



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

**Respuesta germinativa de las semillas de
Escontria chiotilla después de su almacenamiento.**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

P R E S E N T A

ERICKA BELLO PÉREZ

Directora: M. en C. Antonia Trujillo Hernández.



Los Reyes Iztacala, Edo de México, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Conservación de semillas en Almacenamiento	6
2.2 Calidad de la semilla	7
2.3 Contenido de humedad de las semillas	8
2.4 Temperatura de almacenamiento	9
2.5 Tipos de almacenamientos	9
2.5.1 Colecciones base	9
2.5.2 Colecciones activas.....	10
3. HIPÓTESIS	12
4. OBJETIVOS	12
4.1 Objetivo general	12
4.2 Objetivos particulares.....	12
5. METODOLOGÍA	13
5.1 Material biológico	13
5.2 Condiciones de almacenamiento	13
5.3 Características de las semillas almacenadas	14
5.4 Pre-acondicionamiento de las semillas para su siembra	14
5.5 Diseño experimental.....	14
5.6 Condiciones de Germinación.....	15
5.7 Análisis estadístico	17
6. RESULTADOS	17
6.1 Distribución de la germinación en el tiempo.....	17
6.2 Condición de almacenamiento	19
6.3 Efecto del contenido de humedad en la semilla	20
6.4 Efecto del peso de la semilla	20
6.5 Efecto del contenido humedad y el peso de las semillas almacenadas a temperatura ambiente	21
6.6 Efecto del contenido humedad y el peso de las semillas almacenadas en BANGEV	21
6.7 Capacidad germinativa despues del almacenamiento.....	23

7. DISCUSIÓN	24
7.1 Distribución de la germinación en el tiempo	24
7.2 Condición de almacenamiento	25
7.3 Efecto del contenido de humedad en la semilla.....	26
7.4 Efecto del peso de la semilla	26
7.5 Relación entre el peso, contenido de humedad y condición de almacenamiento....	27
8. CONCLUSIONES	29
9. BIBLIOGRAFÍA	30
10. ANEXO	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Iluminancia promedio diaria de la cámara de germinación, registro de 30 días.....	15
Figura 2. Temperatura promedio diaria de la cámara de germinación, registro de 30 días.....	16
Figura 3. Humedad relativa promedio diario de la cámara de germinación, registro de 30 días.....	16
Figura 4. Distribución de la germinación en el tiempo, de las semillas de <i>E. chiotilla</i> almacenadas 4 años a temperatura ambiente (23 ± 2 °C).....	18
Figura 5. Distribución de la germinación en el tiempo, de las semillas de <i>E. chiotilla</i> almacenadas 4 años en el BANGEV (-20 °C).....	18
Figura 6. Capacidad germinativa de semillas de <i>E. chiotilla</i> a cuatro años de almacenamiento a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) y BANGEV (-20°C).....	22

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de medias en la capacidad germinativa de las semillas de <i>E. chiotilla</i> en dos condiciones de almacenamiento.....	19
Tabla 2. Comparación de medias en la capacidad germinativa de las semillas de <i>E. chiotilla</i> en dos contenido de humedad a cuatro años de almacenamiento.....	20
Tabla 3. Comparación de medias en la capacidad germinativa de las semillas de <i>E. chiotilla</i> de diferentes pesos, almacenadas cuatro años a temperatura ambiente.....	21
Tabla 4. Pérdida de la capacidad germinativa en las semillas de <i>E. chiotilla</i> almacenadas durante cuatro años a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) y BANGEV (-20°C).....	23
Tabla 5. Comparación de medias en la capacidad germinativa de las semillas de <i>E. chiotilla</i> de diferentes pesos y contenido de humedad, en dos condiciones de almacenamiento.....	35

RESUMEN

La preocupación por la pérdida de la diversidad vegetal y la necesidad de implementar técnicas tanto *ex-situ* como *in-situ* que permitan la conservación de variabilidad genética de los organismos ha sido motivo de investigación en las últimas décadas. El almacenamiento de semillas y su óptima preservación a corto, mediano y/o largo plazo es una alternativa que puede contribuir a evitar el deterioro de este recurso. *Escontria chiotilla* conocida como jiotilla es una de las especies de cactáceas endémicas productora de frutos con potencial económico importante en la mixteca oaxaqueña y en el Valle de Tehuacán. Esta especie presenta altos porcentajes de germinación, sin embargo no es posible su reproducción vegetativa por lo cual es necesario generar información que asegure su diversidad genética, conservación, sobrevivencia y reproducción. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura, el peso y la reducción en el contenido de humedad, en la capacidad germinativa de las semillas de *E. chiotilla* a cuatro años de almacenamiento. Las semillas son originarias de la localidad de Venta Salada, perteneciente al municipio de Coxcatlán, Puebla, y fueron almacenadas, en octubre del 2009. Después de 4 años de almacenadas se evaluó su capacidad germinativa para lo cual se utilizó un diseño completamente al azar donde los factores fueron: el peso de las semillas con tres niveles (0.58, 0.49 y 0.46 mg) y contenido de humedad con dos niveles (6 y 8%), almacenadas en dos condiciones: temperatura ambiente, 23 ± 2 °C en el Laboratorio de semillas del departamento de Fitotecnia y en el Banco Nacional de Germoplasma Vegetal (BANGEV) de la UACH, a temperatura de -20 °C. La unidad experimental consistió en una caja de Petri con agar al 1% y 100 semillas, las condiciones para la germinación fueron; fotoperiodo de 12 horas luz/oscuridad y temperatura máxima de 29 ± 2 °C durante el día y mínima de 22 ± 1 °C durante la noche, se utilizaron cinco repeticiones por tratamiento. Los resultados mostraron que a cuatro años de su almacenamiento, las semillas con un peso de 0.58, 0.49 y 0.46 mg, conservadas a temperatura ambiente y humedad de 6% presentaron 95, 92 y 89 % de germinación respectivamente, para un

contenido de humedad de 8% las semillas con 0.58 mg (64%) 0.49 mg (50%) y 0.46 mg (54%). Las semillas almacenadas en el BANGEV (-20 °C) mostraron diferencias en la germinación para los diferentes pesos y contenidos de humedad. En este caso, la germinación se mantuvo entre un 84 y 71%. Se concluye que el contenido de humedad del 6% y peso de 0.58 mg conservan la capacidad germinativa de las semillas de *E. chiotilla* durante 4 años.

Palabras clave: *Escontria chiotilla*, almacenamiento, germinación, deshidratación, temperatura, conservación.

1. INTRODUCCIÓN

La importancia de la conservación de las semillas en almacenamiento, quedó de manifiesto desde que el hombre comenzó a domesticar las plantas, la duración de esta condición depende de los objetivos de la conservación y de la longevidad de la especie; donde, esta última, varía entre y dentro de las especies debido a las diferencias en su genotipo y procedencia (Hong y Ellis, 1996). De acuerdo a la tolerancia a la desecación para su almacenamiento, las semillas se clasifican en recalcitrantes, intermedias y ortodoxas.

Las semillas ortodoxas pueden ser desecadas a contenidos de humedad muy bajos sin sufrir daños durante el almacenamiento, su longevidad se mantiene, al ser desecada y almacenada a baja temperatura, en forma cuantificable y predecible (Vázquez-Yanes *et al.* 1997). Las semillas ortodoxas se caracterizan por ser pequeñas o medianas, a menudo con una testa dura; con frecuencia presentan latencia y su actividad metabólica se reduce al mínimo cuando son almacenadas. Son pioneras en ambientes húmedos, se presentan en zonas templadas y tropicales en las familias *Myrtaceae*, *Leguminaceae*, *Pinaceae* y *Casuarinaceae*, así como predominan en ambientes áridos y semiáridos.

En México, las zonas áridas y semiáridas ocupan más del 60% del territorio nacional, dentro de la vegetación que las caracteriza, se encuentran especies vegetales endémicas de potencial económico importante. En esta categoría se encuentran diversas especies de la familia *Cactaceae* para las cuales es necesario generar información que asegure su diversidad genética, reproducción, sobrevivencia y conservación. Esta familia cuenta con plantas columnares que incluyen alrededor de 170 especies, de las cuales 80 se encuentran en México (CONABIO, 2000) y cerca de 45 en el valle de Tehuacán considerado como el centro de endemismo y diversidad mundial para este grupo de plantas por la *International Union for the Conservation of Nature* (IUNC) además de distinguirla

como una de las zonas áridas con mayor cantidad de recursos vegetales del país y diversidad en América del Norte (Casas *et al.* 2001).

El Valle de Tehuacán forma parte de la Provincia Fitogeográfica de Tehuacán-Cuicatlán (Rzedowski, 1978), se localiza entre los estados de Puebla y Oaxaca; en Puebla, tiene una gran diversidad, 2,750 especies de plantas, de las cuales el 30% son endémicas (Dávila *et al.* 1993).

Una de las especies de cactáceas nativas, de potencial económico importante por ser productora de frutos en la mixteca oaxaqueña y en el Valle de Tehuacán es *Escontria chiotilla* conocida como jiotilla, sus frutos son consumidos a nivel local y regional, como fruta fresca y en bebidas y alimentos preparados: licor, agua de fruta, agua de horchata, paletas, dulces y mermeladas (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

2. ANTECEDENTES

Hoy en día, la conservación de recursos genéticos es aceptada, de forma generalizada, como una responsabilidad social; la pérdida de recursos genéticos a consecuencia del deterioro de los ecosistemas naturales (Forero, 1994), la preocupación por la pérdida de la biodiversidad vegetal y la necesidad de implementar medidas para frenarla quedó patente en la firma del Convenio sobre Diversidad Biológica celebrada en Río de Janeiro (UNCED, 1992).

Es universalmente reconocido que la forma más efectiva para la conservación es la protección de los hábitats naturales y que las técnicas de conservación *ex-situ* constituyen componentes críticos en un programa de conservación global (Conway, 1988; Ashton, 1987). Así mismo, la conservación requiere de información confiable y precisa de investigaciones científicas, que aporten alternativas del uso y conservación de los recursos naturales (Toledo, 1994).

La conservación *ex-situ* de germoplasma de especies raras y amenazadas está basada esencialmente en la utilización de los bancos de germoplasma (Iriundo, 2001). Los bancos de germoplasma poseen colecciones muy diversas de recursos fitogenéticos, su objetivo general es la conservación a largo plazo y la accesibilidad del germoplasma vegetal (ONUAA, 2013).

Los bancos de germoplasma son el método principal de conservación de las especies que producen semillas ortodoxas las cuales resisten la desecación a contenidos de humedad y temperaturas bajas. Las técnicas para conservar estas semillas incluyen su desecación hasta un contenido de humedad de 3-7%, se limpian, se cuentan y se hace un ensayo de su viabilidad antes de colocarlas en recipientes herméticos a una temperatura de -18 °C o menos (FAO/IPGRI, 1994).

En la conservación, los bancos de germoplasma representan una importante herramienta para la preservación de las especies silvestres, protegiéndolas de la destrucción de su hábitat, contra enfermedades y depredadores. Asimismo desempeñan un papel clave, por la disponibilidad y el uso de una amplia gama de diversidad fitogenética, para la realización de investigaciones sobre: sus propiedades, como recurso medicinal, alimenticio y genético, para la mejora de los cultivos, seguridad alimentaria y nutricional, así como para la reintroducción, conservación y restauración de sus poblaciones. Aseguran la disponibilidad continua de los recursos genéticos y la mejora de suministro de semillas para un sistema agrícola sostenible (Rao, *et al.*, 2007). En México existen 22 bancos de germoplasma, 18 de los cuales son administrados por CONAFOR (2013) dedicados a la preservación de especies nativas, de importancia agrícola y forestal.

El Banco Nacional de Germoplasma Vegetal (BANGEV) de la Universidad Autónoma de Chapingo, a cargo del Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez, forma parte del Programa Nacional de Etnobotánica, es apoyado por la Secretaria de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), el

Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) y la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO, 2000). En sus instalaciones cuenta con dos cuartos fríos donde se conserva *ex-situ* la colección de trabajo (-4 °C y < 20% de Humedad Relativa) y la colección Núcleo (-20 °C y < 15% HR). Conserva aproximadamente 18345 colectas correspondientes a: 128 familias, 238 géneros y 352 especies. Tiene como propósito: ubicar, coleccionar, conservar y caracterizar el plasma germinal de las plantas que, por sus atributos, se consideren pertinentes a la satisfacción de las necesidades prioritarias de la población nacional. También se encarga de registrar y cotejar el conjunto de conocimientos empíricos y/o científicos involucrados en la definición, manejo y conservación de los recursos vegetales útiles a México (UACH, 2010).

2.1 Conservación de semillas en Almacenamiento

Se ha podido comprobar que el almacenamiento de semillas a largo plazo constituye una operación relativamente simple y económica en términos de tecnología, infraestructura, personal y gastos de mantenimiento (Maxted *et al.*, 1997). De esta manera, resulta posible mantener un gran número de semillas de diferentes especies vegetales durante largos períodos de tiempo y con un mínimo riesgo de daños genéticos. Por un lado, las semillas son unidades adaptadas a la dispersión en el tiempo y por tanto, capaces en la mayoría de los casos de permanecer viables de forma natural, durante largos períodos de tiempo (Chin, 1994). En segundo lugar, el reducido tamaño de las semillas, unido a la posibilidad de que cada una de ellas posea una constitución genética diferente, asegura la conservación de una gran diversidad genética en un espacio reducido (Iriondo y Pérez, 1999).

La conservación de semillas ofrece como mínimo un servicio de seguridad y apoyo a otras técnicas de conservación, mientras que, en el otro extremo, puede constituir la única opción disponible cuando los últimos ejemplares de una especie

están a punto de desaparecer (Reid y Miller, 1989). Por ello, entre todos los métodos de conservación, los bancos de semillas son los más utilizados al ser simultáneamente prácticos y económicos.

2.2 Calidad de la semilla

Independientemente de las condiciones de almacenamiento utilizadas, la viabilidad de las muestras debe ser controlada periódicamente. Si el porcentaje de germinación es inferior al 85% del valor inicial en muestras almacenadas en colecciones a largo plazo y al 65% del valor inicial en colecciones activas, se recomienda su regeneración ya sea mediante nuevas recolecciones o por multiplicación a partir de las semillas viables. La regeneración mediante recolección en muchos casos no es posible al haber desaparecido las poblaciones naturales y la multiplicación inevitablemente conlleva alteraciones en la composición genética de las muestras, que puede originar la pérdida de genotipos. Por ello, resulta prioritario garantizar condiciones adecuadas de almacenamiento para retrasar en lo posible la regeneración (FAO/ IPGRI, 1994).

Para el mantenimiento de la viabilidad en condiciones de almacenamiento es importante considerar la deshidratación; esta puede realizarse mediante desecantes químicos, como el gel de sílice con indicador de cobalto que posee color azul, cuando absorbe humedad se torna rosa y permite detectar la presencia de humedad.

Los recipientes utilizados para el almacenamiento suelen ser tarros de vidrio, tubos de ensayo, latas metálicas herméticas y bolsas de aluminio laminado (Chin, 1994; Iriando y Pérez, 1999). En muchos bancos de semillas de especies silvestres se utilizan ampollitas de vidrio cerradas a la llama, de acuerdo a Gómez-Campo (1987), estas son probablemente los envases más adecuados para el almacenamiento de semillas.

Otro aspecto importante a considerar en el almacenamiento de las semillas es su tamaño, que juega un papel muy importante en los procesos de germinación y establecimiento de las plántulas dentro de una población.

En el caso de las semillas de los cactus estas presentan considerable variación en forma, tamaño y características estructurales; el número de semillas por fruto varía de 1 hasta más de 1000. Sin embargo son escasos los estudios que documentan evidencia sobre la variación en el número, peso y tamaño de semillas por fruto, en especial para especies endémicas de México.

2.3 Contenido de humedad de las semillas

El principio básico para la conservación de semillas es la limitación de los cambios químicos que son originados por el metabolismo o los procesos de envejecimiento. Se sabe desde hace tiempo que condiciones de baja temperatura y bajo contenido en humedad prolongan la longevidad de las semillas. De acuerdo a Harrington (citado por Justice y Bass, 1978), existe una relación exponencial entre la longevidad de las semillas, la temperatura y el contenido de humedad de almacenamiento, de manera que la longevidad de una semilla se duplica por cada reducción de 5 °C en la temperatura y por cada reducción de un 1% en el contenido de humedad. De acuerdo con este modelo, las semillas conservadas a muy bajas temperaturas y con muy bajos contenidos de humedad deberían mantenerse viables durante milenios. Sin embargo, Vertucci y Roos (1990) y Ellis *et al.* (1990) han mostrado que existen límites a los efectos benéficos de la desecación sobre la longevidad y que estos límites dependen de la composición química de la semilla. También se ha comprobado que, en contra de lo establecido por las reglas de Harrington, los efectos de la temperatura y el contenido de humedad no son independientes (Vertucci y Roos, 1993). De esta forma, el uso apropiado de estos dos factores proporciona una vía aceptable para la conservación a largo plazo de muestras de semillas en bancos de germoplasma.

2.4 Temperatura de almacenamiento

Los métodos de conservación convencionales normalmente incluyen el almacenamiento a temperaturas comprendidas entre 5 °C y -20 °C. En la conservación a largo plazo las semillas se almacenan normalmente a -18 °C, mientras que en la conservación a medio plazo se utiliza una temperatura de 0 a 10 °C (Ellis *et al.*, 1985).

2.5 Tipos de almacenamientos

Existen dos modalidades de conservación de las semillas almacenadas: Las colecciones base, conservan las muestras de semillas a largo plazo para seguridad, y las colecciones activas, que mantiene muestras de semilla para el uso inmediato. Estas colecciones varían en cuanto a contenido de humedad de las semillas y condiciones de almacenamiento; recipientes temperatura y humedad relativa.

2.5.1 Colecciones base

Una colección base es un conjunto de accesiones únicas, cuya integridad genética es lo más cercana posible a la muestra original. Las semillas de una colección base por lo general no se distribuyen directamente a los usuarios; solo se utiliza para regenerar colecciones activas. Las colecciones base se almacenan durante períodos prolongados a temperaturas bajo 0 °C generalmente entre -18 y -20 °C para mantener la viabilidad de las semillas.

2.5.2 Colecciones activas

Las colecciones activas se componen de accesiones que están disponibles para distribución inmediata. Estas son de acceso frecuente y se mantienen en condiciones que garanticen una viabilidad de por lo menos 65% durante 10-20 años.

En algunos lugares utilizan otras alternativas para la conservación de las semillas y consisten de manera general en: reducir los costos de refrigeración, para lo cual utilizan un contenido de humedad bajo y almacenan a una temperatura más alta. Sin embargo, cuando no es posible secar hasta un contenido de humedad bajo, se puede almacenar a un nivel más alto de humedad pero aplicando una temperatura baja.

El valle de Tehuacán es una de las regiones de México reconocida como una de las zonas áridas con mayor diversidad florística de Norteamérica. Con base a estudios etnobotánicos y florísticos, así como información bibliográfica, se identificaron un total de 808 especies de plantas útiles, de las cuales 90% son nativas y 44 son endémicas de la región (Casas *et al.*, 2001). *Escontria chiotilla* es una especie endémica de la familia Cactaceae la cual no responde favorablemente a la reproducción vegetativa, de ahí el interés por su conservación artificial y su establecimiento (López *et al.*, 2000).

Esta especie crece en zonas semiáridas, en lugares planos o de poca pendiente, prospera en terrenos áridos, pedregosos, erosionados o deforestados y requiere poco consumo de agua (Martínez *et al.*, 2006); la especie se encuentra registrada para la cuenca del Balsas, en el área del río Tepalcatepec, cuenca alta del Papaloapan; en Oaxaca, región de Cuicatlán, Teotitlán y Totolapan; en el cañón

del Zopilote, Guerrero; en la presa del infiernillo, Michoacán y, en el Valle de Tehuacán, Puebla, principalmente en los poblados de Calipam y Coxcatlán (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978; Nieto, 1980). Se encuentra asociada a otras cactáceas de gran tamaño y especies arbóreas propias del matorral micrófilo que a menudo forma agrupaciones llamadas quiotillales (Casas *et al.*, 2001).

Escontria chiotilla produce frutos que tienen forma globosa, con escamas de color café rojizo, de 3.5 cm de diámetro con una pulpa purpurina, dulce y comestible, produce abundantes semillas de 1.0 -1.5 mm de longitud, y un peso promedio que va desde 0.1 a 0.66 mg (Loza-Cornejo *et al.*, 2008), con amplio hilo basal de color negro opaco y rugoso, testa con crestas de células irregulares cubiertas con prominentes estrías cuniculares con capacidad germinativa alta (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

La importancia ecológica de esta especie así como el potencial económico que representa para los habitantes de las zonas donde se desarrolla, aunado a la problemática para su reproducción vegetativa, hacen necesario la realización de trabajos encaminados a conocer si las semillas de esta especie son susceptibles de ser conservadas en almacenamiento, obtener la información para su óptima conservación a corto, mediano y/o largo plazo, de tal forma que esto contribuya a evitar en un futuro la pérdida de este recurso.

3. HIPÓTESIS

La semilla de *E. chiotilla* presenta características morfológicas de semilla ortodoxa, por lo que es factible su conservación a baja temperatura y contenido de humedad.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la temperatura, el peso y reducción en el contenido de humedad en la capacidad germinativa de las semillas de *E. chiotilla* a cuatro años de almacenamiento.

4.2 Objetivos particulares

- Comparar la germinación de semillas de *E. chiotilla* conservadas a temperatura ambiente y en el BANGEV a cuatro años de su almacenamiento.
- Determinar la capacidad de germinación de las semillas de *E. chiotilla* almacenadas a 6 % y 8 % de contenido de humedad a cuatro años de su almacenamiento.
- Determinar la capacidad de germinación de las semillas de *E. chiotilla* de diferentes pesos 0.58, 0.49 y 0.46 mg a cuatro años de su almacenamiento.

5. METODOLOGÍA

Descripción Taxonómica de *Escontria chiotilla* (F.A.C. Weber ex K. Schum.) Rose.

Escontria chiotilla

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: *Cactaceae*

Subfamilia: Cactoideae

Género: *Escontria* (Rose)

Especie: *chiotilla* (F.A.C. Weber ex K. Schum.) Rose

5.1 Material biológico

En el presente trabajo se utilizaron las semillas de *E. chiotilla* originarias de la localidad de Venta Salada, perteneciente al municipio de Coxcatlán, Puebla, que habían sido previamente almacenadas (octubre del 2009), en sobres de papel aluminio sellados, colocados en frascos de cristal herméticos, de acuerdo al procedimiento establecido en el BANGEV.

5.2 Condiciones de almacenamiento

Las semillas se encontraban en dos condiciones de almacenamiento: Temperatura ambiente (23 ± 2 °C) en el laboratorio de semillas del departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma de Chapingo (UACH) y Banco de Germoplasma (BANGEV) a temperatura de -20 °C y humedad relativa de 12- 14%.

5.3 Características de las semillas almacenadas

Las semillas tenían un peso promedio de 0.46, 0.49 y 0.58 mg y un contenido de humedad del 6 % y 8 %.

5.4 Pre-acondicionamiento de las semillas para su siembra

Para su transporte las semillas del BANGEV fueron colocadas en un termo con bolsas de gel congelado; para mantener temperatura baja, y ser trasladadas al laboratorio de Fisiología vegetal en la FES-Iztacala. Posteriormente se dejaron durante 48 horas en cada una de las siguientes condiciones: - 10 °C (congelador), refrigeración a 4 °C y 24 horas en temperatura ambiente.

Las semillas que se encontraban en el laboratorio de Fitotecnia en la UACH, se transportaron al laboratorio de Fisiología vegetal de la FES- Iztacala, y permanecieron en los sobres cerrados a temperatura ambiente, durante el mismo tiempo.

5.5 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar tomando como factores los siguientes: (1) peso de las semillas con tres niveles 0.46, 0.49 y 0.58 mg, (2) contenido de humedad con dos niveles 6% y 8% y (3) condición de almacenamiento con dos niveles: Laboratorio de semillas a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) y Banco de Germoplasma (BANGEV) a temperatura de -20 °C; teniendo un total de 12 tratamientos. La unidad experimental consistió en una caja Petri con 100 semillas y 5 repeticiones en cada tratamiento.

5.6 Condiciones de Germinación

El procedimiento consistió en sembrar 100 semillas en caja de Petri con agar higroscópico al 1% con 5 repeticiones. Las cajas fueron colocadas en una cámara de crecimiento con fotoperiodo de 12 horas luz/oscuridad, para el registro diario de luminosidad, temperatura y humedad relativa se utilizó un datalogger con el que se obtuvieron las siguientes condiciones: intensidad luminosa promedio de $24.43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 1) y temperatura máxima de $29 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ durante el día y mínima de $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ durante la noche (Figura 2) humedad relativa de 25.32% por el día y 33.82% por la noche (Figura 3).

La germinación se registró diariamente durante 30 días. El criterio para considerar germinada una semilla consistió en verificar que la radícula tuviera un crecimiento de aproximadamente 3 mm de longitud y se observara el inicio de la salida de la plántula.

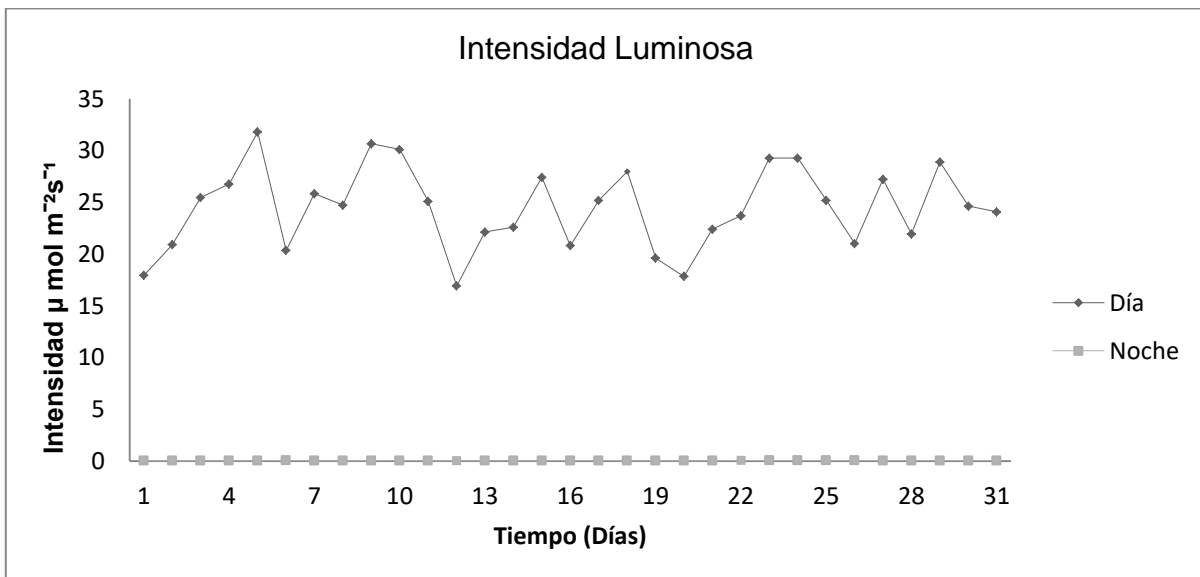


Figura 1. Iluminancia promedio diaria de la cámara de germinación, registro de 30 días.

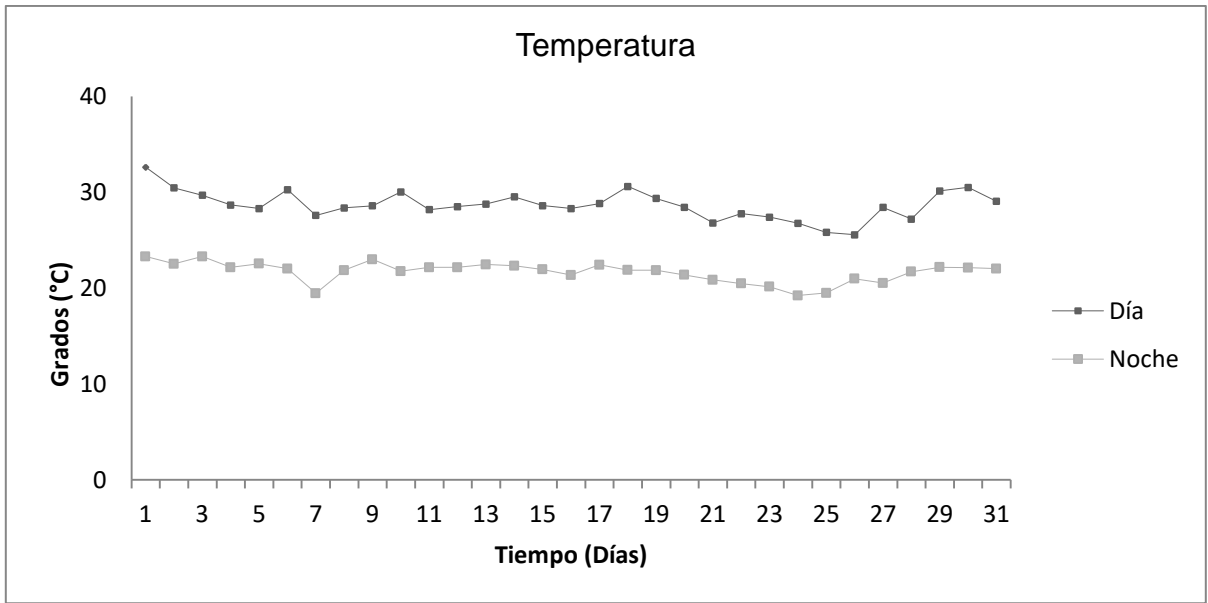


Figura 2. Temperatura promedio diaria de la cámara de germinación, registro de 30 días.

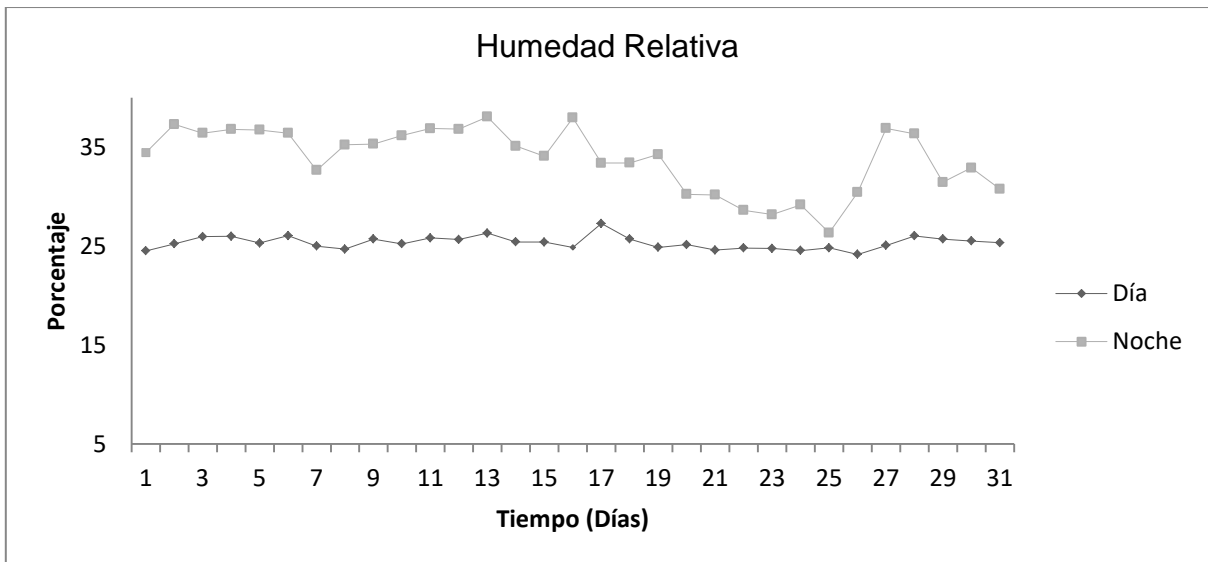


Figura 3. Humedad relativa promedio diario de la cámara de germinación, registro de 30 días.

5.7 Análisis estadístico

Los porcentajes de la germinación se transformaron al arcoseno (Reyes, 1987). Para la valoración se utilizó el programa SAS 9.1 (Statistical Analysis System), con el que se realizó el análisis de varianza para cada uno de los factores y la comparación de medias (Tukey $\alpha = 0.05$).

La pérdida de capacidad germinativa, fue calculada a partir de los datos proporcionados del promedio de la germinación inicial obtenida (95%), antes de ser almacenadas, menos la germinación alcanzada después de 4 años de almacenamiento.

6. RESULTADOS

6.1 Distribución de la germinación en el tiempo

La germinación de las semillas de *E. chiotilla* almacenadas a temperatura ambiente, presentó diferencia en las dos condiciones de contenido de humedad. En la condición de 6% y los diferentes pesos: 0.46, 0.49 y 0.58 mg la germinación inició al cuarto día de ser sembradas, presentaron un 50%, posteriormente se incrementó diferencialmente para estos tres tratamientos; el día 15 se estabilizó con 95% de germinación para las semillas de 0.58 mg, fue menor para los pesos de 0.49 (92%) y 0.46 mg (89%).

En la condición de 8% de contenido humedad, la germinación inició el sexto día con un incremento gradual para los tres pesos, alcanzó su máxima respuesta el día 16 con 64% para las semillas de 0.58 mg y para las semillas de 0.49 y 0.46 mg 50 y 54% respectivamente (Figura 4).

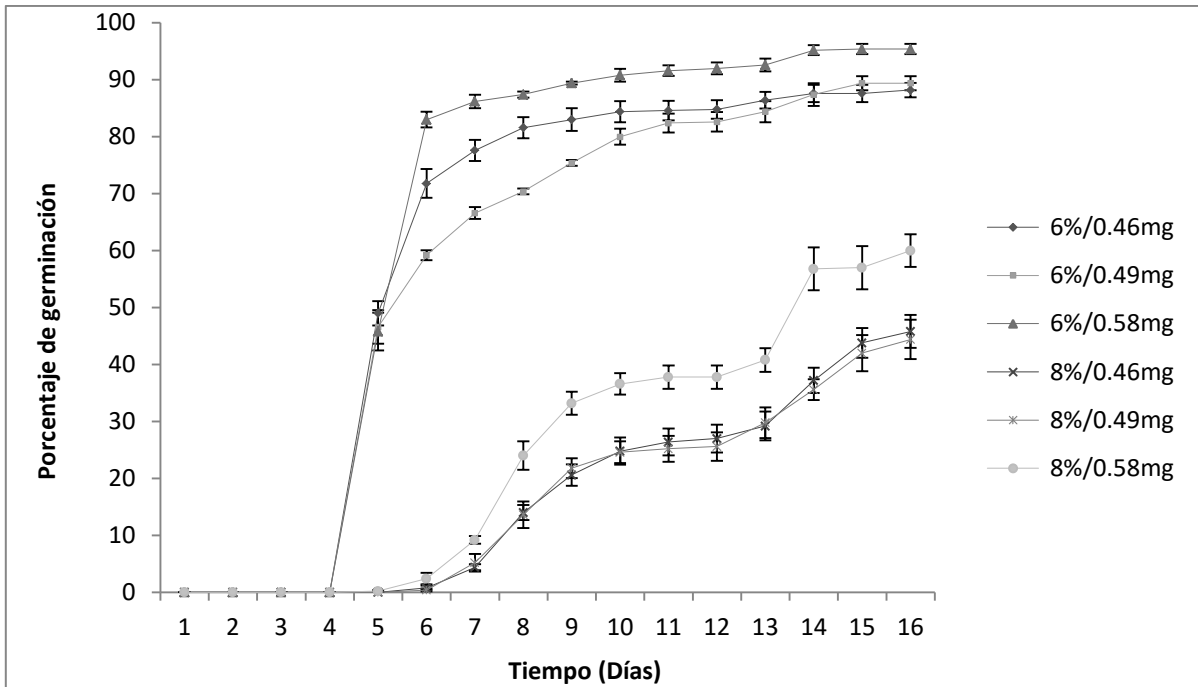


Figura 4. Distribución de la germinación en el tiempo, de las semillas de *E. chiotilla* almacenadas 4 años a temperatura ambiente (23 ± 2 °C). Semillas con diferente contenido de humedad (%) y peso (mg). Promedio de $n= 5 \pm$ error estándar.

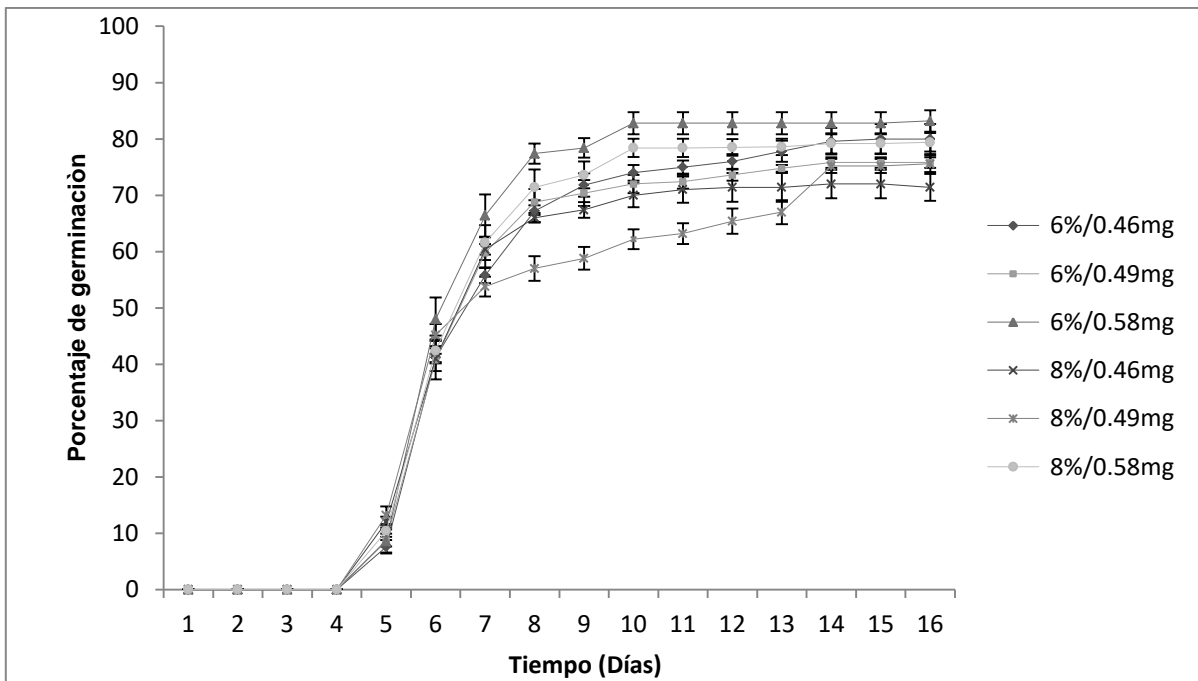


Figura 5. Distribución de la germinación en el tiempo, de las semillas de *E. chiotilla* almacenadas 4 años en el BANGEV (-20 °C). Semillas con diferente contenido de humedad (%) y peso (mg). Promedio de $n= 5 \pm$ error estándar.

Los resultados de las semillas de *E. chiotilla* almacenadas en el BANGEV (-20 °C), revelaron que el proceso de germinación se inició el día cinco con 1% y para el día seis, se muestra un incremento de 40%, alcanza su máxima respuesta el día 16 para el contenido de humedad de 6%: pesos de 0.58 y 0.46 mg con 84% de germinación en ambos casos y 77% para el peso de 0.49 mg. En el contenido de humedad de 8% con pesos de 0.58 y 0.49, 0.46 mg, presentaron un 80, 77 y 71% de germinación, para esta condición de almacenamiento el patrón de la distribución en el tiempo fue similar en los tratamientos (Figura 5).

6.2 Condición de almacenamiento

Las semillas de *E. chiotilla*, no presentaron diferencias significativas en las condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente 23 ± 2 °C y BANGEV -20°C (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de medias de la capacidad germinativa de las semillas de *E. chiotilla* en dos condiciones de almacenamiento.

Temperatura	Capacidad germinativa (%)	Agrupamiento
Ambiente (23 ± 2 °C)	79	a
BANGEV (-20 °C)	77	a

Nota: Prueba de Tukey con $\alpha = 0.05$, letras iguales no son significativamente diferentes.

6.3 Efecto del contenido de humedad en la semilla

Las semillas de *E. chiotilla* mostraron diferencias significativas (Tabla 2), ya que un menor contenido de humedad favoreció la conservación de la capacidad germinativa.

Tabla 2. Comparación de medias de la capacidad germinativa de las semillas de *E. chiotilla* en dos contenidos de humedad a cuatro años de almacenamiento.

Contenido de Humedad (%)	Capacidad germinativa (%)	Agrupamiento
6	88	a
8	66	b

Nota: Prueba de Tukey con $\alpha = 0.05$, letras iguales no son significativamente diferentes.

6.4 Efecto del peso de la semilla

Las semillas de *E. chiotilla* con mayor peso 0.58 mg mostraron diferencias significativas respecto a los otros pesos (Tabla 3); presentaron la germinación más alta (82%).

Tabla 3. Comparación de medias de la capacidad germinativa de las semillas de *E. chiotilla* de diferentes pesos, almacenadas cuatro años a temperatura ambiente.

Variable (Peso)	Capacidad germinativa (%)	Agrupamiento
0.58 mg	82	a
0.49 mg	76	b
0.46 mg	75	b

Nota: Prueba de Tukey con $\alpha = 0.05$, letras iguales no son significativamente diferentes.

6.5 Efecto del contenido de humedad y el peso de las semillas almacenadas a temperatura ambiente

Los resultados de la germinación de las semillas de *E. chiotilla* almacenadas a temperatura ambiente (23 ± 2 °C), mostraron diferencias significativas en su respuesta, manifestada en la disminución de la germinación. Con un contenido de humedad 6% mostraron (Fig. 6), en general una mayor germinación (90 a 95%) con pérdida del 3%, en relación a las semillas con contenido de humedad de 8% (50 a 64%) donde la pérdida fue de 45% (Tabla 4).

Respecto a la combinación contenido de humedad/peso la respuesta de germinación fue 95% para las semillas de mayor peso 0.58 mg y 6% de contenido de humedad, las cuales presentaron diferencia con las de menor peso 0.46 mg (89%), estas últimas no presentaron diferencias (Figura 6) con las semillas del peso 0.49 mg (92%). Mientras que para la misma condición de almacenamiento, pero con un contenido de humedad de 8% se observó diferencia entre las semillas con pesos de 0.58 mg (64%) contra 0.46 mg (54%) y 0.49 mg (50%) en estos dos últimos, no se encontró diferencia estadística entre ellos (Tabla 5 anexo).

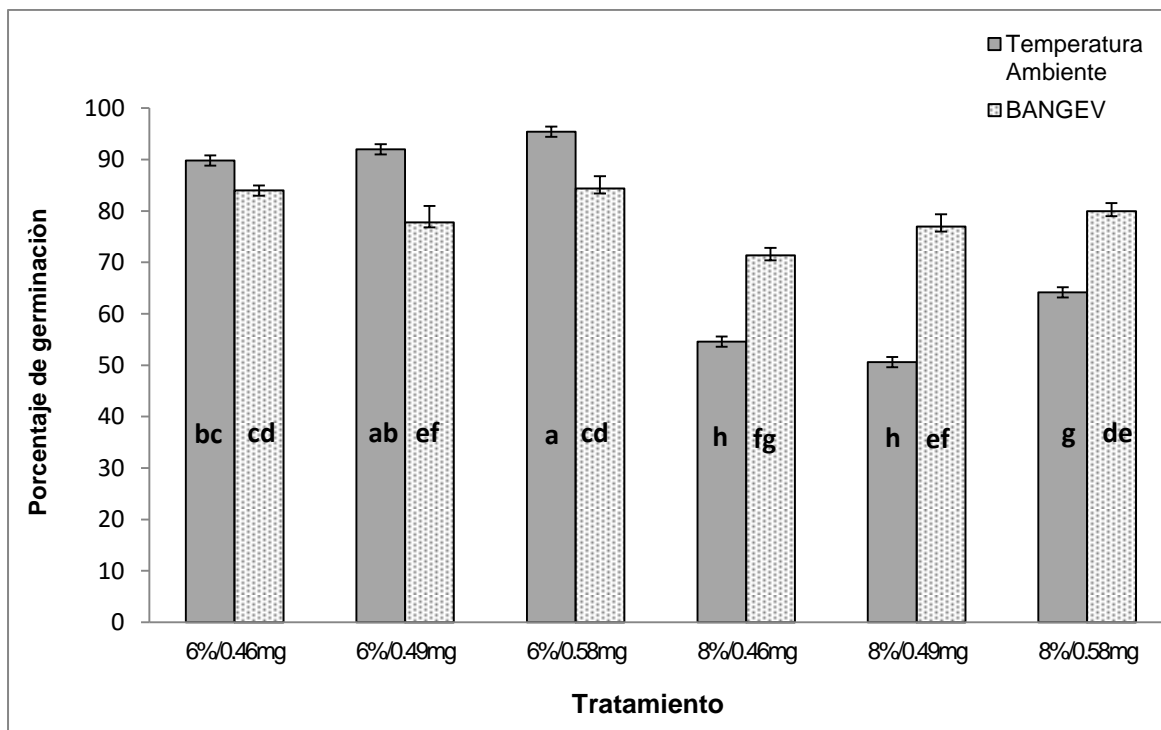


Figura 6. Capacidad germinativa de semillas de *E. chiotilla* a cuatro años de almacenamiento a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) y BANGEV (-20 °C). Promedio(n= 5) \pm error estándar. Valores con la misma letra no presentaron diferencias.

6.6 Efecto del contenido de humedad y peso de las semillas almacenadas en el BANGEV (-20°C)

Las semillas almacenadas en el banco de germoplasma (-20 °C) mostraron diferencias en la germinación (Figura 6, Tabla 5 anexo) en los contenidos de humedad de 6 y 8% y peso de 0.46 mg. La respuesta de germinación con 6% de contenido de humedad y los pesos de 0.46 mg y 0.58 mg (84%) presentaron diferencia con las de 0.49 mg (77%).

Para las semillas con 8% de contenido de humedad y pesos de 0.46 y 0.49 mg no se observaron diferencia de germinación 71 y 77% respectivamente. Mientras que semillas con un peso de 0.46 mg muestran diferencias respecto a las semillas de 0.58 mg con una germinación 80% (Figura 6).

6.7 Capacidad germinativa después del almacenamiento

Las semillas almacenadas a temperatura ambiente con 6% de contenido de humedad y un peso de 0.58 mg no presentaron disminución en su capacidad germinativa (95% inicial), para las semillas de 0.49 mg presentaron 3 % y las de 0.46 mg un 6% de pérdida en su capacidad. En semillas con 8% de contenido de humedad presentaron una pérdida mayor (Tabla 4), para semillas de 0.58 mg (31%), 0.49 mg (45%) y 0.46 mg (38%).

Para las semillas almacenadas en el BANGEV (Tabla 4), la pérdida de la capacidad germinativa en función de la germinación inicial (95%) fue de 11% para las semillas con un 6% de humedad y pesos de 0.58 y 0.46 mg mientras que semillas con 0.49 mg presentaron una disminución de 18%. Para semillas con 8% de humedad y peso de 0.58 mg obtuvo 15% de disminución, y en pesos de 0.49 y 0.46 mg se tuvo 18 y 24% respectivamente.

Tabla 4. Pérdida de la capacidad germinativa en las semillas de *E. chiotilla* almacenadas durante cuatro años a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) y BANGEV (-20 °C).

Contenido de humedad de la semilla (%)	Peso (mg)	Germinación (%)		Diferencia en el porcentaje de germinación *	
		TA	BANGEV	TA	BANGEV
6	0.58	95	84	0	11
6	0.49	92	77	3	18
6	0.46	89	84	6	11
8	0.58	64	80	31	15
8	0.49	50	77	45	18
8	0.46	54	71	38	24

*El porcentaje de germinación inicial se obtuvo a partir del presentado 95 % antes del almacenamiento.

7. DISCUSIÓN

7.1 Distribución de la germinación en el tiempo

En las semillas de *E. chiotilla* almacenadas a temperatura ambiente 23 ± 2 °C con un contenido de humedad del 6%, el proceso germinativo inició el cuarto día, con una respuesta baja (<50 %), las semillas con humedad de 8 % iniciaron tal proceso el sexto día (Fig. 4) mientras que las almacenadas en el BANGEV -20 °C mostraron una germinación inicial (Fig. 5) al cuarto día para ambos contenidos de humedad (6 y 8%). Las semillas presentan un mecanismo de germinación característico que responde al efecto de la selección natural inducida por las condiciones ambientales predominantes en su hábitat y se caracteriza por presentar un periodo corto en el que alcanzan su máxima germinación; como lo observado en las semillas almacenadas a 6% de contenido de humedad, esta respuesta se atribuye a que en su condición natural durante este periodo la humedad en el suelo y el clima son adecuados para el establecimiento de sus plántulas.

Otra respuesta que pueden presentar es una germinación gradual (Vázquez-Yanez *et al.*, 1997) esto es a lo largo de varios días como el mostrado por las semillas con 8% de contenido de humedad. Las causas de estos patrones de germinación son variables, complejas y poco conocidas para muchas especies silvestres, como es el caso de *E. chiotilla*. De la misma forma, se ha planteado que algunas semillas pueden tolerar ciertos grados de pérdida de humedad entrando en un estado quiescente (de reposo) hasta que se incremente la humedad y se alcance el grado de hidratación necesaria para iniciar los cambios fisiológicos que resultan indispensables para activar el metabolismo y el crecimiento del embrión, lo que puede manifestarse en una germinación gradual.

7.2 Condición de almacenamiento

Al comparar el efecto de las condiciones de almacenamiento: temperatura ambiente 23 ± 2 °C y BANGEV -20 °C, las semillas de *E. chiotilla*, no presentan diferencias significativas (Tabla. 1) en el proceso germinativo, esto puede deberse a que la humedad y la temperatura son los factores clave que rigen el almacenamiento de semillas, una vez que las semillas son cosechadas, se deben almacenar bajo condiciones que reduzcan al mínimo la velocidad de deterioro, su longevidad depende de las condiciones ambientales, siendo el ambiente seco y frío el más adecuado para el almacenamiento de semillas ortodoxas. La longevidad tiende a disminuir, en general, cuando la temperatura de almacenamiento supera los 20 °C (ISTA, 1998). En el caso de las semillas almacenadas a temperatura ambiente esta se encuentra cercana a los 20 °C por lo que es factible que esto haya contribuido a su conservación.

El almacenamiento a temperatura ambiente, se ha propuesto como alternativa rentable al almacenamiento a baja temperatura. Sin embargo en esta condición, aún no está claro si existe un límite de contenido en humedad bajo, lo que podría comprometer la vida útil de la semilla, o si el contenido óptimo de humedad depende de la temperatura de almacenamiento (Colville, 2017).

El almacenamiento de las semillas, según su comportamiento, permite la conservación a largo plazo utilizando bajos contenidos de humedad y bajas temperaturas. Basado en el supuesto de Harrington (1972) quien señala, que por cada 5 °C en la disminución de la temperatura y 1% en la disminución del contenido de humedad, en las condiciones de almacenamiento, se incrementa la longevidad a casi el doble (Gómez-Campos, 1985, 1987). Los resultados en este trabajo muestran que al reducir el contenido de humedad en las semillas almacenadas a bajas temperaturas, estas conservaron la capacidad de germinación acercándose a lo mencionado por Harrington.

7.3 Efecto del contenido de humedad en la semilla

Las semillas de *E. chiotilla* mostraron diferencias significativas de acuerdo a su contenido de humedad, ya que un 6% (Fig. 6, Tabla. 2) favoreció la conservación de la capacidad germinativa en los diferentes pesos. Al respecto se ha reportado para otras especies como *Melilotus sauvedens*, que una disminución en el contenido de humedad inhibe la actividad oxidante dentro del metabolismo celular de la semilla, lo que conserva su viabilidad y por ende, un mayor porcentaje de germinación (Liu Yan *et al.*, 2011).

En cuanto la respuesta de las semillas almacenadas con 8% de humedad, esta se atribuye a que en presencia de agua se reactivan las vías metabólicas que contribuyen y generan la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que participan en el deterioro de la semilla por lo que en este caso el éxito de la germinación será fuertemente dependiente de los mecanismos antioxidantes con los que cuente la semilla y que operen durante este periodo (De Gara *et al.*, 1997). Esto es la capacidad de las semillas para recoger las ROS a través de procesos enzimáticos y no enzimáticos antioxidantes. De la misma manera, aunque los ROS se han asociado con daño celular, su importancia radica en facilitar el ablandamiento de la membrana celular durante el alargamiento tisular, y por tanto, el crecimiento y desarrollo de las plántulas que están emergiendo (Miller *et al.*, 2008).

7.4 Efecto del peso de la semilla

De acuerdo con Banovetz y Scheiver (1994) las semillas grandes tienden a mantener su viabilidad, germinación e incrementan su velocidad de emergencia, además de sobrevivir mejor que las semillas pequeñas sometidas a condiciones adversas, en este caso, las semillas de *E. chiotilla* con mayor peso 0.58 mg (Tabla 3) presentaron la germinación más alta (82%). Sánchez-Salas *et al.* (2006)

mencionan que las diferencias en longitud y peso entre dos tamaños de semillas pueden parecer pequeñas lo cual no obsta para que dejen de observar diferencias estadísticamente significativas en su germinación. También se ha reportado que un mg de diferencia entre el peso de semillas puede implicar diferencias en la capacidad germinativa, probablemente debido a la mayor concentración de nutrientes en la semilla. En este trabajo no se encontraron diferencias en semillas de 0.49 y 0.46 mg con germinación de 76 y 75% respectivamente (Tabla 3), es decir, con pesos menores a 1 mg respecto al tamaño. Sin embargo Loza-Cornejo *et al.* (2008) reportan que al comparar la capacidad germinativa de semillas pequeñas y ligeras de *E. chiotilla* presentaron un retraso en la germinación.

7.5 Relación entre el peso, contenido de humedad y condición de almacenamiento

En general en este trabajo se observó pérdida de la capacidad germinativa de las semillas *E. chiotilla* (Tabla 4) a un contenido de humedad de 8% en comparación con el de 6%, así como en los menores pesos en un periodo de cuatro años (Fig. 6, Tabla 5 anexo). Mientras que a temperaturas bajas, el evento principal de deterioro de las semillas son los radicales libres, a altas temperaturas la pérdida de viabilidad está estrechamente relacionada con la inactivación térmica de las proteínas. Las modificaciones no enzimáticas de las proteínas a través de reacciones de Amadori y de Maillard juegan un papel importante en la pérdida de viabilidad aumentando significativamente contenidos de los productos de glucosa y la peroxidación durante el almacenamiento, causando envejecimiento y pérdida de vigor de las plántulas (Narayana-Murthy y Wendell, 2000).

En el caso de las semillas almacenadas a temperatura ambiente el proceso de germinación se vio afectado (Tabla 5 anexo), con el contenido de humedad de 8%. De acuerdo con lo anterior, éste fue el factor más importante para determinar la velocidad a la cual las semillas se deterioran, y tiene un impacto considerable en la longevidad, incluso con pequeños cambios (Rao *et al.* 2007).

La alta temperatura junto con el contenido de humedad acelera el envejecimiento (Bewley, 1997) el cual se asocia con diversas alteraciones químicas incluyendo la pérdida de integridad de la membrana, reducción del metabolismo energético, deterioro del ARN, de la síntesis proteína y degradación del ADN (McDonald, 1999). La viabilidad puede permanecer siempre y cuando las condiciones internas y externas no perturben el metabolismo y funcionamiento de la semilla. Aun en condiciones latentes, las semillas respiran a mucha menor tasa y mantienen en equilibrio sus funciones; el desajuste interno y/o el efecto nocivo del medio externo causan la pérdida de la viabilidad que se traduce en la muerte de la semilla (Flores, 2004).

En las semillas almacenadas en el banco de germoplasma (-20 °C) se observaron diferencias significativas (Figura 6, Tabla 5 anexo) en la germinación para las semillas de 0.46 mg en ambos contenidos de humedad. Según Ruedas *et al.* (2000) los porcentajes de germinación superiores al 70% bajo condiciones de laboratorio son altos para especies de cactáceas, en este caso, la germinación se mantuvo entre un 84 y 71% al cuarto año.

El almacenamiento en el Banco de germoplasma (-20 °C) mostró que la germinación se mantiene constante en la combinación de los diferentes tratamientos, así que no influye el contenido de humedad y el peso de la semilla en la conservación, en esta condición la pérdida de la capacidad germinativa fue de 11 a 24% (Tabla 4).

Por otra parte también se ha encontrado que cuando las semillas contienen concentraciones altas de lípidos y ácidos grasos poliinsaturados (Mansfield y Briarty, 1992), la peroxidación de estos provoca la generación y acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Hendry, 1993; Bailly, 2004) que conducen a la disfunción mitocondrial, inactivación enzimática, perturbación y daño de la membrana (Coolbear, 1995) con la consecuente pérdida de viabilidad de la semilla. En el caso de *E. chiotilla* es necesario determinar el tipo y cantidad de

lípidos que presenta, ya que se ha observado la presencia de estos en las semillas (datos sin publicar), lo que podría afectar su conservación en un periodo de almacenamiento más prolongado.

El potencial de conservación está estrechamente unido a la capacidad de desarrollar y mantener una condición de inactividad fisiológica durante el almacenamiento. Las condiciones ideales son aquellas que reducen la actividad fisiológica donde, generalmente baja temperatura y bajo contenido de humedad. De esta manera es necesario conocer las condiciones específicas para cada especie, en especial, para las cactáceas ya que presentan lento crecimiento y alta mortalidad en las primeras etapas de vida, sobre todo, en ambientes con limitada disponibilidad de humedad, como el valle de Tehuacán, Puebla (Ruedas *et al.* 2000).

8. CONCLUSIONES

La distribución de la germinación en el tiempo, mostró diferentes días para el inicio de la germinación de las semillas almacenadas a temperatura ambiente con un contenido de humedad de 6% y 8%, mientras las almacenadas en el BANGEV -20 °C iniciaron el mismo día.

No se observó diferencia en la respuesta germinativa de las semillas de *E. chiotilla* almacenadas a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) y en el Banco de Germoplasma vegetal (-20 °C)

El contenido de humedad 6% conservo la capacidad de germinación de las semillas de *E. chiotilla* .

Las semillas de *E. chiotilla* de mayor peso (0.58 mg) conservaron su capacidad de germinación.

Las semillas de *E. chiotilla* almacenadas a temperatura ambiente (23 ± 2 °C) con contenido de humedad de 6% y peso de 0.58 mg conservaron una germinación de 95% seguida de las semillas con un peso de 0.49 mg con 92%.

El almacenamiento de las semillas de *E. chiotilla* en el BANGEV -20 °C, con contenidos de humedad 6%, con pesos de 0.58 y 0.46 mg (84%) y 8% con un peso de 0.58 mg (80%) conservaron buena capacidad germinativa a cuatro años de almacenamiento.

9. BIBLIOGRAFIA

- Ashton, P. S. 1987. Biological considerations in *in-situ* versus *ex-situ* plant conservation. En: Bramwell, D., Hamann, O., Heywood, V. H., Synge, H. (Eds.) Botanic Gardens and the World Conservation Strategy. Academic Press, London, pp. 117-130.
- Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*. 14: 93-109.
- Banovetz, J. S. y Scheiver, S. M. 1994. The effects of seed mass on the seed ecology of *Coreopsis lanceolata*. *American Midland Naturalist*. 131(1):65-74.
- Bewley, D. J. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*. 9:1055-1066.
- Bravo-Hollis, H. y Sánchez-Mejorada, H. 1991. Las cactáceas de México. UNAM. México. Vol. 2. 404 p.
- Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México. UNAM. Vol. I. 743 p.
- Casas, A., Valiente-Banuet, A., Viveros, J. L., Caballero, J., Cortes, L., Dávila, P., Lira, R. y Rodríguez, I. 2001. Plant Resources of the Tehuacan-Cuicatlan Valley-México. *Economic Botany*. 55 (1): 129-166.
- Coolbear, P. 1995. Mechanism of seed deterioration. En: Basra AS. (Ed.) *Seed Quality: Basic Mechanisms and Agricultural Implications*. New York: Food Product Press, pp. 223-277.

- Colville, L. 2017. Seed Storage. Encyclopedia of Applied Plant Sciences, 2nd edition, Volume 1. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. pp. 335-339
- CONABIO. 2000. Estrategia nacional sobre biodiversidad de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/estrategia_nacional/doctos/pdf/ENB.pdf
- CONAFOR. 2013. Consultado: Noviembre, 19 de 2013. <http://www.conafor.gob.mx/bancos-germoplasma>.
- Conway, W.1988. Can technology aid species preservation? En: Wilson, E.O. (ed.) Biodiversity. National Academy Press, Washington, DC. pp. 263-268.
- Chin, H. F. 1994. Seed banks: conserving the past for the future. Seed Science and Technology. 22:385-400.
- Dávila, A.P., Villaseñor, R.J.L., Medina, L.R., Ramírez, R.A., Salinas, T.A., Sánchez, K.J. y Tenorio, L.P. 1993. Flora del Valle Tehuacan-Cuicatlan. Listado Florístico de México. Instituto de Biol. Universidad Nacional Autónoma de México. 195 p.
- De Gara L, De Pinto M.C. y Arrigoni, O.1997. Ascorbate synthesis and ascorbate peroxidase activity during the early stage of wheat germination. Physiologia Plantarum 100:894–900.
- Ellis, R.H., Hong, T.D., Roberts, E.H. y Tao, K.L. 1990. Low moisture limits to relations between seed longevity and moisture. Annals of Botany. 65:493-504.
- Ellis, R.H., Hong, T.D. y Roberts, E.H. 1985. Handbook of Seed Technology for Genebanks. Vol. I. Principles and Methodology. Handbooks for Genebanks: No. 2. IBPGR Secretariat, Roma. 210 p.
- FAO (Food and Agriculture Organization) y IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute). 1994. Genebank Standards. FAO, IPGRI, Roma. 166 p.
- Forero, E.1994. El futuro de la botánica en América latina. Acuerdos y realidades. Ciencias. 34: 35-43.

- Flores, H. A. 2004. Introducción a la tecnología de las semillas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 160 p.
- Gómez-Campo, C. 1985. Seed bank as an emergency conservation strategy. En: Gómez-Campo, y W. Junk. Plant Conservation in the Mediterranean area. Publisher Group, Boston, USA. 247 p.
- Gómez-Campo, C. 1987. Strategy for seed banking in botanic gardens: some policy considerations. En: Bramwell, D., Hamann, O., Heywood, V. y Syngé, H. (Eds.). Botanic gardens the world conservation strategy. Published for IUCN by Academic Press, London. pp. 151-160.
- Harrington, H.D. 1972. Western edible wild plants. The University of New Mexico Press. 156 p.
- Hendry GAF. 1993. Oxygen, free radical processes and seed longevity. Seed Science Research. 3:141-53.
- Hong, T.D. y Ellis, R.H. 1996. A protocol to determine seed storage behavior. International Plant Genetic Resources Institute (IPGR), Rome, Italy. 62 p.
- Iriondo, A. J. M. 2001. Conservación de germoplasma de especies raras y amenazadas (Revisión). Universidad Politécnica de Madrid. Investigaciones Agropecuarias: Producción, Protección Vegetal. 16 (1):1-24.
- Iriondo, J.M. y Pérez, C. 1999. Propagation from Seeds and Seed Preservation. En: Bowes, B.G. (Editor). A Colour Atlas of Plant Propagation and Conservation. Manson Publishing, London. pp. 46-57.
- ISTA. 1998. Tropical and sub-tropical tree and shrub seed. En: Poulsen, K. M., Parratt, M. J. y Gosling, P. G. (Editors). International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. pp. 6.
- Justice, O.L. y Bass, L.N. 1978. Principles and practices of seed storage. USDA Handb. 506. U.S. Government Printing Office, Washington, DC. 289 p.
- López, G. R., Díaz, P. J. C. y Flores, M. G. 2000. Propagación vegetativa de tres especies de cactáceas: Pitaya (*Stenocereus griseus*), Tunillo (*Stenocereus stellatus*) y Jotilla (*Escontria chiotilla*). Agrociencia. 34 (3): 363-367.

- Loza-Cornejo, S., López-Mata, L. y Terrazas, T. 2008. Morphological seed traits and germination of six species of *Pachycereae* (Cactaceae). *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 10(1): 71-84.
- Lui, Y., Liu, G., Li, Q., Duan, X. y Hou, L. 2011. Effect of Moisture Content on *Melilotus sauedens* seed Quality During, Ultra during storage. *Journal of north east Agricultural University*. 18(1):33-38.
- Mansfield, S. G. y Briarty, L. G. 1992. Cotyledon cell development in *Arabidopsis thaliana* during reserve deposition. *Canadian Journal of Botany*. 70: 151-164.
- Martínez-Cárdenas, M. L., Cabrera, J. M. C., Carmona, A. y Varela, H. G. J. 2006. Promoción de la germinación de *Stenocereus pruinosus* (Haworth) Buxbaum Y *Escontria chiotilla* (Weber) Rose. *Cactáceas y suculentas mexicanas*. 51 (4): 111-121.
- McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science Technology*. 27: 177 - 237.
- Miller, G. Coutu, J., Shulaev, V. y Mittler, R. 2008. Reactive oxygen signalling in plants. En: Yang Z. (Editor). *Annual plant reviews, volume 33: intracellular signalling in plants*. Oxford: Wiley-Blackwell Publishing; p. 189–201.
- Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V. y Hawkes, J.G. 1997. Complementary Conservation Strategies. En: Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V. and Hawkes, J.G.(Eds.) *Plant Genetic Conservation. The in situ Approach*. Chapman & Hall, London. pp. 15-39.
- Narayana-Murthy, U. M. y Wendell, Q. Sun. 2000. Protein modification by Amadori and Maillard reactions during seed storage: roles of sugar hydrolysis and lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*. 51(348):1221-1228.
- Nieto, P. C. 1980. La jiotilla. Comunicado No. 41. Sobre recursos bióticos potenciales del país. Instituto Nacional de Investigaciones sobre recursos bióticos. México.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Roma 2013. Normas para bancos de germoplasmas de recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. 167 p.

- Rao, K. N., Hanson, J., Dulloo, E. M., Ghosh, K., Nowell, D. y Laringe, M. 2007. Manual para el manejo de semilla en bancos de germoplasma No. 8. Bioversity internacional, Roma, Italia. 165p.
- Ruedas, M., Valverde, T. y Castillo, S. A. 2000. Respuesta germinativa y crecimiento de plántulas de *Mamillaria magnimamma* (Cactaceae) bajo diferentes condiciones ambientales. Boletín de la Sociedad Botánica Mexicana. 66:25-35.
- Reid, W V. y Miller, K.R. 1989. Keeping Options Alive. The Scientific Basis for Conserving Biodiversity. World Resources Institute, Washington. 128 p.
- Reyes, C. P. 1987. Diseño de experimentos aplicados. Trillas. México, D.F. 348 p.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México. 432 p.
- Sánchez- Salas, J., Flores, J. y Martínez-García, E. 2006. Efecto del tamaño de la semilla en la germinación de *Astrophytum myriostigma lemaire* (Cactaceae) especie amenazada de extinción. Interciencia. 31:371-375.
- Toledo, V. M. 1994. La diversidad biológica de México nuevos retos para la investigación en los noventas. Ciencias. 34:43-57.
- UNCED, 1992. Convention on Biological Diversity. United Nations Conference on Environment and Development, Ginebra.
- Universidad Autónoma Chapingo. 2010. Consultado: Noviembre, 19 de 2013. <http://www.chapingo.mx/bagebage/>.
- Vázquez-Yanes, C., Orozco, S. A., Rojas-Aréchiga, M. y Sánchez, C. M. E. 1997. La Reproducción de las plantas: semillas y meristemos. Fondo de Cultura Económica. México. 167 p.
- Vertucci, C.W. y Roos, E. E. 1990. Theoretical basis of protocols for seed storage. Plant Physiology. 94:1019-1023.
- Vertucci, C.W. y Roos, E.E. 1993. Theoretical basis of protocols for seed storage II. The influence of temperatura on optimal moisture levels. Seed Science Research. 3:201-213.

10. ANEXO

Tabla 5. Comparación de medias en la capacidad germinativa de las semillas de *E. chiotilla* de diferente peso y contenido de humedad, en dos condiciones de almacenamiento.

Tratamientos Temperatura/Contenido de Humedad (%)/ Peso (mg)	Germinación (%)	Agrupamiento
Ambiente (23 ± 2 °C)/ 6/ 0.58	95	a
BANGEV(-20 °C/ 6/ 0.58	84	cd
BANGEV(-20 °C)/ 8/ 0.58	80	de
Ambiente(23 ± 2 °C)/ 8/ 0.58	64	g
Ambiente(23 ± 2 °C)/ 6/ 0.49	92	ab
BANGEV(-20 °C)/ 6/ 0.49	77	ef
BANGEV(-20 °C)/ 8/ 0.49	77	ef
Ambiente(23 ± 2 °C)/ 8/ 0.49	50	h
Ambiente(23 ± 2 °C)/ 6/ 0.46	89	bc
BANGEV(-20 °C)/ 6/ 0.46	84	cd
BANGEV(-20 °C)/ 8/ 0.46	71	fg
Ambiente(23 ± 2 °C)/ 8/ 0.46	54	h

Nota: Prueba de Tukey con $\alpha = 0.05$, letras iguales no son significativamente diferentes