



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

Germinación y uso de reservas en semillas  
de especies arbóreas de la Selva Baja  
Caducifolia

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**DOCTORA EN CIENCIAS**

P R E S E N T A

DIANA SORIANO FERNÁNDEZ

DIRECTORA DE TESIS

DRA. ALMA DELFINA LUCIA OROZCO SEGOVIA

COMITÉ TUTORAL:

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN

DRA. ALICIA GAMBOA DE BUEN

MÉXICO D. F.

SEPTIEMBRE, 2012



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

Germinación y uso de reservas en semillas  
de especies arbóreas de la Selva Baja  
Caducifolia

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**DOCTORA EN CIENCIAS**

P R E S E N T A

DIANA SORIANO FERNÁNDEZ

DIRECTORA DE TESIS

DRA. ALMA DELFINA LUCIA OROZCO SEGOVIA

COMITÉ TUTOR:

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN

DRA. ALICIA GAMBOA DE BUEN

MÉXICO D. F.

SEPTIEMBRE, 2012



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

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 4 de Junio de 2012, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la alumna **SORIANO FERNÁNDEZ DIANA** con número de cuenta **506011412** con la tesis titulada: "**Germinación y uso de reservas en semillas de especies arbóreas de la Selva Baja Caducifolia**", realizada bajo la dirección de la **DRA. ALMA DELFINA LUCIA OROZCO SEGOVIA**:

Presidente:	DRA. MARÍA DEL ROCÍO CRUZ ORTEGA
Vocal:	DR. EFRAÍN TOVAR SÁNCHEZ
Secretario:	DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
Suplente:	DR. HORACIO ARMANDO PAZ HERNÁNDEZ
Suplente	DR. JOSÉ ALEJANDRO ZAVALA HURTADO

De acuerdo con lo anterior, la alumna se acogió a la nueva normatividad, con base en el Artículo **QUINTO TRANSITORIO** en apego a lo establecido en el Artículo 31 del Reglamento General de Estudios de Posgrado (29 septiembre de 2006).

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

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**  
Cd. Universitaria, D.F. a 15 de agosto de 2012.

**Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga**  
**Coordinadora del Programa**

c.c.p. Expediente de la interesada.

## **Agradecimientos Institucionales**

Al **Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México** le agradezco la oportunidad que me brindó para cursar mis estudios de Doctorado.

Gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, **CONACYT**, por haber otorgado la beca para estudios de doctorado (Beca No. 187210).

Este proyecto también estuvo apoyado por el proyecto PAPIIT 222508, CONACYT 47859-Q, 139658 y SNI Exp: 2706 7709.

Gracias al **Instituto de Ecología** de la UNAM y a la **Estación de Biología Chamela** del Instituto de Biología de la UNAM por todas las facilidades técnicas y logísticas para la realización de este trabajo

Gracias a la **Dra. Alma Delfina Lucia Orozco Segovia** mi tutora principal, a la **Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán** y a la **Dra. Alicia Gamboa de Buen** que formaron parte de mi comité tutorial. Gracias a sus acertados comentarios, su crítica profunda y siempre constructiva este trabajo llegó a un feliz término. La **Dra. Pilar Huante Pérez** fue fundamental para el planteamiento y desarrollo de este proyecto.

Gracias a la **Dra. María del Rocío Cruz Ortega**, la **Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán**, al **Dr. Horacio Armando Paz Hernández**, al **Dr. José Alejandro Zavala Hurtado** y al **Dr. Efraín Tovar Sánchez** por su minuciosa revisión de la tesis; gracias a lo cual el manuscrito pudo ser mejorado sustancialmente.

## **Agradecimientos Personales**

A la M.C. Ma. Esther Sánchez Coronado, por su apoyo técnico en las distintas etapas de este trabajo

A la Biol. Irma Acosta Calixto, M. C. Ricardo Wong, M.C. Ma. Lourdes López Curto y Q. Julieta Sandoval Guillén por su apoyo técnico en las distintas etapas de este trabajo.

Agradezco a Alejandro González Ponce, Erick Daniel Valle Vidal y a la M. Rocio Graniel por su asistencia técnica a lo largo de todo el Doctorado.

Al personal del laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias-UNAM por su ayuda para tomar y elegir las fotografías de los cortes histológicos utilizados en este trabajo.

A Patricia Martínez, que siempre atendió mis trámites de posgrado con eficiencia y amabilidad.

Al Sr. Gustavo Verduzco por su apoyo técnico durante la etapa experimental de esta tesis; en la colecta y el procesamiento de las semillas.

Karen Suárez, Itzel Sánchez y Jorge Blanco fueron de gran ayuda en el trabajo de campo y laboratorio.

**Dra. Pilar Huante**, tu visión está plasmada en la planeación de este proyecto. Gracias por haber sido mi guía al principio de este camino.



**Dra. Alma Orozco.** Gracias por su voluntad para enseñar y compartir su inmenso conocimiento de la fisiología vegetal. Agradezco su generosidad al permitir integrarme al laboratorio de Ecología Fisiológica. Gracias por su tiempo, entrega y compromiso para que ese primer artículo al fin fuera publicado. Gracias por su guía, auxilio, cariño y comprensión en los momentos más difíciles de mi doctorado. Gracias por su apoyo y confianza para que yo pudiera continuar y terminar el Doctorado y por su interés en mi futuro profesional. Siempre diré con orgullo que soy su alumna.

**Dra. Alicia Gamboa.** Gracias por integrarse a esta aventura con tan buena disposición y ánimo. Gracias por su asertividad como mentor, siempre encontrando lo que el cansancio o la conveniencia impiden ver. Por su guía en el laboratorio, por permitirme asomarme al mundo de la bioquímica y la biología molecular con su grupo de investigación. Y por sus amenas charlas de las que siempre se obtiene una sonrisa y una lección para la vida.

**Dra. Judith Márquez.** Gracias por compartir su vasto conocimiento, por su calidad humana, por su infatigable y contagiosa sonrisa. Siempre le estaré agradecida por su solidaridad y cariño en los momentos más difíciles del doctorado. Cuando tenga la suerte de impartir clase prometo tener su entrega y quisiera tener un poquito de su carisma.

Estas mujeres con su generosidad para compartir sus conocimientos, su profundo compromiso con la ciencia, la UNAM y sus alumnos han marcado profundamente mi vida. MUCHAS GRACIAS!!!!

**Gustavo Verduzco**, tu trabajo, compañía, guía y amistad fueron ejes de esta tesis. Gracias por compartir tu conocimiento de la selva de Chamela, por enseñarme y guiarme por la selva. Gracias por indicarme cuando estaba a punto de pisar una serpiente o evitar que tocara una planta urticante☺. Siempre te estaré agradecida y espero volver a trabajar contigo.

**Sra. Eva y Sra. Elena**, muchísimas gracias por su trato amable, su cariño y cuidado para con todos los que alguna vez hemos disfrutado de Chamela. Sus riquísimas comidas y postres fueron parte fundamental de mi trabajo en campo.

**Norma, Nachita, Sra. Lucy, Sra. Paz, Delia, Sr. Vidrio, Juan Manuel, Abel y todo el personal de la Estación de Biología Chamela**, por su trabajo continuo y dedicado que me permitió desarrollar mi trabajo en campo con todas las comodidades posibles.

**Esther, Pedro, Sandra, Karito, Sarai, Ma. Esther y Laura**, que desde el primer momento en el laboratorio me hicieron sentir como en casa.

**Ale Rosete, Ángel Gabriel, Jorge Martínez y Alexis**, su agradable e inteligente charla siempre enriqueció este trabajo e hizo más ameno el tiempo en el lab.

**Ivonne Reyes**, gracias por tu amistad y tu apoyo, y por haberme invitado al mundo de la estadística.

...y al resto de los chicos con los que compartí el laboratorio, que van y vienen dándole vida al Laboratorio de Ecología Fisiológica.

## **Dedicatorias**

Prof. André Bouchard *in memoriam* et Prof. Jean-Pierre Simon. Votre passion et votre amour pour la science, les plantes et l'enseignement ont été déterminants pour définir ma vocation et étudier la Eco - Physiologie Végétale.

Para mis papás *Isabel* y *Celestino*, que siempre me recalcaron que por encima de todo se estudia por el gusto de saber más, de comprender el cómo y el por qué de las cosas. Mis padres siempre apoyaron esta aventura, ya sea acompañándome en algún congreso, viajando para acompañarme en los fines de semana, construyendo artilugios que me permitieran obtener los embriones de las semillas o cuidando a mis gatos ☺. Ellos celebraron cada pequeño avance y escucharon pacientes cuando alguna especie se portaba mal ☺. MUCHAS GRACIAS ¡!!!

Para Rodrigo, Moni y mis pequeñuelos Azrael y Estefanía.

Para Ian Francisco, su compañía y sus pláticas llenas de comentarios agudos e incisivos hicieron más fácil el final del doctorado.

Para mi querido Gonzalo, gracias por ser mi compañero, mi consuelo y mi puerto en calma.

Para mi tía Julia, mi tío Plutarco y mi tía Hortensia, gracias por haber estado ahí.

Abuela Paulina, un día no muy lejano pondré a Lunatitlán en el mapa de la ciencia.

Mely, por las noches de “juerga” y la amistad incondicional.

## ÍNDICE

<b>Resumen</b> .....	1
<b>Abstract</b> .....	3
<b>Capítulo I.</b> Introducción general.....	5
<b>Capítulo II.</b> Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth .....	15
<b>Capítulo III.</b> Burial and laboratory storage effects on the germination and seed reserve composition of 18 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico .....	29
<b>Capítulo IV.</b> Uso de reservas de semillas durante la germinación y el crecimiento temprano de plántulas de ocho especies arbóreas de la selva baja caducifolia .....	68
<b>Capítulo V.</b> Discusión general y Conclusiones.....	112

## **RESUMEN**

La diversidad funcional puede reflejar la estrategia ecológica y evolutiva de una especie así como la variación temporal en la disponibilidad de recursos, además es fundamental para la coexistencia de las especies. En este trabajo se exploró la diversidad funcional de las semillas de 19 especies arbóreas de la selva baja caducifolia de Chamela, Jalisco en México. En el capítulo I se presenta la introducción de la tesis, del capítulo II al IV los resultados del estudio de las reservas almacenadas en las semillas, su composición y los cambios en la germinación y la composición de reservas (carbohidratos, lípidos y nitrógeno total) desde su dispersión hasta la germinación y el crecimiento temprano de las plántulas. Finalmente en el capítulo V se presentan las conclusiones generales del trabajo.

En la primera parte de la investigación se caracterizó la composición de las reservas en las semillas de las especies estudiadas, producidas después de dos años con precipitación contrastante. Se estudió la relación entre las reservas de las semillas, la inversión en la protección proporcionada por la cubierta seminal y la germinación. Después del año más seco las semillas, de la mayoría de las especies, tuvieron una concentración de N más alta que después del año con la mayor precipitación. El contenido de N estuvo relacionado positiva y significativamente con la inversión en la cubierta seminal. La tasa de germinación y el tiempo de inicio de la germinación estuvieron negativamente correlacionados. Estas correlaciones también fueron significativas en un análisis de contrastes filogenéticamente independientes. Se encontró una asociación positiva entre la tasa de germinación con la concentración de N y de lípidos. La composición de reservas pudo ser ordenada a lo largo de un continuo.

En el capítulo III se presentan los resultados y el análisis de la germinación (en cámaras de ambiente controlado) de 18 especies arbóreas de la Selva Baja Caducifolia de Chamela, Jalisco. Se obtuvo la germinación al momento de la dispersión, la germinación después de que las semillas permanecieron almacenadas en el laboratorio y después de que las semillas

estuvieron enterradas en el campo. También se registró la germinación en el campo, durante la temporada de lluvia, después de que las semillas permanecieron enterradas. Las reservas fueron cuantificadas en las semillas colectadas al momento de la dispersión y después de estar enterradas en el campo y almacenadas en el laboratorio. Once especies fueron viables después de dos temporadas enterradas en el campo. Dieciséis especies tuvieron semillas viables después de tres temporadas almacenadas en el laboratorio. La germinación de las semillas fue más lenta en el campo que cuando se colocaron en las cámaras de ambiente controlado. Cinco especies tuvieron una germinación intermitente en el campo. La concentración de N de las semillas, fue la reserva que tuvo la mayor variación después de haber estado enterradas en el suelo. La concentración de lípidos tuvo una relación significativa y negativa con el contenido de agua de las semillas al momento de la dispersión y después de una temporada de enterramiento. Al menos 11 especies de las 18 estudiadas tienen potencial para permanecer en un banco de semillas, la mayoría estas tienen cubierta seminal impermeable.

En el capítulo IV se describió el crecimiento, en términos de biomasa, de las plántulas de ocho especies arbóreas de la selva baja caducifolia, la movilización de las reservas y se midió la tasa de transporte de electrones de los cotiledones y de las primeras hojas. La biomasa de los cotiledones tuvo una relación negativa con el aumento de biomasa de las plántulas y en seis de las ocho especies estudiadas se favoreció la asignación de biomasa a las primeras hojas. En siete de las ocho especies estudiadas los lípidos fueron la reserva que se agotó primero antes de que las primeras hojas estuvieran expandidas. Las especies que tuvieron porcentajes más altos de N tuvieron hojas expandidas y escindieron sus cotiledones más rápido que las especies con los menores porcentajes de N.

## **ABSTRACT**

Functional diversity reflects the ecological and evolutive strategies of a species, it could be a sign of the temporal variation in the availability of resources and it is fundamental to species coexistence. I explored the functional diversity of seed of 19 three species of the tropical dry forest of Chamela, Jalisco in the northwest of México. In chapter 1, I explore the state of art of seed reserves studies and their interaction with the environment, from chapter II to chapter IV, I explored the composition of the reserves (lipids, N and non-structural carbohydrates) and their role since dispersion until germination and early seedling growth. Finally, in chapter V, I showed the general conclusions of this work.

In the first part of this research I characterized the seed reserves product of two years with contrasting precipitation. I analyzed the relationship between seed reserves, the inversion of seed protection and germination. After the driest year seeds, of most of the studied species, had a higher concentration than after the year with higher precipitation. N was related positively with the biomass allocated to seed coat. At dispersal, germination rate and the lag time were negatively correlated. These correlations were also significant using a phylogenetic independent contrast. Additionally, a positive association between the germination rate with the N and lipid concentration was shown.

In Chapter III I show the results of germination tests (in growth chambers) of 18 species at dispersal time and after they have been stored in laboratory conditions for one and three dry seasons and after seeds have been buried for one and two dry seasons. Additionally it was registered germination in the field of seeds that were buried one and two dry seasons in the soil of the tropical dry forest. Lipids, I quantified seed reserves at dispersal time and after seeds have been buried in field and stored in laboratory for one dry season. The results showed that 11 species were viable after two dry seasons, buried in the field (approximately



two years buried in field). Sixteen species had viable seeds after being stored in the laboratory for three seasons (approximately three years).

Field germination was slower than germination in growth chambers. Five species had a staggered germination in the field. N was the reserve with a greater variation after being buried for one dry season. The lipids concentration had a negative and significant relationship with the water content of seed at dispersal and after one dry season buried whereas, non-structural carbohydrates had the opposite response. Our results suggest that after dispersal, seed remain in the soil for variable periods after the dispersal. At least 11 of the 18 studied species had the potential to form a seed bank.

In Chapter IV, I show the results of seed reserves role during primary seedling growth. I registered the seed reserves mobilization and the electron transport rate of eight tree species in the tropical dry forest. The results showed that the cotyledon biomass had a negative relationship with the seedling biomass. In six of the eight studied species the allocation of biomass to the first leaves was favored. The time that cotyledons remained attached to the seedlings was not related with the type of cotyledons (foliaceous or reserve). In seven of the eight studied species, lipids were the reserve that was exhausted first, before the first leaves were expanded. The species with greater N percentage expanded their leaves and split their cotyledons faster than the species with the lower percentage of N. The tendency to favored biomass allocation to leaves could be related to the early germination and the exploitation of available radiation at the beginning of rainy season. Functional diversity that is reflected in the seed reserves of the studied species is fundamental to understand the species coexistence in a seasonal ecosystem as is the tropical dry forest of Chamela, Jalisco in Mexico.

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN GENERAL**

La diversidad funcional de las especies vegetales está determinada por las interacciones entre la carga genética de los organismos y su ambiente a lo largo de su ontogenia y es fundamental para permitir la coexistencia de distintas especies (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado 2009). Conocer la diversidad funcional que se presenta en las semillas resulta imprescindible para entender la dinámica de una comunidad vegetal (Bewly y Black 1994).

Distintos factores abióticos y bióticos (humedad, temperatura, concentración de oxígeno y CO<sub>2</sub>, radiación, patógenos, herbívoros) están presentes durante el desarrollo, la dispersión y la germinación de las semillas (Rajjou y Debeaujon 2008). Estos factores intervienen en la diversidad funcional (inter e intra-especies) de las semillas que se expresa en la variación de la biomasa, las variables de germinación o en la composición de las reservas almacenadas (Kitajima y Fenner 2000, Figueroa y Jaksic 2004).

Las reservas almacenadas en las semillas tienen un papel clave durante la germinación en las primeras etapas del desarrollo de la plántula, ya que el embrión depende exclusivamente de estos recursos hasta que el nuevo individuo se vuelve autótrofo (Fenner 1983, Kitajima 2002, Hanley *et al.* 2004, Kitajima y Myers 2008). Los carbohidratos, los lípidos y los compuestos nitrogenados (proteínas y amino ácidos) son las principales sustancias de almacén y cada una tiene un aporte diferente durante la germinación y el crecimiento temprano de las plántulas (Shewry y Halford 2002, Shutov *et al.* 2003). La composición de las reservas en las semillas puede variar entre especies y ha sido relacionada con la longevidad, el potencial de almacenamiento, la depredación de las semillas y la velocidad de crecimiento de las plántulas (Ichi *et al.* 2001, Hoshizaki y Miguchi 2005, Rajjou y Debeaujon 2008).

La composición de las reservas de las semillas al momento de la dispersión refleja los recursos invertidos por la planta madre, mismos que pueden variar de acuerdo a las condiciones ambientales y a los recursos disponibles durante su desarrollo (Gutterman 1980,

Drenovsky y Richards 2005). Después de la dispersión, las semillas pueden permanecer en el suelo por periodos variables de tiempo y durante este lapso pueden estar expuestas a fluctuaciones en el microclima que las rodea (Chambers y MacMahon 1994), lo que puede modificar la latencia, la germinación, la composición de las reservas, además de la viabilidad de las semillas (Venable 1989, Kitajima y Fenner 2000, Gamboa de Buen *et al.* 2006).

Durante la germinación se inicia la movilización de las reservas (Nonogaky *et al.* 2010), la cual requiere de la activación y de la síntesis de proteínas para llevar a cabo la hidrólisis de las reservas almacenadas y la liberación de compuestos de menor peso molecular para ser utilizados durante el crecimiento inicial de la plántula (Shutov *et al.* 2003). El tamaño de los agregados de las reservas y el tejido en donde están almacenadas (endospermo, perispermo o embrión), la disponibilidad de agua, y otros factores del micro-ambiente alrededor de la semilla están relacionados con el inicio y la tasa de movilización de las reservas (Silva *et al.* 1998, Tonini *et al.* 2007).

El periodo entre la germinación y el establecimiento de un individuo independiente es uno de los momentos más vulnerables en la vida de una planta, ya que la plántula no tiene la protección que tiene una semilla y aún no adquiere la tolerancia a condiciones de estrés de un adulto, dando como resultado una alta mortalidad en ésta etapa (Kitajima y Fenner 2000, Kennedy *et al.* 2004). La tasa de movilización, la eficiencia en la translocación de nutrimentos y el tiempo que las plántulas dependan de las reservas están directamente involucrados con la supervivencia y el establecimiento de los nuevos individuos (Asch *et al.* 1999, Kennedy *et al.* 2004).

El estudio de los procesos que se desarrollan desde la dispersión de las semillas hasta el establecimiento de las plántulas es importante para entender la diversidad funcional de los ecosistemas. Este estudio tiene particular importancia en aquellos ecosistemas amenazados por la deforestación y para los cuales desarrollar estrategias de conservación es prioritario

(Quesada *et al.* 2009). Las selvas bajas caducifolias (Miranda y Hernández-X 1963) están entre los ecosistemas tropicales más amenazados por el avance de la frontera agrícola (Sánchez-Azofeifa y Portillo-Quintero 2011). Las selvas secas y subcaducifolias cubren una superficie total de 317 800 km<sup>2</sup>, el 2.4% de la superficie de la tierra (Bezauri 2010). El 8.8% de la superficie de América Latina y el Caribe corresponde a estas selvas y actualmente sólo subsiste el 1.7% del área original en fragmentos aislados y es considerado uno de los ecosistemas más amenazados en el mundo (Griscom y Ashton 2011). En México su conservación se ha definido como prioritaria por la acelerada pérdida de cubierta forestal (1.4 % anual, Trejo y Dirzo 2000), los esfuerzos de conservación incluyen la preservación de la diversidad genética, el entendimiento de los factores que influyen en la viabilidad y la regeneración mediante semillas como elementos fundamentales en el establecimiento de una comunidad vegetal (Dirzo y Ceballos 2010, Griscom y Ashton 2011).

La selva baja caducifolia (SBC) se caracteriza por un patrón estacional de lluvias, una temperatura media anual mayor a 22 °C y un intervalo de precipitación anual de 600 a 1800 mm. La SBC tiene como característica principal un periodo de sequía que va de 2 a 8 meses durante el que se presenta menos del 10% de la precipitación anual (Khurana y Singh 2001). La SBC de Chamela, Jalisco se localiza a 2 km de la costa del Pacífico mexicano en el estado de Jalisco, al noroeste de México. Tiene como principal característica una marcada estacionalidad, con una temporada de lluvia que va de julio a octubre, periodo en el cual recibe más del 80% de la precipitación anual. La vegetación tiene un dosel de 4-15 m y consiste principalmente de SBC y selva mediana subperennifolia a subcaducifolia. Esta última sólo se desarrolla a lo largo de los arroyos principales y en lugares protegidos sobre suelos profundos (Lott 2002). La composición florística de ésta selva se ha estimado en 1149 especies, pertenecientes a 572 géneros y 125 familias, es la SBC con mayor diversidad en América (Gentry 1995, Lott 2002). La dispersión de semillas en la SBC se lleva a cabo

durante la temporada seca. Después de la dispersión, las semillas pueden ser depredadas o permanecer en el suelo hasta la siguiente temporada de lluvia (Bullock y Solis-Magallanes 1990). En el suelo, el microclima que rodea a las semillas puede romper la latencia y modificar las variables de germinación o la composición de las reservas almacenadas (Vozzo y Young 1975, González-Zertuche *et al.* 2001, Gamboa de Buen *et al.* 2006).

En este trabajo se presenta un estudio sobre la diversidad funcional de las semillas de 19 especies arbóreas de la SBC de Chamela, Jalisco. En la primera parte de esta investigación (Capítulo II) muestra la evaluación de la concentración de carbohidratos no estructurales (CNE), lípidos y N en las 19 especies estudiadas. También se describen los resultados del efecto de la precipitación sobre la composición de las reservas de las semillas; y se analiza si existen diferencias en la localización de las reservas dentro de las semillas en función de la reserva dominante (CNE, lípidos o N); si existe una relación entre las concentraciones de CNE, lípidos y N con la biomasa asignada a la cubierta seminal y si el tiempo de inicio de la germinación y la tasa de germinación están relacionados con la composición de las reservas. En el capítulo III, se presentan los resultados del enterramiento y el almacenamiento (en laboratorio) de las semillas, sobre la germinación y las reservas. Además se analizan las diferencias entre la germinación en el campo con la obtenida en cámaras de ambiente controlado (25 °C, 12/12 luz/oscuridad). En el capítulo IV describe el uso de las reservas a partir de la germinación en especies con cotiledones fotosintéticos y de reserva; la relación entre la biomasa de las plántulas y el uso de las reservas (CNE, lípidos y N) y la tasa relativa de crecimiento de las especies estudiadas.

Con este trabajo se buscó identificar grupos funcionales y contribuir a entender la participación de las semillas de las distintas especies en la dinámica de un ecosistema altamente diverso como lo es la SBC en Chamela, Jalisco, México. La caracterización de las reservas de las semillas de las especies estudiadas y su relación con la ecología-fisiológica de

las plántulas y con el ambiente en el que se encuentran, permitirá tener un mejor conocimiento de la co-existencia de las especies en la SBC.

## LITERATURA CITADA

**Asch F, Sow A, Dingkuhn M. 1999.** Reserve mobilization, dry matter and specific leaf in seedlings of African rice cultivars differing in early vigor. *Field Crops Research* 62: 191–202.

**Bewly JD, Black M. 1994.** Seeds, physiology of development and germination. Plenum Press, New York.

**Bezaury CJ. 2010.** Las selvas secas del Pacífico mexicano en el contexto mundial. En: Ceballos G, Marínez L, García A, Espinoza E, Bezaury CJ, Dirzo R. eds. Diversidad, amenazas y áreas prioritarias para la conservación de las selvas secas del Pacífico de México. Fondo de Cultura Económica. México. p. 21–40.

**Bullock SH, Solis-Magallanes JA. 1990.** Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest. *Biotropica* 22: 22–35.

**Chambers JC, MacMahon JA. 1994.** A day in the life of a seed: movements and fates of seeds and their implications for natural and managed systems. *Annual Review Ecology and Systematics* 25: 263-292.

**Dirzo R, Ceballos G. 2010.** Las selvas secas de México: un reservorio de biodiversidad y laboratorio viviente. En: Ceballos G, Marínez L, García A, Espinoza E, Bezaury CJ, Dirzo R. eds. Diversidad, amenazas y áreas prioritarias para la conservación de las selvas secas del Pacífico de México. Fondo de Cultura Económica. México. p. 13–20.

**Drenovsky RE, Richards JH. 2005.** Nitrogen addition increases fecundity in the desert shrub, *Sarcobatus vermiculatus*. *Oecologia* 143: 349–356.

- Fenner M. 1983.** Relationships between seed weight, ash content and seedling growth in twenty-four species of Compositae. *New Phytologist* 95: 697–706.
- Figueroa JA, Jaksic FM. 2004.** Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. *Revista chilena de historia natural* 7: 201–215.
- Gamboa-de Buen A, Cruz-Ortega R, Martínez-Barajas, E., Sánchez-Coronado ME, Orozco-Segovia A. 2006.** Natural priming as an important metabolic event in the life history of *Wigandia urens* (Hydrophyllaceae) seeds. *Physiologia Plantarum* 128, 520–530.
- Gentry AH. 1995.** Diversity and floristic composition of neotropical dry forests. En *Seasonally dry tropical forests*. Bullock SH, Mooney HA, Medina E. eds. Cambridge University Press, Cambridge. UK. p.146–190.
- González-Zertuche L, Vázquez-Yanes C, Gamboa A, Sánchez-Coronado ME, Aguilera P, Orozco-Segovia A. 2001.** Natural priming of *Wigandia urens* seeds during burial: effects on germination, growth and protein expression. *Seed Science Research* 11: 27–34.
- Griscom HP, Ashton MS. 2011.** Restoration of dry tropical forest in Central America: A review of pattern and process. *Forest Ecology and Management* 26: 1564-1579.
- Gutterman Y. 1980.** Influences on seed germinability: phenotypic maternal effects during seed maturation. *Israel Journal of Botany* 29: 105–117.
- Hanley ME, Fenner M, Whibley H, Darvil B. 2004.** Early plant growth: identifying the end point of the seedling phase. *New Phytologist* 163: 61–66.
- Hoshizaki K, Miguchi H. 2005.** Influence of forest composition on tree seed predation and rodent response: a comparison of monodominant and mixed temperate forest in Japan. En *Forget PM, Lambert JE, Hulme PE, Van der Wall SB. eds. Seed fate. Predation, dispersal and seedling establishment*. CABI Publishing, Wallingford. U.K. p. 253–267.



- Ichie T, Ninomiya I, Ogino K. 2001.** Utilization of seed reserves during germination and early seedling growth by *Dryobalanops lanceolata* (Dipterocarpaceae). *Journal of Tropical Ecology* 17: 371–378.
- Kennedy PG, Hausmann NJ, Wenk EH, Dawson TE. 2004.** The importance of seed reserves for seedling performance: An integrated approach using morphological, physiological, and stable isotope techniques. *Oecologia* 141: 547–554.
- Khurana E, Singh JS. 2001.** Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: A review. *Environmental Conservation* 28: 39–52.
- Kitajima K. 2002.** Do shade-tolerant tropical tree seedlings depend longer on seed reserves? Functional growth analysis of three Bignoniaceae species. *Functional Ecology* 16: 433–444.
- Kitajima K, Fenner M. 2000.** Seedling regeneration ecology. En: Fenner, M, ed. *Seeds: Ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford, UK. p. 331-360.
- Kitajima K, Myers JA. 2008.** Seedling ecophysiology; strategies toward achievement of positive net carbon balance. En: Leck MA, Parker TV, Simpson RL, eds. *Seedling ecology and evolution*. Cambridge University Press. Cambridge. UK. p.172–188.
- Lott EJ. 2002.** Lista anotada de las plantas vasculares de Chamela-Cuixmala. En: Noguera FA, Vega-Rivera AN, García A, Quesada-Avendaño M, eds. *Historia natural de Chamela*. México. Instituto de Biología-UNAM. México. p. 99–136.
- Miranda F, Hernández-X E. 1963.** Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 23: 29–47.
- Nonogaki H, Bassel GW, Bewley JD. 2010.** Germination – still a mystery. *Plant Science* 179: 574–581.
- Orozco-Segovia A, Sánchez-Coronado ME. 2009.** Functional diversity in seeds and its implications for ecosystem functionality and restoration ecology. En: Gamboa-de Buen A,

Orozco-Segovia A, Cruz-Garcia F, eds. *Functional diversity of plant reproduction*. Kerala: Research Signpost. p.195–236.

**Quesada M, Sanchez-Azofeifa GA, Alvarez-Añorve M, Stoner K, Avila-Cabadilla L, Calvo-Alvarado J, Castillo A, Espírito-Santo MM, Fagundes M, Fernandes GW, Gamonb J, Lopezaraiza-Mikel M, Lawrence D, Cerdeira LD, Powers JS, Neves FdS, Rosas-Guerrero V, Sayago R, Sanchez-Montoya G. 2009.** Succession and management of tropical dry forests in the Americas: Review and new perspectives. *Forest Ecology and Management* 258: 1014–1024.

**Rajjou L, Debeaujon I. 2008.** Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. *Compte Rendues Biologiques* 331: 796–805.

**Sánchez-Azofeifa GA, Portillo-Quintero C. 2011.** Extent and drivers of change of neotropical seasonally dry tropical forests. En Dirzo R. et al. eds. *Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation*. Island Press. Washington DC. USA. p. 45–57.

**Shewry PR, Halford NG. 2002.** Cereal seed storage proteins: Structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany* 53: 947–958.

**Shutov AD, Baumlein H, Blattner FR, Muntz K. 2003.** Storage and mobilization as antagonistic functional constraints on seed storage globulin evolution. *Journal of Experimental Botany* 54: 1645–1654.

**Silva TRG, Cortelazzo AL, Machado CDA. 1998.** Variations in storage compounds during germination and early plantlet growth of *Dalbergia miscolobium*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 10: 119–124.

**Tonini PP, Lisboa CGS, Silva CO, Mazzoni-Viveiros SC, Buckeridge MS. 2007.** Testa is involved in the control of storage mobilization in seeds of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers., a tropical legume tree from of the Atlantic Forest. *Trees Structure and Function* 21: 13–21.

**Trejo I, Dirzo R. 2000.** Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation* 94: 133–142.

**Venable DL. 1989.** Modeling the evolutionary ecology of seed banks. En: Leck MA, Parker VT, Simpson RL, eds. The ecology of soil seed banks. Academic Press, San Diego. USA. p. 67–87.

**Vozzo JA, Young RW. 1975.** Carbohydrate, lipid, and protein distribution in dormant, stratified, and germinated *Quercus nigra* embryos. *Botanical Gazette* 136: 306–311.

**Walters C, Wheeler LM, Grotenhuis JM. 2005.** Longevity of seeds stored in a genebank: species characteristics. *Seed Science Research* 15: 1–20.

## **Capítulo II**

### **Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth**

Diana Soriano, Alma Orozco-Segovia, Judith Márquez-Guzmán, Kaoru Kitajima, Alicia Gamboa-de Buen y Pilar Huante

*Annals of Botany* 107: 939–951.

## Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth

Diana Soriano<sup>1</sup>, Alma Orozco-Segovia<sup>1</sup>, Judith Márquez-Guzmán<sup>2</sup>, Kaoru Kitajima<sup>3</sup>, Alicia Gamboa-de Buen<sup>1</sup> and Pilar Huante<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-275, Ciudad Universitaria, 04510 México, DF México, <sup>2</sup>Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 México, DF México and <sup>3</sup>Department of Biology, University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA  
\* For correspondence. E-mail [phuante@cableonline.com.mx](mailto:phuante@cableonline.com.mx)

Received: 9 November 2010 Returned for revision: 20 December 2010 Accepted: 21 January 2011 Published electronically: 7 March 2011

- **Background and Aims** The size and composition of seed reserves may reflect the ecological strategy and evolutionary history of a species and also temporal variation in resource availability. The seed mass and composition of seed reserves of 19 co-existing tree species were studied, and we examined how they varied among species in relation to germination and seedling growth rates, as well as between two years with contrasting precipitation (652 and 384 mm).
- **Methods** Seeds were collected from a tropical deciduous forest in the northwest of Mexico (Chamela Biological Station). The seed dry mass, with and without the seed coat, and the concentrations of lipids, nitrogen and non-structural carbohydrates for the seed minus seed coat were determined. The anatomical localization of these reserves was examined using histochemical analysis. The germination capacity, rate and lag time were determined. The correlations among these variables, and their relationship to previously reported seedling relative growth rates, were evaluated with and without phylogenetic consideration.
- **Key Results** There were interannual differences in seed mass and reserve composition. Seed was significantly heavier after the drier year in five species. Nitrogen concentration was positively correlated with seed coat fraction, and was significantly higher after the drier year in 12 species. The rate and lag time of germination were negatively correlated with each other. These trait correlations were also supported for phylogenetic independent contrasts. Principal component analysis supported these correlations, and indicated a negative association of seedling relative growth rate with seed size, and a positive association of germination rate with nitrogen and lipid concentrations.
- **Conclusions** Nitrogen concentration tended to be higher after the drier year and, while interannual variations in seed size and reserve composition were not sufficient to affect interspecific correlations among seed and seedling traits, some of the reserves were related to germination variables and seedling relative growth rate.

**Key words:** Germination, seed reserves, seedling growth, tropical deciduous forest.

### INTRODUCTION

The size and composition of seed reserves are expected to vary among species in relation to their ecological strategies for seed dispersal and seedling establishment (Fenner and Thompson, 2006). Seed reserves may also play a role in the seed's permanence in soil banks and its susceptibility to predation (Hoshizaki and Miguchi, 2005; Rajjou and Debeaujon, 2008). Young seedlings depend on the availability of stored reserves in seeds, such as carbohydrate, lipids, storage protein and other mineral nutrients, until seedlings become established (Fenner, 1983; Kitajima, 2002; Hanley *et al.*, 2004; Kitajima and Myers, 2008). While many workers have explored the relationships of seed size to seed dispersal and seedling recruitment strategies (e.g. Moles and Westoby, 2006), seed reserve composition has been quantified for only a small number of species in relation to ecological characteristics (Levin, 1974; Ichie *et al.*, 2001; Finkelstein and Grubb, 2002). The composition of these maternally endowed resources may vary in relation to the environmental conditions

experienced by the mother plant (Gutterman, 1980); little is known about how environmental conditions can affect multiple co-existing species (Violle *et al.*, 2009). Furthermore, little is known about how seed reserves are distributed within seeds, even though such information could be useful in taxonomical identification and help to understand water imbibition characteristics of the embryo (Shepherd *et al.*, 2005).

Seed size may reflect various aspects of plant life histories and reproductive ecology (Marañón and Grubb, 1993; Fenner and Thompson, 2006; Moles and Leishman, 2008). Seed size is considered to be traded-off with seed number in relation to the relative importance of seedling establishment vs. dispersal (Ezoe, 1998; Muller-Landau, 2010). The advantage of seed size for seedling establishment has been shown repeatedly in shaded environments (Poorter and Rose, 2005), but seed size advantage for survival in a dry environment is equivocal (Leishman and Westoby, 1994). Seed size is often negatively correlated with seedling relative growth rate (RGR) across species (e.g. Fenner, 1983; Huante *et al.*,

1995; Paz *et al.*, 2005; Poorter and Rose, 2005), but not necessarily within species. Furthermore, seedling morphology, cotyledon functions and biomass allocation patterns also affect seedling growth rates (e.g. Marañón and Grubb, 1993; Kitajima, 1994; Baraloto and Forget, 2007). All these traits are known to exhibit significant phylogenetic signals and constraints (Ibarra-Manríquez *et al.*, 2001; Zanne *et al.*, 2005). Patterns of utilizing different components of seed reserves also need to be considered in relation to germination strategies and early seedling growth (Suda and Giorgini, 2000; Ichie *et al.*, 2001).

Carbohydrates, lipids and storage proteins represent the bulk of seed reserves. Early nitrogen (N) mobilization from storage protein is necessary to meet the amino acid demands during the initial stages of germination. Among mineral nutrients, N is the first to become depleted from the seed (Fenner, 1983; Kitajima, 2002). In most species, seed N concentration has been related to protein concentration (Ezeagu *et al.*, 2002), with the mass ratio of protein to amino acid typically ranging between 4 and 6 in plants (Pate *et al.*, 1986; Ezeagu *et al.*, 2002; Rajjou and Debeaujon, 2008). However, for most non-crop species, it is not known whether enrichment of lipids and N may be distributed unevenly between the embryo and surrounding nutritional tissues (endosperm and perisperm if present).

Lipids, structural carbohydrates, and non-structural carbohydrates (NSCs) are critical in supporting seedling growth until the seedlings become established (Levin, 1974; Ichie *et al.*, 2001; Kitajima, 2002). Each of these reserves provides a different energetic contribution to seedling development (Kitajima and Myers, 2008). On a per mass basis, lipids contain more than twice the energy stored in NSCs or proteins, but they pose a significant risk of oxidation and loss of seed viability (McDonald, 2004) and are less efficient for energy retrieval through mitochondrial respiration (Kitajima, 1996). Furthermore, lipids and N make seeds more attractive to potential seed predators, and thus could lead to evolution of enhanced protection with a hard seed coat (Grubb *et al.*, 1998; Finkelstein and Grubb, 2002).

The size and composition of seed reserves also vary temporally and spatially in relation to maternal environmental conditions, such as water availability, incident radiation, environmental temperature, and the amount and availability of nutrients (Guterman, 1980; Drenovsky and Richards, 2005). Seasonal ecosystems, such as tropical deciduous forests (TDFs), experience strong seasonal and interannual variations in precipitation, which affect photosynthetic production and other ecosystem processes. For example, wet-season precipitation affects soil moisture and the amount of nutrients released from litter decomposition (García-Oliva *et al.*, 2003). Species may be affected differently by precipitation variation from year to year (Bullock and Solis-Magallanes, 1990).

Due to the importance in the life of a plant, seed and seedling traits have been considered part of their overall life history strategy (Moles and Leishman, 2008). To understand the role of seed reserves in the first stages of life history, 19 co-existing tree species from a highly seasonal TDF on the northwest coast of Mexico were studied. To examine the effects of precipitation on seed size and reserve composition, seeds produced

during two years with different amounts of total precipitation (652 mm in 2004 and 384 mm in 2005) were sampled. We then analysed how interspecific variations in seed size and concentration of N, lipids and NSCs are related to germination rate and lag time, and seedling RGR (previously reported by Huante *et al.*, 1995; Huante and Rincón, 1998; González, 2002; Soriano, 2003). The aim of the study was to answer the following specific questions. (a) Do species particularly rich in N, lipids or NSCs exhibit differences in the localization of these reserves within seed? (b) Do seed dry mass and reserve concentrations (N, lipids and NSCs) differ between the two years with contrasting precipitation? (c) Are the concentrations of N, lipids and NSCs significantly correlated with the seed dry mass, the dry mass of embryo plus endosperm and/or perisperm if present, or with the seed coat mass fraction? (d) Are lag time and rate of germination related to the seed dry mass or to the composition of the reserves? (e) Is early seedling RGR (determined in earlier experiments) related to seed dry mass and reserve composition? (f) Are there significant phylogenetic effects on correlations among these seed and seedling traits?

## MATERIALS AND METHODS

### *Plant material*

Seeds were collected in 2005 and 2006 from the TDF within the Biological Station of Chamela (19°30'N, 105°03'W) on the northwest coast of Mexico. The site is characterized by a marked seasonal climate with an average annual temperature of 24.9 °C and a mean annual precipitation of 788 mm (1977–2003), 80 % of which falls between July and October (Bullock, 1986). The annual precipitation immediately prior to seed collection (2004 and 2005) was 652 and 384 mm, respectively. The mature seeds of 19 tree species (Table 1) were collected directly from at least ten trees per species during the dry season (November–May) when seeds of these, and the many other species, are dispersed (Bullock and Solis-Magallanes, 1990). The same fruiting trees were used in both years.

### *Qualitative and quantitative characterization of seed reserves*

For the purpose of this study, seed is defined in the strict botanical sense: an embryo (embryonic axis and cotyledons) and extra-embryonic tissues (endosperm and/or perisperm) if present, enclosed by the seed coat. Seed mass included all these structures. The seed species of this study were enclosed only by the seed coat and not by any additional maternal tissues (J. Márquez-Guzmán, pers. obs.). Dry mass of individual seeds ( $n = 30$  per species) was determined before and after removing the seed coat. To characterize seed structure and reserve location, a qualitative histochemical analysis was conducted following the methods of López-Curto *et al.* (2005) in six of the 19 species collected in 2006 (*Acacia farnesiana*, *Acacia* sp., *Caesalpinia coriaria*, *Gyrocarpus jatrophifolius*, *Pithecellobium dulce* and *Swietenia humilis*). The other 13 species had been previously studied by Hernández (2006). The presence and absence of extra-embryonic tissues and the location of protein, lipids, NSCs and structural carbohydrate

TABLE 1. List of the studied species (nomenclature in accordance with Lott, 2002): seed storage tissue, germination speed (based on germination rate and lag time), cotyledon type and seedling light requirements.

Species	Family	Storage tissue	Germination	Cotyledon type	Seedling light requirements
1. <i>Crescentia alata</i>	Bignoniaceae	C <sup>5</sup>	F	PEPh	SH <sup>3</sup>
2. <i>Tabebuia rosea</i>	Bignoniaceae	C <sup>5</sup>	F	PEPh	SH <sup>3</sup>
3. <i>Ceiba pentandra</i>	Bombacaceae	C-ET <sup>5</sup>	S	PEPh	FH <sup>1</sup>
4. <i>Cochlospermum vitifolium</i>	Cochlospermaceae	C-ET <sup>5</sup>	F	PEPh	SH <sup>2</sup>
5. <i>Ipomoea wolcottiana</i>	Convolvulaceae	C <sup>5</sup>	F	PEPh	SH <sup>2</sup>
6. <i>Acacia farnesiana</i>	Fabaceae	C	S	PEPh	SH <sup>1</sup>
7. <i>Acacia</i> sp.	Fabaceae	C	S	PEPh	SH <sup>3</sup>
8. <i>Apoplanesia paniculata</i>	Fabaceae	C <sup>5</sup>	S	PEPh	SH <sup>2</sup>
9. <i>Caesalpinia coriaria</i>	Fabaceae	C	F	PEPh	SH <sup>1</sup>
10. <i>Caesalpinia eriostachys</i>	Fabaceae	C <sup>5</sup>	S	PEPh	FH <sup>2</sup>
11. <i>Caesalpinia platyloba</i>	Fabaceae	C <sup>5</sup>	F	PEPh	FH <sup>2</sup>
12. <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Fabaceae	C <sup>5</sup>	S	PEPh	FH <sup>1</sup>
13. <i>Lonchocarpus eriocarinalis</i>	Fabaceae	C <sup>5</sup>	S	PEPh	FH <sup>3</sup>
14. <i>Pithecellobium dulce</i>	Fabaceae	C	F	CrHR	FH <sup>3</sup>
15. <i>Gyrocarpus jatrophiifolius</i>	Hernandiaceae	C	S	PEPh	FH <sup>3</sup>
16. <i>Swietenia humilis</i>	Meliaceae	C	F	CrHR	FH <sup>4</sup>
17. <i>Coccoloba barbadensis</i>	Polygonaceae	C-ET <sup>5</sup>	S	PEPh	FH <sup>1</sup>
18. <i>Ruprechtia fusca</i>	Polygonaceae	C-ET <sup>5</sup>	S	PEPh	SH <sup>1</sup>
19. <i>Hintonia latiflora</i>	Rubiaceae	C-ET <sup>5</sup>	F	PEPh	SH <sup>1</sup>

C, cotyledon; ET, extra-embryonic tissue; F, fast; S, slow; PEPh, phanerocotylar, epigeal, photosynthetic; CrHR, cryptocotylar, hypogeal, reserve storage; SH, strict heliophyte; FH, facultative heliophyte.

<sup>1</sup>Huante *et al.* (1995); <sup>2</sup>Huante and Rincón (1998); <sup>3</sup>González (2002); <sup>4</sup>Soriano (2003); <sup>5</sup>Hernández (2006).

were examined qualitatively after differential staining of these compounds.

To quantify N, lipids and NSCs, seed coats were removed from additional seeds, and at least 30 embryos plus extra-embryonic tissues (hereafter the combination of the two structures are referred to as EETs) were combined to make a replicate (three replicates per species per year). EET was dried at 55 °C to constant weight. The combined dry masses of EET were pulverized in a Micromill (Scienceware, Bel-Art Products, Pequannock, NJ, USA). Lipid concentration was determined by the Soxhlet extraction method, using ethyl-ether as a solvent (J. T. Baker, Phillipsburg, NJ, USA) following Ichie *et al.* (2001). NSC concentration was determined with the phenol-sulfuric acid method (Dubois *et al.*, 1956), using anhydrous dextrose (J. T. Baker) and the N concentration was quantified with an elemental analyser (NC 2500; Thermo Quest S.P.A., Rodanao, Milan, Italy) as described in Neagle *et al.* (2005). The equipment was calibrated with a standard curve obtained with sulfanilamide (C, 41.84%; H, 4.68%; N, 16.27%; O, 18.58%; and S, 18.62%) (CE Elantech, Inc., Lakewood, NJ, USA). Reserve concentrations were expressed as the percentage of the EET dry mass.

#### Germination tests

To determine the germination capacity, germination rate and lag time (time to initiate germination) of each species, germination tests were conducted for seeds of the 19 species collected in 2006 (three replicates per species, 30 seeds per replicate). The seeds were germinated in a growth chamber (Lab-Line, Lab-Line Instruments, Inc., Melrose Park, IL, USA) at 25–30 °C, 12/12 h light/dark. Previous studies have shown that the highest germination percentage of tropical species is achieved in this temperature range (Orozco-Segovia and Sánchez-Coronado, 2009). Prior to

germination tests, impermeable seed coats were treated with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%) to break physical dormancy, using the minimum scarification time to allow seed water uptake, which was identified in a preliminary test following the recommendation of Baskin and Baskin (1998). The minimum scarification time for each species was determined to be as follows: *A. farnesiana* and *Acacia* sp., 60 min; *Enterolobium cyclocarpum*, 50 min; *Caesalpinia platyloba* and *Ipomoea wolcottiana*, 30 min; *Cochlospermum vitifolium*, 20 min; and *C. coriaria*, 5 min.

Cumulative germination was fitted to exponential sigmoid curves following arcsine transformation of percentages. The maximum first derivative of the exponential sigmoid curve was considered as the germination rate. Lag time is the interval of time (on the *x*-axis) in which the value along the *y* axis was zero, the time needed to initiate germination (González-Zertuche *et al.*, 2001; Fig. 1). Analysis of these germination variables included the values calculated for each replication.

RGR values for the 19 species were taken from Huante *et al.* (1995), Huante and Rincón (1998), González (2002) and Soriano (2003). In all these experiments plants were sown in the growing season (May–October), using seeds collected in the Chamela Biological Station, and all seedlings were raised to similar ages (56–60 d old). In these experiments photosynthetic active radiation at midday varied between 1100 and 1200 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>, and temperature at midday varied between 35 and 33 °C. Three of these studies used the same substrate (6 g kg<sup>-1</sup>, Osmocote 14-14-14, sand) while the other used 2 g kg<sup>-1</sup> of Osmocote 14-14-14, 2 soil:1 sand.

#### Data analysis

The interannual and interspecific differences in dry mass of the seed and of the EET and reserve concentrations were

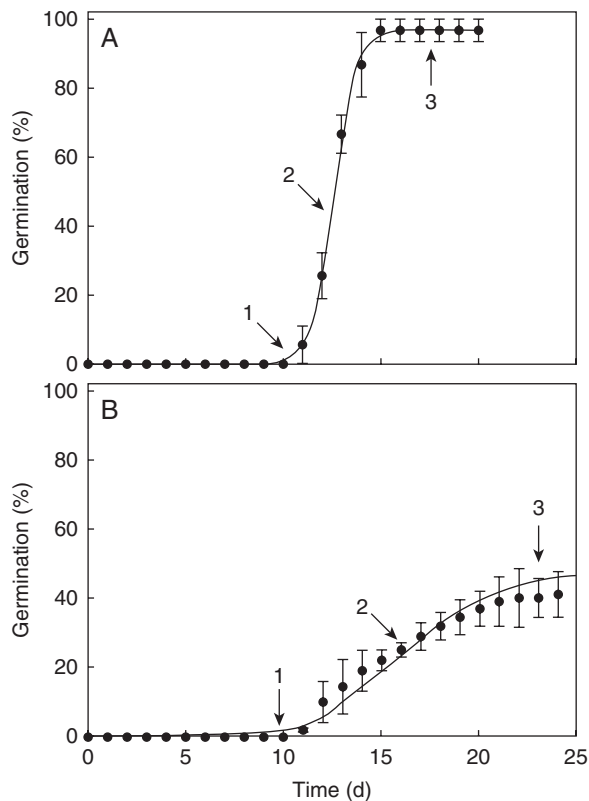


FIG. 1. Per species and replicate, exponential sigmoid curves were fitted to the cumulative germination plotted against time prior to arcsine transformation. Lag time is the interval of time (on the  $x$ -axis) during which the value along the  $y$ -axis was zero [the time needed to initiate germination (1)]. The maximum first derivative was considered as the germination rate (2) and the maximum germination achieved (3). Germination curve of (A) *Acacia* spp. and (B) *Cocoloba barbadensis*.

analysed with a two-way multivariate analysis of variance (MANOVA) with year and species as the main effects ( $P < 0.05$ ). Tukey's test was used to calculate the *post-hoc* comparisons ( $P < 0.05$ ). These statistical analyses were carried out using Statistica 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Differences in reserve composition (lipids, N and NSCs) between Fabaceae and non-Fabaceae species were examined with an ANOVA; species was a factor nested within the two groups in both years using JMP 8.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Simple linear regression analysis was used to test the relationships between germination rate and N, and RGR and EET dry mass using the program Table Curve 2D v3 (AISN, Software, Chicago, IL, USA). For dry mass of EET, lipids, seed coat and N and germination rate and lag time, we calculated phylogenetic independent contrasts (PICs) to assess phylogenetic signals (phylogenetic relatedness for trait values) and PIC correlations, using the programs PHYLOMATIC and PHYLOCOM Analysis of Trait Module (Webb *et al.*, 2009).

A variance test was used to assess the degree of phylogenetic signal (i.e. whether trait values are more similar for closely related taxa than expected) through 1000 randomizations of traits across the tips. The significance of PIC correlations was assessed with the non-parametric sign test, because of the uniform branch length assumption. Pearson correlation was used to examine univariate relationships between

the same traits analysed with PIC correlations and for the relationships of dry mass of seeds, EET and reserves between years. Graphical presentations of the relationships shown in PIC and Pearson correlation were made using Table Curve. Additionally, after log and square transformations to achieve normal distribution, principal component analysis (PCA) was used to examine multivariate relationships among EET, ratio of seed coat to EET, N concentration, ratio of lipid to NSCs (as a variable to represent relative lipid enrichment in energy reserves), and RGR. A cluster analysis was carried out using germination variables (Ward's method using Euclidean distances). These were done with the program Statistica 6.0.

## RESULTS

### *Seed reserve location in different tissues*

Histochemical examination confirmed that the cotyledons were the main storage tissues (Table 1, Fig. 2). However, *C. coriaria* seeds featured a remnant of EET (probably residual endosperm) around the radicle axis (Fig. 2C3). Reserves occurred mostly inside discrete cellular structures (e.g. protein bodies or lipid bodies), which were not distributed uniformly within the seed (Fig. 2). The embryonic axes tended to have a greater concentration of cytoplasmic inclusions, while cells in the cotyledons were filled with protein bodies, lipid bodies, starch and non-soluble polysaccharides. The relatively nitrogen-rich seeds of the two *Acacia* species and *C. coriaria* showed differences in the density of non-soluble polysaccharides (Fig. 2A3, B3, C2). Starch body distributions were different in size among these species and *Pithecellobium* (Fig. 2A3, B3, C2 and D2, respectively). *Gyrocarpus* seeds had polysaccharides stored in their thick cell walls (Fig. 2E3). *Swietenia* was the species with the highest concentration of lipids (Fig. 2F).

### *Seed dry mass*

Seed and EET dry mass showed significant effects of species, year and species  $\times$  year interaction (Appendices 1, 2). According to the *post-hoc* comparison, five of the 19 species had significantly heavier seeds following the drier year (produced in 2005, and sampled in 2006), whereas the opposite was true for one species and the remaining 13 species showed no significant difference between years (Table 2, Appendix 1). Similarly, EET dry mass was higher in the drier year in three species, the opposite in one species, and non-significant for the rest (Table 2, Appendix 2). Despite significant interannual variations, seed and EET dry mass were highly correlated with each other and between the two years (log-transformed species means, Pearson correlation coefficient,  $r > 0.99$ ).

### *Seed reserve partitioning*

The relative contribution of lipids, NSCs and N to EET mass varied widely and could be ordered into a continuum of differences between species (Fig. 3, Table 3). The main reserve in *Enterolobium*, *Ruprechtia fusca* and



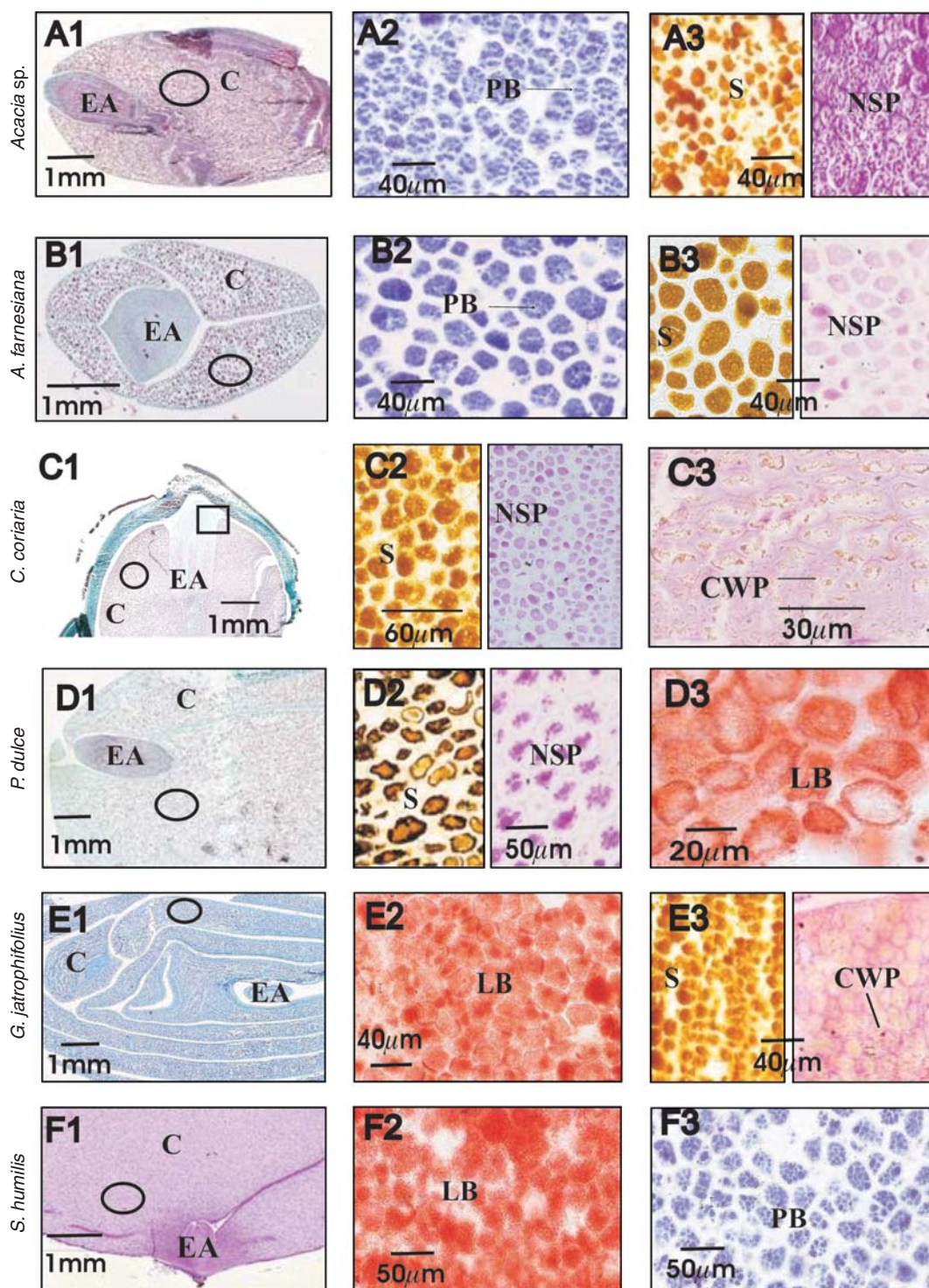


FIG. 2. Seed structure (column 1) of six species, shown as longitudinal or transversal sections relative to the embryo axis. Letter labels indicate cell wall polysaccharides (CWP), cotyledonary cells (C), embryonic axis (EA), lipid bodies (LB), non-soluble polysaccharides (NSP), protein bodies (PB) and starch (S). In B1, C1, D1 and E1 the cell walls and cytoplasmic structures are stained green and red, respectively. Open ovals indicate the cotyledonary region for which the magnified images with specific staining are shown (columns 2 and 3). In A1 and F1, non-soluble polysaccharides are stained. Rows A and B show *Acacia* sp. and *Acacia farnesiana* which have relatively high N contents (Table 3) and conspicuous protein bodies (A2 and B2). In these species starch and NSP were abundant too (A3 and B3). Rows C and D show seeds of *Caesalpinia coriaria* and *Pithecellobium dulce* for which reserve bodies for starch and non-soluble polysaccharides (C2 and D2) represent their main reserve. *Caesalpinia coriaria* seeds showed remnants of extra-embryonic tissue around the embryonic axis (C3, expanded from the zone indicated by a rectangle in C1). *Pithecellobium* has lipids as a secondary reserve (D3). Row E and F show *Gyrocarpus jatrophifolius* and *Swietenia humilis* with relatively high lipid concentration (E2 and F2). *Gyrocarpus* has a relatively low concentration of NSCs (Table 3), but starch and cell wall polysaccharides are still clearly detectable (E3). *Swietenia* has one of the lowest concentrations of N, but the appearance of protein bodies (F3) was similar to species with higher N concentration (A2, B2).

TABLE 2. Average dry mass (mg) of seeds and embryos plus extra-embryonic tissue (EET) in 2005 and 2006 (n = 30 seeds, means ± s.e.)

Species	Seeds		EET	
	2005	2006	2005	2006
1. <i>Crescentia alata</i>	47.9 ± 1.9	<54.2 ± 3	32.2 ± 0.7	23.5 ± 0.1
2. <i>Tabebuia rosea</i>	44.6 ± 2.3	41.1 ± 3.1	35.2 ± 1.2	28.1 ± 1.1
3. <i>Ceiba pentandra</i>	52.9 ± 4.5	<75.2 ± 0.6	44.4 ± 0.7	47.4 ± 0.7
4. <i>Cochlospermum vitifolium</i>	27.3 ± 0.7	35.7 ± 1.1	11.1 ± 0.2	15.4 ± 0.4
5. <i>Ipomoea wolcottiana</i>	62.3 ± 1.9	61.4 ± 1.6	35.3 ± 0.8	30.9 ± 0.5
6. <i>Acacia farnesiana</i>	75.4 ± 2.2	81.0 ± 2.4	30.3 ± 0.8	35.7 ± 0.7
7. <i>Acacia</i> sp.	38.9 ± 2.1	50.9 ± 2.2	12.5 ± 0.3	20.5 ± 0.3
8. <i>Apoplansia paniculata</i>	5.0 ± 0.3	5.7 ± 0.1	2.2 ± 0.1	3.0 ± 0.1
9. <i>Caesalpinia coriaria</i>	50.6 ± 2.7	55.3 ± 2.4	20.1 ± 0.6	22.3 ± 0.5
10. <i>Caesalpinia eriostachys</i>	246.7 ± 5.5	247.2 ± 7.0	152.0 ± 3.1	159.1 ± 2.9
11. <i>Caesalpinia platyloba</i>	241.1 ± 6.3	<325.4 ± 7.8	116.0 ± 1.8	<145.2 ± 1.9
12. <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	717.8 ± 36.1	<1085.0 ± 26.9	516.4 ± 14.7	<543.3 ± 13.3
13. <i>Lonchocarpus eriocarinalis</i>	507.3 ± 26.3	519.2 ± 8.9	234.9 ± 6.3	<352.3 ± 9.9
14. <i>Pithecellobium dulce</i>	192.0 ± 6.7	<221.1 ± 4.3	123.6 ± 3.1	119.0 ± 2.2
15. <i>Gyrocarpus jatrophifolius</i>	369.3 ± 18.2	357.5 ± 6.9	180.4 ± 4.8	189.5 ± 3.6
16. <i>Swietenia humilis</i>	550.4 ± 7.9	>440.2 ± 4.3	470.1 ± 11.1	>423.3 ± 17.7
17. <i>Coccoloba barbadensis</i>	116.1 ± 5.8	136.6 ± 4.3	49.1 ± 1.2	64.9 ± 2.7
18. <i>Ruprechtia fusca</i>	22.2 ± 0.9	24 ± 0.6	17.3 ± 0.3	16.7 ± 0.3
19. <i>Hintonia latiflora</i>	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1

The signs (< or >) between the values indicate the direction of a significant difference between the two years ( $P < 0.05$ ).

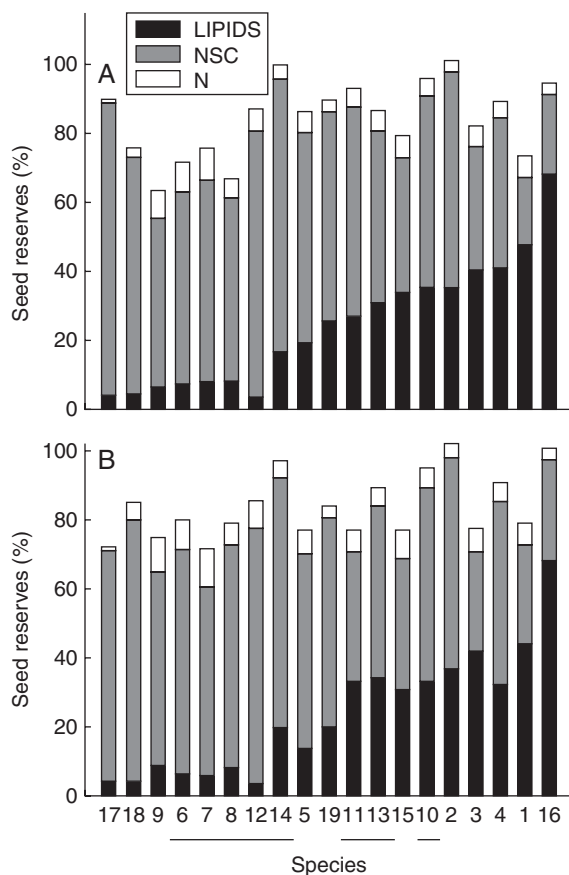


FIG. 3. Concentration of lipids, non-structural carbohydrates (NSCs) and nitrogen (N) in seeds of the 19 studied species, collected in (A) 2005 and (B) 2006. Species are grouped according to their lipid content in 2005. Fabaceae species are underlined. The numbers correspond to the species shown in Table 1.

*Pithecellobium* was NSCs (>67%), whereas in *Ceiba pentandra*, *Crescentia alata* and *Swietenia*, lipids were >40% of the EET dry mass. Nitrogen concentration also differed greatly among species: *Coccoloba barbadensis* had the lowest N concentration (<1.5%) and *Acacia* sp. had the highest (>11%). Species in the Fabaceae had a somewhat elevated N concentration on average, with means for nine Fabaceae species being 6.4 and 7.3% in 2005 and 2006, respectively, compared with means for non-Fabaceae of 4.1 and 5.0% ( $P < 0.05$  with the  $F$ -test). However, the concentration of N varied substantially within families and genera, and within the genus *Caesalpinia*, *C. coriaria* had a higher concentration of N than *C. platyloba* and *C. eriostachys*. The concentration of the other reserves also differed between Fabaceae and non-Fabaceae species. Species in the Fabaceae had a lower concentration of lipid (16.5%, 2005; 17.0%, 2006) compared with non-Fabaceae (32.0%, 2005; 29.5%, 2006). Lipid and NSC concentrations were negatively correlated, but independently from the concentration of N ( $P < 0.05$ ).

Species, year and species × year interaction were all significant in MANOVA with concentration of N, lipids and NSCs as dependent variables (Table 4), even though seed reserve composition was highly correlated between 2005 and 2006 across species ( $r = 0.94$  for N,  $r = 0.98$  for lipids,  $r = 0.84$  for NSCs). In 12 of the 19 species, seeds produced in the drier year and collected in 2006 had a significantly greater concentration of N than those collected in 2005. Four of the 19 species showed a significantly lower lipid concentration in seeds collected in 2006 than in 2005, and for one species the opposite was observed. Two of the 19 species had lower concentrations of NSC in seeds that were collected in 2006 than in 2005 (Table 3).

EET dry mass was positively correlated with lipid concentration in both studied years (Table 5, Fig. 4). No significant

TABLE 3. Percentage of lipids, N and non-structural carbohydrates (NSCs) in the two years the studied lasted: the values are means of three independent determinations.

Species	Lipids		N		NSCs	
	2005	2006	2005	2006	2005	2006
1. <i>Crescentia alata</i>	47.2	43.8	5.9	6.3	19.8	28.5
2. <i>Tabebuia rosea</i>	37.2	36.6	2.9	<4.0	67.1	62.0
3. <i>Ceiba pentandra</i>	40.2	41.6	5.7	<6.5	35.4	29.0
4. <i>Cochlospermum vitifolium</i>	40.9	>32.1	4.6	<5.7	43.2	52.8
5. <i>Ipomoea wolcottiana</i>	19.3	>13.7	5.8	<6.9	60.5	56.1
6. <i>Acacia farnesiana</i>	7.5	6.4	8.4	8.4	55.2	64.5
7. <i>Acacia</i> sp.	7.8	6.1	9.2	<11.0	58.1	54.1
8. <i>Apoplanesia paniculata</i>	8.0	8.2	5.6	6.1	52.8	64.1
9. <i>Caesalpinia coriaria</i>	6.7	8.9	8.1	<9.9	48.1	55.9
10. <i>Caesalpinia eriostachys</i>	34.9	33.4	5.2	<6.0	55.1	55.3
11. <i>Caesalpinia platyloba</i>	26.8	<32.9	5.1	<6.2	60.4	>37.3
12. <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	9.8	<3.6	6.3	<7.9	70.3	73.6
13. <i>Lonchocarpus eriocarinalis</i>	30.6	34.1	5.7	5.2	49.6	49.6
14. <i>Pithecellobium dulce</i>	16.8	19.7	4.1	<4.9	81.2	72.2
15. <i>Gyrocarpus jatrophifolius</i>	33.6	30.7	6.2	<8.3	38.9	37.5
16. <i>Swietenia humilis</i>	67.7	67.9	3.1	2.9	22.8	29.2
17. <i>Coccoloba barbadensis</i>	3.9	4.3	0.8	1.1	84.4	>66.5
18. <i>Ruprechtia fusca</i>	4.5	4.3	2.7	<5.1	68.0	76.0
19. <i>Hintonia latiflora</i>	25.5	>19.8	3.4	3.7	60.0	60.2

The signs (< or >) between the values indicate the direction of a significant difference between the two years ( $P < 0.05$ ).

TABLE 4. MANOVA for the two years (2005, 2006) and 19 studied species for the three reserves (lipids, N and NSCs).

Effect	Wilks	d.f.	F	P
Year	0.125	3	171.13	<0.001
Species	<0.001	54	266.72	<0.001
Year × species	0.014	54	13.07	<0.001

TABLE 5. Pearson correlation coefficients for 19 species means ( $r$ ) and 16 phylogenetic independent contrasts ( $r_{PIC}$ ) for the relationships tested with 2006 data

Trait pairs	$r$	$P$	$r_{PIC}$	$P$
EET dry mass vs. lipids	0.68	0.002	0.44	<0.05
Seed coat vs. N	0.78	<0.001	0.45	<0.05
Germination rate vs. lag time	-0.88	0.001	-0.39	<0.07

bivariate correlation was found between seed dry mass and N or NSCs, and EET dry mass and N or NSCs. Dry mass allocated to the seed coat in both years had a positive correlation with the N concentration (Table 5, Fig. 5).

#### Germination, EET, reserve composition and RGR

The germination ranged from 22 % (in *Cochlospermum*) to 100 % (in *C. eriostachys*, Appendix 3). Germination of 18 of the 19 species occurred during the first 14 d; the exception was *Apoplanesia paniculata*, which had a lag time of 63 d (Appendix 3). Germination rate and lag time were negatively correlated (Table 5, Fig. 6). Two groups were recognized by cluster analysis, namely species with fast and slow germination

rates (Figs 7 and 8). In these two groups, germination rate had a positive relationship with seed N concentration (fast-germination group  $r^2 = 0.62$ ,  $P = 0.00003$ ,  $n = 9$ ; and slow-germination group  $r^2 = 0.65$ ,  $P = 0.000002$ ,  $n = 9$ ).

The RGR of the seedlings of the studied species had a significant negative relationship with the dry mass of EET in both years (Fig. 9A, B). However, there was no significant bivariate correlation of seedling RGR with concentration of N, lipids, NSCs, germination rate or lag time.

Principal component analysis showed the direction of association of EET, N, germination rate, seed coat/EET, lipids/NSCs and RGR (Fig. 10, Appendix 4). Principal component analysis factor 1 was contributed by negative loading of N concentration, seed coat to EET ratio, and seedling RGR, followed by positive loading of EET dry mass. These indicate that larger seeds tended to have a lower concentration of N, lower biomass allocation to seed coat and slower RGR. Principal component analysis factor 2 was strongly contributed by positive loading of germination rate and the lipid to NSC ratio, followed by positive loading of RGR. Thus, lipid and NSC varied independently of N concentration, and lipid-rich seeds tended to germinate faster. Principal component analysis factor 3 mainly reflected the negative loading of seed content mass, N concentration and germination rate, and the positive loading of seedling RGR.

#### Phylogenetic independent contrasts

The significant cross-species correlations between seed reserves, EET dry mass, seed coat, lag time and germination rate were also tested using PICs. The PIC correlations were weaker, but in the same direction as the corresponding non-PIC correlations (Table 5). The correlation between seed coat dry mass and N concentration, and the correlation

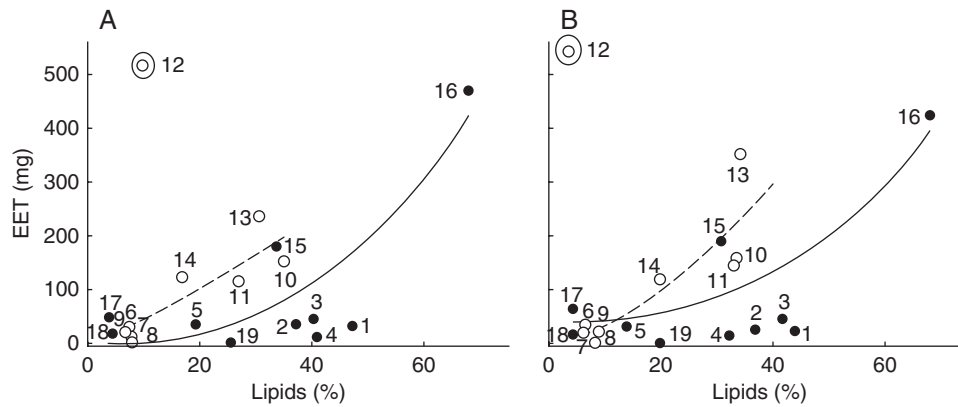


FIG. 4. Graphical representation of embryo plus extra-embryonic tissue (EET) dry mass and lipid concentration correlation in seeds collected in (A) 2005 and (B) 2006. The tendency line is shown for the 19 species and to Fabaceae species (open circles, dotted line). The numbers correspond to the species shown in Table 1. Species 12 was categorized as an outlier by the analysis.

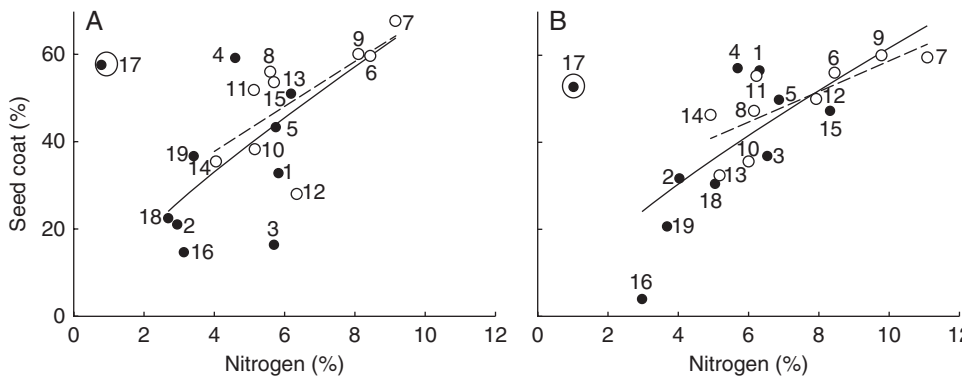


FIG. 5. Graphical representation of the correlation of dry mass allocated to the seed coat and N in seeds collected in (A) 2005 and (B) 2006. The tendency line is shown for the 19 species and to Fabaceae species (open circles, dotted line). The numbers correspond to the species shown in Table 1. Species 17 was categorized as an outlier by the analysis.

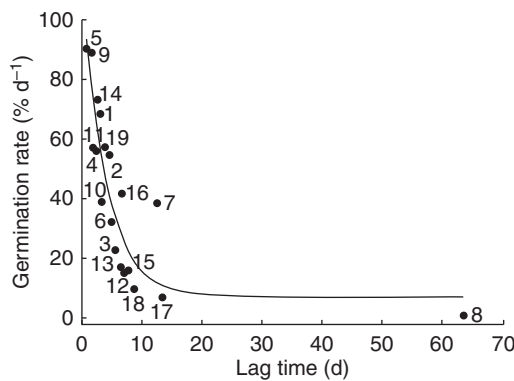


FIG. 6. Graphical representation of correlation between germination rate and lag time for the seeds of the 19 species collected in 2006. The tendency line is shown. The numbers correspond to the species shown in Table 1.

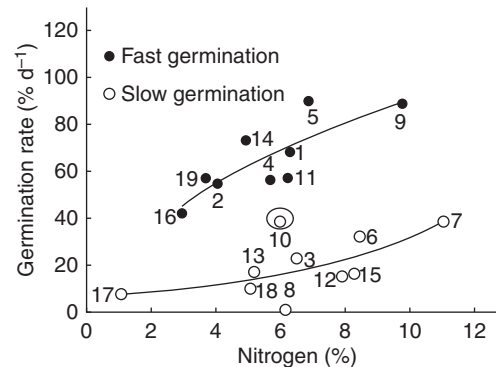


FIG. 7. Relationship between seed nitrogen concentration and germination rate in fast-germination ( $y = -44.7 + 62.9x^{0.331}$ ) and slow-germination ( $y = 0.71 + 5.35 \exp(-x/-5.69)$ ) species. Species 10 was categorized as an outlier by the analysis. The data are for seeds collected in 2006. The numbers correspond to the species shown in Table 1.

between germination rate and lag time, remained significant ( $P < 0.05$ ), while the correlation between EET dry mass and concentration of lipids was marginally significant ( $P < 0.07$ ) according to the statistically conservative sign test. Among these variables, the phylogenetic signal was significant only for lipids concentration, which reflected clustering of lipid-rich

taxa (*Ceiba*, *Cochlospermum* and *Swietenia*) and lipid-poor species (*Coccoloba* and *Ruprechtia*). Despite the previously mentioned tendency for a higher N concentration in the Fabaceae than in non-Fabaceae taxa, N concentration did not exhibit a significant phylogenetic signal across the tree.

## DISCUSSION

The identity of the main source of nutrients (lipids, N and NSCs) is highly important in the life history of plant species (Fenner, 1983). The main reserves varied among species but they were stored mainly in the cotyledons, which were phanerocotylar in most species. In the studied species, cotyledons turned photosynthetic in a few days, giving an advantage in seasonal environments for seedlings to establish and grow (Kitajima, 2002). Our results showed that interannual differences in precipitation were related to differences in the composition of reserves from one year to another. Interannual differences in N concentration were negatively correlated with precipitation during the rainy season in 14 species. A higher N concentration may attract predators, and thus require defence traits to protect seeds (Grubb *et al.*, 1998) and, in support of this, the species with a high seed concentration of N showed a proportional increase in the dry mass allocation to the seed coat. Lipids have been associated with large seeds and slow seedling RGRs, which are traits associated with stress persistence strategies including shade tolerance in tropical trees (Poorter and Rose, 2005). Our results confirm these relationships and, in addition, a significant phylogenetic signal was detected only for lipid concentration in seeds.

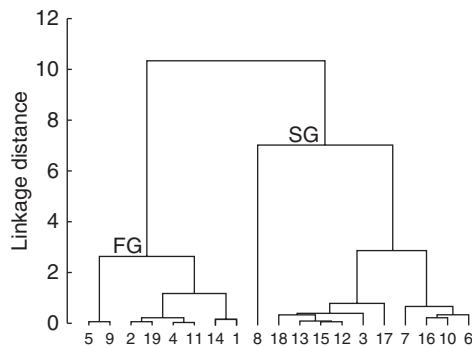


FIG. 8. Dendrogram of the cluster analysis. The cluster supports the division according to germination rate and lag time. Fast germination (FG) and slow germination (SG).

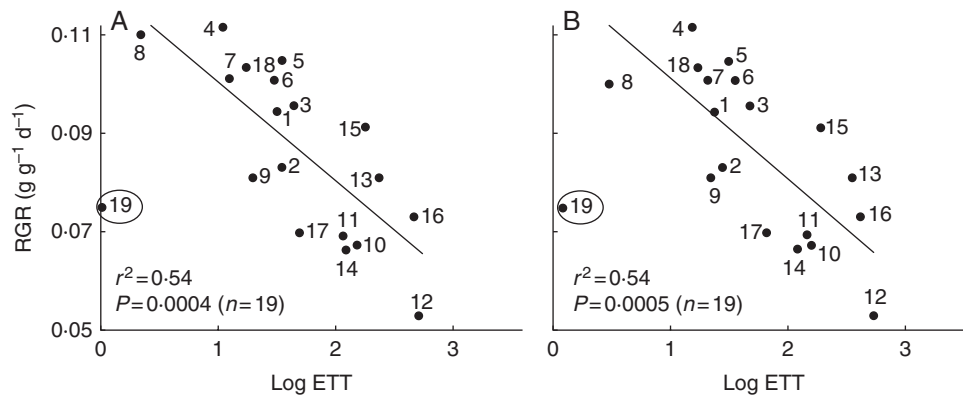


FIG. 9. Relationship between log ETT (2005 and 2006) and relative growth rate (RGR), ( $y = 0.12 - 0.008x$  and  $y = 0.12 - 0.008x$  in 2005 and 2006, respectively). Species 19 was considered to be an outlier by the analysis. The numbers correspond to the species shown in Table 1.

## Qualitative analyses of seed reserves

Overall, the distribution patterns of major reserves, such as starch, proteins and lipids, showed few obvious differences among taxa. In addition, in two of the studied species, *C. coriaria* and *Gyrocarpus*, the polysaccharides present in the thick cell walls may be an important potential reserve, as has been documented for other species (Buckeridge *et al.*, 2000). In *Ruprechtia*, *Coccoloba*, *Hintonia*, *Cochlospermum* and *Ceiba*, the presence of EETs has been previously reported (Hernández, 2006). The role of EETs in seed ageing and during germination and early seedling growth should be tested in the future. The main reserve contained in this tissue is starch, whose hardening has been related to loss of viability (Probert *et al.*, 2009).

## Interannual differences in seed dry mass and reserve partitioning

In TDFs, soil nutrient availability depends on the previous growing season (García-Oliva *et al.*, 2003). There was a large difference in total precipitation in the years prior to seed collection (652 mm in 2004 and 384 mm in 2005). However, higher precipitation did not necessarily result in larger seeds. The most consistent trend in the allocation of reserves was observed for the interannual differences in seed N concentrations, which was significantly higher following the dry year in 12 of the 19 species, while lipid and NSC concentrations showed much weaker and inconsistent differences between the two years. Nitrogen is known to be an important determinant of maternal effects in seeds (Drenovsky and Richards, 2005). There may be physiological effects of drought and associated environmental factors on seed production (Breen and Richards, 2008). A post-flowering water deficit can lead to an increase in seed N concentration in maize (Takele and Farrant, 2010) and to an increase in the thickness of the seed cover in several species (Wulff, 1995).

## Reserves, dry mass and seed coat

There was a positive relationship between EET dry mass and concentration of lipids in the two years of testing. Larger seeds have been related to larger seedlings and to a higher probability of seedling survival (Poorter and Rose,

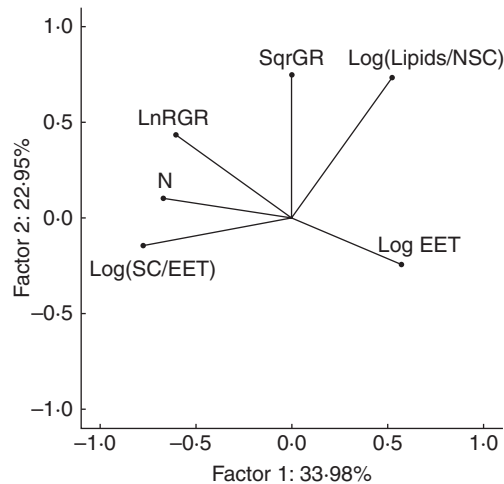


FIG. 10. Principal component analysis showed the direction of association of embryo plus extra-embryonic tissue (EET), N, germination rate (GR), seed coat (SC)/EET, lipids/NSCs and RGR. Factor 1 was contributed by negative loading of the concentration of N, seed coat ratio and seedling RGR, followed by positive loading of EET dry mass. Factor 2 was strongly contributed by positive loading of the germination rate and lipid to NSC ratio, followed by positive loading of RGR.

2005). However, a relationship between reserves and seedling growth has rarely been reported (Ichie *et al.*, 2001; Finkelstein and Grubb, 2002). A higher concentration of lipids may be a complementary strategy to enhance total energy availability to seedlings (Levin, 1974; Finkelstein and Grubb, 2002). The relationship between lipid concentration and EET dry mass was mainly observed in Fabaceae species; in fact, lipid concentration was the unique variable that showed a significant phylogenetic signal. In contrast, neither Fabaceae nor non-Fabaceae species showed a significant relationship between NSCs or N and EET dry mass. The functionality and the ecological role of lipids in Fabaceae species ought to be assessed with a number of other species.

As predicted by Grubb *et al.* (1998), greater investment in the seed coat was observed in seeds with high N contents. An investment for the protection of EET could be beneficial even if not all N in the seeds is allocated to proteins or amino acids, which are of potential value to predators (Pate *et al.*, 1986; Grubb *et al.*, 1998; Ezeagu *et al.*, 2002).

In the TDF, the seeds of *A. farnesiana*, *Acacia* sp., *C. coriaria* and *C. platyloba* are dispersed at the beginning of the dry season (Bullock and Solis-Magallanes, 1990) and the seeds remain in the soil for at least 8 months (dry season). A thick and impermeable seed coat also facilitates deeper physical dormancy in these species, which might represent a strategy for longer persistence in the soil seed bank (Baskin and Baskin, 1998). The characterization of the chemical defence and rates of predation in the studied species could clarify the relationship between reserves and seed protection, as suggested by Finkelstein and Grubb (2002).

#### Reserve composition and germination

In 18 of the 19 species studied, germination began within the first 14 d. Short germination lag times have been considered an evolutionary response to maximize seedling

growth during the short rainy season in TDFs (Garwood, 1983; Khurana and Singh, 2001). In Chamela, rapid canopy closure in the early rainy season (Bullock and Solis-Magallanes, 1990) may favour rapid germination and seedling establishment before the light availability diminishes in the understorey. Seed dry mass did not have a significant relationship with germination rate or with lag time, contrary to the positive relationship reported in the literature (Norden *et al.*, 2009). However, the generality of the relationship between seed size and germination rate and lag time has been questioned previously (Orozco-Segovia and Sánchez-Coronado, 2009).

In this study, germination rate was negatively correlated with lag time (Fig. 6), as is the case for other species (Rodríguez *et al.*, 2000). In the studied species, the germination rate was faster in species with higher N (Fig. 7). This may be associated with a faster mobilization rate of reserves (Lieffering *et al.*, 1996). Furthermore, differences in reserve concentration from one year to the next may be related to differences in germination; thus, it would be helpful to explore in more detail the differences in species germination performance over the years.

#### RGR, seed dry mass and reserves

The EET dry mass had a negative relationship with RGR in both years, as has been previously recorded for entire seed of the species from the study area (Huante *et al.*, 1995) and for other rain forest species (Paz *et al.*, 2005; Poorter and Rose, 2005). This relationship was maintained when we considered the RGR values reported for the same species in different studies, such as *Cochlospermum* (Huante *et al.*, 1995; Huante and Rincón, 1998; Soriano, 2003). *Hintonia* was an outlier in this regression analysis (Fig. 9), which suggested the need to study a greater number of species to explore the RGRs of seeds with smaller dry masses than those considered in this study.

In our study, germination rate and lag time were not good predictors of seedling RGR. A fast germination rate did not imply fast seedling growth. This observation supports the idea that species ontogenetic shifts in functional strategy occur (Orozco-Segovia and Sanchez-Coronado, 2009).

#### Reserves and seedling growth

Early seedling growth should be related to cotyledon type, the composition of reserves and the use of these reserves (Ichie *et al.*, 2001, Kitajima and Myers, 2008). In the studied species we observed a continuum in reserve partitioning. At one extreme, *Swietenia* had seeds with a high concentration of lipids, and cryptocotylar and hypogeal seedlings, with reserve storage cotyledons. Its seedlings are characterized as facultative heliophytes (Table 1) and are slow growing (the classification of rates of growth were taken from Huante *et al.*, 1995). Many rain forest climax species typically have fatty seeds (Whitmore, 1990). Levin (1974) hypothesized that a higher lipid content in a seed is a possible advantage for seedling establishment in shaded environments, but the results were not conclusive (Ichie *et al.*, 2001; Finkelstein and Grubb, 2002). At the other extreme, *A. farnesiana* had seeds

with a high content of NSCs; it is a fast growing species, with phanerocotylar epigeal seedlings, photosynthetic cotyledons and strict heliophyte seedlings, which is in contrast to *Swietenia*.

Between these extremes, we can place the fast-growing species, *Crescentia*, *Ceiba* and *Tabebuia*, which had seeds rich in lipids and with strict-heliophyte seedlings. In these species, stored lipids could promote fast growth (Finkelstein and Grubb, 2002). A study of the use and translocation of reserves during germination and early seedling growth, using species with a wide range of reserve compositions and cotyledons of different forms and functions, will clarify how reserves are used in fast- and slow-growing species in response to the seasonal light and water stress that characterize the TDFs (Barradas, 1991) and lead to different strategies of seedling establishment.

### Conclusions

In this study, the reserve compositions of seeds of 19 species could be ordered along a continuum. Relative abundance of major seed reserves was related to EET dry mass, lag time, germination rate and seed coat mass. Differences in reserve composition and probably in their use by the embryo, in combination with environmental variability (an unpredictable precipitation pattern in the rainy season; Bullock, 1986), may play an important role in promoting species co-existence in the changing environment of the TDF. The minimal effects of phylogeny could suggest an ecological convergence in seed reserve composition among these TDF species.

Future research in this study area should assess whether changes occur in seed reserves while seeds are in the seed bank and whether these are related to (a) the ecological and potential seed viability or (b) the mobilization of reserves during burial and its effect on germination. Both may provide information about seedling fate and the relevance of the first life stages of plants in the permanence and the population dynamics of these species in the ecosystems, as Moles and Leishman (2008) suggest.

### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Posgrado en Ciencias Biológicas-UNAM and the Chamela Biology Station (IB-UNAM) for the use of their research facilities and for providing logistical support. We also thank Irma Acosta Calixto, María Esther Sánchez Coronado, Alejandro González Ponce, Erick Daniel Valle Vidal, María de Lourdes López Curto and the Microcine Lab F. Ciencias UNAM for their technical assistance. Gustavo Verduzco, Karen Suárez, Itzel Sánchez and Jorge Blanco of great help with the seed processing. We are grateful to the two anonymous reviewers for the comments and suggestions that allowed a substantial improvement to the paper. This work was supported by Dirección General de Asuntos del Personal Académico-UNAM [IN 232802-3]; National Science Foundation [DEB 9981607] and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología [PhD scholarship 187210 to Diana Soriano].

### LITERATURE CITED

- Baraloto C, Forget PM. 2007.** Seed size, seedling morphology, and response to deep shade and damage in neotropical rain forest trees. *American Journal of Botany* **94**: 901–911.
- Barradas VL. 1991.** Radiation regime in a tropical dry deciduous forest in western Mexico. *Theoretical and Applied Climatology* **44**: 57–64.
- Baskin JM, Baskin CC. 1998.** *Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. San Diego: Academic Press.
- Breen AN, Richards JH. 2008.** Irrigation and fertilization effects on seed number, size, germination and seedling growth: implications for desert shrub establishment. *Oecologia* **157**: 13–19.
- Buckeridge MS, Pessoa DSH, Tiné MA. 2000.** Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* **38**: 141–156.
- Bullock SH. 1986.** Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of Mexico. *Archives of Meteorology, Geophysics and Bioclimatology* **36**: 297–316.
- Bullock SH, Solis-Magallanes JA. 1990.** Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest. *Biotropica* **22**: 22–35.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* **28**: 350–356.
- Drenovsky RE, Richards JH. 2005.** Nitrogen addition increases fecundity in the desert shrub, *Sarcobatus vermiculatus*. *Oecologia* **143**: 349–356.
- Ezeagu IE, Petzke JK, Metges CC, Akinsoyinu AO, Ologhobo AD. 2002.** Seed protein contents and nitrogen-to-protein conversion factors for some uncultivated tropical plant seeds. *Food Chemistry* **78**: 105–109.
- Ezoe H. 1998.** Optimal dispersal range and seed size in a stable environment. *Journal of Theoretical Biology* **190**: 287–293.
- Fenner M. 1983.** Relationships between seed weight, ash content and seedling growth in twenty-four species of Compositae. *New Phytologist* **95**: 697–706.
- Fenner M, Thompson K. 2006.** *The ecology of seeds*. London: Cambridge University Press.
- Finkelstein S, Grubb PJ. 2002.** Lipid concentration in the embryo-endosperm fraction of seed of Australian tropical lowland rainforest tree: relevance to defence and dispersal. *Seed Science Research* **12**: 173–180.
- García-Oliva F, Sveshtarova B, Oliva M. 2003.** Seasonal effects on soil organic carbon dynamics in a tropical deciduous forest ecosystem in western Mexico. *Journal of Tropical Ecology* **19**: 179–188.
- Garwood N. 1983.** Seed germination in a seasonal tropical forest in Panama: a community study. *Ecological Monographs* **53**: 159–181.
- González DG. 2002.** *Restauración de la Selva Baja Caducifolia en la Reserva de biosfera Chamela-Cuixmala, Jalisco: un enfoque experimental usando comunidades sintéticas*. Professional Thesis, Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- González-Zertuche L, Vázquez-Yanes C, Gamboa A, Sánchez-Coronado ME, Aguilera P, Orozco-Segovia A. 2001.** Natural priming of *Wigandia urens* seeds during burial: effects on germination, growth and protein expression. *Seed Science Research* **11**: 27–34.
- Grubb PJ, Metcalfe DJ, Grubb EAA, Jones GD. 1998.** Nitrogen-richness and protection of seeds in Australian tropical rainforests: a test of plant defence theory. *Oikos* **82**: 467–482.
- Gutterman Y. 1980.** Influences on seed germinability: phenotypic maternal effects during seed maturation. *Israel Journal of Botany* **29**: 105–117.
- Hanley ME, Fenner M, Whibley H, Darvil B. 2004.** Early plant growth: identifying the end point of the seedling phase. *New Phytologist* **163**: 61–66.
- Hernández PV. 2006.** *Reservas en semillas y su papel en las primeras etapas de desarrollo de especies leñosas de selva baja caducifolia*. Masters Thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Hoshizaki K, Miguchi H. 2005.** Influence of forest composition on tree seed predation and rodent response: a comparison of monodominant and mixed temperate forest in Japan. In: Forget PM, Lambert JE, Hulme PE, Vander Wall SB, eds. *Seed fate. Predation, dispersal and seedling establishment*. Wallingford, UK: CABI Publishing, 253–267.
- Huante P, Rincón E. 1998.** Responses to light changes in tropical deciduous woody seedlings with contrasting growth rates. *Oecologia* **113**: 53–66.
- Huante P, Rincón E, Acosta I. 1995.** Nutrient availability and growth rate of 34 woody species from a tropical deciduous forest in Mexico. *Functional Ecology* **9**: 849–858.

- Ibarra-Manríquez G, Martínez-Ramos M, Oyama K. 2001. Seedling functional types in a lowland rain forest in Mexico. *American Journal of Botany* **88**: 1801–1812.
- Ichie T, Ninomiya I, Ogino K. 2001. Utilization of seed reserves during germination and early seedling growth by *Dryobalanops lanceolata* (Dipterocarpaceae). *Journal of Tropical Ecology* **17**: 371–378.
- Khurana E, Singh JS. 2001. Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. *Environmental Conservation* **28**: 39–52.
- Kitajima K. 1994. Relative importance of photosynthetic traits and allocation patterns as correlates of seedling shade tolerance of 13 tropical trees. *Oecologia* **98**: 419–428.
- Kitajima K. 1996. Cotyledon functional morphology, patterns of seed reserve utilization and regeneration niches of tropical tree seedlings. In: Swaine MD, ed. *The ecology of tropical forest tree seedlings*. Carnforth, UK: Parthenon, 193–210.
- Kitajima K. 2002. Do shade-tolerant tropical tree seedlings depend longer on seed reserves? Functional growth analysis of three Bignoniaceae species. *Functional Ecology* **16**: 433–444.
- Kitajima K, Myers JA. 2008. Seedling ecophysiology; strategies toward achievement of positive net carbon balance. In: Leck MA, Parker TV, Simpson RL, eds. *Seedling ecology and evolution*. Cambridge: Cambridge University Press, 172–188.
- Leishman MR, Westoby M. 1994. The role of large seed size in shaded conditions – experimental evidence. *Functional Ecology* **8**: 205–214.
- Levin DA. 1974. The oil content of seeds: an ecological perspective. *American Naturalist* **108**: 193–206.
- Lieffering M, Andrews M, McKenzie BA. 1996. Nitrate stimulation of mobilization of seed reserves in temperate cereals: importance of water uptake. *Annals of Botany* **78**: 695–701.
- López-Curto ML, Márquez GJ, Murguía SG. 2005. *Técnicas para el estudio del desarrollo de angiospermas*. México, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Lott EJ. 2002. Lista anotada de las plantas vasculares de Chamela-Cuixmala. In: Noguera FA, Vega-Rivera AN, García A, Quesada-Avendaño M, eds. *Historia natural de Chamela*. México: Instituto de Biología-UNAM, 99–136.
- Marañón T, Grubb PJ. 1993. Physiological basis and ecological significance of the seed size and relative growth rate relationship in Mediterranean annuals. *Functional Ecology* **7**: 591–599.
- McDonald MB. 2004. Orthodox seed deterioration and its repair. In: Benech-Arnold RL, Sánchez RA, eds. *Handbook of seed physiology. Applications to agriculture*. New York: The Haworth Press, 273–304.
- Moles AT, Leishman MR. 2008. The seedling as part of a plant's life history strategy. In: Leck MA, Parker TV, Simpson RL, eds. *Seedling ecology and evolution*. Cambridge: Cambridge University Press, 217–238.
- Moles AT, Westoby M. 2006. Seed size and plant strategy across the whole life cycle. *Oikos* **113**: 91–105.
- Muller-Landau H. 2010. The tolerance–fecundity trade-off and the maintenance of diversity in seed size. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **107**: 4242–4247.
- Neagle ER, Burton JW, Carter TE, Ruffy TW. 2005. Influence of seed nitrogen content on seedling growth and recovery from nitrogen stress. *Plant and Soil Journal* **271**: 328–340.
- Norden N, Daws MI, Antoine C, Gonzalez MA, Garwood NC, Chave J. 2009. The relationship between seed mass and mean time to germination for 1037 tree species across five tropical forests. *Functional Ecology* **23**: 203–210.
- Orozco-Segovia A, Sánchez-Coronado ME. 2009. Functional diversity in seeds and its implications for ecosystem functionality and restoration ecology. In: Gamboa-de Buen A, Orozco-Segovia A, Cruz-García F, eds. *Functional diversity of plant reproduction*. Kerala, India: Research Signpost, 195–236.
- Pate JS, Rasins E, Rullo J, Kuo J. 1986. Seed nutrient reserves of Proteaceae with special reference to protein bodies and their inclusions. *Annals of Botany* **57**: 747–770.
- Paz H, Mazar SJ, Martínez-Ramos M. 2005. Comparative ecology of seed mass in *Psychotria* (Rubiaceae): within and between species effects of seed mass on early performance. *Functional Ecology* **19**: 707–718.
- Poorter L, Rose S. 2005. Light-dependent changes in the relationship between seed mass and seedling traits: a metaanalysis for rain forest tree species. *Oecologia* **14**: 378–387.
- Probert RJ, Daws MI, Hay FR. 2009. Ecological correlates of ex situ seed longevity: a comparative study on 195 species. *Annals of Botany* **104**: 57–69.
- Rajjou L, Debeaujon I. 2008. Seed longevity: survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. *Compte Rendues Biologiques* **331**: 796–805.
- Rodríguez MC, Orozco-Segovia A, Sánchez-Coronado ME, Vázquez-Yanes C. 2000. Seed germination of six mature neotropical rain forest species in response to dehydration. *Tree Physiology* **20**: 693–699.
- Shepherd KA, Macfarlane TD, Colmer TD. 2005. Morphology, anatomy and histochemistry of *Salicornioideae* (Chenopodiaceae) fruits and seeds. *Annals of Botany* **95**: 917–933.
- Soriano FD. 2003. *Importancia de la Tasa de Asimilación Neta, el Área Foliar Específica, el Cociente de Peso Foliar en la determinación de la Tasa Relativa de Crecimiento de 5 especies arbóreas de la Selva Tropical Caducifolia de Chamela Jalisco*. Professional Thesis, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.
- Suda CNK, Giorgini JF. 2000. Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* **12**: 226–244.
- Takele A, Farrant J. 2010. Seed germination and storage reserves of maize and sorghum after exposure to and recovery from pre- and post-flowering dehydration. *Acta agronomica hungarica* **58**: 133–142.
- Violle C, Castro H, Richarte J, Navas ML. 2009. Intraspecific seed trait variations and competition: passive or adaptive response? *Functional Ecology* **23**: 612–620.
- Webb CO, Ackerly DD, Kembel SW. 2009. Phylocom: software for the analysis of phylogenetic community structure and character evolution. *Bioinformatics* **24**: 2098–2100.
- Whitmore TC. 1990. *An introduction to tropical rain forest*. Oxford: Oxford University Press.
- Wulff RD. 1995. Environmental maternal effects on seed quality and germination. In: Kigel J, Galili G, eds. *Seed development and germination*. New York: Marcel Dekker, 491–504.
- Zanne AE, Chapman CA, Kitajima K. 2005. Evolutionary and ecological correlates of early seedling morphology in east African trees and shrubs. *American Journal of Botany* **92**: 972–978.

## APPENDIX 1

## Interannual and interspecies comparison of seeds dry mass

Source of variation	d.f.	SS	MS	F	P
Year	1	73 252.7	73 252.7	37.6	<0.001
Species	18	40 025 239.8	2 223 624.4	1142.2	<0.001
Year × species	18	1 506 362.4	83 686.8	43	<0.001
Residual	676	1 315 987.2	1946.7		
Total	713	43 227 210.1	60 627.2		

## Comparisons for factor: year (2006 vs. 2005) within species (P &lt; 0.05).

Species	t	P
1. <i>Crescentia alata</i>	3.4	<0.01
2. <i>Tabebuia rosea</i>	0.3	0.81
3. <i>Ceiba pentandra</i>	1.5	0.15
4. <i>Cochlospermum vitifolium</i>	0.6	0.56
5. <i>Ipomoea wolcottiana</i>	0.1	0.95
6. <i>Acacia farnesiana</i>	0.4	0.69
7. <i>Acacia</i> sp.	0.8	0.41
8. <i>Apoplansia paniculata</i>	0.1	0.97
9. <i>Caesalpinia coriaria</i>	0.3	0.79

Continued



## APPENDIX 1 Continued

Species	<i>t</i>	<i>P</i>
10. <i>Caesalpinia eriostachys</i>	0.2	0.85
11. <i>Caesalpinia platyloba</i>	5.5	<0.01
12. <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	26.4	<0.01
13. <i>Lonchocarpus eriocarinalis</i>	1.0	0.34
14. <i>Pithecellobium dulce</i>	2.1	0.04
15. <i>Gyrocarpus jatrophifolius</i>	0.8	0.41
16. <i>Swietenia humilis</i>	8.0	<0.01
17. <i>Coccoloba barbadensis</i>	1.1	0.30
18. <i>Ruprechtia fusca</i>	0.1	0.90
19. <i>Hintonia latiflora</i>	0.0	1.00

## APPENDIX 2

## Interannual and interspecies comparison of EET dry mass

Source of variation	d.f.	SS	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
Year	1	16 225.2	16 225.2	19.5	<0.001
Species	18	20 795 866.9	1 155 325.9	1387.8	<0.001
Year × species	18	2 10 102.9	11 672.4	14.0	<0.001
Residual	918	7 64 233.3	832.5		
Total	955	22 423 636	23 480.3		

Comparisons for factor: year (2006 vs. 2005) within species  
(*P* < 0.05)

Species	<i>t</i>	<i>P</i>
1. <i>Crescentia alata</i>	1.1	0.28
2. <i>Tabebuia rosea</i>	0.9	0.37
3. <i>Ceiba pentandra</i>	0.3	0.73
4. <i>Cochlospermum vitifolium</i>	0.5	0.62
5. <i>Ipomoea wolcottiana</i>	0.5	0.59
6. <i>Acacia farnesiana</i>	0.7	0.51
7. <i>Acacia</i> sp.	0.9	0.36
8. <i>Apoplanesia paniculata</i>	0.1	0.92
9. <i>Caesalpinia coriaria</i>	0.3	0.80
10. <i>Caesalpinia eriostachys</i>	0.9	0.36
11. <i>Caesalpinia platyloba</i>	3.7	<0.01
12. <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	3.2	<0.01
13. <i>Lonchocarpus eriocarinalis</i>	14.2	<0.01
14. <i>Pithecellobium dulce</i>	0.6	0.54
15. <i>Gyrocarpus jatrophifolius</i>	1.0	0.33
16. <i>Swietenia humilis</i>	5.9	<0.01
17. <i>Coccoloba barbadensis</i>	1.9	0.06
18. <i>Ruprechtia fusca</i>	0.0	0.99
19. <i>Hintonia latiflora</i>	0.1	0.97

## APPENDIX 3

Means ( $\pm$  s.e.) of lag time (LT), germination rate (GR) and maximum germination percentage ( $G_M$ ) of seeds collected in 2006

Species	LT (d)	GR (% d <sup>-1</sup> )	$G_M$ (%)
1. <i>Crescentia alata</i>	3.08 $\pm$ 0.18	68.29 $\pm$ 2.62	71.65 $\pm$ 1.23
2. <i>Tabebuia rosea</i>	4.69 $\pm$ 0.23	54.41 $\pm$ 0.54	92.10 $\pm$ 4.49
3. <i>Ceiba pentandra</i>	5.69 $\pm$ 0.17	22.76 $\pm$ 1.03	68.94 $\pm$ 3.92
4. <i>Cochlospermum vitifolium</i>	2.46 $\pm$ 0.06	56.02 $\pm$ 1.53	22.67 $\pm$ 3.21
5. <i>Ipomoea wolcottiana</i>	0.82 $\pm$ 0.12	90.00 $\pm$ 1.76	94.44 $\pm$ 2.31
6. <i>Acacia farnesiana</i>	5.02 $\pm$ 0.47	32.09 $\pm$ 1.17	78.78 $\pm$ 3.26
7. <i>Acacia</i> sp.	12.55 $\pm$ 1.02	38.49 $\pm$ 1.33	96.66 $\pm$ 3.57
8. <i>Apoplanesia paniculata</i>	63.59 $\pm$ 2.35	0.78 $\pm$ 0.02	45.01 $\pm$ 2.93
9. <i>Caesalpinia coriaria</i>	1.70 $\pm$ 0.12	88.64 $\pm$ 1.14	82.77 $\pm$ 6.69
10. <i>Caesalpinia eriostachys</i>	3.48 $\pm$ 0.30	38.91 $\pm$ 0.69	100.0
11. <i>Caesalpinia platyloba</i>	1.97 $\pm$ 0.15	57.04 $\pm$ 1.02	47.79 $\pm$ 3.36
12. <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	7.05 $\pm$ 0.25	15.05 $\pm$ 0.69	91.43 $\pm$ 3.39
13. <i>Lonchocarpus eriocarinalis</i>	6.48 $\pm$ 0.32	16.96 $\pm$ 0.67	93.03 $\pm$ 1.92
14. <i>Pithecellobium dulce</i>	2.68 $\pm$ 0.24	73.00 $\pm$ 0.67	96.54 $\pm$ 1.11
15. <i>Gyrocarpus jatrophifolius</i>	7.85 $\pm$ 0.08	15.99 $\pm$ 2.58	71.12 $\pm$ 4.99
16. <i>Swietenia humilis</i>	6.74 $\pm$ 0.19	41.67 $\pm$ 2.63	81.12 $\pm$ 5.14
17. <i>Coccoloba barbadensis</i>	13.51 $\pm$ 0.55	6.87 $\pm$ 0.75	47.70 $\pm$ 4.62
18. <i>Ruprechtia fusca</i>	8.75 $\pm$ 0.25	9.69 $\pm$ 0.85	71.70 $\pm$ 2.22
19. <i>Hintonia latiflora</i>	3.93 $\pm$ 0.02	57.12 $\pm$ 0.86	68.83 $\pm$ 2.79

## APPENDIX 4

## Eigenvalues of PCA

Factor	Eigenvalue	Cumulative	% Total	Cumulative
1	2.0	2.0	34.0	34.0
2	1.4	3.4	22.9	56.9
3	1.2	4.7	20.7	77.6
4	0.7	5.4	12.1	89.7
5	0.4	5.8	6.5	96.2
6	0.2	6.0	3.8	100.0

Factor coordinates of the variables [embryo plus extra embryonic tissues (EET)], nitrogen (N), germination rate (GR), seed coat fraction (SC)

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
LogEET	0.57	-0.24	-0.65
N	-0.68	0.11	-0.55
SqrGR	-0.01	0.75	-0.42
log(SC/EET)	-0.78	-0.14	-0.38
Log(lipids/NSCs)	0.52	0.73	-0.05
LnRGR	-0.62	0.44	0.45

## **Capítulo III**

# **Burial and laboratory storage effects on the germination and seed reserve composition of 18 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico**

Artículo con formato para la revista Biotropica

LRH: Soriano, Huante, Gamboa-deBuen, and Orozco-Segovia

RRH: STORAGE, GERMINATION AND SEED RESERVES

**Burial and Storage Effects on Germination and Seed Reserves of 18 Tree Species of a Tropical Deciduous Forest in Mexico**

**Diana Soriano, Pilar Huante, Alicia Gamboa-de Buen and Alma Orozco-Segovia\***

Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., A. P. 70-275.

\*Corresponding author; email: aorozco@ecologia.unam.mx

**Received: \_\_\_\_\_ ; revision accepted: \_\_\_\_\_**

## **ABSTRACT**

In this study, we tested changes in germination and seed reserves after 2 years of burial and 3 years of laboratory storage of 18 tree species of the tropical dry forest. In the tropical dry forest, after dispersal seeds can remain in the soil for eight months before the next rainy season. The knowledge of changes in germination and seed reserve composition is important to know the potential and ecological longevity of seeds and to understand the seed bank dynamics. Seed germination of 18 tree species, was measured at the time of dispersal, after the seeds had been stored in the laboratory and after seeds were buried in two field sites. Lipids, nitrogen and non-structural carbohydrates were quantified at the time of dispersal and after storage. Sixteen species were viable after three periods of laboratory storage (approximately 3 years). Eleven species were viable after two burial periods in the field (approximately 2 years). Ecological longevity of species with impermeable seeds is similar to their potential longevity. Field germination was delayed compared to the germination in the growth chambers. In five species field germination was staggered. Nitrogen exhibited the most variation after storage and burial periods. Lipids had a negative relationship with the water content at the time of dispersal and after one burial period, while non-structural carbohydrates had a positive relationship between these variables. At least 11 of the studied species had potential to form a permanent seed bank.

*Key words:* ecological longevity; potential longevity; seed bank; field germination.

AFTER DISPERSAL, SEEDS CAN GERMINATE, REMAIN IN THE SOIL SEED BANK OR DIE. Soil seed banks (SSB) are buried viable seeds, and play a crucial role in vegetation dynamics (van der Valk & Pederson 1989). In the SSB, the life span of seeds is determined by their genetic and morpho-physiological attributes as well as by the interaction of seeds with biotic and abiotic factors (Garwood 1989, Blaney & Kotanen 2001). Some of the features that may extend seed longevity in field conditions (ecological longevity) are seed size, and the presence of chemical defences and, the presence of dormancy (Vazquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993, Baskin & Baskin 1998, Honda *et al.* 2008, Gardarin *et al.* 2010).

In SSB or storage, it occurs a series of deteriorative changes, related to aging, including reduced enzyme activity, free radical activity, lipid peroxidation and a decrease of stored reserves, such as N-compounds, lipids and carbohydrates (Powell & Matthews 1981, Telewski & Zeevaart 2002, Rajjou & Debeaujon 2008). In nature, deteriorative changes as reserve depletion can occur due to the metabolism increase during partial seed imbibition. As result of deterioration, seeds become unable to germinate, or those that germinate produce weak seedlings (Villiers 1974, Murdoch & Ellis 2000, Witkowski & Wilson 2001). However, partial imbibition also allows seed reserve mobilisation, favouring fast and uniform germination when environmental conditions are favourable (Vozzo & Young 1975, Gamboa de Buen *et al.* 2006). The seed water content, tolerance to dryness and the reserves stored in the seeds determine the length of time that seeds can remain viable in SSB or storage (Baskin & Baskin 1998, Rajjou & Debeaujon 2008) controlling the ecological longevity or potential longevity, respectively (Vasquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993).

Tropical dry forests (TDFs) are ecosystems characterised by a marked dry season that could last from 2-8 mo (Khurana & Singh 2001). In the seasonal ecosystems 76% of species produce dormant seeds (Baskin & Baskin 1998), and germination during the growth season has been reported as staggered (Garwood 1983). In the Chamela TDF, seed dispersal is

distributed throughout the dry season; the seeds of some species remain in the soil for 10 mo, while the seeds of other species are dispersed a few wk before the rainy season (Bullock 1986). Dispersal time and dormancy (Saatkamp *et al.* 2009) suggest the presence of at least a transient SSB in the TDF of Chamela (Maza-Villalobos *et al.* 2011). The presence of dew, due to evotranspiration before the rainy season (Barradas & Gonzalez-Medellin 1999) and dry spells during rainy season (Paramo-Pérez 2009) can have a strong effect on soil moisture availability and it could lead partial imbibition of seeds and to severe drought stress for emerged seedlings (Engelbrecht *et al.* 2006).

Knowledge of potential and ecological longevity of seeds of different species and of the changes in germination and seed reserve composition during seed burial and storage will allow to define the relevance of the SSB under the environmental conditions of the TDF. The aim of the study was to answer the following questions: (1) Does the potential longevity will be different to the ecological longevity in the studied species? (2) Does the ecological longevity will be different in impermeable seeds than in permeable seeds? (3) Does precipitation determines the beginning of germination in the field? (4) Does germination, after storage or burial, change? (5) Does reserves composition, after storage or burial, change? To answer these questions we used 18 coexisting tree species from a highly seasonal TDF on the NW coast of Mexico.

## **METHODS**

The mature seeds of 18 tree species were collected at the peak of the dispersal season, for each species, in 2006 from at least 10 different individuals at the Biological Station of Chamela (19°30'N, 105°03'W) on the Pacific coast of Mexico (Table 1). The climate is remarkably seasonal, with a mean annual temperature of 24.9°C and a mean annual

precipitation of 788 mm (1977–2003). On average, 80% of the annual precipitation occurs between July and October. The region is mainly covered by a TDF (Bullock & Solis-Magallanes 1990).

SEED DRY MASS AND WATER CONTENT.— The seed WC was determined at the time of dispersal based on the seed dry mass, using fresh and dry mass data reported by Soriano *et al.* (2011). The WC was also obtained after one period of storage from the dry and fresh mass values obtained for each species.

SEED STORAGE AND BURIAL.—To evaluate the effects of time and microsite on germination and seed reserve composition, we stored the seeds in three sites. One batch of the seeds of each species was stored in closed plastic bottles in semi-controlled conditions (*i.e.* in a laboratory) in the darkness. The ambient average temperature was 16–24°C, the relative humidity (RH) was 35–50%. Each species remained stored from the date of dispersal to the beginning of the first and the third rainy season in the field, designated 1LP and 3LP, approximately one and three years respectively. Two additional batches were buried in field conditions in the TDF: (1) in an open site (2 m<sup>2</sup> in size), covered with annuals and grasses but deprived of trees, and (2) in a closed site (continuous canopy). In each field site, we buried three lots of seeds in nylon mesh bags at 3 cm depth. Each species remained buried from their dispersal to the beginning of the first or the second rainy season, designated as one burial period (1BP) and two burial periods (2BP). Approximately one and two years respectively.

MICROCLIMATE.—During the first dry season in the two field sites, we recorded the soil temperature (at the surface and at 3 cm depth) and the RH using three sensor devices per site (U23 Pro v2 Temperature/RH Data Logger - U23-001; HOBO, Onset, Cape Cod, MA, USA).

At the two field sites, we obtained the relative soil RH with a Profile Probe PR1/4 (Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK) and the global site factor (GSF) using digital photographs (Valladares 2006). The photos were taken at the soil surface, with north as a reference, using a camera (CoolPix 995, Nikon, Tokyo, Japan) with a fish-eye lens. The images were processed using the software Hemiview v.2.1 (Delta-T Devices Ltd., Burwell, Cambridge, UK). GSF was calculated from values of direct and diffuse radiation, and ranging from 0% to 100%. We obtained precipitation data from the meteorological station of Chamela. Because the superficial water run-off caused the loss of the temperature sensors during the first rain, the soil temperatures and RH in the rainy season were calculated from air temperatures and RH with a regression analysis using the data of maximum air temperature and RH.

GERMINATION IN GROWTH CHAMBERS.—To determine the germination capacity and lag time of each of the tested species, germination tests were conducted after dispersal for seeds of the 18 species. Three replicates per species were made, and 30 seeds per replicate were used. The seeds were germinated in a growth chamber (Lab-Line, Lab-Line Instruments, Inc., Melrose Park, IL, USA) at 25–30°C in 12/12 h of light/dark. Seven of the tested species had an impermeable seed coat (*Acacia farnesiana*, *Acacia* sp., *Caesalpinia coriaria*, *C. eriostachys*, *C. platyloba*, *Enterolobium cyclocarpum* and *Ipomoea wolcottiana*); and were considered physically dormant. The seeds of these species were scarified with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%) to test their germination capacity during each experiment, in growth chambers. After 1LP and 3LP, we conducted seed germination tests as described above. After 1BP and 2BP, at the beginning of the rainy season, the seeds were exhumed. Ninety seeds from each batch were air-dried in the shade for 2 d and germinated in the growth chambers (three replicates and 30 seeds per replicate).



GERMINATION IN THE FOREST SOIL.—To test germination in the soil, after 1BP and 2BP, 90 seeds from each burial site were placed in their respective site (open or closed), inside nylon mesh boxes (11 × 11 × 5 cm), three replicates and 30 seeds per replicate. The boxes were buried in the soil and filled with 3 cm of soil, after that boxes were covered with a removable nylon mesh tape and covered with soil or litter, depending on the local soil-surface conditions. During the first rainy season (1RS), every 3 d, seed germination was recorded. Germination was characterised by protrusion of the radicle. The seed loss due to pathogens, predation or removal was also evaluated. After 2BP, in the second rainy season (2RS), field germination was recorded each week. The events, from the seed collection to the end of the experiment, are shown chronologically in Table 2. The availability of seeds limited the number of experiments.

QUANTIFICATION OF SEED RESERVES.—We measured the seed reserves (lipids, N and NSC) at dispersal as described by Soriano *et al.* (2011). There were three replicates per analysis and per species. The reserve concentration was determined as the percentage of the embryo plus extra-embryonic tissues (EETs), excluding the seed coat. After 1BP (open and closed) and 1LP, 90 seeds from each site were dried in an oven at 55°C, the EETs were separated, and their reserves were quantified.

STATISTICAL ANALYSES.—Cumulative germination curves were fitted using the Table Curve 2D v.3 program (AISN, Software, Chicago, IL, USA). From the curve fittings, the lag time was obtained. The differences in the germination percentage, lag time and seed reserve composition among the treatments were tested with a two-way ANOVA test, using the species and storage site as factors. The Tukey test was used to make post hoc comparisons. The statistical analyses were carried out using the software Sigma Plot v.11 (Systat Software,

Richmond, USA. Regression analysis between reserves and seed WC were carried out using Table Curve 2D v.3.

## RESULTS

**MICROCLIMATE.**—The precipitation during the 2 y that the study lasted showed the erratic pattern that characterises this region (Fig. 1). Throughout the year, the GSF and temperature fluctuation at the soil surface and at 3 cm of depth were higher in the open site than in the closed site (Fig. 1, Table 3). The RH at the soil surface reached 100 percent up to 8 h at night, in both sites, during 1BP (Table 4). At 5 and 15 cm depth, the soil moisture at midday in the closed site was higher than in the open site during the first rainy season (Fig. 1). In spite of the microclimatic differences found between the two sites, most of the species did not show differences between the open and closed site.

**GERMINATION IN THE GROWTH CHAMBERS OF IMPERMEABLE SEEDS.**—At the time of dispersal, the seeds of the seven species with impermeable seed coats did not germinate without scarification. Once scarified, these species germinated from 23 to 100 percent (*Cochlospermum vitifolium* and *Acacia* sp respectively). After 1LP, impermeable species maintained high germination percentages after scarification (60–100%). Additionally, there was a significant increase in the germination of *Caesalpinia platyloba* and *C. vitifolium*, while that of *E. cyclocarpum* and *C. coriaria* seeds decreased significantly but remained above 50 percent ( $F_{6, 24} = 44$ ,  $P < 0.05$ ; Fig. 2).

Seeds without scarification germinated after 1LP. Their germination percentage was lower than that of the scarified seeds except in *C. coriaria*. For *A. farnesiana*, *Acacia* sp., *C.*

*platyloba*, *C. vitifolium* and *I. wolcottiana*, the germination percentages were lower than 10 percent, while for *C. coriaria* and *E. cyclocarpum* the fraction of germination was between 55 and 41 percent. After 3LP, the seven species with impermeable seed coats achieved a germinated fraction of more than 89 percent, once scarified. The non-scarified seeds of four species, *C. coriaria*, *C. platyloba*, *C. vitifolium* and *I. wolcottiana* germinated, while *A. farnesiana*, *Acacia* sp. and *E. cyclocarpum* did not (Fig. 2).

After the impermeable seeds were buried (1BP and 2BP), the germination percentage after scarification was high (> 50%). After 1BP, the non-scarified seeds of the seven species germinated in different percentages. *A. farnesiana*, *Acacia* sp., *C. vitifolium* and *I. wolcottiana* (5–17%) and did not differ between the treatments (Figure 3;  $F_{5, 55} = 17.2$ ,  $P < 0.05$ ), whereas *C. coriaria*, *C. platyloba* and *E. cyclocarpum* had germination percentages of 35, 78 and 57, respectively. Only *E. cyclocarpum* had a higher and faster germination success, after burial in the open than in the closed site. After 2BP, *C. coriaria* seeds were predated, the six remaining species germinated, without scarification (5–25%; Fig. 3).

GERMINATION IN THE GROWTH CHAMBERS OF PERMEABLE SEEDS.—At the time of dispersal, the seeds of permeable species germinated without any treatment (from 33% in *Apoplanesia paniculata* to 100% in *C. eriostachys*; Figure 4). After 1LP, *A. paniculata*, *Ceiba pentandra*, *Pithecellobium dulce*, *R. fusca* and *Swietenia humilis* had a decrease in their germination percentage, *Hintonia latiflora* had an increase, and *C. eriostachys*, *Coccoloba barbadensis*, *Gyrocarpus jatrophiifolius*, *Lonchocarpus eriocarinalis* and *Tabebuia rosae* did not exhibit any change. After 3LP, only nine species germinated; *S. humilis* and *C. barbadensis* did not germinate. *A. paniculata* and *R. fusca* had an increase in their germination percentage compared to that at the time of dispersal and after 1LP. *C. pentandra*, *G. jatrophiifolius*, *L. eriocarinalis*, *P. dulce* and *T. rosae* had a decreased in germination percentage, whereas the

germination percentages of *C. eriostachys* and *H. latiflora* did not differ from that of the previous test ( $F_{10, 20} = 10.6$ ,  $P < 0.05$ ; Fig. 4).

After 1BP, all of the species with permeable seeds germinated in the growth chambers (Fig. 5). The germination percentage of *A. paniculata* increased with respect to the germination achieved at the time of dispersal (Fig. 4). In contrast, *C. eriostachys*, *C. pentandra* and *G. jatrophiifolius* had a decrease in their germination percentage, and *C. barbadensis*, *H. latiflora*, *L. eriocarinalis*, *P. dulce*, *R. fusca*, *S. humilis* and *T. rosae* did not show any change ( $P < 0.05$ ).

After 2BP, only five species germinated. In comparison with the germination after 1BP, the germination percentages of *C. pentandra* (in the closed site) and *G. jatrophiifolius* (in the open site) increased, the germination percentages of *C. barbadensis* and *R. fusca* (both in the open site) decreased, and the germination of *A. paniculata* did not change ( $P < 0.05$ ).

GERMINATION IN THE FIELD OF IMPERMEABLE SEEDS.—Seeds were not scarified for these experiments. In the field, during the 1RS, the seeds of *C. platyloba* and *E. cyclocarpum* germinated in low percentages (2–6%), the *Acacia* sp. (17%), and *C. coriaria* (25%) seeds only germinated in the open site. The other species did not germinate in the field. However, during the 2RS, the seeds of *C. vitifolium*, *E. cyclocarpum*, *I. wolcottiana* and *C. platyloba* (in the closed site) germinated. Only *I. wolcottiana*, during the second rainy season, germinated in a relatively high percentage in the closed site (30%), with a significant difference from its germination in the open site (10%). ( $F_{5, 55} = 17.2$ ,  $P < 0.05$ ; Fig. 3). During the two rainy seasons, the field germination percentages were lower (3.3–20%) than those reached in the growth chambers (10–78%), except for *I. wolcottiana* in the closed site.

GERMINATION IN THE FIELD OF PERMEABLE SEEDS.—During 1RS, the seeds of *A. paniculata*, *C. eriostachys*, *C. pentandra*, *G. jatrophiifolius*, *H. latiflora*, *L. eriocarinalis*, *R. fusca*, *S. humilis* and *T. rosae* germinated in both field sites, whereas the *C. barbadensis* seeds only germinated in the closed site. During 2RS, the seeds of *A. paniculata*, *C. pentandra*, *G. jatrophiifolius*, and *R. fusca* germinated in the open site. *A. paniculata* in the closed site. In nine of the 11 permeable species, the germination in the field was lower and started later than in the laboratory (Fig. 5;  $P < 0.05$ ). *A. paniculata*, *C. eriostachys*, *Gyrocarpus*, *R. fusca* and *S. humilis* had staggered or delayed germination (Fig. 5).

CHANGES IN RESERVE COMPOSITION.—After 1LP or 1BP, in 14 of the 18 studied species, there was a decrease in the N concentration from the values found at the time of dispersal ( $F_{17,51} = 26.4$ ,  $P < 0.05$ ; Table 5). *R. fusca* showed the greatest difference. After 1LP or 1BP, in *C. barbadensis*, *E. cyclocarpum*, *H. latiflora*, *L. eriocarinalis*, *P. dulce*, *R. fusca* and *S. humilis* the seed lipid concentration differed from that at the time of dispersal ( $F_{(17,51)} = 5.2$ ,  $P < 0.05$ ; Table 5). In seven species, the lipid reserves decreased in the laboratory conditions. In none of the studied species, the NSC concentration significantly differed among the dispersal time, after 1LP and after 1BP.

ANOVA tables and comparisons for factor within species ( $P < 0.05$ ) to figures 2-5 and for table five are available from the author on request.

RESERVES AND WATER CONTENT.—In the permeable seeds, there was a negative relationship between the WC and lipid reserves, and the opposite trend was found between the NSC and WC. This relationship was also found after 1BP in the open site (Fig. 6).

## DISCUSSION

After 2BP, we found that the seeds of 11 out of the 18 tested species retained their viability in percentage  $\geq 10$ . Particularly, seeds with impermeable seed coats maintained a germination capacity near to 100 percent (tested once scarified). These species could form at least, a transient seed bank and their ecological longevity was similar to the potential longevity.

GERMINATION IN THE GROWTH CHAMBERS OF IMPERMEABLE SEEDS.—The seeds of species with an impermeable seed coat were viable at the time of dispersal and after 1LP and 3LP (between 755 and 955 days depending on each species' dispersal time) as showed the germination of the scarified seeds. The increase in the germination percentage of scarified seeds of *C. vitifolium* and *C. platyloba* after 1LP suggests that they underwent physiological and physical dormancy (*sensu* Baskin & Baskin 2004). However, this was not tested because the  $H_2SO_4$  erodes the entire seed coat, making it weak and permeable, facilitating the protrusion of a physiologically dormant embryo.

After 1LP, at least a fraction of the non-scarified seeds of seven species with physical dormancy germinated. These species can be separated into two groups: (1) seeds with the highest WC (*A. farnesiana*, *Acacia* sp., *I. wolcottiana*, *C. platyloba* and *C. vitifolium*) lost dormancy faster than (2) seeds with the lowest water content (*C. coriaria* and *E. cyclocarpum*) as Murdoch and Ellis (2000) reported. After 3LP, non scarified seeds of four species germinated: *C. coriaria* (65%), *C. platyloba* (77%), *C. vitifolium* (74%), and *I. wolcottiana* (25%). In contrast, the *A. farnesiana*, *Acacia* sp. and *E. cyclocarpum* seeds did not germinate, but the seeds were viable. These results demonstrated that seeds can have re-instated sensitivity to physical dormancy (Jayasuriya *et al.* 2008) in semi-controlled conditions.

After 1BP, impermeable seeds retained their germination capacity, shown by the germination of exhumed and scarified seeds (60–100%). The survival of *C. coriaria* seeds was depleted by predation after 2BP but the remaining species showed similar germination results than after 1BP, once scarified. This result shows that for the species with physical dormancy, the ecological longevity might be close to the potential longevity (*sensu* Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia 1993). A long ecological longevity implies that these species can remain in a SSB more than one dry season even in an open site, this characteristic make them candidates to colonized perturbed areas.

After 1BP and 2BP, in exhumed and non-scarified seeds, we observed that the physical dormancy was broken in different degrees, and this result may be related to soil temperature fluctuation and the sensitivity of each species to these conditions (Moreno-Casasola *et al.* 1994). During burial, this fluctuation could enhance the loss of physical dormancy by dislodging or weakening the natural openings of the seeds, such as micropyle or hilar fissures, enhancing water uptake and germination (Russi *et al.* 1992a). Additionally, it has been reported that fungal activity can release the physical dormancy as in the seeds of *Albizia julibrissin* (Gogue & Emino 1979, Sanchez-Coronado *et al.* 2011). The disparity of the species that germinated after 1BP but not after 2BP, and vice versa, could be related to a cycle of sensitivity to physical dormancy-break (Jayasuriya *et al.* 2008). The soil moisture changes through rainy season may be involved too (Russie *et al.* 1992b),

GERMINATION IN THE GROWTH CHAMBERS OF PERMEABLE SEEDS.—In contrast to the impermeable seed species, at dispersal time, the 11 species with permeable seeds germinated in percentages higher than 33 percent, without any pre-treatment. At the time of dispersal, the seeds of *H. latifolia*, *R. fusca* and *A. paniculata* presented partial physiological dormancy. This dormancy, after 3LP, was totally overcome by after-ripening in the two first species,

while in the last species; physiological dormancy may be present in a small fraction of the subpopulation. A fraction of the seed population of *A. paniculata* did not germinate but the imbibed seeds were firm and did not appear to be rotten (Baskin & Baskin 1998). In the remaining seven species, after 1LP germination had not changes in five species but it decreased after 3LP (except in *C. eriostachys*) these findings are in accordance with the results of a longevity study developed with 100 tree species in a seasonally moist tropical forest in Panama (Sautu *et al.* 2006).

After 3LP, *C. pentandra* had a germination of 6 percent whereas *C. barbadensis* and *S. humilis* did not germinate. In *C. barbadensis*, the decrease in N concentration found in their seeds suggests a seed viability loss, since seed N content had been related to seed vigour (Hara & Toriyama 1998). In *S. humilis* and *C. pentandra*, the viability loss could be related to the high lipid concentration (>40%), lipidic seeds may be peroxidated (Bailly 2004), as previously reported for *Ceiba* species (Orwa *et al.* 2009). Seeds with a high lipid concentration could be viable only short time after collection and may need controlled conditions as low temperature to extent their longevity.

After 1BP, the lack of changes in germination of *C. barbadensis*, *H. latiflora*, *L. eriocarinalis*, *P. dulce*, *R. fusca*, *S. humilis* and *T. rosae* showed that these species can wait, on the forest soil, until the beginning of the rainy season without detriment to their germination capacity. An opposite trend was shown in *C. eriostachys*, *C. pentandra* and *G. jatrophifolius*, which a fraction of the seeds population could enter a kind of dormancy (the imbibed seeds were not rotten) or become non-viable. Whereas the seeds of *A. paniculata* after 1BP had a higher germination because a released from physiological dormancy, that was no attained after laboratory storage.

After 2BP, *C. eriostachys*, *H. latiflora*, *L. eriocarinalis*, *P. dulce*, *S. humilis* and *T. rosae* seeds were lost to predation or rotting, which are causes suggested for the poverty of SSB in



the TDF (Khurana & Singh 2001). The high abundance of *C. eriostachys* in the SBC of Chamela (Huante & Rincon 1998) and its high potential longevity suggest that survival of its seeds depends on the arrival to safe sites after dispersal (Marone *et al.* 2004). Germination of a fraction of the seeds of *A. paniculata*, *C. pentandra*, *C. barbadensis*, *G. jatrophiifolius* and *R. fusca* showed that the seeds of these species could be part of a 1–2 yr SSB. Changes in germination after burial could be related to the wide soil temperature fluctuations (Vleeshouwers *et al.* 1995), the variations in soil RH (Garwood & Lighton 1990) or a secondary dormancy (Baskin & Baskin 1998).

GERMINATION IN THE FIELD OF IMPERMEABLE SEEDS.—During 1RS a fraction of the seeds of seven species germinated in the field and after 2RS the germination of the six remaining species (*C. coriaria* was predated) also germinated. Because all of the species germinated in growth chambers after 1BP, in greater percentages than in the field, the lack of field germination of a fraction of the seeds is likely due to environmental factors (Russi *et al.* 1992b). Different germination percentage in both years showed the loss and re-instatement of sensitivity physical dormancy break in the field (Quinlivan 1968, Jayasuriya *et al.* 2008). Germination in five species with impermeable seeds was delayed or staggered. The causes of this staggered germination may be the same than in the case of permeable seeds discussed below.

GERMINATION IN THE FIELD OF PERMEABLE SEEDS.—Ten species germinated in the field during the 1RS. Germination onset in the field was delayed and it was also lower than germination in the laboratory. The two study years had a precipitation (1059.42 and 1032.12 mm) above the annual mean (788 mm). However, 14–5 d dry spells were observed in both years. The fact that approximately 30 days separated the first rain from the establishment of the rainy season

may have limited the onset of germination, as in arid environments where rain marks the beginning of germination (Venable *et al.* 1993).

Whereas the erratic precipitation and fluctuations in temperature could have prevented the species from attaining their potential germination capacity since even if seeds can absorb water from a thin film of water or from water vapour (Wuest 2007); during periods without precipitation, imbibition and germination would be slower than with high water availability (Garwood 1989). A staggered germination leads to staggered seedling recruitment that may provide an insurance against eventual unfavourable conditions (Donahue 2005), such as the conditions that plant species experience in Chamela (Bullock & Solis-Magallanes 1990, Páramo-Pérez 2009).

Dry spells in the studied years were not as many and neither as longer as in years with a lower precipitation (Páramo-Pérez 2009) what make us think that germination and establishment of studied species may endure even harder conditions. No germination in the field can be related to the germinating seeds death or the induction of secondary dormancy. In the soil seeds are under influence of substances product of leakage or decomposition other seeds, fruits or leaves (Hilhorst & Karssen 2000), environmental cues as a low temperature due to the canopy close may be related too.

The germination capacity of exhumed seeds was higher in the laboratory conditions than in field conditions in 16 of the 18 studied species. Only for *C. eriostachys*, and for *S. humilis*, the lag time did not differ between the field and the laboratory. These species may be categorised as rapid-rainy species (Garwood 1983). It has been reported for *Swietenia macrophylla* that its seed coat stores water, making it available for the embryo independent of future rainfall (Sousa-Paiva *et al.* 2006). In *C. eriostachys*, a remnant of the aleurone layer might play a similar role and, when it is imbibed, retain moisture (D. Soriano pers. obs). Of the five species available during the 2RS, only four germinated in the field (*G. jatrophifolius*

and *R. fusca* only in the open site) with a shorter lag time than in the IRS. This result could be related to advances in the germination process during the burial period resulting in a natural priming (Gamboa de Buen *et al.* 2006), and fast germination when suitable environmental conditions (precipitation) arrive.

RESERVES.—During 1LP and 1BP, the seeds underwent changes in their N and lipid concentration. The N concentration decreased in 14 of the 18 studied species. In these species, depending on storage conditions, the decrease in N concentration may be related to the field lixiviation of N compounds, the metabolic activity, the action of reactive oxygen species or to an aging process (Ross 1984, Bewley & Black 1994). The impermeable seeds also exhibited decreased N reserves, and the two last causes might be more important for these species.

Even if the degradation of macromolecules during seed aging could be related to a reduction of the germination percentage (Galleschi *et al.* 2002, Pukacka & Ratajczak 2007), there was not a direct relationship between the decrease in N concentration and the decline of germination. It is difficult to relate these variables because we do not know: (1) what degree of reserve depletion caused the seed viability loss; and (2) which species did not germinate due to secondary dormancy instead of viability loss. Additionally, the rates of deterioration vary among species (Priestley 1986), and the time after which stored seeds become unable to germinate also depends on their genetic properties and storage conditions (Walters *et al.* 2005).

In addition to the lipid changes during accelerated seed aging, changes in lipid concentration in the seeds of wild species are rarely reported in the literature (Hoshizaki & Miguchi 2005, Alvarado-Lopez 2012). In our work, seven species had a decrease in their lipid concentration, after 1BP or 1LP. The seven species that showed a reduction in lipid

concentration had a WC between 11 and 70 percent, and therefore the lipid loss might be related to metabolic activity showed in other species with a WC above 10 percent (Pritchard & Dickie 2003).

At the time of dispersal in permeable seeds, there were negative relationships between lipids and WC and a positive relationship between NSC and WC. The fact that the lipids or NSC and WC relationships remained after 1BP, in spite of the fact that some species lost more lipids than others, emphasises the importance of the reserve composition and their affinity of water (Bewley & Black 1994,) in maintaining WC even in field conditions. Since non-structural carbohydrates have affinity for water in seed storage tissues, in contrast, lipids have fewer attraction points with water (Pritchard & Dickie 2003).

CONCLUSIONS.—Our study shows that for the studied species, a fraction of the seeds could survive in field conditions for at least two years, and some of them maintained a high germination percentage. Lack of difference in germination result between burial sites could reflect the high rank of environmental conditions that seeds of the studied species can survive; although a slight greater germination was registered in open site as has been previously reported (Vieira 2006). Once scarified, the seeds of species with physical dormancy showed the highest proportions of germinated seeds after laboratory storage and burial. The germination in the field was delayed with respect to the germination in the growth chambers, and in five species, the germination was staggered throughout the rainy season. Among the seed reserves, the N content exhibited the greatest changes after 1BP or 1LP. The lipid concentration had a negative relationship with the WC at dispersal and after 1BP, while the NSC content had a positive relationship with WC. Therefore, the scarcity of reports of a seed bank in the TDF could be more related to other factors, such as the slope of the terrain or the post-dispersal position of seeds, than to the seed life span.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

We thank Posgrado en Ciencias Biológicas-UNAM and the Chamela Biology Station (IB-UNAM) for the use of their research facilities and for providing logistical support. We also thank to Ma. Esther Sánchez-Coronado and Irma Acosta Calixto for their technical assistance. Gustavo Verduzco Karen Suarez and Jorge Blanco were very helpful with the seed processing and fieldwork. This work was supported by Dirección General de Asuntos del Personal Académico-UNAM [IN 232802-3] and Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología [PhD scholarship 187210 to Diana Soriano].

## **LITERATURE CITED**

- ALVARADO-LOPEZ, S. 2012. Acondicionamiento natural de las semillas de plantas del estado de Veracruz. MSc dissertation. Universidad Nacional Autónoma de México, México, pp.57.
- BAILLY C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Sci. Res.* 14: 93–107.
- BARRADAS, V. L. AND , M. G. GONZALEZ-MEDELLÍN. 1999. Dew and its effect on two heliophile understory species of a tropical dry deciduous forest in Mexico. *Int. J. Biometeorol.* 43: 1–7.
- BASKIN, C. C. AND J. M. BASKIN. 1998. *Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination.* Academic Press, San Diego. 666 pp.
- BASKIN, C. C. AND J. M. BASKIN. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 14: 1–16.
- BEWLEY, J. D. AND M. BLACK. 1994. *Seeds: physiology of development and germination.* Plenum Press, NY, U.S.A.

- BLANEY, C. S. AND P. M. KOTANEN. 2001. Effects of fungal pathogens on seeds of native and exotic plants: a test using congeneric pairs. *J. Appl. Ecol.* 38: 1104–1113.
- BULLOCK, S. H. 1986. Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of Mexico. *Arch. Meteorol. Geogr. Bioclimat.* 36:297–316.
- BULLOCK, S. H. AND J. A. SOLIS-MAGALLANES. 1990. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest. *Biotropica* 22: 22–35.
- DONOHUE, K. 2005. Seeds and seasons: interpreting germination timing in the field. *Seed Sci. Res.* 15: 175–187.
- ENGELBRECHT, B. M. J., J. W. DALLING, T. R. H. PEARSON, E. R. L. WOLF, D. A. GALVEZ, E. T. KOEHLER, AND E. M. T. TYREE. 2006. Short dry spells in the wet season increase mortality of tropical pioneer seedlings. *Oecologia* 148: 258–269.
- GALLESCHI, L., A. CAPOCCHI, S. GHIRINGHELLI, AND F. SAVIOZZI. 2002. Antioxidants, free radicals, storage proteins, and proteolytic activities in wheat (*Triticum durum*) seeds during accelerated aging. *J. Agric. Food Chem.* 50: 5450–5457.
- GAMBOA-DE BUEN, A., R. CRUZ-ORTEGA, E. MARTÍNEZ-BARAJAS, M. E. SÁNCHEZ-CORONADO, AND A. OROZCO-SEGOVIA. 2006. Natural priming as an important metabolic event in the life history of *Wigandia urens* (Hydrophyllaceae) seeds. *Physiol. Plantarum* 128: 520–530.
- GARDARIN, A., C. DURR, M. R. MANNINO, H. BUSSET, AND N. COLBACH. 2010. Seed mortality in the soil is related to seed coat thickness. *Seed Sci. Res.* 20: 243–256.
- GARWOOD, N. C. 1983. Seed germination in a seasonal tropical forest in Panama: a community study. *Ecol. Monogr.* 53: 159–181.
- GARWOOD, N. C. 1989. Tropical soil seed banks: a review. *In* M. Leck, V. Parker, and R. Simpson (Eds.). *Ecology of soil seed banks*, pp. 149–209. Academic Press, San Diego, U.S.A.

- GARWOOD, N.C. AND J. R. B. LIGHTON. 1990. Physiological ecology of seed respiration in some tropical species. *New Phytol.* 115: 549–558.
- GOGUE, G. J. AND E. R. EMINO. 1979. Seed coat scarification of *Albizia julibrissin* Durazz by natural mechanisms. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104: 421–423.
- HARA, Y. AND K. TORIYAMA. 1998. Seed nitrogen accelerates the rates of germination, emergence, and establishment of rice plants. *Soil Sci. Plant Nutr.* 44: 359–366.
- HILHORST, H. W. M. AND C. M. KARSEN. 2000. Effects of chemical environment on seed germination. *In* M. Fenner, (Ed.). *Seeds: the ecology of regeneration in plants communities*, pp. 293–309. CAB International, Wallingford, UK.
- HONDA, Y. 2008 Ecological correlations between the persistence of the soil seed bank and several plant traits, including seed dormancy. *Plant Ecol.* 196: 301–309
- HOSHIZAKI, K. AND H. MIGUCHI. 2005. Influence of forest composition on tree seed predation and rodent response: a comparison of monodominant and mixed temperate forest in Japan. *In* P. M. Forget, J. E. Lambert, P. E. Hulme, and S. B. Van der Wall (Eds.). *Seed fate. Predation, dispersal and seedling establishment*. pp. 253–267. CABI Publishing, Wallingford. U.K.
- HUANTE P. AND E. RINCON. 1998. Responses to light changes in tropical deciduous woody seedlings with contrasting growth rates. *Oecologia.* 113: 53–66.
- JAYASURIYA G. K. M. G., J. M. BASKIN, AND C. C. BASKIN. 2008. Cycling of sensitivity to physical dormancy-break in seeds of *Ipomoea lacunose* (Convolvulaceae) and ecological significance. *Ann. Bot.* 101: 341–352.
- KHURANA, E. AND J. S. SINGH. 2001. Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. *Environ. Conserv.* 28: 39–52.

- MARONE, L. V.R. CUETO, F.A. MILESI, AND C.J. LOPEZ. 2004. Soil seed bank composition over desert microhabitats: patterns and plausible mechanisms. *Can J. Bot.* 82: 1809–1816.
- MAZA-VILLALOBOS, S., P.BALVANERA, AND M. MARTÍNEZ-RAMOS. 2011. Early regeneration of tropical dry forest from abandoned pastures: contrasting chronosequence and dynamic approaches. *Biotropica.* 43: 666– 675.
- MORENO-CASASOLA, P., J. P. GRIME, AND M. L. MARTÍNEZ. 1994. A comparative study of the effects of fluctuations in temperature and moisture supply on hard coat dormancy in seeds of coastal tropical legumes in Mexico. *J. Trop. Ecol.* 10: 67–86.
- MURDOCH, A. J. AND ELLIS, R. H. 2000. Dormancy, viability and longevity. Pp. 183–214. in: Fenner, M, (eds.). *Seeds: the ecology of regeneration in plants communities.* CAB International, Wallingford. 410 pp.
- ORWA, C., A.MUTUA, R. KINDT, R. JAMNADASS, AND A. SIMONS. 2009. Agroforestry Database:a tree reference and selection guide v. 4.0.  
<http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>. (10 June 2011).
- PÁRAMO-PÉREZ, M., E. 2009. Análisis temporal de los eventos de sequías cortas y su efecto en la fisiología y supervivencia de plántulas de cuatro especies arbóreas de la Selva Baja Caducifolia. MSc dissertation. Universidad Nacional Autónoma de México, México. pp. 67.
- POWELL, A. A. AND S. MATTHEWS. 1981. Association of phospholipids changes with early stages of seed ageing. *Ann. Bot.* 47: 709–712.
- PRIESTLEY, D. A. 1986. *Seed aging.* Cornell University Press. Ithaca. U.S.A.
- PRITCHARD, H. W. AND J. B. DICKIE. 2003. Predicting seed longevity; the use and abuse of seed viability equations. *In* R. D. Smith, J. B. Dickie, S. H. Linington, H. W.



- Pritchard, and P. J. Probert (Eds.). Seed conservation: turning science into practice. pp. 654–721. Royal Botanic Kew. UK.
- PUKACKA, S. AND E. RATAJCZAK. 2007. Age-related biochemical changes during storage of beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds. *Seed Sci. Res.* 17: 45–53.
- QUINLIVAN, B. J. 1968. Seed coat impermeability in the common annual legume pasture species of Western Australia. *Aust. J. Exp. Agr.* 8: 695–701.
- RAJOU, L. AND I. DEBEAUJON. 2008. Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. *Compte Rendues Biologiques* 331: 796–805.
- ROSS, J. D. 1984. Metabolic aspects of dormancy. *In* D. R. Murray (Ed.). *Seed Physiology* Vol. 2 Germination and reserve mobilization. pp. 45–75. Academic Press, Sydney. Aus.
- RUSSI, L., P. S. COCKS, AND E.H. ROBERTS. 1992a. Seed bank dynamics in a Mediterranean grassland. *J. Appl. Ecol.* 29: 763–771.
- RUSSI, L., P. S. COCKS, AND E. H. ROBERTS. 1992b. The fate of legume seeds eaten by sheep from a Mediterranean grassland. *J. Appl. Ecol.* 29: 772–778.
- SAATKAMP, A., L. AFFRE, T. DUTOIT, AND P. POSCHLOD. 2009. The seed bank longevity index revisited: limited reliability evident from a burial experiment and database analyses. *Ann. Bot.* 104: 715–724.
- SÁNCHEZ-CORONADO, M.E., J. MÁRQUEZ-GUZMÁN, J. ROSAS-MORENO, G. VIDAL-GAONA, M. VILLEGAS, S. ESPINOSA-MATÍAS, Y. OLVERA-CARRILLO, AND A. OROZCO-SEGOVIA. 2011. Mycoflora in exhumed seeds of *Opuntia tomentosa* and its possible role in seed germination. *Appl. Env. Soil Sci.* Article ID 107159. doi:10.1155/2011/107159
- SAUTU, A., J. M. BASKIN, C. C. BASKIN, AND R. CONDIT. 2006. Studies on the seed biology of 100 native species of trees in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America. *For. Ecol. Manage.* 234: 245–263.

- SORIANO, D., A. OROZCO-SEGOVIA, J. MARQUEZ-GUZMAN, K. KITAJIMA, AND P. HUANTE. 2011. Seed reserve composition in nineteen tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Ann. Bot.* 107: 939–951.
- SOUSA-PAIVA, E. A., J. P. LEMOS-FILHO, AND D. M. TROMBERT-OLIVEIRA. 2006. Imbibition of *Swietenia macrophylla* (Meliaceae) seeds: the role of stomata. *Ann. Bot.* 98: 213–217.
- TELEWSKI, F. W. AND J. A. D. ZEEVAART. 2002. The 120-yr period for Dr. Beal's seed viability experiment. *Am. J. Bot.* 89: 1285–1288.
- VALLADARES, F. 2006. La disponibilidad de luz bajo el dosel de los bosques y matorrales ibéricos estimada mediante fotografía hemisférica. *Ecología* 20: 11–30.
- VAN DER VALK, A.G. AND R. L. PEDERSON. 1989. Seed banks and the management and restoration of natural vegetation. In M. A. Leck, V. T. Parker, and R. L. Simpson. (Eds.). *Ecology of Soil Seed Banks*. pp. 329–346. Academic Press, NY. U.S.A.
- VAZQUEZ-YANES, C. AND A. OROZCO-SEGOVIA. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24: 69–87.
- VENABLE, D. L., C. E. PAKE, AND A. C. CAPRIO. 1993. Diversity and coexistence of Sonoran Desert winter annuals. *Plant Species Biology* 8: 207–216.
- VILLIERS, T. A. 1974. Seed aging: chromosome stability and extended viability of seeds stored fully imbibed. *Plant Physiol.* 53: 875–878.
- VIEIRA, T. A. 2006. Seed aging: chromosome stability and extended viability of seeds stored fully imbibed. *Plant Physiol.* 53: 875–878.
- VLEESHOUWERS, L.M., H. J. BOUWMEESTER, AND C. M. KARSSSEN. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *J. Ecol.* 83: 1031–1037.

- VOZZO, J. A. AND R. W. YOUNG. 1975. Carbohydrate, lipid, and protein distribution in dormant, stratified, and germinated *Quercus nigra* embryos. *Botanical Gazette* 136: 306–311.
- WALTERS, C., L. M. HILL, AND L. J. WHEELER. 2005. Dying while dry: kinetics and mechanisms of deterioration in desiccated organisms. *Integrative and Comparative Biology* 45: 751–758.
- WITKOWSKI, E. T. F AND M. WILSON. 2001. Changes in density, biomass, seed production and soil seed banks of the non-native invasive plant, *Chromolaena odorata*, along a 15 year chronosequence. *Plant Ecol.* 152: 13–27.
- WUEST, S. 2007. Vapour is the principal source of water imbibed by seeds in unsaturated soils. *Seed Sci. Res.* 17:3–9.

## TABLES

**TABLE 1.** *List of studied species, peak of dispersal time (collection date 2005\* and 2006) and the time that separates it from the first rainy season.*

	Species	Collection date	Time (d)
1	<i>Acacia farnesiana</i> Willd.	March	110
2	<i>Acacia</i> sp.	March	110
3	<i>Apoplanesia paniculata</i> Presl.	Nov*	230
4	<i>Caesalpinia coriaria</i> Willd.	Jan	170
5	<i>Caesalpinia eriostachys</i> Benth.	April	35
6	<i>Caesalpinia platyloba</i> S. Wats.	Jan	170
7	<i>Ceiba pentandra</i> Gaertn.	May	27
8	<i>Coccoloba barbadensis</i> Jacq.	March	110
9	<i>Cochlospermum vitifolium</i> Spreng.	May	27
10	<i>Enterolobium cyclocarpum</i> Griseb.	May	27
11	<i>Gyrocarpus jatrophifolius</i> Domin.	April	35
12	<i>Hintonia latiflora</i> Bullock.	March	110
13	<i>Ipomoea wolcottiana</i> Rose.	April	27
14	<i>Lonchocarpus eriocarinalis</i> Micheli.	Jan	170
15	<i>Pithecellobium dulce</i> Benth.	March	110
16	<i>Ruprechtia fusca</i> Fern.	Nov *	230
17	<i>Swietenia humilis</i> Zucc.	May	27
18	<i>Tabebuia rosea</i> DC.	May	27

**TABLE 2.** *Chronological sequence of the handle and treatments applied to the seeds of the studied species during the study.*

<b>Year</b>	<b>Season</b>	
2005	Dry	Seed Collection Reserve determination Germination tests in growth chambers
2006		Storage                      Burial                      Burial <b>1LP                      1BP-Open                      1BP-Closed</b>
		Reserves determination Germination test in growth chambers
		Rainy
2007	Dry	Burial                      Burial <b>2BP- Open                      2BP-Closed</b>
		Germination test in growth chambers
	Rainy	<b>2RS</b> Record of field germination
	2009	Dry

**TABLE 3.** Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) at surface level and at 3 cm depth in the open and closed site during the IBP. \* Indicate estimated values.

Month	Open site				Closed site			
	Surface		3cm depth		Surface		3cm depth	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min
Oct-05	44.9	18.3	38.2	25.2	35.7	17.9	36.3	18.9
Nov-05	36.1	17.9	29.4	21.8	30.7	17.5	27.2	16.4
Dec-05	35	21.3	34.2	25.5	30.7	21.3	26.2	17.4
Jan	43.9	11.8	37.4	24.8	37.4	9.42	38.1	18.4
Feb	53.5	11.4	45.4	21.0	41.1	11.1	46.4	16.3
March	61.3	10.6	53.0	23.6	54.7	9.8	42.9	15.2
April	59.2	13.3	51.2	22.9	51.8	10.2	49.7	15.6
May	59.2	14.9	50.7	26.7	53.5	14.4	50.2	20.2
June*	37.8	20.4	38.2	27.4	30.3	21.2	29.2	15.5
July*	43.6	17.6	37.7	25.9	30.9	20.8	29.8	15.5
Aug*	42.3	18.2	36.5	26.3	31.0	20.7	29.9	15.5
Sept*	48.9	15.1	42.4	24.7	31.3	20.5	30.1	15.5
Oct*	44.1	17.3	38.2	25.8	32.1	19.9	30.9	17.5

Regression equations for estimated values:

Open site:

$$T_{\text{Surface}_{\text{Max}}} = 240.9 + (-5.9 \times T_{\text{MAX}}); r^2 = 0.43, P < 0.05$$

$$T_{\text{Surface}_{\text{Min}}} = -76.5 + (2.8 \times T_{\text{MAX}}); r^2 = 0.73, P < 0.01$$

$$T_{\text{3cm}_{\text{Max}}} = 97.8 + ((-0.001) \times T_{\text{MAX}}); r^2 = 0.47, P < 0.01$$

$$T_{\text{3cm}_{\text{Min}}} = (-21.7) + (1.4 \times T_{\text{MAX}}); r^2 = 0.57, P < 0.01$$

Closed site:

$$T_{\text{Surface}_{\text{Max}}} = 77.3 + (-1.4 \times \text{RH}); r^2 = 0.63, P < 0.05$$

$$T_{\text{Surface}_{\text{Min}}} = 3.1 + (0.001 \times T_{\text{MAX}}); r^2 = 0.76, P < 0.05$$

$$T_{\text{3cm}_{\text{Max}}} = 71.2 + (-1.2 \times \text{RH}); r^2 = 0.58, P < 0.01$$

$$T_{\text{3cm}_{\text{Min}}} = 15.5 + ((0.2 \times T_{\text{MAX}})); r^2 = 0.57, P < 0.05$$

**TABLE 4.** *Time (hr) per day that soil surface achieved the 100% of relative humidity in the dry season in the two field sites*

	Open	Closed
October	8	8
November	7	8
December	8	8
January	8	8
February	6	7
March	3	4
April	3	3
May	3	2

**TABLE 5.** *Percentage of change in seed N and lipid concentration after one burial period (1BP) and one laboratory period (1LP). ANOVA and Tukey test were used.*

*Asterisks denote significant differences ( $P < 0.05$ ) with concentration at dispersal time.*

Species	Nitrogen			Lipids		
	Storage site		1LP	Storage site		1LP
	1BP	Closed		1BP	Closed	
<i>Acacia farnesiana</i>	3.0	5.3	4.2	8.1	-4.1	-11.6
<i>Acacia sp.</i>	-10.7*	-10.9*	-13.1*	-9.6	3.7	-5.9
<i>Apoplania paniculata</i>	-5.2*	-8.9*	-12.4*	4.0	-6.2	-0.5
<i>Caesalpinia coriaria</i>	-13.6*	-12.2*	-12.3*	-9.9	1.0	-0.9
<i>Caesalpinia eriostachys</i>	-7.7*	-7.4*	-1.3	1.8	2.0	-1.1
<i>Caesalpinia platyloba</i>	-17.0*	-19.4*	-12.2*	7.3	-1.0	-10.5b
<i>Ceiba pentandra</i>	-7.3*	-7.6*	-6.0*	-1.3	-0.5	-1.1
<i>Coccoloba barbadensis</i>	-10.0	-17.6b*	-10.3	-34.0*	-27.5*	-62.4*
<i>Cochlospermum vitifolium</i>	-10.8*	-7.0*	-7.2*	5.9	2.6	6.5
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	-12.4*	-13.5*	-11.6*	-3.9	3.5	-53.7*
<i>Gyrocarpus jatrophiifolius</i>	-8.1*	-10.6*	-12.4*	-8.9	0.01	-9.3
<i>Hintonia latiflora</i>	-0.6	-0.7	7.9	7.4	18.7	-32.9*
<i>Ipomoea wolcottiana</i>	-15.5*	-11.9*	-15.7*	-0.4	-2.7	-4.8
<i>Lonchocarpus eriocarinalis</i>	2.8	2.9	5.3	-3.7	-14.4*	10.6
<i>Pithecellobium dulce</i>	-10.5*	-2.4	-7.7*	-16.6*	-5.2	-13.5*
<i>Ruprechtia fusca</i>	-48.2*	-47.5*	-45.4*	27.9	12.3	-30.2*
<i>Swietenia humilis</i>	-0.7	-0.6	-1.9	1.7	-1.5	-4.8*
<i>Tabebuia rosea</i>	-6.4*	-4.1	-9.7*	-7.0	-5.1	0.7



## FIGURES LEGENDS

**FIGURE 1.** Microclimate data during the study. (A) Precipitation in the Chamela Biological Station in 2006 and 2007 from June to October. (B) Soil relative humidity (RH) at 5 cm and 15 cm in the open site and in the closed site at midday. (C) Global site factor (GSF) in the open site and in the closed site in 2006. Asterisks in (B) and (C) denote significant difference between the two sites in each month (t-test,  $P < 0.05$ )

**FIGURE 2.** Germination percentage of the studied species with impermeable seed coat at dispersal (D-scarified), after one and three laboratory periods (1LP, 3LP) scarified (S) and non-scarified (NS) seeds. Bars represent the final germination percentage obtained for each species in each treatment  $\pm$  SD. Multiple comparisons (Tukey test;  $P < 0.05$ ) are showed inside each graph.

**FIGURE 3.** Final germination percentage  $\pm$  SD of impermeable seeds in growth chambers (GCh) after one and two burial periods (1BP and 2BP); and germination in field during the first and the second rainy season (1RS and 2RS) in the open and the closed site. Bars denote germination capacity  $\pm$  SD of scarified seeds in growth chambers after 1BP and 2BP. Multiple comparisons (Tukey test;  $P < 0.05$ ) correspond to each species ( $P < 0.05$ ).

**FIGURE 4.** Germination percentage  $\pm$  SD of species with permeable seed coat at dispersal (D), after one and three laboratory periods (1LP, 3LP). Multiple comparisons (Tukey test;  $P < 0.05$ ) correspond to each species.

**FIGURE 5.** Germination percentage  $\pm$  SD of permeable seeds in growth chambers (GCh) after one and two burial periods (1BP and 2BP) in the open and closed site, and germination in field during the first and second rainy season (1RS and 2RS). Multiple comparisons (Tukey test;  $P < 0.05$ ) correspond to each species.

**FIGURE 6.** Relationship between seed lipids and water content (WC) at (A) dispersal ( $y = 9.6 + 25.9 \exp(-x/14.7)$ ,  $n = 18$ ) and (B) after one burial period in the open site (1BP-Open;  $y = 3.5 + 14.8 \exp(-x/3.5)$ ,  $n = 18$ ). Relationship between NSC and WC at (C) dispersal ( $y = 8.1 + 4.2 \exp(-0.5 x^3)$ ,  $n = 18$ ) and (D) after one burial period in the closed site (1BP-Open,  $y = 1.9 + 0.0007 \times 2$ ). The numbers correspond to the species shown in Table 1.

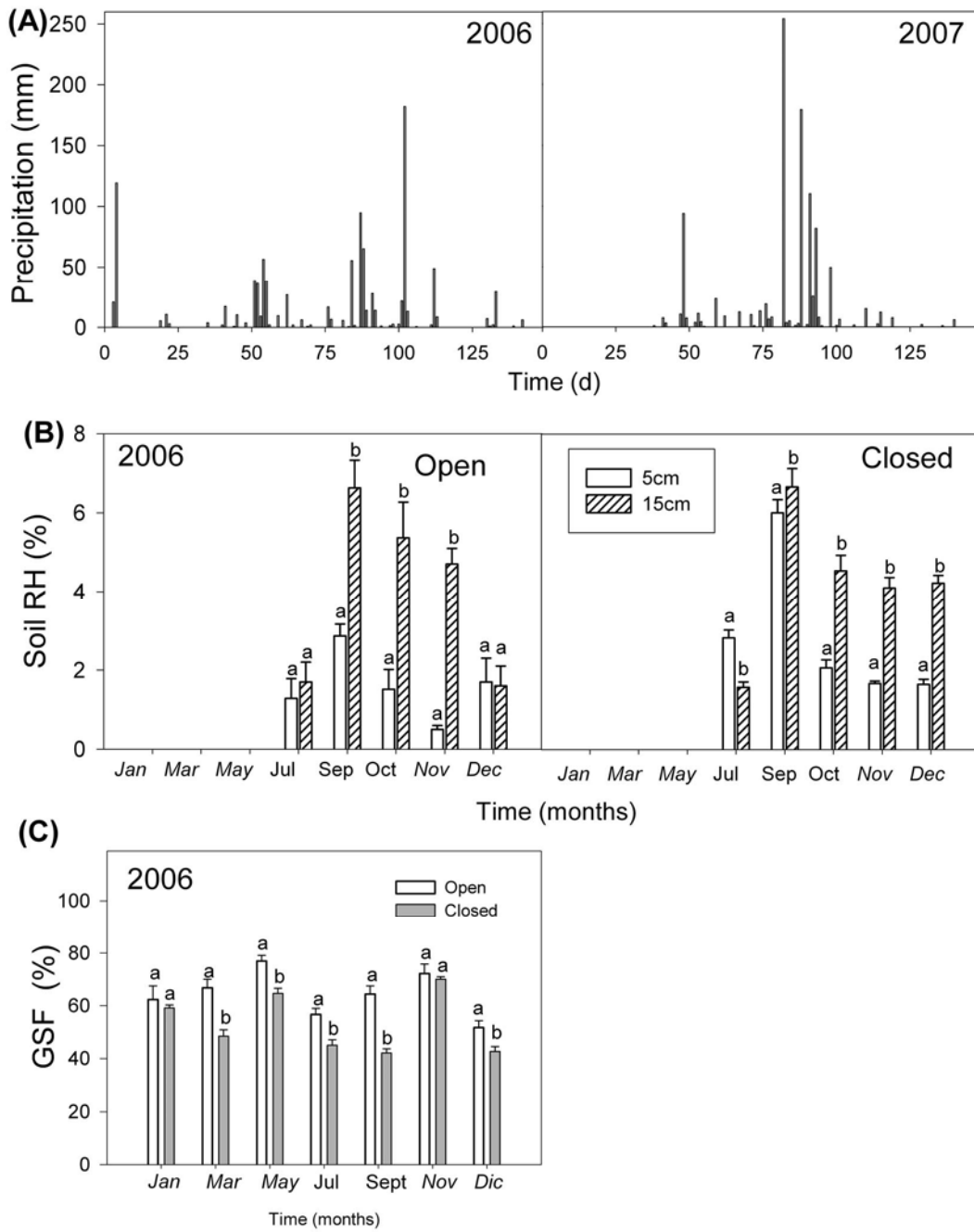


FIGURE 1

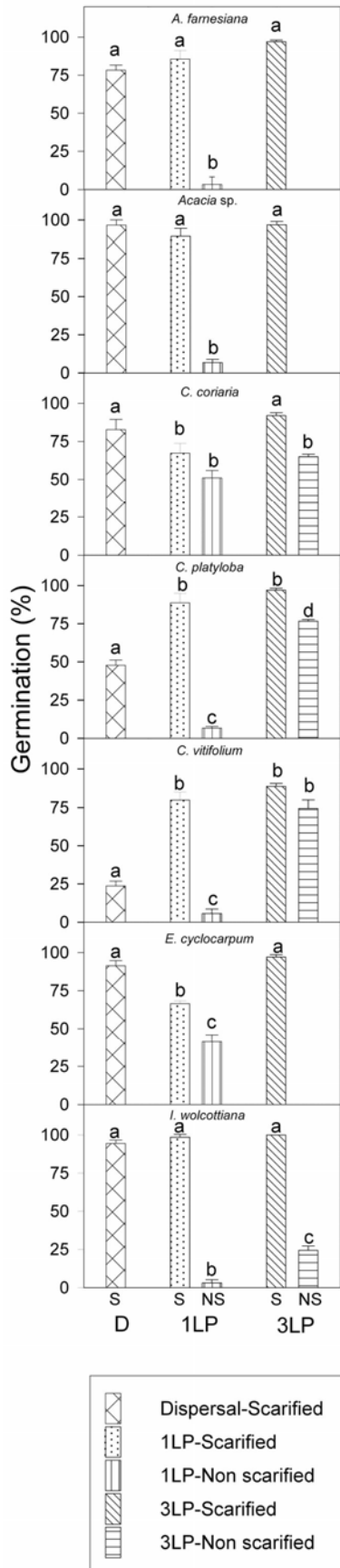


FIGURE 2

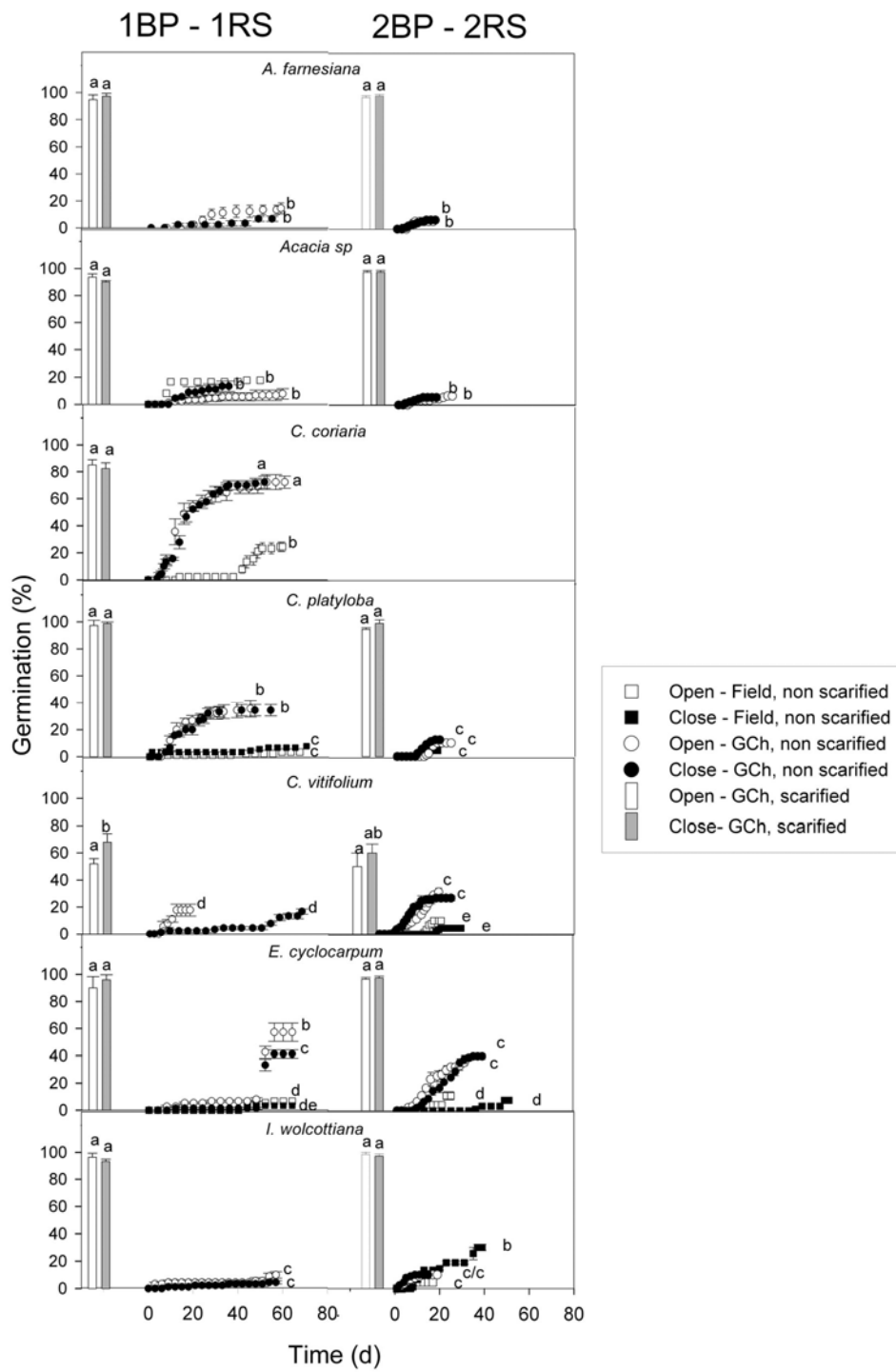


FIGURE 3

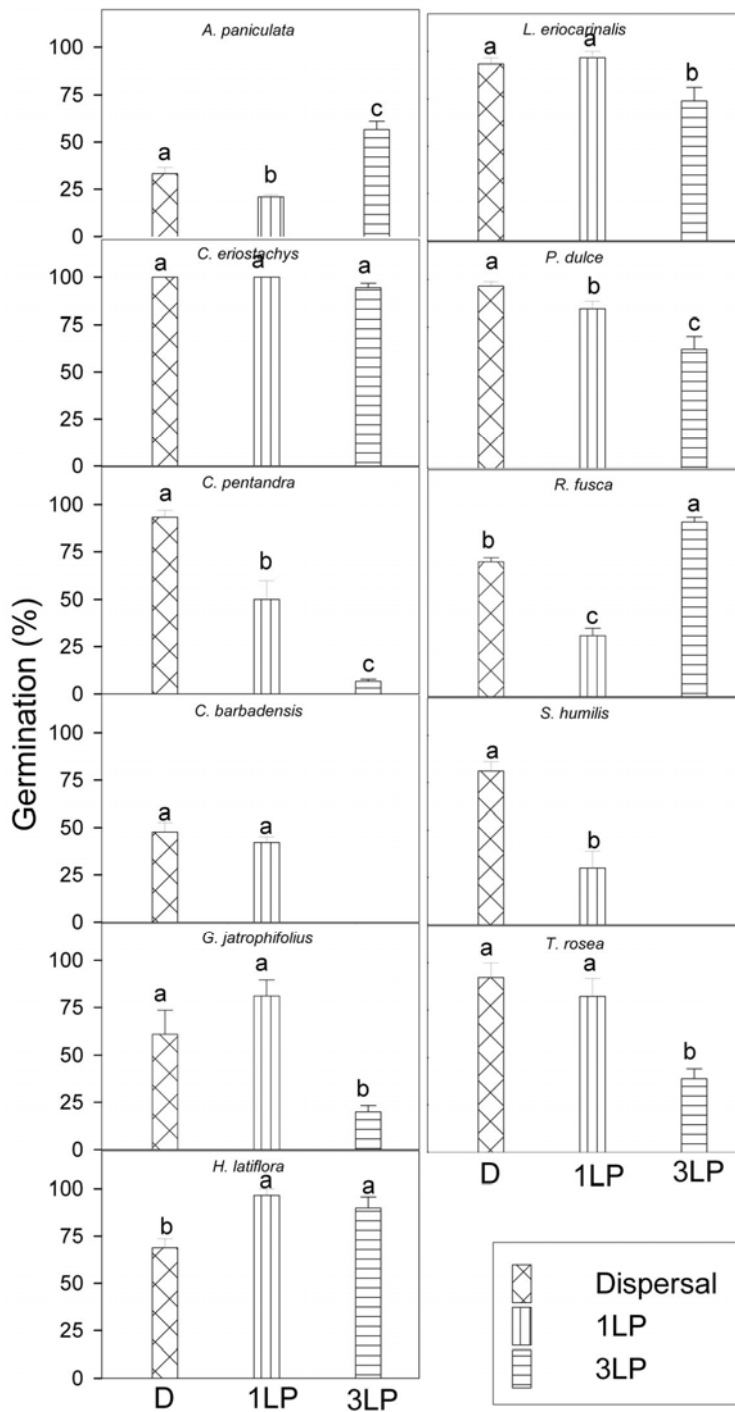


FIGURE 4.

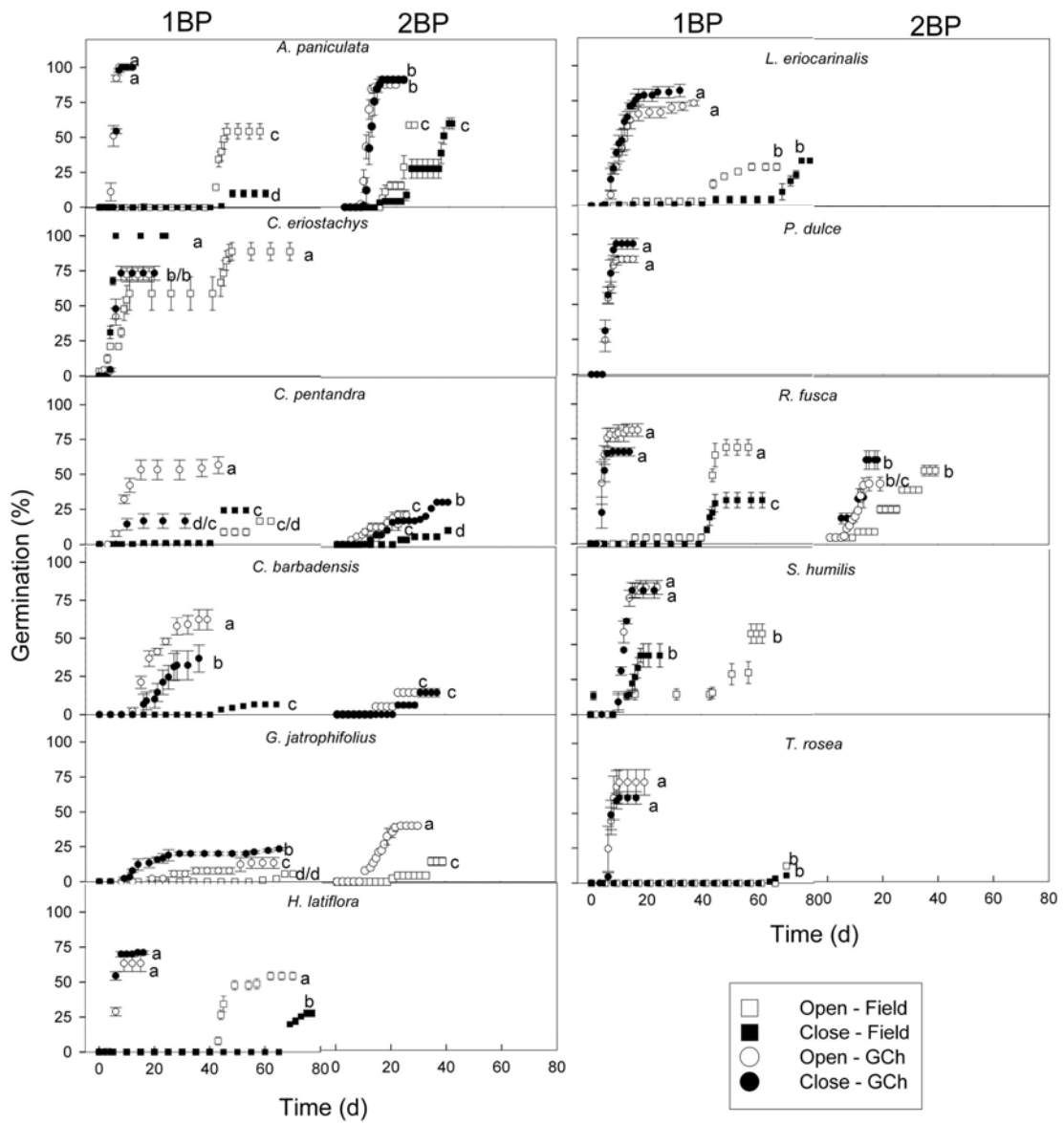


FIGURE 5.

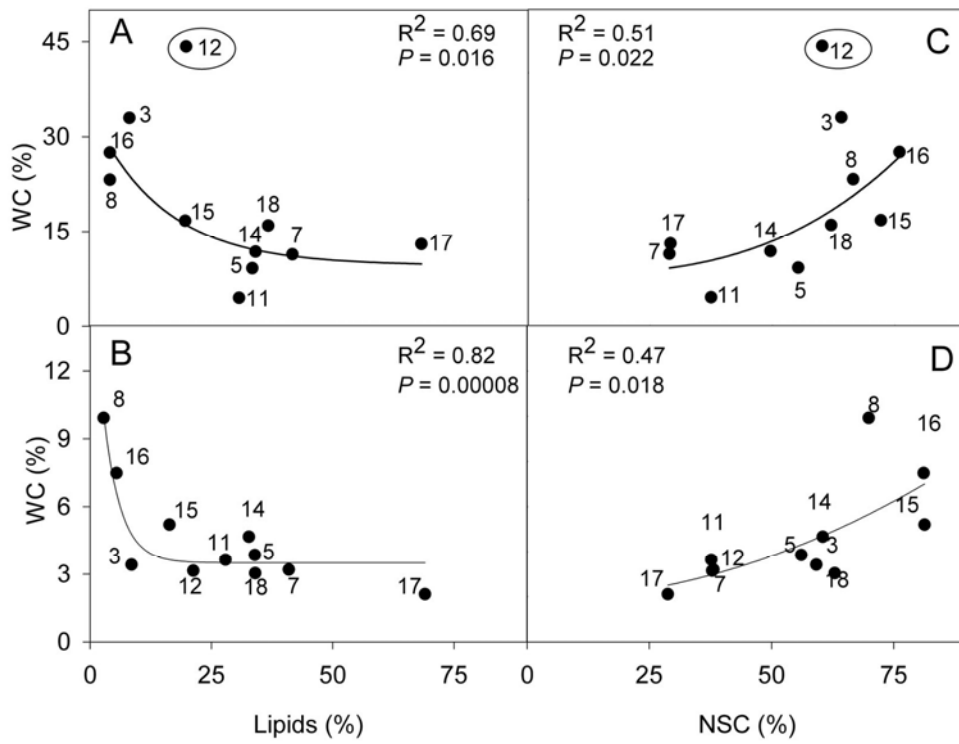


FIGURE 6.



## **CAPÍTULO IV**

### **USO DE RESERVAS DE SEMILLAS DURANTE LA GERMINACIÓN Y EL CRECIMIENTO TEMPRANO DE PLÁNTULAS DE OCHO ESPECIES ARBÓREAS DE LA SELVA BAJA CADUCIFOLIA**

**Uso de reservas de semillas durante la germinación y el crecimiento temprano de plántulas de ocho especies arbóreas de la selva baja caducifolia de Chamela, Jalisco.**

**RESUMEN**

La germinación y el establecimiento de las plántulas son procesos fundamentales para constituir una comunidad vegetal. En este periodo las reservas tienen un papel clave ya que son la única fuente de recursos para el nuevo individuo. En este trabajo se estudió la movilización de las reservas (carbohidratos no estructurales, lípidos y nitrógeno) y su relación con el crecimiento primario de las plántulas de ocho especies arbóreas de la selva baja caducifolia de Chamela Jalisco, en el noroeste de México. La biomasa de los cotiledones no disminuyó significativamente hasta el momento de la germinación. En seis de las ocho especies estudiadas se favoreció la asignación de biomasa a las primeras hojas. El tiempo que los cotiledones permanecen unidos a la plántula no estuvo relacionado con el tipo de cotiledón. En siete de las ocho especies estudiadas los lípidos fueron la reserva que se agotó primero, antes de que las primeras hojas estuvieran expandidas. Las especies que tuvieron porcentajes más altos de N tuvieron hojas expandidas y escindieron sus cotiledones más rápido que las especies con los menores porcentajes de N. Hubo una relación negativa y significativa entre el N de los cotiledones y la biomasa de las hojas. Los resultados obtenidos sugieren que en la selva baja caducifolia de Chamela, Jalisco las especies favorecen la producción de hojas después de la germinación y otras especies dirigen la biomasa a la producción de raíz o tallo lo que sugiere distintas estrategias para sobrevivir la temporada seca y rebrotar en la siguiente temporada de crecimiento.

## INTRODUCCIÓN

El establecimiento de las plántulas es fundamental para constituir comunidades vegetales (Silvertown *et al.* 1993, Grime 2001). Durante el periodo comprendido entre la germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas, se presentan una alta mortalidad (Harper y Benton 1966), que se hace aun más evidente en los ecosistemas estacionales, en donde la mayor mortalidad de plántulas de especies arbóreas se da en la primera temporada seca, alcanzando hasta un 90% (Gerhardt 1996). En este lapso, ante la desecación y la herbivoría, el nuevo individuo no tiene la protección que la o las cubiertas de la semilla pudieran darle, ni las defensas que un individuo adulto pueda desarrollar (Bewley y Black 1998). A partir de la germinación las reservas almacenadas en las semillas son clave ya que sostienen el crecimiento inicial de las plántulas (Kitajima 2002). Después de la germinación el tallo y las hojas deben alcanzar la superficie para obtener luz y las raíces deben alcanzar agua y nutrimentos antes de que las reservas de las semillas se agoten y la plántula enfrente estrés hídrico (Daws *et al.* 2007). La transición del crecimiento dependiente de las reservas al crecimiento dependiente de los recursos externos es gradual (Kennedy *et al.* 2004). En un primer momento los tejidos de reserva (cotiledones, endospermo o perispermo) translocan reservas a las plántulas y posteriormente las primeras hojas y los cotiledones fotosintéticos, no así los de reserva, contribuyen en forma simultánea a que la plántula sea independiente de las reservas iniciales (Kitajima 2002, Hanley *et al.* 2004).

Las reservas almacenadas en las semillas son principalmente, lípidos, carbohidratos (estructurales y no estructurales) y compuestos nitrogenados (proteínas y aminoácidos) contenidos en los distintos tejidos de reserva (Werker 1997, Bewley y Black 1998, Sheperd *et al.* 2005). La composición de las reservas almacenadas puede variar entre

especies y estas diferencias pueden influir en el crecimiento temprano de la plántula (Kitajima y Fenner 2000, Fenner y Thompson 2006, Soriano *et al.* 2011). Mientras que el tamaño de la semilla determina la cantidad de recursos disponibles para el crecimiento de las plántulas; la morfofisiología de los cotiledones determina como se usan estos recursos durante el crecimiento inicial (Hladik y Miquel 1990, Garwood 1996, Kitajima 1996, Green y Juniper 2004).

A partir de la imbibición, las reservas almacenadas se metabolizan a compuestos de menor peso molecular (Fenner y Thompson 2006). El rompimiento de los lípidos ocurre primero, los ácidos grasos son convertidos a sacarosa e intervienen en la respiración celular y en la síntesis *de novo* de compuestos nitrogenados (Folkes 1970, Borek *et al.* 2006, 2009). La movilización de proteínas ocurre principalmente después de la emergencia de la radícula y está correlacionada con el incremento de aminoácidos en las plántulas y con la formación *de novo* de otras proteínas (King y Gifford 1997). Dentro de los compuestos nitrogenados en las semillas también se encuentra el RNA, que puede inter-convertirse durante la síntesis de ácidos nucleicos. Del catabolismo de los carbohidratos no estructurales (CNE) resultan la glucosa y la sacarosa que intervienen en la respiración y en la formación de raíces, cotiledones fotosintéticos o las primeras hojas cuando los cotiledones son de reserva (Kidson y Westoby 2000, Ichie *et al.* 2001). La movilización de las reservas puede estar afectada por factores internos como el coeficiente C/N en la plántula o externos como la disponibilidad de luz (Eastmond y Graham 2001, Martin *et al.* 2002).

La fisiología de los cotiledones influye directamente en el crecimiento de las plántulas (Kitajima 2002). En el caso de los cotiledones fotosintéticos la tasa fotosintética más alta ocurre después de su expansión (Heupel y Kutschera 1996, Darbelley *et al.* 1997). El aporte de fotosintátos de los cotiledones hacia la plántula es

importante mientras las primeras hojas se expanden (Ampofo *et al.* 1976b, Zheng *et al.* 2011) y puede representar una ventaja en ambientes con alta disponibilidad de luz. Los cotiledones de reserva proveen recursos para apoyar el crecimiento de las plántulas, lo que puede ser ventajoso en caso de estrés por nutrientes o por bajos valores de radiación fotosintéticamente activa (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia 1993, Santos y Buckeridge 2004, Zanne *et al.* 2005). El periodo de dependencia de las plántulas a las reservas puede estar relacionado con diferentes factores como el tamaño de las semillas, la calidad y la concentración de los recursos y la eficiencia en la translocación de las reservas, la eficiencia fotosintética de los cotiledones o de las primeras hojas y la tasa de crecimiento de las plántulas (Marshall y Kozlowski 1974, 1976, Henery y Westoby 2001, Kitajima 2002). En un ecosistema estacional, con una temporada de crecimiento corta, el crecimiento y el establecimiento de las plántulas es de particular importancia.

La selva baja caducifolia (SBC) de Chamela Jalisco es un ecosistema altamente estacional (Bullock 1986). Más del 80% de la precipitación se presenta de julio a octubre. Las semillas se dispersan al final de la temporada de lluvias y durante la temporada seca. La germinación y el establecimiento ocurren durante la temporada de lluvias. La corta temporada de crecimiento implica que el establecimiento debe ser rápido y eficiente, para permitir que la plántula pueda alcanzar el desarrollo suficiente para enfrentarse a la época seca (McLaren y McDonald 2003). Con el propósito de entender el papel de los cotiledones y el uso de las reservas en el crecimiento temprano de las plántulas de ocho especies arbóreas de la SBC de Chamela, Jalisco, en este estudio se siguió el crecimiento de plántulas y la movilización de las reservas (CNE, lípidos y N) desde el momento de la imbibición hasta que las plántulas escindieron sus cotiledones. Se registró el incremento de biomasa de las plántulas durante el mismo periodo y la tasa de transporte de electrones (TTE) en los cotiledones y en las primeras

hojas. En este trabajo se buscó contestar las siguientes preguntas: a) ¿Existe una relación entre la biomasa de los cotiledones y la biomasa de las plántulas? b) ¿Existe un patrón de la asignación de recursos hacia las plántulas? c) ¿La tasa relativa de crecimiento de las plántulas está relacionada con el uso de las reservas contenidas en las semillas? d) ¿Cuál es la reserva que se agota primero después de la germinación? e) ¿La TTE de los cotiledones fotosintéticos es similar al de las primeras hojas?

## METODOLOGÍA

Las semillas de las ocho especies estudiadas (Tabla 1) fueron recolectadas en la Estación de Biología de Chamela en 2006, de al menos 10 árboles diferentes. Las ocho especies estudiadas fueron elegidas para tener un gradiente en la tasa relativa de crecimiento y la composición de reservas (Soriano *et al.* 2011) y de acuerdo a la disponibilidad de semillas. Las especies estudiadas presentan metabolismo C3. Las especies con semillas que presentaron cubierta seminal impermeable (*Acacia farnesiana*, *Caesalpinia platyloba* y *Enterolobium cyclocarpum*) fueron escarificadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%).

Tabla 1. Lista de las especies estudiadas, tipo de cotiledones, peso (n = 10, media ± D.S.) del embrión más tejidos extra embrionarios (EE) y tiempo de retención de los cotiledones (media ± D.S.).

	Especies	Cotiledones	EE (mg)	Tiempo retención (d)
1	<i>Acacia farnesiana</i>	Fotosintéticos	27.25 ± 0.8	28.32 ± 1.3
2	<i>Caesalpinia eriostachys</i>	Fotosintéticos	159.64 ± 3.1	30.51 ± 2.1
3	<i>Caesalpinia platyloba</i>	Fotosintéticos	132.24 ± 1.7	45.32 ± 3.1
4	<i>Coccoloba barbadensis</i>	Fotosintéticos	62.61 ± 1.9	110.17 ± 8.6
5	<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Fotosintéticos	547.2 ± 11.8	31.28 ± 3.8
6	<i>Gyrocarpus jatrophiifolius</i>	Fotosintéticos	162.54 ± 2.4	39.25 ± 1.9
7	<i>Pithecellobium dulce</i>	Reserva	144.33 ± 3.9	42.57 ± 2.4
8	<i>Swietenia humilis</i>	Reserva	483.66 ± 15.2	90.23 ± 7.4

Al inicio del experimento 200 semillas (para asegurar un número suficiente de plántulas) se germinaron en cámaras de crecimiento Lab-Line (Lab-Line Instruments, INC, Melrose Park, Ill) con un fotoperiodo de 12/12hrs luz/oscuridad, a 25°C. Para cada especie, desde el día cero (siembra) hasta el momento de su trasplante, se colectaron diariamente al menos 30 semillas (o plántulas) para obtener la biomasa del embrión más tejidos extraembrionarios, la radícula, las primeras hojas y de los cotiledones fotosintéticos (en caso de que estas dos estructuras estuvieran presentes). Para estas dos últimas estructuras también se midió el área.

El sexto día después de la germinación las plántulas fueron trasplantadas a bolsas de plástico con 600 g de arena sílice. Las bolsas se colocaron en un cámara de crecimiento (Convicon, E15, Winnipeg, Man, Canada) con fotoperiodo de 12/12 luz/oscuridad con  $400 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}^{-1}$  (suficiente para saturar la fotosíntesis en plantas  $C_3$ , Taiz y Zieger 2008) y a 25°C. Las plántulas se regaron a capacidad de campo cada tercer día. Después del trasplante, periódicamente se registró la TTE de tres individuos (seis cotiledones) y de las hojas (al menos cuatro hojas en tres individuos) con un medidor de fluorescencia (FII - Hansatech, King's Lynn, UK) y se realizaron cosechas destructivas de 10 plántulas, a partir de las cuales se obtuvo el área de las hojas y de los cotiledones con un medidor de área foliar (L3000A, Li-COR Inc. Lincoln, Neb, USA). Las plántulas se separaron en raíz, cotiledones, tallo y hojas; posteriormente se secaron a 60°C y se obtuvo el peso seco de cada estructura (biomasa) para llevar a cabo un análisis de crecimiento clásico (Hunt 1986). Se obtuvo la tasa relativa de crecimiento (TRC), la tasa de asimilación neta (TAN) y el área foliar específica (AFE) para cada intervalo de tiempo. En cada cosecha también se tomaron al menos 10 cotiledones para cuantificar las reservas restantes. La cuantificación se realizó como se describe en el capítulo II.

Se realizaron análisis de regresión entre la biomasa de los cotiledones y la biomasa de las plántulas; la TRC y la TAN y el AFE; CNE vs N; N vs biomasa de las hojas y el tiempo de retención de los cotiledones con el programa Table Curve 2D v3 (AISN, Software, Chicago, IL, USA). Los ajustes de los valores del consumo de reservas en el tiempo también se hicieron con el programa Table Curve 2D v3. Se realizó una ANOVA de una vía para determinar la existencia de diferencias en el tiempo de las reservas (CNE, lípidos y N) y una ANOVA de dos vías para determinar la existencia de diferencias significativas de la TTE en cotiledones y hojas. Cuando fue necesario se realizó una transformación de los datos a logaritmo natural para cumplir el supuesto de normalidad de la prueba. Para la comparación de la biomasa de los cotiledones en el tiempo se realizaron pruebas de Kruskal-Wallis ya que los datos no cumplieron los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Todas las comparaciones se hicieron con el programa Sigma Plot v. 11 (Systat, Software, Inc, San Jose, CA, USA). Los resultados de las pruebas post-hoc están disponibles con los autores previa solicitud.

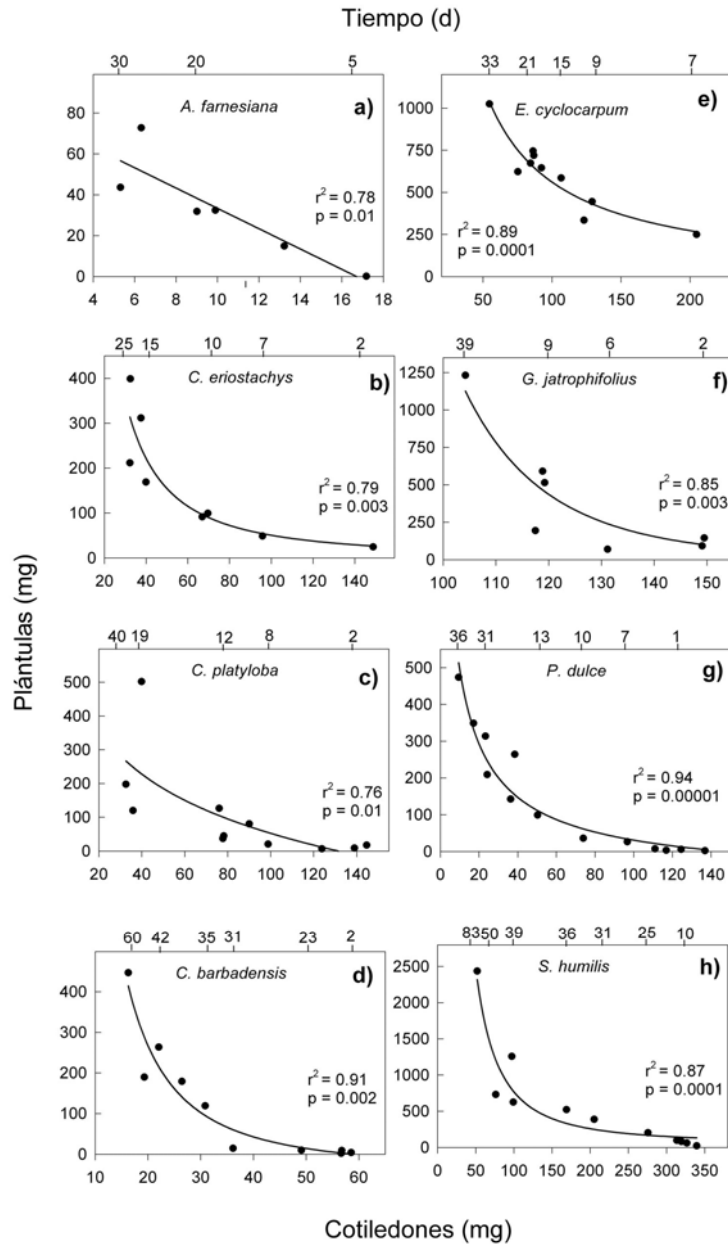
## **RESULTADOS**

Seis de las especies estudiadas presentan cotiledones epigeos fanerocotilares (fotosintéticos) (*A. farnesiana*, *C. eriostachys*, *C. platyloba*, *Coccoloba barbadensis*, *E. cyclocarpum* y *Gyrocarpus jatrophifolius*) y en dos especies (*Pithecellobium dulce* y *Swietenia humilis*) los cotiledones son hipógeos, criptocotilares (de reserva). Las plántulas de las ocho especies estudiadas mantienen los cotiledones por diferentes periodos de tiempo, los cuales oscilan de 28 (*A. farnesiana*) a 110 días (*C. barbadensis*; Tabla 1).

### **Asignación de recursos**

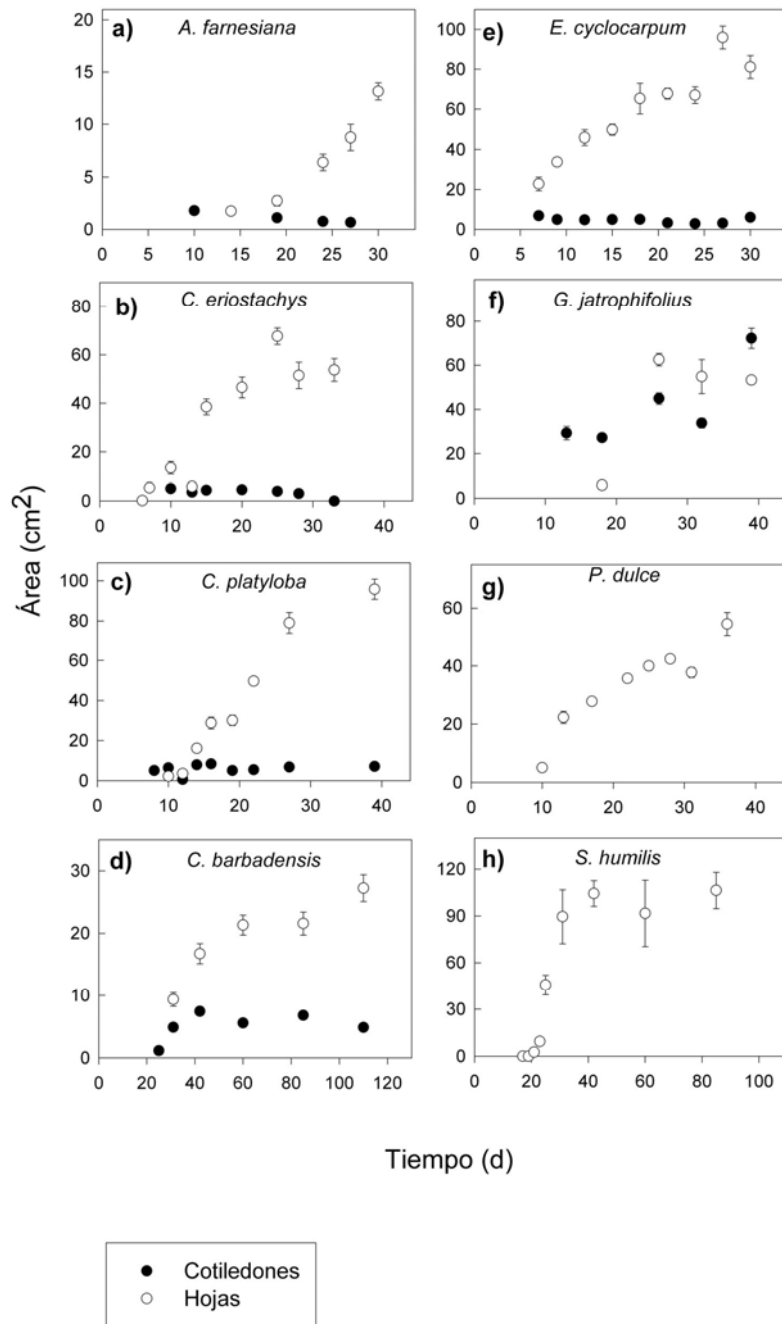


La biomasa (mg) de los cotiledones no disminuyó hasta el momento de la germinación (Apéndice 1) y tuvo una relación significativa y negativa con la biomasa de las plántulas en las ocho especies estudiadas (Figura 1).



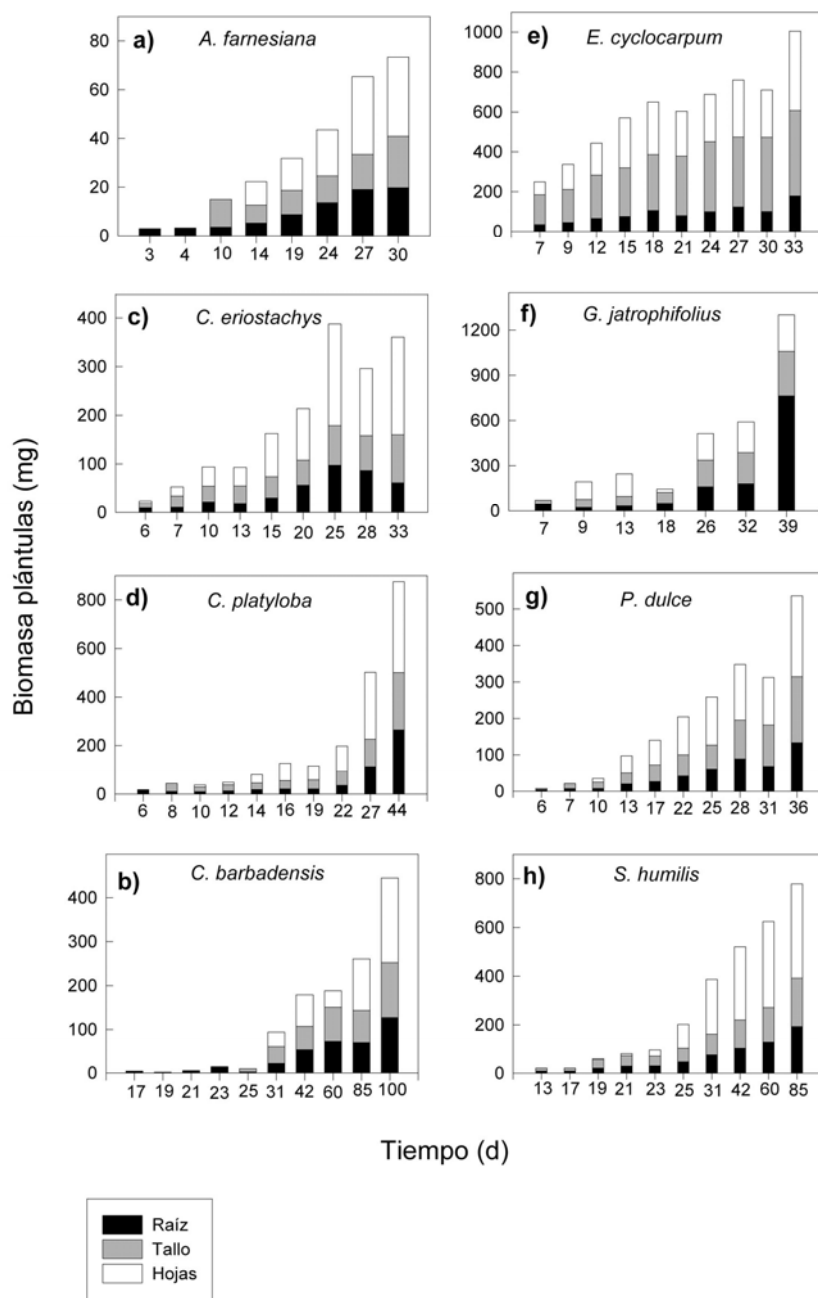
**Figura 1.** Regresión entre la biomasa de los cotiledones y la biomasa de las plántulas en las ocho especies estudiadas. En el eje x superior se muestra el tiempo (d). Las ecuaciones de los ajustes que se presentan son: a)  $y = 83.1 - 4.9x$ ; b)  $y = 84630.2x^{-1.6}$ ; c)  $y = 3.5 - 0.3x^3$ ; d)  $y = -39.6 + 91282.2 x^{-1.9}$ ; e)  $y = -15.3 + 57629.8/x$ ; f)  $y = 4.1e^{16}x^{-6.7}$ ; g)  $y = 2.8 - 0.7x^2 \ln x$ ; h)  $y = 4.6 - 0.2e^x$ .

Después de la aparición de las hojas, su área supero a la de los cotiledones (Figura 2). En *A. farnesiana*, *C. eriostachys*, *C. platyloba* y *E. cyclocarpum* el área de los cotiledones tuvo una relación negativa con el área de las hojas (Apéndice 2).



**Figura 2.** Área de las hojas (círculos blancos) y de los cotiledones fotosintéticos (círculos en negro) para las ocho especies estudiadas. Se presentan las medias  $\pm$  desviación estándar.

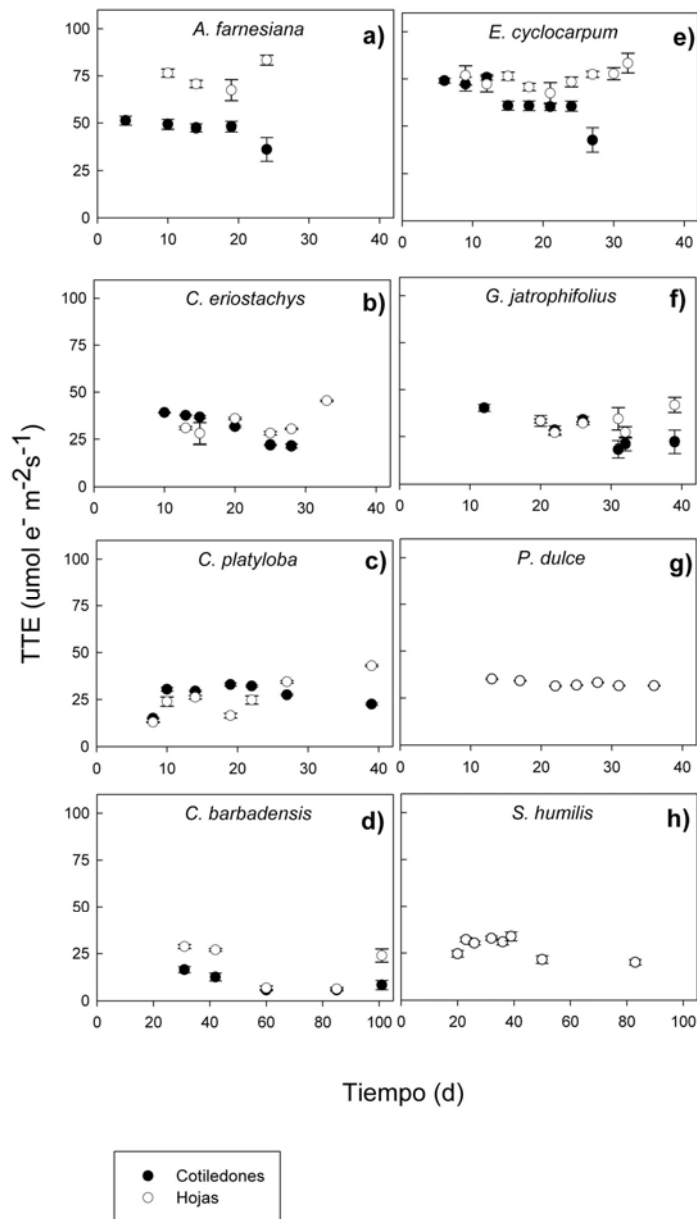
Al momento de la escisión de los cotiledones, cuando el experimento terminó para cada especie, la asignación de la biomasa fue principalmente hacia hojas en *A. farnesiana*, *C. eriostachys*, *C. platyloba*, *C. barbadensis*, *P. dulce* y *S. humilis*; a pesar de que en un inicio la biomasa pudo haber sido asignada a tallo o raíz. En *E. cyclocarpum* fue a tallo y en *G. jatrophiifolius* se dirigió a raíz (Figura 3).



**Figura 3.** Biomasa total de las plántulas de las ocho especies estudiadas y la asignación a raíz, tallo y hojas a través del tiempo.

## Tasa de transporte de electrones

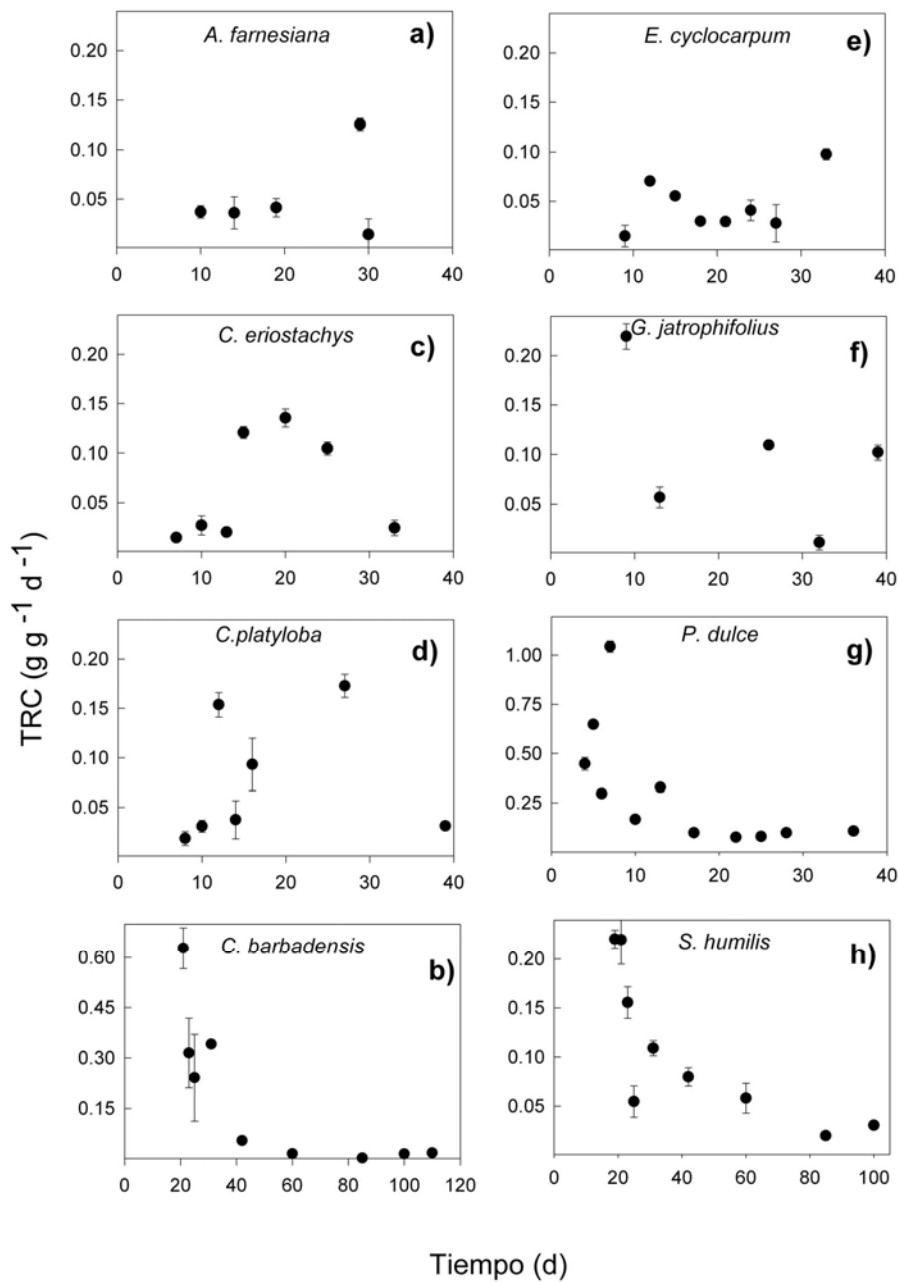
La especie con la menor TTE fue *C. barbadensis* mientras que *A. farnesiana* y *E. cyclocarpum* fueron las especies con la TTE más alta tanto en hojas como en cotiledones. La TTE de los cotiledones fotosintéticos en *C. eriostachys*, *C. platyloba*, *E. cyclocarpum*, *G. jatrophiifolius*, en un inicio fue igual o superior al de las primeras hojas, tendencia que se revirtió en el tiempo (Figura 4, Apéndice 3).



**Figura 4.** Tasa de transporte de electrones (TTE), en el tiempo, para los cotiledones y las hojas de las especies estudiadas. Se presentan las medias  $\pm$  desviación estándar.

## Análisis de crecimiento

*C. barbadensis*, *G. jatrophiifolius*, *P. dulce* y *S. humilis* tuvieron la TRC más alta después de la germinación y posteriormente disminuyeron. *A. farnesiana*, *C. eriostachys* y *C. platyloba* iniciaron su crecimiento con tasas relativas bajas y, posterior a la aparición de las primeras hojas, tuvieron un incremento en la TRC (Figura 5).



**Figura 5.** Tasa relativa de crecimiento (TRC) de las especies estudiadas desde la aparición de las hojas hasta la escisión de los cotiledones en las ocho especies estudiadas. Se presentan las medias  $\pm$  desviación estándar.

La TRC presentó una relación positiva ( $p < 0.05$ ) con la TAN en cinco de las especies con cotiledones fotosintéticos (*C. eriostachys*, *C. platyloba*, *C. barbadensis*, *E. cyclocarpum*, *G. jatrophifolius* y *S. humilis*; Tabla 2). La TRC tuvo una relación positiva y significativa con el AFE en *C. barbadensis*, *P. dulce* y *S. humilis* (Tabla 2).

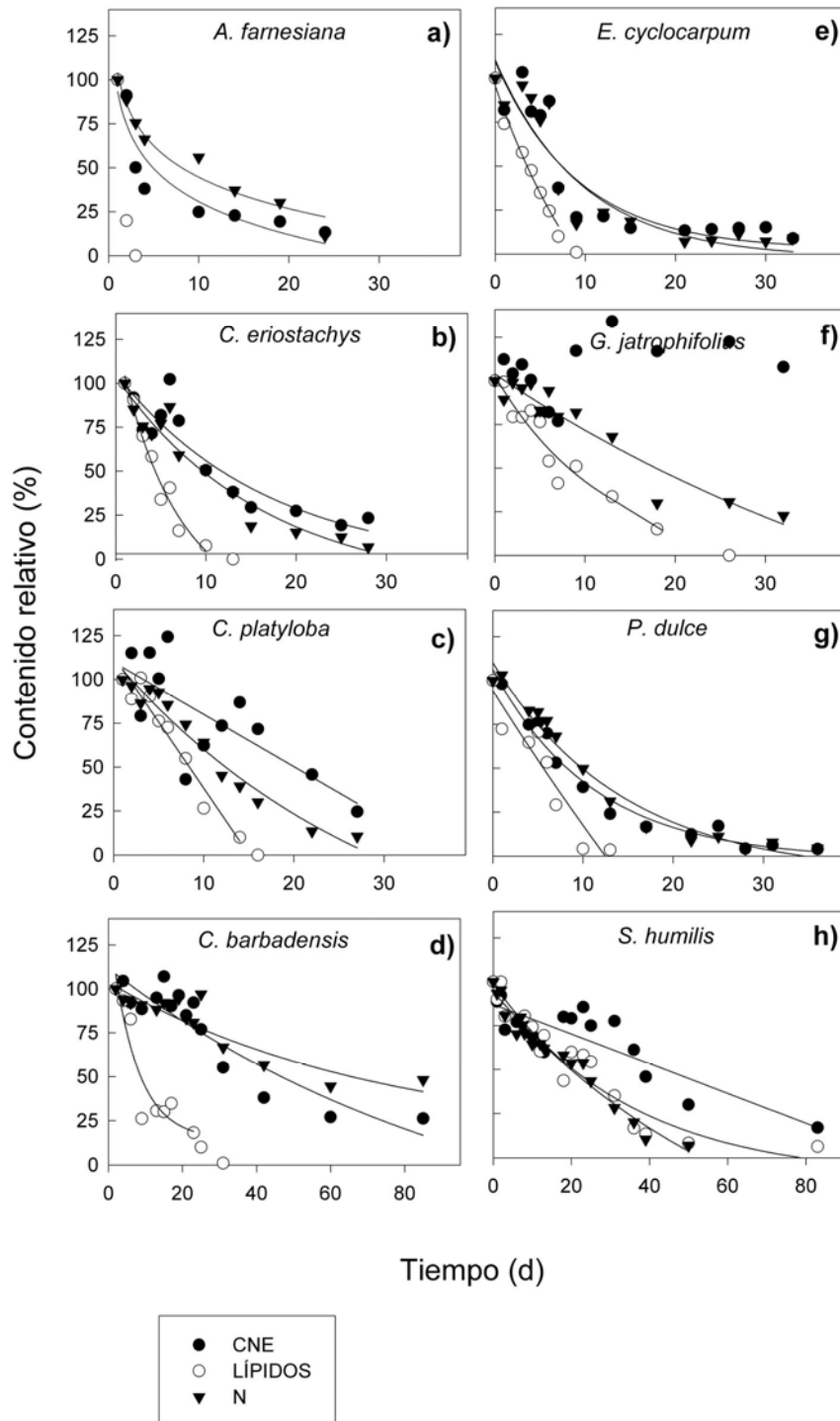
Tabla 2. Coeficientes de determinación entre TRC y TAN, AFE para las ocho especies estudiadas. NS, indica una relación no significativa ( $P > 0.05$ ).

Especies	TRC - TAN		TRC - AFE	
	$r^2$	$P$	$r^2$	$P$
1 <i>Acacia farnesiana</i>	0.25	NS	0.84	NS
2 <i>Caesalpinia eriostachys</i>	0.99	< 0.001	0.09	NS
3 <i>Caesalpinia platyloba</i>	0.97	0.02	0.28	NS
4 <i>Coccoloba barbadensis</i>	0.98	0.01	0.85	0.02
5 <i>Enterolobium cyclocarpum</i>	0.98	< 0.001	0.27	NS
6 <i>Gyrocarpus jatrophifolius</i>	0.93	0.03	0.18	NS
7 <i>Pithecellobium dulce</i>	0.11	NS	0.4	NS
8 <i>Swietenia humilis</i>	0.90	0.03	0.65	0.001

### Consumo de reservas

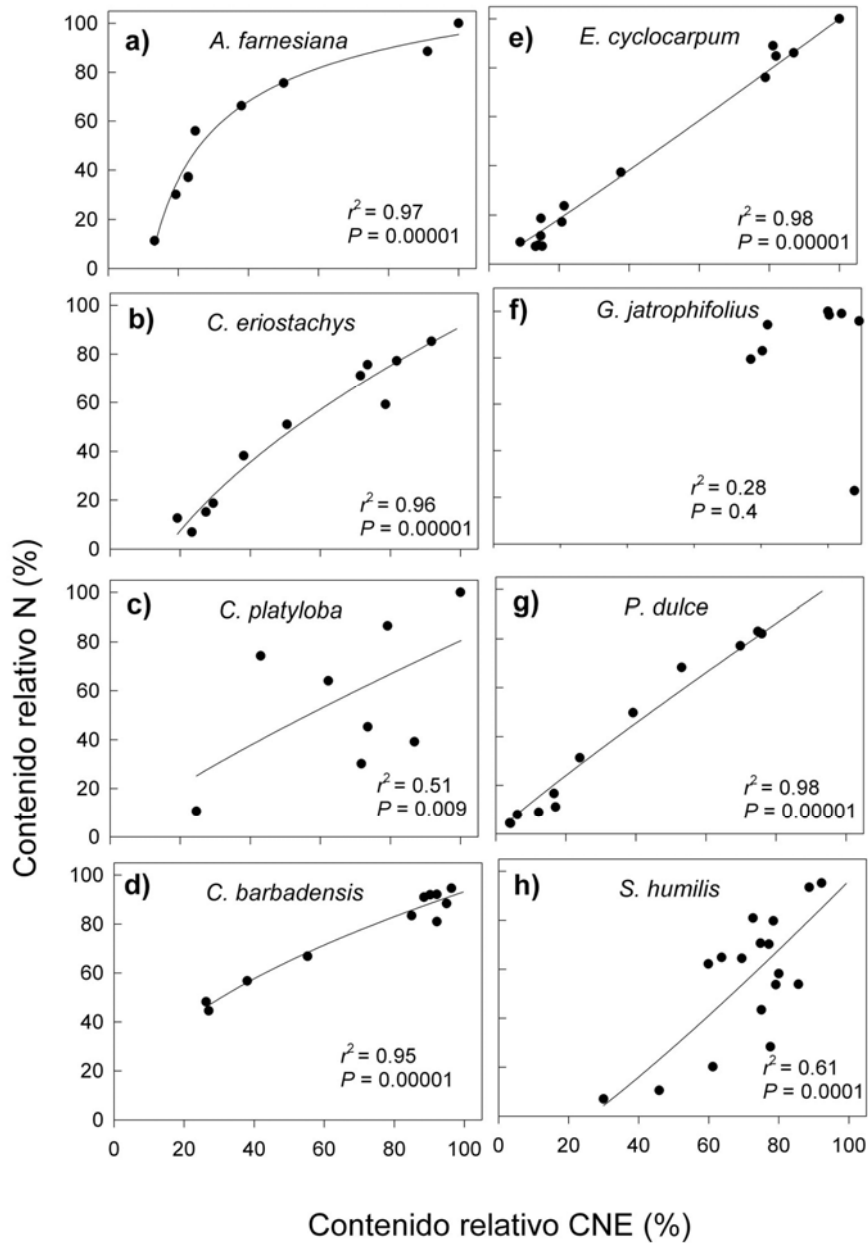
En siete de las ocho especies estudiadas el contenido de lípidos fue la reserva que se agotó primero (Figura 6). Solo en *S. humilis* los cotiledones mantuvieron lípidos hasta el momento de su abscisión. El contenido de N se mantuvo constante en los primeros días después de la siembra y posteriormente tuvo un decremento gradual en todas las especies, que se continuó aún después de la expansión de las hojas. En general, los CNE presentaron fluctuaciones alrededor del porcentaje inicial al inicio del periodo estudiado

y posteriormente disminuyeron. En *G. jatrophiifolius* los CNE no presentaron tendencia a disminuir (Figura 6, Apéndice 4).



**Figura 6.** Porcentaje de reservas, con respecto al contenido inicial, (carbohidratos no estructurales, lípidos y N) en el tiempo. Los valores de  $r^2$ , P y las ecuaciones de los ajustes se encuentran en el apéndice 6.

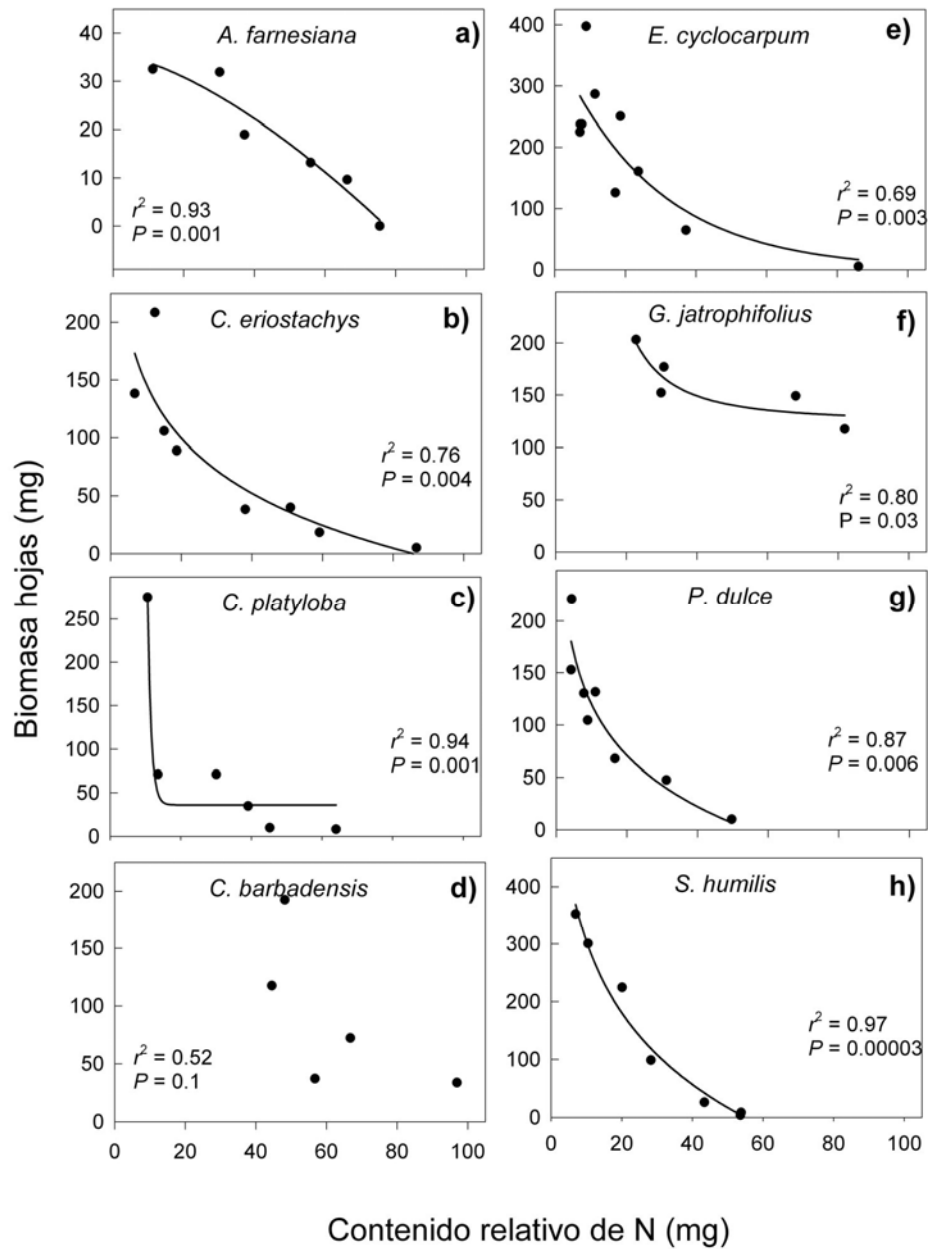
El consumo de CNE estuvo relacionado positiva y significativamente con el consumo de N en *A. farnesiana*, *C. eriostachys*, *C. platyloba*, *C. barbadensis*, *E. cyclocarpum*, *P. dulce* y *S. humilis* (Figura 7).



**Figura 7.** Relación entre el contenido relativo de CNE (%) y el contenido relativo de N (%), con respecto al contenido inicial de cada reserva, en los cotiledones de las ocho especies estudiadas. Las ecuaciones de los ajustes que se presentan son: a)  $y = 205.8 - 508.2/\ln x$ , b)  $y = -60.3 + 15.1x^{0.5}$ , c)  $y = -5.1 + 3.9x/\ln x$ , d)  $y = -3.6 + 9.7x^{0.5}$ , e)  $y = 0.8x^{1.1}$ , g)  $y = 1.5x^{0.9}$ , h)  $y = -21.8 + 0.3x \ln x$ .

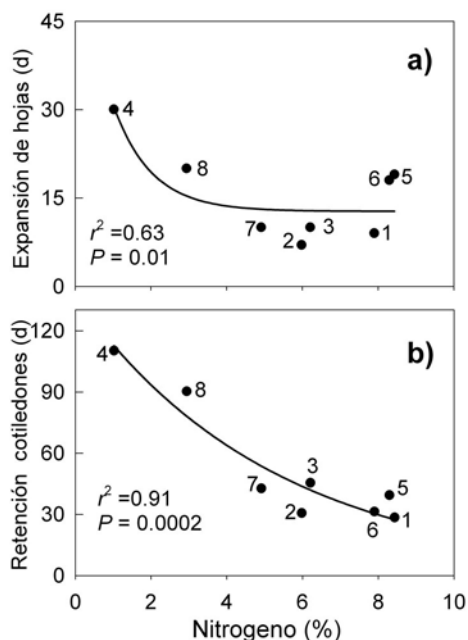


El contenido de N en los cotiledones estuvo relacionado negativa y significativamente con la biomasa de las hojas en el tiempo, en siete especies, la excepción fue *C. barbadensis* (Figura 8).



**Figura 8.** Relación entre el contenido de N y la biomasa de las hojas en el tiempo, en las plántulas de las ocho especies estudiadas. Las ecuaciones de los ajustes que se presentan son: a)  $y = 35.5 - 0.05x^{1.5}$ , b)  $y = 304.9 - 68.5 \ln x$ , c)  $y = 36.2 + 100659e^{-x}$ , d)  $y = 841.2 \exp^{-x/25.5}$ , e)  $y = 347.4 \exp^{-x/27.7}$ , f)  $y = 124.7 + 39266.7 / x^2$ , g)  $282.5 - 70.6 \ln x$ , h)  $y = 716.8 - 178.9 \ln x$ .

El contenido de N de las ocho especies estuvo relacionado negativa y significativamente con el tiempo de expansión de las hojas y con el tiempo de retención de los cotiledones (Figura 9).



**Figura 9.** a) Relación entre el porcentaje de N inicial y el tiempo que tardan en expandirse las primeras hojas en las ocho especies estudiadas;  $y = 127 + 49.5 e^{-x}$ . b) Relación entre el N inicial y el tiempo de retención de los cotiledones para las especies estudiadas;  $y = 136.8 \exp(-x^{5.3})$ . c) Relación entre el porcentaje inicial de lípidos y el tiempo que tarda en agotarse esta reserva en las especies estudiadas;  $y = 8.9 + 0.0004x^3$ . Los números corresponden a las especies de acuerdo a la Tabla 1.

## DISCUSIÓN

### Biomasa

En las especies estudiadas, tanto en las que tienen cotiledones fotosintéticos como en las que presentan cotiledones de reserva, la biomasa de los cotiledones no disminuyó significativamente hasta el momento de la germinación. Previo a la germinación, el eje embrionario puede estar usando sus propias reservas (Fenner y Thompson 2006), mientras que en los cotiledones puede existir consumo e inter-conversión de las reservas sin pérdida significativa de biomasa, como se predijo al inicio de este estudio y como se

ha reportado para otras especies arbóreas (Nonogaki *et al.* 2010). La pérdida de biomasa de los cotiledones, posterior a la germinación indica el inicio del uso de sus reservas y su transferencia hacia la plántula (Swanborough y Westoby 1996) como ha sido mostrado en *Caesalpinia peltophoroides*, especie tropical arbórea (Borges-Corte *et al.* 2006).

En las especies con cotiledones fotosintéticos, en los primeros días después de la germinación, se observó que los cotiledones tenían el mayor porcentaje de la superficie fotosintética y tenían una TTE similar a la más alta alcanzada por las hojas en el periodo estudiado ( $100 \text{ umole}^{-1}\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). Una alta eficiencia fotosintética de los cotiledones foliáceos ha sido reportada previamente en especies arbóreas de un ecosistema semi-decídulo (Kitajima 1992). Los cotiledones fotosintéticos cumplen una doble función como almacén y como órgano fotosintético apoyando la formación de las primeras hojas para que la plántula pueda establecerse (Ampofo *et al.* 1976a, Kitajima 2003, Zhen *et al.* 2011).

Hacia el final del experimento (30 días para seis especies y 90 para *S. humilis* y *C. barbadensis*) las hojas aumentaron el área, la biomasa y la TTE, por lo que representaron la principal estructura fotosintética. Para las especies estudiadas, en caso de germinación temprana, las plántulas producirían hojas con una alta eficiencia fotosintética antes del cierre del dosel, contribuyendo al crecimiento de la plántula y posiblemente a su rebrote después de la temporada seca. Se ha reportado que después de la primera temporada seca, la elongación de los tallos de los árboles caducifolios depende, principalmente, de las reservas de C acumulados durante la estación previa (Hansen 1971).

De las seis especies con cotiledones fotosintéticos, las plántulas de *E. cyclocarpum* tuvieron una mayor asignación de biomasa al tallo en el crecimiento post-germinativo.

Esta especie produjo las plántulas más altas de las especies estudiadas (+ 40cm), que pueden ser consideradas altas entre otras 20 especies arbóreas de la SBC de Chamela, reportadas previamente (Gómez 2001). En el campo, esto podría ser una ventaja competitiva frente a otras plántulas (i.e. las plántulas de *C. barbadensis* de la misma edad alcanzaron 10 cm) para obtener una mayor radiación. Las hojas de *E. cyclocarpum* representaron una menor proporción del peso total en comparación de otras especies estudiadas pero tuvieron la TTE más alta registrada en este estudio y un área foliar similar a la mayoría de las especies. Las plántulas altas provenientes de semillas grandes han mostrado tener tasas de establecimiento altas con respecto a plántulas provenientes de semillas pequeñas (Moles y Westoby 2006) estas características podrían contribuir a la dominancia de *E. cyclocarpum*, reportada previamente (Rzedewski y Huertas 1981).

Las plántulas de *G. jatrophiifolius*, con menor área foliar y valores de AFE parecidos a los de las otras especies, asignaron una mayor proporción de la biomasa total a las raíces, después al tallo y en menor proporción a las hojas. Quizá como compensación esta especie tuvo cotiledones fotosintéticos más grandes que las otras cinco especies y sus cotiledones tuvieron una TTE similar que la de las hojas ( $40 \text{ umole}^{-1}\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), lo que les permitiría una eficiente captura de C. Con la asignación de recursos a raíces podría hacer más eficiente su acceso al agua o minerales del suelo y le permitiría a *G. jatrophiifolius* un mayor almacenamiento de carbohidratos en sus raíces pivotantes, como se ha reportado para otras especies arbóreas de Barro Colorado, sitio que presenta una marcada estación seca (Myers y Kitajima 2007). La acumulación de C en raíces puede ser una estrategia para guardar recursos que le permitirían rebrotar en la siguiente temporada de crecimiento.

Cuando el área y la TTE de las hojas superaron a la de los cotiledones, el aporte de C de las hojas, al crecimiento de la plántula, es más importante (Harris *et al.* 1986,

Zheng *et al.* 2011). Este proceso puede relacionarse con el cambio en la tasa de crecimiento de las especies con cotiledones fotosintéticos, que fue baja en un principio y aumentó en el tiempo. El aporte fotosintético de las hojas posiblemente estuvo involucrado en este aumento como lo indica el componente fisiológico del crecimiento (TAN) que se incrementó en el tiempo y tuvo una relación positiva y significativa con la TRC de las especies.

Aunque esta relación podrían variar dependiendo de las condiciones en las que las plántulas crecen (Shipley 2006). En el campo, con alta disponibilidad de agua y temperaturas altas, podría esperarse crecimiento rápido antes del cierre del dosel y ante una sequía corta la tasa relativa de crecimiento de las plántulas de la SBC, podría depender de la estrategia de cada especie (tolerancia o evasión) para enfrentar el estrés hídrico (Khurana y Singh 2004, Blanco 2012).

En las dos especies con cotiledones de reservas, *S. humilis* y *P. dulce*, la asignación de biomasa se dirigió al tallo y posteriormente a las hojas. La TTE de las hojas tuvo pocos cambios lo que indica que los cotiledones y las hojas fueron fuentes continuas de fotosintátos. Las plántulas, de estas dos especies, pueden iniciar la obtención de recursos mediante las raíces como se ha propuesto para otras especies con cotiledones de reserva (Folkes 1970). *S. humilis* y *P. dulce* tuvieron TRC post-germinación altas (hasta  $1 \text{ gg}^{-1}\text{d}^{-1}$  en *P. dulce*) que fueron decreciendo. La TRC disminuyó posiblemente como consecuencia del engrosamiento de las hojas como una posible estrategia para evadir las sequías intermitentes o el inicio de la temporada seca en el caso de semillas con germinación tardía (Cap. IV). Posteriormente tanto en especies foliáceas como criptocotilares se favoreció la asignación de biomasa a las primeras hojas, cuyo desarrollo implica su crecimiento y fotomorfogénesis (Taiz y Zeiger 2008).

El tiempo que los cotiledones permanecen unidos a la plántula no estuvo relacionado con el tipo de cotiledones. De las especies que conservaron los cotiledones por más tiempo, *C. barbadensis* (110 d) y *S. humilis* (90 d), la primera tiene cotiledones fotosintéticos y la segunda presenta cotiledones de reserva, aunque las dos especies son de lento crecimiento (Soriano *et al.* 2011). Tanto en especies fanerocotilares como criptocotilares, los cotiledones no fueron escindidos después de la expansión de las hojas. Los cotiledones ya no representan la mayor fuente de carbono, pero podrían ser importantes para maximizar las posibilidades de supervivencia de las plántulas en el campo, especialmente en condiciones de estrés cuando se ha reportado pueden recuperar su funcionalidad (Ampofo *et al.* 1976b, Bonfil 1998, Zheng *et al.* 2011).

En la SBC las especies utilizan distintas estrategias para sobrevivir durante la época seca y producir un nuevo follaje en la siguiente estación lluviosa (Vieira y Scariot 2006). En las especies cuyas plántulas tuvieron una mayor asignación hacia las hojas, es posible que después la caída de los cotiledones, el crecimiento de éstas se reduzca, por el cierre estomático que se da en respuesta a los periodos cortos de sequía que se presentan dentro de la temporada de lluvias en Chamela (Páramo-Pérez 2008). Tanto en las especies con cotiledones fotosintéticos como en las que tiene cotiledones de reserva, conforme avanza la temporada de lluvias deben presentar un cambio en la asignación de recursos iniciando la translocación de reservas hacia tallo y raíz como parte de la senescencia y en preparación para la época de sequía (Khurana y Singh 2001) almacenando carbohidratos para mantener su funcionalidad ante la reducción en la disponibilidad de agua (Kidson y Westoby 2000, Myers y Kitajima 2007).

### **Consumo de reservas**

En siete de las ocho especies estudiadas (*A. farnesiana*, *C. eriostachys*, *C. platyloba*, *C. barbadensis*, *E. cyclocarpum*, *G. jatrophiifolius* y *P. dulce*) los lípidos fueron la reserva que se agotó primero. Excepto en *S. humilis*, los lípidos se consumieron antes de que las primeras hojas estuvieran expandidas, de forma independiente al porcentaje de la biomasa de la semilla (en las semillas de *E. cyclocarpum* representaban el 3.5% de la biomasa inicial mientras que en *C. eriostachys* el 33.3%). En general, se ha descrito que los lípidos constituyen la reserva utilizada en la morfogénesis temprana de la plántula (Matsui *et al.* 1999, Eastmond y Graham 2001, Borges-Corte *et al.* 2006, Tonguc 2012) participando en la respiración como sustrato (Salon *et al.* 1988, Penfield *et al.* 2010) y en el inicio de la gluconeogénesis (Ichie *et al.* 2001).

Los cotiledones de *S. humilis*, fueron los de mayor biomasa y mantuvieron un porcentaje de lípidos hasta el momento de su abscisión (90 d); en este caso esta reserva se almacenada y puede ser utilizada ante pérdidas por herbivoría (Dalling *et al.* 1997). Mientras que en *E. cyclocarpum* (3.5% lípidos por 30 d), los lípidos podrían ser utilizados durante la germinación y el crecimiento inicial de la plántula y después los carbohidratos sostendrían el crecimiento del nuevo individuo (Suda y Giorgini 2000, Borges-Corte *et al.* 2006). En las especies estudiadas el porcentaje de lípidos está relacionado positivamente con el tiempo que los cotiledones los conservan, se ha reportado una relación entre el metabolismo de uso de cotiledones con la escisión de estos (Dae-Jae 2004). El uso de los cotiledones junto con señales ambientales como la sequía o herbivoría (usuales en la SBC) podrían determinar el tiempo que las plántulas conservan sus cotiledones.

En las especies estudiadas, los CNE presentaron pocas fluctuaciones durante la germinación. Esto podría estar relacionado con la inter-conversión de CNE y con una acumulación transitoria de almidón ante un exceso temporal en los azúcares libres

originado del catabolismo de los lípidos (Darbelley *et al.* 1997, Eastmon y Graham 2001). Posteriormente a la germinación, en siete especies (*A. farnesiana*, *C. eriostachys*, *C. platyloba*, *C. barbadensis*, *E. cyclocarpum*, *P. dulce* y *S. humilis*) la concentración de CNE disminuyó. La mayor parte de los CNE almacenados en las semillas son dirigidos hacia el crecimiento de las plántulas, particularmente de las raíces y para la elongación del epicótilo (Kabeya y Sakai 2000, Kennedy *et al.* 2004) y probablemente del hipocótilo en especies hipogeas. En *G. jatrophiifolius* los CNE no se agotaron en el periodo estudiado (Fig. 6). En esta especie se ha reportado la presencia de carbohidratos estructurales en los cotiledones (Soriano *et al.* 2011) que pueden ser considerados como una fuente importante de reservas para las plántulas (Buckeridge *et al.* 2000), los cuales fueron identificados, pero no cuantificados en este estudio. En otras especies se ha identificado un patrón de consumo de los carbohidratos de reserva previo al consumo de los lípidos como en *Beta vulgaris* (Lawrence *et al.* 1990), *Ricinus communis* (Muto y Beevers 1974) o *Zea mays* (Lin *et al.* 1983) indicando distintas estrategias para lograr el establecimiento de las plántulas (Fenner 1987).

El porcentaje de N disminuyó después de la germinación, lo que se ha relacionado con la movilización de proteínas para el crecimiento de las plántulas (Bewley y Black 1998, Suda y Giorgini 2000, Müntz *et al.* 2001). La movilización de N incluye la hidrólisis de las proteínas hacia amino ácidos y péptidos que son transportados e incorporados al embrión en crecimiento y para la síntesis de enzimas en los cotiledones (Callis 1995). También se ha reportado una pérdida de compuestos nitrogenados de las semillas al medio externo por lixiviación (García-Agustín y Primo-Millo 1990).

En este trabajo, las especies que tuvieron porcentajes más altos de N tuvieron hojas expandidas y funcionales más rápido que las especies con los menores porcentajes de N. Además, estas especies tiraron sus cotiledones más rápidamente. Se ha reportado que la



concentración de N en las semillas tiene una relación positiva con la tasa de germinación de las especies estudiadas (Soriano *et al.* 2011) y con la tasa de uso de reservas (Lieffering *et al.* 1996), lo que sugiere que las plántulas también se desarrollan más rápidamente. Además la relación significativa y negativa entre el N de los cotiledones y la biomasa de las hojas (a excepción fue *C. barbadensis*, cuya baja concentración de N puede explicar este hecho) indica que la producción y la morfogénesis de las hojas guardó una relación con el N presente en los cotiledones. En plántulas de soya, el N contenido en las semillas es el responsable de la producción y la expansión de las hojas y la deficiencia de N detiene la producción de hojas (Neagle *et al.* 2005).

En el campo, las tasas y los tiempos de consumo de las diferentes reservas pueden ser distintos a los descritos, porque la movilización de lípidos puede responder a factores internos y externos. En condiciones óptimas de humedad, a mayor temperatura las plántulas crecerían más rápido y las reservas se consumirían más rápidamente (Bouaziz y Hicks 1990). En *A. thaliana* la movilización de lípidos se inhibe ante la presencia de azúcares solubles (Borges-Corte 2006) o ante la reducción la radiación fotosintéticamente activa (Eastmon y Graham 2001); y puede reiniciarse con estímulos externos como la herbivoría. Un coeficiente alto de C/N en los cotiledones (entre azúcares solubles y el N; Eastmon y Graham 2001) disminuye la movilización de los lípidos. El balance C/N, durante el crecimiento de las plántulas, más que el estatus de C y N por separado ha sido descrito en *A. thaliana*. Esta relación tiene un papel predominante ya que regula la movilización de las reservas y la expresión de genes fotosintéticos (Coruzzi y Zhou 2001, Martin *et al.* 2002, Sato *et al.* 2011).

## **Conclusiones**

La pérdida de biomasa de los cotiledones a partir de la germinación indica el inicio del uso de las reservas almacenadas en ellos y su transferencia hacia la plántula. En seis de las ocho especies se favoreció la asignación de biomasa a las primeras hojas. Los lípidos fueron la reserva que se agotó primero indicando que en las especies estudiadas, esta reserva es fundamental para la fotomorfogénesis de las hojas lo mismo que el N ya que las especies que tuvieron porcentajes más altos de N tuvieron hojas expandidas y funcionales más rápido que las especies con los menores porcentajes de N. Dos especies favorecieron la asignación de recursos hacia la raíz y el tallo manteniendo un alto aporte fotosintético. El aporte de los lípidos y el N es clave en la formación de las hojas y el aporte fotosintético de éstas es fundamental para lograr un establecimiento exitoso de las plántulas en la SBC. En este ecosistema por el cierre del dosel y la disponibilidad intermitente de agua, una alta eficiencia fotosintética inicial permitiría aprovechar los recursos disponibles al inicio de la temporada de crecimiento. El momento en donde las TTE de hojas superan al de los cotiledones puede ser un punto en el que se marca el inicio del crecimiento autótrofo de las plántulas. Este momento podría ser distinto en el tiempo para cada especie y posiblemente puede variar con factores ambientales.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos al Posgrado en Ciencias Biológicas-UNAM y a la Estación de Biología Chamela (IB-UNAM) por las facilidades prestadas para realizar esta investigación y el apoyo logístico. También agradezco a M.C Ma. Esther Sánchez-Coronado y a la Biol. Irma Acosta Calixto por su soporte técnico. Gustavo Verduzco y Karen Suárez fueron de gran ayuda en la colecta y procesamiento de semillas y durante el trabajo en campo. Este trabajo fue apoyado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico-

UNAM mediante el proyecto [IN 232802-3] y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología [Beca de Posgrado 187210 para Diana Soriano].

## LITERATURA CITADA

**Ampofo ST, Moore KG, Lovell PH. 1976a.** Cotyledon photosynthesis during seedling development in *Acer*. *New Phytologist* 76: 41–52.

**Ampofo ST, Moore KG, Lovell PH. 1976b.** The Influence of leaves on cotyledon photosynthesis and export during seedling. *New Phytologist* 76: 247–255.

**Bewley JD, Black M. 1998.** Seeds: Physiology of development and germination.: Plenum Press, NY, USA.

**Blanco J. 2012.** Efecto del precondicionamiento (priming) hídrico en el crecimiento de las plántulas de *Ipomoea wolcottiana* y *Caesalpinia platyloba*. Tesis de Licenciatura. UNAM.

**Bonfil C. 1998.** The effects of seed size, cotyledon reserves, and herbivory on seedling survival and growth in *Quercus rugosa* and *Q. laurina* (Fagaceae). *American Journal of Botany* 85: 79–87.

**Borek S, Ratajczak W, Ratajczak L. 2006.** Ultrastructural and enzymatic research on the role of sucrose in mobilization of storage lipids in germinating yellow lupine seeds. *Plant Science* 170: 441–452.

**Borek S, Pukacka S, Ratajczak, L. 2009.** Lipid and protein accumulation in developing seeds of three lupine species: *Lupinus luteus* L., *Lupinus albus* L., and *Lupinus mutabilis* Sweet. *Journal of Experimental Botany* 60: 3453–3466.

**Borges-Corte V, de Lima BE, Aparecida PC, de Almeida L, Contin VM, de Almeida MA. 2006.** Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e

- crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* benth. (Leguminosae-Caesalpinoideae). *Revista Árvore* 30: 941–949.
- Bouaziz A, Hicks DR. 1990.** Consumption of wheat seed reserves during germination and early growth as affected by soil water potential. *Plant and Soil* 128: 161–165.
- Buckeridge MS, Pessoa DSH, Tine' MA. 2000.** Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 141–156.
- Bullock SH. 1986.** Climate of Chamela, Jalisco, and trends in the south coastal region of Mexico. *Archives of Meteorology, Geophysics and Bioclimatology* 36: 297–316.
- Callis J. 1995.** Regulation of protein degradation. *The Plant Cell* 7: 845–857.
- Coruzzi GM, Zhou L. 2001.** Carbon and nitrogen sensing and signaling in plants: emerging 'matrix effects'. *Current Opinion in Plant Biology* 4: 247–253.
- Dae-Jae K. 2004.** A study of cotyledon senescence in cucumber (*Cucumis sativus* L.) based on expressed sequence tags and gene expression. *Journal of Plant Biology* 47: 244–253.
- Dalling JW, Hubbell SP, Silvera K. 1997.** Seed dispersal, seedling establishment and gap partitioning among tropical pioneer trees. *Journal of Ecology* 86: 674–689.
- Darbelley N, Razafindramboa N, Chambost JP, Pavia A. 1997.** Light effects on  $\alpha$ -amylase activity and carbohydrate content in relation to lipid mobilization during the seedling growth of sunflower. *Journal of Plant Research* 110: 347–356.
- Daws MI, Ballard AC, Mullins CE, Garwood NC, Murray B, Pearson TRH, Burslem D. 2007.** Allometric relationships between seed mass and seedling characteristics reveal trade-offs for neotropical gap-dependent species. *Oecologia* 154: 445–454.
- Eastmond PJ, Graham IA. 2001.** Re-examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds. *Trends in Plant Science* 6: 72–78.

- Fenner M. 1987.** Seedlings. *New Phytologist* 106: 35–47.
- Fenner M, Thompson K. 2006.** The ecology of seeds. Cambridge University Press. London, UK.
- Folkes BF. 1970.** The physiology of the synthesis of amino acids and their movement into the seed proteins of plants. *Proceedings of the Nutrition Society* 29: 12–20.
- García-Agustin P, Primo-Millo E. 1990.** Changes in some nitrogenous components during the germination of citrus seeds. *Scientia Horticulturae* 43: 69–81.
- Garwood NC. 1996.** Functional morphology of tropical tree seedlings. En M. D. Swaine. ed. The ecology of tropical forest tree seedlings, Man and the Biosphere series, vol. 17. UNESCO, Paris and Parthenon, Paris, France. p. 59–129.
- Gerhardt K. 1996.** Effects of root competition and canopy openness on survival and growth of tree seedlings in a tropical seasonal dry forest. *Forest Ecology and Management* 3: 3–48.
- Gómez GM. 2001.** Dinámica foliar comparativa y aspectos fisiológicos en plántulas de 20 especies leñosas de la Selva Baja Caducifolia de Chamela, Jalisco. Tesis de Licenciatura UNAM. México.
- Green PJ, Juniper PA. 2004.** Seed–seedling allometry in tropical rain forest trees: seed mass-related patterns of resource allocation and the ‘reserve effect’. *Journal of Ecology* 92: 397–408.
- Grime JP. 2001.** Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties, 2nd ed. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK.
- Hanley ME, Fenner M, Whibley H, Darvill B. 2004.** Early plant growth: identifying the end point of the seedling phase. *New Phytologist* 163: 61–66.

- Hansen P. 1971.** C-Studies on apple trees. VII. The early seasonal growth in leaves, flowers and shoots as dependent upon current photosynthates and existing reserves. *Physiologia Plantarum* 25: 469–473.
- Hara Y, Toriyama K. 1998.** Seed nitrogen accelerates the rates of germination, emergence, and establishment of rice plants. *Soil Science and Plant Nutrition* 44: 359–366.
- Harper JL, Benton RA. 1966.** The Behaviour of Seeds in Soil: II. The germination of seeds on the surface of a water supplying substrate. *Journal of Ecology* 54: 151–166.
- Harris M, Machender RO, Smith DL. 1986.** Photosynthesis of cotyledons of soybean seedlings. *New Phytologist* 104: 319–329.
- Henery ML, Westoby M. 2001.** Seed mass and seed nutrient content as predictors of seed output variation between species. *Oikos* 92: 479–90.
- Heupel T, Kutschera U. 1996.** Pigment accumulation, dark respiration and photosynthesis during the greening of sunflower cotyledons. *Journal of Plant Physiology* 147: 567–572.
- Hansen P. 1971.** 14C-studies on apple trees. VII. The early seasonal growth in leaves, flowers and shoots as dependent upon current photosynthates and existing reserves. *Physiologia Plantarum* 25:469–473.
- Hladik A, Miquel S. 1990.** Seedling types and plant establishment in an African rain forest. En: Bawa KS, Hadley M, eds. Reproductive ecology of tropical forest plants, Man and the Biosphere series, vol. 7. UNESCO, Paris and Parthenon, Paris, France. pp 261–282.
- Hunt R. 1982.** Plant growth curves the functional approach to plant growth analysis. Arnold, London UK.

- Ichie T, Ninomiya I, Ogino K. 2001.** Utilization of seed reserves during germination and early seedling growth by *Dryobalanops lanceolata* (Dipterocarpaceae). *Journal of Tropical Ecology* 17: 371–378.
- Kabeya D, Sakai S. 2003.** The role of roots and cotyledon as storage organs in early stages of establishment in *Quercus crispula*: a quantitative analysis of the nonstructural carbohydrate in cotyledons and roots. *Annals of Botany* 92: 537–545.
- Kennedy PG, Hausmann NJ, Wenk EH, Dawson TE. 2004.** The importance of seed reserves for seedling performance: an integrated approach using morphological , physiological and stable isotope techniques. *Oecologia* 141: 547–554.
- Khurana E, Singh JS. 2001.** Ecology of tree seed and seedlings: Implications for tropical forest conservation and restoration. *Current Science* 82: 748–757.
- Khurana E, Singh JS. 2004.** Germination and seedling growth of five tree species from tropical dry forest in relation to water stress: impact of seed size. *Journal of Tropical Ecology* 20: 385–396.
- Kidson R, Westoby M. 2000.** Seed mass and seedling dimensions in relation to seedling establishment. *Oecologia* 125: 11–17.
- King JE, Gifford DJ. 1997.** Amino acid utilization in seeds of loblolly pine during germination and early seedling growth. I. Arginine and arginase activity. *Plant Physiology* 113: 1125–1135.
- Kitajima K. 1996.** Cotyledon functional morphology, patterns of seed reserve utilization and regeneration niches of tropical tree seedlings. En: Swaine MD, ed. The ecology of tropical forest tree seedlings. Carnforth, UK: Parthenon. pp. 193–210.
- Kitajima K. 2002.** Do shade-tolerant tropical tree seedlings depend longer on seed reserves? Functional growth analysis of three Bignoniaceae species. *Functional Ecology* 16: 433–444.

- Kitajima K. 2003.** Impact of cotyledon and leaf removal on survival of young seedlings with contrasting cotyledon morphologies. *Biotropica* 35: 429–434.
- Kitajima K, Fenner M. 2000.** Seedling regeneration ecology. En: Fenner, M, ed. Seeds: Ecology of Regeneration in Plant Communities CAB International, Wallingford. pp. 331-360.
- Lawrence DM, Halmer P, Bowles DJ. 1990.** Mobilisation of storage reserves during germination and early seedling growth of sugar beet. *Physiologia Plantarum* 78: 421–429.
- Lieffering M, Andrews M, Mckenzie BA. 1996.** Nitrate stimulation of mobilization of seed reserves in temperate cereals: importance of water uptake. *Annals of Botany* 78: 695–701.
- Lin YH, Wimer LT, Huang AHC. 1983.** Lipase in the lipid bodies of corn scutella during seedling growth. *Plant Physiology* 73: 460-463.
- Matsui K, Hijiya K, Tabuchi Y, Jajiwara T. 1999.** Cucumber cotyledon lipooxygenase during postgerminative growth, its expression and action on lipid bodies. *Plant Physiology* 119: 1279–1287.
- Marshall PE, Kozlowski TT. 1974.** Photosynthetic activity of cotyledons and foliage leaves of young angiosperm seedlings. *Canadian Journal of Botany* 52: 2023–2032.
- Marshall PE, Kozlowski TT. 1976.** Importance of photosynthetic cotyledons for early growth of woody angiosperms. *Physiologia Plantarum* 37: 336–340.
- Martin T, Oswald O, Graham IA. 2002.** Arabidopsis seedling growth, storage lipid mobilization, and photosynthetic gene expression are regulated by carbon:nitrogen availability. *Plant Physiology* 128: 472–481.



- McLaren KP, McDonald MA. 2003.** The effects on moisture and shade on seed germination and seedling survival in a tropical dry forest in Jamaica. *Forest Ecology and Management* 183: 61–75.
- Milberg P, Lamont BB. 1997.** Seed/cotyledon size and nutrient content play a major role in early performance of species on nutrient-poor soils. *New Phytologist* 137: 665–672.
- Moles AT, Westoby M. 2006.** Seed size and plant strategy across the whole life cycle. *Oikos* 113: 91–105.
- Muto S, Beevers H. 1974.** Lipase activities in castor bean endosperm during germination. *Plant Physiology* 54: 23–28.
- Muntz K, Belozersky MA, Dunaevsky YE, Schlereth A, Tiedemann J. 2001.** Stored proteinases and the initiation of storage protein mobilization in seeds during germination and seedling growth. *Journal of Experimental Botany* 52: 1741–1752.
- Myers J, Kitajima K. 2007.** Carbohydrate storage enhances seedling shade and stress tolerance in a neotropical forest. *Journal of Ecology* 95: 383–395.
- Neagle ER, Burton JW, Carter TE, Rufty TW. 2005.** Influence of seed nitrogen content on seedling growth and recovery from nitrogen stress. *Plant and Soil Journal* 271: 328–340.
- Nonogaki H, Bassel GW, Bewley JD. 2010.** Germination – still a mystery. *Plant Science* 179: 574–581.
- Páramo-Pérez ME. 2008.** Análisis temporal de los eventos de sequías cortas y su efecto en la fisiología y supervivencia de plántulas de cuatro especies arbóreas de la Selva Baja Caducifolia. MSc. Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- Penfield S, Pinfield-Wells HM, Graham IA. 2010.** Storage reserve mobilization and seedling establishment in *Arabidopsis*. *Arabidopsis Book*. doi: [10.1199/tab.0100](https://doi.org/10.1199/tab.0100).
- Rzedewski J, Huertas ML. 1981.** Vegetación de México. Editorial Limusa. DF, México.
- Salon C, Raymond P, Pradet A. 1988.** Quantification of carbon fluxes through the tricarboxylic acid cycle in early germinating lettuce embryos. *Journal of Biological Chemistry* 263: 12278-12287.
- Sato T, Maekawa S, Yasuda S, Domeki Y, Sueyoshi D, Fujiwara M, Fukao Y, Goto DB, Yamaguchi J. 2011.** Identification of 14-3-3 proteins as a target of ATL31 ubiquitin ligase, a regulator of the C/N response in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 68: 137–146.
- Santos HP, Buckeridge MS. 2004.** The role of the storage carbon of cotyledons in the establishment of seedlings of *Hymenaea courbaril* under different light conditions. *Annals of Botany* 94: 819–830.
- Shepherd KA, Macfarlane TD, Colmer TD. 2005.** Morphology, anatomy and histochemistry of Salicornioideae (Chenopodiaceae) fruits and seeds. *Annals of Botany* 95: 917-933.
- Shipley B. 2006.** Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which is most closely correlated with relative growth rate: A meta-analysis. *Functional Ecology* 20: 565–574.
- Silvertown J, Franco M, Pisanty I, Mendoza A. 1993.** Comparative plant demography. Relative importance of life-cycle components to the finite rate of increase in woody and herbaceous perennials. *Journal of Ecology* 81: 465–476.
- Soriano D, Orozco-Segovia A, Marquez-Guzman J, Kitajima K, Huante P. 2011.** Seed reserve composition in nineteen tree species of a tropical deciduous forest in

- Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Annals of Botany* 107: 939–951.
- Swanborough P, Westoby M. 1996.** Seedling relative growth rate and its components in relation to seed size: phylogenetically independent contrasts. *Functional Ecology* 10: 176–184.
- Suda CNK, Giorgini JF. 2000.** Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12: 226–244.
- Taiz L, Zeiger E. 2008.** Plant Physiology Fourth Ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Mass. U.S.A.
- Tonguç M, Elkoyunu R, Erbaş S, Karakurt Y. 2012.** Changes in seed reserve composition during germination and initial seedling development of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turkish Journal of Biology* 36: 107–112.
- Vázquez-Yanes C, Orozco-Segovia A. 1993.** Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 69–87.
- Vieira DLM, Scariot A. 2006.** Principles of natural regeneration of tropical dry forests for restoration. *Restoration Ecology* 14: 11–20.
- Werker E. 1997.** Seed Anatomy. Encyclopedia of Plant Anatomy X, part 3. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Germany.
- Zanne AE, Chapman CA, Kitajima K. 2005.** Evolutionary and ecological correlates of early seedling morphology in east African trees and shrubs. *American Journal of Botany* 92: 972–978.

**Zheng W, Yang ZH, Luan ZH, Wang P, Zhang HX, Zhou DW. 2011.**

Compensatory growth and photosynthetic responses of *Pharbitis purpurea* seedlings to clipped cotyledon and second leaf. *Photosynthetica* 49: 21–28.

## APÉNDICES

**Apéndice 1.** Resultados de la prueba de Kruskal-Wallis para la biomasa de los cotiledones en el tiempo.

<b>Especie</b>	<b>H</b>	<b>P</b>
<i>A. farnesiana</i>	78.2	< 0.001
<i>C. barbadensis</i>	74.6	< 0.001
<i>C. eriostachys</i>	123.8	< 0.001
<i>C. platyloba</i>	105.8	< 0.001
<i>E. cyclocarpum</i>	109.7	< 0.001
<i>G. jatrophiifolius</i>	13.4	0.01
<i>P. dulce</i>	110.4	< 0.001
<i>S. humilis</i>	111.9	< 0.001

**Apéndice 2.** Coeficiente de correlación ( $r$ ), coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y nivel de significancia ( $P$ ) de las regresiones entre el área de los cotiledones y las hojas mostradas en la Figura 2.

<b>Especie</b>	<b><math>r</math></b>	<b><math>r^2</math></b>	<b><math>P</math></b>
<i>A. farnesiana</i>	-0.99	0.99	< 0.001
<i>C. barbadensis</i>	-0.31	0.1	> 0.05
<i>C. eriostachys</i>	-0.91	0.82	0.01
<i>C. platyloba</i>	-0.99	0.99	< 0.001
<i>E. cyclocarpum</i>	-0.59	0.35	0.05
<i>G. jatrophiifolius</i>	-0.53	0.29	> 0.05

**Apéndice 3.** ANOVA de dos vías de la TTE de las especies estudiadas para cotiledones y hojas (estructuras) en el tiempo para *A. farnesiana*, *C. barbadensis*, *C. eriostachys*, *C. platyloba*, *E. cyclocarpum* y *G. jatrophifolius*.

Fuente de variación	gl	SC	CM	F	P
<b><i>A. farnesiana</i></b>					
Tiempo	4	10424.5	2606.1	26.2	<0.001
Estructura x Tiempo	4	19899.1	4974.8	50.1	<0.001
Residual	61	6058.6	99.3		
Total	70	44145.5	630.7		
<b><i>C. barbadensis</i></b>					
Estructura	1	1.2	1.2	66.9	<0.001
Tiempo	4	5.8	1.4	78.8	<0.001
Estructura x tiempo	4	1.4	0.4	19.2	<0.001
Residual	94	1.7	0.01		
Total	103	10.5	0.1		
<b><i>C. eriostachys</i></b>					
Estructura	1	254.5	254.5	21.3	<0.001
Tiempo	6	5787.3	964.6	80.7	<0.001
Estructura x Tiempo	6	4110.8	685.1	57.1	<0.001
Residual	91	1088.2	11.9		
Total	104	11918.9	114.6		
<b><i>C. platyloba</i></b>					
Estructura	1	0.7	0.7	19.9	<0.001
Tiempo	6	12.4	2.1	59.3	<0.001
Estructura x Tiempo	6	1.5	0.2	6.9	<0.001
Residual	93	3.3	0.03		
Total	106	17.7			
<b><i>E. cyclocarpum</i></b>					
Estructura	1	3.8	3.8	88.4	<0.001
Tiempo	8	62.7	7.8	182.4	<0.001
Estructura x Tiempo	8	63.5	7.9	184.7	<0.001
Residual	74	3.2	0.1		
Total	91	104.5	1.2		
<b><i>G. jatrophifolius</i></b>					
Estructura	1	1412.7	1412.7	31.9	<0.001
Día	6	4438.8	739.8	16.7	<0.001
Estructura x Día	6	14831.5	2471.9	55.9	<0.001
Residual	82	3625.5	44.2		
Total	95	28733.6	302.5		

Resultado de la prueba de Kruskal-Wallis para TTE de las especies estudiadas para las hojas en el tiempo para *P. dulce* y *S. humilis*.

*P. dulce*

---

$H = 10.030, P = 0.187$

---

*S. humilis*

---

$H = 9.45, P = 0.087$

---



**Apéndice 4.** Tablas de las ANOVA para las reservas de las ocho especies estudiadas en el tiempo.

**CNE**

Fuente de variación	SC	gl	CM	F	P
<b><i>A. farnesiana</i></b>					
Entre grupos	12816.0	7	1830.9	349.5	< 0.001
Intra grupos	83.8	16	5.2		
Total	12899.9	23			
<b><i>C. barbadensis</i></b>					
Entre grupos	17231.1	13	1325.5	21.1	< 0.001
Intra grupos	1759.1	28	62.8		
Total	18990.1	41			
<b><i>C. eriostachys</i></b>					
Entre grupos	15796.3	12	1316.4	59.1	< 0.001
Intra grupos	578.7	26	22.3		
Total	16375	38			
<b><i>C. platyloba</i></b>					
Entre grupos	14978.1	11	1361.7	60.9	< 0.001
Intra grupos	535.9	24	22.3		
Total	15514	35			
<b><i>E. cyclocarpum</i></b>					
Entre grupos	36174.9	15	2411.7	80.6	< 0.001
Intra grupos	958.1	32	29.9		
Total	37133	47			
<b><i>G. jatrophiifolius</i></b>					
Entre grupos	24.3	12	2.1	13.7	< 0.001
Intra grupos	3.9	26	0.5		
Total	28.1	38			
<b><i>P. dulce</i></b>					
Entre grupos	26133.2	13	2010.3	362.7	< 0.001
Intra grupos	155.2	28	5.5		
Total	26288.4	41			
<b><i>S. humilis</i></b>					
Entre grupos	11987.5	18	665.9	27.5	< 0.001
Intra grupos	921.1	38	24.2		
Total	12908.5	56			

## NITRÓGENO

Fuente de variación	SC	gl	CM	F	P
<b><i>A. farnesiana</i></b>					
Entre grupos	10404.2	7	1486.3	2530.3	< 0.001
Intra grupos	9.4	16	0.6		
Total	10413.6	23			
<b><i>C. barbadensis</i></b>					
Entre grupos	7618.9	13	586.1	79.7	< 0.001
Intra grupos	205.9	28	7.4		
Total	7824.8	41			
<b><i>C. eriostachys</i></b>					
Entre grupos	13758.9	12	1146.6	186.2	< 0.001
Intra grupos	160.1	26	6.2		
Total	13919	38			
<b><i>C. platyloba</i></b>					
Entre grupos	18396.1	12	1533.0	12897.5	< 0.001
Intra grupos	2.9	25	0.1		
Total	18399	37			
<b><i>E. cyclocarpum</i></b>					
Entre grupos	34457.7	14	2461.3	80.2	< 0.001
Intra grupos	921.2	30	30.7		
Total	35378.9	44			
<b><i>G. jatrophifolius</i></b>					
Entre grupos	16379.2	12	1364.9	2598.1	< 0.001
Intra grupos	13.7	26	0.5		
Total	16392.9	38			
<b><i>P. dulce</i></b>					
Entre grupos	30604.2	13	2354.2	1096.4	< 0.001
Intra grupos	60.1	28	2.2		
Total	30664.3	41			
<b><i>S. humilis</i></b>					
Entre grupos	22978.6	17	1351.7	234.8	< 0.001
Intra grupos	207.2	36	5.8		
Total	23185.8	53			

## LÍPIDOS

### *A. farnesiana*

t = 32.3, P = 0.0000005

Fuente de variación	SC	gl	CM	F	P
<b><i>C. barbadensis</i></b>					
Entre grupos	12894.7	7	1842.1	44.7	< 0.001
Intra grupos	658.9	16	41.2		
Total	13553.6	23			
<b><i>C. eriostachys</i></b>					
Entre grupos	12949.9	7	1849.9	148.7	< 0.001
Intra grupos	199.1	16	12.4		
Total	13148.9	23			
<b><i>C. platyloba</i></b>					
Entre grupos	6554.5	6	1092.4	93.5	< 0.001
Intra grupos	163.6	14	11.7		
Total	6718.1	20			
<b><i>E. cyclocarpum</i></b>					
Entre grupos	7305.5	4	1826.4	84.5	< 0.001
Intra grupos	216.3	10	21.6		
Total	7521.7	14			
<b><i>G. jatrophiifolius</i></b>					
Entre grupos	8267.4	9	918.6	56.2	< 0.01
Intra grupos	327.2	20	16.4		
Total	8594.6	29			
<b><i>P. dulce</i></b>					
Entre grupos	15813.7	7	2259.1	49.1	< 0.001
Intra grupos	735.7	16	45.9		
Total (Corr.)	16549.4	23			
<b><i>S. humilis</i></b>					
Entre grupos	24801	16	1550.1	211.1	< 0.001
Intra grupos	249.7	34	7.3		
Total (Corr.)	25050.7	50			

**Apéndice 5.** Coeficiente de determinación ( $r^2$ ), nivel de significancia (P) y ecuaciones de los ajustes de las reservas en el tiempo

CNE	$r^2$	P	Ecuación
<i>A. farnesiana</i>	0.88	< 0.001	$y = 93.4 + ((-27.2)x)$
<i>C. barbadensis</i>	0.85	< 0.001	$y = -55.9 + 167.6 \exp(-x/101.7)$
<i>C. eriostachys</i>	0.86	< 0.001	$y = -4.1 + 109.9 \exp(-x/16.6)$
<i>C. platyloba</i>	0.54	0.032	$y = -3.2 \exp^6 + 3.2 \exp^6 \exp(-x/1.1 \exp^6)$
<i>E. cyclocarpum</i>	0.85	< 0.001	$y = -2.5 + 107.1 \exp(-x/9.1)$
<i>G. jatrophiifolius</i>		NS	
<i>P. dulce</i>	0.98	< 0.001	$y = -1.9 + 108.1 \exp(-x/11.2)$
<i>S. dulce</i>	0.73	< 0.001	$y = -2.4 \exp^6 + 2.46 \exp^6 \exp(-x/2.9 \exp^6)$

Lípidos	$r^2$	P	Ecuación
<i>A. farnesiana</i>			
<i>C. barbadensis</i>	0.87	0.01	$y = 14.5 + 124.3 \exp(-x/6.9)$
<i>C. eriostachys</i>	0.97	< 0.001	$y = -27.3 + 153.8 \exp(-x/6.4)$
<i>C. platyloba</i>	0.95	< 0.001	$y = 643536 - 643422.9 \exp(-x/-85337.9)$
<i>E. cyclocarpum</i>	0.98	< 0.001	$y = -93.4 + 189.1 \exp(-x/12.8)$
<i>G. jatrophiifolius</i>	0.88	< 0.001	$y = -4.3 + 107.3 \exp(-x/12.1)$
<i>P. dulce</i>	0.9	0.003	$y = -553.6 + 647.8 \exp(-x/79.3)$
<i>S. dulce</i>	0.93	< 0.001	$y = -11.8 + 110.7 \exp(-x/35.1)$

Nitrógeno	$r^2$	P	Ecuación
<i>A. farnesiana</i>	0.96	< 0.001	$y = 104.1 + ((-25.8)x)$
<i>C. barbadensis</i>	0.89	< 0.001	$y = 14.06 + 89.8 \exp(-x/71.7)$
<i>C. eriostachys</i>	0.94	< 0.001	$y = -17.3 + 121.3 \exp(-x/16.4)$
<i>C. platyloba</i>	0.96	< 0.001	$y = -68.9 + 180.3 \exp(-x/29.9)$
<i>E. cyclocarpum</i>	0.87	< 0.001	$y = -2.2 + 112.7 \exp(-x/9.6)$
<i>G. jatrophiifolius</i>	0.91	< 0.001	$y = -97.6 + 201.4 \exp(-x/57.4)$
<i>P. dulce</i>	0.97	< 0.001	$y = -11.1 + 121.2 \exp(-x/14.4)$
<i>S. dulce</i>	0.96	< 0.001	$y = -75.6 + 169.9 \exp(-x/65.6)$

**CAPÍTULO V**  
**DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES**

En este trabajo se analizaron cuatro aspectos relevantes de la historia de vida de la semilla: su composición de reservas, los cambios en la latencia a lo largo de la permanencia de las semillas en el laboratorio y en el suelo, los cambios en el contenido de reservas asociados a la longevidad y la utilización de las reservas en la germinación y el crecimiento primario de la plántula. Se utilizaron 19 especies arbóreas de la Selva Baja Caducifolia (SBC) de Chamela, Jalisco en México. Dado que en cada uno de los capítulos se encontraron patrones que reúnen a las semillas en distintos grupos, la discusión se dirigirá a resaltar los patrones encontrados en cada capítulo y la forma en que pueden incidir en la historia de vida de las semillas.

En la primera parte de este trabajo se describió la composición de las reservas en semillas de las 19 especies estudiadas y su relación con su germinación y el crecimiento de sus plántulas. Posteriormente, en el capítulo III se exploró la respuesta de la germinación en 18 especies en el campo y condiciones semi-controladas (25°C, 12/12 luz/oscuridad), después de estar almacenadas o enterradas, para probar su potencial para formar bancos de semillas y permanecer almacenadas. Se utilizaron siete especies con cubierta seminal impermeable y 11 especies con cubierta permeable. Finalmente, en el capítulo IV se estudió la movilización de las reservas en semillas en ocho especies, con una amplia diversidad en su composición de reservas, dos especies con cotiledones de reservas y seis especies con cotiledones fotosintéticos. La diferencia en el número de especies utilizadas en cada experimento estuvo determinada por la disponibilidad de las semillas.

A partir de los resultados obtenidos se pudo analizar cómo interaccionan las reservas con otras características de las semillas en las distintas especies y cómo responden al ambiente. Analizar el papel de las reservas a lo largo de la historia de vida de las

semillas es importante para entender procesos que ocurren en las comunidades como el reclutamiento y la sucesión (Khurana y Singh 2001).

### **Composición de reservas**

En las especies incluidas en este estudio, las reservas estuvieron almacenadas principalmente en los cotiledones. Las semillas de las distintas especies estudiadas mostraron un gradiente, en la proporción en que cada reserva está contenida en las semillas. En los extremos se encontraron semillas con un alto contenido de lípidos y semillas con un alto contenido de CNE. La poca relación entre la filogenia de las especies con la composición de las reservas sugirieron una convergencia ecológica en la composición de las reservas de las semillas de estas especies. Especies sin relación filogenética presentan alto contenido de CNE o lípidos. Por el diferente papel funcional de estas reservas, las especies en estos grupos probablemente representan dos estrategias distintas y contrastantes para germinar y establecerse en la SBC.

La concentración de N en las 19 especies estudiadas fue independiente de la concentración de CNE y de lípidos. Sin embargo, la concentración de esta reserva se modificó con los cambios ambientales anuales. La concentración de N, al momento de la dispersión de las semillas de las especies estudiadas, difirió en los dos años de estudio (2005 y 2006). En la mayoría de las especies fue significativamente mayor después del año seco (2005). Un déficit de agua durante la etapa reproductiva de las plantas, más específicamente a partir de la floración de las especies, puede estar relacionado con una mayor concentración de N en las semillas (Drenovsky y Richards 2005, Breen y Richards, 2008, Takele y Farrant 2010). Este incremento es parte de una estrategia para incrementar las posibilidades de establecimiento de individuos ante una escasez de recursos en el medio externo.

El N está relacionado con el contenido de proteínas, aminoácidos y ácidos nucleicos. Estas macromoléculas participan en la germinación de las semillas, un aumento en la concentración de N puede incidir positivamente en las tasas de movilización de las reservas o en el crecimiento y el establecimiento de las plántulas (Lieffering *et al.* 1996, Massao y Mazzafera 2000, Rozan *et al.* 2001).

Sin embargo, una alta concentración de N en las semillas después de un año seco, hace de éstas una fuente atractiva de N para los depredadores. En este trabajo se encontró que las especies con semillas ricas en N también invirtieron un mayor porcentaje del peso total de la semilla en cubierta seminal, como ha sido reportado previamente en especies arbóreas de los trópicos (Wulff 1995, Grubb *et al.* 1998). Esto representa un compromiso entre el N contenido en las semillas y la inversión en protección (dada por la cubierta seminal).

Al momento de la dispersión, las semillas permeables, presentaron una relación negativa significativa entre los lípidos y el N con el contenido de humedad (CH) de las semillas y una relación positiva entre los CNE y el CH. La relación entre el CH en la composición química de las semillas se relaciona con el potencial mátrico de éstas (Baskin y Baskin 1998, Pritchard y Dickie 2003). Las relaciones entre los lípidos y los CNE con el CH permanecieron después de un periodo de enterramiento demuestra que la semilla puede conservar su potencial mátrico y por tanto su potencial hídrico, lo que le permite absorber agua del medio aún cuando el potencial hídrico del suelo sea relativamente bajo, así como las reservas suficientes para germinar y establecerse.

### **Efecto del enterramiento y el almacenamiento de las semillas en la germinación y la composición de reservas**



Al momento de la dispersión (época seca) las especies estudiadas tuvieron tiempos de inicio de la germinación cortos. Esto fue probado en cámaras de crecimiento, indicando que al menos una fracción de las semillas son quiescentes y es la disponibilidad de agua lo que determina que no se inicie la germinación. En el caso de las especies con cubierta seminal impermeable (latencia física), la germinación rápida estuvo condicionada a la previa escarificación. En las especies de la SBC estudiadas, una vez que las semillas inician la imbibición, durante la temporada de lluvia, la germinación termina en poco tiempo, como una respuesta evolutiva que permite maximizar el crecimiento de las plántulas durante la corta temporada de crecimiento (Garwood 1983, Khurana y Singh 2001).

### **Germinación en cámaras de crecimiento**

Las semillas impermeables escarificadas, que germinaron en cámaras de crecimiento mostraron alta capacidad de germinación desde el momento de su dispersión y después de estar almacenadas en el laboratorio por uno y tres periodos de almacén (1LP y 3LP, respectivamente, capítulo III), estos periodos difirieron en número de meses de almacenamiento debido a que no todas las especies se produjeron y maduraron en el campo de manera simultánea. Las especies con semillas impermeables que no fueron escarificadas y que tuvieron los valores de contenido de humedad (CH) más altos al momento de la dispersión, perdieron la latencia física más rápido que las semillas con los CH más bajos después de 1LP. Cuando el contenido de humedad es alto, la cubierta seminal aún no es impermeable por completo, lo que permite un mayor intercambio gaseoso y la presencia de actividad metabólica (Mohamed-Yasseen *et al.* 1994, Murdoch y Ellis 2000). Sin embargo, si las semillas no germinan en la primera temporada después de su dispersión, estas pueden volver a entrar en latencia física,

después de 3LP. Esta respuesta, probablemente se debe a la deshidratación de la cubierta seminal durante el almacenamiento (Quinlivan 1968).

Después de que las semillas impermeables estuvieron enterradas por uno y dos periodos (1BP y 2BP, capítulo III), al exhumarse, sólo una fracción de la población rompió la latencia física en cámaras de germinación. Las fluctuaciones de la temperatura del suelo o la actividad fúngica pueden llevar a la pérdida de la latencia física por el debilitamiento del área cercana al micrópilo o la fisura hilar permitiendo la entrada de agua y la germinación (Gogue y Emino 1979, Russi *et al.* 1992a, Moreno-Casasola *et al.* 1994). Dado que no todas las semillas pierden la latencia al mismo tiempo se pueden generar cohortes anuales de semillas que pierden la latencia física, lo que permite la dispersión de la germinación en el tiempo.

En el caso de las once especies con semillas permeables, al momento de la dispersión, todas germinaron sin ningún pre-tratamiento. Después de 3LP sólo *C. eriostachys* mantuvo la misma capacidad germinativa, el resto de las especies tuvo una disminución en su germinabilidad. Las semillas permeables pueden presentar un envejecimiento en un almacenamiento semi-controlado o también entrar en latencia secundaria (Pritchard y Dickie 2003).

Las semillas que permanecieron enterradas por una o dos temporadas secas (1BP o 2BP, capítulo III) tuvieron distintas respuestas cuando germinaron en las cámaras de crecimiento. Después de 1BP, la mayoría de las especies no tuvieron cambios en la capacidad germinativa y en el tiempo de inicio de ésta. Las semillas de estas especies pueden esperar hasta el inicio de la temporada de lluvias sin detrimento de su capacidad de germinación. Después de 2BP sólo una fracción de las semillas de cinco especies germinó; *C. eriostachys* mantuvo la misma capacidad de germinación que al momento de la dispersión. *C. eriostachys* es la especie más ampliamente distribuida y abundante

en la SBC de Chamela (Martinez-Yrizar 1992), su longevidad potencial y ecológica puede ser un factor importante para su éxito.

En las especies que disminuyen su capacidad de germinación, un porcentaje de las semillas podría haber entrado en latencia secundaria después del 2BP, ya que las semillas no germinaron pero una vez hidratadas permanecieron firmes, lo que sugiere que el embrión era viable pero que una latencia secundaria u otro bloqueo en la germinación estaban presentes.

Los cambios en la germinabilidad y/o en la latencia, durante el enterramiento, están relacionados con las altas fluctuaciones de temperatura (Vleeshouwers *et al.* 1995) y con las variaciones en la HR del suelo (Garwood y Lighton 1990) ocurridas aun en la temporada seca por la condensación de la humedad del aire (Barradas y González-Medellín 1999). Al momento de considerar la longevidad ecológica de las especies es importante considerar la fracción de las semillas que se perdió por depredación o perdieron su viabilidad por patógenos. Esto puede determinar la posibilidad de una especie de mantener semillas viables en un banco (Garwood 1989, Hulme 1998. Khurana y Singh 2001).

### **Germinación en el campo**

En el campo, durante la primera y la segunda temporada de lluvias (1RS y 2RS, respectivamente, Capítulo IV), la germinación fue menor que en las cámaras de crecimiento, tanto en especies con cubierta seminal impermeable (sin escarificar) como en especies con cubierta permeable. En las semillas impermeables, la cubierta seminal es una barrera que impide la imbibición (Mohamed-Yasseen *et al.* 1994; Boesewinkel y Bouman 1995), mientras que en las especies con semillas permeables las fluctuaciones

de T° y HR pueden ralentizar o inhibir la germinación (Garwood 1989, Van Assche *et al.* 2003, Engelbrecht *et al.* 2006).

Después de un periodo de enterramiento, diez especies con cubierta seminal permeable germinaron en el campo. Durante la segunda estación lluviosa en campo, sólo cuatro especies permeables germinaron. La disparidad de las especies que germinaron durante la primera época de lluvias pero no durante la segunda temporada y viceversa, podría estar relacionada con el hecho de que las especies pueden liberarse o re-entrar en latencia (Quinlivan 1968, Russi *et al.* 1992b, Jayasuriya *et al.* 2009), dependiendo del efecto de la humedad y la temperatura del suelo sobre la cubierta seminal (Russi *et al.* 1992b). La germinación alcanzó el mismo o mayor porcentaje que durante la primera estación lluviosa, pero el tiempo de inicio de la germinación fue más corto. Este resultado podría estar relacionado con un avance en el proceso de germinación (fase II de la germinación) durante el periodo de enterramiento (Gamboa de Buen *et al.* 2006).

El hecho de que aproximadamente 30 días separen a la primera precipitación del establecimiento de la temporada de lluvias en los años en que se estudio la germinación en el campo (2006 y 2007), podría haber limitado el inicio de la germinación, como sucede en ambientes áridos y estacionales (Rees y Long 1992, Venable *et al.* 1993). Las lluvias intermitentes pueden provocar una germinación interrumpida (Engelbrecht *et al.* 2006) ya que durante los periodos sin precipitación, dentro de la temporada de lluvias, la imbibición y la germinación podrían ser más lentas que durante periodos de alta disponibilidad de agua (Garwood 1989). La germinación escalonada resultante permite la dispersión de la germinación a través del tiempo y el espacio, contribuyendo al escape de los nuevos individuos de los pulso secos que son comunes durante la

temporada de lluvias en ecosistemas estacionales como en Chamela (Bullock & Solis-Magallanes 1990, Donahue 2005, Engelbrecht *et al.* 2006, Páramo-Pérez 2008).

Durante el almacenamiento o el enterramiento, las semillas sufrieron cambios en la concentración de N y de lípidos. La concentración de N disminuyó en 14 de las 18 especies estudiadas; esta disminución podría estar relacionada con la actividad metabólica que tienen las especies ortodoxas cuando la humedad relativa en los sitios de almacén no es lo suficientemente baja, lo que también favorece el envejecimiento de las semillas en almacén (Ross 1984, Bewley y Black 1994). La disminución en la concentración de lípidos de siete especies, principalmente durante el almacenamiento en el laboratorio, se podría relacionar con el CH de estas especies al momento de la dispersión, que fue  $>11\%$ . Semillas porcentajes de CH  $>10\%$  han registrado actividad metabólica en sus reservas (Murdoch y Ellis 2000, Pritchard y Dickie 2003).

### **Uso de reservas durante la germinación y el crecimiento de las plántulas**

Las reservas almacenadas en las semillas son fundamentales para la planta desde la germinación hasta que la plántula es autótrofa. La morfo-fisiología de la plántula, en particular el tipo de cotiledones (de reserva o fotosintéticos) influye en la movilización de las reservas almacenadas en las semillas durante la germinación y en el crecimiento temprano de la plántula (Kitajima y Fenner 2000). En la parte final de la tesis se presentan los resultados del estudio de la movilización de las reservas en ocho especies arbóreas de la SBC de Chamela, Jalisco con composición de reservas y tasas de crecimiento contrastantes.

En las seis especies con cotiledones fotosintéticos, después de la germinación, los cotiledones fueron la principal fuente de recursos para la plántula antes de que las hojas se expandieran y fueran funcionales. Los cotiledones primero actúan como exportadores

de reservas y después como órganos fotosintéticos. En las especies con cotiledones de reservas, los cotiledones sostuvieron el crecimiento de la plántula hasta que las primeras hojas fueron eficientes.

En seis de las especies estudiadas la tasa de asimilación neta (TAN) se relacionó con la tasa relativa de crecimiento (TRC) de las plántulas; dado que las especies germinan al inicio de la temporada de lluvias el aporte de las hojas puede ser importante mientras el dosel de la selva está abierto. En las dos especies con cotiledones de reservas, *S. humilis* y *P. dulce*, después del crecimiento inicial la TRC disminuye gradualmente, lo que puede ser una estrategia para evadir las sequías intermitentes, la disminución de la radiación fotosintéticamente activa debida al cierre del dosel o el inicio de la temporada seca. Ante estos escenarios, la germinación escalonada en *S. humilis* implica que parte de la población germina cuando se inicia la temporada de lluvias, mientras que otras germinan cuando ya tiene un mes de iniciada, por lo que la estrategia de reducción de la TRC sería especialmente importante para las sub-poblaciones de semillas con germinación tardía

En este estudio los cotiledones no fueron escindidos inmediatamente después de la expansión de las hojas, independientemente de si eran especies fanerocotilares o criptocotilares. Éstos podrían ser importantes para maximizar las posibilidades de supervivencia de las plántulas en el campo, en condiciones de estrés (Ampofo *et al.* 1976, Bonfil 1998, Zheng *et al.* 2011), dado que los cotiledones, en estas condiciones pueden rejuvenecer y recuperar su funcionalidad (Ananieva *et al.* 2008).

En siete de las ocho especies estudiadas, los lípidos se agotaron antes de que las primeras hojas estuvieran expandidas. Los lípidos se utilizan durante la morfogénesis temprana de la plántula (Eastmond y Graham 2001, Borges-Corte *et al.* 2006, Tonguc 2012, Penfield *et al.* 2010). Lípidos y N parecen ser fundamentales para la

fotomorfogénesis de las hojas. En este trabajo, las especies que tuvieron porcentajes más altos de N tuvieron hojas expandidas y funcionales más rápido que las especies con los menores porcentajes de N. Se ha reportado que la concentración de N en las semillas tiene una relación positiva con la tasa de germinación (Capítulo II) y con la tasa de uso de reservas (Lieffering *et al.* 1996), lo que sugiere que las plántulas también se desarrollan más rápidamente. Además, la relación significativa y negativa entre el N de los cotiledones y la biomasa de las hojas indicó que la producción y la morfogénesis de las hojas guardó una relación con el N presente en los cotiledones.

En siete de las especies estudiadas, los cotiledones mantuvieron en el tiempo una relación CNE/N constante hasta la senescencia de éstos, a pesar de que las concentraciones de ambas reservas variaron en el tiempo. El balance C/N tiene un papel predominante durante el crecimiento de las plántulas ya que regula la movilización de las reservas y la expresión de genes fotosintéticos durante su crecimiento (Coruzzi y Zhou 2001, Martin *et al.* 2002, Sato *et al.* 2011), lo que sugiere que la concentración de C y de N en los cotiledones está regulando la movilización de las reservas en nuestras especies.

### **Conclusiones y Perspectivas**

La composición de reservas de las 19 especies estudiadas puede ser ordenada a lo largo de un continuo, en cuyos extremos están especies con semillas con alto contenido de lípidos y especies con semillas con un alto contenido de CNE. La concentración de N, aunque independiente de las otras dos reservas estudiadas, se relacionó con las variaciones en el medio ambiente, la protección de las semillas, la germinación y el crecimiento de las plántulas.

La germinación alcanzada después del almacenamiento en el laboratorio y el enterramiento, indica que la longevidad potencial y la longevidad ecológica son parecidas en al menos 12 de las especies estudiadas. La germinación en el campo está condicionada a la disponibilidad de agua. La impredecibilidad de las lluvias en la SBC produjo una germinación escalonada (discontinua). La germinación discontinua y la presencia de un banco de semillas funcionalmente diverso permitirían la dispersión temporal de las plántulas, maximizando sus posibilidades de establecimiento. Las especies con semillas que presenten cubiertas impermeables podrían sobrevivir un mayor tiempo en condiciones climáticas extremas.

En siete de las ocho especies estudiadas en la última parte de la tesis, los lípidos almacenados en las semillas fueron utilizados antes de la expansión de las primeras hojas independientemente del tipo de cotiledones. Sin embargo, en *S. humilis*, la especie con semillas más ricas en lípidos, los cotiledones conservaron esta reserva hasta su escisión. Las especies con semillas ricas en N, tuvieron hojas expandidas y eficientes más rápido que las especies con baja concentración de N.

En seis de las especies estudiadas se favoreció la producción de hojas aunque al final de la temporada de lluvias, los recursos podrían ser translocados hacia la raíz y el tallo para sobrevivir la temporada seca y rebrotar en la siguiente temporada de lluvias, como sucede con *E. cyclocarpum* y *G. jatrophiifolius* desde etapas tempranas del crecimiento de las plántulas. El momento en dónde las tasas de transporte de electrones (TTE) de las hojas supera al de los cotiledones puede ser el punto que marca el inicio del crecimiento totalmente autótrofo de las plántulas; este momento fue distinto en el tiempo para cada especie y posiblemente cambie con las condiciones ambientales.

A partir de todo lo anterior, quedan puertas abiertas para profundizar en el estudio de la diversidad funcional de las semillas y las plántulas con respecto al uso de las



reservas almacenadas. Algunas de las propuestas como investigación a futuro son el estudio de:

- La movilización de las reservas cuando las plántulas son sometidas a condiciones de estrés.
- La supervivencia de las semillas en bancos de semillas en el suelo y su germinación. Enfocándose en identificar a los “sitios seguros” para la germinación y en analizar el papel de la pendiente del terreno como un factor determinante en la formación o no de un banco de semillas en la SBC.
- Las señales que determinan la escisión de los cotiledones y su relación con el agotamiento de los lípidos en especies silvestres.
- La relación de C/N como determinante de la movilización de reservas en semillas de especies silvestres.
- El grado de agotamiento de las reservas que causa una pérdida en la viabilidad de las semillas.

La diversidad funcional de las semillas se refleja en la composición y el uso de sus reservas y es clave para entender la coexistencia de las especies de un ecosistema estacional como la SBC de Chamela, Jalisco en México.

#### **LITERATURA CITADA**

**Ampofo ST, Moore KG, Lovell PH. 1976.** The Influence of leaves on cotyledon photosynthesis and export during seedling. *New Phytologist* 76: 247–255.

**Ananieva K, Ananiev ED, Mishev K, Georgieva K, Tzvetkiva N, Van Staden J. 2008.** Changes in photosynthetic capacity and polypeptide patterns during natural senescence and rejuvenation of *Cucurbita pepo* L. (zucchini) cotyledons. *Plant Growth Regulation* 54: 23–29.

- Barradas VL, Gonzalez-Medellín MG. 1999.** Dew and its effect on two heliophile understory species of a tropical dry deciduous forest in Mexico. *International Journal of Biometeorology* 43: 1–7.
- Baskin CC, Baskin JM. 1998.** Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego. USA.
- Bewley JD, Black M. 1994.** Seeds: physiology of development and germination. Plenum Press, New York. 445 pp.
- Boesewinkel FD, Bouman F. 1995.** The seed: structure and function. En: Kigel J. Galili G. eds., Seed development and germination. Marcel Dekker, Inc., NY, USA. p. 1–24.
- Bonfil C. 1998.** The effects of seed size, cotyledon reserves, and herbivory on seedling survival and growth in *Quercus rugosa* and *Q. laurina* (Fagaceae). *American Journal of Botany* 85: 79–87.
- Borges-Corte V, de Lima BE, Aparecida PC, de Almeida L, Contin VM, de Almeida MA. 2006.** Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* benth. (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Revista Árvore* 30: 941–949.
- Breen AN, Richards JH. 2008.** Irrigation and fertilization effects on seed number, size, germination and seedling growth: implications for desert shrub establishment. *Oecologia* 157: 13–19.
- Bullock SH, Solis-Magallanes JA. 1990.** Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest. *Biotropica* 22: 22–35.
- Coruzzi GM, Zhou L. 2001.** Carbon and nitrogen sensing and signaling in plants: emerging ‘matrix effects’. *Current Opinion in Plant Biology* 4: 247–253.

- Donohue K. 2005.** Seeds and seasons: interpreting germination timing in the field. *Seed Science Research* 15:175–187.
- Drenovsky RE, Richards JH. 2005.** Nitrogen addition increases fecundity in the desert shrub, *Sarcobatus vermiculatus*. *Oecologia* 143: 349–356.
- Eastmond PJ, Graham IA. 2001.** Re-examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds. *Trends in Plant Science* 6: 72–78.
- Engelbrecht BMJ, Dalling JW, Pearson TRH, Wolf ERL, Galvez DA, Koehler ET, Tyree EMT. 2006.** Short dry spells in the wet season increase mortality of tropical pioneer seedlings. *Oecologia* 148: 258–269.
- Gamboa-De Buen A, Cruz-Ortega R, Martínez-Barajas E, Sánchez-Coronado ME, Orozco-Segovia A. 2006.** Natural priming as an important metabolic event in the life history of *Wigandia urens* (Hydrophyllaceae) seeds. *Physiologia Plantarum* 128:520–530.
- Garwood N. 1983.** Seed germination in a seasonal tropical forest in Panama: a community study. *Ecological Monographs* 53: 159–181.
- Garwood N. 1989.** Tropical soil seed banks: a review. En: Leck M, Parker V, Simpson R. eds. Ecology of soil seed banks. San Diego, Academic Press, CA, USA. p.149–209.
- Garwood NC, Lighton JRB. 1990.** Physiological ecology of seed respiration in some tropical species. *New Phytologist* 115:549–558.
- Gogue GJ, Emino ER. 1979.** Seed coat scarification of *Albizia julibrissin* Durazz by natural mechanisms. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 104: 421–423.
- Grubb PJ, Metcalfe DJ, Grubb EAA, Jones GD. 1998.** Nitrogen-richness and protection of seeds in Australian tropical rainforests: a test of plant defence theory. *Oikos* 82: 467–482.

- Hulme PE. 1998.** Post-dispersal seed predation: consequences for plant demography and evolution. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 1: 32–46.
- Jayasuriya GKMG, Baskin JM, Tekrony DM, Baskin CC. 2009.** Sensitivity cycling to physical dormancy break and seed vigour of two *Ipomoea* species (Convolvulaceae). *Seed Science Research* 19:249–259.
- Khurana E, Singh JS. 2001.** Ecology of tree seed and seedlings: Implications for tropical forest conservation and restoration. *Current Science* 82: 748–757.
- Kitajima K, Fenner M. 2000.** Seedling regeneration ecology. En: Fenner, M, ed. *Seeds: Ecology of Regeneration in Plant Communities* CAB International, Wallingford. pp. 331-360.
- Lieffering M, Andrews M, Mckenzie BA. 1996.** Nitrate stimulation of mobilization of seed reserves in temperate cereals: importance of water uptake. *Annals of Botany* 78: 695–701.
- Martin T, Oswald O, Graham IA. 2002.** *Arabidopsis* seedling growth, storage lipid mobilization, and photosynthetic gene expression are regulated by Carbon:Nitrogen availability. *Plant Physiology* 128: 472–481.
- Martinez-Yrizar A, Sarukhan J, Perez-Jimenez A, Rincón E, Maass JM, Solis-Magallanes A, Cervantes L. 1992.** Above-ground living phytomass of a tropical deciduous forest in a coastal of Jalisco, Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 8: 87–96.
- Massao MS, Mazzafera P. 2000.** Compositional changes of proteins and amino acids in germinating coffee seeds. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 43: 259–265.
- Mohamed-Yasseen Y, Barringer SA, Splittstoesser WE, Costanza S, 1994.** The role of seed coats in seed viability. *The Botanical Review* 60: 426–439.

- Moreno-Casasola P, Grime JP, Martínez ML. 1994.** A comparative study of the effects of fluctuations in temperature and moisture supply on hard coat dormancy in seeds of coastal tropical legumes in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 10: 67–86.
- Murdoch AJ, Ellis RH. 2000.** Dormancy, viability and longevity. En: Fenner M. eds. *Seeds: the ecology of regeneration in plants communities*. CAB International, Wallingford, UK. p. 183–214.
- Myers J, Kitajima K. 2007.** Carbohydrate storage enhances seedling shade and stress tolerance in a neotropical forest. *Journal of Ecology* 95: 383–395.
- Páramo-Pérez ME. 2008.** Análisis temporal de los eventos de sequías cortas y su efecto en la fisiología y supervivencia de plántulas de cuatro especies arbóreas de la Selva Baja Caducifolia. MC Tesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Penfield S, Pinfield-Wells HM, Graham IA. 2010.** Storage reserve mobilization and seedling establishment in *Arabidopsis*. *Arabidopsis Book*. The American Society of Plant Biologists. doi: 10.1199/tab.0100.
- Pritchard HW, Dickie JB. 2003.** Predicting seed longevity; the use and abuse of seed viability equations. En Smith RD, Dickie JB, Linington SH, Pritchard HW, Probert PJ. eds. *Seed conservation: turning science into practice*. Royal Botanic Garden, Kew, UK. p. 654–721
- Quinlivan BJ. 1968.** Seed coat impermeability in the common annual legume pasture species of Western Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 8: 695–701.
- Rees M, Long MJ. 1992.** Germination biology and the ecology of annual plants. *American Naturalist* 139: 489–508.
- Ross JD. 1984.** Metabolic aspects of dormancy. En Murray DR. ed. *Seed Physiology* Vol. 2 Germination and reserve mobilization. Academic Press, Sydney. pp. 45–75.

- Rozan P, Kuo Y, Lambein F. 2001.** Amino acids in seeds and seedlings of the genus *Lens*. *Phytochemistry* 58: 281–289.
- Russi L, Cocks PS, Roberts EH. 1992a.** Seed bank dynamics in a Mediterranean grassland. *Journal of Applied Ecology* 29: 763–771.
- Russi L, Cocks PS, Roberts EH. 1992b.** The fate of legume seeds eaten by sheep from a Mediterranean grassland. *Journal of Applied Ecology* 29: 772–778.
- Sato T, Maekawa S, Yasuda S, Domeki Y, Sueyoshi D, Fujiwara M, Fukao Y, Goto DB, Yamaguchi J. 2011.** Identification of 14-3-3 proteins as a target of ATL31 ubiquitin ligase, a regulator of the C/N response in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 68: 137–146.
- Shipley B. 2006.** Net assimilation rate, specific leaf area and leaf mass ratio: which is most closely correlated with relative growth rate: A meta-analysis. *Functional Ecology* 20: 565-574.
- Takele A, Farrant J. 2010.** Seed germination and storage reserves of maize and sorghum after exposure to and recovery from pre- and post-flowering dehydration. *Acta Agronomica Hungarica* 58: 133–142.
- Tonguç M, Elkoyunu R, Erbaş S, Karakurt Y. 2012.** Changes in seed reserve composition during germination and initial seedling development of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turkish Journal of Biology* 36: 107–112.
- Van Assche JA, Debucquoy KLA, Rommens WAF. 2003.** Seasonal cycles in the germination capacity of buried seeds of some Leguminosae (Fabaceae). *New Phytologist* 158: 315–323.
- Vázquez-Yanes C, Orozco-Segovia A. 1993.** Patterns of seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 69–87.

**Venable DL, Pake CE, Caprio AC. 1993.** Diversity and coexistence of Sonoran Desert winter annuals. *Plant Species Biology* 8: 207–216.

**Vleeshouwers LM, Bouwmeester HJ, Karssen CM. 1995.** Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *The Journal of Ecology* 83: 1031–1037.

**Wulff RD. 1995.** Environmental maternal effects on seed quality and germination. En: Kigel J, Galili G. eds. Seed development and germination. Marcel Dekker, NY, USA. p. 491–504.

**Zheng W, Yang ZH, Luan ZH, Wang P, Zhang HX, Zhou DW. 2011.** Compensatory growth and photosynthetic responses of *Pharbitis purpurea* seedlings to clipped cotyledon and second leaf. *Photosynthetica* 49: 21–28.