



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Capacidad germinativa de especies de Podostemaceae en
función de su procedencia y tiempo de almacenamiento**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**B I Ó L O G A
P R E S E N T A:**

VALERIA FLORES ENRÍQUEZ



**DIRECTORA DE TESIS:
DRA. MARGARITA COLLAZO ORTEGA
México, D.F.
2015**



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.

1. Datos del alumno.

Flores
Enríquez
Valeria
55241383
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
307601391

2. Datos del Tutor

Dra.
Margarita
Collazo
Ortega

3. Datos del Sinodal 1

Dra.
Alma Delfina L.
Orozco
Segovia

4. Datos del Sinodal 2

Dra.
María Ivonne
Reyes
Ortega

5. Datos del Sinodal 3

Dra.
María Felix
Ramos
Ordoñez

6. Datos del Sinodal 4

M. en C.
Guillermo Raúl
Castillo
Sánchez

7. Datos del trabajo escrito

Capacidad germinativa de especies de Podostemaceae en función de su procedencia y tiempo de almacenamiento
87 p.
2015



DEDICO ESTA TESIS A:

Mi familia (Mamá, Papá y Maye) porque gracias a su apoyo he salido adelante en todas las metas que me he propuesto, porque siempre estarán ahí motivándome a ser mejor, porque si caigo 1000 veces, 1000 veces me van a levantar, porque sé que en ella se encuentra el único amor incondicional, porque cada uno de ustedes es un gran gran gran ejemplo a seguir y siempre estaré muy orgullosa y agradecida de haber tenido la suerte de tenerlos☺.

Mis abuelos... porque me enseñaron muchas cosas de la vida, porque siempre estuvieron orgullosos de mí, por enseñarme con el ejemplo hasta dónde puede superarse una persona y por todo su amor.

AGRADEZCO A:



La Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de aprender tantas cosas y brindarme un millón de experiencias en el ámbito académico, deportivo y personal.

La Dra. Margarita Collazo por dirigir esta tesis, por haberme ayudado tanto en éste primer paso de mi formación como Bióloga y como investigadora, por abrirme la puerta al mundo de las Podostemáceas y permitirme cuestionar y descubrir tantas cosas sobre ellas, y sin duda, por ser una gran amiga.

A la Dra. María Felix Ramos por enseñarme tantas pero tantas cosas, por siempre motivarme y retarme a ser mejor, por haberme ayudado y soportado en esos momentos difíciles, por enseñarme a ver mis errores, por creer en mí y en mis capacidades y también por ser una gran amiga que siempre estuvo ahí para escucharme y aconsejarme.

Al M. en C. Guillermo Castillo por compartir conmigo sus conocimientos y opiniones, por su paciencia, por ser el mejor compañero de trabajo, por tener siempre la mejor actitud para todo y hacer que los ratos sean más alegres, y por ser un muy buen amigo.

A la Dra. Judith Márquez por su apoyo y por compartir tantos conocimientos conmigo. Porque descubrí que es una mujer sumamente sabia, no sólo de botánica, también de la vida y del amor.

A la Dra. Alma Orozco por su tiempo y dedicación, y por aportar sus conocimientos a esta tesis, ayudándome a hacer un mejor trabajo.

A la Dra. Ivonne Reyes por aportar tantas ideas y opiniones para enriquecer este trabajo, y también por enseñarme otros puntos de vista para así ampliar mis ideas y conocimientos.

El apoyo del Proyecto PAPIIT IN213015 “Estudios reproductivos en clados neotropicales de la familia Podostomaceae”, de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al taller de “Biología de la propagación, reproducción y fisiología de angiospermas en ambientes contrastantes” por tanto aprendizaje que me otorgó de mis amadas plantas.

Al Laboratorio de Desarrollo en plantas por permitirme realizar mi investigación ahí y darme la oportunidad de conocer a múltiples personalidades que me ayudaron a lo largo de mi trayectoria, además de ser como una segunda casa durante varios años.

A la M. en C. María Eugenia Muñiz Díaz de León por su ayuda al facilitar el uso de las cámaras de germinación del Taller de Plantas I y II, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

A los investigadores del laboratorio y profesores del taller: Ritch, Moni, Soni, Paty, Javier Andrés Kary, Ana Laura y Clarita por enseñarme cosas, y ayudarme (en laboratorio o en campo).

A mis amigos de carrera: Polo, Linda, Citla, Quetza y Mariana, que me han acompañado a lo largo de este camino, con quienes he compartido muchos momentos y sé que siempre estarán ahí para apoyarme y yo para apoyarlos.

A mis compañeros de taller y laboratorio: Sandra, Fer, Claudio, Ariel, Laurent, Vera, Erika, Ros, Nadia y Alde, por la convivencia, aprendizaje, ayuda y amistad que me brindaron todos estos años.

Mi Mimi hermosa † que siempre me acompañó durante gran parte de mi vida; por siempre ocupará un lugar en mi pensamiento y en mi corazón. A mi Cuiqui †, a mi Bonnie y a Davidson, que también han estado ahí y llenado mi corazoncito de tanta alegría y cariño.

“...y un día, sentado en la banca de un parque me di cuenta que frente a mí había dos caminos; el primer camino se veía despejado y fácil de recorrer, sin embargo su destino era incierto; el segundo camino estaba lleno de obstáculos, y al final podía ver todas las cosas que siempre he anhelado... Me levanté, dejé mi bicicleta y me fui por el segundo camino...”
-Darío Flores Sánchez

• **INDICE**

RESUMEN	12
INTRODUCCIÓN	13
ANTECEDENTES	13
JUSTIFICACIÓN	34
OBJETIVO GENERAL	34
OBJETIVOS PARTICULARES	34
HIPOTESIS.....	35
ZONA DE COLECTA	35
CAPÍTULO 1	38
INTRODUCCIÓN.....	38
MATERIAL Y MÉTODO	38
RESULTADOS	42
CAPITULO 2.....	49
INTRODUCCIÓN.....	49
MATERIAL Y MÉTODO	50
RESULTADOS	51
CAPITULO 3.....	57
INTRODUCCIÓN.....	57
MATERIAL Y MÉTODO	57
RESULTADOS	60
DISCUSIÓN GENERAL	64
CONCLUSIONES	78
RECOMENDACIONES	79
BIBLIOGRAFÍA.....	81

• **INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Fases de imbibición necesarias para la germinación y cambios bioquímicos que suceden en cada una de ellas (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013). 15

Figura 2. Curva que describe el efecto de la temperatura en la germinación (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez- Coronado, 2013). 17

Figura 3. Mecanismo de acción del fitocromo y sus distintas conformaciones al responder a diferentes longitudes de onda (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez- Coronado, 2013). 18

Figura 4. Mecanismos que determinan la longevidad de las semillas. El deterioro de las semillas después de un determinado tiempo de almacenamiento, se ve reflejado en su capacidad de germinación (Tomado de Rajjou y Debeaujon, 2008). 22

Figura 5. Cascada de del río Horcones en la localidad “Chicos Paradise”, Municipio Cabo Corrientes, Puerto Vallarta, Jal., dónde habitan algunas especies de Podostemáceas. (A) Temporada de lluvias. (B) Temporada de secas. 25

Figura 6. Distribución mundial de la familia Podostemaceae (Tomado de página web de Angiosperm Phylogeny)..... 26

Figura 7. (A) Ciclo de vida de *Marathrum foeniculaceum* de acuerdo al nivel del agua en las distintas estaciones del año (Tomado de Reyes-Ortega, 2010). (B) Cuando disminuye el nivel del agua, (C) surgen las flores y, posteriormente los frutos. Antes de que vuelva a subir el nivel del agua, (D) los frutos se abren y las semillas quedan adheridas a las rocas. 27

Figura 8. Semilla de *Podostemum ceratophyllum*. (A) Silueta de una semilla seca. (B) Silueta de una semilla hidratada, muestra cómo se expande el mucilago. Escala: 250 μm (Tomado de Philbrick, 1984). 28

Figura 9. *Tristicha trifaria*. (A) Distribución en México. (B) Esquema de la planta (Tomado de Novelo y Philbrick, 1997) y (C) flor (Foto tomada por Ricardo Wong). 29

Figura 10. *Noveloa coulteriana*. (A) Distribución en México (Tomado de Philbrick y Novelo, 1997). (B) Cuando el nivel del río disminuye la fase vegetativa comienza a

senescer, (C) las flores comienzan a emerger y posterior a la fecundación se (D) formarán los frutos. 30

Figura 11. *Marathrum plumosa* (A) Foto dónde se pueden apreciar las hojas tan características de esta especie (Foto tomada de Pastor, 2010). (B) frutos dispuestos sobre una roca (Foto tomada de Pastor, 2010). (C) Esquema que representa las hojas, tallos y peciolos de las hojas (Ilustración tomada de Novelo y Philbrick, 1993). 31

Figura 12. *Marathrum rubrum*. (A) Distribución en México (Tomado de Philbrick y Novelo, 1997). (B) Forma vegetativa debajo del nivel del agua con sus características hojas (Foto toma por Diana Guzmán). Una vez que el nivel de agua haya disminuido emergerán las (C) flores (Foto tomada por Ricardo Wong) y posterior a la polinización, los (D) frutos..... 32

Figura 13. *Marathrum schiedeanum*. (A) distribución en México (Tomado de Philbrick y Novelo, 1997). Las estructuras vegetativas (B) permanecen por debajo del nivel del agua y las flores (C) y frutos (D) surgen en la superficie de la roca que queda expuesta durante la temporada de secas, cuando el nivel del agua disminuye..... 33

Figura 14. Localidades dónde fueron recolectadas las muestras de *T. trifaria*, *N. coulteriana*, *M. plumosa*, *M. rubrum* y *M. schiedeanum*. 37

Figura 15. Diseño experimental que se llevó a cabo para la germinación de las semillas. T= temperatura. LB= luz blanca. R= luz roja. RL= luz rojo lejano. O= oscuridad. 40

Figura 16. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *T. trifaria* con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante. 43

Figura 17. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *N. coulteriana* con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante. Las barras de error representan la DS. 44

Figura 18. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *M. plumosa* con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante. Las barras de error representan la DS. 44

Figura 19. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de <i>M. rubrum</i> con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante. Las barras de error representan la DS.....	44
Figura 20. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de <i>M. schiedeanum</i> con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante. Las barras de error representan la DS.....	45
Figura 21. Porcentaje de germinación acumulada y porcentaje de germinación final para semillas jóvenes de <i>N. coulteriana</i> (A y B) y <i>M. foeniculaceum</i> (C y D), expuestas a diferentes tratamientos de temperatura y calidad de luz: LB= luz blanca LR= luz roja. Las barras de error representan la DS.....	52
Figura 22. Porcentaje de germinación acumulada y porcentaje de germinación final para semillas intermedias de <i>N. coulteriana</i> (A y B) y <i>M. foeniculaceum</i> (C y D), expuestas a diferentes tratamientos de temperatura y calidad de luz: LB= luz blanca LR= luz roja. Las barras de error representan la DS.....	54
Figura 23. (A) Cuadros marcados en cada una de las rocas dónde fueron sembradas las semillas. La numeración uno, dos y tres corresponde a cada una de las tres localidades (Las Juntas del Tuito, Horcones y Boca de Tomatlán, respectivamente). (B) Procedencia de las semillas para las muestra de <i>N. coulteriana</i> y <i>M. foeniculaceum</i> y las localidades dónde fueron sembradas durante el experimento de germinación in situ.	58
Figura 24. Roca sumergida en el río con los cuadros marcados y semillas sembradas en cada cuadro.....	59
Figura 25. Adaptación de microscopio estereoscópico con un tubo de PVC para poder observar las rocas dentro del río. (Tomada por: Margarita Collazo)	59
Figura 26. Semillas de (A) <i>N. coulteriana</i> y (B) <i>M. foeniculaceum</i> , procedentes de la localidad Las Juntas del Tuito, (C) <i>N. coulteriana</i> y (D) <i>M. foeniculaceum</i> , procedentes de la localidad Horcones y (E) <i>N. coulteriana</i> y (F) <i>M. foeniculaceum</i> , procedentes de la localidad Boca de Tomatlán.	61
Figura 27. Capacidad germinativa de <i>N. coulteriana</i> y <i>M. foeniculaceum</i> procedentes de distintas localidades, (A) semillas germinadas en Las Juntas del	

Tuito, (B) semillas germinadas en Horcones y (C) semillas germinadas en Boca de Tomatlán.....	62
Figura 28. Plántulas de <i>M. foeniculaceum</i> (A) germinada in situ con dos meses de edad y (B) germinada ex situ con mes y medio de edad.	63
Figura 29. En la localidad de Boca de Tomatlán se observó una gran población de moluscos sobre las rocas.....	66
Figura 30. La testa permanece adherida a la roca a través del mucilago mientras la plántula crece. Una vez que los cotiledones se alargan, éstos se doblan para que las raíces adventicias entren en contacto con la roca para poderse fijar (Tomado de Philbrick, 1984).	66
Figura 31. Vista aérea del Arroyo de Rincón, localidad Las Juntas del Tuito. La vegetación riparia que se observa crea un dosel sobre el río y disminuye la calidad de luz que llega a las plantas que están por debajo.....	74
Figura 32. Vista a nivel de suelo del Arroyo de Rincón, localidad Las Juntas del Tuito. La vegetación riparia que se observa crea un dosel sobre el río y disminuye la calidad de luz que llega a las plantas que están debajo (Tomada por Ricardo Wong).	75
Figura 33. Distribución del espectro fotónico en un rango de longitud de onda entre 400-800 nm. (A) luz de día, (B) luz bajo la sombra de un dosel (Tomado de Neff et al., 2000).....	76
Figura 34. Vista aérea del Río Horcones, localidad Boca de Tomatlán, la vegetación ripiara no forma un dosel sobre el río, dejando el cauce expuesto a la luz solar.	76
Figura 35. Vista a nivel del suelo del Río Horcones, localidad Boca de Tomatlán, la vegetación riparia no forma un dosel sobre el río, dejando el cauce expuesto a la luz solar	77
Figura 36. Plántulas de <i>Marathrum foeniculaceum</i> dos semanas después de haber germinado. Se observan las raíces adventicias y los cotiledones fotosintéticos (A). Se observa clorosis en todo el embrión (B).....	79

- **INDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Ríos de Puerto Vallarta dónde se llevaron a cabo las recolectas de semillas durante las temporadas de fructificación de <i>T. trifaria</i> , <i>N. coulteriana</i> , <i>M. plumosa</i> , <i>M. rubrum</i> y <i>M. schiedeanum</i>	36
Tabla 2. Tiempo de almacenamiento de frutos de cinco especies de podostemáceas realizadas de 1996 al 2013 en cinco localidades del estado de Jalisco.....	39
Tabla 3. Días necesarios para iniciar la germinación y los días que tardan en alcanzar el máximo porcentaje de semillas germinadas en tratamientos de temperatura constante (25 °C) y alternante (15/25 °C) en semillas de 5 especies de Podostemaceae en luz blanca con intervalos de almacenamiento de 1-2 años y de 6-7 años. No hay distinción entre la procedencia de las semillas. (-) no hubo muestras para analizar, (/) las semillas no respondieron al tratamiento de luz.	45
Tabla 4. Categorías de edades formadas a partir de observaciones del comportamiento germinativo de las distintas muestras analizadas del Capítulo uno.	50
Tabla 5. Modelo de regresión de COX que muestra el efecto de la especie, tratamiento de temperatura y tiempo de almacenamiento en el porcentaje de germinación acumulada de <i>N. coulteriana</i> y <i>M. foeniculaceum</i>	54
Tabla 6. Diferentes estudios que evalúan el número de semillas producidas en distintos años. * <i>M. rubrum</i> y <i>M. schiedeanum</i> se manejan como especies distintas en estos estudios.	64

RESUMEN

Se estudiaron cuatro especies de podostemáceas, *Tristicha trifaria*, *Noveloa coulteriana*, *Marathrum plumosa*, *M. rubrum* y *M. schiedeanum*, las dos últimas se han ubicado recientemente como *Marathrum foeniculaceum*, siendo *N. coulteriana* y *M. plumosa* endémicas de México y sujetas a protección especial por la NOM-ECOL-059. Se recolectaron semillas en ríos del oeste de Jalisco, en 7 temporadas entre 1996-2013 y se determinó la capacidad germinativa (porcentaje de semillas germinadas en determinadas condiciones) de las semillas en condiciones controladas con distintos tratamientos de luz (blanca, rojo, rojo lejano y oscuridad) y temperatura constante y alternante (25 y 15/25 °C). El analizar semillas de diferente tiempo de almacenamiento tuvo la finalidad de comparar su respuesta germinativa, considerando el tiempo de almacenamiento y sitio de procedencia; además se llevó a cabo un estudio preliminar de germinación *in situ* con el que se pudieron comparar algunos resultados. En condiciones controladas el porcentaje de germinación fue muy alto, ya que al aplicar diferentes tratamientos de temperatura, se alcanzó $\geq 95\%$ de la germinación. Este patrón se repitió en las semillas con un máximo de 7 años de almacenamiento, mientras que las semillas con más de 9 años no germinaron. El inicio de la germinación en condiciones controladas fue entre los días 2 y 4, alcanzando el pico de germinación entre los días 3 y 5; y este inicio fue más pronto que la observada en semillas germinadas *in situ*, dónde la germinación inició entre los 5 y 7 días. En temperatura constante (25°C) el máximo porcentaje se alcanza más rápido que en alternante (15/25°C). Se encontró una disminución en la capacidad germinativa de *N. coulteriana* que nos sugiere que las semillas son más sensibles a cambios de temperatura, luz y tiempo de almacenamiento. Este trabajo muestra los patrones de germinación de cuatro especies de podostemáceas y es el primero en recabar datos de germinación *in situ*, y proporciona las bases para plantear protocolos de conservación *ex situ*.

INTRODUCCIÓN

La germinación es un proceso fundamental en la dinámica poblacional de las especies, por lo que conocer las características germinativas es necesario para comprender su ecología y que, en un futuro, éstas puedan ser útiles para proponer estrategias de conservación. La familia Podostemaceae es la más diversa de las angiospermas acuáticas y se distribuye en las zonas tropicales del mundo. Se caracterizan por vivir en ríos de fuertes corrientes o cascadas, lo que resulta un hábitat sumamente peculiar al que se le atribuye el gran número de endemismos y diversas formas que pueden presentar este grupo de plantas. Existen pocos estudios sobre los requerimientos y almacenamiento de las semillas de las podostemáceas, incluso de las especies mexicanas. Por lo que este estudio se enfoca en analizar el efecto del tiempo de almacenamiento y procedencia en la germinación de semillas de *Tristicha trifaria*, *Noveloa coulteriana*, *Marathrum plumosa*, *Marathrum rubrum* y *Marathrum schiedeanum* sometidas a diferentes tratamientos de calidad de luz (blanca, roja, roja lejana) y oscuridad, y temperatura alternante y constante (15/25 y 25 °C). La recolecta de los frutos se llevó a cabo en 5 localidades de la costa de Jalisco (Boca de Tomatlán, Chicos Paradise, Horcones, Las Juntas del Tuito y Río Blanco).

ANTECEDENTES

- **Semilla**

Las semillas son estructuras de gran importancia debido a que están adaptadas al medio ambiente donde habitan, resultado de procesos evolutivos que desembocan en el éxito reproductivo que éstas puedan tener (Taiz y Zeiger, 2010).

Una semilla contiene al embrión y está equipada fisiológica y estructuralmente para funcionar como unidad de dispersión en el tiempo y el espacio, además de

contener reservas que mantendrán el embrión hasta su establecimiento como una planta autosuficiente (Bewley, 1997).

El desarrollo de la semilla comienza a partir de la fecundación del óvulo, dónde uno de los dos núcleos de una célula espermática se une al núcleo de la ovocélula (singamia) y el otro núcleo se une con los núcleos polares para dar origen al endospermo (triple fusión), tejido de reserva que es de gran importancia para que el embrión pueda nutrirse y logre sobrevivir hasta la germinación. A este proceso se le ha denominado doble fecundación, el cual resulta característico de las angiospermas (Floyd y Friedman, 2000).

- **Germinación**

La germinación de una semilla se refiere a la secuencia de eventos necesarios para que el eje embrionario (radícula) emerja de la cubierta seminal y logre establecerse en el medio ambiente. Para que se lleve a cabo la germinación, la semilla debe ser viable y deben existir las condiciones ambientales apropiadas para sobrepasar los requerimientos impuestos por la latencia, si es que ésta la presenta (Taiz y Zeiger, 2010; Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Los procesos que se llevan a cabo durante la germinación se han clasificado en tres fases (Figura 1).

Fase de imbibición, se caracteriza por la rápida entrada de agua que depende de la diferencia del potencial hídrico entre la semilla y el suelo. Con ello se activa la respiración y los mecanismos de reparación necesarios para revertir los daños en el material genético, las mitocondrias y membranas causados por la rápida entrada de agua al imbibirse y los procesos de deshidratación que se llevaron a cabo durante la formación de la semilla (Bewley, 1997; Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013).

Fase estacionaria, el potencial hídrico entre la semilla y su microambiente se iguala y la entrada de agua a la semilla es mínima; continúa la fase de reparación,

respiración, y se inician nuevos procesos bioquímicos tales como la renovación del sistema mitocondrial, la movilización de sustancias de reserva y la elongación de las células de la radícula (Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013).

Fase de elongación y crecimiento, se caracteriza por una alta entrada de agua debido a la diferencia del potencial osmótico por la acumulación y generación de solutos al interior de la semilla que ocasiona un decremento en el potencial osmótico, lo que reanuda la entrada de agua a la semilla y finalizará con el surgimiento de la radícula. En esta última fase se deben superar los requerimientos hídricos para que comience la expansión y crecimiento del embrión que dará como resultado la emergencia de la radícula a través de la cubierta seminal (Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013).

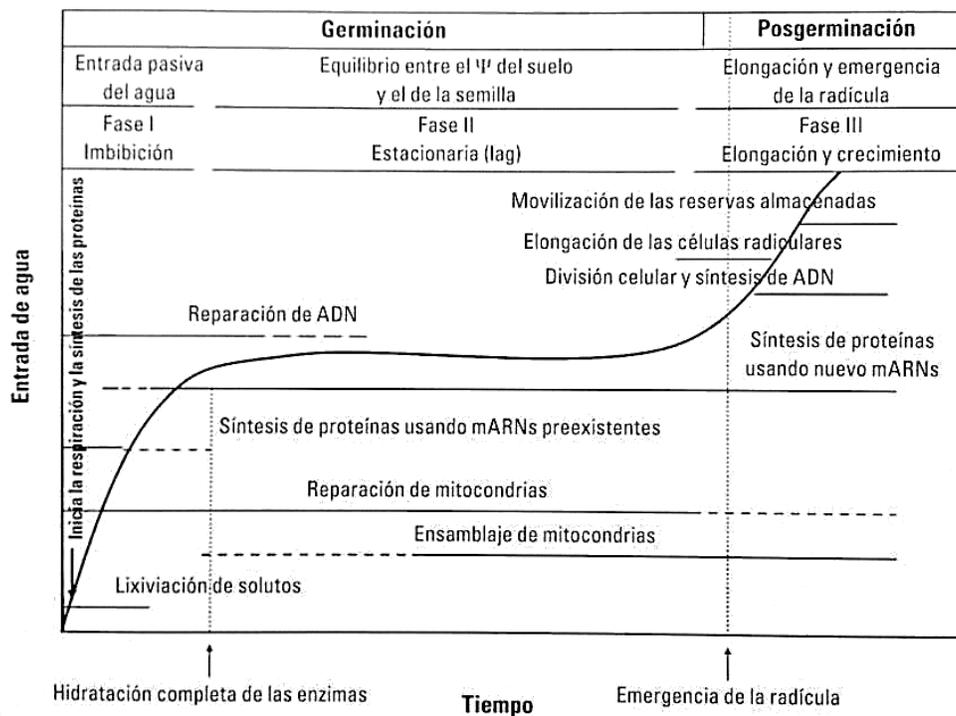


Figura 1. Fases de imbibición necesarias para la germinación y cambios bioquímicos que suceden en cada una de ellas (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013).

Si se grafica el comportamiento germinativo de cualquier población de semillas, la curva obtenida generalmente va a tener una forma sigmoidea, donde pocas semillas germinan en los primeros días, luego, el porcentaje de germinación

aumenta y al final pocas son las semillas que siguen germinando. Las características de la curva dependerán de la capacidad germinativa, que es la proporción de semillas capaces de germinar, y esto, a su vez, estará determinado por múltiples características únicas de las semillas cómo la especie, el lugar que habitan, las condiciones a las que se han sido expuestas la edad, entre las más importantes (Bewley y Black, 1994).

- **Factores que influyen en la germinación**

Cómo se ha mencionado, es necesaria la presencia de factores ambientales adecuados para que la germinación se pueda llevar a cabo, ya que son indicadores cuantitativos y cualitativos del ambiente que las semillas perciben, y si estas condiciones son idóneas para la germinación entonces la semilla podrá germinar. Entre los factores abióticos que controlan la germinación están el agua, el oxígeno, el CO₂, la temperatura y la luz (Taiz y Zeiger, 2010).

Agua

Antes de ser liberada la semilla al medio ambiente, ésta pasa por un proceso de deshidratación que disminuye la tasa metabólica del embrión, permitiéndole mantenerse viable hasta que las condiciones ambientales sean las adecuadas.

La entrada de agua a la semilla se lleva a cabo por la diferencia en los potenciales hídricos entre el medio ambiente y la semilla, reactivando el metabolismo, que incluye procesos de reparación y la respiración (Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013).

Temperatura

El Sol, como la fuente de energía más importante para los seres vivos, aporta energía térmica y lumínica que será percibida por las semillas.

La temperatura es capaz de transmitir a la semilla información acerca de la cantidad de agua, luz disponible y la oscilación diurnas, a través de energía térmica (calor). Para cada especie existirá un intervalo llamado “ventana térmica”

(Figura 2) que comprende las temperaturas máximas, mínimas, óptimas y letales para la germinación; este intervalo está relacionado con el estado de madurez del embrión y el hábitat que ocupan. Algunas especies requerirán de fluctuaciones en la temperatura debido a que en estado natural el ambiente que las rodea tiene mucha variación en la temperatura relacionada con las oscilaciones diurnas, además de que la temperatura también está asociada con la cantidad de agua y luz disponible (Taiz y Zeiger, 2010; Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013).

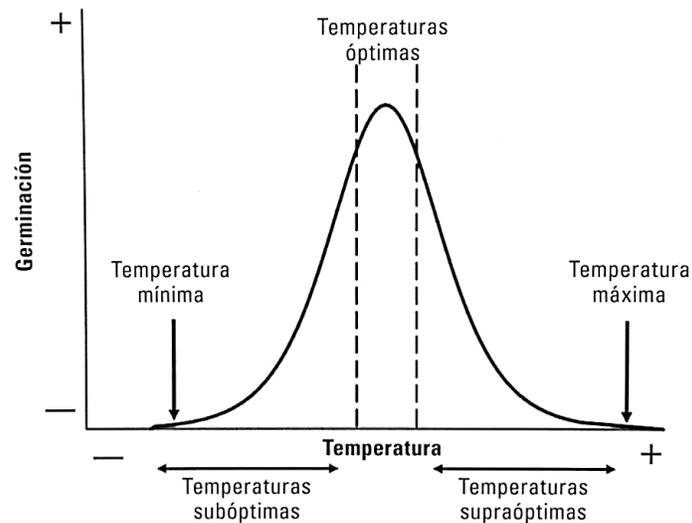


Figura 2. Curva que describe el efecto de la temperatura en la germinación (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez- Coronado, 2013).

Luz

La luz influye en la germinación de muchas semillas como una señal para activarla o para inhibirla, es percibida por los fitocromos que se ubican en las células del embrión. Los fitocromos son cromoproteínas que captan las señales lumínicas y las integran a una cadena de transducción de señales luminosas del medio ambiente a señales bioquímicas. Éstos tienen dos conformaciones de acuerdo a la longitud de onda que perciben (Figura 3): el fitocromo rojo (Fr) que absorbe luz en un rango de 650 a 680 nm (principalmente 660 nm) se transforma en el fitocromo rojo lejano (Frl) que al absorber luz en un rango de 710 a 740 nm (principalmente 730 nm) se transforma en Fr, aunque no todo el Fr se transforma Frl ni viceversa. El Frl es el que presenta un efecto fisiológico (forma activa). Si las

semillas de una especie requieren luz para germinar se dice que son fotoblásticas positivas, es decir que el FrI activa la germinación; si germinan en la oscuridad son fotoblásticas negativas. También existen semillas indiferentes, de las cuales la germinación dependerá de otros factores ambientales (Taiz y Zeiger, 2010; Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013). La cantidad y calidad de luz va a ser un factor determinante para la germinación de las semillas de distintas especies, ya que éstas pueden variar en el tiempo que requieran a la exposición de cierto flujo fotónico y de calidad espectral (Borthwick y Downs, 1964; Vázquez-Yanes *et al.*, 1990).

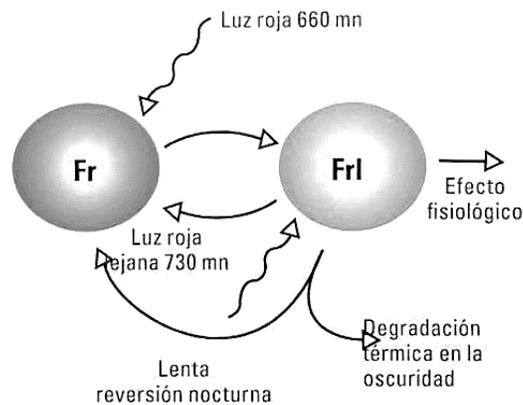


Figura 3. Mecanismo de acción del fitocromo y sus distintas conformaciones al responder a diferentes longitudes de onda (Tomado de Orozco-Segovia y Sánchez- Coronado, 2013).

Oxígeno y Dióxido de Carbono

Si la concentración de oxígeno es menor en el interior de la semilla que la que se encuentra en el aire, la germinación se inhibe. Solo en algunas especies acuáticas se ha encontrado que la germinación es inhibida por la cantidad de oxígeno presente en el aire. Por el contrario, las altas concentraciones en el aire de dióxido de carbono inhiben la germinación de las semillas (Bewley y Black, 1994).

- **Latencia y Quiescencia**

Cuando la semilla no germina únicamente por la falta de las condiciones óptimas, se dice que está en estado quiescente (Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013). Sin embargo, si ésta no germina a pesar de estar expuesta a condiciones favorables se dice que la semilla se encuentra en un estado de reposo profundo conocido como latencia, la cual es una característica adaptativa que permite la distribución de la germinación de las semillas en un periodo de tiempo, en respuesta a las estaciones, y así favorecer el éxito reproductivo de la planta (Bewley, 1997). También se ha sugerido que ésta es una adaptación muy importante en la evolución de las plantas para responder ante cambios climáticos (Forbis *et al* 2002, Baskin y Baskin, 2004).

Se han propuesto diferentes clasificaciones de la latencia dependiendo de su origen. Puede ser primaria cuando se adquiere en el momento en que la semilla está aún unida a la planta madre y se refleja al momento de ser liberada; mientras que la latencia secundaria es cuando se evita la germinación después de que la semilla se ha separado de la planta madre y es expuesta a condiciones desfavorables (Taiz y Zeiger, 2010). Otra clasificación la divide en exógena cuando no se lleva a cabo la entrada de agua debido a barreras físicas, químicas o mecánicas; o endógena, que puede deberse a causas morfológicas, fisiológicas o mecánicas, o la combinación entre éstas (Taiz y Zeiger, 2010; Baskin y Baskin 2014).

- **Adaptación al medio ambiente**

VARIABLES COMO LA LATITUD, LA ALTITUD, LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL SUELO, LA DISPOSICIÓN DE NUTRIENTOS, LA TEMPERATURA, LA COBERTURA VEGETAL, EL DETERIORO DEL HÁBITAT, ETC., SON ALGUNOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA RESPUESTA GERMINATIVA DE DIFERENTES ESPECIES, POBLACIONES, O INCLUSO ENTRE INDIVIDUOS DENTRO DE UNA MISMA POBLACIÓN (BASKIN Y BASKIN 2014). ESTA VARIACIÓN EN LA RESPUESTA GERMINATIVA PUEDE SER EL RESULTADO DE LA CAPACIDAD QUE TIENEN LAS PLANTAS PARA ADAPTARSE A CIERTAS CONDICIONES AMBIENTALES A TRAVÉS DE DIFERENCIACIÓN GENÉTICA QUE RESPONDE

ante presiones de selección natural, generando una respuesta genotípica de la especie a un hábitat con características particulares, a los individuos que presentan estas respuestas genotípicas se les conoce como ecotipos (Turesson, 1992). Cuando una especie genera ecotipos, éstos permanecerán con sus características fenotípicas, incluso al cambiar a la planta o semilla de ambiente (Baskin y Baskin 2014).

Las poblaciones, al ser sometidas a distintas condiciones, experimentan distintas presiones y por lo tanto, cada población toma distintos caminos de transformación a nivel fenotípico; dichas diferencias fenotípicas tendrán como resultado el surgimiento de especies distintas, ya que, de manera paralela los cambios fenotípicos influye en el genotipo como resultado de la adaptación de las especies a su medio ambiente, a éste mecanismo también se le conoce como preacondicionamiento (Rowe, 1964; Herbers, 2010; Baskin y Baskin, 2014).

También puede ser que los factores ambientales presentes mientras los frutos y las semillas se están desarrollando, como: falta de agua, variaciones en la temperatura, sombra y depredación, influyan en la respuesta germinativa (Bewley y Black, 1994).

- **Tipos de semillas**

Actualmente se han determinado tres tipos de semillas de acuerdo al contenido de humedad y sus condiciones de almacenamiento.

Ortodoxas: son aquellas que toleran la desecación durante su desarrollo, sin perder la viabilidad por periodos muy prolongados o al menos hasta la siguiente temporada de producción de semillas (Berjak *et al.*, 1989; Chin y Ktishnapillay, 1989; Pamenter y Bejak, 2000a; Taiz y Zeiger 2010). Estas semillas tienen un bajo contenido de agua al momento de la diseminación (<10%) y esta baja cantidad de

agua en las células le permite reducir al máximo el metabolismo previniendo el daño en proteínas y ADN (Rajjou y Debeaujon, 2008; Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Recalcitrantes: tienen alto contenido de agua al momento de la diseminación (>15%) y no sobreviven en condiciones de sequedad y frío (menor a -10 °C) cuando son conservadas *ex situ*, por lo tanto, no pueden ser conservadas por largos periodos sin perder su viabilidad (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

Intermedias: tienen entre 10 y 12.5 % de agua al momento de la diseminación y son capaces de permanecer almacenadas durante largos periodos de tiempo sin perder su viabilidad, pero que al ser almacenadas en temperaturas bajas pierden su capacidad germinativa (Ellis *et al*, 1990; Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013).

- **Longevidad**

Como ya habíamos mencionado, antes de liberarse, las semillas pasan por un periodo de desecación para así poder ser dispersadas en el tiempo y el espacio. Al tener un bajo porcentaje de agua, la semilla reduce su metabolismo al mínimo, permitiéndole mantener su capacidad para germinar durante largos periodos de tiempo.

La longevidad de las semillas se define como la capacidad de permanecer viables, por un determinado tiempo y está fuertemente relacionada con la cantidad de agua en la semilla (Baskin y Baskin 2014).

El envejecimiento en las semillas influye en la disminución de la capacidad de propagación de las plantas, ya que éstas comienzan a perder vigor, se vuelven menos resistentes a las condiciones ambientales y en el caso más extremo, pierden la capacidad para germinar. La velocidad a la que una semilla va a envejecer (Figura 4) estará influenciada por factores ambientales y genéticos

(Rajjou y Debeaujon, 2008). Con el fin de prolongar el tiempo de vida de las semillas, éstas han tenido la capacidad de desarrollar sistemas de protección, desintoxicación y reparación ya que dentro de los factores que deterioran las semillas están los daños causados por la concentración de especies reactivas de oxígeno dentro del embrión, daños en las macromoléculas y por agentes bióticos y abióticos como temperatura, oxígeno, hongos y bacterias (Rajjou y Debeaujon, 2008).

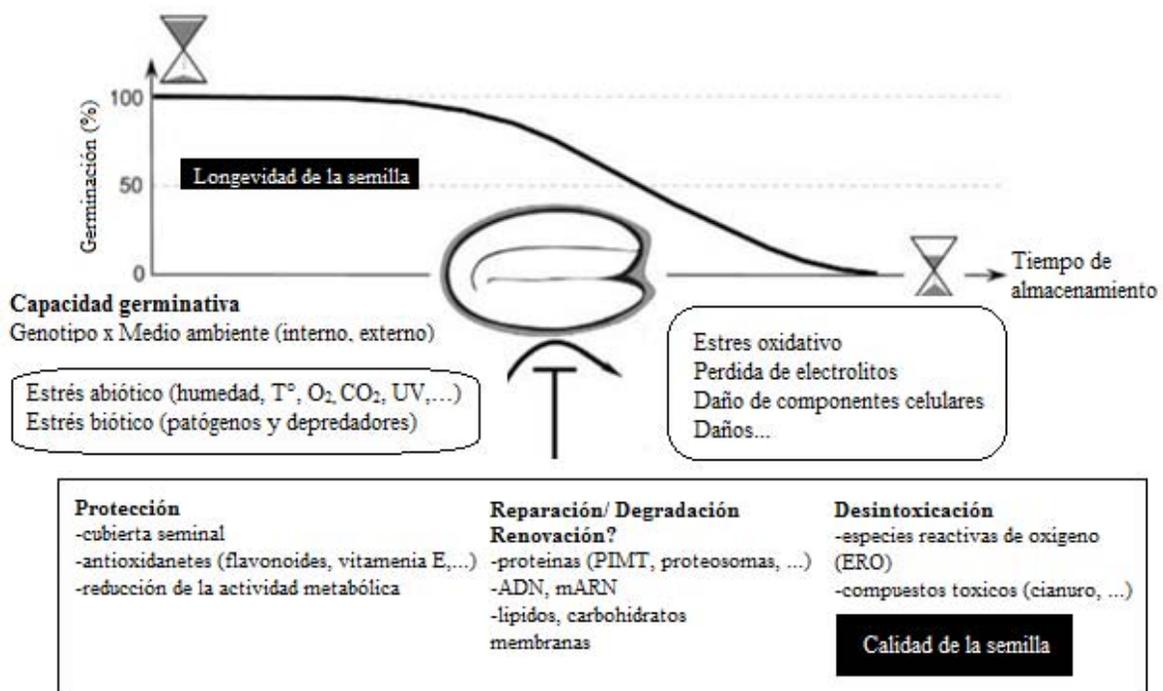


Figura 4. Mecanismos que determinan la longevidad de las semillas. El deterioro de las semillas después de un determinado tiempo de almacenamiento, se ve reflejado en su capacidad de germinación (Tomado de Rajjou y Debeaujon, 2008).

En el presente trabajo se hizo el estudio con especies de la familia Podostemaceae, la cual es muy singular entre las angiospermas acuáticas, que si bien resulta interesante su estudio por las características del ambiente en el que habitan, son las plantas más significativas en los ríos tropicales y templados de fuerte corriente ya que juegan un papel ecológico muy importante al ser las macrófitas dominantes de los ríos que habitan, éstas brindan una estructura

biótica de resguardo y alimento para algunos vertebrados (Philbrick y Novelo, 1995; Bornette y Puijalon, 2010), aportan carbón al sistema lóxico (Quiroz *et al.*, 1997) e interactúan con el consumo y liberación de nutrientes, además, de que algunas plantas microscópicas epífitas pueden crecer sobre ellas (Ameka *et al.*, 2007).

Ya que son parte esencial de los sistemas de ríos de corriente rápida y cascadas, es necesario estudiar su comportamiento reproductivo para poder llevar a cabo en un futuro, medidas de conservación debido a que el establecimiento de poblaciones humanas cerca de los cuerpos de agua ha ido aumentando por actividades domésticas, industriales y agrícolas, por lo que el hábitat de las podostemáceas se ha ido deteriorando, y esto podría ocasionar que disminuyera la presencia de las especies de esta familia en los ríos. La preferencia de estas plantas por ambientes oligotróficos y el aumento en la concentración de los nutrimentos puede ser contraproducente para ellas (Quiroz *et al.*, 1997). Debido a ello, algunos autores han considerado que estas plantas pueden ser consideradas como indicadores de ambientes perturbados (Philbrick y Novelo, 1995; Ameka *et al.*, 2007); sin embargo es un tema que aún debe ser discutido.

Además de ser plantas muy importantes en los sistemas acuáticos, el hombre ha aprendido a utilizarlas en diferentes áreas, como la cocina, medicina tradicional y ganadería. En el caso de la cocina, se sabe que las hojas secas son utilizadas como sazónador de comida por personas del Amazonas (Brasil), o bien, como un tipo de pimienta; además, las cenizas pueden servir como sustituto de sal. También han resultado ser de gran utilidad en el área de ganadería por ser utilizadas como forraje en época de sequía; en México se ha reportado el uso de estas plantas como tratamiento para enfermedades hepáticas (Philbrick y Novelo, 1995).

Cabe mencionar que no todos los individuos de especies se distribuyen homogéneamente a lo largo de los ríos y es por ello que resulta interesante conocer la capacidad germinativa de las distintas especies para saber si este

patrón de distribución puede asociarse al comportamiento germinativo, o si son otros factores los que determinan su distribución.

- **Características generales de la familia Podostemaceae**

De las angiospermas que son estrictamente acuáticas, la familia Podostemaceae Rich. Ex C. Agardth (Magnoliopsida) es la más grande en número de especies (Philbrick y Novelo, 2004; 2005) y se subdivide en tres subfamilias: Tristichoideae, Weddellinoideae y Podostemoideae (Philbrick y Novelo, 1995; Katayama *et al.*, 2013), siendo cada una de ellas linajes independientes de acuerdo a recientes estudios filogenéticos (Tippery *et al.*, 2011). La familia contiene cerca de 50 géneros y alrededor de 270 a 280 especies (Rutishauser, 1997; Philbrick y Novelo, 1994; Cook y Rutishauser, 2007) que se distribuyen desde México hasta Sudamérica y también en África, Madagascar, Australia y el este de Asia (Cook, 1990, en Philbrick y Novelo, 1995).

En el continente americano se encuentra aproximadamente el 60% de especies de Podostemaceae.

En México se encuentran 4 géneros: *Marathrum* Humb & Bonpl., *Podostemum* Mitcx. y *Tristicha* Du Petit-Touars, *Noveloa* C. Philbrick; que en conjunto contienen 9 especies, de las cuales *M. rubrum*, *N. coulteriana*, *N. longifolia* y *M. plumosa* son endémicas (Philbrick y Novelo, 1997; Tippery *et al.*, 2011). Se distribuyen en la vertiente del Pacífico desde Baja California Sur y Sonora, hasta Chiapas; y en el Golfo de México desde Tamaulipas hasta Tabasco y en el centro de México en los estados de Michoacán, Jalisco y Morelos (Philbrick y Novelo, 1997).

Las Podostemaceae crecen sobre las rocas en ríos de corrientes rápidas o cascadas de la región pantropical dónde las temperaturas varían entre los 14 y 27 °C, y el nivel del agua cambia conforme a las estaciones del año (Figura 5) (Rutishauser, 1997; Philbrick y Novelo, 1994; Katayama *et al.*, 2013; Castillo *et al.*, 2013).



Figura 5. Cascada de del río Horcones en la localidad “Chicos Paradise”, Municipio Cabo Corrientes, Puerto Vallarta, Jal., dónde habitan algunas especies de Podostemáceas. (A) Temporada de lluvias. (B) Temporada de secas.

La familia Podostemaceae se distribuye casi en todos los tipos de climas de la zona tropical (Figura 6) (Philbrick y Novelo, 1997). Y su distribución en México abarca las ocho provincias fisiográficas de acuerdo a la clasificación de Rzedowsky (1988), la Planicie Costera Noroccidental, la Sierra Madre Oriental, el Eje Volcánico Transversal, la Planicie Costera Nororiental, la Depresión del Balsas, la Sierra Madre del Sur, el Sistema Montañoso y la Planicie Costera Suroriental (Philbrick y Novelo, 1997).



Figura 6. Distribución mundial de la familia Podostemaceae (Tomado de página web de Angiosperm Phylogeny).

En dónde se distribuyen las podostemáceas, además de vegetación riparia, podemos encontrar bosques de pino encino y bosque húmedo de montaña, y en los climas más calientes, bosque tropical húmedo, bosque tropical subcaducifolio y bosque tropical caducifolio (Philbrick y Novelo, 1997).

Las podostemáceas pueden ser plantas anuales o perennes dependiendo de las condiciones ambientales que se presenten; las etapas del ciclo de vida dependen del nivel de agua (Ameka *et al*, 2007) (Figura 7A).

Durante la época de lluvias, cuando el nivel del agua es alto, las estructuras vegetativas crecen debajo de la superficie del agua, y las estructuras reproductivas se desarrollan cuando el nivel del agua disminuye durante la estación seca, las flores quedan expuestas sobre la superficie de las rocas dónde se polinizan (Figura 7B) (Philbrick y Novelo, 1995; Katayama *et al.*, 2013). El hecho de que se reproduzcan sexualmente es una característica que las distingue de las demás angiospermas acuáticas, las cuales se reproducen principalmente de manera vegetativa (Philbrick y Novelo, 1995). Los frutos formados permanecen adheridos a la roca (Figura 7C) y contienen un gran número de semillas que siguen desarrollándose hasta alcanzar la madurez después de 2 o 3 semanas gracias al aporte de lípidos y carbohidratos almacenados en la pared del ovario (Guzmán, 2006; Reyes-Ortega *et al.*, 2009). Una vez que las semillas son liberadas entran en contacto con el agua, y la capa más externa de la cubierta de la semilla, que está compuesta por células de tipo mucilaginoso (Figura 8 A y B), se expande permitiéndoles adherirse a las rocas (Figura 7D), posteriormente el

mucílago se seca y crea una fuerte unión entre la semilla y el sustrato (Philbrick, 1984; Philbrick y Novelo, 1995). Se ha demostrado que en otras especies de plantas el mucílago tiene la capacidad de difundir el agua del sustrato a la semilla debido a que tiene un potencial hídrico muy bajo, pero cuando ésta se encuentra completamente cubierta por agua se evita que el oxígeno llegue al embrión inhibiendo la germinación (Witztum, 1969; Reyes-Ortega, 2010; Western, 2011; Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013).

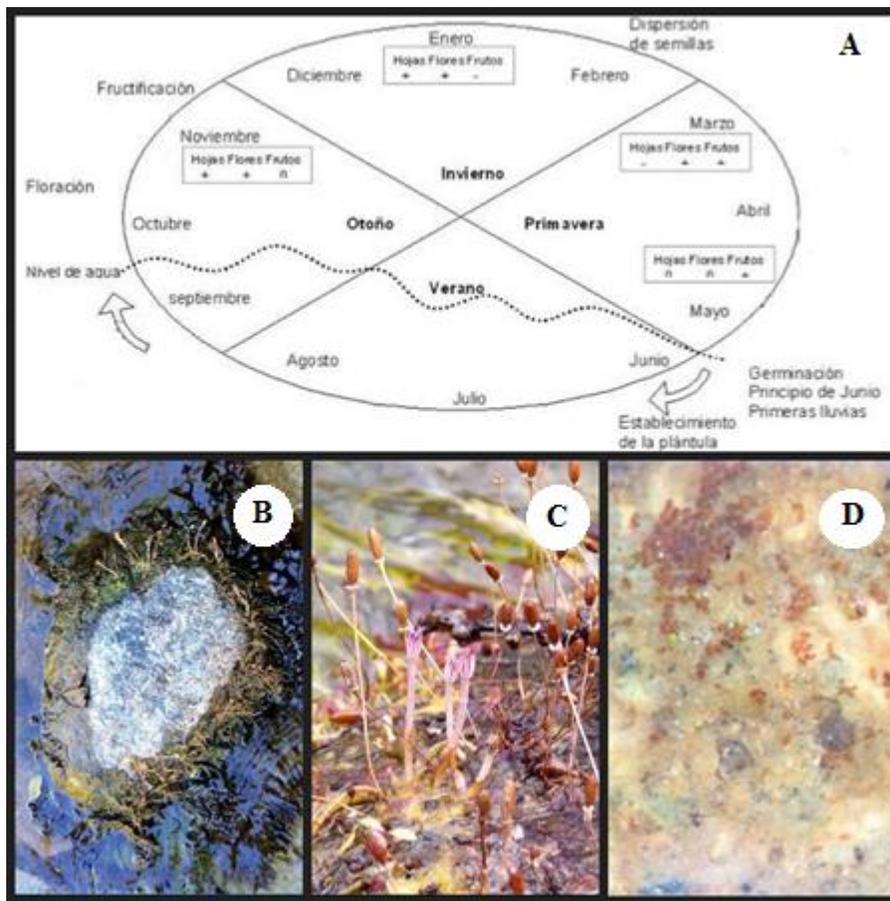


Figura 7. (A) Ciclo de vida de *Marathrum foeniculaceum* de acuerdo al nivel del agua en las distintas estaciones del año (Tomado de Reyes-Ortega, 2010). (B) Cuando disminuye el nivel del agua, (C) surgen las flores y, posteriormente los frutos. Antes de que vuelva a subir el nivel del agua, (D) los frutos se abren y las semillas quedan adheridas a las rocas.

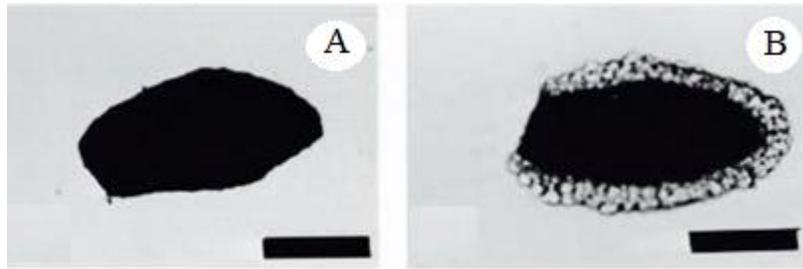


Figura 8. Semilla de *Podostemum ceratophyllum*. (A) Silueta de una semilla seca. (B) Silueta de una semilla hidratada, muestra cómo se expande el mucilago. Escala: 250 μm (Tomado de Philbrick, 1984).

- **Especies de estudio**

Tristicha trifaria (Bory ex Willd.) Spreng., es una planta anual o perenne. En México se puede encontrar (Figura 9 A) desde Nayarit a Chiapas sobre la vertiente del Pacífico; de San Luis Potosí al sureste de Veracruz sobre la vertiente del Atlántico; y en el estado de México en la parte central del continente; a partir de los 1300 msnm (Philbrick y Novelo, 1997). Sus raíces son postradas; tallos erectos (1-11 cm de largo); hojas muy pequeñas. Las cápsulas que se forman, pueden llegar a contener alrededor de 30 semillas (Figura 9 B y C). Se distribuye en la zona tropical y subtropical de América y África, siendo la especie con mayor rango de distribución en México de toda la familia Podostemaceae (Novelo y Philbrick, 1997).

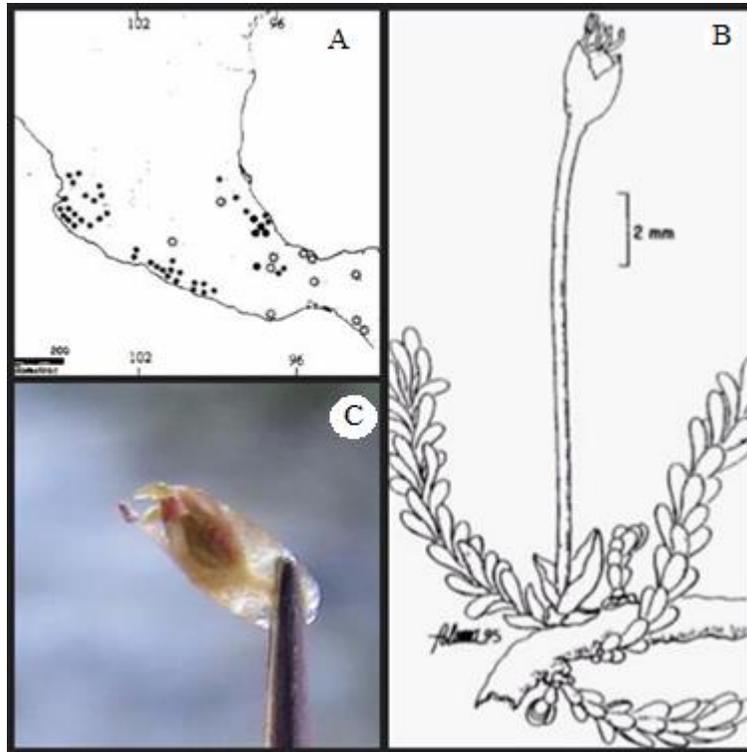


Figura 9. *Tristicha trifaria*. (A) Distribución en México. (B) Esquema de la planta (Tomado de Novelo y Philbrick, 1997) y (C) flor (Foto tomada por Ricardo Wong).

Noveloa coulteriana (Tul.) C. Philbrick, antes *Oserya coulteriana*; es una especie anual o perenne. Es endémica de México y está sujeta a protección especial (NOM-ECOL-059-SEMARNAT-2010). Se distribuye (Figura 10 A) a lo largo de la Costa de Pacífico desde Sonora hasta Guerrero y Baja California Sur en los 300 msnm (Philbrick y Novelo, 1997). Es de pequeño tamaño (Figura 10 B), sus raíces son postradas y aplanadas, de ellas surgen los nuevos vástagos; tallos cilíndricos ramificados en la parte superior dónde presentan hojas largas y bifurcadas de las cuales emergen las flores (Figura 10) (Philbrick y Novelo, 1994, 1995, 1997); sus flores son hermafroditas, tienen de dos a tres tépalos y de dos a tres estambres. El gineceo está formado por un ovario sincárpico, súpero; estigma bilobulado sésil. El fruto (Figura 10 D) tiene dos valvas diferentes (Van Royen, 1954; Villanueva, 2013). Quiróz *et al.* (1997) mencionan que ésta es una especie muy susceptible a la contaminación de los ríos, sin embargo Castillo *et al.* (2013) la encontraron habitando ríos que tienen impacto antropogénico. Sus frutos pueden contener alrededor de 30 semillas (Philbrick y Novelo, 1997).

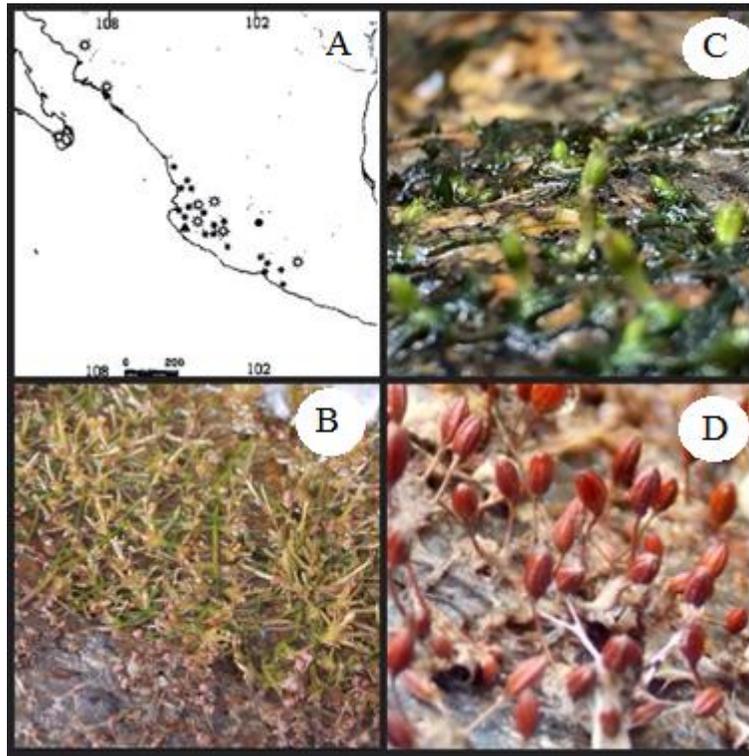


Figura 10. *Noveloa coulteriana*. (A) Distribución en México (Tomado de Philbrick y Novelo, 1997). (B) Cuando el nivel del río disminuye la fase vegetativa comienza a senescer, (C) las flores comienzan a emerger y posterior a la fecundación se (D) formarán los frutos.

Marathrum plumosa Novelo & Philbrick, antes *Vanroyenella plumosa*; es endémica de México, se distribuye únicamente en Jalisco y Oaxaca (Novelo y Philbrick, 1997, Tippery *et al.*, 2011). Sus hojas (Figura 11 A y C) tienen el ápice agudo o redondeado, y numerosas divisiones filamentosas que aparenta una pluma; sus flores (Figura 11 B) son hermafroditas zigomórficas; después de la polinización se forman cápsulas biloculares que contienen aproximadamente 333 semillas por cápsula. Aparentemente habita lugares dónde la corriente es más fuerte, por ejemplo cascadas (Novelo y Philbrick, 1993 y Pastor, 2010).

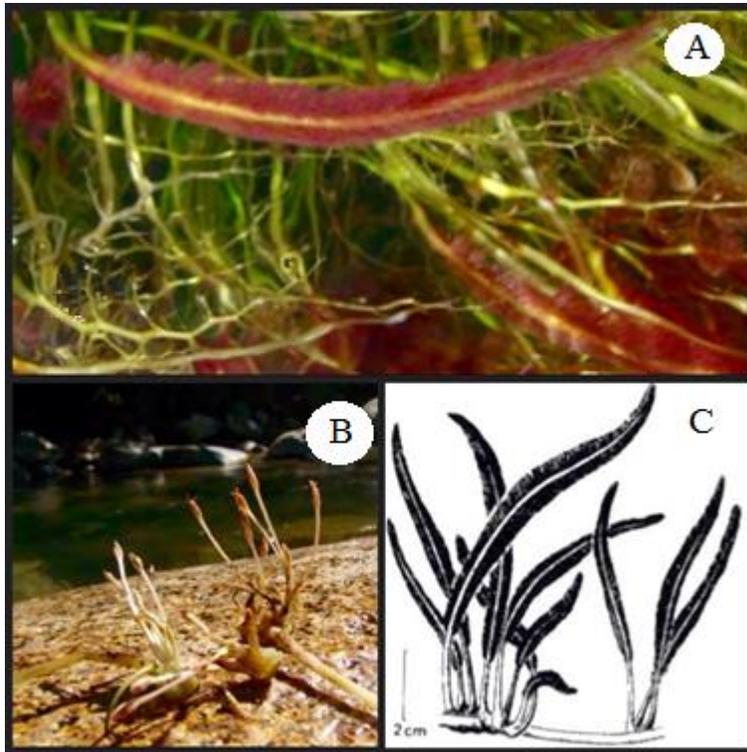


Figura 11. *Marathrum plumosa* (A) Foto dónde se pueden apreciar las hojas tan características de esta especie (Foto tomada de Pastor, 2010). (B) frutos dispuestos sobre una roca (Foto tomada de Pastor, 2010). (C) Esquema que representa las hojas, tallos y peciolo de las hojas (Ilustración tomada de Novelo y Philbrick, 1993).

Marathrum rubrum Novelo y C. Philbrick es una especie anual o perenne, endémica de las partes bajas de la Costa Pacífica de México, principalmente Jalisco y Guerrero (Figura 12 A) (Philbrick y Novelo, 1995, 1997), por debajo de los 400 msnm, dónde pueden encontrarse junto a *N. coulteriana*, *T. trifaria* y *M. plumosa*. Está sujeta a protección especial (NOM-ECOL-059-SEMARNAT-2010). Habita únicamente en la localidad Horcones, dónde se unen los caudales de los ríos Las Juntas y Arroyo del Refugio; esto se puede atribuir a que realmente es un eco-tipo y no una especie diferente (Philbrick y Novelo, 1995).

Tiene raíces elongadas, postradas y aplanadas; los peciolo son cilíndricos y ligeramente aplanados; la hoja tiene un raquis central expandido y pinnado repetidamente, y es la única especie que presenta divisiones capiliformes de un color rojo en ambas caras de la hoja (Figura 12 B); sus flores (Figura 12 C) tienen entre 7-9 tépalos triangulares, alternados con estambres que rodean al pistilo

(Philbrick y Novelo, 1997). Después de la fecundación se forman las cápsulas (Figura 12 D) de 4.5 a 5(6) mm de largo y 1.7 a 2.2 mm de diámetro; cada valva con tres costillas. Cada cápsula contiene 676 semillas en promedio (Philbrick y Novelo, 1997).

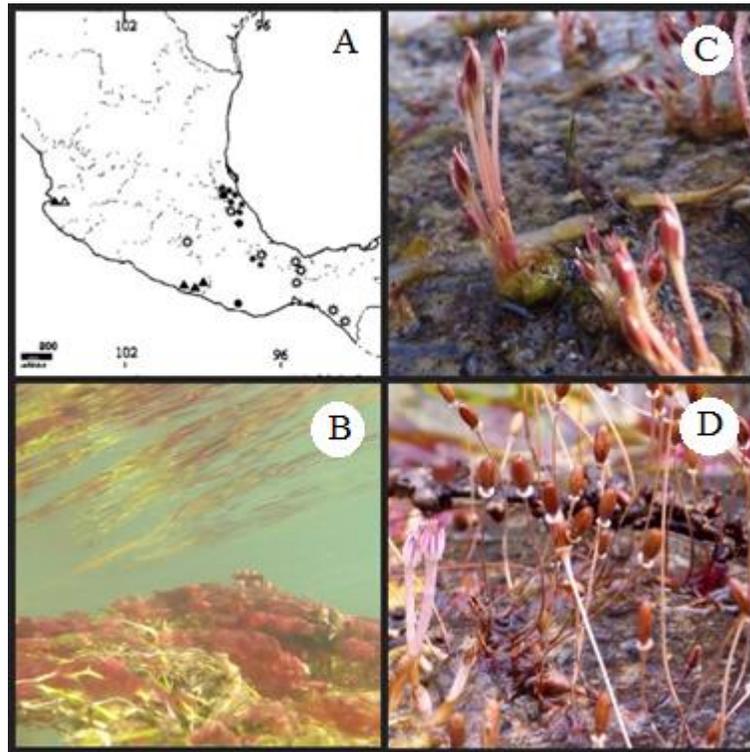


Figura 12. *Marathrum rubrum*. (A) Distribución en México (Tomado de Philbrick y Novelo, 1997). (B) Forma vegetativa debajo del nivel del agua con sus características hojas (Foto toma por Diana Guzmán). Una vez que el nivel de agua haya disminuido emergerán las (C) flores (Foto tomada por Ricardo Wong) y posterior a la polinización, los (D) frutos.

Marathrum schiedeanum Cham. Es una planta anual o perenne. Tiene una amplia distribución en México, de Nayarit a Chiapas y Veracruz por debajo de los 1000 msnm; en Jalisco se localiza en el río Arroyo del Rincón en la localidad “Las Juntas del Tuito” (Figura 13 A). Puede tener tallos muy largos ramificados, postrados o aplanados; las hojas (Figura 13 B) son verdes y frecuentemente rojas en la superficie abaxial, tienen un raquis central expandido y prominente, pinnado y dividido repetidamente; los peciolos pueden ser cilíndricos o aplanados (Philbrick

y Novelo, 1997). Las flores (Figura 13 C) presentan de 6-10 tépalos triangulares, alternados con estambres que van de 7 a 9, insertados en un anillo que rodea al pistilo; posterior a la fecundación se desarrollan las cápsulas (Figura 13 D), de 4 a 6 mm de largo y de 1.7 a 2.5 mm de diámetro que contienen un gran número (392 ± 279) de semillas (Philbrick y Novelo, 1997).

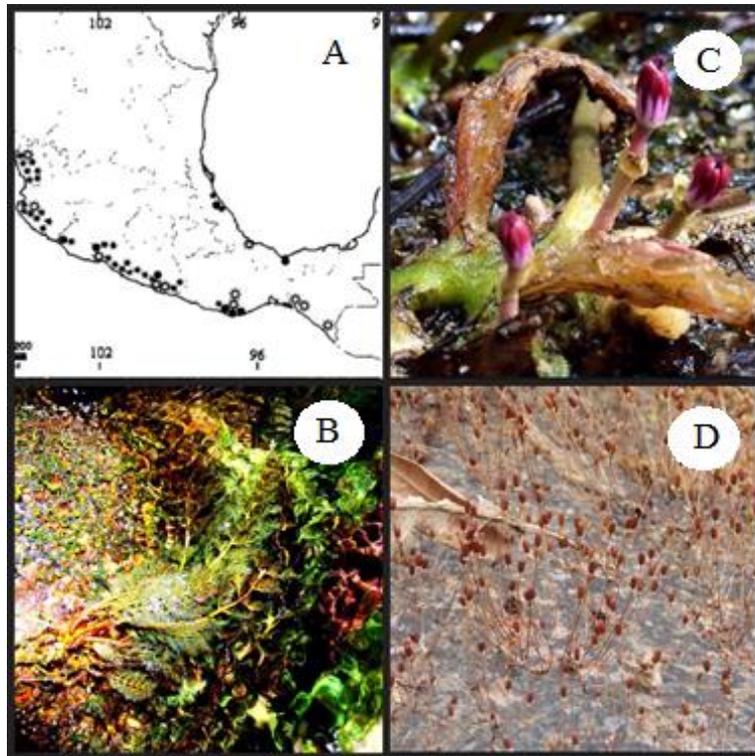


Figura 13. *Marathrum schiedeanum*. (A) distribución en México (Tomado de Philbrick y Novelo, 1997). Las estructuras vegetativas (B) permanecen por debajo del nivel del agua y las flores (C) y frutos (D) surgen en la superficie de la roca que queda expuesta durante la temporada de secas, cuando el nivel del agua disminuye.

En el estudio de Tippery *et al* (2011) *Marathrum rubrum* y *Marathrum schiedeanum* se unieron en una sola especie, agrupándose bajo el nombre de *Marathrum foeniculaceum*. Es importante mencionar esto debido a que a lo largo del presente estudio, se hará la mención de *M. rubrum* y *M. schiedeanum* con la finalidad de hacer una comparación con trabajos previamente realizados dónde aún no se había unificado a ambas especies; sin embargo en otras partes del estudio se unificarán ambas especies de acuerdo a su actual clasificación.

JUSTIFICACIÓN

Existen pocos estudios acerca de la germinación y la influencia en ésta del almacenamiento de las semillas de Podostemaceae, incluidas las mexicanas, y dado que pertenecen a una de las pocas familias acuáticas estrictas con alto nivel de endemismo, se requiere conocer algunos aspectos del proceso que aporten información para el manejo, conservación y ecología de este grupo.

OBJETIVO GENERAL

Describir el comportamiento germinativo de *T. trifaria*, *N. coulteriana*, *M. plumosa*, *M. rubrum* y *M. schiedeanum* en función de su procedencia y tiempo de almacenamiento.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Conocer el efecto del almacenamiento en la capacidad germinativa de semillas de podostemáceas.
- Comparar la capacidad germinativa entre poblaciones de una misma especie.
- Conocer el comportamiento germinativo *in situ* de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum*.

HIPOTESIS

- El tiempo de almacenamiento es un factor que deteriora a las semillas y por lo tanto, la respuesta germinativa irá cambiando conforme al tiempo que lleve almacenada la semilla.
- Debido a que las especies se distribuyen en diferentes localidades de uno o más ríos, la capacidad germinativa variará entre poblaciones.
- El comportamiento germinativo de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum* será distinto al ponerlas a germinar en localidades diferentes a las que habitan.

ZONA DE COLECTA

En los trabajos que se han llevado a cabo con Podostemaceae en México se ha hecho mención de algunos ríos de los cuales se tienen las muestras de semillas, sin embargo el nombre que se les había asignado a los ríos corresponde a la localidad más cercana al punto de recolecta (Philbrick y Novelo, 2004; Reyes-Ortega, 2010, Castillo, 2007). Lo anterior causaba controversia debido a que hemos visto que en realidad estos ríos forman parte de dos grandes ríos correspondientes a cuencas distintas. Es por ello que se hace la revisión de los ríos con el nombre que se les había asignado en trabajos anteriores, el río al que pertenecen, la cuenca de la cual forman parte y en qué municipio y localidad se encuentran. Además se incluyen las especies que están presentes en cada localidad (Tabla 1).

Tabla 1. Ríos de Puerto Vallarta dónde se llevaron a cabo las recolectas de semillas durante las temporadas de fructificación de *T. trifaria*, *N. coulteriana*, *M. plumosa*, *M. rubrum* y *M. schiedeanum*.

Cuenca	Río	Antes conocido como:	Municipio	Localidad	Coordenadas	Especies de Podostemaceae presentes	
Tomatlán-Tecuán	Arrollo del rincón	Las Juntas	Cabo corrientes	Las Juntas del	20°14'47.25"N	<i>N. coulteriana</i> <i>M. schiedeanum</i>	
				Tuito	105°18'38.04"O		
Ameca-Ixtapa	Horcones	Horcones	Cabo corrientes	Entre Los Horcones y Emiliano Zapata	20°27'9.39"N 105°17'22.99"O	<i>M. rubrum</i> <i>N. coulteriana</i> <i>T. trifaria</i> <i>M. plumosa</i>	
				Las Juntas y los Veranos	20°28'54.33"N 105°17'44.98"O		<i>M. plumosa</i> <i>M. schiedeanum</i> <i>N. coulteriana</i>
				Las Juntas y los Veranos	20°28'52.60"N 105°17'29.41"O		
		Boca de Tomatlán	Puerto Vallarta	Boca de Tomatlán	20°30'32.52"N 105°18'39.68"O	<i>M. schiedeanum</i> <i>T. trifaria</i> <i>N. coulteriana</i>	

Los ríos “Arrollo del rincón” y “Horcones” se localizan en la costa de Jalisco en los municipios de Cabo Corriente y Puerto Vallarta, a 350 msnm (Figura 14). En esta zona se registra un clima muy húmedo (Aw), con invierno y primavera secos y cálidos, sin estación invernal definida (Rzedowsky, 1988); la temperatura ambiental varía de 18-28 °C, siendo los meses de Junio, Julio y Agosto en los que se registra una máxima temperatura de 28-29 °C y una mínima de 23-24 °C (Reyes-Ortega, 2010). En cuanto a la precipitación, se ha registrado una máxima en el mes de Septiembre, con un rango de 220 a 230 mm y una mínima en el mes de Abril dónde se registran 10 mm. La vegetación que predomina en esta zona es selva baja, selva mediana, pastizales y bosques de pino-encino (Reyes-Ortega, 2010).

Los ríos que encontramos en esta zona se originan en las montañas aledañas y llevan una fuerte corriente, característica del ambiente contrastante en dónde habitan las podostemáceas. Son ríos oligotróficos con bajos niveles de contaminación (Quiroz *et al.*, 1997). La temperatura de los ríos en la localidad de Las Juntas del Tuito y Horcones en la época de secas es de 29 y 23 °C, respectivamente (Quiroz *et al.*, 1997); en la época de lluvias la temperatura de los ríos va de los 20 a los 30 °C (Philbrick y Novelo, 1994; Reyes-Ortega, 2010).

Cerca de los ríos se han observado campos de siembra en las localidades de Las Juntas del Tuito y Horcones. En las localidades más cercanas a la costa, los asentamientos humanos se vuelven más grandes y por lo tanto las orillas del río y el río mismo se observan más contaminados, siendo este el caso de la parte del río Horcones que pasa por la localidad Boca de Tomatlán.



Figura 14. Localidades dónde fueron recolectadas las muestras de *T. trifaria*, *N. coulteriana*, *M. plumosa*, *M. rubrum* y *M. schiedeanum*.



CAPÍTULO 1

Características generales de la capacidad germinativa de *T. trifaria*, *N. coulteriana*, *M. plumosa*, *M. rubrum* y *M. schiedeanum* al aplicar distintos tratamientos de luz y temperatura.

INTRODUCCIÓN

Las semillas de *T. trifaria*, *N. coulteriana*, *M. plumosa*, *M. rubrum* y *M. schiedeanum*, recolectadas durante 1996-2013, fueron germinadas en el 2014 bajo diferentes condiciones de luz y temperatura. Se muestran los distintos patrones de germinación que hay entre las muestras dependiendo de las variables (especie, procedencia y tiempo de almacenamiento) al aplicar los distintos tratamientos de germinación. Sin embargo, en este capítulo no se realizaron análisis estadísticos debido a que las muestras obtenidas de las distintas recolectas no eran homogéneas en cuanto a número de semillas, procedencia, especie y fecha de colecta.

Posteriormente, en el capítulo 2, se retomarán los datos obtenidos de este capítulo para hacer análisis e interpretaciones.

MATERIAL Y MÉTODO

- **Recolectas de frutos**

Las recolectas fueron realizadas de manera no consecutiva entre los años 1996 y 2013 por diferentes recolectores (Tabla 2 y Anexo 1). Los frutos fueron recolectados aleatoriamente de distintas rocas y posteriormente fueron almacenados en bolsas de papel estraza a temperatura ambiente hasta el inicio de los experimentos. Debido a que la floración ocurre una vez al año, y a que los

frutos permanecen en las rocas por un tiempo variable hasta que se inicia la temporada de lluvias y se eleva el nivel de los ríos, cada fecha de recolecta corresponde en realidad a una temporada, por ejemplo, si la recolecta se llevó a entre noviembre de 1996 y marzo de 1997 la temporada será 96-97, y así sucesivamente.

Tabla 2. Tiempo de almacenamiento de frutos de cinco especies de podostemáceas realizadas de 1996 al 2013 en cinco localidades del estado de Jalisco.

Especie	Localidad	Temporada de fructificación	Tiempo de almacenamiento (años) al momento de la germinación (2014)
<i>T. trifaria</i>	Las Juntas del Tuito	2011-2012	2
	Chicos Paradise	2012-2013	1
<i>N. coulteriana</i>	Horcones	1996-1997	17
	Horcones	2007-2008	6
	Horcones	2011-2012	2
	Las Juntas del Tuito	2011-2012	2
	Horcones	2012-2013	1
<i>M. plumosa</i>	Horcones	2004-2005	9
	Horcones	2011-2012	2
<i>M. rubrum</i>	Horcones	2004-2005	9
	Horcones	2012-2013	1
	Chicos Paradise	2012-2013	1
	Boca de Tomatlán	2012-2013	1
<i>M. schiedeanum</i>	Las Juntas del Tuito	2004-2005	9
	Las Juntas del Tuito	2006-2007	7
	Las Juntas del Tuito	2011-2012	2
	Chicos Paradise	2011-2012	2
	Chicos Paradise	2012-2013	1
	Río Blanco	2012-2013	1
	Boca de Tomatlán	2012-2013	1

- **Pruebas de germinación.**

Para llevar a cabo las pruebas de germinación, se extrajeron todas las semillas de 10 frutos de cada recolecta con la finalidad de tener muestras heterogéneas.

Se siguió la metodología descrita por Castillo (2007) donde se ponen a prueba dos tratamientos con una combinación de temperatura constante (25°C) y alternante (15/25°C), y con diferentes tipos de luz, luz blanca (LB), roja (R), roja lejana (RL) y oscuridad (O) utilizando cajas de acrílico plexiglass con distintos filtros, dependiendo de la calidad de luz que se quiera dar, y en el caso del tratamiento de oscuridad las cajas fueron cubiertas con papel aluminio. Se sembraron 3 réplicas de 30 semillas (equivalente a 3 repeticiones en cada condición) para cada tratamiento en cajas Petri con papel Kleenex Duramax® (por su resistencia y absorción) y agua embotellada baja en sales (para semejar la condición oligotrófica de los ríos). Las cajas se colocaron en una cámara de ambiente controlado Biotronette 84 (Labline Instruments) en condiciones controladas de fotoperiodo 16/8 que asemejan el día y la noche en condiciones naturales. Se consideró como semilla germinada aquella en la cual el polo radicular emergió de la cubierta seminal. De tal manera que el diseño experimental (Figura 15) considerando cada recolecta con su procedencia y tiempo de almacenamiento fue el siguiente:

20 recolectas x 2 temperaturas x 4 calidades de luz x 3 repeticiones, lo cual dio un total de 480 lotes y 13,005 semillas sembradas.

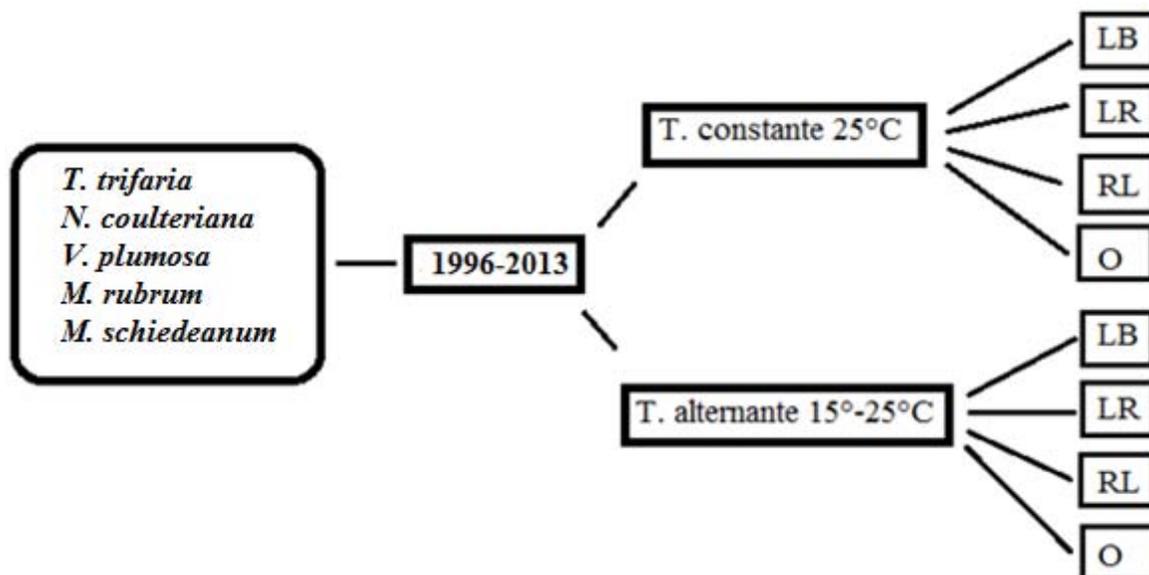


Figura 15. Diseño experimental que se llevó a cabo para la germinación de las semillas. T= temperatura. LB= luz blanca. R= luz roja. RL= luz rojo lejano. O= oscuridad.

- **Variables calculadas**

Se contabilizó diariamente el número de semillas germinadas sólo en luz blanca ya que debido al pequeño tamaño de las semillas se requiere usar microscopio estereoscópico para observarlas, por lo que no se pudo contar diariamente en los demás tratamientos para no alterar la calidad de luz.

Una vez que se alcanzó el máximo porcentaje de semillas germinadas en este tipo de luz (LB), se procedió a contar las semillas almacenadas en cajas para los tratamientos de LR, RL y O. Se calcularon las siguientes variables (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996):

En semillas germinadas en luz blanca:

- Porcentaje de germinación acumulada por intervalos de tiempo: muestra la máxima capacidad de germinación y el tiempo en que se alcanza, la forma en que se incrementa la germinación así como su tiempo de inicio y su distribución en el tiempo.

En todos los tratamientos de luz y oscuridad

- Porcentaje de germinación final: Porcentaje de semillas capaces de germinar en cada tratamiento.

RESULTADOS

Se observó que en todas las especies las semillas con más de nueve años de almacenamiento pierden completamente la viabilidad sin importar los tratamientos de luz y temperatura que se aplicaron. De igual manera, ninguna especie respondió a los tratamientos de luz RL y O.

No hay latencia para ninguna especie en ninguno de los tratamientos de luz y temperatura que se aplicaron, ya que el inicio de la germinación comenzó a partir del día 2 o 3 después de la siembra, sin utilizar ningún método de escarificación o tratamiento pre-germinativo.

- **Inicio de la germinación**

En las figuras 16 a 20 se observa el inicio de la germinación para todas las especies, en función de la edad y localidad de procedencia.

Para *T. trifaria* y *M. plumosa* en temperatura constante y alternante las semillas con uno y dos años de almacenamiento comenzaron a germinar en el día cuatro (Figuras 16 y 18), a diferencia de las demás especies que en general comenzaron a germinar entre los días dos y tres (Figuras 17, 19 y 20).

El tiempo de almacenamiento tuvo un efecto sobre la germinación de todas las especies debido a que las semillas con seis y siete años de almacenamiento presentaron un desfase en la velocidad de respuesta, a diferencia de los resultados de semillas con uno y dos años de almacenamiento. En temperatura constante el inicio de la germinación fue a los cuatro días y en temperatura alternante a los seis días en aquellas muestras que sí tuvieron respuesta germinativa (Figura 16-20).

- **Germinación acumulada**

Para todas las especies, sin importar el tiempo de almacenamiento y tratamiento de temperatura, el máximo porcentaje de germinación que se obtuvo fue $\geq 90\%$;

con excepción de las muestras de semillas de seis y siete años de almacenamiento de *N. coulteriana* en el tratamiento de temperatura constante, dónde su porcentaje de germinación fue $\leq 50\%$ y en temperatura alternante no hubo germinación (Gráficas 1-5).

- **Capacidad germinativa en luz blanca y distintos tratamientos de temperatura.**

El tiempo que tardan en alcanzar el máximo porcentaje de germinación las semillas con uno y dos años de almacenamiento y con seis y siete años de almacenamiento fue muy heterogéneo para todas las muestras y en ambos tratamiento de temperatura; aproximadamente alcanzaron el máximo porcentaje de germinación fue a los tres o cuatro días después del inicio de ésta (Tabla 3).

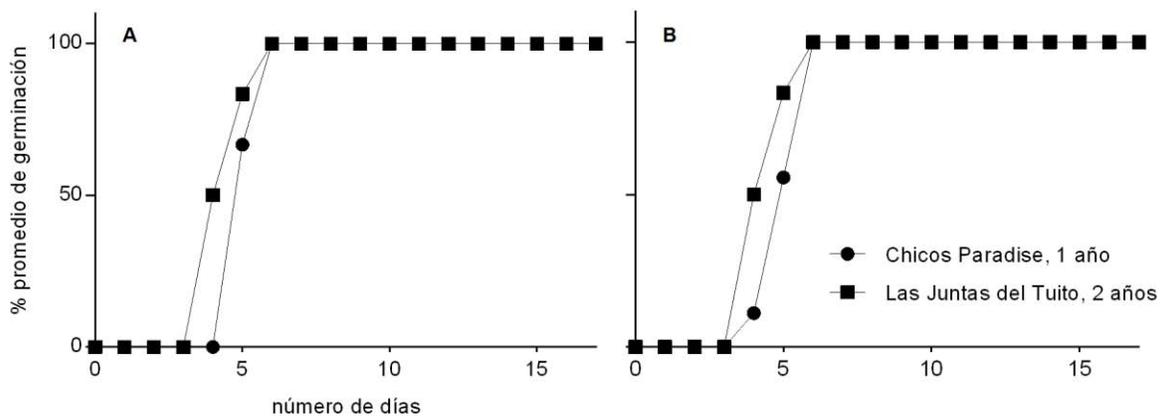


Figura 16. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *T. trifaria* con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante.

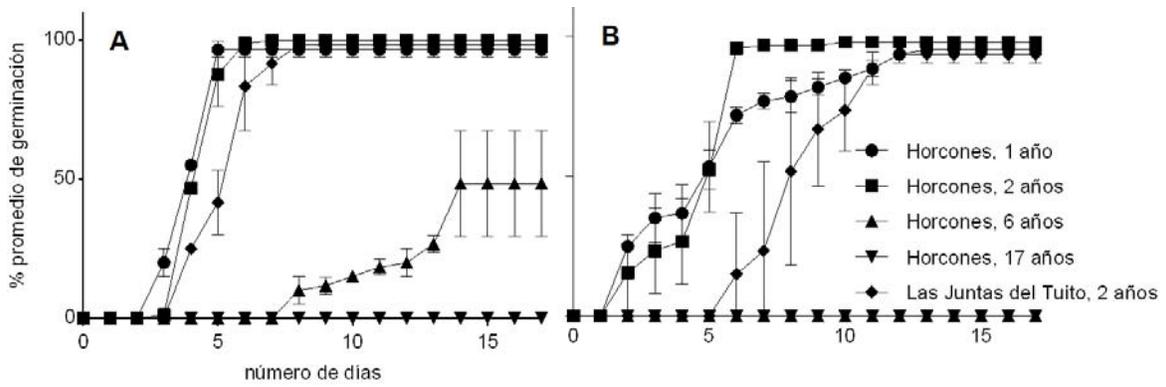


Figura 17. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *N. coulteriana* con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante. Las barras de error representan la DS.

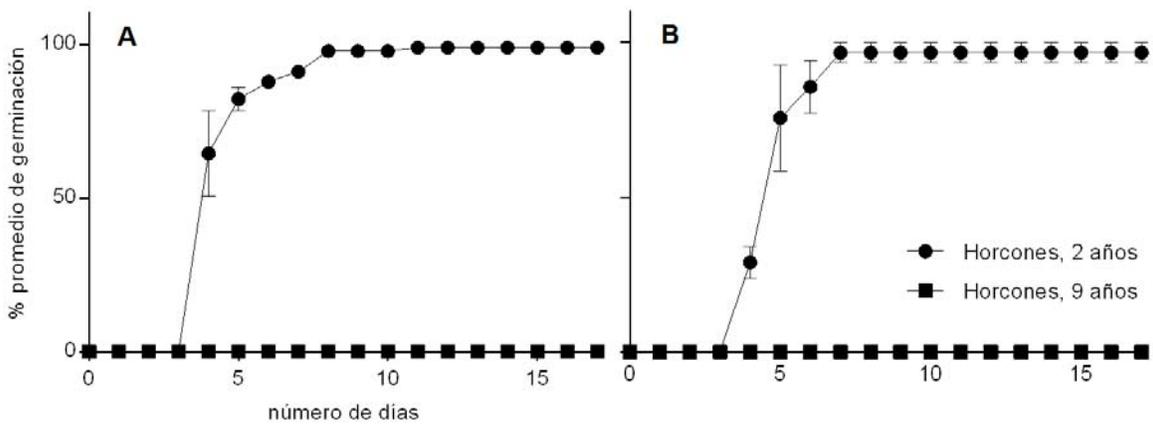


Figura 18. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *M. plumosa* con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante. Las barras de error representan la DS.

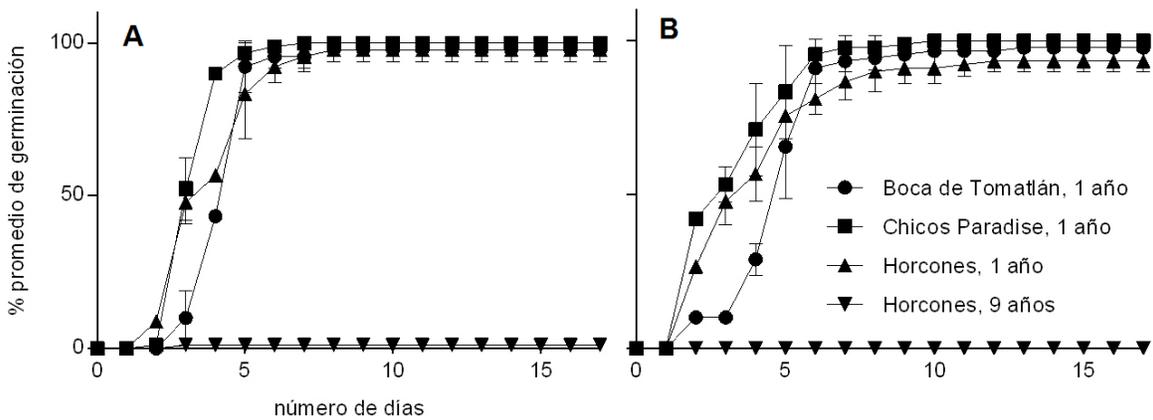


Figura 19. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *M. rubrum* con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante. Las barras de error representan la DS.

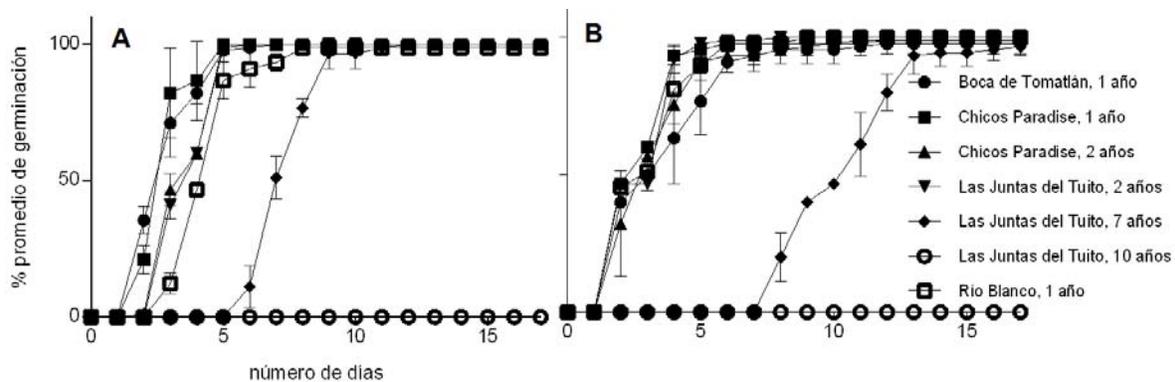


Figura 20. Porcentaje de germinación acumulada de semillas de *M. schiedeanum* con diferentes años de almacenamiento y con tratamiento de temperatura (A) constante y (B) alternante. Las barras de error representan la DS.

Tabla 3. Días necesarios para iniciar la germinación y los días que tardan en alcanzar el máximo porcentaje de semillas germinadas en tratamientos de temperatura constante (25 °C) y alternante (15/25 °C) en semillas de 5 especies de Podostemaceae en luz blanca con intervalos de almacenamiento de 1-2 años y de 6-7 años. No hay distinción entre la procedencia de las semillas. (-) no hubo muestras para analizar, (/) las semillas no respondieron al tratamiento de luz.

Tiempo de almacenamiento (años)	Temperatura constante				Temperatura alternante			
	Inicio		Máximo porcentaje		Inicio		Máximo porcentaje	
	1-2	6-7	1-2	6-7	1-2	6-7	1-2	6-7
<i>T. trifaria</i>	4	-	6-7	-	4	-	7	-
<i>N. coulteriana</i>	3-4	8	7-8	15	2-6	/	6-11	/
<i>M. plumosa</i>	4	-	8	-	4	-	7	-
<i>M. schiedeanum</i>	2-3	6	6-7	10	2	8	6	14
<i>M. rubrum</i>	2-3	-	6-7	-	2	-	7	-

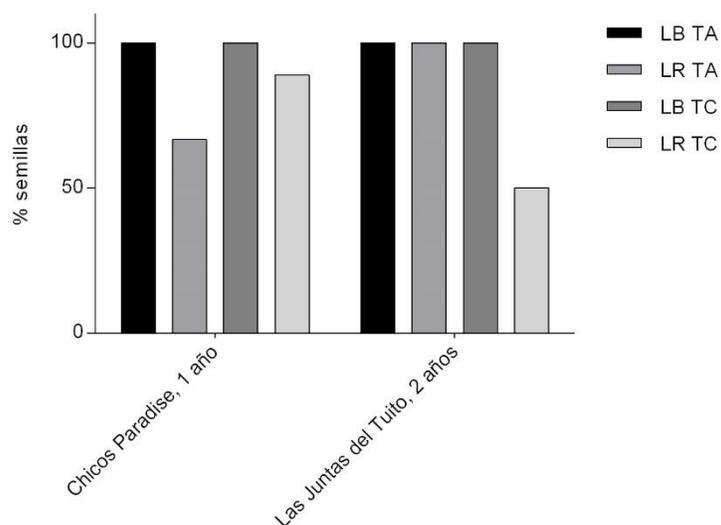
- **Capacidad germinativa en distintos tratamientos de luz y temperatura.**

Para semillas con uno y dos años de almacenamiento de *T. trifaria* se observó una disminución en el porcentaje de semillas germinadas en los tratamientos de luz roja con temperatura constante (25 °C) y alternante (15/25 °C), los que varían entre el 50 y 80%. Para semillas en tratamiento de luz blanca con temperatura constante y alternante el porcentaje de germinación fue >99% (Gráfica 1).

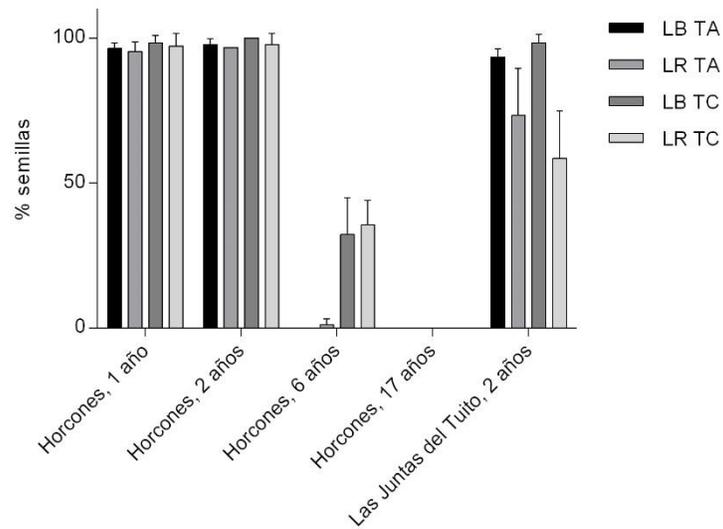
En el caso de *N. coulteriana*, las semillas con uno y dos años de almacenamiento tuvieron porcentajes $\geq 95\%$ en los tratamientos de luz y temperatura; sin embargo la muestra procedente de Las Juntas del Tuito con dos años de almacenamiento

disminuyó su porcentaje de germinación en cualquier tratamiento de temperatura y con luz roja. Por otra parte, para las semillas de la misma especie con seis años de almacenamiento, en temperatura alternante la respuesta germinativa se pierde con cualquier tipo de luz, teniendo porcentajes $\leq 50\%$ (Gráfica 2).

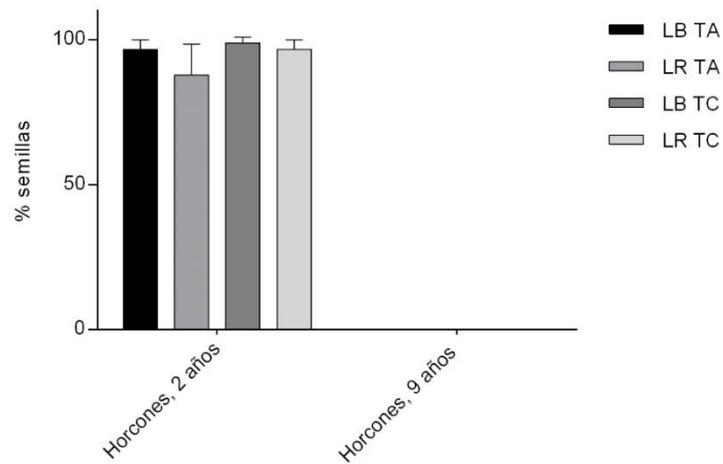
Para *M. plumosa*, *M. rubrum* y *M. schiedeanum* con uno, dos y siete años de almacenamiento, los porcentajes de germinación se mantuvieron en $\geq 95\%$ en ambos tratamientos de luz y temperatura (Gráficas 3, 4 y 5).



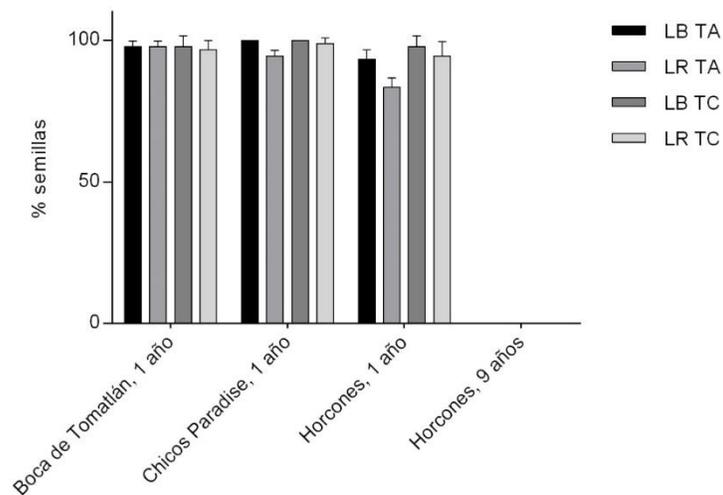
Gráfica 1. Porcentaje final de germinación para semillas de *T. trifaria* con diferentes años de almacenamiento y expuestas a diferentes tratamientos de luz (LB= luz blanca LR= luz roja) y temperatura (TA= temperatura alternante; TC= temperatura constante).



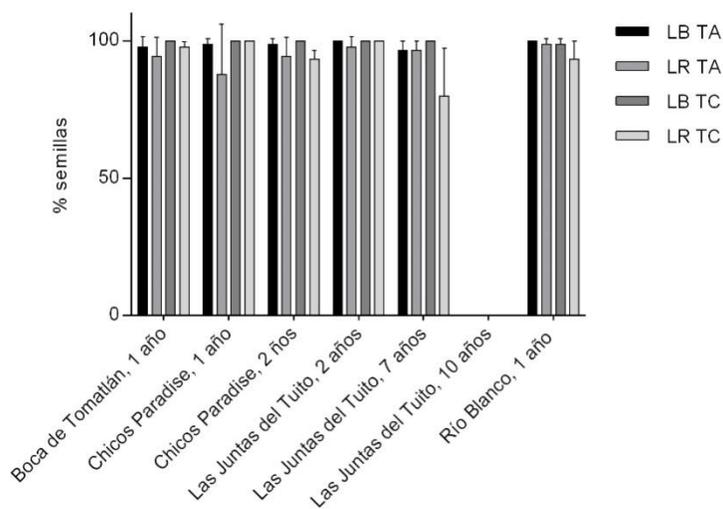
Gráfica 2. Porcentaje final de germinación para semillas de *N. coulteriana* con diferentes años de almacenamiento y expuestas a diferentes tratamientos de luz (LB= luz blanca LR= luz roja) y temperatura (TA= temperatura alternante; TC= temperatura constante). Las barras de error representan la DS.



Gráfica 3. Porcentaje final de germinación para semillas de *M. plumosa* con diferentes años de almacenamiento y expuestas a diferentes tratamientos de luz (LB= luz blanca LR= luz roja) y temperatura (TA= temperatura alternante; TC= temperatura constante).. Las barras de error representan DS.



Gráfica 4. Porcentaje final de germinación para semillas de *M. rubrum* con diferentes años de almacenamiento y expuestas a diferentes tratamientos de luz (LB= luz blanca LR= luz roja) y temperatura (TA= temperatura alternante; TC= temperatura constante). Las barras de error representan DS.



Gráfica 5. Porcentaje final de germinación para semillas de *M. schiedeanaum* con diferentes años de almacenamiento y expuestas a diferentes tratamientos de luz (LB= luz blanca LR= luz roja) y temperatura (TA= temperatura alternante; TC= temperatura constante). Las barras de error representan DS.



CAPITULO 2

Capacidad germinativa de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum* en función del tiempo de almacenamiento y procedencia al aplicar distintos tratamientos de luz y temperatura.

INTRODUCCIÓN

Se analiza el número de semillas contenidas por fruto para especies de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum*.

De lo analizado en el Capítulo 1 se tomaron aquellas muestras que pudieran ser sometidas a un análisis estadístico. Los resultados obtenidos de las semillas germinadas de las recolectas de *T. trifaria* y *M. plumosa* fueron descartadas debido a que éstas no contaban con semillas suficientes para ser analizadas ($n < 30$). En el caso de *M. rubrum* y *M. schiedeana*, éstas fueron fusionadas como *M. foeniculaceum* ya que presentan un comportamiento germinativo similar y a su vez respaldándonos en los estudios filogenéticos realizados por Tippery *et al.* (2011) dónde unifica a ambas especies. Se analizaron únicamente aquellas recolectas que pudieran ser comparadas entre sí para poder analizarlas estadísticamente en cuanto a número de semillas disponibles y procedencia en común. Los datos de *N. coulteriana* tomados del capítulo 1 no fueron modificados. Se establecieron 3 grupos de acuerdo al tiempo de almacenamiento (jóvenes, intermedias y viejas), descartando a las semillas viejas de los análisis estadísticos, por no presentar germinación.

Por último, se analiza el efecto que tuvo la procedencia de semillas jóvenes en la capacidad germinativa al aplicar distintas calidades de luz. El hecho de que utilizaran únicamente semillas jóvenes es para descartar el efecto que pudiera tener el tiempo de almacenamiento en la capacidad germinativa.

MATERIAL Y MÉTODO

- **Número de semillas por fruto**

Para estimar el número de semillas producidas por fruto de cada especie se contabilizó y registró el número total de semillas obtenidas de sesenta frutos de cada especie. La extracción de semillas se realizó sobre un vidrio de reloj bajo el microscopio estereoscópico con ayuda de agujas de disección, pinzas de relojero y un contador manual; de fondo se utilizó una hoja milimétrica para facilitar el conteo.

- **Germinación**

Al ser datos obtenidos de los resultados del capítulo uno, la metodología es la descrita en dicho Capítulo.

En este Capítulo se hizo una categorización con base en la capacidad germinativa de las semillas con distintos tiempos de almacenamiento (Tabla 4), la que se utilizó para referencia de la edad de las semillas.

Tabla 4. Categorías de edades formadas a partir de observaciones del comportamiento germinativo de las distintas muestras analizadas del Capítulo uno.

Categorías	Años de almacenamiento
Jóvenes	1 a 2
Intermedias	6 a 7
Viejas	≥9

- **Análisis**

El número de semillas por fruto de *M. foeniculaceum* y *N. coulteriana* se analizó con una *t* de Student. Se realizó una regresión de Cox para analizar el porcentaje de germinación diaria de las dos especies en función del tiempo de

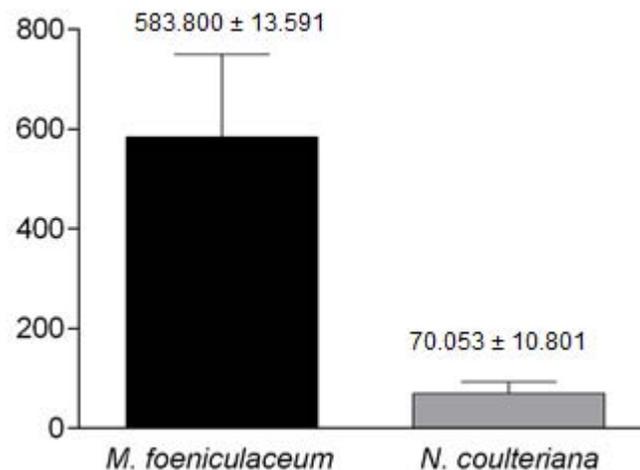
almacenamiento y distintos tratamientos de luz. Para analizar el porcentaje final de germinación en función de la procedencia y distintos tratamientos de luz se realizó un modelo lineal generalizado. Para la elaboración de las gráficas se utilizó el programa GraphPad PRISM Versión 6.01.

Para el análisis estadístico se utilizaron los programas XLSTAT Versión 2014.2.07 y JMP Versión 11.

RESULTADOS

- **Número de semillas por fruto**

El número de semillas por fruto difirió notablemente entre especies ($t=875.703$, $P<0.0001$), en *M. foeniculaceum* se producen más semillas que en *N. coulteriana* (Gráfica 6).



Gráfica 6. Número de semillas por fruto para *M. foeniculaceum* y *N. coulteriana*. La barra de error representa la DS.

- **Porcentaje de germinación acumulada por intervalos de tiempo y porcentaje final de germinación para semillas jóvenes e intermedias de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum*.**

Las semillas jóvenes de ambas especies inician su germinación entre los días dos y tres, y alcanzan el máximo porcentaje de germinación el día cuatro independientemente del tratamiento de temperatura (Figuras 21 A y C); el máximo porcentaje de germinación que alcanzaron ambas especies fue $\geq 90\%$. Al aplicar luz roja a semillas jóvenes de *M. foeniculaceum*, éstas no tuvieron diferencias en los porcentajes finales de germinación, se mantuvieron $\geq 99\%$ para ambos tratamientos de temperatura; sin embargo para *N. coulteriana* el porcentaje en luz roja disminuyó a aproximadamente 85% en ambos tratamientos de temperatura, el efecto de los tratamientos luz roja en ésta especie, disminuye significativamente la capacidad germinativa de las semillas ($\chi^2 = 15.1188$, $P=0.0001^*$), sin embargo, al aplicar temperatura alternante, la capacidad germinativa es significativamente distinto entre los distintos tratamientos de luz ($\chi^2 = 2.2603$, $P=0.1327$) (Figuras. 21 B y D).

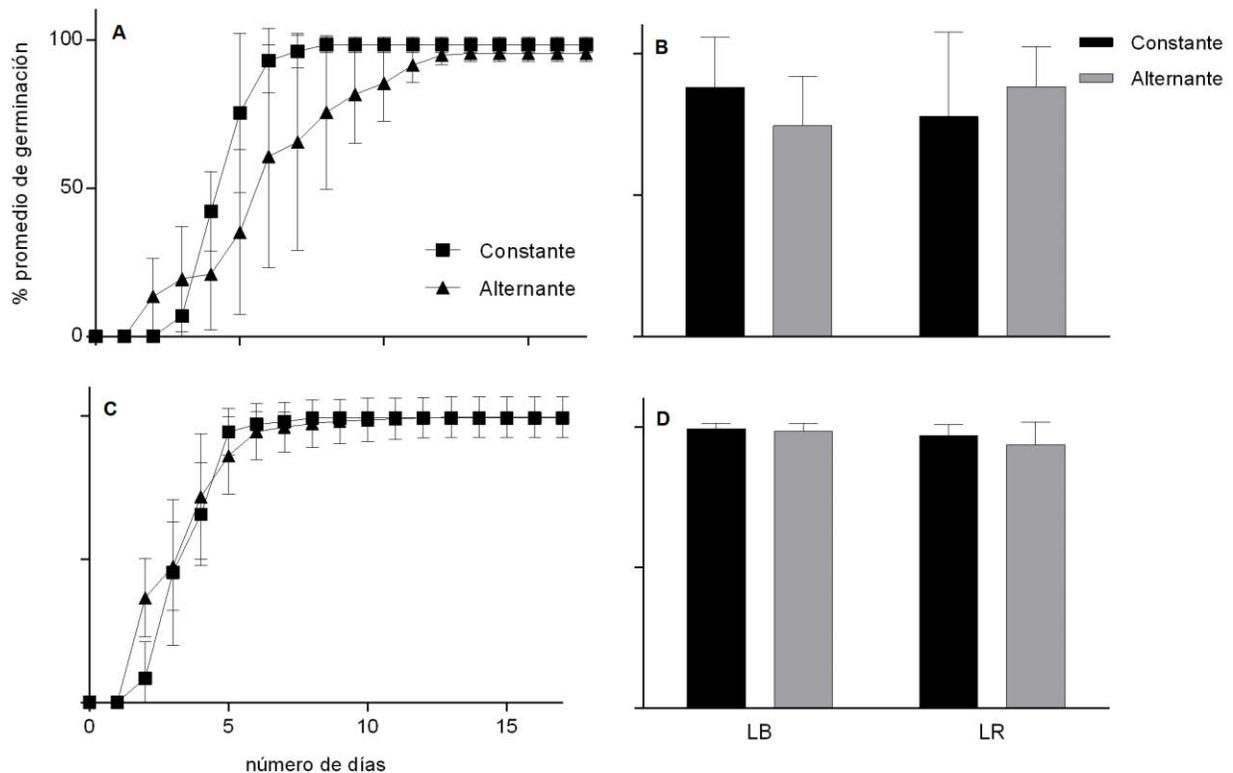


Figura 21. Porcentaje de germinación acumulada y porcentaje de germinación final para semillas jóvenes de *N. coulteriana* (A y B) y *M. foeniculaceum* (C y D), expuestas a diferentes tratamientos de temperatura y calidad de luz: LB= luz blanca LR= luz roja. Las barras de error representan la DS.

Las semillas de edad intermedia de ambas especies iniciaron la germinación entre los días siete y nueve y, por lo tanto, el tiempo en que llegan al máximo porcentaje de germinación se desplaza a comparación de las semillas jóvenes, reduciendo la velocidad significativamente en un 27% al hacer la comparación con semillas jóvenes ($\chi^2 = 4.4196$, $P=0.0355^*$) (Figuras 22 A y C). En luz blanca, el máximo porcentaje de germinación para *M. foeniculaceum* fue $\geq 96\%$ a diferencia de *N. coulteriana* que en temperatura constante el máximo porcentaje de germinación fue $\geq 35\%$; y en temperatura alternante este valor se redujo a 0% para ésta especie. Al aplicar luz roja *M. foeniculaceum* siguió presentando porcentajes de germinación final altos de 90-98%, sin embargo, de nuevo en *N. coulteriana* la luz roja disminuyó la capacidad germinativa teniendo porcentajes de aproximadamente 54% en temperatura constante y en temperatura alternante el porcentaje se vuelve a reducir a 0%, por lo que el efecto de la temperatura alternante reduce significativamente la capacidad germinativa de semillas intermedias de *N. coulteriana* ($\chi^2 = 3.9411$, $P=0.0471^*$) (Figuras 22 B y D).

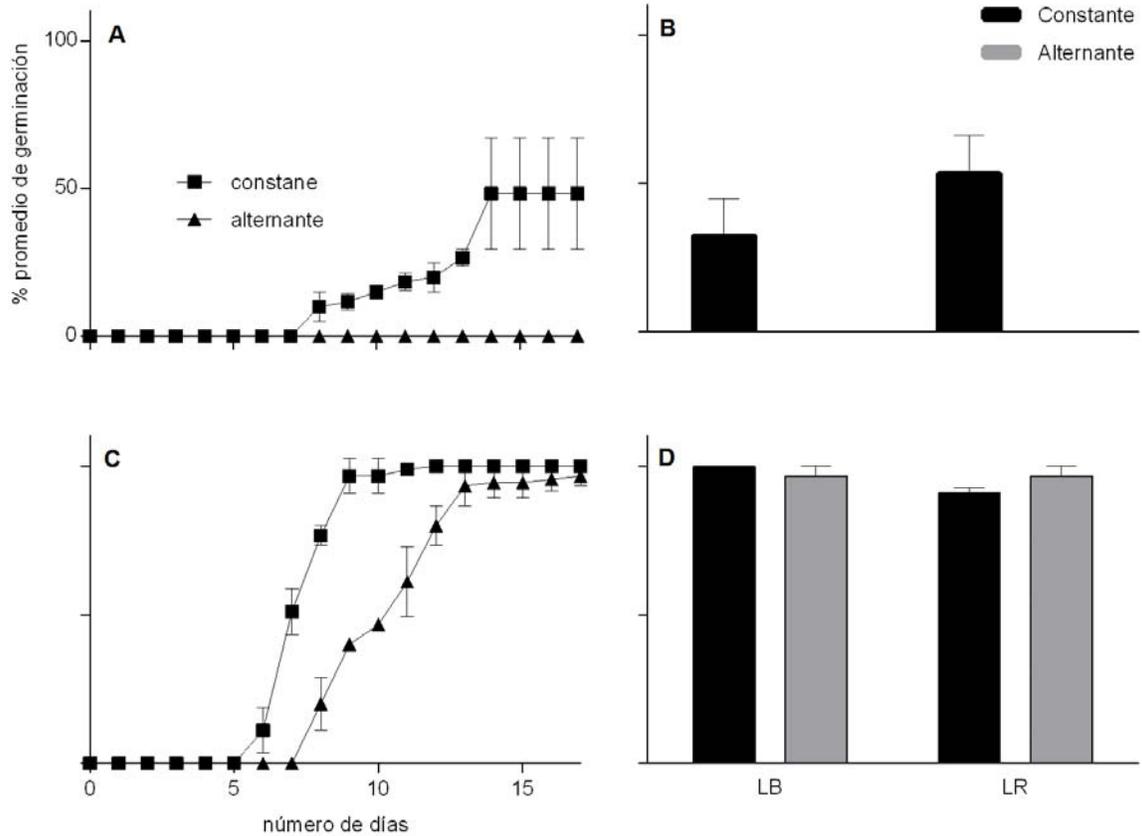


Figura 22. Porcentaje de germinación acumulada y porcentaje de germinación final para semillas intermedias de *N. coulteriana* (A y B) y *M. foeniculaceum* (C y D), expuestas a diferentes tratamientos de temperatura y calidad de luz: LB= luz blanca LR= luz roja. Las barras de error representan la DS.

Tabla 5. Modelo de regresión de COX que muestra el efecto de la especie, tratamiento de temperatura y tiempo de almacenamiento en el porcentaje de germinación acumulada de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum*. (*) Diferencias significativas.

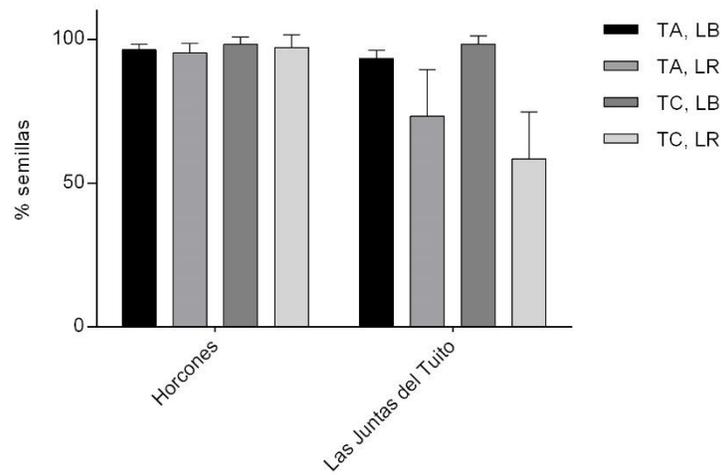
Variable	χ^2	P	Razón de riesgo	95% inferior-superior
Especie	2.8407	0.0919	1.8366	0.8722-2.9021
Temperatura	0.2053	0.6504	2.2731	1.0794-3.5849
Tiempo de almacenamiento	4.4196	0.0355*	1.1432	0.5431-1.8063

- **Porcentaje de germinación final en distintas poblaciones de semillas jóvenes de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum* al aplicar distintos tratamientos de luz.**

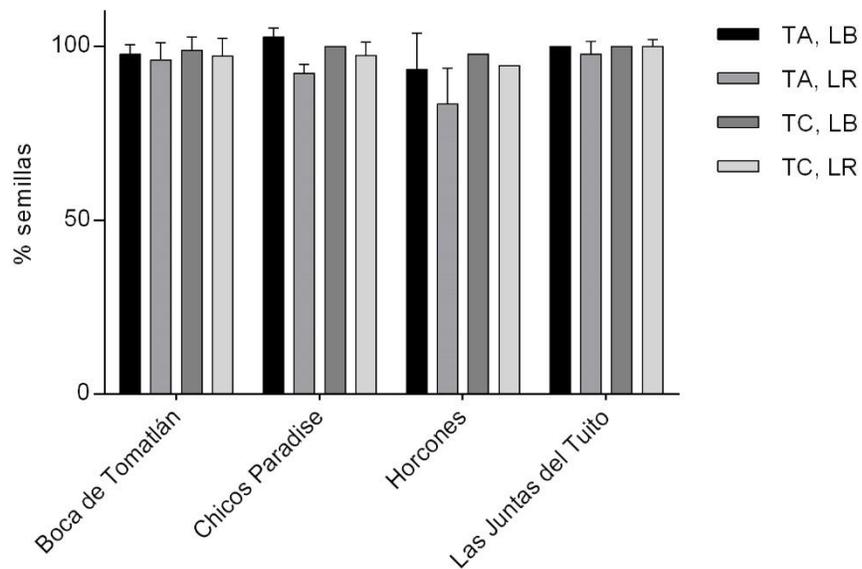
Encontramos que el tratamiento de Luz Roja disminuye la capacidad germinativa de las semillas de la población Las Juntas del Tuito de *N. coulteriana*, ya que germinan 90% de semillas en luz blanca y 71% en luz roja. Para esta misma especie la población de Horcones mantiene porcentajes $\geq 95\%$ en ambos tratamientos de luz (Gráfica 7). Esto nos indica que hay diferencias significativas entre las distintas poblaciones entre las especies de *N. coulteriana* al aplicar distintos tratamientos de luz ($\chi^2=11.6231$, $P=0.0007^*$).

M. foeniculaceum no presentó diferencias que pudieran adjudicarse a la procedencia, manteniendo porcentajes $\geq 90\%$ en ambos tratamientos de luz (Gráfica 8).

No hay diferencias significativas en el efecto que tienen los tratamientos de temperatura en la capacidad germinativa para ninguna especie ni población ($\chi^2=2.5327$, $P=0.1115$), y tampoco en la interacción que pueda tener con la calidad de luz ($\chi^2=0.306$, $P=0.5801$).



Gráfica 7. Porcentaje final de germinación para semillas jóvenes de *N. coulteriana* de distintas poblaciones, expuestas a diferentes tratamientos de temperatura ((TA= temperatura alternante; TC= temperatura constante). y calidad de luz (LB= luz blanca LR= luz roja). Las barras de error representan la DS.



Gráfica 8. Porcentaje final de germinación para semillas jóvenes de *M. foeniculaceum* de distintas poblaciones, expuestas a diferentes tratamientos de temperatura (TA= temperatura alternante; TC= temperatura constante) y calidad de luz (LB= luz blanca LR= luz roja). Las barras de error representan la DS.

CAPITULO 3



Germinación *in situ* de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum*.

INTRODUCCIÓN

Para conocer la capacidad germinativa de las semillas *in situ* de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum* se llevó a cabo un experimento piloto dónde se sembraron semillas sobre rocas a lo largo del río en las localidades de: Las Juntas del Tuito, Horcones y Boca de Tomatlán, Pto. Vallarta, Jal.

Se pretendía encontrar diferencias en la capacidad germinativa de las semillas de acuerdo a su procedencia, como resultado de adaptaciones al medio ambiente, o si había diferencias en la capacidad germinativa de las semillas sembradas en cada localidad de acuerdo a las características ambientales de cada una de las localidades. Además de la capacidad germinativa de las semillas, se hizo un seguimiento del establecimiento de las plantas después de dos meses de la siembra.

Este es el primer experimento de germinación *in situ* para *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum*, arroja datos preliminares del comportamiento germinativo de las semillas y nos da una idea de éxito de establecimiento que tienen en los ríos dónde habitan.

MATERIAL Y MÉTODO

- **Germinación y establecimiento**

De las recolectas realizadas en la temporada 2013-2014, fueron seleccionados aleatoriamente 10 frutos de *N. coulteriana* y 10 de *M. foeniculaceum* de las poblaciones Las Juntas del Tuito, Horcones y Boca de Tomatlán, teniendo un total de 6 muestras. De los 10 frutos de cada muestra fueron extraídas todas las

semillas y se colocaron dentro de tubos eppendorf para ser transportadas al sitio de estudio.

El 8 de Enero del 2015 se llevaron a cabo las siembras en los ríos en las distintas localidades antes mencionadas. En cada una se seleccionaron al azar tres rocas en el río en las que se marcaron 6 cuadros asignados para cada una de las muestras. Además se hizo una segunda replica en cada localidad a 600 m del primer punto de germinación, se seleccionaron otras 3 rocas de manera aleatoria para la siembra de semillas siguiendo el mismo procedimiento (Figura 23).

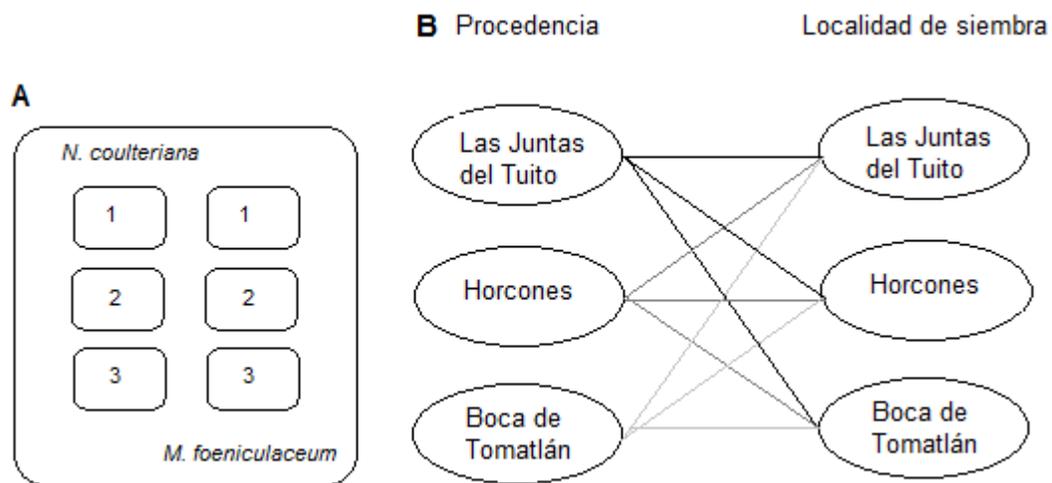


Figura 23. (A) Cuadros marcados en cada una de las rocas dónde fueron sembradas las semillas. La numeración uno, dos y tres corresponde a cada una de las tres localidades (Las Juntas del Tuito, Horcones y Boca de Tomatlán, respectivamente). (B) Procedencia de las semillas para las muestra de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum* y las localidades dónde fueron sembradas durante el experimento de germinación *in situ*.

La roca seleccionada se humedeció lo suficiente para adherir las semillas, en cada cuadro se colocaron aproximadamente 200 semillas y se dejó secar la roca al aire libre durante dos minutos para lograr que las semillas se adhirieran fuertemente a ella. Una vez seca la roca, se introdujo en el río y se marcó la ubicación para su posterior revisión (Figura 24).



Figura 24. Roca sumergida en el río con los cuadros marcados y semillas sembradas en cada cuadro.

Las semillas se revisaron cada dos días durante 10 días para contar el número de semillas que permanecían en la roca y el número de semillas germinadas. Para revisar las semillas en los ríos se utilizó un microscopio estereoscópico con cabeza móvil, el cual nos permitió adaptarlo a un tubo de PVC con el diámetro adecuado para la entrada del cabezal, y así poder transportarlo dentro del río; además el tubo de PVC nos permitió apoyarnos en la arena y rocas del fondo del río para hacer las observación y nos dio un rango más amplio de observación al poder ajustar la distancia del microscopio a la roca (Figura 25). También se requirió de una lámpara para iluminar el área observada y un pincel para retirar los sedimentos que pudieran juntarse sobre las semillas.



Figura 25. Adaptación de microscopio estereoscópico con un tubo de PVC para poder observar las rocas dentro del río. (Tomada por: Margarita Collazo)

Es importante mencionar que el color de la roca debe contrastar con el color de las semillas, ya que por el tamaño de las semillas y la mala calidad de luz, resulta difícil ver las semillas sobre las rocas.

Dos meses después de la siembra, el 18 de Marzo del 2015, regresamos a la zona de siembra y buscamos las rocas dentro del río para hacer un conteo de las plantas que hubieran logrado establecerse.

RESULTADOS

El inicio de la germinación para la mayoría de las semillas fue entre los días cinco y siete después de la siembra. Las semillas sembradas en el río de la localidad Boca de Tomatlán comenzaron a germinar al día cinco, siendo las primeras en germinar. Las semillas sembradas en las localidades Horcones y Las Juntas del Tuito tardan en comenzar la germinación entre cinco y siete días; también se observó que la velocidad de germinación fue más lenta en ambas localidades a diferencia de Boca de Tomatlán (Figura 26).

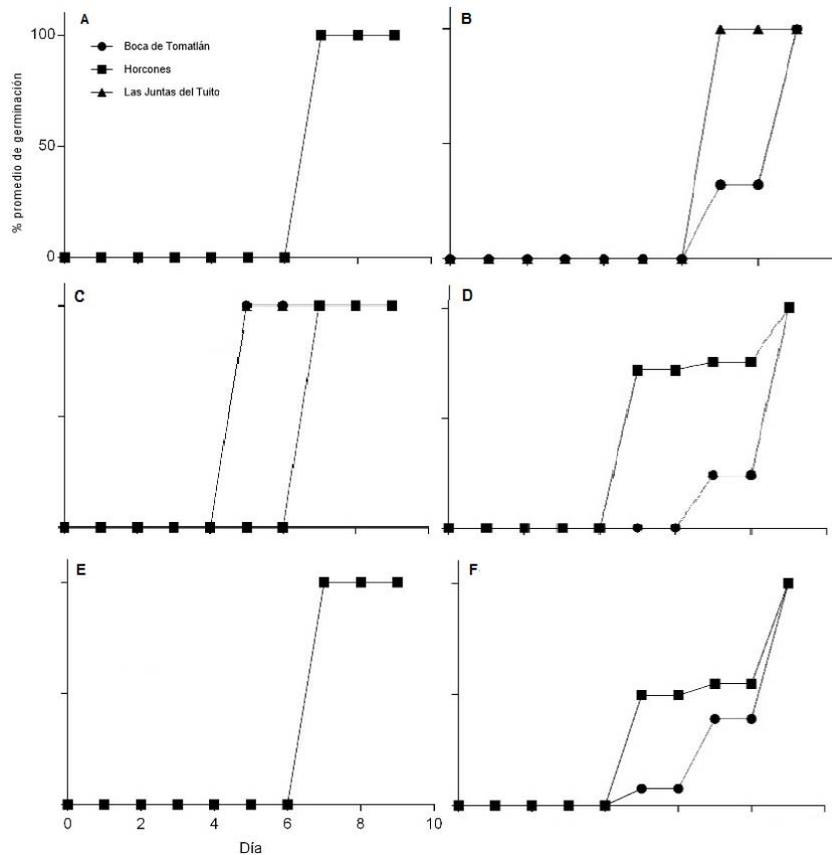


Figura 26. Semillas de (A) *N. coulteriana* y (B) *M. foeniculaceum*, procedentes de la localidad Las Juntas del Tuito, (C) *N. coulteriana* y (D) *M. foeniculaceum*, procedentes de la localidad Horcones y (E) *N. coulteriana* y (F) *M. foeniculaceum*, procedentes de la localidad Boca de Tomatlán.

La capacidad germinativa de las semillas hasta el día diez fue mayor en la localidad de Boca de Tomatlán que en las localidades Las Juntas del Tuito y Horcones. En el caso de *N. coulteriana* se reportaron los menores porcentajes de germinación y también fueron aquellas que se perdieron en mayor número y con mayor facilidad, a diferencia de las semillas de *M. foeniculaceum* (Figura 27).

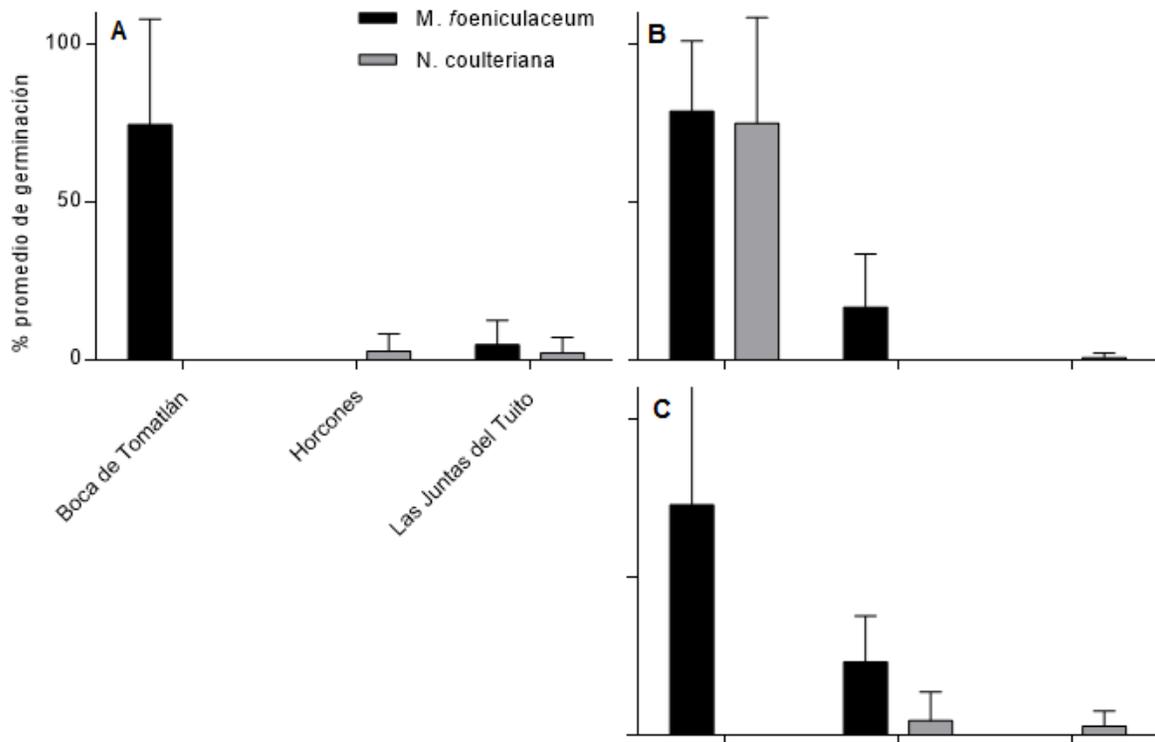


Figura 27. Capacidad germinativa de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum* procedentes de distintas localidades, (A) semillas germinadas en Las Juntas del Tuito, (B) semillas germinadas en Horcones y (C) semillas germinadas en Boca de Tomatlán.

Se observó una gran pérdida de semillas en todas las localidades. En Boca de Tomatlán llegó a ser >85% y en las localidades de Las Juntas del Tuito y Horcones fue entre el 60 y 90% (datos no mostrados).

Dos meses después (18 de Marzo del 2015) únicamente se encontraron 4 plantas de todas las semillas que fueron sembradas en Enero; sin embargo observamos que el tamaño que alcanzan en dos meses es mucho mayor (2.5 cm) que el que alcanzan en laboratorio al mes y medio (2mm) (Figura 28).

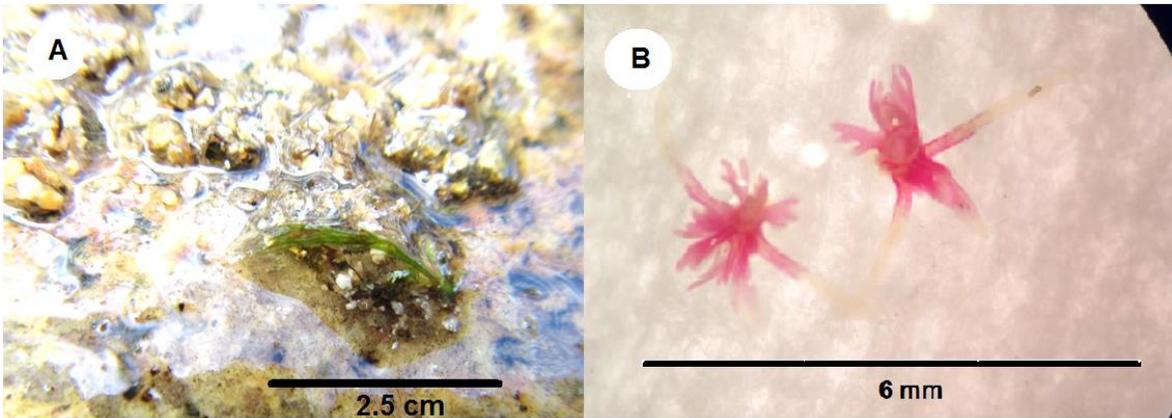


Figura 28. Plántulas de *M. foeniculaceum* (A) germinada *in situ* con dos meses de edad y (B) germinada *ex situ* con mes y medio de edad.

DISCUSIÓN GENERAL

- **Número de semillas**

El número de semillas por fruto es una característica que varía entre especies. En *M. foeniculaceum* la producción de semillas es mucho mayor que las que se producen en *N. coulteriana*. Sin embargo, se ha visto que la cantidad de semillas que se va a producir en frutos de la misma especie cambia año con año (Tabla 6) para las diferentes especies (Philbrick y Novelo, 1995, 1997, Reyes-Ortega 2009 y Luna, 2010).

Estudios realizados por Luna (2010) han demostrado que la producción de las semillas con relación al número de óvulos presentes en *M. rubrum* y *M. schiedeanaum* es sumamente bajo (<50%), al igual que los resultados obtenidos por Philbrick (1984) para *Podostemum ceratophyllum*, sin embargo el número de semillas que pueden contener los frutos es muy alto. Los estudios de Philbrick y Luna fueron comparados y no presentan similitudes en los porcentajes de semillas producidas y el número de óvulos presentes, lo que sugiere que el número de semillas depende de la disponibilidad de recursos de la planta madre de acuerdo a las condiciones ambientales en cada temporada de producción y en los distintos años según lo reportado por los autores (Philbrick y Novelo, 1997; Reyes-Ortega 2009; Luna, 2010).

Tabla 6. Diferentes estudios que evalúan el número de semillas producidas en distintos años. **M. rubrum* y *M. schiedeanaum* se manejan como especies distintas en estos estudios.

Especie	Año	Número de óvulos por fruto	Número de semillas por fruto	Referencia
<i>M. rubrum</i>	2005	-	936 ± 217.6	Reyes-Ortega, 2010
	2007-2008	920.6 ± 2000.045	313.38 ± 287.54	Luna, 2010

		996 ± 25	671 ± 29	Philbrick y Novelo, 1997
<i>M. schiedeana</i>	2005	-	682 ± 175.01	Reyes-Ortega, 2010
	2007-2008	600.1 ± 135.213	242 ± 228.54	Luna, 2010
	1997	608 ± 43	361 ± 95	Philbrick y Novelo, 1997
<i>N. coulteriana</i>	1997	64 ± 30	30 ± 35	Philbrick y Novelo, 1997

La gran cantidad de semillas producidas por especies de Podostemaceae refleja la importancia que éstas tienen para su reproducción y el mantenimiento de poblaciones (Philbrick y Novelo, 1995). Como hemos visto en este trabajo, la capacidad germinativa de las semillas es >95%, sin embargo la gran cantidad de semillas producidas puede ser un método de compensación a la gran cantidad de semillas perdidas en los ríos y el bajo porcentaje de reclutamiento que se mostró en los experimentos de germinación *in situ* (3 plántulas de 21,600 semillas sembradas), asegurando así el mantenimiento de la población.

Observaciones hechas en campo en la localidad de Boca de Tomatlán sugieren que hay una gran pérdida de semillas y plántulas ocasionado por las fuertes corrientes y posiblemente por depredación, ya que se observó una gran cantidad de invertebrados viviendo sobre las rocas (Figura 29); sin embargo sería pertinente llevar a cabo un estudio de depredación en futuras investigaciones para poder afirmar lo antes dicho.



Figura 29. En la localidad de Boca de Tomatlán se observó una gran población de moluscos sobre las rocas.

Para la mayoría de las semillas sembradas en este experimento, la corriente resultó ser demasiado fuerte y ocasionó que se perdieran grandes cantidades de semillas, por lo que se propone aumentar el tiempo de secado del mucilago para que la semilla se adhiera con fuerza a la roca, y si aun así sigue habiendo altos porcentajes de pérdida de semillas, entonces el mucilago no es suficiente para asegurar que la semilla quede adherida a la roca.

Se observó que al momento en que emerge la radícula y se alargan los cotiledones, la plántula tiene que fijarse rápidamente con sus pelos radiculares a la roca, antes de que sea arrastrada por la corriente, ya que la testa no es lo suficientemente fuerte para retener a la plántula durante mucho tiempo (Figura 30) (Philbrick, 1984).



Figura 30. La testa permanece adherida a la roca a través del mucilago mientras la plántula crece. Una vez que los cotiledones se alargan, éstos se doblan para que las raíces adventicias entren en contacto con la roca para poderse fijar (Tomado de Philbrick, 1984).

- **Características generales de la capacidad germinativa de Podostemaceae.**

Son semillas fotoblásticas positivas. En cuanto a los porcentajes de germinación en condiciones *ex situ*, éstos siempre son muy altos y el tiempo que tardan en comenzar a germinar es relativamente corto, por lo que no presentan ningún tipo de latencia (Philbrick y Novelo, 1994 Reyes-Ortega, 2010; Luna 2010; Castillo, 2013).

Anteriormente, algunos autores habían propuesto que la germinación realizada en condiciones controladas podía reflejar el comportamiento germinativo en los ríos (Philbrick y Novelo, 1994 Reyes-Ortega, 2010; Luna, 2010; Castillo, 2007); sin embargo, al realizar las germinaciones *in situ* con semillas jóvenes, vemos que el tiempo que tarda en comenzar la germinación puede tener un retraso de cinco a ocho días y el tiempo en que termina la germinación es incierto (>10 días), a diferencia de condiciones controladas dónde estas mismas semillas comienzan a germinar entre los día dos y cuatro, alcanzando un máximo porcentaje de germinación entre los días seis y ocho. Seguramente el retraso en la germinación que presenta en condiciones *in situ* se debe a que las semillas deben ser expuestas durante más tiempo a cierta calidad de luz y temperatura, mismas que no son una condición constante en los ríos, sería importante recabar mediciones de calidad de luz y temperatura en los ríos para hacer una comparación más precisa.

- **Efecto de la temperatura en la germinación.**

Para muchas de las plantas acuáticas la temperatura óptima para la germinación es de $22.4 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ y tienen mayores porcentajes de germinación en temperaturas constantes (Pons y Schroder, 1986). En el caso de las Podostemaceae, la germinación de las semillas en el medio ambiente se lleva a cabo en los meses de Junio a Julio en la primavera tardía y verano temprano (en las localidades de

estudio) donde la temperatura oscila entre los 25-30°C (Reyes-Ortega, 2010). Estas temperaturas resultan ser las óptimas para la germinación, reafirmando lo propuesto por Reyes-Ortega (2010) de que la temperatura ideal para obtener el máximo porcentaje de semillas germinadas y una mayor velocidad de germinación es en temperaturas constantes de 20 y 30°C, mientras que en temperaturas menores a 15 °C disminuye significativamente el porcentaje de germinación.

En este trabajo se observó que en semillas jóvenes, al aplicar temperatura constante (25 °C), el inicio de la germinación ocurre antes de los cuatro días y se alcanzan altos porcentajes de germinación para todas las especies. Para semillas intermedias, al aplicar el mismo tratamiento de temperatura, el inicio de la germinación se retrasa hasta cuatro días para *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum*, lo que podría sugerir que el envejecimiento de la semilla conlleva un retraso o disminución en la respuesta germinativa para las semillas intermedias, ya que requieren de más tiempo para reparar estructuras y restaurar el metabolismo del embrión para que la germinación culmine.

En tratamientos de temperatura alternante (15/25 °C) en semillas jóvenes no difiere mucho el tiempo de inicio de germinación con el tratamiento de temperatura constante, y de igual manera se alcanzaron altos porcentajes para todas las especies. Sin embargo, al aplicar el tratamiento de temperatura alternante a semillas intermedias de *M. foeniculaceum* hubo una disminución en la respuesta germinativa de ambas especies; y para *N. coulteriana*, no hay germinación en temperaturas alternantes, a diferencia del tratamiento de temperatura constante donde el porcentaje fue $\leq 50\%$. Por lo que podemos decir que las semillas de *N. coulteriana* son más susceptibles al envejecimiento que las de *M. foeniculaceum* y que las temperaturas alternantes pueden llegar a influir en la respuesta germinativa de las semillas.

En el caso de *T. trifaria* y *M. plumosa* al parecer no hay ningún efecto de los tratamientos de temperatura sobre la respuesta germinativa de las semillas

jóvenes, ya que éstas especies presentan una respuesta germinativa similar al de las especies antes mencionadas en cuanto al inicio de la germinación, el tiempo que alcanzan el máximo porcentaje de germinación y el porcentaje final de semillas germinadas. Estos datos deben tomarse con precaución ya que no se pudieron analizar muestras representativas para estas dos especies.

En el experimento de temperatura alternante se contemplan los cambios de temperatura en el día y la noche, lo que nos proporciona un intervalo parecido al que están en su medio natural. Existe un intervalo de temperatura llamado “ventana térmica” que comprende las temperaturas máximas, mínimas y óptimas y letales para la germinación (Taiz y Zeiger, 2010; Orozco-Segovia y Sánchez Coronado, 2013). La disminución en la velocidad de germinación y capacidad germinativa de semillas intermedias al aplicar temperatura alternante puede deberse a que el envejecimiento ocasiona que la ventana térmica varíe sus límites entre semillas jóvenes y con algunos años de almacenamiento. En el caso específico de *N. coulteriana* con 6 y 7 años de almacenamiento, las temperaturas menores a 25°C se vuelven inhibitorias para la germinación y es por ello que no hay respuesta germinativa para las semillas de esa edad.

- **Efecto de la luz en la germinación**

El hecho de que no haya germinación en los tratamientos de luz RL y O indica que las semillas son fotoblásticas positivas, dato que ha sido corroborado en investigaciones previas (Philbrick y Novelo, 1994; Castillo, 2007; Reyes-Ortega, 2010).

Se demostró que la LB promueve la germinación de *T. trifaria*, *N. coulteriana*, *M. plumosa* y *M. foeniculaceum*. La LR disminuye la respuesta germinativa en las semillas de *N. coulteriana* en el porcentaje de germinación de semillas jóvenes en temperatura alternante a 85% y en semillas intermedias a 54% y 0% para temperatura constante y alternante respectivamente; en *T. trifaria* también hay una disminución en el porcentaje de germinación de semillas jóvenes (50-60%) al

aplicar LR; para *M. plumosa* y *M. foeniculaceum* no hay diferencias en el porcentaje de germinación al aplicar LR.

La disminución en la capacidad germinativa en los distintos tratamientos de temperatura y al aplicar LR ($\geq 89\%$) en semillas de *N. coulteriana* ya se había reportado por Castillo (2007) en semillas con 6 meses de almacenamiento, y propone que las semillas más jóvenes responden mejor a la longitud de onda roja y que conforme van envejeciendo ajustan sus requerimientos a longitudes de onda blanca, a diferencia de las semillas con tratamientos de LB que tienen $\geq 93\%$ de semillas germinadas. Evidentemente los tratamientos de LR disminuyen la respuesta germinativa de las semillas de *N. coulteriana* sin importar su edad. Por lo que podemos decir que la calidad de luz es un factor determinante para la germinación de *N. coulteriana* a diferencia de *M. foeniculaceum* que responde de manera positiva en LB y LR.

Podría ser que la LR, por su bajo flujo fotónico retrase la velocidad de germinación y que en realidad se necesiten de más días de estar expuestas a LR para alcanzar el máximo porcentaje de germinación. Sería prudente llevar a cabo una germinación donde las semillas colocadas dentro de la caja de acrílico para crear la LR sean revisadas al menos una semana después para ver si la capacidad germinativa aumenta con el tiempo o si realmente la LR disminuye la capacidad germinativa.

- **Efecto del tiempo de almacenamiento.**

Las semillas de *N. coulteriana*, *M. plumosa* y *M. foeniculaceum* con ≥ 9 años almacenadas pierden completamente la viabilidad independientemente de los tratamientos de luz y temperatura que se apliquen.

Sin embargo, el efecto del tiempo de almacenamiento redujo la capacidad germinativa para semillas de *N. coulteriana* y *M. rubrum* con seis y siete años de almacenamiento.

Para *M. foeniculaceum* el tiempo de almacenamiento parece que solo influye en el inicio de la germinación y el tiempo que tarda en alcanzar el máximo porcentaje de germinación, independientemente de su procedencia; sin embargo siempre alcanza un porcentaje final $\geq 90\%$. Este comportamiento resulta extraordinario ya que Reyes-Ortega (2010) reportó que para semillas con tres años de almacenamiento de *M. rubrum* y *M. schiedeanum* el porcentaje final disminuyó a 87% y 2% respectivamente.

Para *N. coulteriana* el almacenamiento disminuyó la capacidad germinativa en mayor proporción que en *M. foeniculaceum* ya que los porcentajes son $\leq 54\%$ e incluso se pierde la respuesta germinativa. La caída en la germinación mientras va pasando el tiempo ya había sido reportada por Castillo (2007) en semillas con seis meses de almacenamiento en *N. coulteriana*.

En cuanto a la clasificación de las semillas en recalcitrantes, ortodoxas o intermedias, se ha reportado una naturaleza ortodoxa para las semillas de *T. trifaria*, *M. plumosa*, y *M. foeniculaceum* por el tiempo que permanecen viables (Philbrick y Novelo 1994; Reyes, 2010) y recalcitrante para *N. coulteriana* por el rápido deterioro de las semillas (Castillo, 2013).

En este estudio proponemos que todas las semillas estudiadas son ortodoxas, pero que ésta característica va más allá de las propiedades de almacenamiento o persistencia en el medio que ésta les pueda dar. Creemos que la baja actividad metabólica (característica de las ortodoxas), la ausencia de latencia y el mucílago que se forma en la semilla al entrar en contacto con el agua, son características que en conjunto hablan de la dinámica que tienen las semillas en su medio ambiente.

Como se ha descrito, el mucílago tiene la propiedad de promover la imbibición de las semillas por su capacidad de retención de agua (Reyes-Ortega, 2010; Western, 2011); y en el caso de Podostemaceae es una estructura vital para que las semillas se adhieran a las rocas (Philbrick, 1984; Philbrick y Novelo, 1995). La latencia, por otra parte, es un estado de reposo profundo que a pesar de recibir las

condiciones ambientales adecuadas para germinar, la semilla no germinará por diversas causas (Bewley, 1997; Taiz y Zeiger, 2010; Baskin y Baskin 2004).

Con lo anterior, podemos proponer que debido a que las semillas de Podostemaceae no presentan latencia, es necesario un mecanismo para que la hidratación del mucilago no promueva la germinación y provoque que la semilla germine en condiciones desfavorables. Por ello, para que el mucilago fije la semilla a la roca sin promover la germinación, es necesario que la actividad metabólica de la semilla sea muy baja lo cual implicará que la semilla necesite estar durante más tiempo en contacto con las condiciones óptimas para poder germinar.

Otra característica que nos permite clasificar a las semillas de Podostemaceae como ortodoxas, es la capacidad de ser almacenadas en muy bajas temperaturas sin causar daño celular (Berjark y Pammenter, 2014; Philbrick, 1984) ya que se ha visto que pueden permanecer almacenadas a temperaturas de -12°C sin perder la viabilidad al menos durante 2 meses (Philbrick, 1984). Además se llevó a cabo un experimento piloto donde se colocaron las semillas durante 24 y 48 hrs a -10°C y después se pusieron a germinar, que aunque es poco tiempo, se observó que los porcentajes de germinación fueron iguales a los de las semillas sin almacenar en temperaturas bajas; sin embargo sería recomendable comenzar con protocolos de almacenamiento de las semillas aquí estudiadas en bajas temperaturas durante periodos considerablemente largos (>10 años) para descartar el daño celular por frío.

- **Capacidad germinativa.**

Con el presente trabajo e investigaciones previas (Philbrick y Novelo, 1994; Castillo, 2007; Reyes-Ortega 2010; Luna, 2010), se ha demostrado que *M. foeniculaceum* es una especie en la cual la calidad de LB y LR, los tratamientos de temperatura (constante y alternante) y el tiempo de almacenamiento (no mayor a 7 años), son factores que no disminuyen la capacidad germinativa de las semillas.

De lo contrario, para *N. coulteriana* hay una alta sensibilidad a los factores de LR, temperatura alternante y tiempo de almacenamiento, ya que disminuye considerablemente sus porcentajes de germinación en cada uno de ellos. En el caso de *T. trifaria*, parece que la LR también disminuye la capacidad germinativa, sin embargo se deben realizar experimentos con muestras representativas para confirmar éstos resultados.

- **Capacidad germinativa para distintas poblaciones de *N. coulteriana* *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum* (experimento *ex situ*).**

No se observaron diferencias en la capacidad germinativa de distintas poblaciones de *M. foeniculaceum*. Sin embargo para *N. coulteriana*, en la población de Las Juntas del Tuito se tuvo una disminución en la capacidad germinativa al aplicar LR. No se sabe exactamente cuáles puedan ser las causas de este comportamiento en la población de Las Juntas del Tuito, sin embargo podría deberse a la exposición de la planta madre a la sombra ocasionada por el dosel que cubre el río en esa localidad, y que ésta tenga un efecto en la respuesta del fitocromo.

- **Germinación *in situ***

La naturaleza del experimento de germinación *in situ* no nos permitió obtener datos que fueran representativos para llevar a cabo un análisis estadístico. Sin embargo a partir de éste, ahora contamos con mayor conocimiento de todas las variables que se puedan presentar y así en un futuro, poder diseñar un protocolo que nos permita llevar a cabo el análisis de la capacidad germinativa e incluso comenzar a estudiar interacciones ecológicas que las semillas puedan tener en los ríos, por lo que consideramos que este primer experimento es muy valioso para futuras investigaciones de las Podostemáceas en su medio ambiente.

A pesar de la gran pérdida de semillas en los ríos, consideramos que la capacidad germinativa de las semillas *in situ* sigue siendo alta; únicamente el tiempo que tarda en iniciar y terminar la respuesta germinativa se aplaza considerablemente a

comparación de los experimentos de germinación *ex situ*, este efecto puede deberse a las condiciones cambiantes que se presentan en el río. Los bajos porcentajes de germinación en la localidad Las Juntas del Tuito puede deberse a la calidad de luz que llega a las plantas debido a que en esa localidad hay vegetación arbórea muy cercana a las orillas del río que forma un dosel que impide pasar la luz (Figuras 31 y 32).



Figura 31. Vista aérea del Arroyo de Rincón, localidad Las Juntas del Tuito. La vegetación riparia que se observa crea un dosel sobre el río y disminuye la calidad de luz que llega a las plantas que están por debajo.



Figura 32. Vista a nivel de suelo del Arroyo de Rincón, localidad Las Juntas del Tuito. La vegetación riparia que se observa crea un dosel sobre el río y disminuye la calidad de luz que llega a las plantas que están debajo (Tomada por Ricardo Wong).

Al momento en que la luz pasa por las hojas de los árboles tendrá una reducción en su intensidad, además de cambios en su calidad teniendo una mayor longitud de onda que se distribuye en los rangos azul-violeta, influyendo en la recepción del fitocromo (Figura 33) (Shirley, 1929). Si la luz al pasar por las hojas de los árboles pierde las características que las semillas requieren para germinar, éstas tendrán una menor respuesta al estímulo luminoso (calidad y cantidad) e incluso no les permite a las plántulas tener un desarrollo óptimo (Vázquez-Yanes *et al.*, 1990; Bewley y Black, 1994).

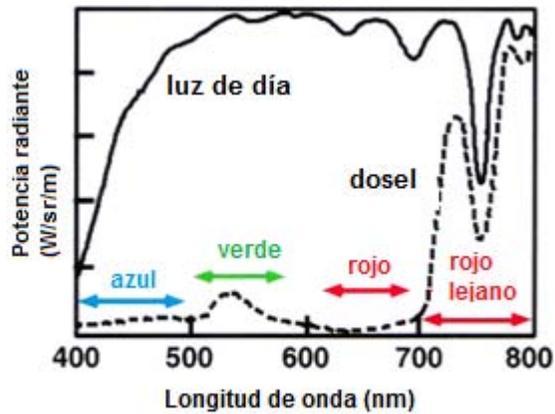


Figura 33. Distribución del espectro fotónico en un rango de longitud de onda entre 400-800 nm. (A) luz de día, (B) luz bajo la sombra de un dosel (Tomado de Neff *et al.*, 2000).

Con excepción de la localidad de Las Juntas del Tuito, no se ha observado la formación de un dosel cerca del río en ninguna de las localidades (Figuras 34 y 35); la mayoría de los ríos están rodeados por parcelas de siembra o casas de los pobladores. Se propone que ésta característica tiene un gran efecto ecológico en la distribución o en la presencia de las plantas en el sitio.

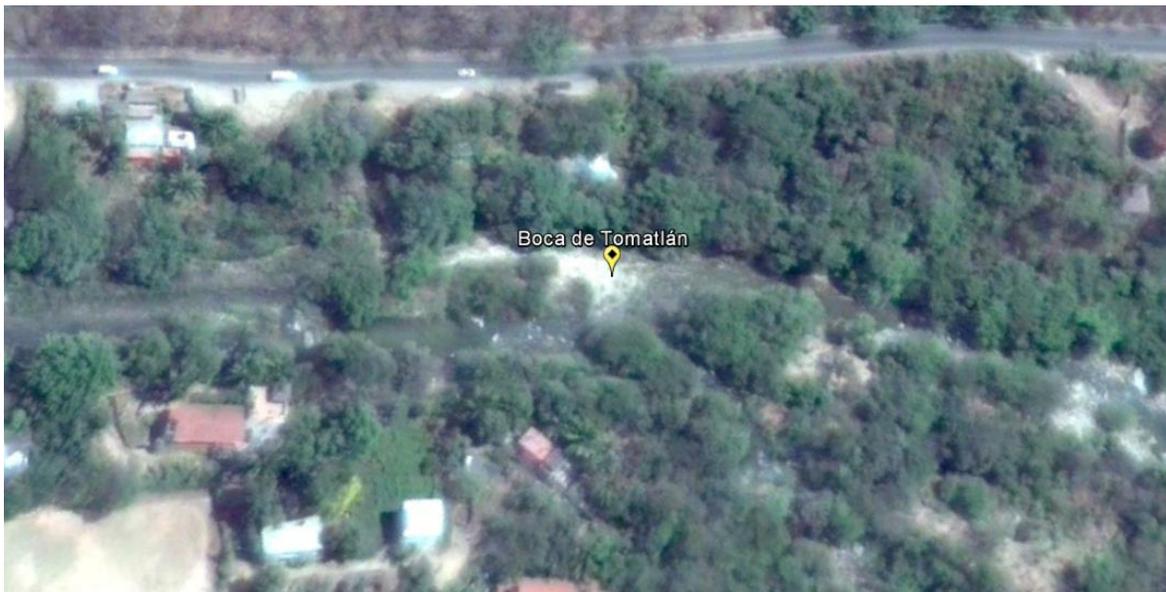


Figura 34. Vista aérea del Río Horcones, localidad Boca de Tomatlán, la vegetación ripiara no forma un dosel sobre el río, dejando el cauce expuesto a la luz solar.



Figura 35. Vista a nivel del suelo del Río Horcones, localidad Boca de Tomatlán, la vegetación riparia no forma un dosel sobre el río, dejando el cauce expuesto a la luz solar

CONCLUSIONES

- El número total de semillas por fruto es mayor en *M. foeniculaceum* que en *N. coulteriana*.
- Las semillas de *T. trifaria*, *N. coulteriana*, *M. plumosa* y *M. foeniculaceum* no presentan latencia.
- Las semillas de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum* tienen mejor respuesta germinativa en temperatura constante de 25°C. Los tratamientos de temperatura alternante (15-25°C) disminuyen la capacidad germinativa en semillas con más de seis años de almacenamiento.
- Las semillas de *T. trifaria*, *N. coulteriana*, *M. plumosa* y *M. foeniculaceum* son fotoblásticas positivas, sin embargo, los tratamientos de luz roja disminuyen la germinación en *N. coulteriana* y *T. trifaria*.
- Las semillas de *N. coulteriana* y *M. foeniculaceum* son ortodoxas y permanecen viables hasta por siete años. Semillas de ≥ 9 años de almacenamiento pierden la viabilidad. El tiempo de almacenamiento disminuye la respuesta germinativa en *N. coulteriana* a diferencia de *M. foeniculaceum*.
- Las semillas de *N. coulteriana* de la población Las Juntas del Tuito, disminuye la respuesta germinativa al estar bajo condiciones de luz roja.
- Hay una gran pérdida de semillas en el medio ambiente, es por ello que la capacidad germinativa de las semillas es muy alta.
- En general se observó que la procedencia de las semillas no es un factor que afecte su capacidad germinativa.

RECOMENDACIONES

- En este trabajo únicamente se estudió la capacidad germinativa de las semillas y vimos que las de 7 años de almacenamiento siguen germinando; sin embargo es necesario evaluar el vigor de las plántulas ya que, de acuerdo a observaciones realizadas, es posible que a pesar de que las semillas germinen el desarrollo y establecimiento de las plántulas no sea óptimo y mueran al poco tiempo de haber germinado (Figuras 36 A y B)

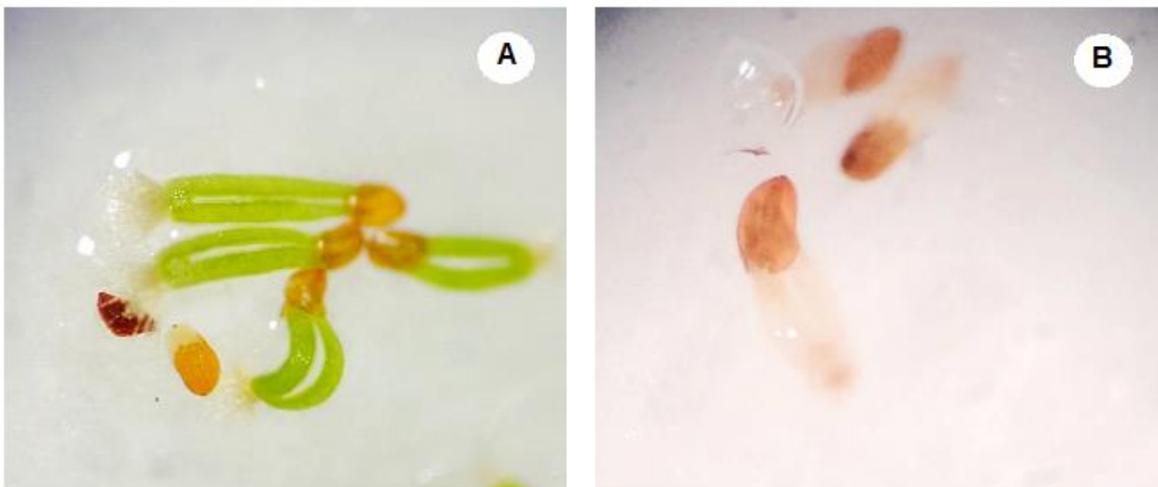


Figura 36. Plántulas de *Marathrum foeniculaceum* dos semanas después de haber germinado. Se observan las raíces adventicias y los cotiledones fotosintéticos (A). Se observa clorosis en todo el embrión (B).

- Para evaluar el efecto que tiene la procedencia en la germinación de semillas de Podostemaceae, sería interesante ver cómo varía el comportamiento germinativo entre especies americanas.
- El que los experimentos de germinación *in situ* se hayan realizado sobre rocas que posteriormente fueron sumergidas en el río determina que la temperatura a la que estuvieron expuestas será igual a la temperatura del río y sus respectivos cambios a lo largo del día y la noche, a diferencia de lo que ocurre en condiciones controladas (por ejemplo, temperatura constante o alternante). En condiciones naturales es posible que las semillas comiencen a germinar sobre las rocas cuando aún no están completamente

sumergidas y reciban el estímulo de hidratación por salpicaduras del agua de río o de la lluvia que posteriormente elevara el nivel del río, y en esa condición la temperatura en rocas no sumergidas será mayor a las sumergidas, lo que podría provocar que los resultados realizados *in situ* no reflejen lo que naturalmente ocurre ya que las rocas estaban hundidas. Este sería un punto interesante para contemplar en futuros estudios y así conocer cómo son realmente las condiciones bajo las cuales germinan las semillas en los ríos.

- Es necesario hacer estudios de germinación *in situ* para entender la dinámica de las semillas en los ríos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ameka G., K. Graft-Johnson y J. Adomako. 2007. Water Quality at the Habitat of the Podostemaceae in Ghana. *African Journal of Applied Ecology*. 11 (1).
2. Baskin J. M. y C. C. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*. 14: 1-16.
3. Baskin y Baskin, 2014, Seeds. Ecology, biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. 2^a ed. Academic Press.
4. Berjak P., J. M. Farrant y N. W. Pammenter. 1989. The basis of recalcitrant seed behaviour. *Recent Advances in the Development and Germination of Seeds*. 187: 89-108.
5. Berjak P. y Pammenter N. W. 2014. Semillas ortodoxas y reclitrantes en: Manual de Semillas de Arboles Tropicales. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Servicios Forestales.
6. Bewley D. y M. Black. 1994. Seeds. Physiology of development and germination. 2^a ed. Plenum Press, New York.
7. Bewley J. 1997. Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell* 9: 1055-1066.
8. Bravo J. C. 2011. Desarrollo del gametofito masculino y formación del tubo polínico en *Marathrum schiedeanum*, Podostemaceae. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
9. Bonner F. T. 1990. Storage of seeds: Potential and limitations for germplasm conservation. *Forest Ecology and Management*. 35: 35-43.
10. Bornette G. y S. Puijalón. 2010. Response of aquatic plants to abiotic factors: a review. *Aquatic Sciences* (73): 1-14.
11. Borthwick H. A. y J. Downs. 1964. Roles of active phytochrome in control of flowering of *Xanthium pensylvanicum*. *Botanical Gazette*. 125 (4): 227-231.
12. Casal J. J., R. A. Sánchez y J. F. Botto. 1998. Modes of action of phytochromes. *Journal of Experimental Botany*. 49(319): 127-138.

13. Castillo G.R. 2007. Germinación y desarrollo temprano de plántulas de *Oserya coulteriana* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
14. Castillo G., J. Márquez-Guzmán y M. Collazo -Ortega. 2013. Seed germination and early development in seedlings of *Noveloa coulteriana* (Podostemaceae). *Aquatic Botany*. On Line <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.03.007>.
15. Chin H. F. y B. Ktishnapillay. 1989. Recalcitrant vs. orthodox seeds. *Seed Moisture*. 14:15-22.
16. Cook C. y R. Rutishauser. 2007. Podostemaceae. En: Kubitzki K (Ed.) *The Families and Genera of Vascular Plants*. Springer Berlin Heidelberg 304-344.
17. Ellis R. H., T. D. Hong y E. H. Roberts. 1990. An intermediate category of seed storage behavior? *Journal of Experimental Botany*. 41 (230): 1167-1174.
18. Floyd S. y W. Friedman. 2000. Evolution of endosperm developmental patterns among basal flowering plants. *International Journal of Plant Sciences*. 161 (S6): 557-581.
19. Forbis T.A., S. K. Floyd y A. De Queiroz. 2002. The evolution of embryo size in angiosperms and other seed plants: implication for the evolution of seed dormancy. *Evolution*. 56 (11): 2112-2125.
20. González-Zertuche L. y A. Orozco-Segovia. 1996. Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda brachystachya*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. (58): 15-30.
21. Guzmán D. 2006. Correlación morfo-anatómica durante el desarrollo floral de *Marathrum rubrum* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
22. Herbers J. M. 2010. Evolution: Fundamentals. En: Breed M. D. y J. Moore (Eds): *Encyclopedia of animal behavior*. *Academic Press*. pp: 670-678.
23. Katayama N., M. Kato y T. Yamada. 2013. Origin and development of the cryptic shoot meristem in *Zeylanidium lichenoides* (Podostemaceae). *American Journal of Botany* 100(4):635-646.

24. Luna R. Raúl, 2010. Barreras reproductivas entre dos especies del género *Marathrum*. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
25. Novelo A. y C. T. Philbrick. 1997. Taxonomy of Mexican Podostemaceae. *Aquatic Botany* 57:275 -303.
26. Novelo A., T. Philbrick. 1997. Taxonomy of Mexican Podostemaceae. *Aquatic Botany*. (57): 275-303.
27. Novelo A., T. Philbrick y C. Crow. 2009. Podostemaceae. *Flora Mesoamericana*. 3(1): 1-7.
28. Orozco-Segovia A. y M. E. Sánchez-Coronado. 2013. Germinación. En: Márquez J., M. Collazo, M. Martínez, A. Orozco y S. Vázquez. (Eds): Biología de angiospermas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, DF. Las Prensas de Ciencias. pp:212-240.
29. (a) Pammenter N. y P. Berjak. 2000. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. *Seed Science Research*. 10 (03):301-306.
30. Pammenter N. y Berjak. 2000. Aspects of recalcitrant seed physiology. *Revista Brasileira de Fisiología vegetal*. 12: 59-69.
31. Pastor A., 2010. Fecundación intergenérica entre las Podostemáceas *Vanroyenella plumosa* y *Marathrum rubrum*. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
32. Philbrick T. 1984. Aspects of Floral Biology, Breeding System, and Seed and Seedling Biology in *Podostemum ceratophyllum* (Podostemaceae). *Systematic Botany* 9: 166-174.
33. Philbrick T.C. y A. Novelo. 1993. River-weeds: A fascinating family of aquatic flowering plants. *Aquaphyte*. 13 (1): 5-7.
34. Philbrick T.C. y A. Novelo. 1994. Seed germination of Mexican Podostemaceae. *Aquatic Botany* (48): 145-151.
35. Philbrick T. C. y A. Novelo. 1995. New World Podostemaceae: Ecological and evolutionary enigmas. *Brittonia*. (47): 210-222. Doi: 10.2307/2806959.
36. Philbrick T. C. y A. Novelo. 1997. Ovule number and seed size in Mexican and North American species of Podostemaceae. *Aquatic Botany*. 57: 183-200.

37. Philbrick T. C. , C. Bove y H. I. Stevens. 2010. Endemism in Neotropical Podostemaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 97 (3): 425-456.
38. Pons T. L. y H. F. J. M. Schröder. 1986. Significance of temperature fluctuation and oxygen concentration for germination of the rice field weeds *Fimbristylis littoralis* and *Scirpus juncooides*. *Oecologia*. 68: 315-319.
39. Quiroz A., A. Novelo y T. Philbrick. 1997. Water chemistry and the distribution of Mexican Podostemaceae: a preliminary evaluation. *Aquatic Botany* (57): 201-212.
40. Rajjou L., e I. Debeaujon. 2008. Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. *C. R. Biologies*. 331: 796-805.
41. Reyes-Ortega I., M. Sánchez-Coronado y A. Orozco-Segovia. 2009. Seed germination in *Marathrum schiedeanum* and *M. rubrum* (Podostemaceae). *Aquatic Botany* (90): 13-17.
42. Reyes-Ortega M.I. 2010. Dispersión, Germinación y cobertura de dos especies de *Marathrum* (Podostemaceae) que crecen en ríos tropicales de fuerte corriente, en el estado de Jalisco. Tesis de Doctorado en Ciencias. Posgrado en ciencias Biológicas. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. México,D.F. 119p.
43. Rowe S. 1964. Environmental preconditioning, with special reference to forestry. *Ecological Society of América*. 45 (2): 399-403.
44. Rutishauser R. 1997. Structural and developmental diversity in Podosteemaceae (river-weeds). *Aquatic Botany* (57): 29-70.
45. SEMARNAT (Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales).2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres- Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. Jueves 30 de Diciembre del 2010.
46. Shirley H. 1929. The influence of light intensity and light quality upon the growth of plants. *American Journal of Botany*. 19 (5): 354-390.
47. Taiz L. y E. Zeiger. 2010. *Plant Physiology*. 5ta ed. Sinauser Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts.

48. Tippery N., T. Philbrick, C. Bove y D. Les. 2011. Systematics and Phylogeny of Neotropical Riverweeds (Podostemaceae: Podostemoideae). *Systematic Botany* 36: 105-118.
49. Turesson G. 1992. The species and the variety as ecological units. *Hereditas.* 3, 211-350.
50. Van Royen P. 1954. The podostemaceae of the new world III. *Acta Botanica Neerlandica* 3 (2): 218.
51. Vazquez-Yanes A., A. Orozco-Segovia, E. Rincón, M. E. Sánchez-Coronado, P. Huante, J. R. Toledo y V. L. Barradas. 1990. Light beneath the litter in a tropical forest: effect on seed germination. *Ecology.* 71 (5): 1952-1958.
52. Villanueva U. 2013. Desarrollo de la antera y grano de polen en *Noveloa coulteriana* (Podostemaceae). Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
53. Western T.L. 2011. The sticky tale of seed coat miculages: production, genetics, and role in seed germination and dispersal. *Seed Science Research.* 22: 1-25.
54. Witztum A., Y. Gutterman y M. Evenari. 1969. Integumentary mucilage as an oxygen barrier during germination of *Blepharis pérsica* (Burm.) Kuntze. *Botanical Gazette,* 130 (4): 238-241.

Anexo 1. Colectores de los frutos de Podostemaceae de los cuales se extrajeron las semillas para llevar a cabo el estudio.

Colectores de frutos de Podostemaceae
Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán
Dra. Margarita Collazo Ortega
Dra. Karina Jiménez Durán
Mtra. Mónica Karina Pérez Pacheco
Mtro. Alfredo Pastor Vázquez