso seco (F). Tratamientos: C1, control; D40%, semillas deshidratadas al nivel indicado; AH, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al 20% (CH_{bs}D20%) y al 40% (CH_{bs}D40%), considerando el CH_{bs} de las semillas recién recolectadas como el 100% de contenido de humedad; AN, acondicionamiento natural. Valores que no comparten letras iguales son significativamente diferentes (Tukey y Kruskal-Wallis, $P < 0.05$). La comparación se hizo por variable, al interior de cada tiempo de medición.

V.d.2. Crecimiento en campo

Se encontraron diferencias significativas en las variables de crecimiento, para las dos especies, en cada una de las evaluaciones (Tablas 9 y 10, ver Apéndice). En *C. glabra*, se encontraron diferencias significativas en altura, en la primera evaluación de octubre de 2011, y tres meses después, en enero de 2012 (Tabla 9; Figuras 26 y 28). El tratamiento AN mostró los mayores valores; y en cobertura se observaron diferencias significativas a partir de la segunda evaluación en adelante, con el tratamiento de AN presentando los mayores valores. Pero, en la evaluación final de octubre de 2012, los tratamientos $D_{20\%}$ y $AH-CH_hD_{20\%}$ tuvieron mayores valores con respecto al control. Respecto a la TRC (Tabla 10, ver Apéndice; Figura 26), sólo se encontraron diferencias significativas en la TRC, para el diámetro a la altura de la base (DAB), en el primer período parcial, de octubre de 2011 a abril de 2012. A pesar de no encontrarse diferencias significativas en las TRC de las demás variables, se observa que, tanto AN como AH, son los tratamientos con los mayores valores en la TRC en altura, DAB y cobertura, lo cual contrasta con lo observado en invernadero, en donde AN mostró los mayores valores de crecimiento pero con las menores TRC.

En *C. baillonii* hubieron diferencias significativas (Tabla 9, ver Apéndice; Figuras 27 y 28), en el número de hojas, dentro de los primeros tres meses de evaluación (hasta enero de 2012), así como en la altura y la cobertura dentro de los primeros tres y seis meses respectivamente (segunda y tercera evaluación, enero y abril de 2012 respectivamente), y en DAB en todas las evaluaciones realizadas a lo largo del año. Al igual que en *C. glabra*, el tratamiento AN mostró los mayores valores, mientras que los menores valores correspondieron a los tratamientos $D_{40\%}$ y $AH-CH_{bs}D_{40\%}$. Respecto a la TRC, sólo se encontraron diferencias significativas en la TRC, en altura, en el primer período parcial de octubre de 2011 a abril de 2012, y considerando el período global entre octubre de 2011 y octubre de 2012, con el tratamiento $D_{40\%}$ con los mayores valores (Tabla 10, ver Apéndice; Figura 27).

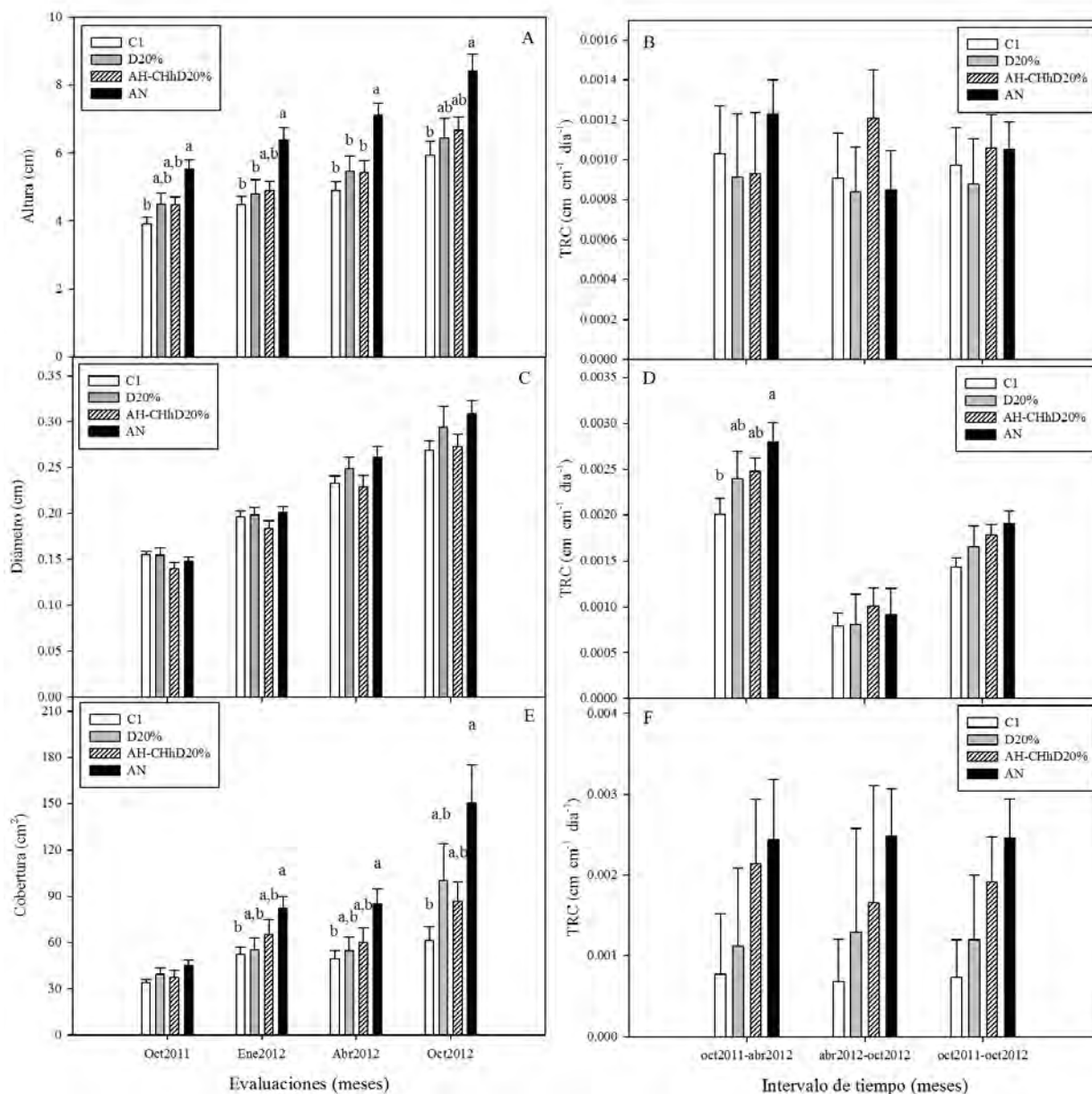


Figura 26. Valores de las medias del crecimiento, y de la tasa relativa de crecimiento TRC, de *Cupania glabra* en campo, para las variables altura (A y B), diámetro a la base del tallo (C y D) y cobertura (E y F), respectivamente. Las evaluaciones de crecimiento correspondieron a los meses de octubre de 2011, y enero, abril y octubre de 2012; y para la TRC a los intervalos de tiempo entre octubre de 2011-abril 2012, abril 2012-octubre 2012, y octubre 2011 -octubre 2012. Tratamientos: C1, control; D20%, semillas deshidratadas al nivel indicado; AH-CHhD20%, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas, considerando el CHh como el 100% de contenido de humedad; AN, acondicionamiento natural. Valores que no comparten letras iguales son significativamente diferentes (Bonferroni, $P < 0.05$). La comparación se hizo por variable, al interior de cada tiempo de medición.

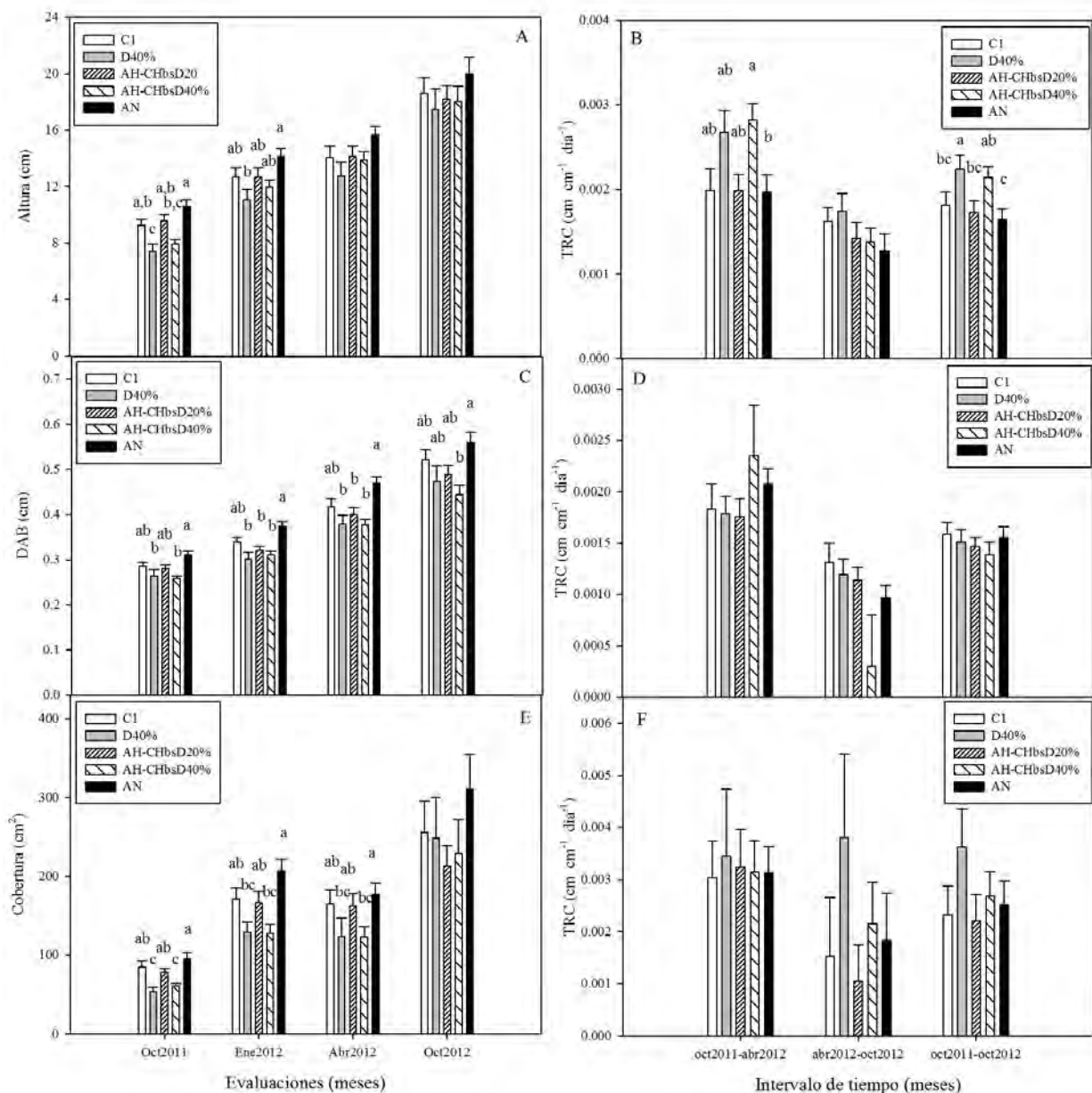


Figura 27. Valores de las medias del crecimiento, y de la tasa relativa de crecimiento TRC, de *Cymbopetalum baillonii* en campo, para las variables altura (A y B), diámetro a la base del tallo DAB (C y D) y cobertura (E y F) respectivamente. Las evaluaciones de crecimiento correspondieron a los meses de octubre de 2011, y enero, abril y octubre de 2012; y para la TRC a los intervalos de tiempo entre octubre de 2011-abril 2012, abril 2012-octubre 2012, y octubre 2011 -octubre 2012. Tratamientos: C1, control; D40%, semillas deshidratadas al nivel indicado; AH, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al 20% (CH_{bs}D_{20%}) y al 40% (CH_{bs}D_{40%}), considerando el CH_{bs} de las semillas recién recolectadas como el 100% de contenido de humedad; AN, acondicionamiento natural. Valores que no comparten letras iguales son significativamente diferentes (Bonferroni, $P < 0.05$). La comparación se hizo por variable, al interior de cada tiempo de medición.

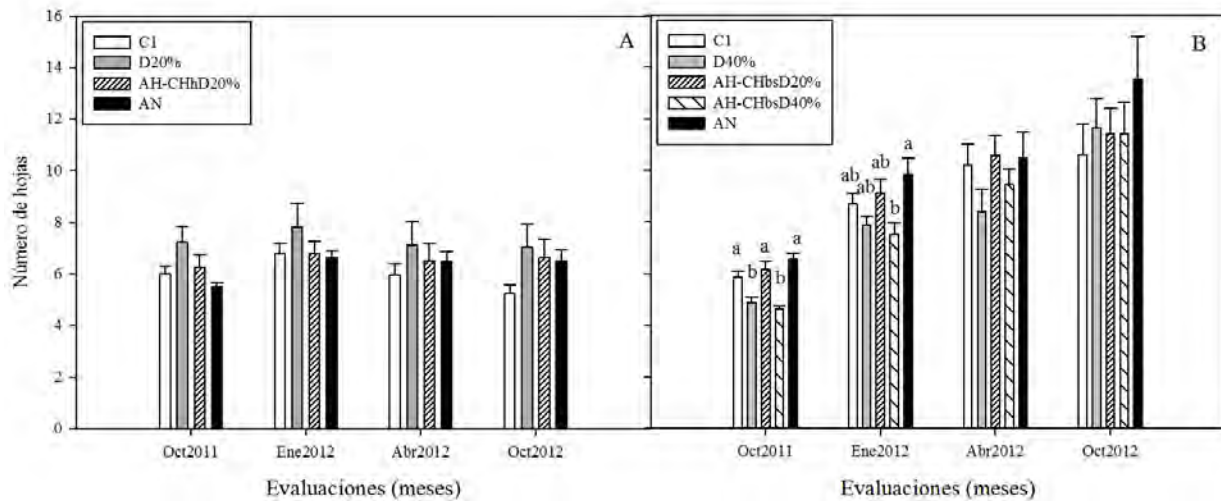


Figura 28. Valores de las medias del crecimiento en campo, en número de hojas, para *Cupania glabra* (A) y *Cymbopetalum bailonii* (B), en las evaluaciones correspondientes a julio, agosto y septiembre de 2011. Tratamientos: C1, control; D%, semillas deshidratadas al nivel indicado; AH, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al 20%, considerando el CH_{bs} de las semillas recién recolectadas como el 100% de contenido de humedad (CH_{bs}D_{20%}), y semillas hidratadas y después deshidratadas al 40%, considerando el peso fresco de las semillas recién recolectadas como el 100% de contenido de humedad (CH_{bs}D_{40%}); AH-CH_hD_{20%}, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al 20%, considerando el CH_h como el 100% de contenido de humedad; AN, acondicionamiento natural. Valores que no comparten letras iguales son significativamente diferentes (Bonferroni, $P < 0.05$). La comparación se hizo por variable, al interior de cada tiempo de medición.

V.d.3. Supervivencia en invernadero y campo

La supervivencia, tanto en invernadero como en campo, fue alta, con valores arriba del 83%.

Estos valores se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Porcentajes de supervivencia (media \pm error estándar) para *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, en invernadero y en campo, después de que las plántulas permanecieron en invernadero de junio a septiembre de 2011, y en campo de octubre de 2011 a octubre de 2012. Tratamientos: C1, control; D%, semillas deshidratadas al nivel indicado; AH-CH_hD%, acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al nivel indicado, considerando el CH_h como el 100% de contenido de humedad, AH-CH_{bs}D% = acondicionamiento hídrico, semillas hidratadas y después deshidratadas al nivel indicado, considerando el CH_{bs} como el 100% de contenido de humedad; AN, acondicionamiento natural.

Especie	Tratamiento	Evaluación en invernadero		Evaluación en campo	
		Núm. inicial de plántulas	Septiembre 2011 Supervivencia (%)	No. inicial de plántulas	Octubre 2012 Supervivencia
<i>C. glabra</i>	C1	38	84.2 %	30	96.6 %
	D _{20%}	23	86.9 %	22	86.3 %
	AH-CH _h D _{20%}	16	100 %	17	88.2 %
	AN	56	94.6 %	30	90 %
<i>C. baillonii</i>	C1	56	96.4 %	30	83.3 %
	D _{40%}	25	100 %	21	90.4 %
	AH-CH _{bs} D _{20%}	56	100 %	30	100 %
	AH-CH _{bs} D _{40%}	42	97.6 %	28	86.6 %
	AN	56	100 %	30	90 %

V.e. Longevidad de las semillas durante el almacenamiento

El ANOVA de tres vías mostró que cada uno de los factores (tipo de acondicionamiento en la semilla, sitio de almacenamiento, y tiempo de almacenamiento) tuvieron efectos significativos en los parámetros de germinación (porcentaje final, tasa máxima, tiempo promedio y tiempo de inicio) y en la longevidad de las semillas en las dos especies, encontrando interacción entre ellos (Tabla 12, ver Apéndice).

El acondicionamiento natural registró los valores destacados en los parámetros germinativos, mientras que el acondicionamiento hídrico registró los valores más bajos (mayor tiempo de inicio y promedio y menor tasa de velocidad y porcentaje final); estos resultados coinciden con los reportados en las pruebas de germinación de 2011 (Figuras 29-32). El almacenamiento en cámara a 15 °C aumentó significativamente la viabilidad de las semillas; la pérdida de humedad en las semillas se reduce en esa temperatura en comparación con la temperatura ambiente (Figuras 33 y 34). La germinación fue disminuyendo conforme el tiempo de almacenamiento fue incrementando. El tratamiento de acondicionamiento natural combinado con almacenamiento a 15 °C fue la mejor combinación en las dos especies (Tablas 13 y 14, ver Apéndice).

En *C. glabra*, los mayores porcentajes de germinación finales, y los menores tiempos de inicio y promedio de la germinación, se encontraron con el AN, en semillas almacenadas en Amb y CG, mientras que AH fue el tratamiento con los valores contrarios en ambos casos.

Continuando con *C. glabra*, el almacenamiento en Amb redujo drásticamente la germinación luego de 15 días de almacenamiento, perdiéndose toda viabilidad después de este período, en todos los tratamientos de acondicionamiento, o sin el mismo. Con el almacenamiento en CG la longevidad se prolongó más allá de 15 días en todos los tratamientos, ya que tanto AN y AH tuvieron germinación luego de un almacenamiento por 60 días, aunque tanto el tiempo de inicio como el tiempo promedio de la germinación aumentaron conforme el tiempo de almacenamiento se incrementó, encontrándose diferencias entre tiempos de almacenamiento dentro de cada tratamiento de acondicionamiento. Pero con el AH, los tiempos de inicio y promedio aumentaron más en comparación con los AN y SA, para cada tiempo de almacenamiento. La tasa máxima de germinación más alta se encontró en las semillas del Control 5 (control de AN).

En *C. baillonii*, la longevidad de las semillas se extendió luego de 90 días de almacenamiento en todos los tratamientos y sitios de almacenamiento en general, con excepción del AH en Amb,

en donde hubo una disminución casi total en la viabilidad de las semillas luego de 30 días de almacenamiento. Los parámetros germinativos de tiempo de inicio y promedio de germinación fueron diferentes entre los tratamientos de acondicionamiento, y en general fueron más largos, conforme el tiempo de almacenamiento fue mayor. AN fue el que tuvo los valores más cortos, y AH los más largos.

Siguiendo con *C. baillonii*, en las semillas SA hubieron diferencias en el porcentaje final de germinación, entre los diferentes tiempos de almacenamiento, en el almacenamiento en Amb, mientras que en el almacenamiento en CG, se encontraron diferencias en la tasa máxima de germinación, en 60 y 90 días de almacenamiento, siendo más baja que los tiempos de almacenamiento previos. A 90 días no se encontraron diferencias en los porcentajes finales de germinación entre estos dos sitios de almacenamiento. En estas mismas semillas, SA, hubo una disminución significativa en el tiempo de inicio y promedio, así como un aumento en la tasa máxima de germinación, después de permanecer almacenadas durante 15 días. Mientras que en el tratamiento AN, el porcentaje disminuyó significativamente conforme el tiempo de almacenamiento aumentó, en las semillas almacenadas en Amb, y no así en las almacenadas en CG, en donde incluso el porcentaje de germinación final de las semillas almacenadas durante 90 días no tuvo diferencias con respecto al Control 1 y al Control 5 (sin almacenamiento). Los valores de tasa máxima más altos se encontraron en AN. El AH fue el tratamiento con los tiempos de germinación más largos, y con los porcentajes más bajos de germinación.

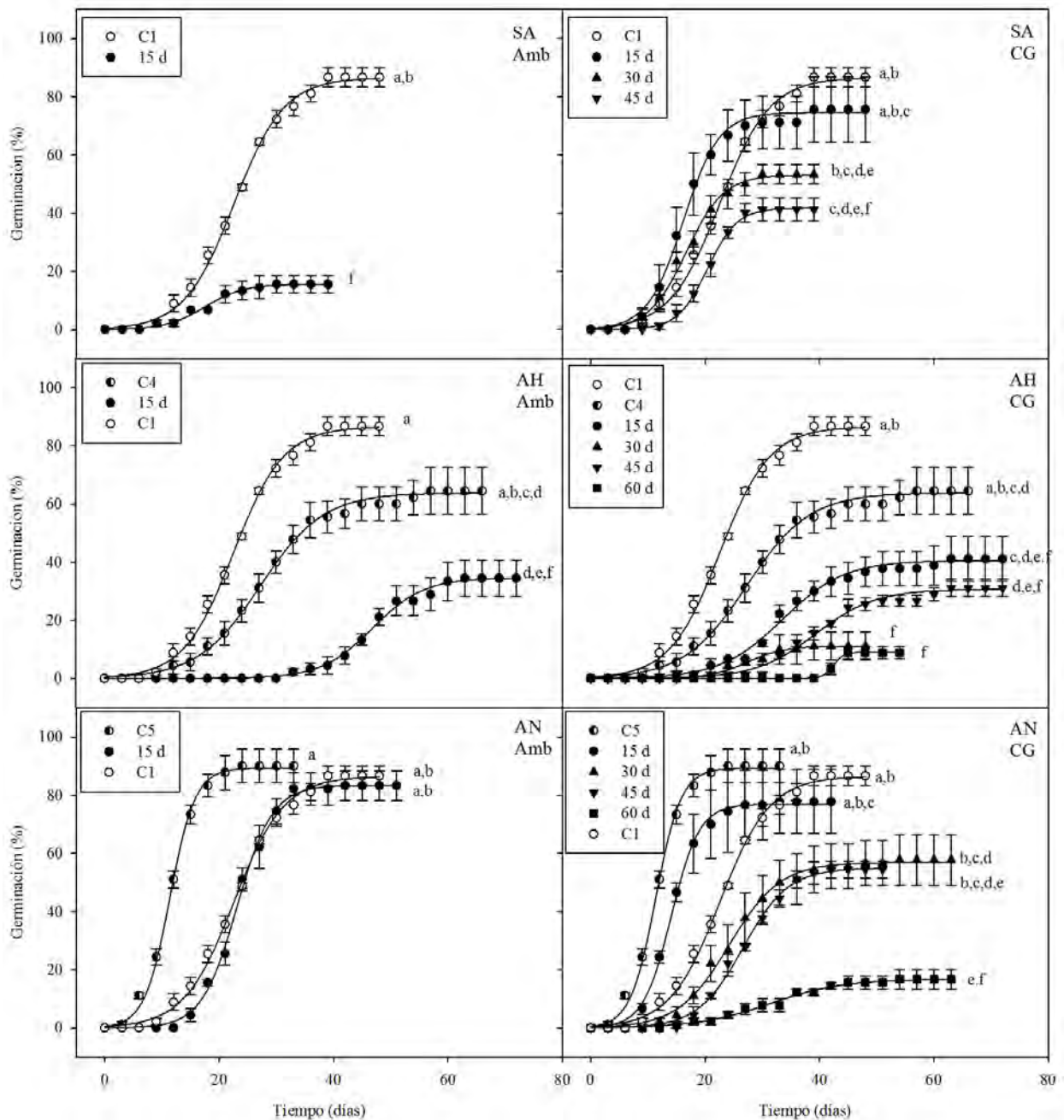


Figura 29. Germinación de semillas de *Cupania glabra*, después de permanecer almacenadas a temperatura ambiente (Amb) y en cámara a 15 °C (CG), por diferentes tiempos, 0, 15, 30, 45, 60 y 90 días (d). C1, control de semillas germinadas inmediatamente después de su recolecta; C4, control de semillas germinadas inmediatamente después de su acondicionamiento hídrico; C5, control de semillas germinadas inmediatamente después de su acondicionamiento natural; SA, semillas sin acondicionamiento; AH, acondicionamiento hídrico; AN, acondicionamiento natural. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los porcentajes finales de germinación (Tukey, $P < 0.05$).

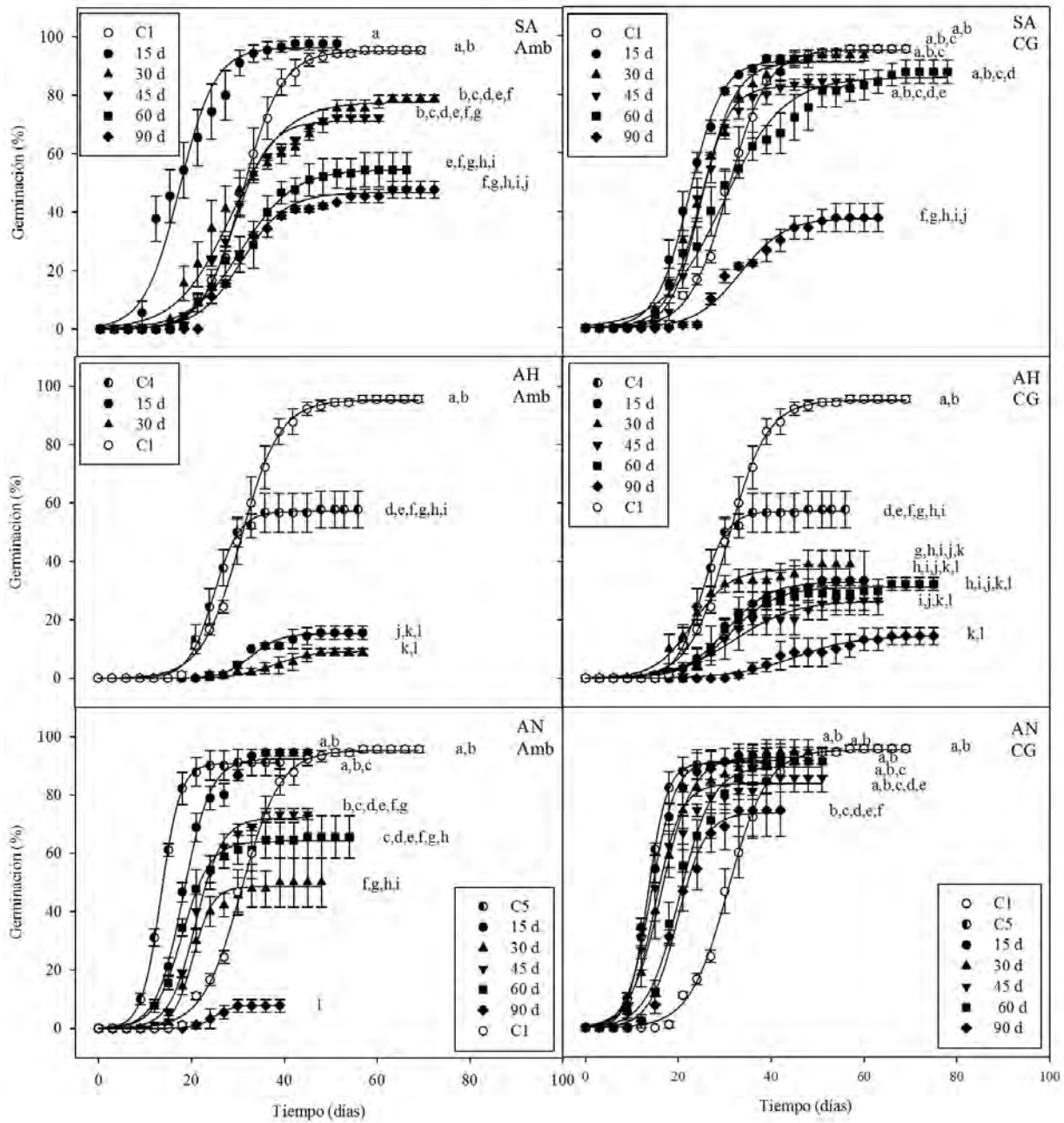


Figura 30. Germinación de semillas de *Cymbopetalum baillonii*, después de permanecer almacenadas a temperatura ambiente (Amb) y en cámara a 15 °C (CG), por diferentes tiempos, 0, 15, 30, 45, 60 y 90 días (d). C1, control de semillas germinadas inmediatamente después de su recolecta; C4, control de semillas germinadas inmediatamente después de su acondicionamiento hídrico; C5, control de semillas germinadas inmediatamente después de su acondicionamiento natural; SA, semillas sin acondicionamiento; AH, acondicionamiento hídrico; AN, acondicionamiento natural. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los porcentajes finales de germinación (Tukey, $P < 0.05$).

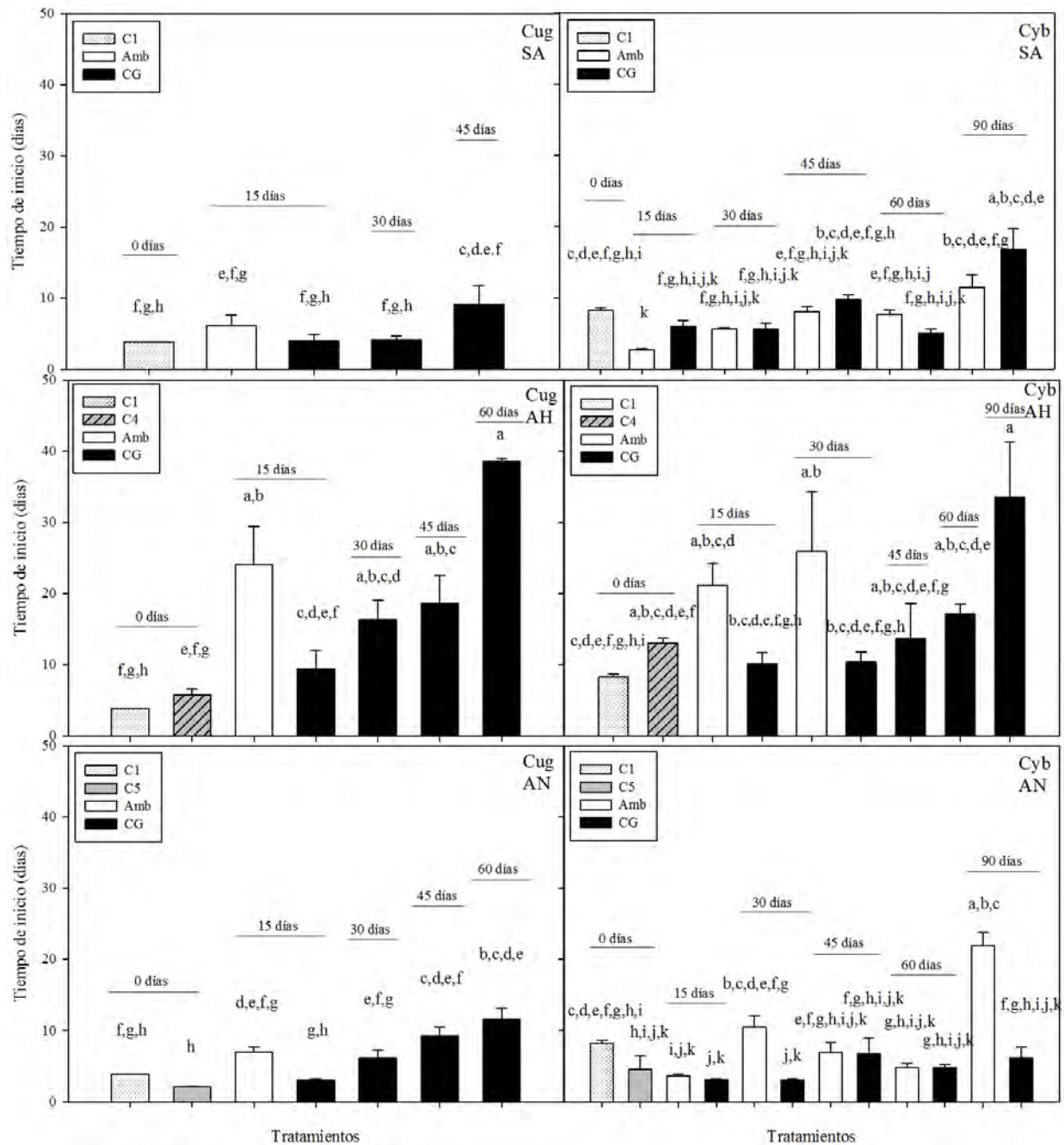


Figura 31. Tiempo de inicio de la germinación de semillas de *Cupania glabra* (Cug) y *Cymbopetalum bailonii* (Cyb), después de permanecer almacenadas a temperatura ambiente (Amb) y en cámara a 15 °C (CG), por diferentes tiempos, 0, 15, 30, 45, 60 y 90 días (d). C1, control de semillas germinadas inmediatamente después de su recolecta; C4, control de semillas germinadas inmediatamente después de su acondicionamiento hídrico; C5, control de semillas germinadas inmediatamente después de su acondicionamiento natural; SA, semillas sin acondicionamiento; AH, acondicionamiento hídrico; AN, acondicionamiento natural. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los valores de tiempo de inicio de la germinación (Tukey, $P < 0.05$).

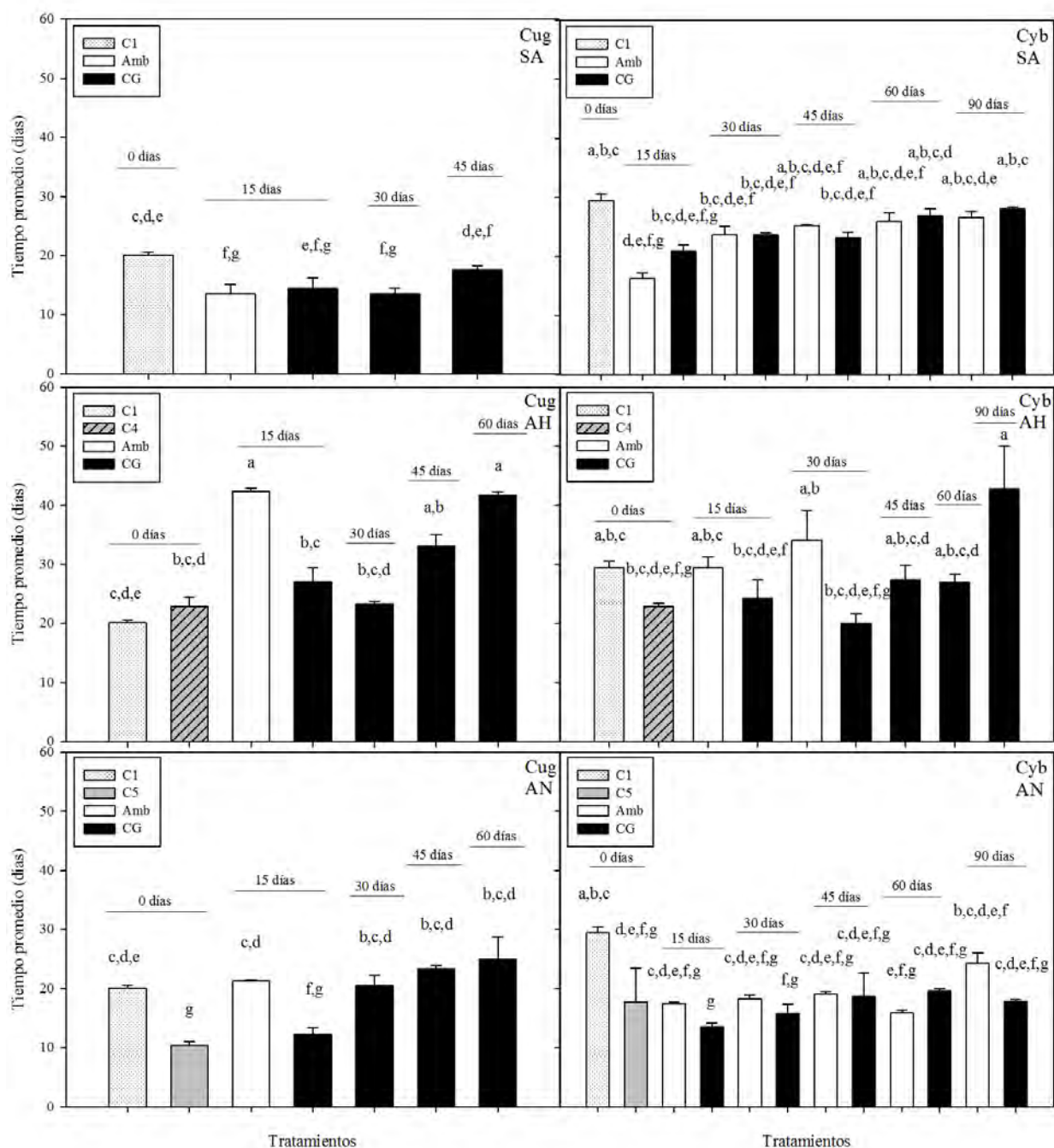


Figura 32. Tiempo promedio de la germinación de semillas de *Cupania glabra* (Cug) y *Cymbopetalum bailonii* (Cyb), después de permanecer almacenadas a temperatura ambiente (Amb) y en cámara a 15 °C (CG), por diferentes tiempos, 0, 15, 30, 45, 60 y 90 días (d). C1, control de semillas germinadas inmediatamente después de su recolecta; C4, control de semillas germinadas inmediatamente después de su acondicionamiento hídrico; C5, control de semillas germinadas inmediatamente después de su acondicionamiento natural; SA, semillas sin acondicionamiento; AH, acondicionamiento hídrico; AN, acondicionamiento natural. Letras diferentes indican diferencias significativas entre las medias de los valores del tiempo promedio de la germinación (Tukey o Kruskal-Wallis, $P < 0.05$).

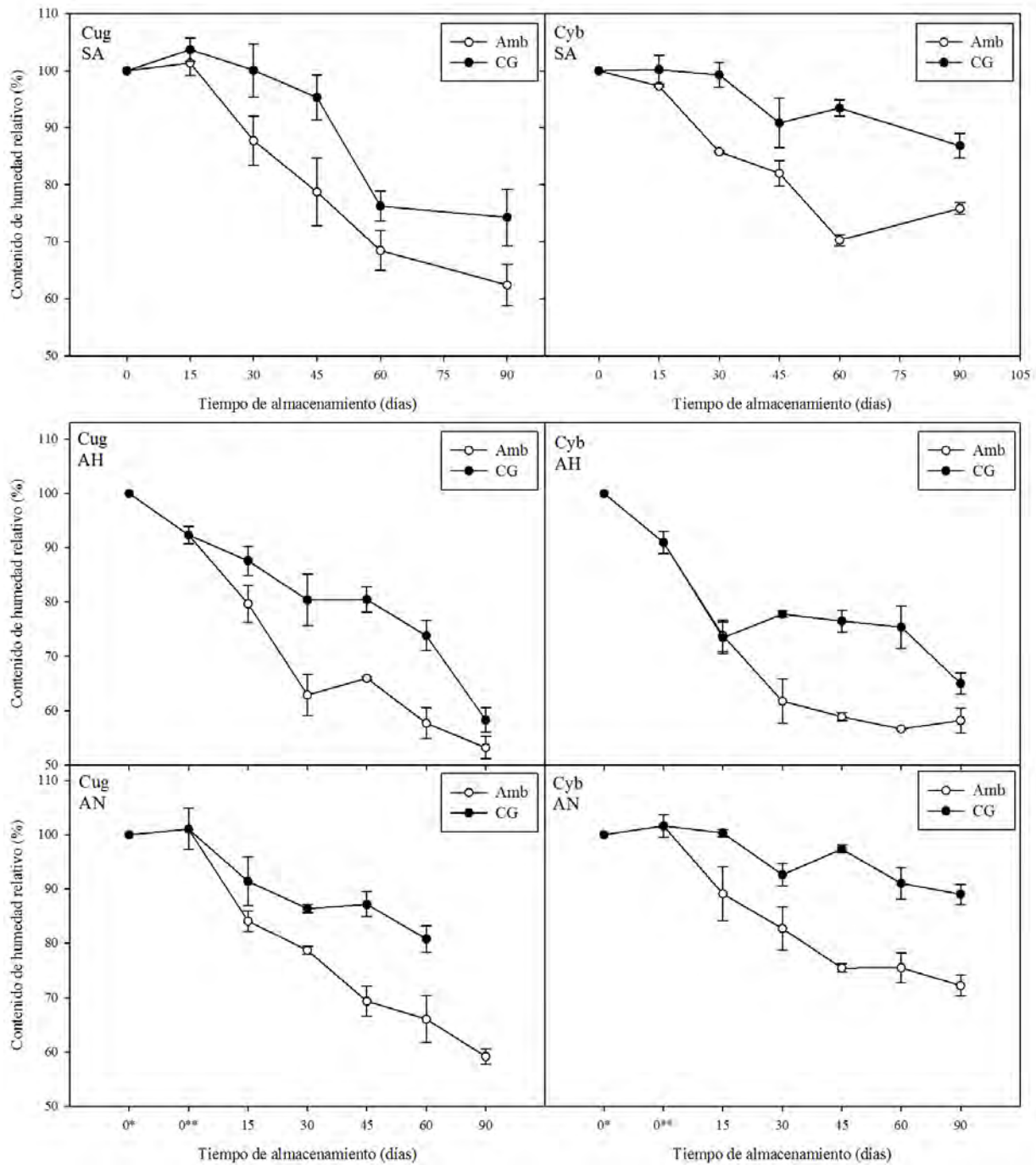


Figura 33. Cambios en el contenido de humedad relativo base seca durante el almacenamiento en las semillas de *Cupania glabra* (Cug) y *Cymbopetalum baillonii* (Cyb), almacenadas a temperatura ambiente (Amb) y en cámara a 15 °C (CG). SA, Semillas frescas sin acondicionamiento; AH, a acondicionamiento hídrico; AN, a acondicionamiento natural; 0*, semillas frescas previo a la aplicación de los tratamientos de acondicionamiento; 0**, semillas con acondicionamiento natural (enterradas por 12 días en campo), o después de pasar por acondicionamiento hídrico (un ciclo de hidratación-deshidratación).

VI. DISCUSIÓN

VI.a. Características de las semillas

De acuerdo con el alto contenido de humedad que presentaron las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, además de sus características fisiológicas, ecológicas y su comportamiento en almacén (lo cual se discutirá más adelante) podrían ser semillas recalcitrantes, pues para los tres años de recolecta considerados, para *C. glabra* el CH_{bs} fue de entre 76 y 82%, y el CH_{bh} fue de entre 42 y 44%, y para *C. baillonii* el CH_{bs} fue de entre 76 y 82%, y el CH_{bh} fue de entre 42 y 44%. Esto se confirma con la pérdida total de viabilidad, cuando se deshidratan a CH_r de 12% (base seca), y la pérdida gradual, cuando son almacenadas a 15 °C en un periodo no mayor a tres meses. De acuerdo con los resultados reportados en este estudio, las semillas de ambas especies tienen una alta proporción de lípidos, los cuales, junto con los carbohidratos, son las principales reservas, lo que confirma la información reportada previamente (Coates-Estrada, 1988, Rodríguez *et al.*, 2000).

Respecto a las diferencias en las variables de peso, encontradas en los años de recolecta para las dos especies, hay que considerar varios factores, que van desde aquellos inherentes a la recolecta (número de árboles, manejo de los frutos y beneficio de las semillas), hasta los concernientes a la biología y ecología de las especies. Cabe destacar que la recolecta para ambos años se realizó en los mismos sitios, los cuales presentaron condiciones de microhábitat semejantes, y que la determinación de las variables de peso en laboratorio se realizó dentro de las 48 h posteriores a la recolecta en campo. Con respecto a las recolectas realizadas en dos años sucesivos, la producción de los frutos se inicia en el año previo a la realización de la recolecta, en ambas especies, siendo el 2010 para la recolecta del 2011, y el 2011 para la recolecta del 2012. De acuerdo con los datos climáticos para la Región de Los Tuxtlas (Figura 34, ver Apéndice), si se comparan los datos climatológicos de 2010, 2011 y 2012, con los correspondientes a los últimos 30 años (1977-2006) en la Región (Gutiérrez-García y Ricker, 2011; Figura 4), se observa que los primeros tres meses de esos tres años fueron más fríos y húmedos que el promedio, y que mayo y junio fueron meses más calientes y secos. Y comparando entre sí estos tres años, el 2011 fue un año más seco y más cálido, en comparación con el 2010 y el 2012. En *C. glabra* todas las variables de peso (PF, PS, CH) fueron menores en la recolecta del 2012, en

comparación con la recolecta del 2011. En contraste, en *C. baillonii* ocurrió lo contrario. Esto probablemente se deba a que esta especie, durante el desarrollo de los frutos, pasa por un tiempo de sequía (en el año previo a la dispersión) más prolongado que *C. baillonii*. Resultados similares se encontraron en *Omphalea oleifera*, especie que crece en el mismo hábitat que las especies de este estudio (Sánchez-Coronado *et al.*, 2007). Se ha mencionado que en las especies recalcitrantes es común la presencia de variación intra e interestacional (Berjak y Pammenter, 2004; Oyerinde, 2011). En el desarrollo de las semillas en la planta madre, las condiciones ambientales prevalecientes, tales como la temperatura, el fotoperíodo, la calidad de la luz, y los nutrientes minerales influyen en dicho desarrollo (Wulff y Bazzaz, 1992; Soriano *et al.*, 2011; Jöet *et al.*, 2013). Consecuentemente, la masa de las semillas es un carácter plástico que cambia de acuerdo con las condiciones ambientales (Wulff, 1995). Varios de estos factores están ligados entre sí, ya que a menor precipitación se incrementan las temperaturas, se presentan mayores porcentajes de defoliación, y hay menor solubilización de nutrientes. Por lo que determinar la combinación de factores que afecta un fenómeno tan complejo como la floración, la fructificación, y el desarrollo de la semilla, no resulta simple. Se ha observado que las condiciones ambientales, influyen en el grado de madurez que alcanzan las semillas de *Acer ps eudoplatanus* L. en el momento de la dispersión, siendo que la madurez puede ser cuantificada a través de variables tales como el contenido de humedad, el peso seco y la tasa germinativa (Daws *et al.*, 2006a).

La relación lineal en contrada entre el peso fresco y el peso seco de las semillas de ambas especies posibilita calcular de manera teórica y confiable el contenido de humedad (base fresca o seca), sin utilizar metodologías destructivas (secado de las semillas), lo cual tiene aplicaciones prácticas, por ejemplo, en el cálculo de la cantidad de agua perdida en las semillas que se deshidratan, ya que el peso fresco no es un buen referente del contenido real de agua en semillas de especies recalcitrantes (Sánchez-Coronado *et al.*, 2007; Castro-Colina *et al.*, 2012).

VIb. Acondicionamiento hídrico

VIb.1. Hidratación y deshidratación de semillas

Como se observó, las semillas de *C. glabra* tardan más tiempo en hidratarse y deshidratarse en comparación con *C. baillonii*, lo que coincide con lo reportado por Rodríguez *et al.* (2000), en

donde se menciona que esta diferencia se debe probablemente a una combinación de características anatómicas y morfológicas de la semilla. De acuerdo con la razón superficie-volumen y su relación con las propiedades de absorción y pérdida de agua por parte de las semillas (Nellist y Hughes, 1973), las semillas de *C. baillonii* miden 14 a 16 mm de largo por 6.5 a 8 mm de ancho, además su superficie-volumen se incrementa por la presencia de surcos en la superficie interna de la cubierta seminal (Niembro, 1989), mientras que las semillas de *C. glabra* son más pequeñas, midiendo de 9 a 12 mm de largo por 7 a 8 mm de ancho, y no presentan la característica de los surcos internos, por lo que ganan o pierden agua en un tiempo mayor al de *C. baillonii*. Por otra parte, tanto el tamaño de la semilla como el grosor de la cubierta seminal tienen relación con la velocidad de intercambio de agua con el ambiente, pues a medida que la masa de la semilla aumenta y la relación cubierta seminal-semilla (*seed coat ratio*) disminuye, la velocidad de desecación decrece (Daws *et al.*, 2006b; Hamilton *et al.*, 2013).

En la dinámica de la hidratación de las semillas también participan factores tales como la temperatura y el potencial hídrico de los componentes de la semilla (Black *et al.*, 2006), y dicho potencial está determinado en parte por el potencial osmótico determinado por solutos diversos, entre ellos los compuestos como los carbohidratos (Simon, 1984; Mayer y Poljakoff-Mayber, 1989), que son moléculas de naturaleza hidrofílica (Bhutani, 2010). En *C. glabra* el contenido de humedad relativo final (base seca) de las semillas hidratadas a saturación así como el tiempo en el que alcanzaron dicho nivel de humedad fue diferente para ambos años (2011 y 2012), posiblemente debido a la diferencia en contenido de glucosa encontrados en las semillas en los dos años de recolecta, se encontró un mayor contenido de glucosa en el 2012 en las dos especies. Es de notar que, a pesar de que *C. glabra* tuvo una mayor cantidad de glucosa en comparación de *C. baillonii*, el tiempo de hidratación y deshidratación de las semillas fue menor en *C. baillonii*, por lo que entonces es posible que la superficie/volumen de esta especie, sea un factor más determinante sobre la velocidad de hidratación.

La mayor tasa máxima de deshidratación de las semillas AH, respecto a la de las semillas CH_{bs}, probablemente sean debidas a la histéresis, como ya ha sido observado en otras especies recalcitrantes sometidas a hidratación seguida de deshidratación, o viceversa (Rodríguez *et al.*, 2000; Castro-Colina *et al.*, 2012). La histéresis se refiere al desfase de un proceso respecto a otro proceso homólogo en sentido contrario (Black *et al.*, 2006), en este caso la deshidratación de las semillas frente a la hidratación de las mismas. En las semillas hidratadas, el agua actúa sobre la

estructura y fisiología de la semilla, pues se activan ciertas vías de la maquinaria metabólica de la semilla, como el metabolismo de algunos de los carbohidratos solubles y los lípidos, los cuales son las primeras reservas de energía que son utilizadas en la germinación (Bewley y Black, 1994), se hidrolizan polisacáridos estructurales produciéndose monosacáridos, que son utilizados en la misma vía (Matheson, 1984) y se liberan solutos como proteínas, carbohidratos, iones y ácidos orgánicos (Simon, 1984; Black *et al.*, 2006). Estos procesos influyen la capacidad de retención de agua de las semillas hidratadas, en comparación con la capacidad inicial de las semillas sin hidratar, a causa de la modificación de su potencial hídrico.

Vib.2. Efecto de la deshidratación y del acondicionamiento hídrico en la germinación

La deshidratación de las semillas CH_{bs}, y la de las semillas AH con base a CH_{bs} y CH_h, produjo, en la mayoría de los casos, un decremento gradual de los parámetros germinativos (disminución en el porcentaje final de germinación y aumento en los tiempos de inicio y promedio) en *C. glabra*, y en *C. baillonii*. Incluso no hubo germinación en las semillas con CH_r (base seca) del 12% en ambas especies. Esto significa que el contenido de humedad es tá relacionado positivamente con la viabilidad de las semillas, por los daños metabólicos y estructurales causados por la pérdida de agua, lo cual ocurre en las semillas recalcitrantes (Roberts, 1973; Hong y Ellis, 1996b), e impacta en el aumento de los tiempos de germinación, durante el cual los mecanismos de reparación de las semillas actúan para solventar esos daños (Vertucci y Farrant, 1995).

En general, el acondicionamiento hídrico AH no tuvo el efecto esperado en cuanto a mejorar la germinación, pero sí se encontraron ventajas del proceso de AH en comparación con el Control 2 (semillas hidratadas a saturación) en *C. baillonii*. El tiempo de germinación más largo y la disminución del porcentaje de germinación de las semillas del Control 2, son indicios de pérdida de vigor. A pesar de que durante la hidratación de las semillas se activan los mecanismos de reparación (Bewley, 1997), también se presenta un escape de solutos, lo que trae como consecuencia un daño fisiológico y estructural directamente proporcional al tiempo de hidratación; esto es conocido como daño imbibicional (Sánchez *et al.*, 2001; Osborne *et al.*, 2002). Concerniente al AH, el evento posterior de deshidratación de las semillas previamente hidratadas, posiblemente permitió que los mecanismos de reparación iniciados durante la

hidratación continuaran, reparando el daño imbibicional. Esta vigorización fue hasta cierto nivel, pues disminuyó a medida que el nivel de deshidratación fue incrementando, debido a la sensibilidad propia de las semillas recalcitrantes a la pérdida de humedad, que produce un desequilibrio metabólico y estructural (Hong y Ellis, 1996b; Baskin y Baskin, 2001; Kermodé y Finch-Savage, 2002). En algunos casos, se observó mejoría en el tiempo de inicio y promedio de la germinación, en AH con respecto a las semillas frescas (Control 1). Eso es indicio de que, probablemente, en esas semillas con AH ocurrieron los avances metabólicos que ocurren durante el acondicionamiento (Chen y Arora, 2012), por lo cual germinaron más rápido, a pesar de un menor porcentaje de germinación debido a los motivos ya expuestos, en torno a la pérdida de humedad.

Estos resultados difieren a los encontrados por Rodríguez *et al.* (2000), quienes reportaron una mayor germinación en las semillas deshidratadas (con respecto al contenido de humedad relativo inicial), en comparación con el control 1 (semillas frescas sin deshidratar), en ambas especies (70% de germinación con 20% de deshidratación, y 50% de germinación en semillas sin deshidratación, para *C. glabra*; y 70% con 20 y 40% de deshidratación, y 40% en semillas sin deshidratación, en *C. baillonii*). Estas diferencias podrían deberse a las variaciones intra e interestacionales que pueden encontrarse entre diferentes años de recolecta (Berjak y Pammenter, 2004; Sánchez-Coronado *et al.*, 2007), que ya se han mencionado para el caso de las diferencias encontradas en el PF, PS, y CH; incluso, en este estudio, se encontraron diferencias en los porcentajes de germinación finales del Control 1 de los dos años de recolecta. Una de los factores importantes a considerar es la madurez de las semillas en el momento de recolecta, pues la tolerancia a la desecación incrementa con el grado de maduración (Berjak y Pammenter, 2004). Aunque tanto las recolectas realizadas en este estudio, como en el de Rodríguez (2000), se realizaron en el pico de dispersión de semillas (abril), es posible que no haya una correspondencia exacta en el grado de madurez de las semillas, y que, las de los años 2011 y 2012, tengan un grado de madurez mayor. Las variaciones en las características de las semillas influyen en la sensibilidad a la desecación de las mismas, dentro de una misma especie, como ocurre en las especies recalcitrantes tropicales *Euterpe edulis* Martius (Martins *et al.*, 2000) y *Omphalea oleifera* (Sánchez-Coronado *et al.*, 2007). También cabe considerar la velocidad a la cual se deshidrataron las semillas, pues ésta influye en la viabilidad de las mismas. En este estudio *C. glabra* alcanzó el CH_r final base seca de 40% en 7 días, y *C. baillonii* en 20 h, con velocidades de

-0.27 y -1.01 \% h^{-1} respectivamente, mientras que en el estudio de Rodríguez *et al.* (2000) fueron de 17 y 3 días, con velocidades de -0.13 \% h^{-1} y -0.64 \% h^{-1} respectivamente. Esto significa que la velocidad de deshidratación fue mayor en este estudio. Una mayor velocidad de deshidratación, implica un menor tiempo para que ocurran los daños por pérdida de humedad en el metabolismo de la semilla (Hong y Ellis, 1996b), lo que se traduce en un menor estrés. Una velocidad menor conlleva un mayor tiempo de acumulación de dichos daños metabólicos (Berjak y Pammenter, 2003). Por tal motivo, se ha mencionado que la velocidad de deshidratación es más importante que los niveles críticos o letales en el contenido de humedad en sí, los cuales en realidad son subjetivos y dependen de la velocidad, así como de otros factores (Berjak *et al.*, 1989; Berjak y Pammenter, 2003; Leprince, 2003).

VI.c. Acondicionamiento natural

VI.c.1. Entierro de semillas en el campo

El enterrar de las semillas por doce días representó el mejor tratamiento en *C. glabra* y *C. baillonii* en cuanto a favorecer los parámetros germinativos, lo cual coincide con los resultados reportados para otras especies nativas (Aguilera-Jiménez, 2003; González-Zertuche *et al.*, 2001; Gamboa-deBuen *et al.*, 2006; Alvarado-López, 2012). A pesar de que el peso fresco, antes y después del enterramiento, no fue diferente en las dos especies, en la Fig. 18, se observa que las semillas de *C. glabra*, durante su permanencia en la superficie del suelo, registraron incrementos y decrementos en su CH, lo que sugiere que este mismo pudo haber pasado debajo de la superficie del suelo, aunque en menor grado, para las dos especies. Si bien *C. baillonii* se deshidrata rápidamente en la superficie, al igual que en el laboratorio, protegidas por una capa de suelo pudo no haber ocurrido. Estas fluctuaciones en el contenido de humedad son análogas a lo que sucede en el acondicionamiento convencional. Las condiciones ambientales, así como las características fisicoquímicas y biológicas del sistema suelo-semilla y las oscilaciones de las mismas influyen en la forma y grado de hidratación de las semillas mientras permanecen enterradas (Halmer, 2004). Durante el enterramiento, ocurren en las semillas una serie de eventos relacionados con avances en el proceso germinativo, entre los que están la amovilización de sustancias de reserva y el aumento en la actividad enzimática lo cual se traduce en mejoras en los

parámetros germinativos (Gamboa-deBuen *et al.*, 2006; Armenta-Jaime, 2007). Ya que las semillas con acondicionamiento natural no perdieron viabilidad ni vigor, y además presentaron los mejores parámetros germinativos, en comparación con los Controles 1 y 3, es posible que los procesos metabólicos relacionados con el acondicionamiento se hayan presentado durante el enterramiento. En donde sí hubieron diferencias, en el peso fresco (PF) inicial y final, fue en las semillas de ambas especies que permanecieron almacenadas por 12 días en condiciones de laboratorio (Control 3). Lo anterior se relacionaría con el menor porcentaje y los tiempos de inicio y promedio más largos encontrados en la germinación de las dos especies, posiblemente a causa de los daños relacionados con la pérdida de humedad, que disminuyeron la viabilidad y el vigor en las semillas durante su almacenamiento.

Las semillas enterradas en sitios sin cobertura arbórea son sometidas a condiciones ambientales más estresantes, en comparación con las enterradas en sitios con cobertura vegetal, lo cual produce una mayor variabilidad en la germinación, como sucede en *Opuntia tomentosa* y en *Wigandia urans* (González-Zertuche *et al.*, 2001; Olvera-Carrillo *et al.*, 2009), las cuales son especies que crecen en un ambiente muy variable en cuanto a su estructura y fisonomía y con una gran variedad de microhábitats presentes. En este estudio el sitio de entierro no tuvo efectos en la germinación, pues no se encontraron diferencias significativas en los parámetros germinativos, lo cual puede deberse a la combinación de las características climáticas y de la fisonomía y estructura de la selva alta perennifolia de la Región de Los Tuxtlas (González-Soriano *et al.*, 1997; Gutiérrez-García y Ricker, 2011; ver Figura 4), que hacen que a 2 cm de profundidad, las condiciones ambientales en el claro y en la selva no sean tan variables y estresantes, en comparación con las encontradas en otros ambientes, como por ejemplo en el Parque Ecológico de la Ciudad de México (Mendoza-Hernández *et al.*, 2013), ambiente en el que crecen las especies antes señaladas.

La dinámica de hidratación de semillas en condiciones de laboratorio, sugiere que el tiempo de permanencia en entierro fue suficiente para que las semillas llegaran a la fase II del proceso germinativo. Hay que considerar que en las semillas recalcitrantes el contenido de humedad al momento de la dispersión es alto, y que las fases iniciales del proceso germinativo en ellas son muy cortas o no se presentan (Black *et al.*, 2006). Aunque ambas condiciones experimentales son diferentes, la curva de hidratación da una referencia de la dinámica de hidratación de las semillas en campo, y por lo tanto del tiempo en el cual pueden permanecer enterradas, para alcanzar los

avances metabólicos que se consiguen con el acondicionamiento en laboratorio, sin que se llegue a la fase 3 del proceso germinativo (Nonogaki *et al.*, 2010). Es recomendable realizar experimentos que incluyan diferentes tiempos de enterramiento, que caractericen las condiciones del sitio de enterramiento, y que describan los cambios en el contenido de humedad de las semillas y en la expresión y el contenido de sustancias de reserva durante el tiempo de permanencia en el suelo.

VI.c.2. Germinación en el campo

Sólo las semillas de *C. glabra* germinaron, luego de 100 días de permanencia, en el suelo del interior de la selva de Los Tuxtlas (con un porcentaje de 11.3%), lo cual no ocurrió en las de *C. baillonii*, dado que las semillas perdieron toda su humedad luego de 20 días de permanencia. En la selva de Los Tuxtlas, Coates-Estrada y Estrada (1988) reportaron porcentajes de germinación de 92% para *C. baillonii* en el interior de la selva y 44% en un área abierta, mientras que Rodríguez-Hernández (1992) reportó porcentajes de germinación de 43.4% para *C. glabra* y de 88.3% para *C. baillonii* dentro de la selva, y porcentajes iguales o menores a 6% para la germinación en claro y área abierta. Estas diferencias en germinación podrían ser atribuibles a las condiciones ambientales más presentes en los sitios abiertos (mayor temperatura y menor disponibilidad de humedad), en contraste con los cerrados. Considerando que las semillas permanecieron en un sitio cerrado, la germinación reportada en este estudio podría deberse a que en el 2011, año en el cual se realizó el experimento, se presentó una disminución en la precipitación y hubo un aumento en la temperatura con respecto a otros años (Figura 34, ver Apéndice). La longevidad de las semillas de *C. glabra* fue mayor debido a sus características anatómicas y fisiológicas, que les confiere una menor sensibilidad a la desecación, en comparación con las semillas de *C. baillonii* (similar con los resultados de las deshidrataciones hechas en condiciones de laboratorio).

Los resultados enfatizan el papel de las condiciones de microhábitat en los ecosistemas, en el establecimiento de las especies, los cuales tienen influencias ecológicas, e incluso evolutivas, en este caso en la selva alta perennifolia (Baraloto *et al.*, 2005b). Las especies con semillas recalcitrantes por lo general ocupan hábitats con pocas limitantes para la reproducción por semilla, siendo más frecuentes en ambientes húmedos (Tweddle *et al.*, 2003). Un cambio en las

condiciones ambientales durante la dispersión de las semillas, como es una baja disponibilidad de agua y/o temperaturas más altas, induce una mayor desecación en las semillas, lo que repercute en la longevidad de las mismas (Berjak y Pammenter, 1994).

La sensibilidad a la desecación implica un valor adaptativo en respuesta a las condiciones ambientales (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1993), y que evolutivamente ha de terminado que las características morfológicas y fisiológicas de las semillas les confieran ventajas en su reproducción en estos ambientes húmedos (Farnsworth, 2000). Las semillas de *C. glabra* y *C. baillonii* se dispersan en la temporada de menor precipitación pluvial y mayor temperatura promedio. A pesar de su metabolismo activo y su alto contenido de humedad al momento de la dispersión, las semillas recalcitrantes aún no presentan el nivel de hidratación óptimo para que la germinación se lleve a cabo. La permanencia de las semillas, durante un período de tiempo en el suelo de la selva, de alguna forma, resulta benéfico para ellas (Orozco-Segovia *et al.*, 2003), por ejemplo, para que el embrión adquiera el umbral hídrico necesario para que suceda la germinación (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1993). Sin embargo, durante este período la semilla puede experimentar ciclos de hidratación-deshidratación. *C. glabra* y *C. baillonii* pasan por una deshidratación ligera en el período comprendido entre la dispersión y la germinación (Rodríguez *et al.*, 2000), y esto representa una condición natural, que posiblemente influye en la ontogenia de la semilla, incluso de la plántula. Se ha observado en especies recalcitrantes que las experiencias ante condiciones moderadas de deshidratación son necesarias para iniciar la germinación o incluso aumentarla (Probert y Brierley, 1989; Hong y Ellis, 1990; Connor *et al.*, 1996; Konstantinidou *et al.*, 2008; Castro-Colina *et al.*, 2012). Por ello, se ha sugerido que la deshidratación también es necesaria para el desarrollo completo del embrión y la semilla en semillas recalcitrantes (Konstantinidou *et al.*, 2008). Durante este desarrollo se inducirían los mecanismos que confieren tolerancia a la desecación, de forma análoga a lo que ocurre en el desarrollo de especies tolerantes, como las especies ortodoxas. Se ha comprobado la expresión de alguno de estos mecanismos, como la síntesis de dehidrinas, en especies recalcitrantes, las cuales estarían dotando a las semillas y plántulas de cierto nivel de protección frente a condiciones de estrés iniciales (Finch-Savage *et al.*, 1994; Han *et al.*, 1997).

VI.d. Crecimiento y supervivencia de plántulas

En *C. glabra* y en *C. baillonii*, los valores absolutos más altos de la mayoría de las variables de crecimiento correspondieron al tratamiento AN, tanto en invernadero como en campo, esto puede ser debido al mayor tiempo de crecimiento de las plántulas, como consecuencia de los tiempos de inicio y promedio de germinación más cortos, lo que se traduce en un adelanto en el crecimiento con respecto a los demás tratamientos. Una rápida germinación evita la depredación de la semilla, lo cual puede ser conveniente para el establecimiento de la plántula (Baraloto *et al.*, 2005a; Daws *et al.*, 2005), y un mayor tamaño inicial confiere ventajas competitivas a las plántulas en sitios con escasez de recursos, como en el sotobosque de la selva (Popma y Bongers, 1988).

En invernadero, los valores de TRC en *C. glabra* fueron más bajos en el tratamiento AN, lo cual significa que las plantas con ese tratamiento en realidad crecen menos rápido, en comparación con los demás tratamientos; aún así, el adelanto en crecimiento inicial no es superado por las plantas de los demás tratamientos con mayores TRC (en donde el crecimiento se vio retrasado por los mayores tiempos de germinación). Probablemente en *C. glabra* las plántulas con AN realizan un menor esfuerzo inicial en el crecimiento, lo que podría representar una ventaja en cuanto al establecimiento, al asignar de mejor forma los recursos para el crecimiento. Esto es importante en las selvas tropicales, en donde hay una asignación diferencial o balance de recursos en el crecimiento de las plantas, dependiendo de las condiciones ambientales del lugar en donde se establecen (Popma y Bongers, 1988), lo que ha producido la aparición de *trade-offs* ecológicos (MacArthur y Levins, 1964; Baraloto *et al.*, 2005b).

C. glabra y *C. baillonii* son especies pertenecientes a la selva madura. Las plántulas de ambas especies fueron diferentes entre sí por los atributos funcionales y morfológicos que presentan: las plántulas de *C. glabra* fueron de tipo criptocotilar hipogeo, con cotiledones de almacenamiento, mientras que las de *C. baillonii* fueron de tipo fanerocotilar epigeo, con cotiledones fotosintéticos. Tanto *C. glabra*, como *C. baillonii*, se clasifican dentro del gremio de especies sucesionales tardías, persistentes, o no pioneras, las cuales ocupan -en un gradiente vertical- los estratos arbóreos medios (Martínez-Ramos, 1985; Ibarra-Manríquez *et al.*, 2001). Esto significa que ambas especies requieren las condiciones ambientales presentes bajo el dosel de la selva para poder establecerse. Como ya ha sido señalado, la luz es el factor principal, lo que estaría

relacionado con los valores de biomasa encontrados en invernadero, donde hubo una mayor asignación de biomasa y menor crecimiento en longitud hacia la parte aérea en todos los tratamientos en ambas especies. Cabe mencionar las condiciones de la parcela a la que se trasplantaron las plántulas de las dos especies, la cual es un bosque secundario de 15-20 años de edad, con un dosel arbóreo continuo, de aproximadamente 10 m de altura. La fisonomía y estructura de la vegetación en la parcela presentó condiciones de microhábitat adecuadas en cuanto a la luz, temperatura y humedad, que son elementos que influyen en el establecimiento y crecimiento de las plantas de ambientes tropicales (Engelbrecht y Kursar, 2003; Poorter y Rose, 2005; Jöet *et al.*, 2013; Martínez-Villegas, 2013). Sin embargo también presentaba una alta heterogeneidad en la distribución del dosel, lo que también influyó en la alta dispersión de los datos y la falta de diferencias significativas entre los tratamientos.

El efecto del acondicionamiento fue más evidente durante el tiempo de permanencia de las plantas en invernadero, en los primeros tres meses de crecimiento, y en los meses iniciales de permanencia en el campo. Los efectos del acondicionamiento son observables de manera más conspicua dentro de los primeros meses de crecimiento (González-Zertuche *et al.*, 2000; González-Zertuche, 2005), pues las características fisiológicas y morfológicas de las plántulas más jóvenes las hacen más sensibles a las variaciones ambientales (que repercuten en la disponibilidad de los recursos). Esta sensibilidad disminuye conforme las plántulas van creciendo y se van aclimatizando al ambiente (González-Zertuche, 2000; Lewis y Tanner, 2000). Durante las primeras etapas del crecimiento de las plántulas se inducen mecanismos genéticos, bioquímicos y fisiológicos independientes a los que se activan en la etapa de desarrollo y germinación de la semilla (Buitink *et al.*, 2006; Vieira *et al.*, 2010). Por otro lado, hay que considerar que el aumento en la dispersión de los datos, debida a eventos observados, como la depredación parcial o total de las plantas, contribuyó al enmascaramiento de los posibles efectos de los tratamientos.

Los valores de supervivencia en invernadero y en campo fueron altos, a pesar de que se presenta una disminución en la precipitación entre los meses de enero y junio de 2012 (Figura 34, Ver Apéndice). Coates-Estrada y Estrada (1988) evaluaron la supervivencia de *C. baillonii* en Los Tuxtlas, luego de 17 meses en campo, reportando porcentajes de supervivencia del 42% en la selva madura, del 0% en claro, y del 67% en el borde de claros, mientras que Martínez-Garza (2003), en una evaluación en el mismo región y con la misma duración, encontró una

supervivencia de plántulas de *C. baillonii* más alta en bosque secundario en comparación con un área abierta, del 77 y 39%. Estos valores de supervivencia dan un indicio contrario al desempeño de las plántulas en ambientes similares a la parcela de estudio, y que se encuentran dentro de su área natural de distribución.

VI.e. Longevidad de las semillas durante el almacenamiento

Las semillas de ambas especies perdieron viabilidad gradualmente mientras permanecieron almacenadas, debido a la disminución paulatina del contenido de humedad a través del tiempo, a pesar de encontrarse en frascos de vidrio cerrados. Por ello, un mayor tiempo de almacenamiento redujo los porcentajes de germinación finales y aumentó los tiempos de inicio y promedio. Esto es más evidente en las semillas con tratamiento AH, debido a que éstas padecieron por una deshidratación previa, propia del tratamiento para llevar a las semillas a los porcentajes de CH₂₀%, que se sumó a la deshidratación experimentada durante el almacenamiento. La pérdida de agua produce un desequilibrio metabólico en las semillas, causando daños intracelulares, y este desequilibrio es mayor mientras más lento es el proceso de deshidratación. En las semillas recalcitrantes los daños son originados, en una proporción considerable, por un aumento en las especies reactivas altamente oxidantes, como el peróxido de hidrógeno y los radicales libres de oxígeno y nitrógeno (Berjak y Pammenter, 2008), combinada con alteraciones que reducen la eficiencia de los sistemas antioxidantes (Varghese *et al.*, 2011).

La temperatura de 15 °C contribuyó al aumento en la longevidad durante el almacenamiento, en todos los tratamientos, en ambas especies. La velocidad de pérdida de agua está relacionada con la temperatura, pues esta última influyó en la velocidad de deshidratación de los tejidos, al proveer y controlar la energía libre de las moléculas de agua en los tejidos y en el aire (Sun, 2002). También la temperatura influye en la permeabilidad de la membrana celular, y en consecuencia, en la difusión simple de compuestos volátiles como el oxígeno y el dióxido de carbono (Alberts *et al.*, 2004). Por ello, una menor temperatura disminuye la energía libre del agua en la semilla y en la humedad del ambiente, decrece la fluidez de la membrana celular, y con ello, la velocidad de deshidratación. A pesar de la significancia que tiene la velocidad de la deshidratación de las semillas en la longevidad de las mismas, una vez que se alcanzan umbrales

críticos en el contenido de humedad, el daño causado es independiente de la velocidad a la que se dé la deshidratación (Berjak y Pammenter, 2003).

Las condiciones de almacenamiento influyen en la longevidad tanto de semillas ortodoxas como recalcitrantes (Orozco-Segovia y Vázquez-Yanes, 1990; Liu *et al.*, 2011). Se ha observado que a una mayor temperatura y humedad en el almacenamiento hay mayor producción de átomos y moléculas, las que son conocidas como especies altamente reactivas, las cuales repercuten negativamente en la integridad celular (Pukacka y Ratajczak, 2005). Hong y Ellis (1996a) establecieron temperaturas de almacenamiento de entre 10 y 15 °C para las especies recalcitrantes tropicales, y de 5 a 10 °C para recalcitrantes templadas, debido a que éstas son más tolerantes a las bajas temperaturas. Sin embargo, dado que para todas las características morfológicas y funcionales de las semillas hay un gradiente (Berjak y Pammenter, 2008), es posible que éstas puedan tolerar una disminución en la temperatura por debajo de los 15 °C, como *Dipterocarpus baudii* Korth., cuya temperatura óptima de almacenamiento es 14°C, y *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.Juss.) Müll. Arg. de 7-10°C (Hong y Ellis 1996a) y averiguar si esta disminución repercute en una mayor longevidad en las semillas. Profundizar en el efecto de la temperatura en la longevidad permitiría encontrar la temperatura óptima de almacenamiento. Este resultado, si bien no ayuda a la conservación del germoplasma de estas especies a largo plazo, si permite extender su viabilidad mientras se estudian y se buscan alternativas nuevas para preservarlas, o bien para propagarlas dentro de estrategias de restauración.

En algunos casos, los cambios en la viabilidad entre los diferentes tiempos de evaluación fueron drásticos, los cuales pueden deberse a que la actividad en el metabolismo de la semilla continúa durante el almacenamiento. Existen cambios diferenciales en la viabilidad de semillas recalcitrantes, y se relacionan con los avances metabólicos que presentan durante su almacenamiento: si las semillas se mantienen en niveles de humedad adecuados, el metabolismo progresa lentamente, y los daños pueden aparecer súbitamente en el momento en que se requiera un aporte externo extra de humedad; mientras que con cambios grandes en el contenido de humedad, el metabolismo se altera más drásticamente por los daños debidos a la desecación (Tommasi *et al.*, 2006).

Con respecto al tipo de acondicionamiento, AN fue el mejor tratamiento, pues éste produjo avances en el proceso de germinación que perduraron más a través del tiempo en comparación con las semillas no tratadas. Gamboa-de Buen *et al.* (2006), observaron que las semillas

enterradas de *Wigandia urens* conservaron las ventajas adquiridas en los parámetros germinativos luego de dos años de almacenamiento, lo cual se atribuyó a los cambios en la movilización de proteínas de almacenamiento, como globulinas y vicilinas, carbohidratos como la sacarosa, y en la actividad enzimática antioxidante. Probablemente estos últimos dos componentes tengan una relevancia especial, pues como ya se señaló, durante el almacenamiento aparecen moléculas altamente reactivas que causan daños celulares, por lo que los mecanismos para reparar y contrarrestar al daño producido por la desecación son muy importantes, y la sacarosa puede asumir ese papel. Los mismos autores hacen hincapié en profundizar sobre ello en las semillas con acondicionamiento natural. Además de los sistemas antioxidantes y de los carbohidratos, también es posible que se induzca la expresión de dehidrinas, como ya se discutió, y probablemente de proteínas de choque térmico (González-Zertuche, 2001). Se ha observado el aumento en la concentración de sacarosa y de la actividad antioxidante en semillas recalcitrantes, luego de una ligera deshidratación (Berjak *et al.*, 1989; Francini *et al.*, 2006; Tommasi *et al.*, 2006; Cheng y Song, 2008). Es probable que en las semillas de *C. glabra* y de *C. baillonii* hayan ocurrido estos cambios durante el enterramiento, por lo que es necesario caracterizar los cambios bioquímicos en sus semillas, mientras permanecen enterradas.

VI.f. Consideraciones sobre el uso y propagación de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii* dentro de programas de restauración ecológica

El uso de las especies con semillas recalcitrantes conlleva a limitaciones prácticas, en primera instancia, en el manejo, almacenamiento y provisión de germoplasma, por lo que repercute en las actividades de restauración ecológica y en el traslado y conservación *ex situ* de especies de ambientes tropicales (Schmidt, 2000; Pritchard *et al.*, 2004). Ya que el objetivo *sensu stricto* de la restauración ecológica es reestablecer las condiciones originales (en la estructura, función y productividad) de un bosque o ecosistema, presentes antes del disturbio, resulta imprescindible incorporar a estas especies dentro de la ciencia de la restauración. En México se han realizado esfuerzos para hacerlo (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999; Ramírez-Marcial *et al.*, 2012), sin embargo resultan insuficientes y muchos de ellos carecen de la suficiente profundidad, como para entender los procesos biológicos sobre los que hay que poner suficiente atención.

Los parámetros germinativos y la longevidad de las semillas, así como el establecimiento de las plántulas, son variables que son prioritarias para mejorar en lo que a la propagación de las especies se refiere, ya sea con fines comerciales productivos, o dentro de las actividades de reforestación, vinculadas a la restauración ecológica (Elliott *et al.*, 2003; Bowner, 2008 ; Brancalion *et al.*, 2011; Chen y Aroa, 2012). En esta última actividad, se persigue desde incrementar la variabilidad genética de los lotes de semillas utilizados, hasta seleccionar los genotipos adecuados (Burton y Burton, 2002). Muchas veces los insumos económicos, materiales y sociales destinados a estas actividades son escasos, o bien implican protocolos o metodologías complicadas para su realización. El acondicionamiento natural mejoró la germinación de *C. baillonii* y de *C. glabra*, y en combinación con condiciones de almacenamiento adecuadas, incrementó la longevidad de las semillas, a la par de mantener las mejoras en los parámetros germinativos, incluso después de 90 días, sin diferencias significativas como en *C. baillonii*. El protocolo de este tipo de acondicionamiento es sencillo y barato, pues requiere pocos insumos materiales, y un esfuerzo en mano de obra moderado. Si esto se confronta con las ventajas adquiridas, o frente a los requerimientos de insumos y esfuerzos concernientes al acondicionamiento hídrico, por ejemplo, sin duda hace que el acondicionamiento natural cobre una gran relevancia.

Considerando los resultados de este estudio, se propone un esquema de propagación para *C. baillonii* y *C. glabra*, el cual incorpora el acondicionamiento natural y el almacenamiento a 15 °C de temperatura, así como los tiempos de almacenamiento dentro de los cuales los parámetros germinativos aún son altos. Este esquema se simplifica en la Figura 35.

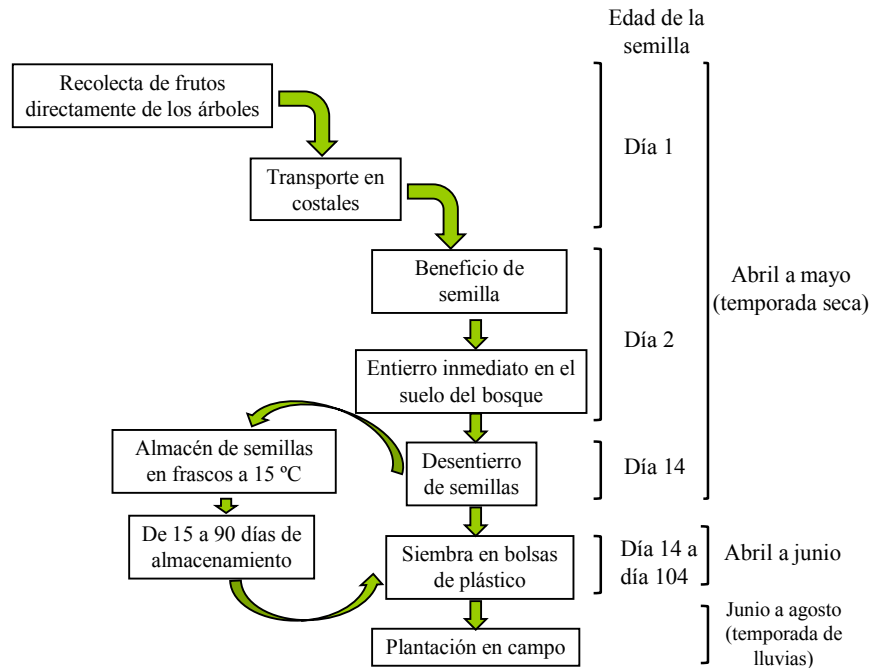


Figura 35. Protocolo de propagación en vivero para *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*.

Como se observa en la Figura 35, las ventajas en cuanto al tiempo de germinación más corto, mayor velocidad, y porcentaje de germinación alto, encontradas con el tratamiento AN, acortan los tiempos de obtención de plántulas y aumentan la cantidad de las mismas, con las ventajas en cuanto al crecimiento que ya se discutieron. El almacenamiento a 15 °C permite que la producción de nuevas plántulas se sostenga de dos a tres meses después de la aplicación del acondicionamiento, lo que garantiza la disponibilidad de plántulas desde el final de la temporada de menor precipitación y mayor temperatura (mayo), hasta el inicio de la temporada de mayor precipitación y disminución de la temperatura (junio a agosto; Figura 4), considerando los beneficios de exponer a las plántulas, en las plantaciones, a condiciones ambientales menos estresantes y con mayor disponibilidad de recursos. Estos períodos podrían adelantarse o adelantarse, dependiendo de la duración de los picos en la dispersión, a partir de la dehiscencia de los frutos, siendo que el período de dehiscencia de *C. glabra* abarca de marzo a mayo, y el período de *C. baillonii* va de febrero a mayo (Coates-Estrada y Estrada, 1988; Rodríguez *et al.*, 2000).

Las dos especies, *C. baillonii* y *C. glabra*, son usadas con diferentes fines en el sitio de estudio, entre los que se encuentra la función como árboles sombra, dentro de zonas agropecuarias. Este atributo es primario, ya que se ha comprobado el papel de los árboles

remanentes en la rehabilitación de ambientes degradados como los encontrados en la zona de Los Tuxtlas (Guevara *et al.*, 2004b). Lo anterior, ligado al valor de uso otorgado por los habitantes en la región, potencializa la importancia de ambas especies.

Otro punto a favor de ambas especies es su categorización como especies persistentes o sucesionales tardías de la selva alta premontana. Este grupo de especies constituye una proporción importante dentro de las especies presentes en una selva tropical conservada, por lo que son parte importante de su estructura, función y diversidad (Martínez-Ramos, 1994). Se ha encontrado que especies de categorías sucesionales avanzadas, de la selva alta premontana, presentan atributos funcionales adecuados cuando se establecen en ambientes perturbados, como zonas agropecuarias (Martínez-Garza, 2003), y eso ha propiciado su uso, junto con especies pioneras, para introducirse en ambientes degradados, y así acelerar el proceso de sucesión de estos ambientes (Martínez-Garza y Howe, 2010). La alta supervivencia encontrada en este estudio, para las plántulas provenientes de todos los tratamientos en *C. glabra* y *C. bailonii*, junto a su estatus ecológico, además de su valor de importancia ecológica, económica y/o social hacen que el uso de ambas en programas de restauración del paisaje forestal sea recomendable.

VII. CONCLUSIONES

- Las semillas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii* son de tipo recalcitrante, de acuerdo con su longevidad en el macenamiento, con el alto contenido de humedad, la pérdida de viabilidad al 12% de CH_r , y de sus características ecológicas, morfológicas y funcionales.
- Se encontraron diferencias en el peso y contenido de humedad de las semillas en los años 1989, 2011 y 2012; y en las tasas de hidratación y deshidratación de las mismas, así como en los contenidos de glucosa en los años 2011 y 2012. Ambas especies presentan contenidos altos de lípidos.
- Los mejores parámetros germinativos se obtuvieron en semillas expuestas al acondicionamiento natural, por lo que se sugiere que durante dicho tratamiento ocurren los avances metabólicos del proceso germinativo, que anteceden a la protrusión de la radícula y que se traducen en mejoras en la germinación. El acondicionamiento hídrico no mejoró la germinación con respecto a las semillas sin acondicionamiento (Control 1), aunque en algunos parámetros (tiempo de inicio y promedio), el acondicionamiento hídrico tuvo mejor desempeño en comparación con el Control 1, por lo que es posible que durante el tratamiento hayan ocurrido las mejoras concernientes al avance germinativo.
- La germinación en campo fue baja. En *C. glabra* la germinación ocurrió después de tres meses de permanencia en el suelo, y en *C. baillonii* no ocurrió. Probablemente las condiciones climáticas del año de estudio influyeron en estos resultados.
- La mayor longevidad de las semillas durante su almacenamiento se encontró en las previamente tratadas con acondicionamiento natural, la que tuvo una duración de hasta tres meses. La mejor temperatura de almacenamiento fue 15 °C.
- Se encontraron diferencias en las variables de crecimiento entre invernadero y campo, y estas diferencias fueron más conspicuas en los primeros meses de crecimiento. El

acondicionamiento natural mostró los valores más altos de crecimiento, y en algunos casos, el acondicionamiento hídrico. Las plántulas provenientes de semillas acondicionadas en campo tuvieron TRC menores y valores de crecimiento altos, lo que probablemente se deba a los eventos ocurridos en el metabolismo de las semillas mientras permanecieron en terradas en campo, y durante el crecimiento inicial, lo que significó una mejora en la asignación de recursos para el crecimiento.

- Enterrar a las semillas por doce días representa una técnica sencilla, económica y accesible, que podría considerarse dentro de los esquemas de manejo de especies para su propagación con fines de restauración ecológica, pues presenta el potencial de optimizar la producción de plántulas en campo y las pérdidas por manejo en el vivero.

VIII. LITERATURA CITADA

- Aguilera-Jiménez, P. 2003. Efecto del endurecimiento de las semillas de *Buddleja cordata* H.B.K. en las etapas iniciales de su ciclo de vida. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Aguirre, R. y S.T. Peske. 1992. Manual para el beneficio de semillas. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali. 247pp.
- Alberts, B., D. Bray, K. Hopkin, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts y P. Walter. 2004. Essential Cell Biology. Segunda edición. Garland Science. Nueva York. 740pp.
- Alper, P. y M.J. Oliver. 2002. Drying without dying. Pgs. 3-43. En: M. Black y H.W. Pritchard (Eds.). 2002. Desiccation and survival in plants: drying without dying. CABI Publishing. Reino Unido. 412pp.
- Alvarado-López, S. 2009. Movilización de las proteínas de reserva en respuesta al osmoacondicionamiento natural en las semillas de plantas de la reserva del Pedregal. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Alvarado-López, S. 2012. Respuesta al acondicionamiento natural de las semillas de plantas del estado de Veracruz. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 57pp.
- Anderson, C.J., W. Ligterink, A.C. Davide, E.A. Da Silva y H.W.M. Hilhorst. 2009. Change in gene expression during drying and imbibition of desiccation sensitive *Magnolia ovata* (A. St.-Hil.) Spreng. seeds. *Revista Brasileira de Sementes* 31(1): 270-280.
- Angelovici, R., G. Galili, A.R. Fernie y A. Fait. 2010. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. *Trends in Plant Science* 15(4): 211-218.
- Armenta-Jaime, S. 2007. Efecto del priming natural en la movilización de carbohidratos en la germinación de semillas de *Dodonaea viscosa*: papel de las invertasas ácidas. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Arriaga, V., M.V. Cervantes y A. Vargas-Mena. 1994. Manual de reforestación con especies nativas: colecta y preservación de semillas, propagación y manejo de plantas. SEDESOL, Instituto Nacional de Ecología, Facultad de Ciencias UNAM. México. 186pp.
- Ashraf, M. y M.R. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment: a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Advances in Agronomy* 88: 223-271.
- Baraloto, C., P.M. Forget y D.E. Goldberg. 2005a. Seed mass, seedling size and neotropical tree seedling establishment. *Journal of Ecology* 93: 1156-1166.
- Baraloto, C., D.E. Goldberg y D. Bonal. 2005b. Performance trade-offs among tropical tree seedlings in contrasting microhabitats. *Ecology* 86(9): 2461-2472.
- Baskin, C.C. y J.M. Baskin. 2001. Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press. E.U.A. 667pp.
- Becerra-Vázquez, A.G. 2010. Germinación de semillas y crecimiento inicial de especies arbóreas del bosque seco en la Depresión Central de Chiapas. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 110pp.

- Bejarano-Castillo, M. y S. Guevara. 2008. Algunos atributos de los árboles que atraen frugívoros a los potreros. *Cuadernos de Biodiversidad* (27): 3-10.
- Benítez-Rodríguez, J.L. 2005. Estudio ecofisiológico de germinación y crecimiento de *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. con fines de restauración en zonas perturbadas del Valle de México. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 60pp.
- Berjak, P., J.M. Farrant y N.W. Pammenter. 1989. The basis of recalcitrant seed behaviour. Pgs. 89-108. *En: R.V. Taylorson* (Ed.). *Recent advances in the development and germination of seeds*. Plenum Press. Nueva York.
- Berjak, P. y N.W. Pammenter. 1994. Recalcitrance is not an all-or-nothing situation. *Seed Science Research* 4(02): 263-264.
- Berjak, P. y N.W. Pammenter. 2003. Understanding and handling desiccation-sensitive seeds. Pgs. 415-430. *En: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard y R.J. Probert* (Eds.). *Seed Conservation: turning science into practice*. The Royal Botanic Gardens, Kew. Londres. 1023pp.
- Berjak, P. y N.W. Pammenter. 2004. Recalcitrant seeds. Pgs. 305-345. *En: R.L. Bencech-Arnold y R.A. Sánchez* (Eds.). *Handbook of Seed Physiology*. Food Products Press y The Harworth Press. Nueva York. 483pp.
- Berjak, P. y N.W. Pammenter. 2008. From *Avicennia* to *Zizania*: seed recalcitrance in perspective. *Annals of Botany* 101: 213-228.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9: 1055-1066.
- Bewley, J.D. y M. Black. 1994. *Seeds: physiology of development and germination*. 2a ed. Plenum Press. Nueva York. 445pp.
- Bhutani, S.P. 2010. *Chemistry of biomolecules*. CRC Press. Florida. 290pp.
- Black, M., J.D. Bewley y P. Halmer. 2006. *The Encyclopedia of seeds: science, technology and uses*. CABI. Reino Unido. 828pp.
- Bligh, E.G. y W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37: 911-917.
- Booner, F.T. 1990. Storage of seeds: potential and limitations for germoplasm conservation. *Forest Ecology and Management* 35: 35-43.
- Booner, F.T. 2008. Storage of seeds. Pgs. 85-96. *En: Booner, F.T. y R.P. Karrfalt* (Eds.). 2008. *Woody Plant Seed Manual. Agriculture Handbook No. 721*. United States Department of Agriculture (USDA), Forest Service. Oregon. 1223 pp. Disponible en http://www.nsl.fs.fed.us/nsl_wpsm.html
- Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. Pgs. 351-396. *En: J. Kigel y G. Galili*. *Seed development and germination*. Marcel Dekker. Nueva York. 853pp.
- Brancalion, P.H.S., A.D.L.C. Novembre, R.R. Rodrigues y D. Tay. 2008. Priming of *Mimosa bimucronata* seeds: a tropical tree species from Brazil. *Acta Horticulturae* 782: 163-168.
- Brancalion, P.H.S., D.Tay, A.D.L.C. Novembre, R.R. Rodrigues y J. Filho. 2010. Priming of pioneer tree *Guazuma ulmifolia* (Malvaceae) seeds evaluated by an automated computer image analysis. *Scientia Agricola* 67(3): 274-279.

- Brancalion, P.H.S., A.D.L.C. Novembre y R.R. Rodrigues. 2011. Seed development, yield and quality of two palm species growing in different tropical forest types in SE Brazil: implications for ecological restoration. *Seed Science and Technology* 39:412-424.
- Bray, C.M. 1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds. Pgs. 767-789. *En: J. Kigel y G. Galili. Seed development and germination. Marcel Dekker. Nueva York. 853pp.*
- Buitink, J., J.J. Leger, I. Guisle, B.L. Vu, S. Wuilleme, G. Lamirault, A.L. Bars, N.L. Meur, A. Becker, H. Küster y O. Leprince. 2006. Transcriptome profiling uncovers metabolic and regulatory processes occurring during the transition from desiccation sensitive to desiccation-tolerant stages in *Medicago truncatula* seeds. *The Plant Journal* 47: 735-750.
- Buitink, J. y O. Leprince. 2008. Intracellular glasses and seed survival in the dry state. *Comptes Rendus Biologies* 331: 788-795.
- Burton, P.J. y C.M. Burton. 2002. Promoting genetic diversity in the production of large quantities of native plant seed. *Ecological Restoration* 20: 117-123.
- Caddick, L. 2005. Moisture isotherms and conversion of indices used to describe moisture relations in stored grain. Disponible en <http://sgrl.csiro.au/storage/moisture/conversion.html>
- Carvalho, J.H., F.G. Alcoforado y L.D. Moraes. 1988. Effects of different conditions and duration of storage on the germination of Babassu seeds (*Orbignya phalerata*). *Principes* 32:55-58.
- Castro-Colina, L., M. Martínez-Ramos, M.E. Sánchez-Coronado, P. Huante, A. Mendoza y A. Orozco-Segovia. 2012. Effect of hydropriming and acclimation treatments on *Quercus rugosa* acorns and seedlings. *European Journal of Forest Research* 131:747-756.
- Chen, K. y R. Arora. 2012 (En prensa). Priming memory invokes seed stress-tolerance. *Environmental and Experimental Botany*. doi:10.1016/j.envexpbot.2012.03.005
- Cheng, H.Y. y S.Q. Song. 2008. Possible involvement of reactive oxygen species scavenging enzymes in desiccation sensitivity of *Antiaris toxicaria* seeds and axes. *Journal of Integrative Plant Biology* 50(12): 1549-1556.
- Chin, H.F., B. Krishnapillay y P.C. Stanwood. 1989. Seed moisture: recalcitrant vs orthodox seeds. *Crop Science Society of America* 14 (publicación especial): 15-22.
- Clewell, A.F. y J. Aronson. 2007. Ecological restoration: principles, values, and structure of an emerging profession. Island Press, Washington, DC.
- Coates-Estrada, R. y A. Estrada. 1988. Frugivory and seed dispersal in *Cymbopetalum baillonii* (Annonaceae) at Los Tuxtlas, Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 4(2): 157-172.
- Connor, K.F., F.T. Booner y J.A. Vozzo. 1996. Effects of desiccation on temperate recalcitrant seeds: differential scanning calorimetry, gas chromatography, electron microscopy, and moisture studies on *Quercus nigra* and *Quercus alba*. *Canadian Journal of Forest Research* 26: 1813-1821.
- Daws, M.I., N.C. Garwood y H.W. Pritchard. 2005. Traits of recalcitrant seeds in a semi-deciduous tropical forest in Panamá: some ecological implications. *Functional Ecology* 19(5): 874-885.
- Daws, M.I., H. Cleland, P. Chmielarz, F. Gorian, O. Leprince, C.E. Mullins, C.A. Thanos, V. Vandvik y H.W. Pritchard. 2006a. Variable desiccation tolerance in *Acer pseudoplatanus* seeds in relation to developmental conditions: a case of phenotypic recalcitrance? *Functional Plant Biology* 33: 59-66.

- Daws, M.I., N.C. Garwood y H.W. Pritchard. 2006b. Prediction of desiccation sensitivity in seeds of woody species: a probabilistic model based on two seed traits and 104 species. *Annals of Botany* 97: 667-674.
- de la Vega-Rivera, A. 2003. Estudio ecofisiológico de la germinación y establecimiento de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud Papilionaceae con fines de restauración ecológica. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Dickie, J.B. y H.W. Pritchard. 2002. Systematic and evolutionary aspects of desiccation tolerance in seeds. Pgs. 239-259. En: M. B lack y H .W. P ritchard. D esiccation an d s urvival i n p lants: drying whithout d ying. C ABI Publishing. Reino Unido. 412pp.
- Dirzo, R., E. González-Soriano y R.C. Vogt. 1997. Introducción general. Pgs. 3-6. En: E. González, R. Dirzo y R.C. Vogt (Eds.). Historia Natural de Los Tuxtlas. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Dytham, C. 2003. Choosing and using statistics: a biologist's guide. 2da ed. Blackwell Publishing. Reino Unido. 248pp.
- Elliott, S., P. N avakitbumrung, C. Kuarak, S. Z angkum, V. Anusarnsunthorn y D. Blakesley. 2003. Selecting framework tree species for restoring seasonally dry tropical forests in northern Thailand based on field performance. *Forest Ecology and Management* 184: 177-191.
- Ellis, R.H, T.D. Hong y E.H. Roberts. 1990. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. *Journal of Experimental Botany* 41: 1167-1174.
- Engelbrecht, B.M.J. y T.A. Kursar. 2003. Comparative drought-resistance of seedlings of 28 species of co-occurring tropical woody plants. *Oecologia* 136: 383-393.
- Farnsworth, E. 2000. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 197-138.
- Farrant, J.M. y J.P. Moore. 2011. Programming desiccation-tolerance: from plants to seeds to resurrection plants. *Current Opinion in Plant Biology* 14: 340-345.
- Fenner, M. y K Thompson. 2005. The ecology of seeds. Cambridge University. Cambridge. 250pp.
- Ferras, I.D.K. y V.P. Varela. 2003. Temperatura ótima para a germinação das sementes de trinta espécies florestais da Amazônia Central. Pgs. 117-127. En: N. Higuchi, J. Santos, P.T.B. Sampaio, R.A. Marengo, J. Ferraz, P.C. Sales, M. Saito y S. Matsumoto (Eds.). 2003. Projeto Jacaranda. Fase II: Pesquisas Florestais na Amazônia Central. CPST/INPA. Manaus.
- Filkestein, R., W. Reeves, T. Ariizumi y C. Steber. 2008. Molecular aspects of seed dormancy. *Annual Review of Plant Biology* 59: 387-415.
- Finch-Savage, W.E., S.K. P ramanik y J.D. B ewley. 1994. The expression of dehydrin proteins in desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of temperate trees. *Planta* 193: 478-485.
- Flynn, S., R.M. T urner y W .H. S tuppy. 2006. Seed Information Database (SID). Release 7.0, <http://www.kew.org/data/sidOctober>.
- Francini A., L. Galleschi, F. Saviozzi, C. Pinzino, R. Izzo, C. Sgherri y F. Navari-Izzo. 2006. Enzymatic and non-enzymatic protective mechanisms in recalcitrant seeds of *Araucaria bidwillii* subjected to desiccation. *Plant Physiology and Biochemistry* 44: 556-563.

- Gamboa-deBuen, A., R. Cruz-Ortega, E. Martínez-Barajas, M.E. Sánchez-Coronado y A. Orozco-Segovia. 2006. Natural priming as an important metabolic event in the life story of *Wigandia urens* (Hydrophyllaceae) seeds. *Physiologia Plantarum* 128: 520-530.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen: para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana. 5a ed. UNAM, Serie Libros, Núm. 6. México D.F. 90pp.
- González, R. Dirzo y R.C. Vogt (Eds.). 1997. Historia Natural de Los Tuxtlas. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- González-Espinosa, M., N. Ramírez-Marcial, A. Camacho-Cruz, S.C. Holz, J.R. Rey-Benayas y M.R. Parra-Vázquez. 2007. Restauración de bosques en territorios indígenas de Chiapas: Modelos ecológicos y estrategias de acción. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 80 (Suplemento): 11-23.
- González-Rivas, B., M. Tigabu, G. Castro-Marín y P.C. Odén. 2009. Seed germination and seedling establishment of Neotropical dry forest species in response to temperature and light conditions. *Journal of Forestry Research* 20(2): 99-104.
- González-Zertuche, L., A. Orozco-Segovia y C. Vázquez-Yanes. 2000. El ambiente de la semilla en el suelo: su efecto en la germinación y en la sobrevivencia de la plántula. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 65: 73-81.
- González-Zertuche, L., C. Vázquez-Yanes, A. Gamboa, M.E. Sánchez-Coronado, P. Aguilera y A. Orozco-Segovia. 2001. Natural priming of *Wigandia urens* seeds during burial: effects on germination, growth and protein expression. *Seed Science Research* 11: 27-34.
- González-Zertuche, L., A. Orozco-Segovia, C. Baskin y J.M. Baskin. 2002. Effects of priming on germination of *Buddleja cordata* ssp. *cordata* (Loganiaceae) seeds and possible ecological significance. *Seed Science and Technology* 30: 535-548.
- González-Zertuche, L. 2005. Tratamientos de endurecimiento en semillas de *Buddleja cordata* (Loganiaceae) y *Wigandia urens* (Hydrophyllaceae), dos especies útiles para reforestar o restaurar áreas perturbadas. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 138pp.
- Grime, J.P. 1979. Plant strategies and vegetation processes. John Wiley & Sons. Gran Bretaña. 222pp.
- Griscom, H.P. y M.S. Ashton. 2011. Restoration of dry tropical forests in Central America: a review of pattern and process. *Forest Ecology and Management* 261: 1564-1579.
- Gudiño-González, W.A. 2003. Pretratamientos de enterramiento en semillas de *Urera caracasana* (Jacq.) Griseb. como una herramienta para la restauración: efectos en la germinación y la tasa germinativa en un gradiente de temperatura. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 60pp.
- Guevara, S., J. Laborde y G. Sánchez-Ríos. 2004a. Introducción. En: S. Guevara, J. Laborde y G. Sánchez-Ríos. 2004. Los Tuxtlas: El paisaje de la Sierra. Instituto de Ecología, A.C. y Unión Europea. Xalapa, Veracruz. 288pp.
- Guevara, S., J. Laborde y G. Sánchez-Ríos. 2004b. Rain forest regeneration beneath the canopy of fig trees isolated in pastures of Los Tuxtlas, Mexico. *Biotropica* 36(1): 99-108.
- Gutiérrez-García, G. y M. Ricker. 2011. Climate and climate change in the region of Los Tuxtlas (Veracruz, Mexico): a statistical analysis. *Atmósfera* 24(4): 347-373.

- Hadas, A. 2004. Seed preparation: The soil physical environment of germinated seeds. Pgs. 3-49. *En:* R.L. Benceh-Arnold y R.A. Sánchez (Eds.). *Handbook of Seed Physiology*. Food Products Press y The Harworth Press. Nueva York. 483pp.
- Halmer, P. 2004. Methods to improve seed performance in the field: applications to Agriculture. Pgs. 125-168. *En:* R.L. Benceh-Arnold y R.A. Sánchez (Eds.). *Handbook of Seed Physiology*. Food Products Press y The Harworth Press. Nueva York. 483pp.
- Hamilton, K.N., C.A. Offord, P. Cuneo y M.A. Deseo. 2013. A comparative study of seed morphology in relation to desiccation tolerance and other physiological responses in 71 Eastern Australian rainforest species. *Plant Species Biology* 28: 51-62.
- Han, B., P. Berjak, N. Pammenter, J. Farrant y A.R. Kermode. 1997. The recalcitrant plant species, *Castanospermum australe* and *Trichilia dregeana*, differ in their ability to produce dehydrin-related polypeptides during seed maturation and in response to ABA or water-deficit-related stresses. *Journal of Experimental Botany* 48(314): 1717-1726.
- Hansen, M.C., S.V. Stehman y P.V. Potapov. 2010. Quantification of global gross forest cover loss. *Proceedings of National Academy of Sciences* 107(19): 8650-8655.
- Harper, J.L. 1977. *Population biology of plants*. Academic Press. Londres. 892pp.
- Henckel, P.A., K.L. Martyanova y L.S. Zubova. 1964. Production experiments on pre-sowing drought hardening of plants. *Soviet Plant Physiology* 11: 457-461.
- Hendry, G.A., W. Finch-Savage, P.C. Thorpe y M. Neil. 1992. Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species. *New Phytologist*: 122(2): 273-279.
- Heydecker, W., J. Giggins y R.L. Gulliver. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* 246: 42-44.
- Holzman, B.A. 2008. *Tropical Forest Biomes*. Greenwood Press. Connecticut. 242pp.
- Hong, T.D. y R.H. Ellis. 1990. A comparison of maturation drying, germination, and desiccation tolerance between developing seeds *Acer pseudoplatanus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytologist* 116(4): 589-596.
- Hong, T.D. y R.H. Ellis. 1996a. A protocol to determine seed storage behavior. 62 pp. *En:* J.M.M. Engels y J. Toll (Eds.). 1996. IPGRI Technical Bulletin No. 1. International Plant Genetic Resources Institute. Roma.
- Hong, T.D., S. Linington y R.H. Ellis. 1996b. Seed storage behaviour: a compendium. *Handbooks for Genebanks* No. 4. International Plant Genetic Resources Institute. Roma. 104 pp.
- Hunt, R. 1982. *Plant Growth Curves: the functional approach to plant growth analysis*. Edward Arnold. Londres. 243pp.
- Ibarra-Manríquez, G. y K. Oyama. 1992. Ecological correlates of reproductive traits of Mexican rain forest trees. *American Journal of Botany* 79(4): 383-394.
- Ibarra-Manríquez, G., M. Martínez-Ramos, R. Dirzo y J. Núñez-Farfán. 1997a. La vegetación. Pgs. 61-85. *En:* E. González, R. Dirzo y R.C. Vogt (Eds.). *Historia Natural de Los Tuxtlas*. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- Ibarra-Manríquez, G., M. Ricker, G. Ángeles, S. Sinaca-Colín y M.A. Sinaca-Colín. 1997b. Useful plants of the Los Tuxtlas Rain Forest (Veracruz, Mexico): considerations of their market potential. *Economic Botany* 51(4): 362-376.
- Ibarra-Manríquez, G., M. Martínez-Ramos y K. Oyama. 2001. Seedling functional types in a lowland rain forest in Mexico. *American Journal of Botany* 88: 1801–1812.
- Ibarra-Manríquez, G. y G. Cornejo-Tenorio. 2010. Diversidad de frutos de los árboles de los bosques tropicales perennifolios de México. *Acta Botánica Mexicana* 90: 51-104.
- International Seed Testing Association (ISTA). 1993. International rules for seed testing. *Seed Science and Technology* 21: 25-30, 37-41.
- Jayasuriya, K.M.G.G., A.S.T.B. Wijetunga, J.M. Baskin y C.C. Baskin. 2010. Recalcitrancy and a new kind of epicotyl dormancy in seeds of the understory tropical rainforest tree *Humboldtia laurifolia* (Fabaceae, Ceasalpinioideae). *American Journal of Botany* 97(1): 15-26.
- Jöet, T., J.M. Ourcival y S. Dusset. 2013. Ecological significance of seed desiccation in *Quercus ilex*. *Annals of Botany* 111(4): 693-701.
- Kalemba, E.M. y S. Pukacka. 2007. Possible roles of LEA proteins and sHSPs in seed protection: a short review. *Biological Letters* 44(1): 3-16.
- Kermode, A.R. y B.E. Finch-Savage. 2002. Desiccation sensitivity in orthodox and recalcitrant seeds in relation to development. Pgs. 149-184. En: M. Black y H.W. Pritchard. Desiccation and survival in plants: drying without dying. CABI Publishing. Reino Unido. 412pp.
- Khurana, E. y J.S. Singh. 2001. Ecology of tree seed and seedlings: implications for tropical forest conservation and restoration. *Current Science* 80(6): 748-757.
- Konstantinidou, E., I. Takos y T. Merou. 2008. Desiccation and storage behavior of bay laurel (*Laurus nobilis* L.) seeds. *European Journal of Forest Research* 127: 125-131.
- Köppen, W. 1936. Das Geographische System der Klimate. Handbuch der Klimatologie Vol. 1. Gebrüder Bornträger. Berlin. 44pp.
- Kramer, P.J. 1983. Water relations of plants. Academic Press. California.
- Lamb, D. y D. Gilmour. 2003. Rehabilitation and restoration of degraded forest. IUCN y WWF Gland. Suiza. 110pp.
- Lamb, D., P.D. Erskine y J.A. Parrotta. 2005. Restoration of Degraded Tropical Forest Landscapes. *Science* 310: 1628-1632.
- Lambers, H., F.S. Chaplin III, y T.L. Pons. 1998. Plant physiological ecology. Springer. Nueva York.
- Larcher, W. 2003. Physiological Plant Ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. 4ta ed. Springer. Nueva York.
- Leprince, O. 2003. Assessing desiccation sensitivity: from diagnosis to prognosis. Pgs. 415-430. En: Smith, R.D., J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard y R.J. Probert (Eds.). 2003. Seed Conservation: turning science into practice. The Royal Botanic Gardens, Kew. Londres. 1023pp.
- Leubner, G. 2006. The Seed Biology Place. <http://www.seedbiology.de>

- Levy-Tacher, S.I., J.R. Aguirre-Rivera, J.D. García-Pérez y M.M. Martínez-Romero. 2006. Aspectos florísticos de Lacanhá Chansayab, Selva Lacandona, Chiapas. *Acta Botánica Mexicana* 77: 69-98.
- Lewis, S.L. y E.V.J. Tanner. 2000. Effects of aboveground and belowground competition on growth and survival of rain forest tree seedlings. *Ecology* 81:2525–2538
- Lira-Noriega, A., S. Guevara, J. Laborde y G. Sánchez-Ríos. 2007. Composición florística en potreros de Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Acta Botánica Mexicana* 80: 59-87.
- Liu, K., J.M. Baskin, C.C. Baskin, H. Bu, M. Liu, W. Liu y G. Du. 2011. Effect of storage conditions on germination of seeds of 489 species from high elevation grasslands of the eastern Tibet Plateau and some implications for climate change. *American Journal of Botany* 98(1): 12-19.
- MacArthur, R. H. y R. Levins. 1964. Competition, habitat selection and character displacement. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 51:1207–1210.
- Martin-Del Pozzo, A.L. 1997. Geología. En: E. González, R. Dirzo y R.C. Vogt (Eds.). Historia Natural de Los Tuxtlas. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Martínez-Garza, C. 2003. Selecting late-successional trees for tropical forest restoration. Tesis de Maestría. Universidad de Illinois en Chicago. Chicago, E.U.A. 146pp.
- Martínez-Garza, C. y H.F. Howe. 2010. Características foliares y tasas vitales de árboles sucesionales tardíos de un bosque tropical perennifolio. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 86: 1-10.
- Martínez-Ramos, M. 1985. Claros, ciclos vitales de los árboles tropicales y regeneración natural de las selvas altas perennifolias. Pgs. 191-240. En: A. Gómez-Pompa y S. Del-Amo (Eds.). Investigaciones sobre la Regeneración de selvas altas en Veracruz, México. Alhambra Mexicana. México.
- Martínez-Ramos, M., 1994. Regeneración natural y diversidad de especies arbóreas en selvas húmedas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 54: 179-224
- Martínez-Villegas, J. 2013. Evasión de la sequía en *Dahlia coccinea* y *Senecio praecox* (Asteraceae): semillas y estructuras vegetativas. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 70pp.
- Martins, C.C., J. Nakagawa y M.L.A. Bovi. 2000. Desiccation tolerance of four seedlots from *Euterpe edulis* Mart. *Seed Science and Technology* 28(1): 101-113.
- Matheson, N.K. 1984. The synthesis of reserve oligosaccharides and polysaccharides in seeds. Pgs. 167-208. En: Murray, D.R. (Ed.). Seed physiology. Vol. 1. Academic Press. Australia. 279pp.
- May, L.H., E.J. Milthorpe y F.L. Milthorpe. 1962. Presowing hardening of plant to drought: an appraisal of the contribution of P.A. Henckel. *Field Crop Adstr.* 15: 93-98.
- Mayer, A.M. y A. Poljakoff-Mayber. 1989. The Germination of Seeds. 4ta ed. Pergamon. Londres.
- McDonald, M.B. 2004. Orthodox seed deterioration and repair. Pgs. 273-304. En: Benech-Arnold, R. y R.A. Sánchez (Eds.). 2004. Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture. Nueva York. 480pp.
- Mendoza-Hernández, P.E., A. Rosete-Rodríguez, M.E. Sánchez-Coronado, S. Orozco, L. Pedrero-López, I. Méndez y A. Orozco-Segovia. 2013 (en prensa). Vegetation patches improve the establishment of *Salvia mexicana* seedlings by modifying microclimatic conditions. *International Journal of Biometeorology* DOI

10.1007/s00484-013-0665-8. Disponible en línea en <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00484-013-0665-8.pdf>

- Miranda, F. y E. Hernández-Xolocotzi. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 28: 29-179.
- Moeinzadeh, A., F. Sharif-Zadeh, M. Ahmadzadeh y F. Heidari-Tajabadi. 2010. Biopriming in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed with *Pseudomonas fluorescens* for improvement of seed invigoration and seedling growth. *Australian Journal of Crop Science* 4(7): 564-570.
- Nellist, M.E. y M. Hughes. 1973. Physical and biological processes in the drying of seed. *Seed Science and Technology* 1: 613-643.
- Newton, A.C. y N. Tejedor. 2011. Introduction. Pgs. 1-21. En: A.C. Newton y N. Tejedor (Eds.). Principles and practice of Forest Landscape Restoration: case studies from the drylands of Latin America. IUCN, Gland, Suiza. 383pp.
- Nicasio-Arzeta, S., M.E. Sánchez-Coronado, A. Orozco-Segovia y A. Gamboa-de Buen. 2011. Efecto de la precondicionamiento y del sustrato salino en la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays*) raza chalqueño. *Agrociencia* 45: 195-205.
- Niembro, A. 1989. Semillas de plantas leñosas: morfología comparada. Limusa. México. 224pp.
- Niembro-Rocas, A., M. Vázquez-Torres y O. Sánchez-Sánchez. 2010. Árboles de Veracruz: 100 especies para la reforestación estratégica. Gobierno del Estado de Veracruz-Universidad Veracruzana. 253pp.
- Nonogaki, H., G.W. Bassel y J.D. Bewley. 2010. Germination - still a mystery. *Plant Science* 179: 574-581.
- Olvera-Carrillo, Y., I. Méndez, M.E. Sánchez-Coronado, J. Márquez-Guzmán, V.L. Barradas, P. Huante y A. Orozco-Segovia. 2009. Effect of environmental heterogeneity on field germination of *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae) seeds. *Journal of Arid Environments* 73: 414-420.
- Olvera-Carrillo, Y., J. Márquez-Guzmán, M.E. Sánchez-Coronado, V.L. Barradas, E. Rincón y A. Orozco-Segovia. 2009. Effect of burial on the germination of *Opuntia tomentosa*'s (Cactaceae, Opuntioideae) seeds. *Journal of Arid Environments* 73: 421-427.
- Orozco-Segovia, A., y C. Vázquez-Yanes. 1990. Effect of moisture on longevity in seeds of some rain forest species. *Biotropica* 22(2): 215-216.
- Orozco-Segovia, A., A.I. Batis, M. Rojas-Aréchiga y A. Mendoza. 2003. Seed biology of palms: a review. *Palms* 47(2): 79-94.
- Orozco-Segovia, A. y M.E. Sánchez-Coronado. 2009. Functional diversity among seeds and its implications for ecosystem functionality and restoration ecology. Pgs. 175-216. En: A. Gamboa-deBuen, A. Orozco-Segovia y F. Cruz-García (Eds.). Functional Diversity of Plant Reproduction. Research Signpost. Kerala.
- Osborne, D.J., I. Boubriak y O. Leprince. 2002. Rehydration of dried systems: membranes and the nuclear genome. Pgs. 343-364. En: M. Black y H.W. Pritchard. 2002. Desiccation and survival in plants: drying without dying. CABI Publishing. Reino Unido. 412pp.
- Oyerinde, R.O. 2011. The effect of provenance on the response of the recalcitrant seeds of *Trichilia dregeana* to drying and chilling. Tesis de Maestría. Universidad de Kwazulu-Natal. Durban, Sudáfrica. 130pp.

- Pammenter, N.W. y P. Berjak. 1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. *Seed Science Research* 9(1): 13-37.
- Pammenter, N.W. y P. Berjak. 2000. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. *Seed Science Research* 10(3): 301-306.
- Paz, H. 2003. Root/shoot allocation and root architecture in seedlings: variation among forest sites, microhabitats, and ecological groups. *Biotropica* 35(3): 318-332.
- Pennington, T.D. y J. Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México: Manual para la identificación de las principales especies. 3ra ed. UNAM-Fondo de Cultura Económica. México. 523pp.
- Poorter, L. 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Functional Ecology* 13: 396-410.
- Poorter, L. y S.A. Rose. 2005. Light-dependent changes in the relationship between seed mass and seedling traits: a meta-analysis for rain forest tree species. *Oecologia* 142: 378-387.
- Poorter, L. y L. Markesteijn. 2008. Seedlings traits determine drought tolerance of tropical tree species. *Biotropica* 40(3): 321-331.
- Popma, J. y F. Bongers. 1988. The effect of canopy gaps on growth and morphology of seedlings of rain forest species. *Oecologia* 75: 625-632.
- Pritchard, H.W., M.I. Daws, B.J. Fletcher, C.S. Gaméné, H.P. Msanga y W. Omondi. 2004. Ecological correlates of seed desiccation tolerance in tropical african dryland trees. *American Journal of Botany* 91(6): 863-870.
- Probert, R. J. y E. R. Brierley. 1989. Desiccation intolerance in seeds of *Zizania palustris* is not related to developmental age or the duration of post-harvest storage. *Annals of Botany* 64:669-674.
- Pukacka, S. y E. Ratajczak. 2005. Production and scavenging of reactive oxygen species in *Fagus sylvatica* seeds during storage at varied temperature and humidity. *Journal of Plant Physiology* 162:873-885.
- Ramage, B.S., D. Sheil, H.M.W. Salim, C. Fletcher, N.A. Mustafa, J.C. Luruthusamay, R.D. Harrison, E. Butod, A.D. Dzulkiply, A.R. Kassim y M.D. Potts. 2012. Pseudoreplication in tropical forests and the resulting effects on biodiversity conservation. *Conservation Biology* 27(2): 364-372.
- Ramírez-Marcial, N., A. Luna-Gómez, H.E. Castañeda-Ocaña, M. Martínez-Icó, S.C. Holz y M. González-Espinosa. 2012. Guía de propagación de árboles nativos para la recuperación de bosques. Segunda edición. El Colegio de La Frontera Sur - redISA - Cuenca Grijalva. México. 95pp.
- Roberts, E.H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology* 1: 499-514.
- Rodríguez, M.C., A. Orozco-Segovia, M.E. Sánchez-Coronado y C. Vázquez-Yanes. 2000. Seed germination of six mature neotropical rain forest species in response to dehydration. *Tree Physiology* 20: 693-699.
- Rodríguez-Hernández, M.C. 1992. Estudio sobre ecología fisiológica de la germinación de siete especies tropicales para fines de conservación *ex situ*. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 171pp.
- Rose, S.A., N. Houter y H. ter Steege. 2000. The importance of seed mass and canopy openness for the early growth responses of tree seedlings of eight tropical rain forest species. *Plants* 19-37. En: S.A. Rose. 2000. Seeds,

- seedlings and gaps: a study in the tropical rain forest of Guyana. Tesis de Doctorado. Universidad Utrecht. Guyana.
- Rowse, H.R., J.M.T. McKee y E.C. Higgs. 1999. A model of the effects of water stress on seed advancement and germination. *New Phytologist* 143(2): 273-279.
- Royal Botanic Gardens Kew. 2008. Seed Information Database (SID). Version 7.1. Disponible en: <http://data.kew.org/sid/> (May 2008)
- Rzedowsky, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México. 432pp.
- Sánchez, J.A., R. Orta y B.C. Muñoz. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agronomía Costarricense* 25(001): 67-91.
- Sánchez, J.A., B. Muñoz y L. Montejo. 2003. Efectos de tratamientos robustecedores de semillas sobre la germinación y establecimiento de árboles pioneros bajo condiciones de estrés. *Ecotrópicos* 16(2): 91-112.
- Sánchez, J.A., B.C. Muñoz, L. Hernández, L. Montejo, A.G. Suárez y Y. Torres-Arias. 2006. Tratamientos robustecedores de semillas para mejorar la emergencia y el crecimiento de *Trichospermum mexicanum*, árbol tropical pionero. *Agronomía Costarricense* 30(1): 7-26.
- Sánchez-Coronado, M.E., R. Coates, L. Castro-Colina, A. Gamboa, J. Páez-Valencia, V.L. Barradas, P. Huante y A. Orozco-Segovia. 2007. Improving seed germination and seedling growth of *Omphalea olifera* (Euphorbiaceae) for restoration projects in tropical rain forest. *Forest Ecology and Management* 243: 144-155.
- Sautu, A., J.M. Baskin, C.C. Baskin y R. Condit. 2006. Studies on the seed biology of 100 native species of trees in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America. *Forest Ecology and Management* 234: 245-263.
- Schmidt, L. 2000. Guide to handling of Tropical and Subtropical Forest Seed. Danida Forest Seed Centre. Dinamarca. 511pp.
- Simon, E.W. 1984. Early events in germination. Pgs. 77-115. En: D.R. Murray (Ed.). *Seed Physiology*. Vol. 2. Academic Press. Australia. 279pp.
- Sokal, R.R. y F.J. Rohlf. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. 3a ed. W.H. Freeman. Nueva York. 887pp.
- Soriano, D., A. Orozco-Segovia, J. Márquez-Guzmán, K. Kitajima, A. Gamboa-de Buen y P. Huante. 2011. Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Annals of Botany* 107: 939-951.
- Soto, M. y L. Gama. 1997. Climas. Pgs. 7-23. En: E. González, R. Dirzo y R.C. Vogt (Eds.). *Historia Natural de Los Tuxtlas*. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Standley, P.C. y J.A. Steyermark. 1946. *Flora of Guatemala*, Vol. 24, Part IV. Fieldiana: Botany, Chicago Natural History Museum. 493pp.
- Standley, P.C. y J.A. Steyermark. 1949. *Flora of Guatemala*, Vol. 24, Part VI. Fieldiana: Botany, Chicago Natural History Museum. 440pp.
- Sun, W.Q. 2002. Methods for the study of water relations under desiccation stress. Pgs.47-91. En: M. Black y H.W. Pritchard (Eds.). 2002. *Desiccation and survival in plants: drying without dying*. CABI Publishing. Reino Unido. 412pp.

- Tommasi F., C. Paciolla, M.C. de Pinho y L. de Gara. 2006. Effects of storage temperature on viability, germination and antioxidant metabolism in *Ginkgo biloba* L. seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* 44: 359–368.
- Trejo, I. y R. Dirzo. 2000. Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation* 94: 133-142.
- Turner, I.M. 2001. The ecology of trees in the tropical rain forest. Cambridge University Press. Cambridge. 298pp.
- Tweddle, J.C., J.B. Dickie, C.C. Baskin y J.M. Baskin. 2003. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. *Journal of Ecology* 91(2): 294-304.
- Varghese, B., Serchen, P. Berjak, D. Varghese y N. Pammenter. 2011. Differential drying rates of recalcitrant *Trichilia dr egeana* embryonic axes: a study of survival and oxidative stress metabolism. *Physiologia Plantarum* 142(4): 326-338.
- Vázquez-Yanes, C. 1987. El almacenamiento de semillas en la conservación de especies vegetales. *Ciencia* 38: 239-246.
- Vázquez-Yanes, C. y A. Orozco-Segovia. 1984. Ecophysiology of seed germination in the tropical humid forests of the world: a review. Pgs. 37-50. *En: E. Medina, H.A. Mooney y C. Vázquez-Yanes (Eds.). Physiological Ecology of Plants of the Wet Tropics. Dr. W. Junk, The Hague, The Netherlands.*
- Vázquez-Yanes, C. y A. Orozco-Segovia. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rain forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 69-87.
- Vázquez-Yanes, C., A.I. Batis-Muñoz, M. I. Alcocer-Silva, M. Gual-Díaz y C. Sánchez-Dirzo. 1999. Árboles mexicanos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto J084. CONABIO - Instituto de Ecología, UNAM. México D.F.
- Vertucci, C.W. y J.M. Farrant. 1995. Acquisition and loss of desiccation tolerance. Pgs. 237-271. *En: J. Kigel y G. Galili. Seed development and germination. Marcel Dekker. Nueva York. 853pp.*
- Vieira, C.V., E.A.A. da Silva, A.A. de Alvarenga, E.M. de Castro y P.E. Toorop. 2010. Stress-associated factors increase after desiccation of germinated seeds of *Tabebuia impetiginosa* Mart. *Plant Growth Regul* 62: 257-263.
- Villalpando, O.K. 1972. Consideraciones sobre el clima y el tiempo meteorológico en la Sierra de Los Tuxtlas, Veracruz. *En: Problemas biológicos de la región de Los Tuxtlas, Veracruz. Facultad de Ciencias, Depto. de Biología, UNAM. México, D.F.*
- von T eichman I. y A.E. van Wyk. 1994. Structural aspects and trends in the evolution of recalcitrant seeds in dicotyledons. *Seed Science Research* 4: 225–239.
- Walters, C., J.M. Farrant, N.W. Pammenter y P. Berjak. 2000. Desiccation stress and damage. Pgs. 263-291. *En: M. Black y H.W. Pritchard. 2002. Desiccation and survival in plants: drying without dying. CABI Publishing. Reino Unido. 412pp.*
- Welbaum E.G., Z. Shen, M.O. Olouch y L.W. Jett. 1998. The evolution and effects of priming vegetable seeds. *Seed Technology* 20(2): 209-235.
- Wulff, R.D. 1995. Environmental maternal effects on seed quality and germination. *En: J. Kigel y G. Galili. Seed development and germination. Marcel Dekker. Nueva York. 853pp.*

Wulff, R.D. y F.A. Bazzaz. 1992. E ffect o f t he p arental nutrient regime o n gr owth o f t he p rogeny in *Abutilon theophrasti* (Malvaceae). *American Journal of Botany* 79(10): 1102-1107.

Zar, J.H. 1974. Biostatistical analysis. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs. Londres.

IX. APÉNDICE

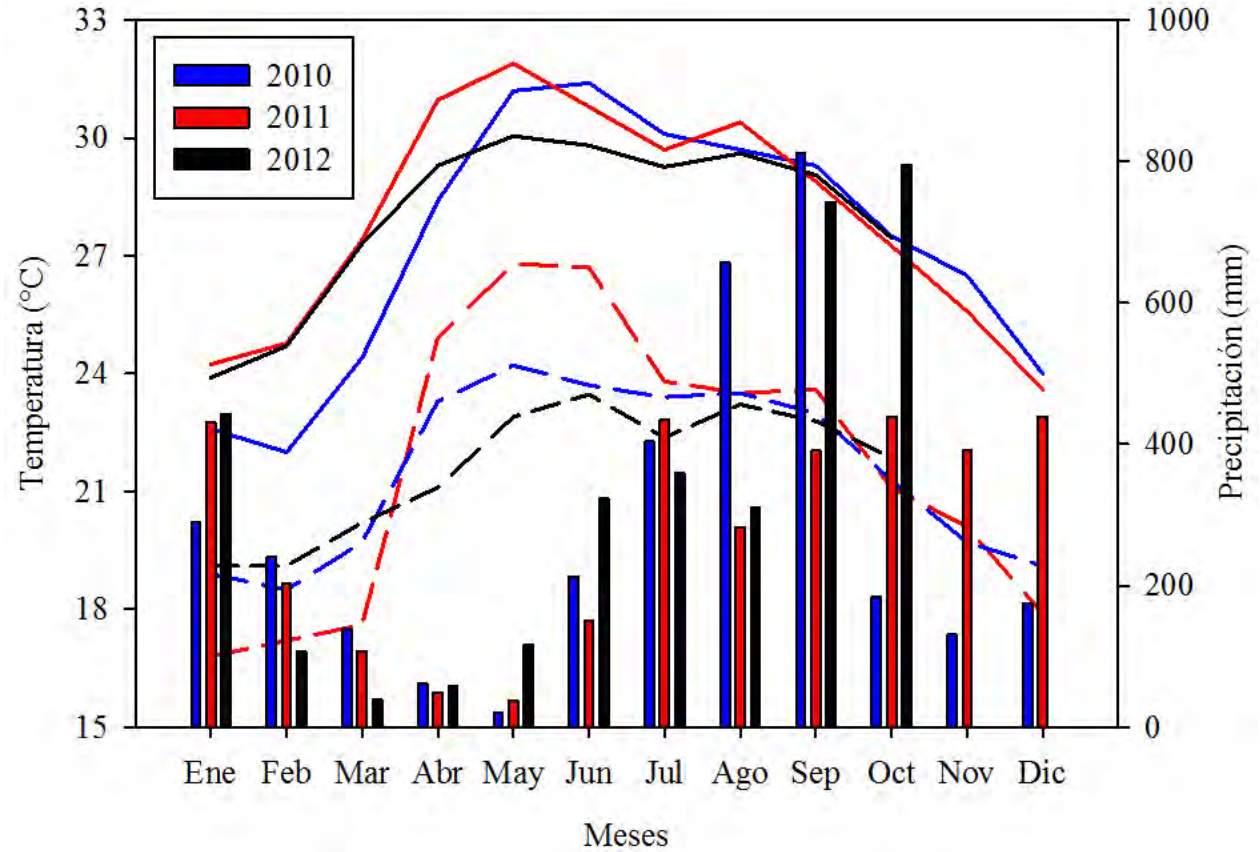


Figura 34. Condiciones del clima en la Estación Biológica de Los Tuxtlas, durante los años 2010, 2011 y 2012. Se muestran los valores promedio mensuales de temperatura máxima (líneas continuas) y mínima (líneas no continuas), y valores promedio mensuales de precipitación (barras).

Tabla 6. Resultados de los análisis de varianza, o de la prueba de Kruskal-Wallis, aplicados a las variables del crecimiento medidas en plántulas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, provenientes de semillas expuestas a distintos tratamientos, el crecimiento se dio en 3 meses, de julio de 2011 a septiembre de 2011, en el invernadero.

Especie	Variable	Evaluación	Estadístico
<i>Cupania glabra</i>	Altura	jul11	$F_{(3, 89)} = 12.75, P = 0.0001$
		ago11	$F_{(3, 89)} = 13.2, P = 0.0001$
		sep11	$F_{(3, 89)} = 11.41, P = 0.0001$
	DAB	jul11	$F_{(3, 89)} = 4.9, P = 0.0034$
		ago11	$F_{(3, 88)} = 0.94, P = 0.4231$
		sep11	$F_{(3, 89)} = 1.71, P = 0.1697$
	Número.de hojas	jul11	$H = 4.33844, P = 0.2271$
		ago11	$H = 25.585, P = 0.0001$
		sep11	$H = 30.3109, P = 0.0001$
	Cobertura	jul11	$H = 51.8031, P = 0.0001$
		ago11	$H = 15.4371, P = 0.0014$
		sep11	$F_{(3, 87)} = 4.58, P = 0.005$
<i>Cymbopetalum baillonii</i>	Altura	jul11	$H = 42.0775, P = 0.0001$
		ago11	$F_{(4, 139)} = 13.56, P = 0.0001$
		sep11	$F_{(4, 139)} = 12.24, P = 0.0001$
	DAB	jul11	$F_{(4, 139)} = 5.68, P = 0.0003$
		ago11	$F_{(4, 139)} = 10.01, P = 0.0001$
		sep11	$F_{(4, 139)} = 11.86, P = 0.0001$
	Número de hojas	jul11	$H = 17.3346, P = 0.0001$
		ago11	$F_{(4, 139)} = 21.05, P = 0.0001$
		sep11	$H = 21.2858, P = 0.0001$
	Cobertura	jul11	$H = 44.2368, P = 0.0001$
		ago11	$H = 46.1091, P = 0.0001$
		sep11	$F_{(4, 139)} = 14.68, P = 0.0001$

Tabla 7. Resultados de los análisis de varianza, o de la prueba de Kruskal-Wallis, aplicados a las variables del crecimiento en biomasa en invernadero, medidas en plántulas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, provenientes de semillas expuestas a distintos tratamientos, las cosechas destructivas se realizaron en junio de 2011 (evaluación 1) y agosto de 2011 (evaluación 2).

Especie	Variable	Evaluación	Estadístico
<i>Cupania glabra</i>	Biomasa seca de hojas	1	$F_{(3,16)} = 18.15, P = 0.0001$
		2	$F_{(3,16)} = 1.63, P = 0.2224$
	Biomasa seca de tallo	1	$F_{(3,16)} = 2.66, P = 0.0836$
		2	$F_{(3,16)} = 2.59, P = 0.0891$
	Biomasa seca de raíz	1	$H = 12.5383, P = 0.0057$
		2	$F_{(3,16)} = 3.98, P = 0.0270$
	Biomasa seca de plántula completa	1	$F_{(3,16)} = 11, P = 0.0004$
		2	$F_{(3,16)} = 2.69, P = 0.0815$
	Relación R:V en longitud	1	$H = 8.71429, P = 0.0333$
		2	$H = 2.09684, P = 0.5525$
	Relación R:V en biomasa	1	$F_{(3,16)} = 1.89, P = 0.1722$
		2	$F_{(3,16)} = 0.94, P = 0.4455$
<i>Cymbopetalum baillonii</i>	Biomasa seca de hojas	1	$F_{(4,20)} = 7.10, P = 0.0010$
		2	$F_{(4,20)} = 0.98, P = 0.4394$
	Biomasa seca de tallo	1	$F_{(4,20)} = 1.13, P = 0.3727$
		2	$F_{(4,20)} = 1.90, P = 0.1498$
	Biomasa seca de raíz	1	$F_{(4,20)} = 2.42, P = 0.0825$
		2	$F_{(4,20)} = 6.93, P = 0.0011$
	Biomasa seca de plántula completa	1	$F_{(4,20)} = 1.47, P = 0.2499$
		2	$F_{(4,20)} = 2.09, P = 0.1195$
	Relación R:V en longitud	1	$F_{(4,20)} = 6.27, P = 0.0019$
		2	$F_{(4,20)} = 2.14, P = 0.1138$
	Relación R:V en biomasa	1	$F_{(4,20)} = 10.45, P = 0.0001$
		2	$F_{(4,20)} = 6.24, P = 0.002$

Tabla 8. Resultados del análisis de varianza, o de la prueba de Kruskal-Wallis, aplicados a los valores de las tasas relativas de crecimiento (TRC) para las variables mencionadas, entre julio y septiembre de 2011, en invernadero, de plantas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii* expuestas a distintos tratamientos.

Espece	Variable	Estadístico
<i>Cupania glabra</i>	Altura	$F_{(3,89)} = 6.6, P < 0.05$
	DAB	$F_{(3,89)} = 1.32, P > 0.05$
	Cobertura	$H = 36.4235, P < 0.05$
<i>Cymbopetalum baillonii</i>	Altura	$F_{(3,122)} = 19.25, P < 0.05$
	DAB	$H = 4.4016, P > 0.05$
	Cobertura	$F_{(3,122)} = 5.57, P < 0.05$

Tabla 9. Resultados de los análisis de varianza, o de la prueba de Kruskal-Wallis, aplicados a las variables del crecimiento medidas en plantas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*, provenientes de semillas expuestas a distintos tratamientos, el crecimiento se dio en 12 meses, de octubre de 2011 a octubre de 2012, en el campo.

Especie	Variable	Evaluación	Estadístico
<i>Cupania glabra</i>	Altura	oct-11	$F_{(3,81)} = 7.52, P = 0.0002$
		ene-12	$F_{(3,81)} = 6.68, P = 0.0004$
		abr-12	$F_{(3,81)} = 7.46, P = 0.0002$
		oct-12	$F_{(3,81)} = 4.95, P = 0.0033$
	DAB	oct-11	$F_{(3,81)} = 1.59, P = 0.1983$
		ene-12	$F_{(3,81)} = 0.9, P = 0.4449$
		abr-12	$F_{(3,81)} = 1.9, P = 0.1366$
		oct-12	$F_{(3,81)} = 1.56, P = 0.2049$
	Núm. hojas	oct-11	$H = 6.0138, P = 0.1109$
		ene-12	$H = 0.8882, P = 0.8282$
		abr-12	$F_{(3,81)} = 0.5, P = 0.6838$
		oct-12	$F_{(3,81)} = 2.48, P = 0.0667$
Cobertura	oct-11	$F_{(3,81)} = 2.6, P = 0.0579$	
	ene-12	$F_{(3,81)} = 2.8, P = 0.0452$	
	abr-12	$F_{(3,81)} = 2.92, P = 0.0390$	
	oct-12	$F_{(3,81)} = 3.82, P = 0.0129$	
<i>Cymbopetalum baillonii</i>	Altura	oct-11	$F_{(4,110)} = 8.76, P = 0.0000$
		ene-12	$F_{(4,110)} = 3.27, P = 0.0142$
		abr-12	$F_{(4,110)} = 1.99, P = 0.1015$
		oct-12	$F_{(4,110)} = 0.71, P = 0.5861$
	DAB	oct-11	$F_{(4,110)} = 5.57, P = 0.0004$
		ene-12	$F_{(4,110)} = 7.57, P = 0.0001$
		abr-12	$F_{(4,110)} = 5.53, P = 0.0004$
		oct-12	$F_{(4,110)} = 4.16, P = 0.0036$
	Núm. hojas	oct-11	$H = 39.104, P = 0.0001$
		ene-12	$F_{(4,110)} = 3.42, P = 0.0112$
		abr-12	$F_{(4,110)} = 1.11, P = 0.3565$
		oct-12	$F_{(4,110)} = 0.62, P = 0.6467$
Cobertura	oct-11	$H = 22.3628, P = 0.0001$	
	ene-12	$H = 18.6695, P = 0.0001$	
	abr-12	$H = 11.0914, P = 0.0255$	
	oct-12	$F_{(4,110)} = 0.61, P = 0.6563$	

Tabla 10. Resultados del análisis de varianza o de la prueba de Kruskal-Wallis, aplicado a los valores de las tasas relativas de crecimiento (TRC) para las variables mencionadas, en el intervalo de tiempo entre octubre de 2011 y octubre de 2012, en el campo, de plantas de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii* expuestas a distintos tratamientos.

Especie	Variable	Evaluación	Estadístico
<i>Cupania glabra</i>	Altura	oct11-abr12	$F_{(3,81)} = 0.34, P = 0.05$
		abr12-oct12	$F_{(3,81)} = 0.43, P = 0.05$
		oct11-oct12	$F_{(3,81)} = 0.18, P = 0.05$
	DAB	oct11-abr12	$F_{(3,81)} = 2.84, P = 0.05$
		abr12-oct12	$F_{(3,81)} = 0.15, P = 0.05$
		oct11-oct12	$H = 6.71, P = 0.05$
	Cobertura	oct11-abr12	$F_{(3,81)} = 1.04, P = 0.05$
		abr12-oct12	$F_{(3,81)} = 0.95, P = 0.05$
		oct11-oct12	$F_{(3,81)} = 2.17, P = 0.05$
<i>Cymbopetalum baillonii</i>	Altura	oct11-abr12	$F_{(4,110)} = 3.84, P = 0.05$
		abr12-oct12	$F_{(4,110)} = 0.96, P = 0.05$
		oct11-oct12	$H = 16.5932, P = 0.05$
	DAB	oct11-abr12	$H = 2.3364, P = 0.05$
		abr12-oct12	$H = 3.2669, P = 0.05$
		oct11-oct12	$F_{(4,110)} = 0.52, P = 0.05$
	Cobertura	oct11-abr12	$F_{(4,110)} = 0.04, P = 0.05$
		abr12-oct12	$F_{(4,110)} = 0.96, P = 0.05$
		oct11-oct12	$F_{(4,110)} = 0.94, P = 0.05$

Tabla 12. Resultados del ANOVA de tres vías para evaluar el efecto del factor A (tratamiento en semilla), B (sitio de almacenamiento), y C (tiempo de almacenamiento) en los parámetros germinativos de *Cupania glabra* y *Cymbopetalum baillonii*.

Especie	Parámetro germinativo	Factor	F	g.l.	Interacción	F	g.l
<i>Cupania glabra</i>	% germinación	A	36.91, $P = 0.0001$	2, 107	A×B	3.01, $P = 0.0555$	2
		B	41.31, $P = 0.0001$	1	A×C	8.01, $P = 0.0001$	10
		C	193.61, $P = 0.0001$	5	B×C	237.99, $P = 0.0001$	5
					A×B×C	11.12, $P = 0.0001$	10
	Tasa germinativa	A	27.86, $P = 0.0001$	2	A×B	9.35, $P = 0.0002$	2
		B	40.53, $P = 0.0001$	1	A×C	15.39, $P = 0.0001$	10
		C	80.9, $P = 0.0001$	5	B×C	108.89, $P = 0.0001$	5
				A×B×C	11.54, $P = 0.0001$	10	
	Tiempo promedio	A	365.02, $P = 0.0001$	2	A×B	176.48, $P = 0.0001$	2
		B	2608.83, $P = 0.0001$	1	A×C	128.16, $P = 0.0001$	10
		C	2049.7, $P = 0.0001$	5	B×C	3094.89, $P = 0.0001$	5
					A×B×C	135.93, $P = 0.0001$	10
	Tiempo inicio	A	111.02, $P = 0.0001$	2	A×B	35.65, $P = 0.0001$	2
		B	348.77, $P = 0.0001$	1	A×C	21.05, $P = 0.0001$	10
		C	171.94, $P = 0.0001$	5	B×C	275.98, $P = 0.0001$	5
			A×B×C	24.76, $P = 0.0001$	10		
<i>Cymbopetalum baillonii</i>	% germinación	A	438.99, $P = 0.0001$	2, 107	A×B	26.83, $P = 0.0001$	2
		B	6.94, $P = 0.0103$	1	A×C	10.88, $P = 0.0001$	10
		C	68.66, $P = 0.0001$	5	B×C	155.75, $P = 0.0001$	5
					A×B×C	5.61, $P = 0.0001$	10
	Tasa germinativa	A	105.9, $P = 0.0001$	2	A×B	2.61, $P = 0.0806$	2
		B	0.19, $P = 0.6639$	1	A×C	5.66, $P = 0.0001$	10
		C	15.01, $P = 0.0001$	5	B×C	32.24, $P = 0.0001$	5
				A×B×C	2.1, $P = 0.0349$	10	
	Tiempo promedio	A	206.2, $P = 0.0001$	2	A×B	350.61, $P = 0.0001$	2
		B	0, $P = 0.9811$	1	A×C	72.38, $P = 0.0001$	10
		C	239.73, $P = 0.0000$	5	B×C	541.58, $P = 0.0001$	5
					A×B×C	95.85, $P = 0.0001$	10
	Tiempo inicio	A	9.6, $P = 0.0002$	2	A×B	65.25, $P = 0.0001$	2
		B	0.47, $P = 0.4968$	1	A×C	22.1, $P = 0.0001$	10
		C	43.34, $P = 0.0001$	5	B×C	77.46, $P = 0.0001$	5
			A×B×C	35.17, $P = 0.0001$	10		

Tabla 13. Parámetros germinativos para *Cupania glabra* (media \pm error estándar). Medias entre tiempos de almacenamiento dentro de cada tipo de acondicionamiento que no comparten letras iguales son significativamente diferentes (Tukey y Kruskal-Wallis, $P < 0.05$). S.G., sin germinación. Tratamientos: C1, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de la recolección; C4, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de ser tratadas con acondicionamiento hídrico; C5, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de ser tratadas con acondicionamiento natural; SA, semillas sin acondicionamiento; AH-CH_hD_{20%}, acondicionamiento seguido de deshidratación al 20%, considerando el contenido de humedad de las semillas hidratadas a saturación como el 100% de contenido de humedad; AN-Selva, acondicionamiento natural en la selva alta perennifolia.

Tipo de acondicionamiento	Sitio de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	Germinación (%)	Tasa máxima (% germ/día)	Tiempo promedio de germinación (días)	Tiempo de inicio (días)
C1			86.6 (± 3.3) a	3.652 (± 0.154) b	20.0 (± 0.4) a	3.8 (± 3.1)
SA	Ambiente	15 días	15.5 (± 2.9) d	2.231 (± 0.275) c	13.5 (± 1.5) b	6.1 (± 1.4)
		30 días	S.G.			
		45 días	S.G.			
		60 días	S.G.			
		90 días	S.G.			
	Cámara	15 días	75.5 (± 11.2) a,b	5.209 (± 0.471) a,b	14.4 (± 1.7) a,b	4 (± 0.8)
		30 días	53.3 (± 3.3) b,c	4.283 (± 0.165) a,b	13.5 (± 0.9) b	4.2 (± 0.4)
		45 días	41.1 (± 4) c,d	4.661 (± 1.349) a,b	17.6 (± 0.6) a,b	9.1 (± 2.6)
		60 días	S.G.			
		90 días	S.G.			
C4			64.4 (± 8) a	2.608 (± 0.056)	22.9 (± 1.5) c	5.7 (± 0.8) c
AH-CH _h D _{20%}	Ambiente	15 días	34.4 (± 6.1) a,b,c	2.011 (± 0.57)	42.3 (± 0.5) a	24 (± 5.4) a
		30 días	S.G.			
		45 días	S.G.			
		60 días	S.G.			
		90 días	S.G.			
	Cámara	15 días	41.1 (± 7.7) a,b	1.861 (± 0.286)	26.9 (± 2.3) b,c	9.4 (± 2.5) b,c
		30 días	11.1 (± 4.8) c,d	2.783 (± 1.072)	23.3 (± 0.4) c	16.3 (± 2.6) a,b
		45 días	31.1 (± 2.9) b,c,d	1.476 (± 0.363)	33 (± 2) a,b	18.5 (± 3.9) a,b
		60 días	8.8 (± 2.2) d	2.83 (± 0.039)	41.6 (± 0.5) a	38.5 (± 0.4) a
		90 días	S.G.			
C5			90 (± 5.7) a	8.224 (± 0.25) a	10.3 (± 0.6) b	2.1 (± 0.1) c
AN-Selva	Ambiente	15 días	83.3 (± 5) a,b	4.575 (± 0.302) c	21.3 (± 0.05) a	7 (± 0.6) a,b
		30 días	S.G.			
		45 días	4.4 (± 2.2)			
		60 días	S.G.			
		90 días	S.G.			
	Cámara	15 días	77.7 (± 10.9) a,b	6.165 (± 0.456) b	12.2 (± 1) b	3 (± 0.2) c
		30 días	57.7 (± 8.6) a,b	3.021 (± 0.322) d	20.5 (± 1.7) a	6.1 (± 1.1) b
		45 días	54.4 (± 2.9) b,c	3.104 (± 0.335) c,d	23.3 (± 0.5) a	9.2 (± 1.1) a,b
		60 días	16.6 (± 3.3) c	1.337 (± 0.077) d	24.9 (± 3.8) a	11.6 (± 1.5) a
		90 días	S.G.			

Tabla 14. Parámetros germinativos para *Cymbopetalum baillonii* (media \pm error estándar). Medias entre tiempos de almacenamiento dentro de cada tipo de acondicionamiento que no comparten letras iguales son significativamente diferentes (Tukey y Kruskal-Wallis, $P < 0.05$). S.G., sin germinación. Tratamientos: C1, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de la recolecta; C4, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de ser tratadas con acondicionamiento hídrico; C5, semillas que se pusieron a germinar inmediatamente después de ser tratadas con acondicionamiento natural; SA, semillas sin acondicionamiento; AH-CH_{bs}D_{20%}, acondicionamiento seguido de deshidratación al 20%, considerando el contenido de humedad base seca de las semillas recién recolectadas como el 100% de contenido de humedad; AN-Selva, acondicionamiento natural en la selva alta perennifolia.

Tipo de acondicionamiento	Sitio de almacenamiento	Tiempo de almacenamiento	Germinación (%)	Tasa máxima (% germ/día)	Tiempo promedio de germinación (días)	Tiempo de inicio (días)
C1			95.5 (± 1.1) a,b	3.702 (± 0.33) b,c,d	29.4 (± 1) a	8.2 (± 0.3) b,c,d
SA	Ambiente	15 días	97.7 (± 2.2) a	5.653 (± 0.753) a	16.2 (± 0.9) d	2.7 (± 0.1) e
		30 días	78.8 (± 1.1) c,d	3.09 (± 0.206) c,d	23.6 (± 1.5) b,c	5.5 (± 0.2) c,d
		45 días	72.2 (± 1.1) d,e	3.169 (± 0.213) c,d	25.2 (± 0.2) a,b,c	8 (± 0.7) b,c,d
		60 días	54.4 (± 5.8) e,f	2.288 (± 0.272) d	25.9 (± 1.5) a,b,c	7.6 (± 0.6) b,c,d
		90 días	47.7 (± 2.9) f	3.015 (± 0.335) d	26.6 (± 1) a,b	11.5 (± 1.7) a,b
	Cámara	15 días	92.2 (± 1.1) a,b,c	4.832 (± 0.298) a,b,c	20.9 (± 1)	5.9 (± 0.8) c,d
		30 días	93.3 (± 1.92) a,b,c	4.012 (± 0.126) a,b,c,d	23.6 (± 0.3) b,c	5.6 (± 0.8) d
		45 días	84.4 (± 2.2) b,c,d	5.032 (± 0.217) a,b	23.1 (± 1) b,c	9.7 (± 0.6) a,b,c
		60 días	87.7 (± 4) b,c,d	2.765 (± 0.21) d	26.9 (± 1.1) a,b	5 (± 0.5) d
		90 días	37.7 (± 4.8) f	2.874 (± 0.412) d	28 (± 0.3) a,b	16.8 (± 2.8) a
C4			57.7 (± 6.1) a	4.686 (± 0.473)	22.8 (± 0.4) b,c	13 (± 0.6) a,b
AH-CH _{bs} D _{20%}	Ambiente	15 días	15.5 (± 2.2) b,c,d	2.147 (± 0.384)	29.4 (± 1.8) a,b,c	21.1 (± 3.1) a,b
		30 días	8.8 (± 1.1) d	2.007 (± 0.713)	34.1 (± 5) a,b	25.9 (± 8.3) a,b
		45 días	1.1 (± 1.1)			
		60 días	S.G.			
		90 días	S.G.			
	Cámara	15 días	33.3 (± 10.1) a,b,c	2.001 (± 0.194)	24.1 (± 3.1) b,c	10.1 (± 1.5) b
		30 días	38.8 (± 4.8) a,b	3.915 (± 1.148)	20 (± 1.5) c	10.3 (± 1.4) b
		45 días	26.6 (± 5) b,c,d	1.854 (± 0.251)	27.3 (± 2.5) a,b,c	13.6 (± 4.9) a,b
		60 días	32.2 (± 2.2) a,b,c	2.936 (± 0.501)	26.9 (± 1.3) a,b,c	17.1 (± 1.3) a,b
		90 días	14.4 (± 2.9) c,d	1.856 (± 0.522)	42.7 (± 7.1) a	33.5 (± 7.7) a
C5			91.1 (± 4.4) a	5.606 (± 1.099)	17.7 (± 5.8)	4.5 (± 1.8) b,c
AN-Selva	Ambiente	15 días	94.4 (± 1.1) a	5.106 (± 0.327)	17.4 (± 0.22)	3.6 (± 0.2) c
		30 días	50 (± 8.3) b	5.366 (± 0.795)	18.2 (± 0.6)	10.5 (± 1.5) a,b
		45 días	73.3 (± 1.9) a,b	4.727 (± 0.803)	19 (± 0.4)	6.9 (± 1.3) b,c
		60 días	65.5 (± 7.2) a,b	4.256 (± 0.323)	15.8 (± 0.4)	4.8 (± 0.6) b,c
		90 días	7.7 (± 2.2) c	4.264 (± 0.512)	24.2 (± 1.8)	21.9 (± 1.8) a
	Cámara	15 días	93.3 (± 3.84) a	7.038 (± 0.417)	13.5 (± 0.6)	3.1 (± 0.1) c
		30 días	94.4 (± 4) a	5.816 (± 0.313)	15.7 (± 1.6)	3 (± 0.1) c
		45 días	85.5 (± 4.8) a,b	5.538 (± 1.236)	18.6 (± 3.9)	6.7 (± 2.1) b,c
		60 días	91.1 (± 4.8) a	4.861 (± 0.381)	19.5 (± 0.3)	4.8 (± 0.4) b,c
		90 días	74.4 (± 8.8) a,b	5.085 (± 0.516)	17.7 (± 0.3)	6.2 (± 1.4) b,c