



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Germinación y crecimiento temprano de *Agave kerchovei* Lem. bajo diferentes condiciones ambientales

TESIS

Que para obtener el título de

BIÓLOGO

PRESENTA

Edgar Asael García García

DIRECTOR DE TESIS

Dra. María Teresa Valverde Valdés



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE

Agradecimientos.....	3
Resumen.....	4
Abstract.....	5
Capítulo 1. Introducción.....	6
Capítulo 2. Sistema de estudio.....	24
Capítulo 3. Métodos.....	30
Capítulo 4. Resultados.....	35
Capítulo 5. Discusión y Conclusiones.....	49
Literatura citada	59

Agradecimientos

A mi familia por su apoyo incondicional en mi formación a lo largo de los años.

A mis padres Rosa María y Raúl por las lecciones de vida que me han dado cada cual a su manera y que son la base de mi formación en la carrera y en este trabajo.

A mi hermano Cederick por ser mi ejemplo a seguir en el ámbito profesional.

A mi tutora Teresa Valverde por todo su apoyo a lo largo de estos años, sin duda alguna mi gran ejemplo a seguir en el ámbito de la investigación.

A mis amigos que a lo largo de la carrera me han enseñado demasiado, cada uno ha puesto un grano de arena en mi conocimiento sobre la vida.

Resumen

En México se distribuye aproximadamente el 75% de las especies del género *Agave*, de las cuales se conoce poco de las características germinativas de sus semillas y de la supervivencia y crecimiento de sus plántulas. En este trabajo se estudió la germinación de semillas provenientes de seis individuos de *A. kerchovei* colectadas en la región de Tehuacán, Puebla, bajo diferentes condiciones ambientales (temperatura constante de 25 °C y fluctuante de 15 a 35 °C; y en ausencia / presencia de radiación lumínica). También se estudió el crecimiento de plántulas de tres individuos bajo diferentes condiciones de riego (frecuente y esporádico) y radiación lumínica (60 y 100 % de la radiación incidente). Además de estudiar el efecto de las condiciones ambientales, se deseaba explorar el efecto del individuo parental sobre el éxito de estas etapas tempranas de desarrollo.

El porcentaje máximo de germinación fue de 38.12 %. Los efectos de la temperatura y de la luz no fueron significativos sobre el porcentaje final de germinación. Sin embargo, la respuesta germinativa mostró diferencias significativas según el individuo del que provenían las semillas. La interacción individuo × temperatura también fue significativa, lo que muestra que existe una interacción genotipo-ambiente en la respuesta germinativa de las semillas. Este es el primer trabajo sobre la germinación del género *Agave* en el que se evidencia este tipo de fenómeno.

Por otro lado, la supervivencia de las plántulas en condiciones controladas fue del 100%. Las diferencias en el régimen de riego no generaron un efecto significativo en las variables de crecimiento (TRC, R/V y K). En cambio, la radiación solar y la interacción entre ésta y el individuo parental mostraron un efecto significativo sobre el crecimiento de las plántulas. Éstas parecen tener una adaptación a condiciones de alta insolación, pues presentaron un mayor crecimiento bajo una mayor intensidad de radiación solar. El que hubiera un efecto significativo de la interacción radiación × individuo parental en el crecimiento de las plantas de *A. kerchovei* muestra que también en esta fase del desarrollo se presenta cierta influencia de características 'heredadas' de la generación previa. Esto sugiere que los procesos de selección natural son muy activos en las primeras fases de desarrollo de estas plantas y que la progenie de ciertos individuos está mejor adaptada que la de otros; estas diferencias son visibles en la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas.

Abstract

Mexico contains about 75% of the species in the genus *Agave*. Little is known about the germination features of most of these species, or about the growth and survival of their seedlings. In this study we analyzed the germination behavior of seeds of *Agave kerchovei* from six different parental individuals collected in the Tehuacán region in the Mexican state of Puebla. We subjected the seeds to different conditions of temperature (fluctuating vs. constant) and light (presence vs. absence). We also studied the growth response of seedlings originated from three parental individuals and subjected them to different conditions of watering and light intensity. In both experiments, in addition to studying the effect of experimental treatments, we also aimed to study the effect of the parental plant in the success of these life-cycle phases.

The highest germination percentage (38.12%) was obtained at a constant temperature of 25°C. The effects of temperature and light on final germination percentage were not significant. However, the effect of parental plant was highly significant, as was the interaction between parental plant and temperature. The latter implies that there is an interaction between genotype and environment in the germination response of seeds. This is the first study to report this kind of result in the *Agave* genus.

On the other hand, seedling survival in the greenhouse was 100%. The differences in watering frequency did not have an effect on the growth variables analyzed (*RGR*, *R/S* and *K*). However, light intensity and the interaction between light intensity and parental plant significantly affected seedling growth. Relative growth rate (*RGR*) was highest under the 100% light intensity treatment which confirms that these plants are adapted to high solar radiation. The significance of the interaction between light intensity and parental plant is quite interesting, and suggests that even during this stage of the life cycle there is some influence of inherited features from the previous generation. The progeny of some individuals seems to be better adapted than that of others and the effects of natural selection on seed germination and seedling growth are quite visible.

Capítulo 1. Introducción

1.1 La importancia de los agaves en México

Las zonas áridas y semiáridas ocupan la mitad de los 1.9 millones de km² con los que cuenta el territorio mexicano. Los ecosistemas desérticos y semidesérticos asociados a estas regiones presentan limitaciones importantes para el crecimiento de las poblaciones de plantas y para la diversidad de la vegetación. Sin embargo, algunas familias vegetales se han diversificado precisamente en este tipo de hábitats, por lo que en ellos es donde se presenta su mayor diversidad y abundancia (Álvarez de Zayas, 1989). La subfamilia Agavoideae, perteneciente a la familia Asparagaceae (*sensu* Bremer *et al.* 2009), es una de ellas. Muchas de las especies de esta familia presentan una serie de adaptaciones morfofisiológicas, reproductivas y ecológicas que les permiten enfrentar con éxito las condiciones de aridez, alta insolación y escasez de nutrientes características de los sistemas áridos y semiáridos. De hecho, algunos representantes de la subfamilia Agavoideae se han considerado especies clave para estos ecosistemas, porque ofrecen recursos abundantes a herbívoros y polinizadores durante su época reproductiva (León *et al.*, 2013) y porque pueden contribuir a fijar el sustrato y a ofrecer condiciones adecuadas para el establecimiento de otras especies (Arias, 2011).

La subfamilia Agavoideae (antes familia Agavaceae) es nativa del continente Americano; consta de 25 géneros y 637 especies (Stevens, 2012), de las cuales aproximadamente el 76% se distribuye en México. De estas últimas, el 70% son endémicas del país (García-Mendoza, 2004). Por esta razón, se considera que México es el centro de origen y diversificación de la subfamilia (Eguiarte *et al.*, 2000). En cuanto al género *Agave*, se han identificado 273 especies, y se considera que el 75% se distribuyen en México y el 55% de ellas son endémicas (García-Mendoza, 1995 en Arias, 2011; Enoc & Portillo, 2014).

A las plantas del género *Agave* se les encuentra en gran parte del territorio

nacional y muchas de ellas son endémicas de áreas relativamente restringidas. Algunas de las características propias de estas plantas son su alta plasticidad fenotípica y variabilidad genética, su tolerancia ecológica, su gran capacidad de dispersión y de germinación de semillas, y las múltiples interacciones bióticas que establece con otros organismos (García-Mendoza, 2002).

Las especies del género *Agave* son plantas perennes y arborescentes, con hojas dispuestas en espiral y arregladas en forma de rosetas en el ápice de un tallo, del cual las hojas emergen de un mismo punto de crecimiento formando una cabeza radialmente simétrica (Irish, 2000); las hojas generalmente son suculentas, lo cual les permite almacenar agua en sus tejidos. El sistema radicular es superficial, facilitándoles la absorción directa del agua de lluvia, que generalmente es escasa e irregular en ambientes en los que viven, por lo cual la supervivencia de los individuos en épocas de sequía depende del volumen de agua y carbohidratos almacenados durante la época favorable, los cuales son fundamentales para mantener su metabolismo. Se piensa que los agaves, de manera general, presentan un metabolismo fotosintético de tipo CAM, en el que los estomas se abren por la noche, evitando así la transpiración durante los momentos más calurosos del día (García-Mendoza, 2004).

Las especies de este género son abundantes en las provincias florísticas de las Serranías Meridionales del centro de México, la Sierra Madre Occidental, el Altiplano mexicano, la Península de Baja California y la Sierra Madre Oriental. El área de mayor riqueza específica corresponde a la provincia del Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Colunga-García *et al.*, 2007). En esta zona se distribuyen 30 de las 251 especies que se han reportado para el país (García-Mendoza, 2004). Entre ellas, las más comunes son *Agave angustifolia*, *A. macroacantha*, *A. karwinski*, *A. marmorata*, *A. potatorum*, *A. salmiana* y *A. kerchovei*, entre otros.

Además de su importancia ecológica y florística en México, muchas de estas especies han sido utilizadas desde tiempos prehispánicos con una gran variedad de aplicaciones. Uno de los usos más comunes ha sido como materia prima para producir bebidas alcohólicas destiladas y fermentadas, por ejemplo, el mezcal, el

tequila y el pulque (Casas *et al.*, 2001); el aprovechamiento de las hojas para construcción, medicamentos, fibras y forrajes (García-Valenzuela, 2011); la cosecha de escapos como ornamento para el hogar o para enmarcar celebraciones religiosas (Arizaga & Ezcurra, 2002;); así como el consumo humano directo de los botones florales como alimento (Lira *et al.*, 2008; García-Valenzuela, 2011). En todo el país se ha documentado que un mínimo de 74 especies y 28 *taxa* infraespecíficos se utilizan de una u otra forma por parte de las comunidades humanas (Colunga-García *et al.*, 2007).

1.1.1 Aspectos históricos y de aprovechamiento

El agave no es sólo una planta; también supone una cultura y tradición e implica una forma de vida y, en tiempos prehispánicos, una forma de supervivencia (Escobar, 2009). Mesoamérica y Aridoamérica han sido escenario del origen y evolución del maguey (*Agave* spp.). Se conoce que en ambas regiones estas plantas se han utilizado desde el inicio de la presencia humana hasta la actualidad, para satisfacer y complementar una serie de necesidades básicas, como alimento, forraje, medicamentos y construcción, entre otros, desde hace por lo menos 9,000 años (Granados, 1993). Nobel (1998) indica que desde 1930 se sabía que la etnia Seri, un grupo independiente con una población total de 458 personas ubicada en el noroeste de la República Mexicana hacía uso de nueve especies de agaves, cuyas partes más aprovechadas son el tallo, la base de las hojas y las inflorescencias. Entre las especies que utilizan están *Agave cerulata* y *A. colorata*, como fuentes emergentes de agua o para elaborar licor; además, la fibra de las hojas se usa para hacer cepillos. De las hojas maceradas de *A. schottii* se obtiene jabón; con las semillas se hacen collares y los quiotes (i.e. los escapos) se usan como ganchos para cosechar frutos de cactus (Nobel, 1998).

Una de las especies más utilizada a lo largo de la historia de México es el maguey pulquero, *Agave salmiana*, cuya importancia era tal que según registros arqueológicos fue deificado por los mexicas como la diosa Mayahuel, la diosa del

maguey, debido a las bondades que brindaba. Esta planta se encuentra representada en pinturas, murales y códices provenientes de la cultura mexicana y otras culturas indígenas del centro de México (García-Mendoza, 2004). Gentry (1982) menciona que, hay evidencias arqueológicas que muestran que las personas que habitaban esta región antes de la llegada de los aztecas ya habían usado el maguey por miles de años. En el mismo documento se señala el conocimiento de que los mexicas extendieron el cultivo del maguey y sus productos y que probablemente se introdujeron nuevas variedades de fuentes silvestres por medio de la selección de las mejores plantas, lo que constituye el inicio de un proceso de domesticación.

En la revisión de historia de los agaves por Escobar (2009) se cita que los mexicas conocían a los magueyes con el nombre genérico de *metl*, y no fue sino hasta 1753 que Linneo ubicó a estas plantas en el género que nombró *Agave*. La palabra *Agave* proviene de la raíz griega que significa “admirable” y describe no sólo su rara apariencia, sino la longitud de sus escapos y el bello espectáculo que producen durante su floración, que en muchos casos ocurre sólo una vez en el ciclo de vida de la planta, para después morir (Nobel, 1988). Algunas presentan propagación vegetativa, por lo que el individuo genético no muere con la muerte de la roseta. Las culturas prehispánicas utilizaron los magueyes de manera integral desde las raíces hasta las semillas, recibiendo cada órgano un nombre especial (García-Mendoza, 2004).

1.2 Biología reproductiva del género *Agave*

Las especies de la subfamilia Agavoideae presentan gran variación en su biología reproductiva. Para empezar, existen especies tanto semélparas como iteróparas. Las plantas semélparas (o monocárpicas) se caracterizan por que la planta se reproduce una sola vez y al cabo de esto muere. Y en las plantas iteróparas (o policárpicas) se presentan varios eventos reproductivos antes de su muerte.

Existe una cantidad limitada de información sobre los sistemas de

autocompatibilidad en las especies de esta subfamilia, pero se piensa que son en su mayoría autocompatibles, con excepción de *Hesperaloe* y de algunas especies de *Agave* que presentan barreras precigóticas a la autofecundación (Eguiarte *et al.*, 2000; Rocha *et al.*, 2007).

Después de varios años de crecimiento, los agaves producen una inflorescencia que se desarrolla a partir de su meristemo apical; ésta se extiende formando un escapo que se eleva y al poco tiempo empieza a perder turgencia por la pérdida de humedad (Valenzuela, 1997; Escobar, 2009). Dicho escapo puede llegar a medir entre 2 y 10 metros de altura, dependiendo de la especie (Gentry, 1982). En *A. deserti*, desde que emerge la inflorescencia a principios de marzo hasta el desarrollo de las semillas a mediados de agosto, la inflorescencia llega a crecer más de 16 cm por día hasta alcanzar, en promedio, 3.6 metros de altura y 1.25 kg de peso seco (Nobel, 1977). La biomasa necesaria para generar la inflorescencia se moviliza desde las hojas, las cuales pierden el 36% de su peso seco y 77% de su peso húmedo. Además, se dan pérdidas de agua también por las ramas laterales de la inflorescencia, así como por las flores cuando producen abundante néctar. Por lo tanto, la pérdida de agua es alta durante la reproducción sexual, comparada con lo que ocurre en plantas con propagación vegetativa.

Nobel (1977, 1988) estudió la capacidad fotosintética de las plantas al llegar el momento de la reproducción y evaluó las demandas energéticas de la inflorescencia en crecimiento, así como el movimiento masivo de carbohidratos y otros materiales desde las hojas, lo que en conjunto provoca la muerte de la planta debido al tremendo gasto energético y de agua en un sólo periodo de reproducción sexual (Gentry, 1982).

Las flores de los agaves proveen de recursos a los polinizadores, como murciélagos, abejas, avispa, moscas, escarabajos y colibríes, ya que producen néctar abundante y diluido, principalmente de noche. Estas características, aunadas a la variedad en la coloración y forma de las flores, atrae a diferentes grupos de polinizadores, según la especie (Howell, 1979; Nobel, 1988; Arizaga *et al.*, 2000; García, 2004). Como se dijo antes, se sabe que muchas especies son

autocompatibles, pero como resultado, algunas de ellas presentan intensa depresión por endogamia (Eguiarte, *et al.*, 2000; Escobar, 2009).

Las especies estudiadas del género *Agave* producen flores de color blanquecino-verdosas, amarillentas y rojizas. La mayoría son tubulares, más o menos cerradas y todas presentan ovario ínfero. Las flores duran abiertas varios días y son protándricas; el primer día de la antesis producen polen y en los siguientes el estigma se vuelve receptivo. Los frutos son capsulares (Eguiarte *et al.*, 2000). La mayoría son generalistas, pues sus polinizadores pueden ser murciélagos, esfíngidos, colibríes, abejas y avispas, aunque se ha visto que los murciélagos son los polinizadores más comunes.

1.2.1 Propagación vegetativa

Los agaves se reproducen de manera sexual, produciendo generalmente una gran cantidad de semillas, y algunos también se propagan vegetativamente. La propagación vegetativa se lleva a cabo a través de la producción de hijuelos (Fig. 1.1) o de bulbilos (Fig. 1.2), lo cual favorece la alta supervivencia de los ramets resultantes, debido a que en sus fases iniciales la planta madre les provee de fotosintatos y recursos hídricos y el nuevo organismo se establece contando ya con un nivel de desarrollo bastante elevado (Aguirre *et al.*, 2001).

El desarrollo de hijuelos a partir de estolones (tallos que se encuentran conectados a una planta y que con el tiempo producirán un individuo genéticamente idéntico a ella) se inicia en la base de las rosetas en la mayoría de las especies, de tal manera que los ramets aparecen alrededor de las mismas. Algunas especies nunca producen hijuelos, y otras lo hacen sólo cuando la roseta es joven, mientras que otras más se propagan vegetativamente a lo largo de toda su vida, o sólo durante la maduración sexual, con la emergencia de la inflorescencia (Gentry, 1982). De esta manera, muchas de las poblaciones silvestres de *Agave* se reproducen sexualmente con la consecuente formación de semillas en conjunción con bulbilos e hijuelos, como es el caso de *A. tequilana*. En

estos casos, tanto la reproducción sexual como la propagación vegetativa se presentan en cada generación (Escobar, 2009).

En las especies que se producen bulbilos, éstos se generan en la inflorescencia a partir de las yemas de las flores que no fueron fecundadas (Gentry, 1982) y pueden tener tres destinos: a) ser depredados, b) caer al suelo y establecerse, o c) permanecer en el escapo en donde se secan y mueren (Arizaga & Ezcurra, 2002).

Por otro lado, los estolones son un medio de propagación eficaz en muchas especies de agaves, y los ramets resultantes tienen una alta supervivencia y tasa de crecimiento debido a que reciben fotosintatos y agua de la planta madre, y a la larga pueden alcanzar independencia fisiológica (Gentry, 1982; Nobel, 1998; Arias, 2011). Se ha visto que en *A. deserti* el 99 % de los individuos proviene propagación vegetativa, lo que demuestra la importancia de este fenómeno (Nobel, 1992).

A pesar de que la propagación vegetativa puede disminuir la diversidad genética en una población, es un medio por el cual un genotipo aumenta significativamente sus posibilidades de supervivencia en climas extremos e impredecibles (Gentry, 1972; Arias, 2011).



Figura 1.1. Rosetas de *Agave americana* en la que se ejemplifica la producción de ramets laterales (Tomada de http://www.jardinerosenaccion.es/planta.php?id_pla=380).

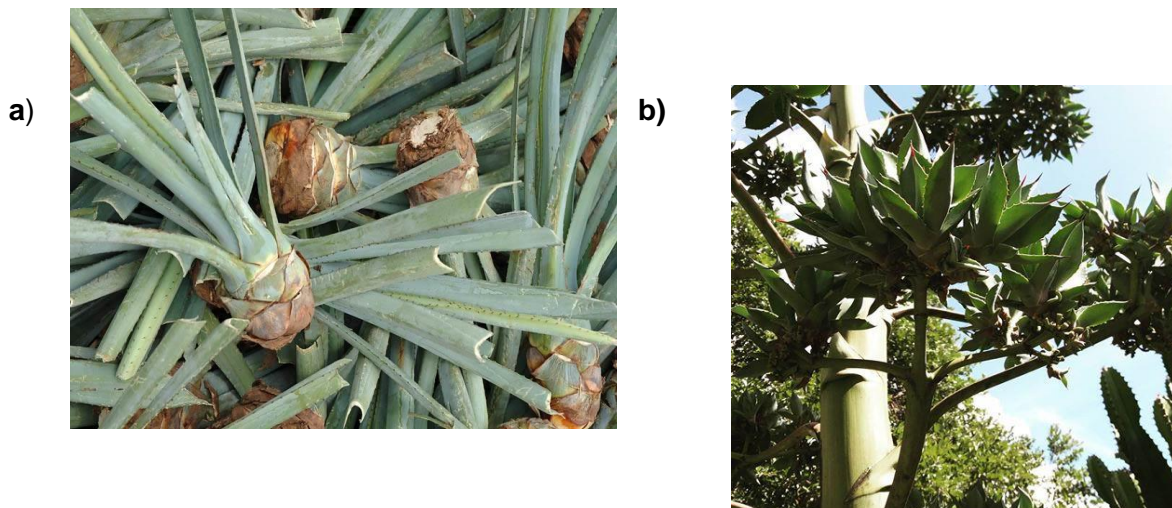


Figura 1.2. a) Bulbilos de *Agave tequilana*, variedad azul (tomada de http://agavetequilanaweber.blogspot.mx/2013_10_01_archive.html); b) bulbilos de *Agave salmiana* en el escapo floral (tomada de <http://www.pictaram.com/tag/agavesalmiana>).

La propagación vegetativa es muy importante para las especies del género *Agave*, ya que muchas de sus poblaciones dependen de este proceso para su persistencia, debido a que es común que presenten bajas tasa de germinación y/o establecimiento de plántulas. Esto se ha visto en *A. tequilana*, que según observaciones de campo, presenta un bajo éxito de la reproducción sexual y el reclutamiento de plántulas a partir de semillas (Valenzuela, 1997).

1.2.2 Reproducción sexual

En el género *Agave*, la reproducción sexual se logra gracias a la polinización que efectúan diversos vectores animales, tanto vertebrados como invertebrados. Las flores son hermafroditas y presentan protandria, la puede reducir la autopolinización pero posiblemente no reduce la geitonogamia (la polinización por polen proveniente de flores de la misma planta), pues es común que las flores en una misma inflorescencia maduren de forma asincrónica, teniendo

simultáneamente en un momento determinado flores en fase estaminada y otras en fase pistilada. La geitonogamia se considera como un mecanismo de autopolinización; sin embargo, en algunas especies de *Agave*, como *A. cocui*, este proceso se ve reducido por la existencia de un mecanismo de auto-incompatibilidad genética puesta de manifiesto en pruebas de auto-polinización. Esta característica hace que *A. cocui* sea dependiente de vectores de polinización externos; dicho de otra manera, se reproduce exclusivamente por polinización cruzada (Lemus, 2002).

Con *Agave palmeri* ocurre lo contrario: sus flores son nocturnas y la dehiscencia de las anteras ocurre entre las 20 y las 22 horas. Howell y Roth (1981) consideraron que su principal polinizador es el murciélago nectarívoro *Leptonycteris curasoae*, aunque también la visitan insectos y aves. Sus datos, junto con los de Sutherland (1987), indican que este agave es auto-compatible. Sin embargo, presenta una fuerte depresión por endogamia y su reproducción presenta limitación por polinizadores, ya que las polinizaciones manuales aumentan notablemente la fecundidad. Esta especie tiene una producción de frutos (*fruit set*, proporción de frutos producidos con respecto al número de flores) del 16.6% de las flores polinizadas.

Otra especie cuya biología reproductiva se ha estudiado es *A. macroacantha*. La floración de este agave ocurre de mayo a julio y tiene una duración promedio de 29 días en las rosetas individuales (Arizaga & Ezcurra, 2002). Las flores son protándricas y la antesis se da por la tarde después del tercer día del desarrollo de la flor, y los pistilos maduran después del quinto día. La formación de frutos por autopolinización en ésta especie es de sólo 1.6%, mientras que en las cruas intra-específicas la producción de frutos alcanzó hasta un 19.5%. Por lo tanto, esta especie produce frutos y semillas casi exclusivamente por entrecruzamiento y presenta un alto grado de auto-incompatibilidad con una marcada dependencia de polinizadores nocturnos para su éxito reproductivo (Arizaga *et al.*, 2000). En un reciente estudio en *A. angustifolia* y *A. subsimplex* (Molina-Freaner & Eguiarte, 2003) se reportó que el éxito del establecimiento de frutos es, en promedio de

30%, existiendo una relación inversa con la producción de bulbilos. Sobre los tratamientos de polinización, reportan que los entrecruzamientos generan un mayor establecimiento de frutos y semillas que los controles, y que las auto-cruzas manuales no generan frutos ni semillas, sugiriendo que los polinizadores nocturnos, como el murciélago *Leptonycteris curasoae*, son importantes para el éxito reproductivo de estas especies. Por otro lado, Escobar (2009) reporta que los porcentajes de frutos obtenidos en las cruzas intra-específicas de *A. tequilana* son similares, siendo de 6.6% para *A. tequilana* y 4.2% para *A. americana*, lo que sugiere que las dos especies sufren de depresión por endogamia y el mayor éxito reproductivo se da por entrecruzamientos.

La cantidad de frutos y semillas viables que produce un agave varía de acuerdo con la especie; por ejemplo *A. macroacantha* produce un promedio de 24 frutos por planta y 117 semillas fértiles por fruto (Arizaga & Ezcurra, 2002), mientras que *A. victoria-reginae* produce 1271 frutos por planta y 67 semillas por fruto (Martínez-Palacios, 1998). También algunos de ellos son poliploides estériles que rara vez o nunca consiguen formar semillas viables; como es el caso de *A. fourcroydes* (Escobar, 2009).

Aunque en los agaves es común que la proporción de semillas que germinan sea alta, también es cierto que en el campo es difícil que se presente este mismo nivel de éxito, pues pocas semillas germinan y la supervivencia de las plántulas también es baja (Arias, 2011). De esta manera, los procesos tempranos de germinación de semillas y establecimiento de plántulas en condiciones naturales, que son fundamentales para la permanencia de las poblaciones, representan un filtro poblacional intenso para estas plantas. Sin embargo, se sabe poco sobre las características germinativas de las semillas de los agaves y sobre las respuestas de crecimiento de las plántulas (Ramírez, 2010).

1.3 Germinación de semillas en el género *Agave*

La germinación es un proceso complejo que comienza con la absorción pasiva de

agua por parte de la semilla (imbibición), el rompimiento de latencia (cuando la hay) y la reactivación de los procesos metabólicos del embrión; y se completa cuando una parte del embrión, por lo general la radícula, se extiende a través de las estructuras que lo rodean y emerge hacia el exterior. El éxito y la velocidad del proceso germinativo dependen de muchas variables, entre ellas el tamaño, la forma, y el tipo de semilla, su origen, la permeabilidad de la testa, la profundidad y el tipo de latencia, así como del efecto de factores ambientales como la temperatura, la radiación lumínica y la disponibilidad de agua (Ramírez-Tobías *et al.*, 2011).

Tanto la germinación como el crecimiento de las plantas se ven afectados por factores ambientales, de manera tal que suelen reflejar las características del medio en el que se distribuye cada especie. Por ejemplo, la germinación de las especies adaptadas a climas secos puede llevarse a cabo aún en condiciones de humedad relativamente reducida (Allen *et al.*, 2000). En general, la disponibilidad de humedad es el factor más importante que afecta el porcentaje y la velocidad de germinación y en muchas ocasiones también resulta vital para la eliminación de inhibidores de la germinación que se encuentran acumulados en diferentes partes de la semilla. Además, la disponibilidad de agua es un regulador fundamental del crecimiento, ya que interviene directamente en la fotosíntesis. Sin embargo, este recurso vital es extremadamente escaso y de disponibilidad muy estacional en los sistemas desérticos y semidesérticos, por lo que se le considera el factor limitante más importante en estos ecosistemas (Sánchez *et al.*, 2004).

Además de la humedad, la radiación lumínica puede ser importante para la germinación de semillas de la subfamilia Agavoidea, sin embargo se ha observado que algunas especies no son fotoblásticas como es el caso de las semillas de *Furcraea parmentieri* en las que el 98 y 99% germinaron en tratamientos de oscuridad y de luz, respectivamente (Hernández, 2009). Además, en condiciones naturales hay una relación entre la radiación lumínica y la temperatura, siendo esta última una variable que también afecta marcadamente la germinación. Muchas semillas germinan mejor bajo temperaturas alternantes (por ejemplo,

entre 20 y 30°C), pues en el campo la temperatura durante el día es más alta que durante la noche (Powell, 1998).

En general las especies del género *Agave* presentan altos porcentajes de germinación cuando se someten a temperaturas de entre los 20 y 35° C. Por ejemplo, *Agave desertii* presenta su más alta germinación a 21°C (Jordan & Nobel, 1979); *Agave americana* (Pritchard & Miller, 1995) a 25 °C y *A. lechuguilla* a 35°C (Serrano *et al.*, 2000).

Algunas especies requieren de una exposición a bajas temperaturas (estratificación) para romper la latencia e iniciar la germinación. En esos casos, las altas temperaturas pueden inhibir la germinación. Estudios con *A. virginica* muestran que sus semillas requieren de un periodo de estratificación para romper la latencia, lo cual se logra manteniéndolas a temperaturas entre 0 y 10° C previo a la germinación (Hernández-Cruz *et al.*, 2000).

Las semillas recién colectadas de varias especies de *Agave* presentan altos porcentajes de viabilidad. Se han reportado porcentajes de germinación entre 75 y 100 % en *Agave parryii* var. *parryii* (Freeman, 1975 en Serrano *et al.*, 2000), *A. americana* (Prichard y Millar, 1995), *A. lechuguilla* (Freeman, 1975 en Serrano *et al.*, 2000) y *A. macroacantha* (Arizaga, 1998). También se ha reportado porcentajes similares para especies de otros géneros de la subfamilia, como *Manfreda brachysachya* (Orozco-Segovia, 1996 en Serrano *et al.*, 2000), *Polianthes longiflora* (Serrano *et al.*, 2000), *Furcraea longaevea*, *F. pubescens* (García-Mendoza, 2001), así como varias especies del género *Yucca* (Argot, 1962 en García-Mendoza, 2001).

La gran riqueza del género *Agave*, así como la diversidad de ambientes en los que se distribuye, lo convierten en un grupo de mucho interés para investigar la manera en la que las respuestas de germinación de semillas y crecimiento temprano de plántulas de cada especie reflejan las condiciones en las que evolucionaron y que, a su vez, determinan sus patrones de distribución, abundancia y rareza (Ramírez, 2010).

Se ha registrado que *A. karwinskii*, *A. macroacantha*, *A. marmorata*, *A. pacockii* y *A. salmiana* presentan patrones de distribución asociados a plantas nodrizas (Valiente-Banuet, 1991; Valiente-Banuet & Verdú, 2007), lo que sugiere que la germinación de sus semillas y/o el establecimiento de sus plántulas requiere de la protección que ofrecen estas plantas. De hecho, se ha registrado una mayor germinación de semillas bajo nodrizas, en relación con los espacios abiertos en especies tales como *A. macroacantha*, *A. marmorata*, *A. peacockii*, *A. salmiana* var. *faerox*, *A. potatorum* y *A. kerchovei* (Arizaga, 2000).

Para *A. potatorum*, además de los datos mencionados, en condiciones de laboratorio se han registrado porcentajes de germinación de alrededor de 50% en agua destilada a 25°C (Maiti *et al.*, 2004). La disponibilidad de agua fue el factor más importante para inducir la germinación. Al disminuir la disponibilidad de agua, la germinación se redujo de 80-90% en potenciales hídricos de 0.0 MPa, a 55-60% en potenciales de -0.5 MPa, y a 5-10% en potenciales de -0.9 MPa (Rangel-Landa, 2009). En el campo, la disponibilidad de agua en el suelo es muy variable en el tiempo y en el espacio, a diferencia de los experimentos en laboratorio en dónde las condiciones son constantes.

1.4 Crecimiento y supervivencia de las plántulas en el género *Agave*

El crecimiento de las plantas se ve afectado por factores ambientales, como el agua, la luz, el sustrato y la temperatura, de manera que suelen reflejar las características del medio en el que se distribuye cada especie (Godínez-Álvarez *et al.*, 1999, Ruedas *et al.*, 2000). En las zonas áridas y semiáridas, la luz y el agua son dos de los factores físicos más importantes que afectan el desarrollo de las plántulas (Flores & Jurado 2003). Diversos estudios muestran que la restricción de humedad en el sustrato limita el crecimiento de plántulas del género *Agave* y produce cambios en la cantidad y distribución de biomasa entre órganos (Erice *et al.*, 2010; Atchen *et al.*, 2010 en Ramirez, 2010). Se ha comprobado que los agaves se ven favorecidos en su crecimiento cuando se riegan durante el periodo

de sequía, como en el caso de *A. lechuguilla* (Nobel *et al.*, 1989).

El estrés causado por la sequía o las temperaturas extremas aumenta el riesgo y la severidad de la fotoinhibición en ambientes áridos (Valladares 2004; Pérez-Sánchez *et al.*, 2015). La fotoinhibición se define como cualquier baja en la regulación del aparato fotosintético en respuesta al exceso de luz, cuando se produce más glucosa en las hojas de la que puede ser utilizada como energía por el resto de la planta y/o se absorbe más energía lumínica de la que puede ser utilizada por los cloroplastos para la fijación del dióxido de carbono (Adams *et al.* 2013).

La sombra que se presenta en lugares con abundante vegetación puede reducir la fotosíntesis y limitar el desarrollo de las plántulas (Pérez-Sánchez *et al.*, 2015), pero también puede ser beneficiosa al reducir el sobrecalentamiento, la transpiración excesiva, y la fotoinhibición que pueden experimentar las plantas que crecen en áreas abiertas (Flores y Jurado de 2003, Valladares de 2004, Pérez-Sánchez *et al.*, 2015). Se ha visto que el microambiente bajo las plantas nodrizas mejora el rendimiento fisiológico de las plántulas suculentas del desierto. Esto se ha probado mediante la medición de fluorescencia de la clorofila en las hojas o estructuras fotosintéticas y la medición de la tasa relativa de crecimiento (*TRC*) y la relación raíz/vástago (*R/V*) en especies como *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus histrix*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Stenocactus coptonogonus*, *Agave lechuguilla*, *Agave salmiana* y *Yucca filifera* (Pérez-Sánchez *et al.*, 2015). De esta manera, la supervivencia de las plántulas está influenciada en gran medida por su establecimiento con o sin nodriza, siendo éste un aspecto fundamental en las zonas áridas y semiáridas (Franco & Nobel, 1989; Suzán *et al.*, 1996). Por ejemplo, en *A. macroacantha* se observó que las plántulas sin nodriza no sobrevivieron más de un año, mientras que del 1 al 10 % de las plántulas nodrizas sobrevivió más de dos años (Arizaga & Escurra, 2002).

1.5 Efectos maternos y genéticos en la germinación y el crecimiento

Para comprender la influencia que tiene la herencia (y otros efectos maternos) en los procesos de germinación y el crecimiento de las plantas, se debe de estudiar el desarrollo del gametofito femenino y masculino, puesto que éstos contienen el material genético de las semillas y de las plantas resultantes, el cual es responsable en gran medida de sus características morfofisiológicas. Los óvulos son los precursores directos de las semillas y éstos juegan un papel central en la reproducción sexual de las plantas, tanto en la formación de las semillas, como en su viabilidad, en su tasa germinativa y en el establecimiento de nuevas plántulas (Gasser *et al.*, 1998). Es importante recordar que en las angiospermas se lleva a cabo una doble fecundación que involucra la fusión de las células espermáticas con dos células específicas del gametofito femenino o saco embrionario, la célula huevo y la célula central, las cuales dan origen al embrión y al endospermo de la semilla respectivamente (O'Neill & Roberts, 2002; Escobar, 2009).

Se debe mencionar que hay muy poca información sobre el desarrollo del sistema reproductivo en los agaves (Gentry, 1982). Los estudios disponibles se limitan a algunos aspectos de la polinización (Arizaga *et al.*, 2000; Slauson, 2000), producción de néctar, y la viabilidad de la semilla (Freeman & Reid, 1985; Bustamante, 2012), mientras que se sabe poco acerca de otros aspectos, tales como la gametogénesis.

1.5.1 Desarrollo del gametofito femenino

Según Dahlgren y colaboradores (1985) el gametofito femenino de las Agavoideas se genera a partir de un único megasporocito funcional a través de la gametogénesis. Este desarrollo es el más común en las angiospermas y se conoce como tipo *Polyconum*, el cual está presente en el 70% de las angiospermas, entre ellas en *A. tequilana* y *A. americana* (Coimbra *et al.*, 2007; Escobar, 2009). El desarrollo es el siguiente: en el óvulo usualmente un solo megasporocito entra en meiosis y produce cuatro megasporas haploides; tres de ellas entran en el programa de muerte celular programada, mientras que la

megaspora funcional se divide mitóticamente para dar origen al saco embrionario. Después de tres ciclos de divisiones nucleares, se tienen ocho núcleos, los cuales se diferencian en cuatro tipos celulares. Tanto la célula huevo, como la célula central, son fertilizadas por una célula espermática cada una, formando el embrión y el endospermo respectivamente. Las células gaméticas están flanqueadas por células accesorias, dos células sinérgidas, ubicadas en la zona micropilar, que son el punto de entrada del tubo polínico. Las sinérgidas son necesarias para la atracción del tubo polínico e inducen también la liberación de las células espermáticas. La zona opuesta, está ocupada por tres células antípodas que degeneran antes de la fertilización, cuya función aún no está clara (Dahlgren *et al.*, 1985; GroB-Hardt, *et al.*, 2007).

1.5.2 Desarrollo del gametofito masculino

El gametofito masculino o grano de polen, es un organismo tricelular derivado de divisiones celulares. Su historia comienza en la antera, cuando las células madre del polen entran en meiosis para formar tétradas; cada tétrada está unida por una pared de callosa. Las microsporas son liberadas por la acción de la calasa, una enzima producida por el tapetum, después de lo cual cada microspora entra en mitosis asimétrica, porque el núcleo que se divide está adyacente a la pared, de tal manera que después de la división, una célula es mucho más pequeña que la otra. Las dos células de este grano de polen bicelular tienen distintos destinos celulares (McCormick, 2004). La célula más grande es llamada célula vegetativa, y la pequeña es la célula generativa. La célula vegetativa no vuelve a dividirse, mientras que célula generativa entra en mitosis para formar las células espermáticas. El tiempo de la segunda mitosis varía en diferentes familias de plantas; algunas veces ocurre en de las anteras (como en pastos y crucíferas), aunque más comúnmente se da durante el crecimiento del tubo polínico (Dahlgren *et al.*, 1985).

Existen pocos estudios sobre el desarrollo de los gametos tanto femenino como

masculino en agaves y uno de ellos es el de Escobar (2009), en cuál se observó que el desarrollo de los gametofitos de *A. tequilana* y *A. americana* es el que ya se describió en los párrafos anteriores. Sin embargo Piven y colaboradores (2001) observaron que en *A. fourcroydes* y *A. angustifolia* el gametofito femenino se desarrolla directamente en un saco embrionario de dos megasporas viables (similar al tipo *Allium*). Estas megasporas se dividen mitóticamente dos veces dando como resultado la migración de los núcleos y la maduración del saco embrionario. Asimismo, observaron que durante la megasporogénesis cuando la célula madre de la megaspóra entra en meiosis, ocurre fragmentación de los cromosomas. Lo anterior conduce a la degradación de los núcleos y la aparición de numerosos sacos embrionarios vacíos, provocando baja fertilidad del gametofito femenino, mientras que el gametofito masculino genera granos de polen binucleares con baja viabilidad, que sólo llega al 0.5%, y puede llegar a aumentar a 1% en medio de cultivo ajustado con vitaminas en *A. fourcroydes* y a 3% en *A. angustifolia*.

En otro estudio con *A. tequilana* (Ruvalcaba-Ruiz & Rodríguez-Garay, 2002) se observó que las células madre del polen presentaban irregularidades meióticas que sugerían aberraciones cromosómicas, tales como deleciones y duplicaciones, intercambios entre cromátidas hermanas e inversiones, las cuales se ven reflejadas en la baja viabilidad de los granos de polen, reduciendo de esta manera la tasa de germinación de las semillas.

Aunque son escasos los estudios que demuestren la influencia de los efectos maternos sobre el proceso de germinación de semillas y el crecimiento de las plántulas, éstos se pueden asociar, por ejemplo, con el tamaño de las semillas (el cual a su vez determina el tamaño de las plántulas en sus fases iniciales). Se ha visto que el tamaño de la plántula influye en su probabilidad de supervivencia en *A. salmiana* (Vázquez *et al.*, 2011) y en otras suculentas, como en el cactus *Stenocereus beneckeii* (Ayala-Cordero *et al.*, 2006). Los nutrientes que contienen las semillas se almacenan en el endospermo (o los cotiledones), el cual es de origen materno y hereda a las semillas su “sello” particular, tanto genético como

ambiental (i.e., resultado de las condiciones ambientales bajo las que se desarrolló la semilla). Estos efectos maternos y su influencia sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas prácticamente no se han estudiado en el género *Agave*.

1.6 Objetivos

1.6.1. Objetivo general:

Estudiar la germinación de semillas y el crecimiento temprano de plántulas de *Agave kerchovei* Lem. provenientes de diferentes individuos parentales, sometidas a condiciones controladas de temperatura y radiación lumínica (las semillas), y a diferentes frecuencias de riego y niveles de exposición a la radiación (las plántulas), con el objeto de analizar su capacidad de respuesta ante los factores experimentales utilizados.

1.6.2 Objetivos particulares

- Examinar si la temperatura (constante vs. fluctuante) tiene un efecto sobre la velocidad y el porcentaje de germinación de las semillas de *A. kerchovei*.
- Examinar si la luz (presencia vs. ausencia) tiene un efecto sobre el porcentaje de germinación.
- Determinar si existen diferencias en las respuestas germinativas de las semillas provenientes de diferentes individuos parentales.
- Analizar la respuesta de crecimiento de las plántulas de *A. kerchovei* bajo diferentes condiciones controladas de radiación lumínica (luz directa vs. sombra) y frecuencia de riego (frecuente vs. esporádico).
- Determinar si existen diferencias en las respuestas de crecimiento de plántulas provenientes de diferentes individuos parentales.

Capítulo 2. Sistema de estudio

2.1 Especie de estudio

Agave kerchovei Lem. pertenece al subgénero *Littea* y al grupo *Marginatae*. Es un agave mediano, de tallo corto de color verde brillante y rosetas amplias con 80-100 o más hojas (Fig. 2.1). Sus hojas miden 40-125 x 5-12 cm y generalmente son lanceoladas, de ápice acuminado y generalmente sin dientes, aplanado, de color verde amarillento a verde. El margen de las hojas es recto, rara vez sin dientes, y los dientes generalmente son grandes, de 8-15 mm de largo distanciados 2-5 cm entre ellos, curvos, planos, grises con la punta amarillenta. La inflorescencia es espigada, muy densa, de 2.5 a 5 m de altura; el pedúnculo posee brácteas estrechas. La coloración de las flores va de verdosas a violáceas, y miden de 38 a 46 mm de largo; el ovario mide 18-21 mm de longitud y es fusiforme; los tépalos miden 15-20 x 6-7.5 mm y tienen coloraciones de verde a rojizas. Los filamentos miden 40-50 mm, son más pálidos que los tépalos y se encuentran insertados en el borde del tubo. Las anteras son de 18-20 mm de longitud, de color amarillo a rojizo. Los frutos son cápsulas oblongas, de 2.5-3.5 x 1-1.2 cm, fuertemente cerradas. Las semillas son muy pequeñas, de 3.5-4 x 2.5-3 mm, y con forma de media luna, superficie lisa y color negro lustroso. Después de fructificar, la roseta muere (Brena, 2012)

a)



b)



c)



d)



Figura 2.1. a) Roseta de *Agave kerchovoi*; b) detalle de la morfología de las espinas a lo largo del margen de la hoja; c) inflorescencia espigada; y d) semillas. Fotografías tomadas de: <http://www.naturalista.mx/taxa/281040-Agave-kerchovoi> y de Brena (2012).

Agave kerchovei es una especie endémica de México. Se distribuye desde el centro del estado de Hidalgo hasta el sur de Oaxaca. Se le encuentra en elevaciones entre 1400 y 1875 m s.n.m., principalmente en sitios semiáridos, en valles aluviales, en pendientes dendríticas y laderas rocosas y empinadas. Las comunidades en donde habita suelen ser semiabiertas, con árboles pequeños y gran diversidad de suculentas como cactáceas, bromeliáceas y otras agaváceas. *A. kerchovei* es una de las pocas especies que puede persistir en zonas con altos niveles de erosión (Gentry, 1982).

En la región de Tehuacán-Cuicatlán a esta especie se le conoce como “cacayas”, “rabo de león” o “maguey ixtle” y se le aprovecha como recurso textil, pues de la fibra que se obtiene de sus hojas, se elaboran cordeles, canastos, ayates y estropajos. También se utiliza como forraje para ganado caprino u ovino, y además tiene un uso ornamental. Con las rosetas se elaboran escobas, y a partir del qurote (el tallo de la inflorescencia) se construyen cercos y corrales. Los botones florales se utilizan como alimento, siendo de gran importancia para los pobladores de las localidades de San Rafael y San Gabriel, en Puebla (Brena-Bustamante *et al.*, 2013).

El aprovechamiento de *A. kerchovei* como alimento se da en la época de floración, que va de octubre a enero. Esta forma de aprovechamiento conlleva la interrupción del proceso reproductivo de los individuos afectados, con el consecuente efecto que esto puede tener sobre la misma población de *A. kerchovei*, así como sobre sus polinizadores (que presumiblemente son murciélagos, aves o insectos; Gentry, 1982) y otros organismos que interactúan con él.

2.2 Sitio de colecta

La localidad en la que se llevó a cabo la colecta de las semillas de *A. kerchovei* está en el municipio de Cañada Morelos, en el estado de Puebla, México. Esta localidad se encuentra situada en las zonas altas que limitan el Valle de Tehuacán

(< 2000 m s.n.m.), pero que ya no forman parte del polígono de la Reserva de la Biosfera de Tehuacán-Cuicatlán (RBT-C). Sin embargo, su colindancia directa con el Valle de Tehuacán la convierte en una zona altamente diversa y muy interesante, pues en ella se presenta un tipo de vegetación reconocido como “Mexical” (Valiente-Banuet, *et al.*, 1991) en el que coexisten elementos de la zona semiárida del Valle de Tehuacán y de la zona templada de mayor elevación que colinda con ésta. El Valle de Tehuacán presenta una alta diversidad de agaváceas, cactáceas y otras plantas suculentas (Albino-García *et al.*, 2011) y se le considera como el área de diversificación y de mayor riqueza del género *Agave* y de varios géneros de cactáceas (Davila *et al.*, 2002).

El sitio de la colecta (N 18° 42' 24.65" y O 97° 24' 04.33") está situado a una altitud de 2300 – 2400 m s.n.m., y se ubica aproximadamente a 4 km al sureste del poblado de Morelos Cañada, colindante con la carretera 144 (Azumbilla-Tehuacán) (Figura 2.2). La precipitación anual en esta zona es de 375.5 mm y la temperatura media anual es de 13.4 °C (CONAGUA, 2010; Estación climatológica Cañada Morelos). El clima es de tipo BS₁kw(w)igw", semiseco a templado con lluvias en verano (según García, 2004 en Vázquez, 2013). El suelo es derivado de rocas calizas, poco profundo y con afloramientos de roca madre. La pendiente del terreno es, en promedio, de 24.7 ° ± 8.7 d. e. (Vázquez, 2013).

El tipo de vegetación en el sitio de estudio es un matorral rosetófilo sub-montano (también llamado “Mexical”), en el que los elementos fisonómicos más importantes son *Agave potatorum*, *A. macroacantha*, *A. kerchovei*, *Lippia graveolens*, *Yucca periculosa*, *Salvia thymoides*, *Dasyilirion serratifolium* y *Quercus sebifera*, de las cuales estas dos últimas son dominantes (Valiente-Banuet *et al.*, 1991).

En esta localidad se han observado prácticas extractivas de “mármol”, que es abundante en la zona (Vázquez, 2013) y en las laderas aledañas hay campos de cultivo de temporal en los que se siembra maíz.

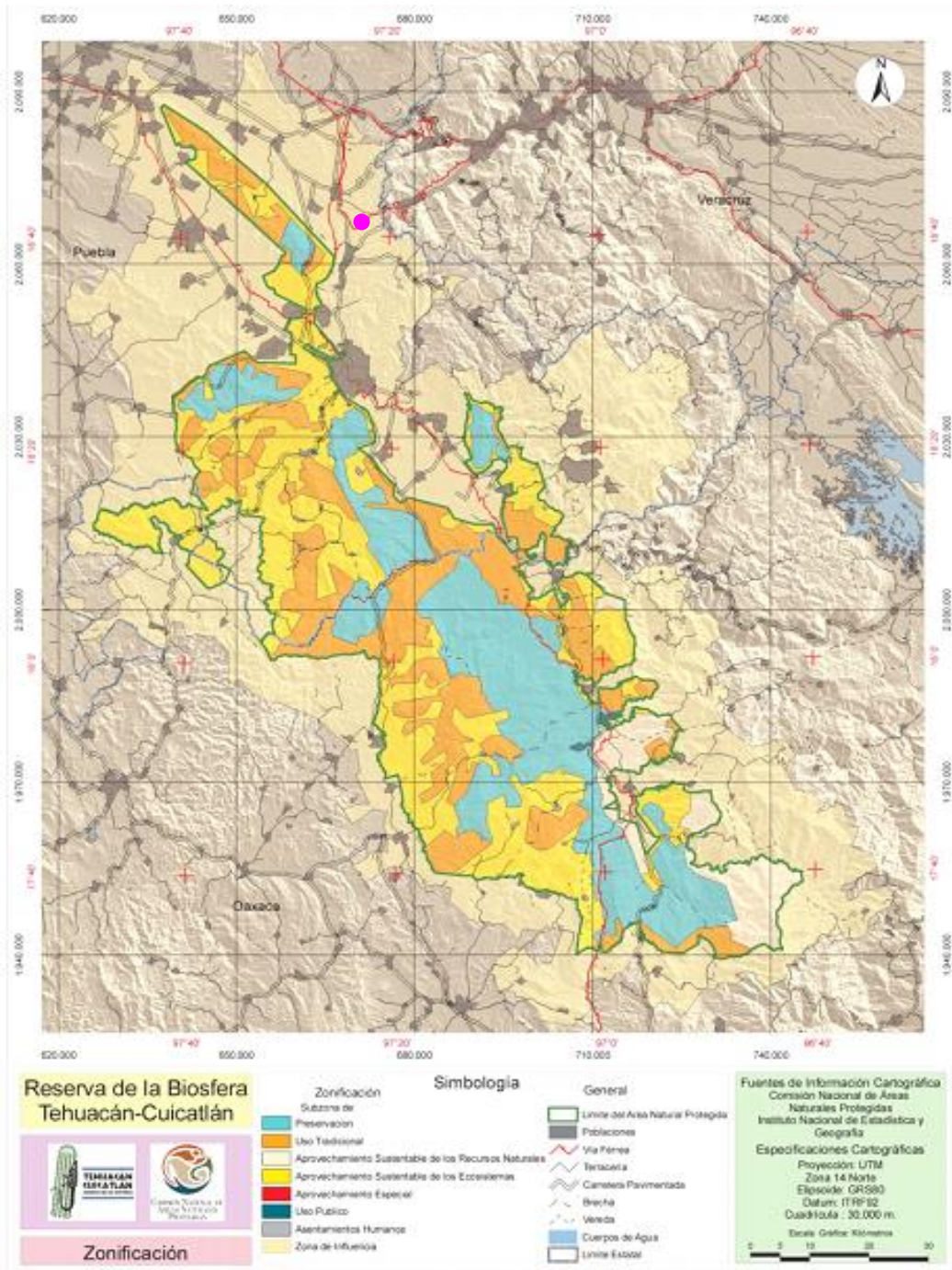


Figura 2.2 Polígono de la Reserva de Tehuacán-Cuicatlán, en Puebla y Oaxaca, y localización del sitio de colecta de semillas (punto rosa en la parte superior izquierda).

Capítulo 3. Métodos

3.1 Colecta y almacenamiento de las semillas

Se colectaron semillas de *A. kerchovei* de seis individuos en la localidad de Cañada Morelos (Fig. 2.2) a principios de agosto 2014. Las semillas colectadas de cada individuo se almacenaron por separado en bolsas de papel de estraza durante 15 días.

3.2 Germinación de semillas

Antes de la siembra, las semillas se desinfectaron por dos minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 1% y posteriormente se enjuagaron con agua corriente. La siembra se llevó a cabo el 21 de agosto de 2014, en cajas de petri de plástico con un sustrato de arena sílica humedecida con agua destilada. En cada caja de petri se sembraron 20 semillas (con algunas excepciones – ver más abajo) y cada tratamiento constó de 4 repeticiones. Los factores experimentales a los que se sometieron las semillas fueron: radiación lumínica (con dos niveles, presencia y ausencia); temperatura (con dos niveles: constante de 25°C y fluctuante de 15-25°C); y la identidad de la planta parental (con seis niveles). De esta manera, cada tratamiento constó de una combinación de identidad de la planta parental x temperatura x radiación lumínica (6 x 2 x 2), según se señala en la Figura 3.1.

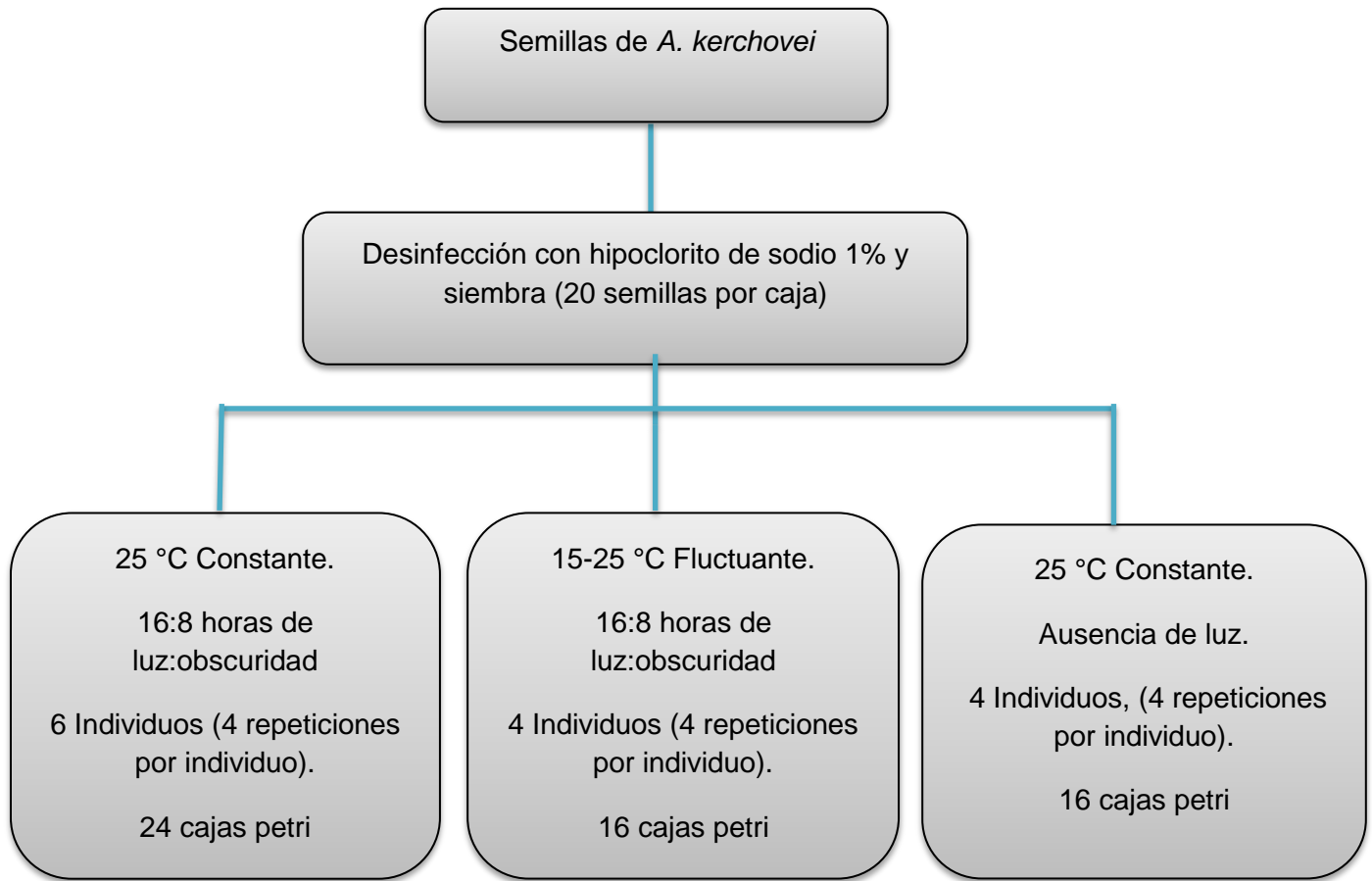


Figura 3.1. Desarrollo experimental para la germinación de semillas. La diferencia en el número de individuos parentales de cada experimento estuvo relacionada con la cantidad de semillas disponibles de cada individuo parental.

Las cajas de petri con las semillas se mantuvieron en cámaras de ambientes controlados, en el Taller de Recursos Naturales de la Facultad de Ciencias, UNAM. Los tratamientos de temperatura y radiación lumínica aplicados a las semillas de cada planta se identificaron como 1, 2 y 3, de la siguiente forma:

1. Temperatura constante de 25°C, en presencia de radiación lumínica (luz blanca cálida), con un fotoperiodo de 16:8 (horas de luz:obscuridad).

2. Temperatura fluctuante (15 a 25°C), en presencia de radiación lumínica con un fotoperiodo de 16:8 (horas de luz:oscuridad), las horas de luz coincidiendo con las temperaturas altas.
3. Temperatura constante de 25°C, en ausencia de radiación lumínica (cubriendo las cajas de Petri con un doble forro de papel de aluminio grueso).

Se realizó un seguimiento de la germinación de las semillas a lo largo del tiempo, y se revisaron las cajas de Petri cada tercer día. Al final del experimento (cuando ya no se observó más germinación por más de 5 días) se obtuvo el porcentaje final de germinación y la velocidad de germinación a través del coeficiente de Kotowski (CV); este último es una medida de la distribución de la germinación en el tiempo en relación con el número de semillas germinadas por día (Kotowski, 1926) y se calcula de la siguiente forma:

$$CV = (\sum n_i / \sum (n_i t_i)) * 100$$

donde n_i es el número de semillas germinadas en el día i y t es el número de días después de la siembra. Los valores de CV varían entre 0 y 100; un valor alto representa una velocidad de germinación alta (González-Zertuche & Orozco-Segovia, 1996).

Ambas variables se sometieron a un ANOVA factorial para analizar el efecto de los factores experimentales (radiación lumínica, temperatura e identidad de la planta parental) sobre ellas. Los porcentajes finales de germinación se transformaron a arcoseno para cumplir con el supuesto de normalidad. La prueba *post hoc* utilizada ($\alpha=0.05$) fue la de Tukey. Los análisis se llevaron a cabo en el programa STATISTICA (versión 7).

3.3 Crecimiento de plántulas

Para llevar a cabo este experimento, se utilizaron plántulas obtenidas a partir de semillas provenientes solamente de tres de los organismos parentales de los que se colectaron semillas, pues de los demás no hubo suficientes plántulas. Éstas se obtuvieron a partir de los experimentos de germinación antes descritos. Una vez que germinaron las semillas, las plántulas resultantes se trasplantaron a macetas de 10 x 9 x 7 cm, con sustrato mixto formado por 90 % de tierra negra y 10 % de agrolita. Las plántulas se mantuvieron en el invernadero de la Facultad de Ciencias, UNAM del 4 de diciembre del 2014 al 11 de julio del 2015 con una temperatura promedio de 15.5° C durante ese periodo y un promedio de 643 de radiación lumínica a la 1 pm.

Las plántulas se sometieron a un experimento factorial en el que los factores experimentales fueron los siguientes:

1. Frecuencia de riego, con dos niveles: frecuente (100 ml de agua por planta, dos veces por semana) y esporádico (100 ml de agua por planta, una vez por semana).
2. Radiación lumínica, con dos niveles: expuestas y sombreadas. Las sombreadas se cubrieron con una malla de sombra que deja pasar sólo el 40 % de la radiación lumínica; la malla se ajustó individualmente a cada maceta, engrapándola para formar una especie de bolsa.
3. Planta parental, con tres niveles.

Las plántulas provenientes de cada planta parental se sometieron a los tratamientos de frecuencia de riego y radiación lumínica, los cuales se identificaron como 1, 2, 3, y 4: 1) riego frecuente, expuestas; 2) riego esporádico, expuestas; 3) riego frecuente, sombreadas; y 4) riego esporádico, sombreadas. Las macetas correspondientes a cada tratamiento se marcaron con cucharitas de plástico de diferentes colores.

En el momento en el que se empezaron a aplicar los tratamientos, un mes

después de la siembra de las plántulas (el 11 de febrero del 2015) se realizó una cosecha inicial de 6 plántulas provenientes de cada organismo parental. Y posteriormente se hizo una cosecha final después de seis meses de aplicación de los tratamientos (11 de julio del 2015). Inmediatamente después de cosechar las plántulas, se colocaron dentro de pequeñas bolsas de papel de estraza y se introdujeron en un horno de secado a una temperatura de 80°C por 48 hrs. Después se registró el peso seco de la parte aérea y de la raíz de cada plántula en una balanza analítica. Con estos valores se calculó la tasa relativa de crecimiento (*TRC*) (relative growth rate – *RGR*), la variable *K* y la relación *R/V* (raíz / vástago) (root / shoot ratio - *R/S*), (Campbell & Grime, 1989; Hunt, 1990 en Valverde *et al*, 1997), de la siguiente manera:

$$TRC = (\ln P_f - \ln P_i) / (t_f - t_i)$$

donde P_f representa la biomasa seca final, P_i corresponde a la biomasa seca inicial y t se refiere al tiempo, en días, desde la cosecha inicial hasta la cosecha final. Así, las unidades de esta variable son gramos por gramo por día (g/g/día).

Las demás variables del análisis de crecimiento realizado calcularon como:

$$K = TRC_{raíz} / TRC_{vástago}$$

$$R/V = P_{raíz} / P_{vástago}$$

donde *TRC* es la tasa relativa de crecimiento antes definida, y *P* se refiere al peso seco.

Posteriormente, para evaluar el efecto de los factores experimentales sobre los parámetros de crecimiento (*TRC*, *K* y *R/V*), se realizó un análisis de varianza factorial que permitió evaluar el efecto de cada factor por separado sobre las variables de respuesta, así como, el efecto de la interacción entre los factores considerados.

Capítulo 4. Resultados

4.1 Germinación de semillas

El número de semillas colectadas en el campo difirió entre los individuos parentales; para algunos individuos se obtuvieron pocas semillas, por lo que el único experimento que incluyó a los seis individuos parentales fue el de temperatura constante. Alrededor del 60% de las semillas eran de color blanco en los frutos colectados de los seis individuos (se sabe que las semillas blancas no posee embrión; Albarrán 2011). En total se pusieron a germinar 1120 semillas, de las cuales 480 se utilizaron para el tratamiento con temperatura constante y luz; 320 para el tratamiento con temperatura fluctuante y luz; y 320 para el tratamiento de temperatura constante y oscuridad.

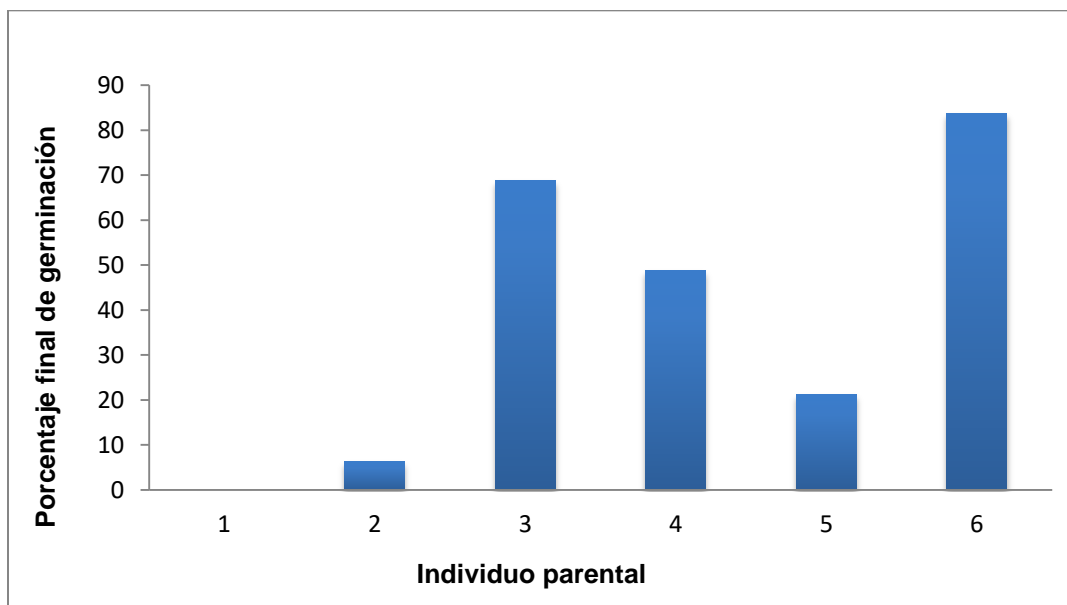


Figura 4.1. Promedio del porcentaje final de germinación de las semillas de cada individuo parental (bajo temperatura constante de 25 °C y luz). N = 4 cajas petri por individuo parental.

En general, las semillas que alcanzaron el mayor porcentaje final de germinación

fueron las del tratamiento de temperatura constante y luz, con 38.12%; mientras que las de temperatura fluctuante y luz alcanzaron un 25.6%. Por otro lado, las semillas bajo temperatura constante y oscuridad alcanzaron sólo 16.7% de germinación. El análisis estadístico sobre el porcentaje final de germinación mostró que hubo un efecto significativo del individuo parental del que provienen las semillas, tanto en el experimento de temperatura como en el de luz (Cuadro 4.1). Sin embargo, no hubo un efecto significativo del factor temperatura (constante vs. fluctuante), ni del factor luz (Cuadro 4.1), ni de la interacción entre ellos. Nótese que el efecto de la temperatura fue marginalmente significativo, siendo ligeramente mayor el porcentaje de germinación en temperatura constante que en temperatura fluctuante, con excepción de las semillas del individuo parental 3 (Cuadro 4.1, Fig. 4.2).

Cuadro 4.1. Resultado de los análisis de varianza llevados a cabo sobre el porcentaje final de germinación de las semillas de *A. kerchovei*. Los grados de libertad en ambos experimentos son 3 y 1 (número de individuos parentales = 4). Los valores significativos de *P* se encuentran en negritas.

Experimento	Factor	F	P
Tratamientos de temperatura (constante vs. fluctuante)	Individuo parental	71.53	0.001
	Tratamiento	0.30	0.059
	Interacción	0.14	0.257
Tratamientos de luz (presencia vs. ausencia) a temperatura constante	Individuo parental	59.11	< 0.001
	Tratamiento	2.36	0.130
	Interacción	1.64	0.205

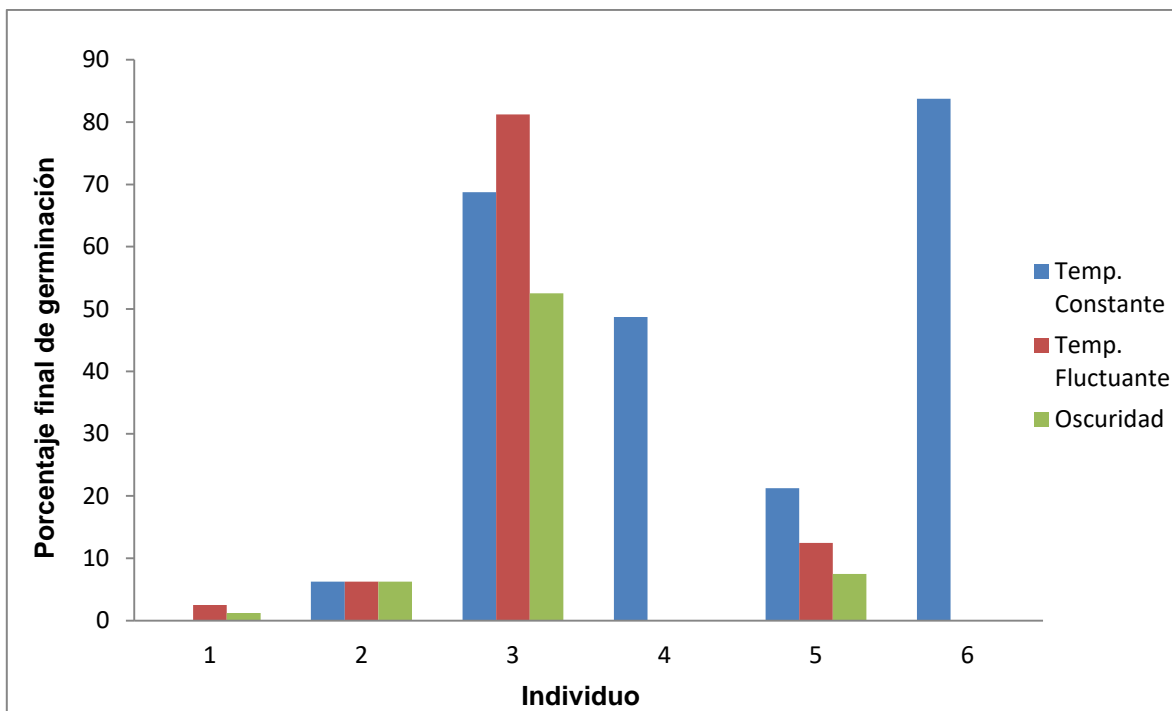


Figura 4.2. Promedio del porcentaje final de germinación por individuo parental, en cada uno de los tratamientos. Los dos tratamientos de temperatura se expusieron a un fotoperiodo de 16:8 (horas de luz:oscuridad). El tratamiento de oscuridad se mantuvo a temperatura constante de 25 °C. La ausencia de valores de los individuos 4 y 6 a temperatura fluctuante y oscuridad se debe a que no se llevaron a cabo esos tratamientos en esos individuos debido a que no se contó con suficientes semillas. N = 4 cajas petri por individuo.

4.1.2 Velocidad de germinación

La germinación de las semillas de *A. kerchovei* tardó un máximo de 21 días; después de este periodo ya no se observó más germinación (en el experimento de temperatura constante). La primera semilla germinó dos días después de la siembra y la mayor parte de las semillas germinó durante los primero cinco días (Fig.4.3).

El efecto del individuo sobre la velocidad de germinación (medida con el C.V. de Kotowski) fue altamente significativo ($F = 5.45$; $P = 0.003$; g.l. = 5 y 18). En la

trayectoria temporal de la germinación puede verse que mientras las semillas del individuo 4 empezaron a germinar desde el día 2, las del individuo 5 no comenzaron a hacerlo sino hasta el día 5 (Fig. 4.3).

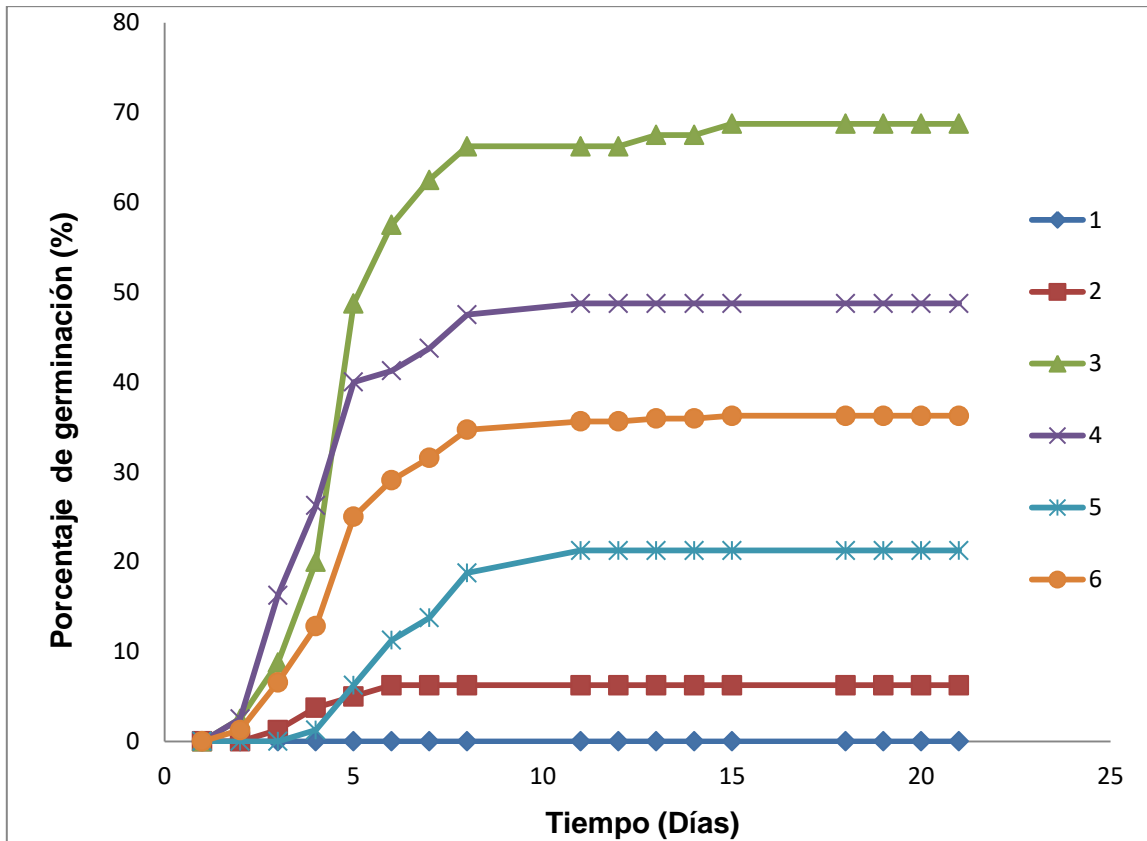


Figura 4.3. Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de *A. kerchovei* provenientes de diferentes individuos parentales, puestas a germinar a temperatura constante. N = 4 cajas petri por individuo.

Por otro lado, en el análisis de varianza factorial de la velocidad de germinación de las semillas de 4 individuos parentales bajo los dos tratamientos de temperatura, se obtuvo que ésta se vio afectada significativamente por el factor individuo ($F = 3.96$, $P = 0.034$, g.l. = 3 y 24) y por la interacción entre el individuo y el tratamiento de temperatura ($F = 3.15$, $P = 0.043$, g.l. = 3 y 24), lo cual indica que la velocidad de germinación de las semillas de cada individuo dependió del régimen de temperatura (constante vs. fluctuante; Fig. 4.4). Por ejemplo, bajo temperatura constante las semillas que germinaron más rápido fueron las del individuo 4,

mientras que bajo temperatura fluctuante, las más rápidas fueron las del individuo 3 (Fig. 4.4). El efecto del tratamiento en este experimento fue marginalmente significativo ($F = 3.93$, $P = 0.06$, g.l. = 1 y 24); las semillas germinaron ligeramente más rápido bajo temperatura constante que bajo temperatura fluctuante. Las semillas del individuo 3 fueron las más rápidas, pues empezaron a germinar desde el día 2 en el tratamiento de temperatura constante, mientras que las semillas del individuo 5 fueron las más lentas en germinar, empezando el día 7 en el tratamiento de temperatura fluctuante (Fig. 4.5).

En el tratamiento de obscuridad no se analizó la velocidad de germinación, pues las cajas de Petri se cubrieron con un doble forro de papel de aluminio y no se destaparon sino hasta el final del experimento.

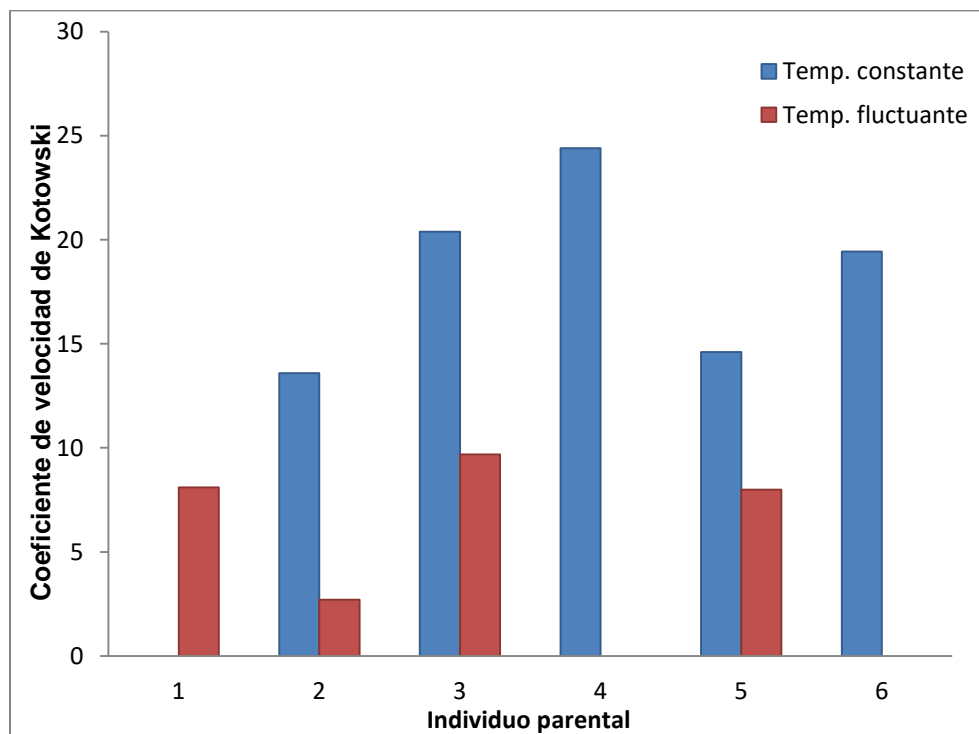


Figura 4.4. Velocidad de germinación de las semillas de *A. kerchovei* por individuo parental en ambos tratamientos de temperatura (constante y fluctuante). La ausencia de valores de los individuos 4 y 6 a temperatura fluctuante se debe a que no se llevó a cabo dicho tratamiento en esos individuos, debido a que no se contó con suficientes semillas. $N = 4$ cajas petri por individuo.

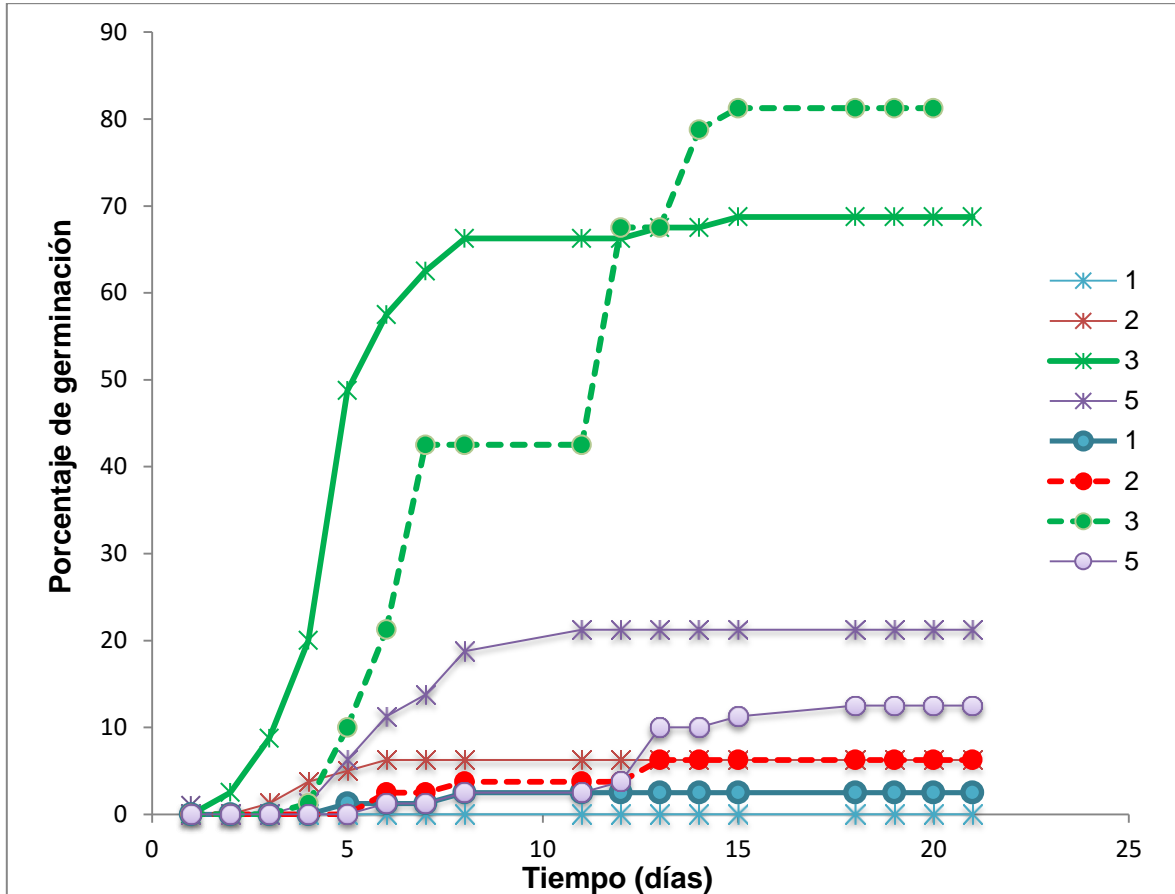


Figura 4.5. Porcentaje acumulado de germinación de las semillas de *A. kerchovei* provenientes de diferentes individuos parentales en condiciones de temperatura constante (representadas con el símbolo *) y fluctuante (representadas símbolo en forma de círculo) respecto al tiempo. N = 4 cajas de petri por individuo.

4.2 Crecimiento de plántulas

4.2.1 Características de las plántulas

En esta sección se trabajó con plántulas provenientes de tres individuos parentales (3, 4 y 6), en un experimento con un diseño factorial que incluyó dos tratamientos de riego y dos tratamientos de radiación solar. Después de ser

trasplantadas y ubicadas en el invernadero, las plántulas adquirieron un color rojizo, característica que mantuvieron la mayoría de los individuos hasta finalizar el experimento (Fig. 4.6).

Para esta parte del trabajo se redujo la variable de número de individuos debido al reducido número de plántulas provenientes de algunos individuos parentales (1, 2 y 5), de esta manera los tratamientos y las mediciones correspondientes fueron aplicados solamente a las plántulas provenientes de los individuos 3, 4 y 6.



Figura 4.6 Plántula de *A. kerchovei* durante la primera semana después del transplante al invernadero (izquierda) y al cabo de tres semanas en dichas condiciones (derecha) cuando empezaron a adquirir un color rojizo.

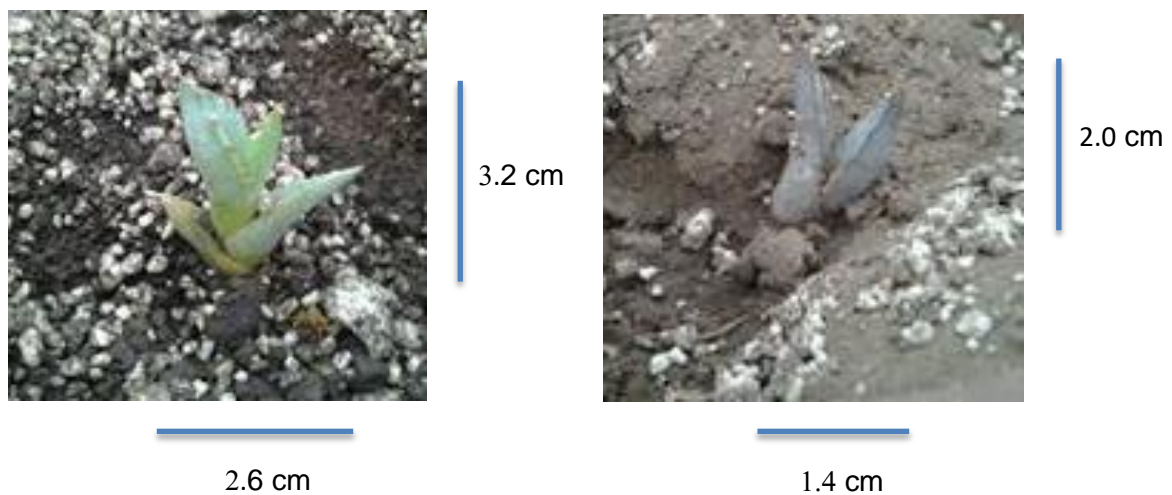


Figura 4.7 Plántulas de *A. kerchovei* al final del experimento, la de la izquierda con cuatro hojas, y la de la derecha con sólo dos hojas.

4.2.2 Cambio (Δ) del peso de las plantas y tasa relativa de crecimiento (TRC)

Al finalizar los tratamientos, después de los seis meses que duró el experimento, se registró una supervivencia del 100%. Durante este periodo, el promedio del cambio en el peso seco total (ΔPS) fue de 0.0244 g, d⁻¹ el cual tuvo dos componentes: un cambio promedio en el peso seco de la parte aérea de 0.0162 g, y un cambio promedio en el peso seco de la raíz de y 0.0082 g. Los valores mayores de ΔPS los obtuvieron las plántulas que estuvieron bajo radiación solar directa, independientemente de la frecuencia de riego (Figura 4.8).

El análisis de varianza factorial que se llevó a cabo sobre el cambio en el peso seco total (ΔPS), el de la parte aérea (ΔPS_v) y el de la raíz (ΔPS_r) indicó que hubo un efecto significativo de la radiación solar sobre las tres variables, y que además hubo un efecto significativo de la interacción entre la radiación solar y el individuo parental sobre las variables ΔPS y ΔPS_v . El efecto del individuo parental también fue significativo sobre ΔPS_r (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2. Resultados de los análisis de varianza factorial sobre el cambio en el peso seco total, el peso seco de la raíz y el de la parte aérea de las plántulas de *A. kerchovei* al cabo de 6 meses de aplicación de los tratamientos. Sólo se presentan aquí los efectos que resultaron significativos.

Variable	Factor	F	P
ΔPS	Radiación solar	24.22	0.0001
	Radiación solar x individuo parental	3.63	0.0296
ΔPS_r	Individuo parental	4.35	0.0151
	Radiación solar	5.02	0.0270
ΔPS_v	Radiación solar	25.61	0.0001
	Radiación solar x individuo parental	5.23	0.0067

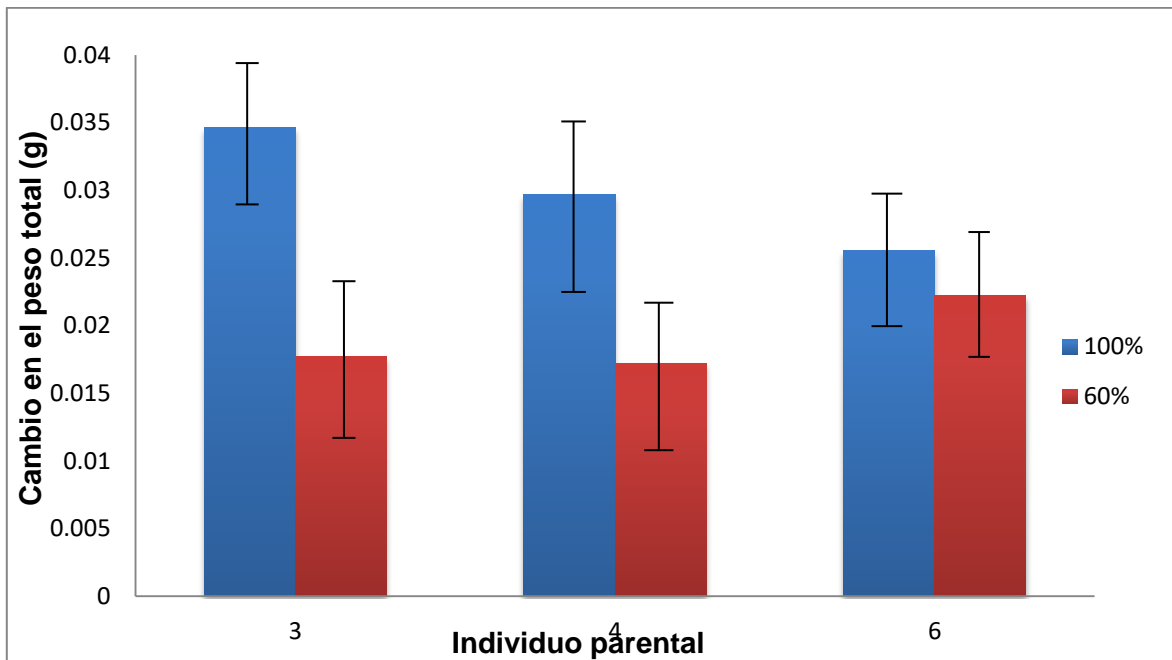


Figura 4.8. Promedio del cambio en el peso seco total (ΔPS) de las plántulas de tres individuos parentales (3, 4 y 6) bajo diferentes intensidades de radiación solar (60 y 100%). Error estándar.

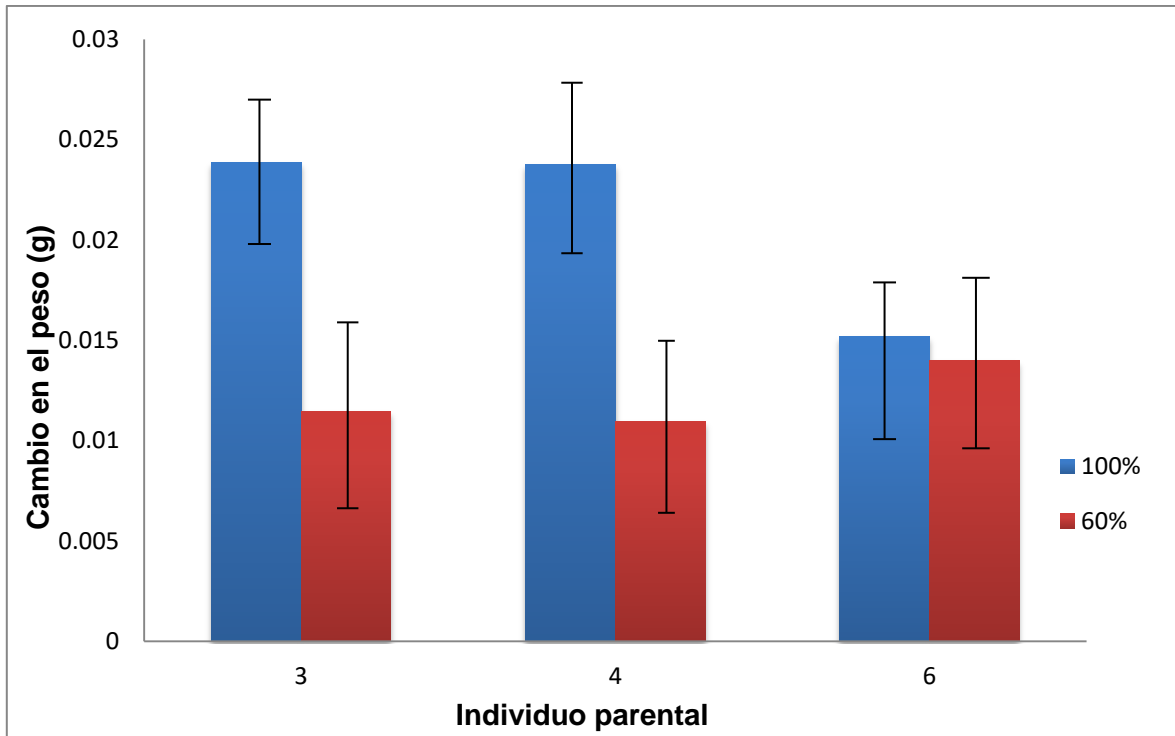


Figura 4.9. Promedio del cambio en el peso seco aéreo de las plántulas (ΔPS_v) de tres individuos parentales (3, 4 y 6) bajo diferentes intensidades de radiación solar (60 y 100%). Error estándar.

Las plántulas del individuo parental 3 tuvieron el mayor incremento en el peso seco total cuando estuvieron expuestas al 100% de radiación solar, mientras que bajo la malla de sombra fueron las plántulas del individuo parental 6 las que mostraron el mayor incremento (Fig. 4.8). En lo que respecta al peso seco aéreo, las plántulas de los individuos 3 y 4 mostraron los mayores incrementos cuando las plántulas estuvieron a 100% de radiación solar; sin embargo, cuando estuvieron bajo la malla de sombra la diferencia entre las plántulas provenientes de los distintos individuos parentales fue mínima (Fig. 4.9).

Con respecto a la tasa relativa de crecimiento (TRC), el promedio para todas las plántulas fue de 0.0843 g/g/d. El análisis de varianza factorial sobre esta variable reveló un efecto significativo de la radiación solar ($F = 22.26$, $P = 0.00001$) y de la interacción entre ésta y el individuo parental ($F = 3.54$, $P = 0.0321$). Los valores de TRC fueron mayores en las plántulas expuestas al 100% de radiación solar; y la

variación entre los valores de TRC de las plántulas de distintos individuos parentales fue mayor en condiciones de alta radiación solar que bajo las mallas de sombra (Fig. 4.10)

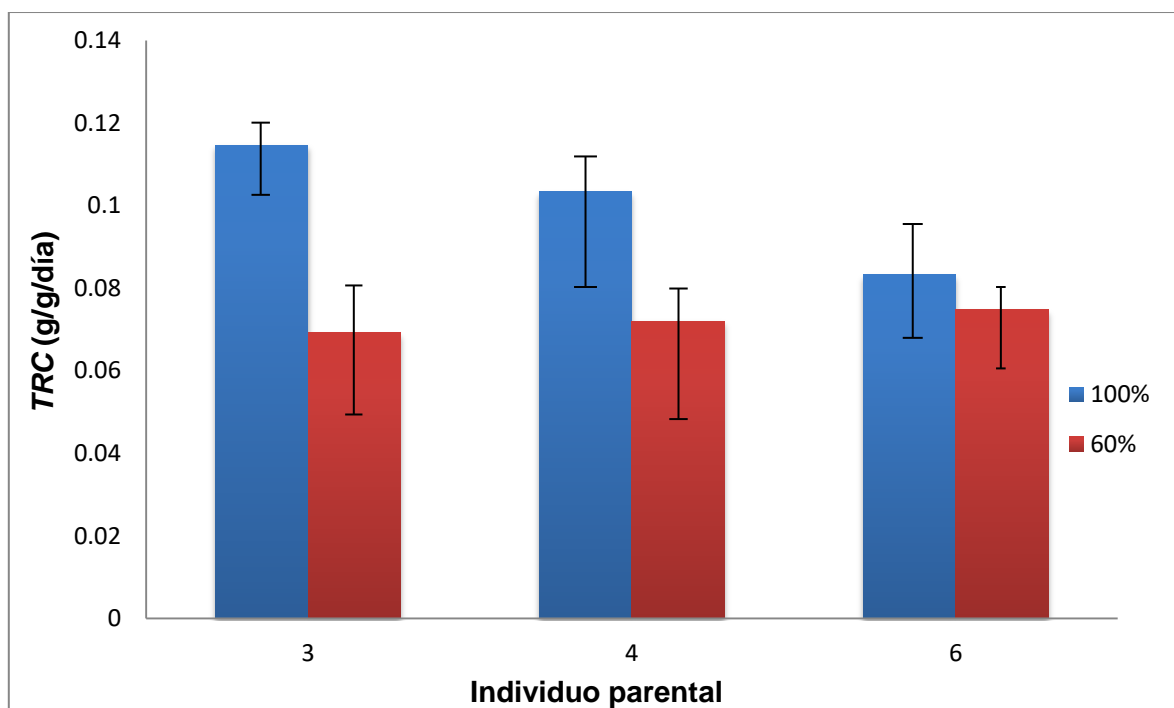


Figura 4.10. Promedio de la tasa relativa de crecimiento (TRC) de las plántulas de tres individuos parentales (3, 4 y 6) bajo diferentes intensidades de radiación solar (60 y 100%). Error estándar.

4.2.3 Cociente R/V y variable K

Los valores del cociente raíz / vástago (R/V) fueron siempre menores que uno, lo que indica que la parte aérea consistentemente tuvo un mayor peso seco final comparado con el de la raíz (Fig. 4.11). El análisis de varianza factorial sobre esta variable mostró que hubo un efecto significativo sólo de la interacción entre la radiación solar y el individuo parental ($F = 3.13$, $P = 0.0475$). Las plántulas del individuo 4 mostraron grandes diferencias en los valores de R/V dependiendo de si estuvieron expuestas a la radiación solar, o bajo la malla de sombra, siendo mayores los valores de R/V bajo la sombra (Fig. 4.11). En las plántulas de los

otros dos individuos la variación en el R/V fue menos marcada (Fig. 4.11).

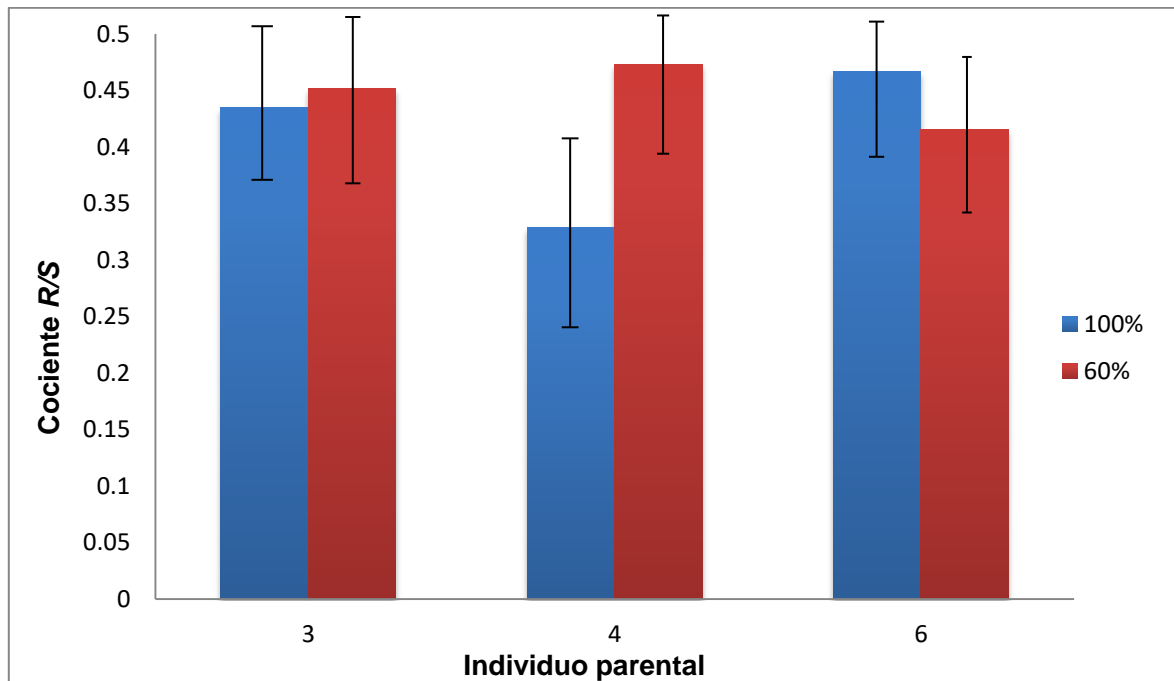


Figura 4.11. Promedio del cociente R/V de las plántulas de tres individuos parentales (3, 4 y 6) bajo diferentes intensidades de radiación solar (60 y 100%). Al ser un cociente no tiene unidades. Error estándar.

Por último, la variable K mostró un valor promedio de 1.5024, lo que implica que la parte aérea tuvo un crecimiento más rápido que la raíz. No se observó un efecto significativo de ninguno de los factores, ni de ninguna de las interacciones sobre esta variable. Sin embargo, el efecto del individuo parental fue marginalmente significativo ($F = 2.99$, $P = 0.0541$, g.l = 2 y 1) (Fig. 4.12) pues las plántulas del individuo 6 mostraron valores de K más elevados a los de los individuos 3 y 4.

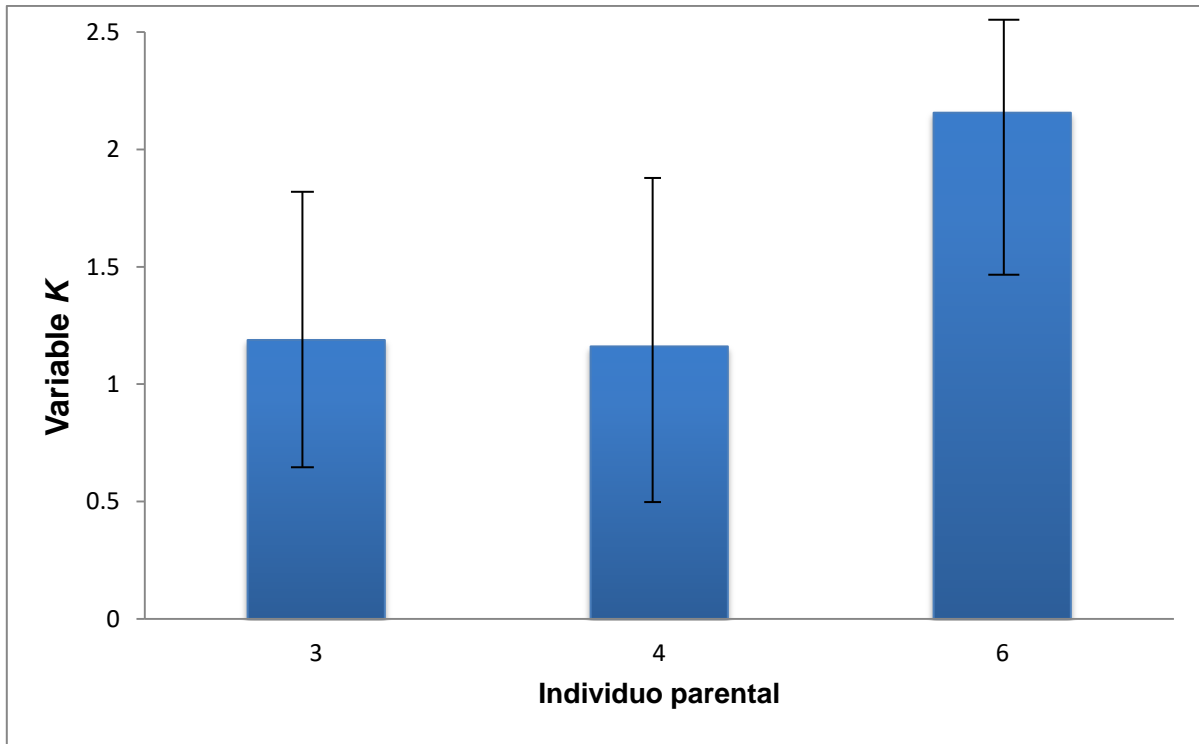


Figura 4.12. Promedio de la variable K de las plántulas de tres individuos parentales (3, 4 y 6). Al ser un cociente no tienen unidades. Error estándar.

Capítulo 5. Discusión y Conclusiones

5.1 Germinación de semillas

Durante la colecta de semillas en campo se observó que los frutos contenían un gran porcentaje de semillas blancas (alrededor del 60%). Éstas no se consideraron para las pruebas de germinación, ya que diversos estudios con especies del género *Agave* y otras agaváceas han mostrado que se trata de semillas vanas (Hernández, 2009; Ramírez, 2010; Albarrán, 2011; Brena, 2012). En el estudio de Albarrán (2011) con *Furcraea parmentieri*, se demuestra que las semillas blancas carecen de un embrión desarrollado. Si bien aún no se sabe cuál es la causa de este fenómeno, algunos estudios sugieren que puede deberse a una meiosis mal desarrollada en la formación del gametofito femenino (Piven *et al.*, 2001). Otros sugieren que la formación de semillas blancas es una expresión de una depresión por endogamia que se asocia a una limitación de polinizadores, con la consecuente escasez de polinización cruzada (Eguiarte *et al.*, 2000). El alto porcentaje de semillas blancas en *A. kerchovei* podría estar asociado a este último fenómeno, lo cual nos habla de la importancia de profundizar en el estudio de la variabilidad genética y el éxito reproductivo en poblaciones de *Agave*.

Como se observó en los resultados, la respuesta germinativa de las semillas sometidas a los diferentes tratamientos de luz y temperatura difirió marcadamente según el individuo parental del que provenían (Cuadro 4.1 y Fig. 4.2). La variación fue muy alta, desde un individuo cuyas semillas no germinaron, hasta otro cuyas semillas mostraron un porcentaje de germinación cercano al 90 % (Fig. 4.1). También la velocidad de germinación mostró una gran variación, desde $CV = 2.7$ hasta $CV = 24.4$ (Coeficiente de Velocidad de Kotowski; Fig. 4.4).

Lo anterior sugiere, de entrada, que existe un efecto parental sobre las características germinativas de las semillas que podría estar asociado a las condiciones de desarrollo de los individuos parentales, o que hay un componente genético que afecta su comportamiento. Sería de gran interés examinar esta

variación en mayor detalle y poder analizar qué porcentaje de la variación en el comportamiento germinativo es de origen genético, qué porcentaje es de origen ambiental (i.e. efecto parental) y qué porcentaje es debido a la interacción entre el genotipo y el ambiente (Sultan, 2000; Gianoli, 2004 en Brena, 2012). Se pueden observar evidencias de dicha interacción al menos en la velocidad de germinación, pues se observó un efecto significativo de la interacción entre individuo parental y temperatura sobre esta variable: bajo temperatura fluctuante la diferencia en la velocidad de germinación de las semillas de los distintos individuos parentales no fue muy marcada, mientras que bajo temperatura constante se observaron diferencias entre ellos en cuanto a la velocidad de germinación (Fig. 4.4); es decir, la respuesta ante la temperatura depende en alguna medida del individuo parental. Es importante decir que, hasta la fecha, no se habían llevado a cabo experimentos de germinación en especies del género *Agave* que revelaran la existencia de esta interacción, ni tampoco del efecto parental en sí mismo (Gentry, 1982). Por esta razón, estos resultados abren la puerta para una exploración más profunda de las consecuencias ecológicas y evolutivas de este fenómeno.

El promedio, el porcentaje de germinación de las semillas de *A. kerchovei* fue relativamente bajo, por debajo del 50%. Aunque en algunos agaves se han encontrado porcentajes altos de germinación (e.g. *A. macroacantha* con 75%; Arizaga, 1998; *Agave duranguensis* con 94-96 %; Lara, 2016), en otros casos se han encontrado porcentajes bastante menores: en *A. tequilana*, entre el 4 y 6 % de germinación (Ramírez, 2010; Lara, 2010), *A. deserti* con solo el 1% (Nobel, 1988) y en un estudio previo con *A. kerchovei*, entre 19 y 41 % (en poblaciones de Puebla y Oaxaca; Brena, 2012). En términos de sus efectos sobre la regeneración de las poblaciones, el bajo porcentaje de germinación en algunas especies de *Agave* podría verse compensado por la propagación vegetativa, como se ha observado en *A. tequilana* (Lara, 2016).

Los porcentajes de germinación relativamente bajos obtenidos con las semillas de *A. kerchovei* podrían estar asociados a la presencia de latencia. Es común que en un conjunto de semillas colectadas simultáneamente, se presente variación en la

profundidad de la latencia entre ellas, lo cual puede explicarse a partir de diferencias genéticas, diferencias en el tiempo de maduración del embrión, o diferencias en la tasa de imbibición de las semillas debida a distintos niveles de permeabilidad de la testa, entre otros factores (Ramírez-Tobías *et al.*, 2011, Sultan, 2000; Gianoli, 2004 en Brena, 2012).

Curiosamente, se obtuvieron porcentajes relativamente más altos de germinación bajo una temperatura constante de 25 °C, que bajo temperatura fluctuante, a pesar de que en condiciones naturales claramente la temperatura fluctúa de manera marcada entre el día y la noche durante la temporada de lluvias, que es cuando se esperaría que las semillas germinaran en el campo (Valiente, 1991). Sin embargo, una mayor respuesta germinativa bajo temperatura constante podría funcionar como un mecanismo que le permitiría a la semilla 'identificar' si se encuentra bajo la sombra de alguna planta nodriza o en un espacio abierto, pues la variación de temperatura entre día y noche es mucho menor bajo un arbusto que en los espacios abiertos. Así, es posible que la sensibilidad de las semillas de *Agave kerchovei* a cambios en la temperatura tenga un papel 'sensor' importante en cuanto a las características del microhábitat en el que se encuentra la semilla.

En ambientes áridos y semiáridos se considera que una alta velocidad de germinación es de gran valor adaptativo, pues hay una baja disponibilidad de agua y altas temperaturas, lo que determina que el suelo pierda agua rápidamente (Evans & Etherington, 1990). De hecho, la velocidad de germinación de las semillas de *A. kerchovei* fue bastante alta en comparación con lo que se ha observado en otros agaves, como *A. mapisaga* y *A. angustifolia* que germinaron a los 5 y 7 días respectivamente (Ramírez-Tobías *et al.*, 2013); y fue similar al de otras plantas de zonas áridas como las cactáceas *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus flavovirens*, *Ferocactus latispinus*, *Ferocactus recurvus*, *Ferocactus robustus*, *Myrtillocactus geometrizans*, *Neobuxbaumia tetetzo*, *Opuntia puberula* y *Pachycereus hollianus* (Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997; Godínez-Alvarez & Valiente-Banuet, 1998). En *A. kerchovei* las primeras semillas empezaron a germinar al cabo de 2 días, y a partir del día 21 ya no se observó más germinación. Los

resultados de Brena (2012) con esta misma especie fueron similares.

Precisamente por su valor adaptativo, la variación en la velocidad de germinación de las semillas de diferentes individuos parece ser de gran relevancia y sugiere que este carácter tiene el potencial de evolucionar por selección natural, en caso de que se presentaran cambios importantes en el régimen de lluvias en las zonas en las que se distribuye *A. kerchovei*. Las semillas que germinen inmediatamente al iniciar las lluvias podrían tener cierta ventaja adaptativa si el patrón de lluvias fuera constante y predecible (i.e. si una vez iniciadas las lluvias, la disponibilidad de agua se mantuviera alta y constante durante los primeros meses de establecimiento de las plántulas), dando lugar a individuos juveniles ya desarrollados y establecidos al final de la temporada de lluvias. Sin embargo, si el patrón de lluvias se volviera más errático (i.e. si durante la temporada de lluvias hay periodos con humedad muy alta, y periodos relativamente secos), sería más ventajosa una germinación retardada, en la que las semillas no germinaran sino hasta que el suelo hubiera acumulado una cantidad suficiente de agua para asegurar el establecimiento de las plántulas resultantes (Valverde, 1988; Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997).

El hecho de que se encontrara una interacción significativa entre el individuo parental y la temperatura en la velocidad de germinación muestra que las semillas de diferentes individuos parentales no sólo tienen velocidades de germinación diferentes, sino que además responden de manera distinta ante el régimen de temperatura. El efecto que tuvo la temperatura fluctuante de disminuir la velocidad de germinación (Fig. 4.4) pudo deberse no tanto a la fluctuación de temperatura en sí misma, sino al hecho de que la temperatura haya alcanzado valores por debajo de 25°C (dado que la fluctuación de temperatura fue de 5 a 25 °C), pues se sabe que dichas temperaturas inhiben o retardan la germinación (e.g. *A. angustifolia*, *A. duranguesis* y *A. salmiana*; Ramírez, 2010).

En relación con el tratamiento de oscuridad, sí se observó germinación en las semillas de *A. kerchovei* que estuvieron sometidas a oscuridad, aunque ésta fue ligeramente más baja que en condiciones de luz, sin que se llegara a observar una

diferencia significativa entre ambos tratamientos (Fig. 4.2; Cuadro 4.1). Estos resultados no coinciden con los de otras especies de la familia Agavaceae pues, en general, se ha observado un fuerte fotoblastismo positivo en varias de ellas (e.g. *Furcraea parmentieri*, Hernández, 2009, Albarrán 2011; *Agave angustifolia*, Arias, 2011;). El fotoblastismo positivo puede ser un mecanismo 'sensor' importante, sobre todo en semillas pequeñas y/o en ambientes muy sombreados, pues impide que las semillas germinen cuando éstas se encuentran enterradas, o cuando están bajo una sombra muy profunda, asegurando condiciones adecuadas para el establecimiento de la plántula (Vázquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1984; Vázquez-Yanes *et al.*, 1990). Sin embargo, en zonas áridas se espera una baja sensibilidad a la luz (Rojas-Aréchiga *et al.*, 1997); o si acaso, una preferencia por bajas intensidades lumínicas, lo cual le permitiría a las semillas identificar micrositios protegidos bajo la sombra de una nodriza, que son más favorables para el establecimiento de las plántulas en comparación con los espacios desprotegidos (Nobel, 1998; Arizaga & Ezcurra, 2002). En el estudio de Brena (2012), efectivamente se comprobó que las semillas de *A. kerchovei* muestran preferencia por condiciones de baja radiación lumínica.

5.2 Crecimiento de las plántulas

El momento en que las plántulas de *A. kerchovei* fueron trasplantadas y colocadas en el invernadero (donde había una radiación lumínica mucho mayor que en las cámaras de ambientes controlados, donde las semillas germinaron), éstas empezaron a adquirir una tonalidad rojiza. Lo mismo ocurrió en el estudio de Brena (2012) con esta especie y se sabe que ocurre en otras especies de Agave (P. E. Mendoza Hernandez, com. pers.); se cree que dicho comportamiento es el resultado de una respuesta foto-oxidativa provocada por la alta radiación lumínica. Las plantas responden a un incremento brusco de la radiación lumínica aumentando la producción de carotenoides (Demming-Adams & Adams, 1996), lo que les permite brindar protección a los tejidos vegetales. Los carotenoides son los responsables de la coloración rojiza que provee cierta protección ante el

exceso de radiación.

El cambio en el peso seco y la tasa relativa de crecimiento (*RGR*) de las plántulas de *A. kerchovei* fueron mayores en las plántulas sometidas a radiación solar directa, en comparación con las que estuvieron bajo malla de sombra. Además, se encontraron diferencias en estas variables según el origen de las plántulas (i.e. entre diferentes individuos parentales), así como una interacción entre radiación lumínica e individuo parental (Figs. 4.8 y 4.10). También en *Agave salmiana*, *Mammillaria magnimamma*, *Neobuxbaumia macrocephala* y *N. mezcalaensis* se ha observado una mayor tasa relativa de crecimiento con radiación solar directa que bajo la sombra (Ruedas *et al.*, 2000; Miquelajauregui & Valverde, 2010; Pérez-Sánchez *et al.*, 2015). Considerando que todas estas plantas, al igual que nuestra especie de estudio, son originarias de zonas áridas y semiáridas y que evolucionaron bajo condiciones de alta limitación de recursos, se esperaría que sus respuestas de crecimiento fueran poco plásticas (Grime *et al.*, 1981; Martínez-Berdeja & Valverde, 2008; Miquelajauregui & Valverde, 2010). Aun así, se observa una respuesta inequívoca ante un aumento en la radiación solar, lo cual indica que las plántulas pueden responder ante la variación en las condiciones lumínicas, creciendo más rápido cuando la disponibilidad del recurso luz es mayor. En condiciones naturales, el reto que imponen los microambientes abiertos, entonces, no está asociado al factor luz en sí mismo, sino al efecto limitante de las altas temperaturas y la baja humedad del sustrato que produce una radiación lumínica elevada (Martínez-Berdeja & Valverde, 2008).

A pesar de que se trabajó con plántulas provenientes sólo de tres individuos parentales, se pudo observar que claramente hubo un efecto del individuo parental, pues las plántulas provenientes del individuo 3 crecieron más rápido que las de los individuos 4 y 6 (Fig. 4.10). Además, dichas diferencias fueron evidentes sólo en alta radiación lumínica y no bajo la malla de sombra. Más aún, las respuestas de crecimiento no coincidieron totalmente con los resultados de los porcentajes de germinación de semillas, pues en dichos experimentos el individuo parental con mayor porcentaje de germinación fue el 6, seguido del 3 y por último

el 4 (Fig. 4.1). Es difícil elaborar más sobre la importancia ecológica y evolutiva de la complejidad de estas respuestas. Pero es claro que los resultados de esta tesis evidencian la necesidad de una exploración mucho más profunda en torno al efecto del individuo parental y su interacción con el ambiente en términos de sus efectos sobre el éxito de las fases tempranas de las plantas.

Por su parte, los resultados de la variable R/V también fueron interesantes. La variación en los valores de R/V entre las plántulas sometidas al 100% y al 60% de la radiación solar dependió del individuo parental (Fig. 4.11). Las plántulas del individuo 4 mostraron un claro aumento del valor de R/V (es decir, un incremento en la asignación de biomasa a la raíz con respecto a la de la parte aérea) cuando estuvieron bajo la malla de sombra que cuando estuvieron expuestas. Por otro lado, las plántulas del individuo 6 tuvieron la respuesta contraria, y las del individuo 3 prácticamente no mostraron variación en su R/V según la intensidad lumínica (Fig. 4.11). En general, se esperaría que las plántulas presentarían una tendencia a aumentar su asignación de biomasa a los órganos vegetales que se encuentren sometidos a una mayor limitación de recursos (Miquelajáuregui & Valverde, 2010). Así, sería esperable obtener menores valores de R/V (i.e. un aumento en la asignación a la biomasa aérea) en condiciones de sombra que bajo radiación directa. Esta respuesta se observó sólo en las plántulas del individuo 6, por lo que consideramos que los resultados de esta sección son poco concluyentes, en gran medida como producto del nuestro bajo tamaño de muestra (i.e., sólo 3 individuos parentales).

Cabe resaltar que los valores de R/V obtenidos en este trabajo fueron relativamente bajos, al igual que los encontrados en otras especies de zonas áridas, e.g. *Neobuxbaumia macrocephala*, *N. mezcalaensis*, *Agave lechuguilla*, *A. salmiana*, *Yucca filifera*, *Echinocactus platyacanthus*, *Ferocactus histrix*, *Myrtillocactus geometrizans* y *Stenocactus coptonogonus* (Miquelajáuregui & Valverde, 2010; Pérez-Sánchez *et al.*, 2015), lo cual confirma la tendencia a una mayor asignación de biomasa a la parte aérea que a la raíz durante las fases tempranas de desarrollo de estas plantas. Los resultados con respecto a la

variable K mostraron que no hubo una variación importante en la tasa de crecimiento de la raíz con respecto a la de la parte aérea en respuesta a los tratamientos. Sin embargo, la diferencia entre individuos parentales en cuanto a K fue marginalmente significativa, lo cual confirma que la mayor fuente de variación en las respuestas observadas fue entre individuos parentales.

En lo que corresponde al régimen de riego, vimos que éste no generó diferencias significativas en las variables de crecimiento medidas en las plántulas de *A. kerchovei*. Estos resultados coinciden con los de Martínez *et al.* (2012) con *A. potatorum*, y Sánchez *et al.* (2004) con *A. salmiana*. Se puede concluir, entonces, que el crecimiento se ve controlado mayormente por los propios procesos fisiológicos y bioquímicos de las plántulas, los cuales son relativamente inmunes ante los cambios en la humedad del medio. Otra interpretación de estos resultados podría ser que realmente el contraste entre las dos frecuencias de riego que se aplicaron no fue muy alto y que, por lo tanto, las plántulas realmente no se vieron limitadas por la disponibilidad de humedad en ninguno de los tratamientos. De hecho, en *A. lechuguilla* sí se obtuvo una respuesta ante la frecuencia de riego, pero los tratamientos fueron considerablemente diferentes (riego semanal, mensual y sin riego; Nobel *et al.*, 1989). Los autores del trabajo citado sugieren que con mayor humedad en la rizosfera, no sólo hay mayor disponibilidad de agua, sino que se posibilita una mayor absorción de nutrientes y CO_2 , por lo que aumenta la tasa de crecimiento, como ocurre en las plantas CAM facultativas (Andrade *et al.*, 2007).

5.3 Relevancia para la conservación

García-Valenzuela (2011) revisa la importancia de los agaves en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, tanto a nivel ecológico como étnico. Según su análisis, existen dos aspectos importantes a considerar con respecto al género *Agave*, en esta región del país. Por un lado, se presenta una alta diversidad y una alta proporción de endemismos (Eguiarte *et al.*, 2000; García-Mendoza, 2004; García-

Mendoza, 1995 en Arias, 2011; Brena, 2012; Enoc & Portillo, 2014); y por otro lado, estas plantas poseen un gran valor cultural, social y económico para los diversos grupos de campesinos e indígenas que habitan en la zona, desde épocas antiguas hasta el presente, tanto por la diversidad de usos que se les da (Casas *et al.*, 2001; Colunga-García Marín, 2007; García-Valenzuela, 2011; Brena, 2012; Lira *et al.*, 2008; García-Valenzuela, 2011), como por el hecho de ser ya un símbolo de la identidad regional a nivel paisajístico. Sin embargo, se sabe que muchas poblaciones de *Agave* de la región no se encuentran en buenas condiciones, como es el caso de la población de *Agave marmorata*, la cual presenta características que sugieren que su capacidad de regeneración es limitada, como un bajo porcentaje de germinación y de supervivencia de plántulas (Godínez-Álvarez *et al.*, 2008). Asimismo, la población de *A. kerchovei* en el ejido Los Reyes Metzontla no presenta una regeneración natural adecuada, pues está dominada por una alta proporción de plantas adultas y tiene un bajo porcentaje de plántulas y juveniles (García-Valenzuela, 2011). Y como se observó en este trabajo, es posible que exista una limitación por polinizadores en la reproducción de esta especie, así como una depresión por endogamia, y que sus bajos porcentajes de germinación de semillas y bajas tasas de crecimiento de plántulas representen una restricción para su crecimiento poblacional.

La población de *A. kerchovei* en el ejido Los Reyes Metzontla no presenta una regeneración natural adecuada, pues está dominada por una alta proporción de plantas adultas y tiene un bajo porcentaje de plántulas y juveniles (García-Valenzuela, 2011).

Existe un aprovechamiento de las estructuras florales de *A. kerchovei* por parte de las comunidades humanas (i.e. los botones florales y las flores se consumen como alimento) y, dado que los individuos son semélparos (Gentry, 1982; Nobel, 1988), podría suponerse que este aprovechamiento representa un importante detrimento de las poblaciones naturales, pues limita la producción de semillas y, a mediano plazo, el establecimiento de plántulas y la posibilidad de crecimiento de la población. Por lo tanto, es necesario llevar a cabo estudios que permitan evaluar

el efecto de este aprovechamiento sobre la dinámica poblacional y la estructura genética de las poblaciones de esta especie, y proponer alternativas de manejo que no representen un riesgo para su permanencia.

5.4 Conclusiones

1. Se observó un efecto marginalmente significativo del régimen de temperatura (constante vs. fluctuante) sobre el comportamiento de las semillas de *A. kerchovei*: el porcentaje y la velocidad de germinación fueron ligeramente mayores bajo temperatura constante que bajo temperatura fluctuante.
2. No se observó un efecto significativo de la radiación lumínica (presencia vs. ausencia) sobre el porcentaje de germinación de las semillas de *A. kerchovei*.
3. Las respuestas germinativas de las semillas de *A. kerchovei* provenientes de diferentes plantas adultas fueron diferentes. Además, las diferencias en la velocidad de germinación de las semillas de distintos individuos parentales dependieron a su vez del régimen de temperatura.
4. Las plántulas de *A. kerchovei* crecieron más rápido y acumularon más biomasa cuando estuvieron sometidas a altos niveles de radiación lumínica (100%) que cuando estuvieron bajo una malla de sombra (40%).
6. Las distintas frecuencias de riego aplicadas (una vez y dos veces por semana) no provocaron diferencias significativas en las respuestas de crecimiento de las plántulas.
7. La respuesta de crecimiento de las plántulas (en cuanto a su tasa relativa de crecimiento y su R/V) ante los diferentes niveles de radiación solar aplicados difirió significativamente según el individuo parental del que provenían.

Literatura citada

- Adams III W.W., Muller O.O., Cohu C.M., Demmig-Adams B. (2013). May photoinhibition be a consequence, rather than a cause, of limited plant productivity? *Photosynthesis Research* 117: 31–44.
- Aguirre J.R., Charcas H., Flores J.L. (2001). El Maguey Mezcalero Potosino. Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí. México. 78 pp.
- Allen P.S., Meyer S.E., Khan M.A., Black M., Bradford K.J., Vázquez-Ramos J. (2000). Hydrothermal time as a tool in comparative germination studies. En: Seed biology: advances and applications. Black K.M, Bradford J.J. Pp: 401-410. Wallingford CAB International. Mérida. México
- Álvarez de Zayas A. (1989). Distribución geográfica y posible origen de las Agavaceas. *Revista del Jardín Botánico Nacional* 10(3): 25-32.
- Andrade L., Rengifo E., Ricalde F., Simá L., Cervera C., Vargas-Soto G. (2006). Microambientes de luz, crecimiento y fotosíntesis de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) en un agrosistema de Yucatán, México. *Agrociencia* 40: 687-697.
- Arias L.A. (2011). Ecología poblacional de *Agave angustifolia* en la región de Xochicalco, Morelos: evaluación de su potencial para la restauración ecológica. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Arizaga S. (1998), Biología reproductiva de *Agave macroacantha* Zucc. en Tehuacán, Puebla. Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Arizaga S. (2000). Manejo y conservación del maguey en Tehuacán, Puebla. Tercer informe parcial del proyecto C1-99/075, CONABIO. México D.F.
- Arizaga S., Ezcurra E., Peters E., Ramírez de Arellano F., Vega. E. (2000). Pollination biology of *Agave macroacantha* (Agavaceae) in a Mexican tropical desert. Floral biology and pollination mechanisms. *American Journal of Botany* 87: 1004–1010.

- Arizaga S., Ezcurra E. (2002). Propagation Mechanisms in *Agave macroacantha* (Agavaceae), a Tropical Arid-land Succulent Rosette. *American Journal of Botany* 89(4): 632-641.
- Ayala-Cordero G., Terrazas T., López-Mata L., Trejo C. (2006). Morphoanatomical changes and photosynthetic metabolism of *Stenocereus beneckeii* seedlings under soil water deficit. *Journal of Experimental Botany* 57(31): 65-74.
- Baskin C. C., Baskin J. M. (1988). Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany* 75: 286-305.
- Bremer B., Bremer K., Chase W.M., Fay F.M., Reveal L.J., Soltis E.D., Soltis S.P., Stevens F.P., Anderberg A.A., Moore J.M., Olmstead G.R., Rudall J.P., Sytsma J.K., Tank C.D., Wurdack K., Xiang J.Q.Y., Zmarzty S. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-121.
- Brena P. (2012). El aprovechamiento y la estructura poblacional de *Agave kerchovei* Lem., en Tehuacán-Cuicatlán, México. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Campus Montecillo. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. México.
- Brena-Bustamante P., Lira-Saade R., García-Moya E., Romero-Manzanares A., Cervantes-Maya H., Lopez-Carrera M., Chávez-Herrera S. (2013). Aprovechamiento del escapo y los botones florales de *Agave kerchovei* en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, México. *Botanical Sciences* 91(2): 181-186.
- Casas A., Valiente-Banuet A., Viveros J. L., Caballero J., Cortés L., Dávila P., Lira R., Rodríguez I. (2001). Plant Resources of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Economic Botany* 55 (1): 129-165.
- Coimbra S., Almeida J., Junqueira V., Costa M.L., Pereira L.G. (2007). Arabinogalactan proteins as molecular markers in *Arabidopsis thaliana* sexual reproduction. *Journal of Experimental Botany* 58: 4027- 4035.
- Colunga-García Marín P., Zizumbo-Villareal D. Martínez-Torres J. (2007). Tradiciones en el aprovechamiento de los agaves mexicanos: una aportación a la protección legal y conservación de su diversidad biológica y cultural. En:

- P. Colunga-García Marín, A. Larqué, L.E. Eguiarte, D. Zizumbo-Villareal (Eds.), En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán. Pp: 229-248.
- Dahlgren R. M., Clifford T., Yeo P. F. (1985). The families of the monocotyledons: structure, evolution and taxonomy. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Dávila P., Arizmendi A., Valiente-Banuet J., Villaseñor-Casas A., Lira R. (2002). Biological Diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Biodiversity Conserv.* 11:421- 422.
- Demming-Adams B., Adams W.W. (1996). The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends In Plant Science* 1 (1): 21-26.
- Eguiarte L., Souza V., Silva-Montellano A. (2000). Evolución de la familia Agavaceae: filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Boletín de la Sociedad de Botánica de México* 66: 131-150.
- Eguiarte L., Souza V., Aguirre X. (2007). La clonalidad y sus efectos en la biología de poblaciones. En: Ecología Molecular. (Ed) Instituto Nacional de Ecología. México. D.F. Pp. 215-250.
- Enoc M.J., Portillo L. (2014). Regeneración de tres especies de la subfamilia Agavoideae. *Boletín Nakari* 25 (3): 43-46.
- Erice G, Louahlia S., Irigoyen J., Sánchez-Díaz M. y Avice C. (2010). Biomass partitioning, morphology and water status of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. *Journal of Plant Physiology* 167:114- 120.
- Escobar G.R.E. (2009). Estudio de la biología reproductiva y análisis molecular de la reproducción sexual y asexual de *Agave tequilana* Weber var. Azul. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México D.F.
- Evans C.E., Etherington J.R. (1990). The effect of soil water potential on seed germination of some British plants. *New Philologist* 118: 571-574.
- Flores J., Jurado E. (2003). Are nurse-protége interactions more common among plants from arid environments? *Journal of Vegetation Science* 14: 911–916.

- Franco A.C., Nobel P.S. (1989). Effect of Nurse Plants on the Microhabitat and Growth of Cacti. *Journal of Ecology* 77 (3): 870-886.
- Freeman C.E., Reid W.H. (1985). Aspects of the reproductive biology of *Agave lechuguilla* Torr. *Desert Plants* 7: 75–80.
- Gasser C.S., Broadhvest J., Hauser B. A. (1998). Genetic analysis of ovule development. *Annual Reviews Plant Physiology* 49: 1-24.
- García-Mendoza A. (1994). Colección Nacional de *Agavaceae*. Primer Simposio internacional sobre *agaváceas*. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México. D.F. Pp. 42-51.
- García-Mendoza A. (2002). The distribution of Agave (Agavaceae) in Mexico. *Cactus y Succulent Journal of America* 74:177-187.
- García-Mendoza A.J. (2004). Agavaceas. En: A. J. García-Mendoza, M. J. Ordóñez and M. Briones-Salas. (Eds.), Biodiversidad de Oaxaca. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México -Fondo Oaxaqueño para la conservación de la naturaleza-Wold Wildlife Fund, México. Pp: 159–169.
- García P.M. (2004). Reproducción y germinación de *Agave cupreata* Trel.& Berger (Agavaceae) en la localidad Ayahualco, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- García-Valenzuela M.A. (2011). Etnoecología de los agaves (Agavaceae) en la comunidad Ngiwa (Popoloca) de los Reyes Metzontla, Puebla, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.
- Gentry H.S. (1982). The agave family in Sonora. Handbook no. 399. USDA. Washington, E.U.A.
- Gentry H.S. (1982). Agaves of continental North America. University of Arizona Press, Tucson, Arizona, USA.
- Godínez-Alvarez H. Valiente-Banuet A. (1998). Germination and early seedling growth of Tehuacan Valley cacti species: the role of soils and seed ingestion by dispersers on seedling growth. *Journal of Arid Environments* 39: 21–31.
- Godínez-Alvarez H., Jiménez M., Mendoza M., Pérez F., Roldán P., Ríos-Casanova L., Lira R. (2008). Densidad, estructura poblacional, reproducción y

- supervivencia de cuatro especies de plantas útiles en el Valle de Tehuacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 79: 393- 403.
- González-Zertuche L., Orozco-Segovia A. (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
- Granados S.D. (1993). Cultura y utilización del Maguey. In: César Rodríguez Zárte (Ed.), Los Agaves de México. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco. México.
- Grime J.P., Mason G., Curtis A.V., Rodman J., Band S.R. (1981). A Comparative Study of Germination Characteristics in a Local Flora. *Journal of Ecology* 69 (3): 1017-1059.
- Grob-Hardt R., Kagi C., Baumann N., Moore J.M., Baskar R., Gagliano W. B., Jurgens G., Grossniklaus U. (2007). LACHESIS Restricts Gametic Cell Fate in the Female Gametophyte of Arabidopsis. *PLOS Biology* 5(3): 47.
- Hernández-Cruz O.A., Martínez-Rodríguez O.A., Blanco-Contreras E., Santamaría-César E. (2000). Evaluación de seis tratamientos pregerminativos en semillas de Noa (*Agave victoriaeae* – *reginae* T. More.). *Revista Chapingo* 6(1). Pp. 30-34.
- Hernández P.R. (2009). Estudio poblacional de *Furcraea parmentieri* (Agavaceae) en bosques templados del suroeste del Distrito Federal, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Howell D.J. (1979). Flock foraging in néctar-feeding bats. *The American Naturalist* 114: 23-49.
- Howell D.J., Roth B.S. (1981). Sexual reproduction in Agaves: The benefits of bats; the cost of semelparous advertising. *Ecology* 62: 1–7.
- Irish M., Irish G. (2000). Agaves, Yuccas and Related Plants. A Gardener's Guide. Timber Press, Portland, Oregon.
- Jordan P., Nobel P. (1979). Infrequent establishment of seedlings of *Agave deserti* (Agavaceae) in the Northwestern Sonoran desert. *American Journal of Botany*

66: 1079-1084.

- Kotowsky W. (1926). Temperature relations to germination of vegetables seeds. *Proceedings American Society Horticulture Science* 23: 176-184.
- Lara A.J.P., Alpuche S. A. G. (2016). Análisis de la diversidad genética de agaves mezcaleros del centro de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 39 (3). 323 - 330
- Lemus J.L.J. (2002) Ecología reproductiva del *Agave cocui* trelease (Agavácea) en una zona árida del Estado Falcón: I. Fenología reproductiva, biología floral, mecanismo de polinización y sistema genético de reproducción. Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda.
- León V.N.I., Campos A.G.V., Enriquez-del Valle J.R., Velasco V.V.A., Marini Z.F., Ortiz R.G. (2013). Diversidad de especies de agave en San Miguel Tilquiapam, Ocotlá, Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6: 1185-1189.
- Lira R. I., Rodriguez L., Gracia H., Cervantes C.M., Flores J., Vázquez I., Peñalosa L., Hernández M., Urzúa M., Moreno G., Avila T., Hernández M., Canales A. M., García-Bores R., Serrano O., López M. (2008). 2º Informe del proyecto Conservación de Plantas Útiles de San Rafael Coxcatlán, a Través de Bancos de Semillas y Propagación, MGU/Useful Plants Project (UPP) – México, KEW Royal Botanic Gardens/FES Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México, México. Pp. 20.
- Maiti R.K., Sánchez-Arreola E., Wesche-Ebeling P., Ramirez-Bravo O.E. (2004). Germination and seedling development of *Agave potatorum* Zucc. *Crop Research Hisar* 27(1): 127-130.
- Martínez-Berdeja A., Valverde V.T. (2008). Growth response of three globose cacti to radiation and soil moisture an experimental test of the mechanism behind the nurse effect. *Journal of Arid Environments* 72(10): 1766-1774.
- Martínez-Palacios A. (1998). Estructura poblacional y conservación de semillas de *Agave victoriae-reginae* T. Moore (Agavaceae), endémica y en peligro de extinción. Evaluación genética y demográfica de *Agave victoriae-reginae* T. Moore y aplicación del cultivo de tejidos para su conservación. : 1-37
- Mccormick S. (2004). Control of Male Gametophyte Development. *The Plan Cell* 16:

142–153.

- Miquelajauregui Y., Valverde T. (2010). Survival and early growth of two congeneric cacti that differ in their level of rarity. *Journal of Arid Environments* 74: 1624–1631.
- Molina-Freaner F., Eguiarte L.E. (2003). The pollination biology of two paniculate agaves (Agavaceae) from Northwestern Mexico: Contrasting roles of bats as pollinators. *American Journal of Botany* 90: 1016–1024.
- Nobel P.S. (1977). Water relations of flowering of *Agave deserti*. *Botanical Gazette* 138: 1-6.
- Nobel P.S. (1988). Environmental biology of agaves and cacti. Cambridge University Press. Cambridge.
- Nobel P.S. (1998). Los incomparables agaves y cactus. Editorial Trillas. México.
- O'Neill S.D., Roberts J.A. (2002). The central role of the ovule in apomixis and parthenocarpy. In: Plant Reproduction. *Annual Plant Reviews*, 6: 221.
- Pérez-Sánchez R.M., Flores J., Jurado E., González S.C. (2015). Growth and ecophysiology of succulent seedlings under the protection of nurse plants in the Southern Chihuahuan Desert. *Ecosphere* 6(3):1-11.
- Piven M.N., Barredo-Pool A.F., Borges-Argáez C.I., Herrera-Alamillo A.M., Mayo-Mosqueda A., Herrera-Herrera L.J., Manuel L.R. (2001). Reproductive Biology Of Henequén (*Agave Fourcroydes*) And Its Wild Ancestor *Agave Angustifolia* (Agavaceae). I. Gametophyte Development. *American Journal of Botany* 88(11):1966–1976
- Powell A.A. (1998). Seed vigour and field establishment. *Advances in Research and Technology of Seeds* 11(1): 29-61.
- Pritchard H., Miller A., (1995). The effects of constant temperatures, light and seed quality on the germination characteristics of *Agave americana*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 57: 11-14.
- Ramírez H.M. (2010). Características bioquímico-fisiológicas de la germinación y desarrollo de las plantas jóvenes de maguey (Agave) y su relación con la especie, temperatura y potencial de agua del sustrato. Tesis de Doctorado en Ciencias. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas.

Montecillo, Texcoco, Estado de México.

- Ramirez-Tobías H.M., Peña-Valdivia B.C., Aguirre R.J.R., Reyes-Agüero J.A., Sánchez-Urdaneta A.B., Valle G.S.S. (2011). Seed germination temperatures of eight Mexican *Agave* species with economic importance. *Plant Species Biology* 27: 124-137.
- Rangel-Landa S. (2009). Germinación y establecimiento de *Agave potatorum* Zucc. en el valle de Tehuacán: Bases ecológicas para la reforestación. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Morelia, Michoacán.
- Rocha M.S., Good-Ávila V., Molina-Freaner F., Arita H.T., Castillo A., García-Mendoza A., Silva-Montellano A., Gaut B.S., Souza V., Eguiarte L. (2007) Pollination biology and adaptative radiation of Agavaceae, with special emphasis on the genus *Agave*. *Aliso* 22: 327-342.
- Rojas-Aréchiga M., Orozco-Segovia A., Vázquez-Yanes C. (1997). Effect of light on germination of seven species of cacti from the Zapotitlán Valley in Puebla, México. *Journal of Arid Environments* 36: 571–578
- Ruedas M., Valverde T., Castillo A.S. (2000). Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mammillaria magnimamma* (Cactaceae) bajo diferentes condiciones ambientales. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 66: 25–35.
- Ruvalcaba-Ruiz D., Rodríguez-Garay B. (2002). Aberrant meiotic behavior in *Agave tequilana* Weber var. azul. *Plant Biology* 2: 9-10.
- Salas S.F.C. (2002). Aspectos generales de la germinación y establecimiento de plántulas de *Agave mamorata* Roezl. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México D.F.
- Sánchez U.A.B., Peña V.B.A., Aguirre R., Cárdenas E. (2004). Efectos del potencial de agua en el crecimiento radical de plántulas de *A. salmiana*. *Interciencia* 29(11): 626-631.
- Serrano H., Solano E., Ocampo A. (2000). Morfología de semillas, germinación y desarrollo postmergente de tres especies del género *Polianthes* L. (Agavaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 66: 55-65.
- Slauson L. A. (2000). Pollination biology of two chripterophilous agaves in Arizona.

- American Journal of Botany* 87: 825–836.
- Stevens P.F. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012.
Revisado: 27/07/2016 en www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/.
- Sutherland S. (1987). Why hermaphroditic plants produce many more flowers than fruits: experimental tests with *Agave mckelveyana*. *Evolution* 41:750–759.
- Suzán H., Nabhan G., Patten D.T. (1996). The importance of *Olneya tesota* as a nurse plant in the Sonoran Desert. *Journal of Vegetation Science* 7: 635–644.
- Valiente, B.L. (1991). Patrones de precipitación en el valle semiárido de Tehuacán, Puebla. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Valiente-Banuet A. (1991). Dinámica del establecimiento de cáctaceas, patrones generales y consecuencias de los procesos de facilitación por plantas nodriza en desiertos. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México.
- Valverde T. (1988). Germinación de algunas especies pioneras de dunas costeras del Golfo de México. Tesis de Licenciatura. México. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Valenzuela-Zapata A. G. (1997). Floración, madurez, cosecha y comercialización. En: Litteris (Ed.), *El agave tequilero su cultivo e industria*. México. Pp. 137-141.
- Valiente-Banuet A., Verdú M. (2007). Facilitation can increase the phylogenetic diversity of plant communities. *Ecology Letters* 10: 1029-1036.
- Valladares F. (2004). Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Ministerio de Medio Ambiente. EGRAF, S. A. Madrid, España.
- Vázquez B. F. (2013). Estudio demográfico de dos poblaciones de *Ferocactus haematacanthus* (Cactaceae) en el Valle de Tehuacán, Pue., México. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. , México D.F.
- Vázquez D.E., García N.J.R., Peña V.C.B., Ramírez M.H.T., Morales R.V. (2011). Tamaño de la semilla, emergencia y desarrollo de la plántula de maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). *Revista Fitotecnia Mexicana* 34(3): 167

– 173.

- Vázquez-Yanes C., Orozco-Segovia A. (1984). Ecophysiology of seed germination in the tropical humid forests of the world: a review. En: Medina E., Mooney H. A., Vázquez-Yánes C. (1983). Physiological ecology of plants of the wet tropics. (12) Tasks for vegetation Science. Proceedings of an International Symposium Held in Oxatepec and Los Tuxtlas, Mexico, Pp. 37-50.
- Vázquez-Yanes C., Orozco-Segovia A., Rincon M., Sanchez-Coronado E., Huante P., Toledo J.R., Barradas V.L. (1990). Light beneath the litter in a tropical forest: effect on seed germination. *Ecology* 71(5): 1952-1958.