



# UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

## TESIS

### ESTRATEGIAS DE PROPAGACIÓN DEL ÁRBOL TROPICAL *Licania arborea* Seem (CHRYSOBALANACEAE)

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS EN  
BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN DE  
ECOSISTEMAS TROPICALES**

PRESENTA

**CARLOS ALBERTO RÍOS GARCÍA**

DIRECTORA

**DRA. CAROLINA ORANTES GARCÍA**

Instituto de Ciencias Biológicas-UNICACH

CO-DIRECTOR

**DR. EDUARDO R. GARRIDO R.**

INIFAP-Campo experimenta IOcozocoautla

ASESORA

**DRA. ALMA GABRIELA VERDUGO VALDEZ**

Instituto de Ciencias Biológicas-UNICACH



Tuxtla Gutiérrez

Febrero de 2018



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS**  
**Dirección de Investigación y Posgrado**



**investigación**  
*y posgrado*

**Tuxtla Gutiérrez, Chiapas**  
**20 de febrero de 2018**  
**Oficio No. DIP- 303/2018**

**C. Carlos Alberto Ríos García**  
**Candidato al Grado de Maestro en Ciencias**  
**en Biodiversidad y Conservación de Ecosistemas Tropicales**  
**Presente.**

En virtud de que se me ha hecho llegar por escrito la opinión favorable de la Comisión Revisora que analizó su trabajo terminal denominado "**Estrategias de propagación del árbol tropical *Licania arborea* Seem (*Chrysobalanaceae*)**", y que dicho trabajo cumple con los criterios metodológicos y de contenido, esta Dirección a mi cargo le autoriza la impresión del documento mencionado, para la defensa oral del mismo, en el examen que usted sustentará para obtener el Grado de Maestro en Ciencias en Biodiversidad y Conservación de Ecosistemas Tropicales. Se le pide observar las características normativas que debe tener el documento impreso y entregar en esta Dirección un tanto empastado del mismo

**Atentamente**

**"Por la Cultura de mi Raza"**

**Dra. Magnolia Solís López**  
**Directora.**



**DIRECCION DE INVESTIGACION**  
**Y POSGRADO**

C.c.p. Expediente

Unidad de Estudios de Posgrado  
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. México  
Libramiento Norte Poniente No 1150. C.P. 29000  
Teléfono: 61-70440 Ext.4360.  
[investigacionyposgrado@unicach.mx](mailto:investigacionyposgrado@unicach.mx)



*“Todo el que disfruta cree que lo que importa del árbol es el fruto, cuando en realidad es la semilla. He aquí la diferencia entre los que creen y los que disfrutan...”*

Friedrich Wilhelm Nietzsche

Dedicado a...

María del Rosario y Alejandro

-Mis padres

Alejandro

-Mi hermano

A mi familia que siempre ha creído en mí, especialmente a  
Mamá Yoya †

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización del posgrado en Ciencias en Biodiversidad Y Conservación de Ecosistemas Tropicales, durante el periodo 2016-2017 y la beca mixta para la realización de la estancia en el Banco de Germoplasma del Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C.

Al Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, por permitirme desarrollarme de manera profesional dentro del posgrado.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias- campus Ocozocoautla de Espinosa, Chiapas; por brindarme un espacio en sus instalaciones.

Al Banco de Germoplasma del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. por permitirme formar parte de su grupo de trabajo durante mi estancia de investigación.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

A mi directora de tesis, la Dra. Carolina Orantes García, por permitirme ser de nueva cuenta uno de sus alumnos, por guiarme, por sus enseñanzas y consejos, principalmente por su amistad. Gracias por dejarme aprender a base de errores, por brindarme la confianza en los experimentos, además de permitirme colaborar en publicaciones que son parte de mi formación como profesionista e investigador. Gracias infinitas.

Al Dr. Eduardo Garrido Ramírez por su amistad y todo el apoyo otorgado en la codirección de la tesis, por sus observaciones en el manuscrito. ¡Gracias por todo!

A la Dra. Alma Gabriela Verdugo, quien por segunda ocasión forma parte de mi comité de tesis, muchas gracias por su amistad, tiempo y apoyo, por sus observaciones y aportes realizados a mi trabajo de investigación. ¡Gracias por todo!

A mis revisores: Dra. Tamara Rioja, Dr. Wilfredo Matamoros y Dr. Roger Orellana, quienes amablemente se tomaron el tiempo de leer mi documento, para mejorarlo mediante cada una de sus observaciones que de una u otra forma fueron tomadas en cuenta, gracias por todas sus enseñanzas brindadas.

Al Dr. Alfonso Larqué por brindarme su confianza al aceptarme como uno de sus estudiantes durante la estancia corta, por sus enseñanzas, consejos, charlas y amistad. Además de todo su equipo de trabajo: a la M. en C. Candy Pérez, por todo lo que me dejó aprender de las semillas y las colecciones de los libros sagrados. A la Lic. Silvia Vergara, por su apoyo en los trámites y su amistad. A la Dra. Wendy, Bióloga Ángela, Ing. José, por los buenos momentos en el comedor.

A la Bióloga Dulce María Pozo Gómez, por su amistad y por acompañarme en todos esos momentos de preocupación en el laboratorio, por el apoyo en la

medición y pesado de semillas, además de todos los buenos momentos. ¡Gracias por todo!

Al Ing. César Fonseca, por su ayuda en la elaboración del mapa, por su gran amistad y por acompañarme en colectas de frutos. Por la buena convivencia.

A mis grandes amigos, a la Bióloga Alma Ferrer y el Biólogo Sergio Velázquez, por acompañarme en las colectas de frutos y por estar durante estos dos años en los momentos de cuanta locura se me ocurría, gracias por estar ahí siempre.

A mis grandes amigas, las biólogas Magali, Karina y Alejandra, por las buenas charlas y momentos dentro de la facultad y el laboratorio.

A la Bióloga Nidia del Carmen Ríos de León, por sus ánimos y porque aún en la distancia, conté con su apoyo.

A mis compañeritos de la segunda generación de la maestría; José María, Ella, Brendita, Dany, Yessi, Alejandro, Alexander, William y César, gracias por sus porras y por coincidir en este momento. ¡¡Éxito a todos!!

A mi primo el M. en C. José Alonso Ambrosio Ríos, quién además fue parte de mis compañeros de generación, siempre me apoyó en los estadísticos de mi trabajo y siempre estuvo moralmente cuando necesitaba de su ayuda.

Al Dr. Esteban Pineda Diez de Bonilla, coordinador de la maestría, por su apoyo durante el posgrado y en la realización de los trámites de egreso.

A los doctores que estuvieron durante mi formación en la maestría, por todos esos conocimientos que sembraron en mí, dentro y fuera del salón de clases, por permitirme coincidir en este momento. Gracias.

# ÍNDICE

	PÁGINA
ÍNDICE DE FIGURAS _____	IV
ÍNDICE DE CUADROS _____	VI
RESUMEN _____	VII
ABSTRACT _____	VIII
I. INTRODUCCIÓN _____	1
II. MARCO TEÓRICO _____	3
2.1 Descripción de la división Magnoliophyta Cronquist, Takht. & W. Zimm. ex Reveal _____	3
2.2 Descripción de la clase Magnoliopsida Brongn _____	4
2.3 Descripción del orden Rosales Bercht. & J. Presl _____	4
2.4 Descripción de la familia Chrysobalanaceae R. Br. _____	4
2.5 Descripción del género <i>Licania</i> Aubl. _____	5
2.6 <i>Licania arborea</i> Seem _____	6
2.6.1 Taxonomía _____	9
2.6.2 Sinonimia _____	9
2.6.3 Nombres comunes y étnicos en México _____	9
2.6.4 Ecología _____	10
2.6.5 Origen y distribución _____	10
2.6.6 Aprovechamiento _____	11
2.7 Propagación vegetal _____	12
2.8 Definición de semillas _____	14
2.8.1 Aparición de la semilla _____	14
2.8.2 Estructura del óvulo _____	15
2.8.3 Estructura de la semilla _____	16
2.8.4 Tipos de semillas _____	18
2.8.5 Almacenamiento de semillas _____	18
2.8.6 Contenido de humedad de la semilla _____	19
2.8.7 Calidad de semillas _____	19
2.8.8 El deterioro de las semillas _____	20

2.8.9 Viabilidad o longevidad de semillas _____	21
<b>2.9 Germinación _____</b>	<b>23</b>
2.9.1 Etapas de la germinación _____	25
2.9.4 Germinación <i>in vitro</i> _____	31
<b>III. ANTECEDENTES _____</b>	<b>33</b>
<b>IV. HIPÓTESIS _____</b>	<b>40</b>
<b>V. OBJETIVOS _____</b>	<b>41</b>
<b>5.1 General _____</b>	<b>41</b>
<b>5.2 Particulares _____</b>	<b>41</b>
<b>VI. ÁREA DE ESTUDIO _____</b>	<b>42</b>
<b>6.1 Ubicación geográfica _____</b>	<b>42</b>
<b>6.2 Vegetación _____</b>	<b>43</b>
<b>6.3 Fauna _____</b>	<b>43</b>
<b>6.4 Clima _____</b>	<b>44</b>
<b>6.5 Hidrología _____</b>	<b>44</b>
<b>VII. MATERIALES Y MÉTODO _____</b>	<b>45</b>
<b>7.1 Recolecta de material biológico _____</b>	<b>45</b>
<b>7.2 Fase experimental y de análisis _____</b>	<b>45</b>
7.2.1 Pruebas básicas de calidad de semillas _____	45
7.2.2 Fase de análisis _____	52
7.2.3 Crecimiento y desarrollo fenológico de plántulas de <i>Licania arborea</i> _____	52
<b>VIII. RESULTADOS _____</b>	<b>54</b>
<b>8.1 Pruebas básicas de calidad de semillas _____</b>	<b>54</b>
8.1.1 Morfometría y Alometría de semillas _____	54
8.1.2 Determinación de contenido de humedad de la semilla _____	57
8.1.3 Determinación de porcentaje de viabilidad de la semilla _____	59
8.1.4 Prueba de vigor por Conductividad eléctrica (CE) _____	61
8.1.5 Prueba de imbibición de semillas _____	63
<b>8.2. Prueba de germinación _____</b>	<b>64</b>

<b>8.3 Proceso fenológico de la germinación, crecimiento y desarrollo de <i>Licania arborea</i></b>	<b>71</b>
<b>IX. DISCUSIÓN</b>	<b>75</b>
<b>X. CONCLUSIONES</b>	<b>85</b>
<b>XI. RECOMENDACIONES</b>	<b>87</b>
<b>XII. LITERATURA CITADA</b>	<b>88</b>
<b>XIII. ANEXOS</b>	<b>102</b>
<b>Anexo 1. Guía para la descripción de semillas forestales de acuerdo a Niembro (1989).</b>	<b>102</b>
<b>Anexo 2. Variables del proceso germinativo de semillas de acuerdo a González-Zertuche y Orozco-Segovia, (1996):</b>	<b>112</b>
<b>Anexo 3. Imágenes del desarrollo del proyecto de investigación</b>	<b>114</b>
<b>Anexo 4. Productos generados de la tesis de Maestría</b>	<b>115</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>PÁGINA</b>
Figura 1. Tronco del árbol de totoposte ( <i>Licania arborea</i> ).....	6
Figura 2. Hojas del árbol de totoposte ( <i>Licania arborea</i> ), se aprecia en el envés la “pelusa” característica de la especie, producida por insectos. ....	7
Figura 3. Inflorescencias del árbol de totoposte ( <i>Licania arborea</i> ). ....	8
Figura 4. Frutos pertenecientes al árbol de totoposte ( <i>Licania arborea</i> ). ....	8
Figura 5. Distribución potencial de <i>Licania arborea</i> en el territorio mexicano (CONABIO, 2016). ....	11
Figura 6. Estructura del óvulo, el cual da origen a la semilla (Fotografía: Google).....	16
Figura 7. Estructura de la semilla, señalando el embrión (Plúmula, hipocótilo y radícula), el cotiledón y la cubierta o testa (Fotografía: Eladio Nonay).....	17
Figura 8. Germinación epigea de la judía ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ). (Figura modificada de Rost, Th. et al. 1997). ....	24
Figura 9. Germinación hipogea del guisante ( <i>Pisum sativum</i> ). (Figura modificada de Rost, Th. et al. 1997). ....	25
Figura 10. Los compuestos de reserva deben ser hidrolizados, hasta sus unidades fundamentales, para poder ser utilizados en el metabolismo energético de la semilla (Diagrama modificado de Pita-Villamil y Pérez-García, 1998). ....	27
Figura 11. Localización del municipio de Jiquipilas y la cabecera municipal .....	42
Figura 12. Ejes de medición para la determinación alométrica de semillas, largo de semillas (LS) y ancho de semillas (AS). ....	46
Figura 13. Morfología externa de las semillas de <i>Licania arborea</i> , se observa la testa verduzca por estar al contacto con el mesocarpo, y la superficie corrugada, con consistencia fibrosa. ....	54
Figura 14. Vista de rayos X de la semilla de <i>Licania arborea</i> mostrando la disposición de los cotiledones y la ubicación del embrión dentro de la semilla.....	55
Figura 15. Morfología interna de la semilla de <i>Licania arborea</i> mostrando el embrión, el endospermo, cotiledón y testa, como partes principales de la semilla. ....	55

Figura 16. Gráfica de porcentaje de humedad por meses de almacenamiento en semillas de <i>Licania arborea</i> , se observa la disminución de este atributo y las diferencias de acuerdo a la prueba de Tukey.....	58
Figura 17. Gráfica de porcentaje de viabilidad por meses de almacenamiento en semillas de <i>Licania arborea</i> , podemos observar la disminución de este atributo fisiológico y las diferencias que existen entre cada uno, de acuerdo a la prueba de Tukey.....	59
Figura 18. Patrones topológicos de las semillas de <i>Licania arborea</i> , a) Semillas totalmente teñidas que son viables, b) Semillas totalmente libres de coloración que son no viables y c) Semillas parcialmente teñidas que producirán plántulas normales o anormales, dependiendo de la intensidad y patrón de la tinción. ....	61
Figura 19. Mediciones de conductividad eléctrica ( $\mu\text{S}$ ) en semillas de <i>Licania arborea</i> con distintos tiempos de almacenamiento, embebidas a distintas horas.....	62
Figura 20. Gráfica de incremento de peso en semillas de <i>Licania arborea</i> almacenadas durante 0, 3, 6, 9 y 12 meses, expuestas a distintos tiempos de imbibición. Se observa mayor incremento en semillas con 12 meses de almacenamiento. Las líneas de tendencia corresponden al tipo polinómica.....	64
Figura 21. Ensayos de germinación realizados en semillas de <i>Licania arborea</i> , se observa que las germinadas <i>in vitro</i> tienen un mayor porcentaje y durabilidad, a comparación del ensayo en vivero e <i>in situ</i> (Las barras corresponden a desviación estándar). ....	66
Figura 22. Porcentaje de germinación final de las semillas de <i>Licania arborea</i> , realizados en vivero, <i>in situ</i> e <i>in vitro</i> . ....	67
Figura 23. Germinación acumulada <i>in situ</i> de semillas de <i>Licania arborea</i> . ....	68
Figura 24. Germinación acumulada en vivero de semillas de <i>Licania arborea</i> . ....	69
Figura 25. Germinación acumulada <i>in vitro</i> de semillas de <i>Licania arborea</i> . ....	69
Figura 26. Germinación de <i>Licania arborea</i> correspondiente al tipo hipogea. ....	72
Figura 27. Proceso de desarrollo de plántulas de <i>Licania arborea</i> después de la siembra (dds), en vivero. ....	74
Figura 28. A) Envés, se muestra la coloración blanquizca y la nervación eucamptodroma y B) haz de hojas de <i>Licania arborea</i> . ....	74

## ÍNDICE DE CUADROS

	PÁGINA
Cuadro 1. Taxonomía de <i>Licania arborea</i> de acuerdo a Seemann, (1853).....	9
Cuadro 2. Nombres comunes dados a <i>Licania arborea</i> dependiendo la región en la que se encuentre en México.....	9
Cuadro 3. Estadísticas descriptivas de las semillas de <i>Licania arborea</i> , especie nativa de México. ....	56
Cuadro 4. Peso de semillas en 1 kg y peso de 1000 semillas de <i>Licania arborea</i> , siguiendo dos fórmulas distintas.....	57
Cuadro 5. Comparaciones pareadas de la prueba de Tukey para prueba de humedad. ....	58
Cuadro 6. Comparaciones pareadas de la prueba de Tukey para prueba de viabilidad. ....	60
Cuadro 7. Comparaciones pareadas de la prueba de Tukey para prueba de conductividad eléctrica. ....	62
Cuadro 8. Comparaciones pareadas de la prueba de Tukey para ensayos de germinación. ....	66
Cuadro 9. Efecto de tiempos de almacenamientos en semillas de <i>Licania arborea</i> sobre el porcentaje de germinación final (PG), tiempo promedio de germinación (T), velocidad de germinación (MG), índice de germinación (IG) y coeficiente de velocidad (CV) en tres condiciones de germinación. ....	71
Cuadro 10. Descripción fenológica de acuerdo a la escala BBCH y promedio de medidas de plántulas de <i>Licania arborea</i> después de la siembra (dds). ....	73

## RESUMEN

El árbol de totoposte (*Licania arborea* Seem) es una especie con uso multipropósito en comunidades campesinas del estado de Chiapas, es útil como madera, combustible, poste, sombra, cerca viva y medicinal, para lo cual se aprovecha de poblaciones naturales, sin que exista un manejo forestal, lo que conlleva que actualmente se encuentre catalogada como amenazada según la NOM-059-Semarnat-2010. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar características morfofisiológicas de las semillas que produce, con la finalidad de en un futuro establecer estrategias de propagación de *L. arborea*. Se colectaron 7,500 frutos de árboles ubicados en la cabecera municipal de Jiquipilas, Chiapas. Bajo un diseño completamente al azar, se realizaron, en periodos de almacenamiento (0, 3, 6, 9, 12 meses), pruebas básicas de calidad (morfología y alometría de semillas, análisis de viabilidad, humedad, conductividad eléctrica e imbibición), métodos de germinación (*in vitro*, *in situ* y en vivero), crecimiento y desarrollo fenológico de las plántulas; los datos se analizaron mediante ANOVA, pruebas de Tukey y regresión. La semilla en promedio tienen  $23.79 \pm 2.1$  mm de largo,  $13.11 \pm 1.5$  mm de ancho y  $2.28 \pm 1$  g de peso; la humedad (de 78.7% hasta 11.94%), viabilidad (90% hasta 1%) y germinación de las semillas desciende conforme el periodo de almacenamiento aumenta (*in situ* de 15% a 0%, *in vitro* de 70% a 5% y vivero de 55% hasta 0%), de acuerdo al método de germinación existe diferencias significativas ( $F=10.76$ ,  $p=0.0002$ ), siendo la germinación *in vitro* la que presentó el porcentaje final más alto (70% a los 0 meses y 5% después de 12 meses de almacenamiento); respecto a la imbibición (28.66 g para el mes cero y 45.2 g a los 12 meses) y conductividad eléctrica hay un incremento en semillas que tienen un periodo mayor de almacenamiento ( $148 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  para el mes cero y  $4522 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  a los 12 meses). Esta especie presenta germinación hipogea, la emergencia sobre el sustrato en promedio inicia a los 30 días después de la siembra; las plántulas incrementan su altura (de 5.9 mm a 17.2 mm) y grosor (de 0.1 mm a 3.5 mm) durante los primeros 60 días y a partir de ahí el crecimiento se da en grosor. La información generada puede ser utilizada para establecer en un futuro programas o proyectos de restauración y conservación sustentable de *L. arborea*.

**PALABRAS CLAVES:** Chrysobalanaceae, *Licania arborea*, manejo forestal, propagación, aprovechamiento sustentable, flora nativa

## ABSTRACT

Totoposte tree (*Licania arborea* Seem) is a specie with multipurpose use in communities of the state of Chiapas, it is useful as wood, fuel, fence, shade, living fence and medicinal, for which it takes of natural populations, there isn't forest management, which means that it is currently classified as threatened according to NOM-059-Semarnat-2010. The objective of this work was to evaluate the morphophysiological characteristics of the seeds, with the finality of establishing strategies for the propagation of *L. arborea* in the future. Were collected 7,500 fruits from trees located in the municipal capital of Jiquipilas, Chiapas. Under a completely randomized design, were realize during storage periods (0, 3, 6, 9, 12 months), basic quality tests (morphology and allometry of seeds, viability analysis, humidity, electrical conductivity and imbibition) germination methods (*in vitro*, *in situ* and in nursery), growth and phenological development of the seedlings; the data were analyzed by ANOVA, Tukey tests and regression. The seeds on average have  $23.79 \pm 2.1$  mm of long,  $13.11 \pm 1.5$  mm of wide and  $2.28 \pm 1$  g of weight; humidity (from 78.7% to 11.94%), viability (90% to 1%) and seed germination decreases as the storage period increases (*in situ* from 15% to 0%, *in vitro* from 70% to 5% and nursery from 55% to 0%), according to the germination method there are significant differences ( $F= 10.76$ ,  $p= 0.0002$ ), *in vitro* germination presented the highest final percentage (70% at 0 months and 5 % after 12 months of storage); regarding imbibition (28.66 g for month zero and 45.2 g at 12 months) and electrical conductivity there is an increase in seeds that have a longer period of storage ( $148 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  for month zero and  $4522 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  at 12 months). This specie presents a hypogeous germination, the emergence on the substrate on average begins at 30 days after planting; the seedlings increase their height (from 5.9 mm to 17.2 mm) and thickness (from 0.1 mm to 3.5 mm) during the first 60 days and from there the growth takes place in thick. The information generated can be used to establish programs or projects for the restoration and sustainable conservation of *L. arborea* in the future.

**KEYS WORDS:** Chrysobalanaceae, *Licania arborea*, forest management, propagation, sustainable use, native flora

# I. INTRODUCCIÓN

México es reconocido como un país de alta diversidad biológica. Se ha calculado que alberga el 10% de la flora del mundo, con un estimado de 30 000 especies de plantas vasculares, ocupando el cuarto lugar a nivel mundial en riqueza de plantas endémicas y nativas (Magaña y Villaseñor, 2002). Chiapas es uno de los estados que cuenta con una variedad impresionante de biodiversidad, así como una inmensa gama de ambientes, hábitat y tipos de vegetación, donde se registran cerca de 8 000 especies de plantas (Castro-Soto, 2010). Sin embargo, las actividades humanas como la tala, la ganadería, los cultivos, el desarrollo de infraestructura y el uso del fuego, están causando la pérdida generalizada de biodiversidad (Dirzo, 2001), restringiendo el progreso del manejo sostenible de los bosques. Sólo en México, la tasa anual de deforestación (237 000 ha) es la causa principal de la pérdida de vegetación en los ecosistemas tropicales (Viana *et al.*, 1997; Witmore, 1997; Dirzo, 2001).

Esta alteración a los ecosistemas ha provocado la amenaza de especies multipropósito; es decir, individuos con una amplia utilidad benéfica para pobladores de algunas regiones no solo a nivel local, sino también nacional, poniéndolas en riesgo y ubicándolas como especies con algún grado de vulnerabilidad. Ante tal problemática, ha surgido la necesidad de recuperar estos sistemas vegetales, incorporando en las leyes y reglamentos, formas de como conservar especies nativas (Lippitt *et al.*, 1994), una de ellas es, mediante el almacenamiento de semillas que constituyen las unidades de dispersión y reproducción por excelencia en las plantas, fungiendo como un órgano resistente que permite dar origen a un nuevo individuo, importante para la propagación y restauración de terrenos dañados (Gold *et al.*, 2004; Herrera *et al.*, 2006).

El almacenamiento de semillas se considera como una estrategia factible para la conservación de especies propensas a algún grado de amenaza, producida por actividades antropogénicas o interacciones bióticas y abióticas; además que pueden ser establecidas en sus condiciones naturales, con fines de recuperación de poblaciones

silvestres. Las condiciones de almacenamiento que mantienen la viabilidad de las semillas son aquellas que reducen la respiración y otros procesos metabólicos sin dañar el embrión (Hartmann y Kester, 2001). El contenido de humedad de las semillas es el que determina la duración del almacenamiento y por lo general se considera a las semillas de vida corta como semillas sensibles a la desecación (Sandoval, 2000). Por lo que la viabilidad se ve afectada principalmente por el contenido de humedad de ésta, la temperatura y el tipo de almacenamiento, donde las recalcitrantes son semillas con alta humedad inicial, que pierden su viabilidad cuando baja su contenido de humedad, viceversa con las de tipo ortodoxo (Espinosa-Floresguerra, 2003); sin embargo en muchas ocasiones, tras su maduración y dispersión no son capaces de germinar, esto debido a que son durmientes o al envejecimiento, provocando la progresiva pérdida de su capacidad de vida (viabilidad) (Pérez-García y Pita-Villamil, 2001). Por lo que considerar ensayos y protocolos de germinación, permite identificar si las semillas almacenadas presentan latencia, de qué tipo y cómo romperla, para saber cómo proceder para hacerlas germinar cuando sea necesario, además conocer la fenología y ecología de una especie, y facilitar la obtención de plántulas para su propagación (Navarro, 2014).

*Licania arborea* es especie tropical multipropósito de comunidades campesinas, catalogada actualmente en estatus Amenazado (A) de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana 059-SEMARNAT (Diario Oficial de la Federación, 2010), lo cual indica que debe tener cuidados especiales. Ante esta situación y por ser un recurso forestal, es necesario establecer alternativas de conservación de la especie. Por ello el presente trabajo tiene como objetivo principal, Analizar aspectos morfofisiológicos de las semillas del árbol de totoposte (*Licania arborea*) con el propósito de contar con información que en un futuro sirva para establecer estrategias de propagación como alternativa de conservación de la especie.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Descripción de la división Magnoliophyta Cronquist, Takht. & W. Zimm. ex Reveal

Las Magnoliophyta son plantas vasculares, con el cilindro central del tallo con lagunas foliares; el xilema usualmente formado de vasos, al menos en la raíz y el floema con tubos cribosos y células acompañantes. Ordinariamente con raíces, tallos y hojas; las estructuras sexuales reproductivas están característicamente agregadas y asociadas con hojas especializadas para formar flores, que en las formas más típicas contiene un perianto externo constituido por los sépalos (cáliz) y los pétalos (corola); un androceo compuesto por uno o más estambres y en el centro un gineceo consistente de uno o más carpelos (APG, 2016)

Las Magnoliophyta también se caracterizan por tener estambres laminares en algunos grupos arcaicos, pero en otros generalmente formado por un filamento y una antera, la antera más comúnmente con dos sacos polínicos biesporangiados, unidos por tejido conectivo. También presentan carpelos libres e individualmente cerrados para formar pistilos separados, o todos más o menos connatos para formar un pistilo compuesto, con un ovario terminado apicalmente en uno o varios estigmas que usualmente se elevan sobre el ovario formando un estilo. Uno o más óvulos envueltos en el ovario; cada ovulo conteniendo un gametofito femenino consistente en un saco embrionario típicamente de ocho núcleos, sin arquegonio. El ovario y algunas veces otras estructuras asociadas maduran hasta formar un fruto, carnoso o seco, dehiscente o indehiscente, que contiene una o más semillas (APG, 2016). La semilla de las Magnoliophyta está formada por el embrión, producto del desarrollo del cigoto y la nueva generación esporofítica, rodeado por el endospermo o sus restos y la cubierta de la semilla, que es producida por el desarrollo de los integumentos de la nucela del esporofito paterno. Simultáneamente al desarrollo de la semilla a partir del óvulo, se lleva a cabo el desarrollo del ovario, que da como resultado la formación del fruto (Mauseth, 2003; APG, 2016).

## **2.2 Descripción de la clase Magnoliopsida Brongn**

Esta clase se caracteriza por poseer un embrión con dos cotiledones, algunas veces uno y rara vez con tres o cuatro. Los cotiledones comúnmente con tres ases vasculares. Las hojas en su mayoría son pecioladas. Con venación generalmente reticulada, pinnada o palmada, y en su mayoría abiertas. Las bractéolas generalmente se combinan. La plúmula es terminal. Los vasos vasculares generalmente dispuestos en un anillo, raramente en dos o más anillos dispersados. El sistema de raíz es principalmente el de una raíz principal y adventicias. El epitelio de la raíz y la epidermis son en su mayoría de origen ontogenético común. En esta clase, la mayoría de las plantas son leñosa o herbáceas, frecuentemente arborescente. Las flores en su mayoría 5 o 4 y solo en algunos grupos principalmente arcaicos 3. Los nectarios florales son de varios tipos, pero nunca septados o ausentes. La clase Magnoliopsida incluye 8 subclases, 125 órdenes y 440 familias (Takhtajan, 2009).

## **2.3 Descripción del orden Rosales Bercht. & J. Presl**

Este orden se caracteriza por tener células de mucílago, las raíces son comúnmente diarcas, es decir posee dos hebras de xilema; tetrarcas, las células de rayos poseen cristales prismáticos; además de tubos de tamizado con cuerpos proteicos no dispersivos. Los plástidios son de tubo de cribado que carecen de almidón y proteínas; la inflorescencia es cimosa; con hipanto persistente, nectarios y valvadas, estigma seco; óvulo 1 / carpelo, epítopo, micrópilo endostomal; frutos indehiscentes (APG, 2016)

## **2.4 Descripción de la familia Chrysobalanaceae R. Br.**

La familia Chrysobalanaceae comprende 18 géneros y 531 especies, de distribución pantropical, con el mayor número de especies (376) presentes en Sudamérica. Su distribución abarca desde el sureste de los Estados Unidos y el Caribe hasta el sur de Brasil y Paraguay. También se encuentran en África tropical, Asia, el sur de la India y Myanmar, Indonesia y Nueva Guinea, hasta Fiji, Samoa y muchas otras islas del Pacífico sur (Prance, 2001). Entre los géneros más diversos se encuentra *Licania* (170

especies), *Hirtella* (105 especies), *Couepia* (70 especies) y *Parinari* (45 especies). En México se conocen cuatro géneros y 12 especies: *Chrysobalanus* (una especie), *Couepia* (una especie), *Hirtella* (cuatro especies) y *Licania* (seis especies) (Prance, 1972). Los miembros de esta familia pueden ser árboles, arbustos o sufrútices. Con hojas alternas, simples, enteras, deciduas o persistentes, a menudo coriáceas, glabras o pubescentes en el envés, y con inflorescencias racemosas, paniculadas o cimosas (Durán-Espinosa y Lorea-Hernández, 2010). Sus flores son actinomorfas o zigomorfas, hermafroditas; pétalos (4-) 5, ocasionalmente ausentes, insertos sobre el margen del disco; estambres 2-100 (o hasta 300 en algunas especies de *Couepia*), filiformes, las anteras biloculares; ovario variablemente colocado en la base, en la mitad o apicalmente en el receptáculo, sésil o con un corto ginóforo, tricarpelar, pubescente o viloso. El fruto es una drupa, el endocarpo grueso o delgado, fibroso u óseo; semilla erecta, casi sin endospermo, los cotiledones son carnosos (Durán-Espinosa y Lorea-Hernández, 2010).

## **2.5 Descripción del género *Licania* Aubl.**

Los miembros del género *Licania* pueden ser árboles o arbustos, raramente sufrútices, con hojas con el envés glabro, lanado, puberulento o estrigoso, glabras en el haz al madurar, con cavidades estomáticas, los pecíolos con dos o más glándulas sésiles, o eglandulares. Presentan inflorescencias axilares o terminales, en panículas de racimos, con menor frecuencia en panículas de cimas o en espigas, las brácteas y las bractéolas eglandulares usualmente pequeñas, raramente largas, envolviendo grupos pequeños de flores en capullo (Durán-Espinosa y Lorea-Hernández, 2010).

Las flores son hermafroditas, actinomorfas, con (4-)5 pétalos o ausentes, estambres 3-40, dispuestos unilateralmente o insertos formando un círculo completo, los filamentos libres en la base, raramente connados, glabros, exsertos o inclusos; ovario inserto cerca de la base del receptáculo o rara vez ligeramente de manera lateral, piloso, 1-locular, los óvulos (2), el estilo filiforme, el estigma (3) lobado en el ápice. Fruto, una drupa pequeña o grande, con un exocarpo densamente tomentoso, puberulento o glabro, y con superficie lisa o verrugosa, el endocarpo grueso, duro, leñoso, fibroso, sin

ningún mecanismo especial para la salida de la plántula; semillas grandes, erectas (*Idem*).

## 2.6 *Licania arborea* Seem

Árbol de hasta 25 m de alto y diámetro a altura de pecho (d.a.p.) de hasta 60 cm, tronco recto; copa redondeada. Corteza externa escamosa, que se desprende en piezas en forma de concha, alargada, pardo-grisáceo. Madera dura, de color crema, muy claro a amarillento con vasos dispersos muy grandes. Ramas jóvenes, pardo grisáceas, glabras o con escasos pelos erectos en las partes más jóvenes (Palacios, 2006) (Figura 1).



Figura 1. Tronco del árbol de totoposte (*Licania arborea*).

Hojas dispuestas en espiral y ligeramente aglomeradas en las puntas de las ramas, pecioladas, con el margen entero; verde oscuro, brillantes y glabras en el haz, verde

grisáceo con indumento aracnoide en el envés; dos glándulas en la base de la lámina en el punto de inserción con el pecíolo; nervación prominente en el envés; lámina coriácea con numerosas agallas rojizas y peludas en el envés producidas por insectos (Palacios, 2006) (Figura 2).



Figura 2. Hojas del árbol de totoposte (*Licania arborea*), se aprecia en el envés la “pelusa” característica de la especie, producida por insectos.

Inflorescencia, panículas axilares o terminales de hasta 17 cm de largo, pubescente, con las flores en fascículos pequeños y densos en las ramas. Flores de aroma dulce, sésiles, actinomorfas, de 2 a 3 cm de diámetro; cáliz amarillo ferruginoso, de 2 mm de largo, anchamente acampanado, con 5 a 7 lóbulos pequeños ovados o triangulares, densamente pubescentes en ambas superficies; pétalos verde-crema, 5, de 0.5 mm, del mismo largo que los lóbulos del cáliz, situados en el cuello del tubo del cáliz entre los lóbulos, elípticos, finamente pubescentes; estambres 8 a 14, de 1.5 a 2 mm de largo, unidos en un tubo en la parte inferior e insertos abajo de los pétalos en el tubo del cáliz; filamentos amarillos, pubescentes en el exterior, densamente vilosos en el interior,

anteras pardas; ovario súpero (Palacios, 2006) (Figura 3). Frutos, drupas elipsoides de 2 a 3 cm de largo, verde oscuro a casi negro, con el cáliz persistente, glabras, con el mesocarpio delgado y carnoso, el endocarpio fibroso, de olor y sabor a grasa (Figura 4); contienen una semilla ovoide de hasta 18 mm de largo, parda, rodeada por una testa blanca, muy grasosa (Palacios, 2006).



Figura 3. Inflorescencias del árbol de totoposte (*Licania arborea*).



Figura 4. Frutos pertenecientes al árbol de totoposte (*Licania arborea*).

### 2.6.1 Taxonomía

La clasificación taxonómica de la especie es la siguiente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Taxonomía de *Licania arborea* de acuerdo a Seemann, (1853)

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Rosales
<b>Familia</b>	Chrysobalanaceae
<b>Género</b>	<i>Licania</i>
<b>Especie</b>	<i>L. arborea</i> (Seem)

### 2.6.2 Sinonimia

*Licania bullatifolia* Cuatrec., *Licania retusa* Pilg., *Licania seleriana* Loes (Flora mesoamericana, 2010).

### 2.6.3 Nombres comunes y étnicos en México

En México esta especie es conocida por diferentes nombres, tanto en español como en diferentes lenguas étnicas, los cuales se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Nombres comunes dados a *Licania arborea* dependiendo la región en la que se encuentre en México.

Nombre común	región	Lengua	Referencia
Cacahuanantzin	México	Náhuatl	(Palacios, 2006).
Cacahoananche	México		(CONABIO, 2016)
Palo de fraile	México		(CONABIO, 2016)
Juijui	Chiapas	Zoque	(Palacios, 2006).
Rabiseco	Chiapas		(Ríos-García <i>et al</i> , 2014)
Toposcahuite	Chiapas		(Palacios, 2006).
Totoposte	Chiapas, Oaxaca		(Palacios, 2006).

Totopostle	Chiapas, Oaxaca		(Palacios, 2006).
Yaga-gueta-bigí	Oaxaca	Zapoteco	(Palacios, 2006).
Guie-nisha	Oaxaca	Zapoteco	(Palacios, 2006).
Nizo	Oaxaca	Zapoteco	(Palacios, 2006).
Quirindol	Oaxaca		(Palacios, 2006).
Carnero, carnero blanco	Oaxaca		(Palacios, 2006).
Encino borrego	Oaxaca		(Palacios, 2006).
Cacahuate	Guerrero, Oaxaca		(Palacios, 2006).
Conduce	Guerrero		(Palacios, 2006).
Cuirinde, cuirinda, cuirindal, curinda	Guerrero, Michoacán		(Palacios, 2006; (CONABIO, 2016).

---

#### 2.6.4 Ecología

Habita en climas cálidos, semicálido y templados entre los 500 y los 1000 msnm, asociado a selva baja decidua, sabanas, selva mediana y baja siempre verde, bosque de hojas aciculares o escamosas (Miranda, 1952; Miranda, 2015), además forma parte de la vegetación riparia (Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009; Palacios, 2006).

#### 2.6.5 Origen y distribución

Es nativa de Centro y Sudamérica, en México se localiza desde Michoacán hasta Centro América en el pacífico y en atlántico en Brasil, se extiende hacia la vertiente del Pacífico, en las zonas más secas (Carpio-Malavassi, 2003). En México en particular es una especie distribuida en la vertiente del Pacífico, desde la cuenca del Río Balsas, en Michoacán, Guerrero y México, hasta Chiapas, en la región del istmo de Tehuantepec, en la Depresión Central de Chiapas. Forma parte de selvas bajas, y alcanza su mayor desarrollo en suelos arenosos con buen drenaje (Pennington y Sarukhan, 2005) (Figura 5).

En casi toda su área de distribución, existen los problemas de la deforestación para incorporar terrenos al cultivo, potreros y nuevos centros de población. En la Depresión Central de Chiapas es relativamente abundante y se le tolera como árbol de sombra por lo que es frecuente verlo en tierras cultivadas y potreros, pero es más abundante en cauces de ríos y arroyos tributarios del Río Grijalva. En el sur de Oaxaca, es menos abundante (Palacios, 2006).



Figura 5. Distribución potencial de *Licania arborea* en el territorio mexicano (CONABIO, 2016).

### 2.6.6 Aprovechamiento

En México se registran diversos usos medicinales, entre ellos para evitar la caída del cabello mediante el empleo de un cataplasma del fruto macerado y aplicado de manera

local. Contra el "mal amarillo" (se refiere a la ictericia infecciosa) se utiliza la corteza macerada en agua, con la cual se dan baños al enfermo. Para el dolor de parto se prepara un cocimiento y se administra en forma oral (Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). Es un recurso forestal importante, es útil como árbol de sombra, la madera es dura y tiene usos diversos, las semillas sirven como fuente de aceite que se usa como lubricante y secante (Miranda, 1952; Miranda, 2015).

Entre otras utilidades, en el Estado de México, se utiliza contra el cáncer de muerto, refiriéndose a un mal adquirido principalmente por las mujeres al acudir a un sepelio durante su periodo menstrual. En Guerrero se emplea contra la sarna en animales (Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). En Chiapas este árbol es usado como árbol de sombra, la madera aprovechada para la construcción de interiores (Miranda, 2015; Pennington y Sarukhan, 2005) y el aceite de las semillas se usa para la elaboración de velas y veladoras, jabones, pinturas y barnices impermeables al agua (Miranda, 2015). En Tuxtla Gutiérrez, se puede localizar en los distintos parques que componen la capital como arboles de ornato y sombra (Gispert-Cruells *et al.*, 2002). En el ejido Sinaloa perteneciente al municipio de Jiquipilas, se registran un total de seis categorías de uso (construcción, sombra, poste, combustible, cerco vivo, y medicinal). Los más frecuentes refieren a su utilización en la construcción (29%), poste (20%) y sombra (23%), considerando esta especie como de uso multipropósito. La extracción del árbol se realiza en las pocas comunidades silvestres que se encuentran en la colonia, y no hay un programa de reforestación para recuperar a los individuos que son aprovechados (Ríos-García *et al.*, 2014).

## **2.7 Propagación vegetal**

La propagación de plantas consiste en efectuar su multiplicación por medios tanto sexuales como asexuales. La propagación de plantas implica el control de dos tipos de desarrollo del ciclo biológico básicamente diferentes, sexual y asexual (Hartmann y Kester, 2001).

**-Asexual:** Esto se realiza empleando partes vegetativas de la planta original. Esto es posible porque cada célula de la planta contiene la información genética necesaria para generar la planta entera. La reproducción puede ocurrir mediante la formación de raíces y tallos adventicios o por medio de la unión de partes vegetativas por injerto. Las estacas de tallo y los acodos tienen capacidad para formar raíces adventicias y las estacas de raíz pueden generar un nuevo sistema de brote. La propagación asexual es importante porque no necesita de semillas, evitan periodos juveniles prolongados, se controla la forma de crecimiento y aún más importante las razones económicas. A la propiedad de las células vegetativas vivientes de las plantas de contener toda la información genética necesaria para generar el organismo completo se le llama totipotencia (Hartmann y Kester, 2001).

**-Sexual:** Este tipo de propagación se da mediante semillas, en las cuales implica el manejo cuidadoso de las condiciones de germinación y de las instalaciones, así como el conocimiento de los requerimientos de las especies de semillas individuales. Su éxito depende de las siguientes condiciones de acuerdo a Hartmann y Kester, (2001):

- La semilla debe mantener la calidad. Esto puede lograrse obteniendo semillas de un comerciante de confianza, comprando semilla certificada o, si produce su propia semilla.
- La semilla debe ser viable y capaz de germinar.
- Se debe superar cualquier condición de letargo que pudiera inhibir la germinación aplicando los tratamientos de pregerminación adecuados.
- Proporcionar las condiciones ambientales debidas: humedad, temperatura, oxígeno, luz u oscuridad, a la semilla y a las plántulas resultantes.

La conservación de las características propias de una planta o de un grupo de plantas depende de la transmisión de una generación a la siguiente de una combinación específica de genes presentes en los cromosomas de las células. Ha sido una ocupación fundamental de la humanidad desde el inicio de la civilización (Hartmann y Kester, 2001).

## **2.8 Definición de semillas**

La semilla, es un embrión de planta perfectamente protegido por una serie de envueltas exteriores y acompañado por un almacén de alimento (De la Cuadra, 1993). Se forma a partir del rudimento seminal, localizado en el ovario de las flores. Es un óvulo maduro, que con la fecundación por los granos de polen, se inicia el ciclo de vida de las plantas con reproducción sexual. Consiste en tres partes básicas; el embrión, los tejidos de almacenamiento y la cubierta, como la testa (López-Ríos, 2005).

### **2.8.1 Aparición de la semilla**

Uno de los eventos más importantes en la evolución de las plantas, fue el origen de la semilla, que les permitió colonizar mayor espacio en la tierra; en las plantas ancestrales productoras de semillas muy parecidas a helechos, éstas se separaban de la planta progenitora y se dispersaban antes de que el embrión madurara (Lobato-Cameselle y Cidrás-Ferredás, 2013) y eran reunidas en el agua de los charcos y pantanos que abundaban entre el Ordovícico y Devónico, lo que permitía una polinización y en el mismo medio fueran dispersadas, por lo cual la mayoría de plantas se encontraban muy cercanas al agua; sin embargo la pérdida de humedad en gran cantidad de ambientes hizo imposible la dispersión y fecundación ancestral, por lo que se originaron las primeras plantas productoras de semillas, conocidas como gimnospermas, las cuales presentan semillas fértiles, a partir de reproducción sexual a partir de estructuras masculinas y femeninas llamadas esporofitos, colocadas en conos y con dispersión rústica (viento y agua) (Stewart y Rothwell, 1993).

La austeridad del ambiente provocó que las semillas modificaran la forma de reproducción, como conocemos en la actualidad, donde el embrión madura antes de separarse de la planta progenitora. Por lo tanto, está protegido hasta que termina su desarrollo. Este mecanismo incrementa el tiempo de cuidado materno de la nueva progenie (Lobato-Cameselle y Cidrás-Ferredás, 2013), donde el embrión constituye la parte fundamental de la semilla que dará origen a la raíz, tallo y hojas, la semilla tiene que madurar antes de germinar. El gran avance biológico de las plantas se da con la aparición de las angiospermas, también llamadas plantas con flores, quienes mediante

polinización se forman frutos con semillas (óvulos fecundados) con una variedad de formas en que estas se dispersan, ya que evolutivamente ha adquirido características que las hacen susceptibles a gran variedad de síndromes de dispersión, como zoocoria (frutos), anemocoria (semillas aladas), hidrocoria (semillas con testa dura) y con ellos asegurar la ocupación de distintos hábitats que no habían sido posible poblar por las plantas ancestrales (Stewart y Rothwell, 1993).

### **2.8.2 Estructura del óvulo**

En el óvulo se distinguen: los tegumentos, funículo, micrópilo, nucela y saco embrionario (López-Ríos, 2005) (Figura 6).

- Tegumentos: Cada óvulo tiene tejidos de protección uno o dos tegumentos. En la semilla corresponden a la testa y el tegmen.
- Funículo: Parte o parte del óvulo que lo conecta a la pared del ovario, estableciéndose así, un tipo de placentación. En la semilla sólo se observa la cicatriz que queda al desprenderse (hilio).
- Micrópilo: Pequeña porción del óvulo que carece de tegumentos, por tanto, se ve como un pequeño orificio, a través del cual ocurre la fecundación.
- Nucela y saco embrionario: El tejido central del óvulo es la nucela y constituye el megasporangio cuando una de sus células actúa como célula madre diploide, que por meiosis forma cuatro esporas. Tres de las esporas degeneran y una de ellas se divide por mitosis para dar lugar al saco embrionario o gametofito femenino con 8 núcleos (1 ovocélula, 2 antípodas, 3 sinérgidas, 2 polares). La ovocélula, también denominada oosfera, es el gameto femenino.



Figura 6. Estructura del óvulo, el cual da origen a la semilla (Fotografía: Google).

### 2.8.3 Estructura de la semilla

Los tegumentos forman la testa o cubierta de las semillas y la nucela se constituye como tejido de reserva (perispermo). El núcleo triploide se divide por mitosis hasta formar el endospermo (importante tejido de reserva en angiospermas). Después de que se forma el endospermo, la ovocélula fecundada o cigoto se divide mitóticamente desarrollándose como embrión (Radícula, hipocótilo y plúmula) (López-Ríos, 2005) (Figura 7).

- Testa y tegmen: La testa se diferencia del tegumento externo del óvulo y el tegmen del tegumento interno. Por su dureza y características de impermeabilidad, la testa ofrece protección al embrión y previene su germinación hasta que el ambiente sea propicio, o hasta que se cumplan las condiciones que genéticamente estén determinadas para su desarrollo. En la testa se distingue: la cicatriz que deja el funículo al caerse y el micrópilo por donde ocurrió la fecundación (Idem).

- **Perispermo:** El tejido de reserva que se forma de la nucela está constituido principalmente por hemicélulosas y proteínas (gluteínas o gránulos de aleurona) (Idem).
- **Endospermo:** Como tejido de reserva el endospermo contiene nutrimentos que sufren hidrólisis enzimática para poder ser absorbidos por el embrión en desarrollo (López-Ríos, 2005). De acuerdo con esto, las semillas se clasifican como:
  - **Exalbuminosas:** Las sustancias de reserva son absorbidas por el embrión y se almacenan en los cotiledones, anangisopartes de la germinación. Se presenta en muchas angiospermas dicotiledóneas (Idem).
  - **Albuminosas;** El endospermo permanece como tejido de reserva que el embrión utilizará hasta que inicié la germinación. Es común en angiospermas dicotiledóneas (Idem).

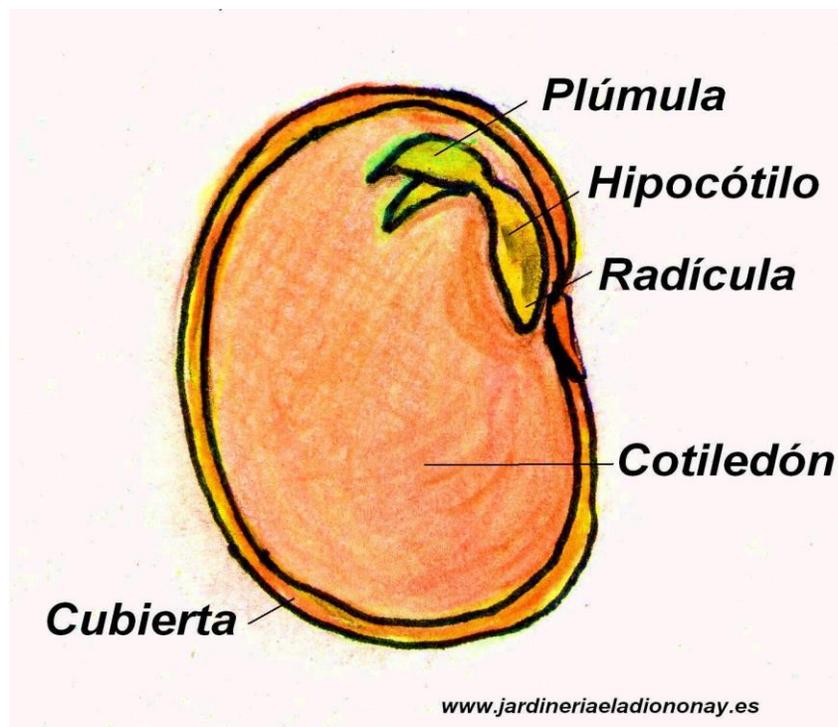


Figura 7. Estructura de la semilla, señalando el embrión (Plúmula, hipocótilo y radícula), el cotiledón y la cubierta o testa (Fotografía: Eladio Nonay).

#### **2.8.4 Tipos de semillas**

Todas las semillas difieren en su tolerancia a la desecación que sigue tras su diseminación (Magnitskiy y Plaza, 2007). Hay semillas que se pueden almacenar sin que pierdan su calidad fisiológica. Las especies arbóreas tienen diferentes estrategias para la germinación de sus semillas. Algunas semillas germinan rápidamente; otras cuando se presenten condiciones ambientales óptimas. Existen dos tipos de semillas, las del primer tipo no pueden ser guardadas durante mucho tiempo. En cambio, las del segundo tipo pueden almacenarse durante largo tiempo, almacenadas en condiciones adecuadas. Las primeras se denominan semillas recalcitrantes y las segundas semillas ortodoxas (Wightman *et al.*, 2006).

De acuerdo a Farrant *et al.*, (1993) y Gentil, (2001), las semillas se pueden clasificar en ortodoxas, recalcitrantes e intermedias. Las semillas ortodoxas toleran una deshidratación hasta de 5% en el contenido de humedad; por su parte, las semillas que toleran la deshidratación entre 10% y 12,5% de contenido de humedad se consideran intermedias y las que toleran la deshidratación entre 15% y 50% de humedad se denominan recalcitrantes (Farrant *et al.*, 1993; Gentil, 2001).

#### **2.8.5 Almacenamiento de semillas**

La principal razón del almacenamiento de las semillas es identificar el tiempo de mantenimiento de su longevidad, es decir, la conservación de su viabilidad y vigor adecuados en los lugares más apropiados para su germinación y establecimiento, durante un tiempo razonable (Gálvez-Ramírez, 2013), con el fin de preservar la especie. No obstante, el interés por la conservación de las semillas puede obedecer a razones muy diversas, dependiendo del uso final de este germoplasma. Este germoplasma debe conservarse en condiciones adecuadas a medio plazo sin pérdida sensible de su capacidad germinativa (Idem).

### **2.8.6 Contenido de humedad de la semilla**

De acuerdo con las reglas de ISTA (International Seed Testing Association), el contenido de humedad se expresa como el peso del agua contenido como un porcentaje total del peso total de la semilla antes del secado (Peso húmedo) (ISTA, 2010). La semilla se puede considerar como una estructura compuesta por sustancias complejas tales como carbohidratos, proteínas y aceites, por lo que la cantidad de agua puede ser aumentada o extraída (Poulsen, 2000) a partir de ensayos de envejecimiento acelerado o pruebas de humedad.

### **2.8.7 Calidad de semillas**

La calidad de las semillas ha sido definida como la sumatoria total de aquellas propiedades de las semillas que determinan el nivel de actividad y el comportamiento de las semillas o de un lote de semillas durante la germinación y emergencia de las plántulas. Las semillas que muestran un buen comportamiento son consideradas de alto vigor, y aquellas que presentan un pobre comportamiento son llamadas semillas de bajo vigor (ISTA, 2010). Otro aspecto a considerar es la calidad de la semilla, la cual está determinada cuando esta presenta una pureza física, un alto porcentaje de germinación y está libre de organismos patógenos, tanto externa como interna (CIAT, 1980). Por otro lado la definición de calidad debe depender del uso final que se le da a la semilla, como sería para la conservación de recursos genéticos, producción en vivero, siembra directa en tierra o para producir alimentos (González-Hernández, 2013), considerando además la calidad genética, fisiológica, física y sanitaria (Poulsen, 2000):

- La calidad fisiológica, está explicada por la viabilidad, germinación y vigor de las semillas, que determinan su potencial para germinar, emergencia de plántulas y establecimiento del cultivo en campo (González-Hernández, 2013).
- La calidad física, se refiere al tamaño, forma, peso volumétrico, contenido de humedad y uniformidad de color de las semillas, así como a la pureza

que es la ausencia de semillas de otros cultivos, de malezas y materia inerte (Idem).

- La calidad sanitaria es la ausencia de todo agente que causa infección o infestación en las semillas, como pueden ser hongos, bacterias, virus, nematodos, insectos, etc. (Idem).

### **2.8.8 El deterioro de las semillas**

Durante el almacenamiento de las semillas, estas sufren un proceso de deterioro tal que disminuye su longevidad. Esta puede definirse como el tiempo que pueden mantenerse las semillas viables bajo determinadas condiciones ambientales. En ella influyen decisivamente tanto el estado inicial de las semillas, las condiciones iniciales del lote, así como el genotipo (Gálvez-Ramírez, 2013).

Las causas de la muerte de las semillas almacenadas no es el agotamiento de las reservas nutritivas, que se conservan en su mayor parte incluso después de la pérdida de su capacidad germinativa (Gálvez-Ramírez, 2013). Por el contrario, el deterioro de las semillas, también llamado envejecimiento, se produce por los daños que sufren las membranas tanto celulares como de orgánulos intracelulares. Afectando las actividades enzimáticas, a la síntesis o metabolismo de proteínas, glúcidos; incrementando los componentes volátiles tóxicos para las semillas y que incluso afectan al material cromosómico y a la síntesis de ADN (Idem). El deterioro de los tejidos de las semillas no se produce de manera uniforme, sino que por lo general se inicia en áreas meristemáticas, especialmente en el meristemo radicular. Las condiciones ambientales de conservación para prolongar la longevidad de las semillas, dependen de cada especie y fundamentalmente se distinguen dos grupos de especies según su comportamiento al almacenamiento (semillas ortodoxas y recalcitrantes) (Idem).

### **2.8.9 Viabilidad o longevidad de semillas**

La viabilidad de un lote de semillas, no durmientes, hace referencia a su capacidad de germinar y de originar plántulas normales en condiciones ambientales favorables (Pérez-García y Pita-Villamil, 2001). La viabilidad de las semillas se define como su capacidad potencial para germinar. Pueden permanecer en estado de reposo controlado conservando su viabilidad por días, semanas, meses o años, dependiendo de la especie que se trate y de las condiciones en que se encuentre. El tiempo que cada tipo de semilla puede permanecer en reposo está determinado genéticamente, después de lo cual por envejecimiento natural el embrión muere. La inviabilidad de las semillas también puede deberse a que no se efectuó la fertilización o porque no se formó el embrión (abortó) (López-Ríos, 2005).

Las semillas deben de tener una viabilidad alta al inicio del almacenamiento y mantenerla durante periodos largos. Las semillas con una viabilidad inicial alta sobrevivirán también más tiempo en almacenamiento. La viabilidad de la semilla se reduce lentamente y luego rápidamente a medida que la semilla envejece (Rao *et al.*, 2007). Para evaluar viabilidad, se emplean diversos métodos de acuerdo al ISTA (2010), los cuales a continuación se explican:

- **Radiografías o rayos X**

Es un ensayo rápido y no destructivo que se suele emplear para evaluar la viabilidad de semillas de especies forestales. En las radiografías que se obtienen se pueden diferenciar entre semillas sin embriones (semillas vanas), de las que tienen un embrión bien formado; así como distinguir si en el embrión existen malformaciones o algún tipo de daños: mecánicos, por insectos, etc. (Pérez-García y Pita-Villamil, 2001).

La prueba es especialmente útil para la detección del desarrollo del embrión y por consiguiente su madurez (Humblebaek, 1993). De manera anticipada, podemos afirmar que las radiografías no miden la viabilidad de las semillas, pero proporcionan una imagen interna que permite examinarlas respecto a disturbios mecánicos, ausencia de tejidos vitales, como el embrión o el endospermo, infestación de insectos, cubiertas

rajadas o quebradas y encogimiento de los tejidos internos (un posible signo de edad) (Abdul-Baki, 1980).

- **Tetrazolio**

Las soluciones de estas sales (cloruro o bromuro de 2, 3, 5-trifeniltetrazolio) son incoloras, pero cuando se reducen se transforman en trifenilformazán, una sustancia estable, no difusible y de un color rojo intenso. Al colocar una semilla viable en contacto con una solución de tetrazolio, los electrones liberados, en los tejidos del embrión, reducirán a las sales de tetrazolio, con lo que estos adquirirán un color rojo intenso; si la semilla no es viable, el embrión no cambiará de color. A veces, los embriones se colorean parcialmente, lo que indica la existencia de áreas de tejidos muertos, debido al deterioro de la semilla. En estos casos, la posición y el tamaño de las áreas necróticas, y no necesariamente la intensidad del color, es el índice que se utiliza para clasificar a las semillas como viables o no viables. Para cada especie, la viabilidad de las semillas se evalúa mediante la comparación de las áreas coloreadas del embrión con los patrones de referencia establecidos por los organismos oficiales para el control de calidad de las semillas (Pérez-García y Pita-Villamil, 2001).

- **Ensayo topográfico al tetrazolio**

Este ensayo es especialmente indicado para conocer la viabilidad de semillas que presentan latencia, o con una velocidad de germinación muy baja. El ensayo al tetrazolio presenta las ventajas de que puede realizarse rápidamente y no requiere equipamiento muy sofisticado. La metodología de este ensayo ha sido puesta a punto para numerosas especies de plantas cultivadas por la ISTA (International Seed Testing Association). El ensayo se basa en que una vez que los diferentes tejidos de la semilla se han hidratado, en el embrión se activan rutas metabólicas, en las que muchas de las reacciones químicas empleadas son reacciones de oxidación. En estas reacciones se liberan electrones capaces de reducir a ciertas sustancias químicas. Este hecho puede ser utilizado para estimar el grado de actividad metabólica de los tejidos embrionarios y por tanto de su viabilidad (Pérez-García y Pita-Villamil, 2001). Obteniendo así imágenes del nivel de tinción de las semillas, a lo que se le conoce como patrones topológicos.

- **Pruebas de vigor de semillas por conductividad eléctrica**

Este ensayo se basa en que el deterioro de las semillas y su pérdida de vigor está asociado a alteraciones de las membranas celulares, que implican un incremento de la salida de compuestos solubles (lixiviados) desde las semillas. Aunque para la realización de este ensayo existen diversos protocolos, se recomienda sumergir las semillas durante 24 horas en agua desionizada a 20-25 °C y a continuación, decantar el agua y medir su conductividad eléctrica. Una mayor conductividad indica una mayor presencia de iones (lixiviados), lo que se puede correlacionar con una menor emergencia de plántulas (Pérez-García y Pita-Villamil, 2001).

## **2.9 Germinación**

La germinación es el proceso mediante el cual la semilla absorbe agua (imbibición), reactiva su metabolismo e inicia su crecimiento (Bidwell, 2002), el cual provoca la reactivación de la maquinaria metabólica de la semilla y la emergencia de la radícula (raíz) y de la plúmula (tallo), conducente a la producción de una plántula (Hartmann y Kester, 2001; Matilla, 2008). Se denomina germinación al proceso por el cual la semilla forma una plántula. La mayoría de las especies de embriofitas tienen semillas capaces de germinar al encontrar condiciones favorables de temperatura, humedad y luz; no obstante, algunas deben cubrir ciertos requerimientos especiales que se han fijado a través del tiempo como atributos que les permiten ajustarse a las condiciones ambientales (López-Ríos, 2005).

En condiciones de laboratorio, la posterior ruptura de las cubiertas seminales por la radícula es el hecho que se utiliza para considerar que la germinación ha tenido lugar. Sin embargo en condiciones de campo se considera que la germinación ha finalizado hasta que se produce la emergencia y desarrollo de una plántula normal (Pita-Villamil y Pérez-García, 2001). Las semillas atendiendo a la posición de los cotiledones respecto a la superficie del sustrato pueden diferenciarse en la forma de germinar, Mauseth (2003), distingue dos tipos de germinación:

- Germinación epigea: los cotiledones emergen del suelo debido a un considerable crecimiento del hipocótilo. En sus cotiledones se diferencian los plastidios en cloroplastos, transformándolos en órganos fotosintéticos y actúan como hojas. Finalmente se desarrolla el epicótilo (porción del eje comprendida entre el punto de inserción de cotiledones y las primeras hojas) (Figura 8).
- Germinación hipogea: los cotiledones permanecen enterrados, únicamente la plúmula atraviesa el suelo, el hipocótilo es muy corto, casi nulo, el epicótilo se alarga, apareciendo las primeras hojas verdaderas, que son los primeros órganos fotosintéticos de plántula (Figura 9).

## Germinación epígea

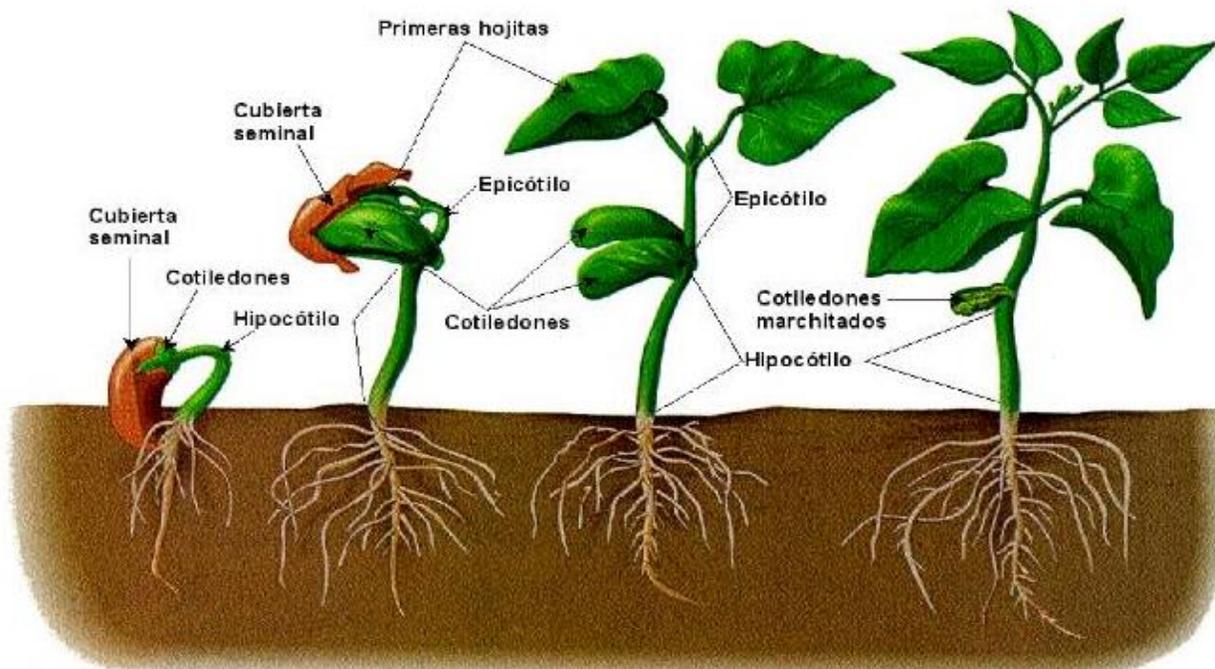


Figura 8. Germinación epigea de la judía (*Phaseolus vulgaris*). (Figura modificada de Rost, Th. et al. 1997).

# Germinación hipogea

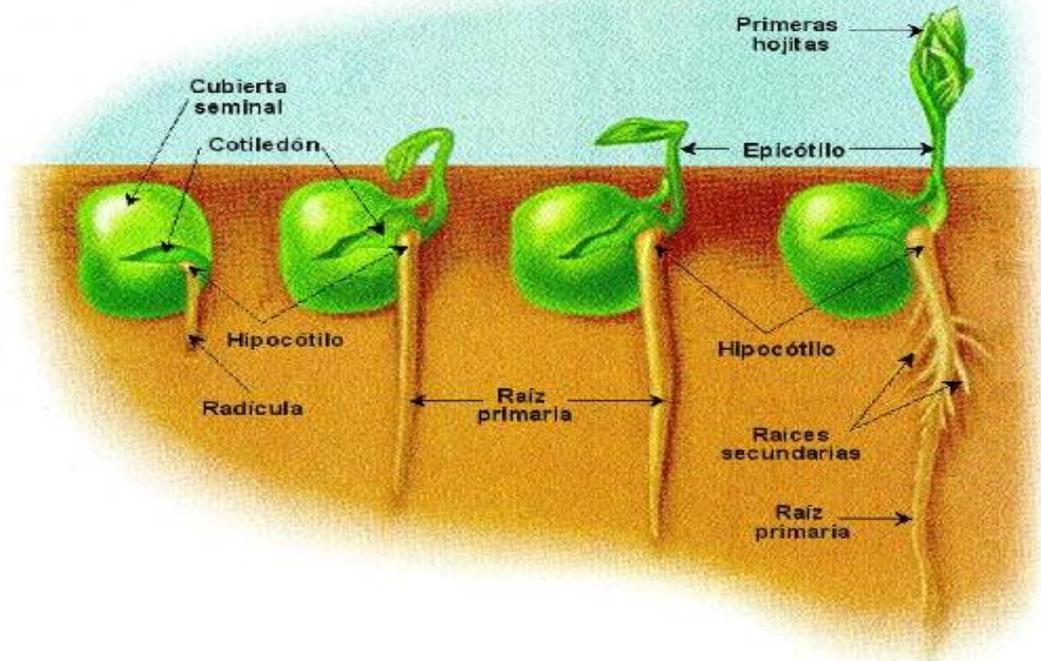


Figura 9. Germinación hipogea del guisante (*Pisum sativum*). (Figura modificada de Rost, Th. *et al.* 1997).

## 2.9.1 Etapas de la germinación

La germinación presenta diversas etapas, las cuales se muestran a continuación:

### Etapa 1: Activación

- **Imbibición:** La primera etapa de la germinación se inicia con la entrada de agua en la semilla desde el medio exterior (imbibición). La hidratación de los tejidos de la semilla es un proceso físico con una duración variable según la especie considerada (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998). Una vez que la semilla se ha hidratado, comienzan a activarse toda una serie de procesos metabólicos esenciales durante la germinación (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998)(Figura 10):

- a) Movilización de glúcidos: La hidrólisis previa de almidón es imprescindible para obtener, a partir de las moléculas de glucosa que lo constituyen, la energía necesaria para la activación del metabolismo de la semilla. El proceso se inicia con la liberación por el embrión de giberelinas, hormonas vegetales que determinan la síntesis de las enzimas responsables de la degradación del almidón.
  
  - b) Movilización de proteínas: La movilización de proteínas provee a las semillas de aminoácidos, a partir de los que se obtiene la energía necesaria, con ello se suple la deficiencia en glúcidos que suelen presentar algunas especies.
  
  - c) Movilización de lípidos: Los lípidos presentes en las semillas son esencialmente triglicéridos, que por la acción de las enzimas dominantes denominadas lipasas se degradan hasta sus componentes, glicerol y ácidos grasos, que se incorporan al metabolismo energético de la semilla.
- Síntesis de enzimas: la actividad de las enzimas empieza muy rápidamente después del inicio de la germinación, a medida que se hidrata la semilla. La activación resulta en parte de la reactivación de enzimas previamente almacenadas que se formaron durante el desarrollo del embrión y en parte de la síntesis de nuevas enzimas al comenzar la germinación (Hartmann y Kester, 2001).

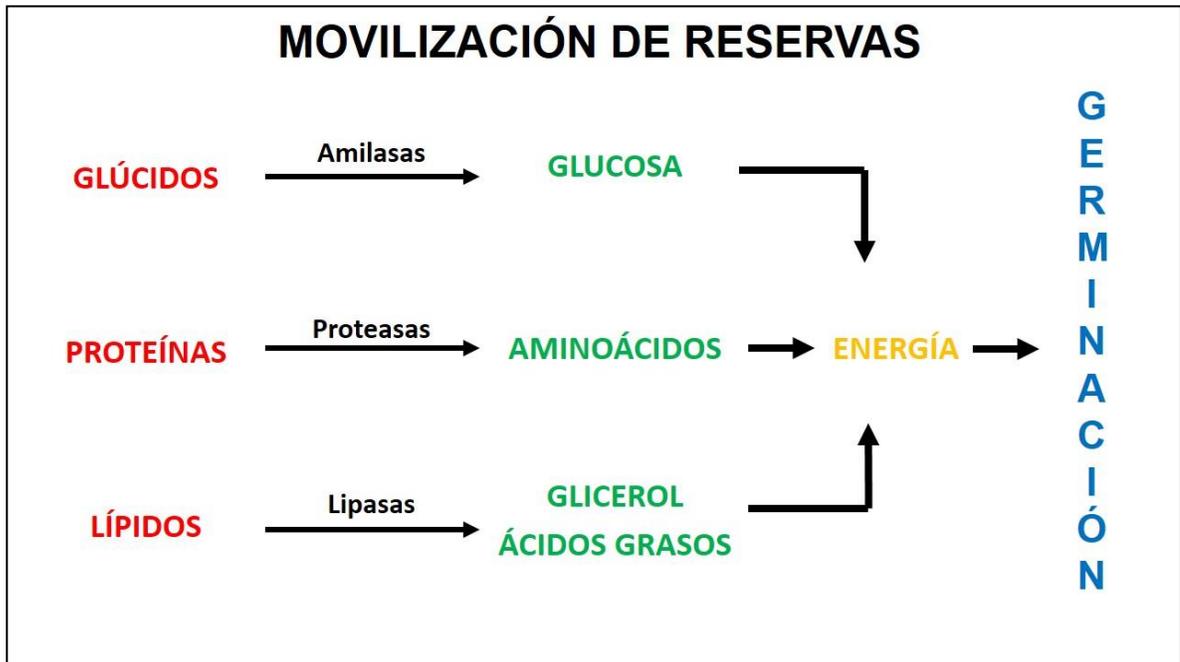


Figura 10. Los compuestos de reserva deben ser hidrolizados, hasta sus unidades fundamentales, para poder ser utilizados en el metabolismo energético de la semilla (Diagrama modificado de Pita-Villamil y Pérez-García, 1998).

## Etapa 2: Germinación

Una vez que la semilla se ha hidratado adecuadamente, entra en una segunda etapa del proceso de germinación, la denominada fase de germinación "*sensu stricto*", que se caracteriza, entre otros hechos, porque se produce una disminución en la absorción de agua por las semillas (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998).

Durante esta etapa tiene lugar una activación generalizada del metabolismo de la semilla, lo cual es esencial para que se desarrolle la última fase del proceso de germinación, la fase de crecimiento (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998). En esta etapa hay un proceso llamado control de la germinación, donde se encuentran los siguientes componentes:

- a) Agua: El contenido de agua es un factor muy importante en el control de la germinación de la semilla. Con menos del 40 o 60% de agua en la semilla, no se efectúa la germinación (Hartmann y Kester, 2001). Por lo que la entrada de

agua a las semillas es un proceso físico importante que se realiza por capilaridad a través de las cubiertas seminales. Para ello el agua debe encontrarse disponible en el suelo, siendo poco relevante la cantidad de agua que la semilla pueda captar de la atmosfera circundante. La existencia de un exceso o déficit de agua impide, por regla general, la germinación de las semillas, o por lo menos afecta negativamente a los porcentajes finales de germinación. La situación de estrés hídrico es superada, en algunas especies, mediante el desarrollo de mecanismos adaptativos que les permiten establecerse en esas condiciones adversas (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998).

- b) Oxígeno: El oxígeno llega al embrión disuelto en el agua de imbibición, siendo imprescindible para que la germinación pueda tener lugar. Solo, excepcionalmente, las semillas de algunas especies, sobre todo de plántulas acuáticas, pueden llegar a germinar en ausencia o con bajas concentraciones de oxígeno. La entrada de oxígeno a la semilla puede estar interferida por la presencia en las cubiertas seminales de compuestos químicos (fenoles) o estructuras especializadas (capa de mucilago). Asimismo, las altas temperaturas, que disminuyen la solubilidad del oxígeno en el agua, pueden dificultar la entrada del oxígeno y por tanto la germinación (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998).
  
- c) Temperatura: La temperatura es el factor ambiental más importante que regula la germinación y controla el crecimiento subsecuente de las plantas. Para cada especie existe un rango de temperaturas dentro del cual puede tener lugar la germinación de sus semillas. Este rango queda definido por una temperatura máxima y una temperatura mínima para la germinación; considerándose como temperatura óptima de germinación, la temperatura, dentro del intervalo, más idónea para obtener el mayor porcentaje de semillas germinadas en el menor tiempo posible (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998; Hartmann y Kester, 2001). Normalmente, temperaturas tan bajas suelen

afectar a las semillas durante las primeras etapas de la imbibición, lo que implica la aparición de alteraciones morfológicas en las plántulas que dificultan o impiden su supervivencia (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998).

d) Iluminación: El efecto que las condiciones de iluminación tienen sobre las semillas permite clasificar a éstas en tres categorías de acuerdo a Pita-Villamil y Pérez-García, (1998):

- Semillas con fotosensibilidad positiva. Son semillas que germinan preferentemente bajo iluminación.
- Semillas con fotosensibilidad negativa. Son semillas que germinan preferentemente en oscuridad, mientras que la iluminación inhibe su germinación.
- Semillas no fotosensibles. Son semillas que germinan independientemente de las condiciones de iluminación.

Así, en las especies cuyas semillas se incluyen en la primera categoría (fotosensibilidad positiva), la germinación no tiene lugar si están profundamente enterradas. En estas especies, algunas típicas malas hierbas, la germinación no tiene lugar hasta que no se sitúan cerca de la superficie del suelo, ya sea por causas naturales o por el laboreo para la preparación del terreno. En especies con semillas que presentan fotosensibilidad negativa ocurre todo lo contrario, las semillas para germinar deben situarse a cierta distancia de la superficie del suelo para protegerse del efecto inhibición de la luz blanca. Esta protección se logra a escasa profundidad, dado que la transmisión de la luz a través del suelo es muy baja, estimándose que sólo el 2% de la luz atraviesa los dos primeros milímetros de un sustrato arenoso (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998).

e) Factores hormonales: Las hormonas vegetales tienen un relevante papel en la germinación de las semillas. Desde el punto de vista de la germinación, las hormonas vegetales se pueden dividir en dos grandes grupos: 1) Promotoras

de la germinación. 2) Inhibidoras de la germinación. En el primer grupo destacan las giberelinas, capaces de promover la germinación de semillas tanto durmientes como no durmientes; por ello, en muchos casos, se ha propuesto un papel clave de estas hormonas vegetales en los mecanismos fisiológicos relacionados con la germinación. Las sustancias inhibidoras de la germinación son muy numerosas, destacando entre ellas el ácido abscísico, el cual impide, en un gran número de especies, la germinación tanto de semillas como de embriones aislados (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998).

### **Etapas 3: Fase de crecimiento**

En esta última fase de la germinación, paralelamente al incremento de la actividad metabólica, se produce el crecimiento y emergencia de la radícula a través de las cubiertas seminales. Las semillas que han alcanzado la fase de crecimiento no pueden volver a etapas anteriores y en el caso de que las condiciones del medio no permitan que esta fase pueda seguir adelante, la semilla morirá (Pita-Villamil y Pérez-García, 1998).

Una vez que la radícula ha roto las cubiertas seminales, se inicia el desarrollo de la plántula, proceso complejo y variable según las especies, que implica un elevado gasto de energía que se obtiene mediante la movilización de las reservas nutritivas de la semilla (Idem).

#### **2.9.2 Ensayos de germinación**

Si una semilla es viable, y no presenta latencia, germinará cuando se la ponga en las condiciones adecuadas de humedad, luz y temperatura. Por ello se acepta que la capacidad germinativa de un lote de semillas es un reflejo directo de su viabilidad. La emergencia de la radícula es el criterio que se suele utilizar para determinar si una semilla ha germinado, expresándose los resultados obtenidos como porcentaje de semillas germinadas (porcentaje de viabilidad) (Pérez-García y Pita-Villamil, 2001).

### **2.9.3 Germinación en vivero**

La producción de planta en envases o charolas, es el método más utilizado en México desde que aparecieron los plásticos como recipientes contenedores. Además, para las condiciones de los terrenos destinados a reforestar, tienen mayores posibilidades de éxito. Desde luego que la producción de planta en envase, tiene sus ventajas y desventajas (Liegel y Venator, 1987). Algunas de las principales ventajas es que en el sitio destinado al vivero, no se requiere tener un suelo de buena calidad; la permanencia de las plantas en vivero es más corta y las raíces no son expuestas al calor ni al aire durante el transporte al campo (Rodríguez-Laguna, 2010). Por otro lado, las desventajas que se deben tomar en cuenta son que las plántulas generalmente se producen a mayor costo; lo voluminoso de los cepellones plantea mayores problemas en el almacenaje y transporte hacia la plantación (Idem).

### **2.9.4 Germinación *in vitro***

A diferencia de las técnicas tradicionales de propagación, el cultivo *in vitro* es una poderosa herramienta que permite la propagación de grandes volúmenes de plantas en menor tiempo; así como el manejo de las mismas en espacios reducidos. Por otro, la técnica es de gran utilidad en la obtención de plantas libres de patógenos; plantas homocigotas, en la producción de plantas en peligro de extinción, en estudios de ingeniería genética, etc. (Pierik, 1990). La germinación *in vitro* juega un papel importante en la propagación por cultivo de tejidos, pues es de donde se obtendrán los individuos que serán fuente de explantes para estudios posteriores. Consiste en hacer germinar las semillas de las especies en un medio nutritivo, siendo el más utilizado el medio Murashige y Skoog (Smith, 2011). Esta técnica permite reducir el efecto de condiciones ambientales (temperatura, agua, luz y nutrimentos) al proveer un ambiente controlado y libre de contaminantes (Arteca, 1996). El enorme potencial que posee este método ha propiciado que en los últimos 25 años se haya incrementado el número de laboratorios de cultivo de tejidos en el país para la producción comercial de plantas ornamentales y frutales a los que ha motivado que algunos floricultores lo estén utilizando como una alternativa variable en sus programas de producción (Pierik, 1990).

- **Medios de cultivo**

Un medio de cultivo puede ser definido como una formulación de sales inorgánicas, compuestos orgánicos y agua, proveen a la planta las condiciones nutritivas necesarias para su desarrollo (Roca y Mroginski, 1991). Se han desarrollado actualmente una gran variedad de medios de cultivo que cumplen con los requerimientos nutricionales necesarios para mantener el crecimiento de los cultivos (Pérez *et al.*, 1999). Dentro de los medios de cultivo más utilizados y adecuados para una gran variedad de especies, así como para el cultivo de diferentes partes de una planta se encuentra el Murashige y Skoog (MS) (Pérez *et al.*, 1999).

- **Microorganismos asociados a la germinación**

Las enfermedades pueden destruir las semillas e impedir su germinación, lo cual provoca disminuciones en el rendimiento de dichos cultivos, debido a la muerte de las plántulas como consecuencia del ataque de los diferentes microorganismos en esta fase crítica; a ello se adiciona que a partir de los focos infecciosos creados, otras plantas se verán afectadas en su desarrollo por la diseminación de la enfermedad (Alonso *et al.*, 1996). Los problemas fitosanitarios en las estructuras reproductivas de especies forestales pueden producir problemas económicamente importantes, que ocasionan destrucción parcial o total de lotes, infestar sustratos de germinación o transmitir enfermedades y transferirlas de una región a otra, o de una estructura a otra (Arguedas y Torres, 1996).

Las semillas recién colectadas generalmente, poseen un alto contenido de humedad y por este factor, son muy susceptibles a la contaminación por hongos y bacterias. Para combatirlos, existen muchos productos químicos para realizar la desinfestación. Sin embargo, unos de los más comunes y que ha demostrado buenos resultados en la desinfestación es el hipoclorito de sodio, el tiempo de exposición y los porcentajes de disolución están determinados por el tamaño y el tipo de semilla; sin embargo la utilización de antifúngicos es una alternativa para su desinfestación (Trujillo, 1995).

### III. ANTECEDENTES

A continuación se presenta una serie de trabajos relacionados con especies arbóreas forestales, los cuales permiten conocer el manejo de semillas para la propagación en diversos ensayos de germinación:

- **Trabajos relacionados con especies maderables**

Espinosa-Floresguerra (2003) llevó a cabo un estudio para obtener información sobre la propagación y conservación de semillas de polialtia (*Polyalthia longifolia* (son.) Thwaites). El estudio consistió en cuatro experimentos, el primero, determinar el tiempo en que la semilla perdía 10, 20, 30, 40 y 50% de humedad y a qué porcentaje dejaba de ser viable; el segundo, determinar la mejor forma de conservación de las semillas a tres temperaturas (ambiente, 5 y 10°C) en dos medios (con y sin *peat moss*); el tercero, estudiar el efecto del ácido giberélico (AG3) en remojos de 24 h a cinco concentraciones (0, 10, 100, 1,000 y 10,000 ppm) en la germinación, y el cuarto fue un ensayo de propagación por estacas terminales obtenidas de ramas laterales y del eje principal, con y sin ácido indolbutírico (AIB) a 3 000 ppm. El experimento fue colocado en una cámara hermética de plástico bajo 60% de sombra, en un medio mitad *peat moss* y mitad arena. Los dos primeros ensayos se hicieron germinar en rollos de papel humedecido y protegido por capas de plástico; el tercero en camas de vivero con una mezcla de arena: *peat moss*: suelo franco (1:1:1). En los tres ensayos de germinación se usó un diseño completamente al azar. El porcentaje inicial de humedad fue 43.7% y la máxima pérdida de humedad tolerada por las semillas fue 30% con una germinación de 22.5%, esto ocurrió a los 10 días después de la siembra a medio ambiente. Hubo mayor porcentaje de germinación en las semillas conservadas a 5°C sin musgo, en el segundo mes de almacenaje germinó un 37.5%, en el tercer mes germinaron 5% de las semillas a 10°C con musgo; sin embargo, ningún tratamiento mantuvo la viabilidad más de tres meses. El AG3 a 100 ppm aumentó significativamente la germinación (38.3%) con relación al testigo (28.3%), mientras que a 10 000 ppm redujo la germinación; ninguna dosis aumentó la velocidad de germinación ni el tamaño de plántula. En las

estacas terminales con hoja obtenidas del tallo principal se logró hasta 13.3% de enraizamiento con AIB a 3,000 ppm y 20% sin AIB.

Orantes-García y Moreno-Moreno (2013), mediante el método de tinción de tetrazolio, determinaron el porcentaje de semillas viables y la pérdida de viabilidad debido al periodo de almacenamiento (0, 3, 6, 9, 12 meses) en semillas *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC y *Tabebuia donnell-smithii* Rose. Se encontró que las semillas recién recolectadas presentan 100% de viabilidad, la cual va descendiendo hasta mostrar menos de 20% en ambas especies después de 12 meses de almacenamiento, donde el envejecimiento de las semillas tiene como consecuencia una declinación en la capacidad de germinación.

Orantes-García *et al.* (2013), determinaron la proporción de semillas viables y la pérdida de viabilidad debido al periodo de almacenamiento, así como el efecto de tratamientos pregerminativos que favorecen la germinación en semillas de *Cordia alliodora* (Ruiz & Pav.) Cham., *Terminalia amazonia* (J.F. Gmel.) Exell y *Bursera bipinnata* (DC.) Engl., árboles nativos de la selva tropical de Chiapas, México. Se encontró que las semillas recién colectadas presentaron más del 90% de viabilidad, la cual fue disminuyendo hasta mostrar un 15% en *B. bipinnata*, 34% en *C. alliodora* y 18% en *T. amazonia* después de 12 meses de almacenamiento. De acuerdo con la germinación acumulada se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.0001$ ), se observó que las semillas de las tres especies pueden acelerar su tiempo de emergencia con la aplicación de ácido giberélico y escarificación. Al aplicar los tratamientos pregerminativos se obtuvo más del 90% de germinación final. Los tratamientos pregerminativos favorecen la germinación ya que sin ellos el porcentaje de germinación disminuye (*B. bipinnata* 63%, *C. alliodora* 62% y *T. amazonia* 54%). En conclusión, para poder obtener un mayor porcentaje de semillas germinadas en poco tiempo, es necesario dar un tratamiento previo a la siembra para las semillas de estas especies. El almacenamiento de las semillas durante un año provocó una declinación en la capacidad germinativa.

Zurita-Valencia *et al.* (2014), llevaron a cabo un estudio cuyo objetivo principal fue el de obtener un método eficiente de germinación de *Tilia mexicana* Schlecht. (cirimo), para ello se establecieron cultivos *in vitro* con semillas recién colectadas en época de fructificación, mismas que fueron sometidas a desinfección superficial y a diferentes métodos de escarificación previo al cultivo en el medio nutritivo de Murashige y Skoog (MS) con 30 g/L de sacarosa, 8 g/L de agar y 0.05 mg/L de benciladenina (BA). Después de 60 días, el mayor porcentaje de germinación fue de un 74% en semillas tratadas con HCl 10% durante cinco minutos, lo que permitió un óptimo desarrollo y mayor número de plántulas. A los 90 días del cultivo, las plántulas alcanzaron 4.5 cm de altura, con hojas y raíces bien desarrolladas.

Espitia *et al.* (2016) evaluaron la germinación de las semillas de cinco especies forestales nativas de Córdoba, Combia: *Cedrela odorata* L., *Cariniana pyriformis* Miers, *Bombacopsis quinata* Dugand, *Anacardium excelsum* (Bertero & Balb. Ex Kunth) Skeels y *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake, en dos ambientes de germinación. En cada uno de los dos ambientes de germinación: cámara germinativa y casamalla, se utilizó un diseño completamente al azar, con cinco especies forestales como tratamientos y cuatro repeticiones de 50 semillas cada una. Previo a la siembra, todas las semillas fueron sumergidas en agua destilada, a temperatura ambiente de 27°C, por 24 horas, antes de la siembra. Estimaron y compararon las variables, porcentaje de germinación (PG), índice de velocidad de germinación (IVG), germinación diaria media (GDM), valor pico (VP) y valor de germinación (VG). Los resultados mostraron diferencias estadísticas entre especies e interacción especies por ambientes de germinación en el análisis de varianza, para los parámetros fisiológicos de la germinación evaluada, a excepción del PG. Los valores de los parámetros de germinación fueron mayores en cámara de germinación, con incrementos entre el 48.2 y 124.2%, en GDM y VG, respectivamente. *Anacardium excelsum* mostró las mayores diferencias entre especies en los dos ambientes de germinación en todos los parámetros germinativos, mientras que *B. quinata* presentó las menores diferencias.

Ríos-De León (2016) presentó un estudio para generar un protocolo para la germinación *in vitro* de *Guaiacum sanctum* L. como alternativa de propagación que permita la conservación de la especie. Como alternativa para acelerar el proceso germinativo se propone el siguiente sistema de germinación *in vitro* en donde se evaluaron diferentes concentraciones de ácido giberélico (GA3) - 0.0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L en medio Murashige y Skoog (MS). Determinó porcentaje de germinación final, porcentaje de germinación acumulada, tiempo promedio de germinación, velocidad de germinación, índice de germinación y coeficiente de velocidad. Los resultados muestran que con 2.0 mg/L de GA3 se obtiene 85% de germinación final comparado con el grupo control que presentó 13%. Existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0.000$ ). Se obtuvieron mayores porcentajes de germinación a medida que las concentraciones de ácido giberélico aplicadas incrementaron.

Ríos-García *et al.* (2016) presentaron un estudio donde se evaluó el efecto del almacenamiento sobre el tiempo de viabilidad en semillas de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urb., las semillas fueron almacenadas y evaluadas durante los tiempos 0, 3, 6, 9 y 12 meses. La viabilidad en las semillas recién recolectadas fue de 99.67%, presentando un descenso a los seis meses con 88% y un porcentaje de viabilidad de 69.3% a los 12 meses de almacenamiento. Por otro lado el proceso germinativo fue evaluado durante 0, 6, 12 meses, el tiempo cero, presentó un 97% de germinación final, lo cual descendió a 72% en el mes 6 y 66% al cabo de 12 meses. Determinaron que el almacenamiento juega un papel importante sobre la viabilidad y la germinación en las semillas de jopi (*O. pyramidale*), mostrando una pérdida porcentual en ambos atributos conforme avanza el tiempo, por lo que es importante establecer métodos para la conservación ya que es una especie con potencial para reforestación productiva en zonas degradadas de selva.

Agustín-Sandoval *et al.* (2017) tuvieron como objetivo principal analizar algunas pruebas de calidad de semilla de *Tabebuia donnell-smithii* Rose, procedente de árboles candidatos a árboles padre mediante pruebas de viabilidad, germinación, peso y almacenamiento. Las variables se evaluaron a 15, 45, 75 y 105 días después de la

recolecta. Las condiciones de almacenamiento fueron a temperatura ambiente y refrigeración a 8 °C en envases resellables de plástico. La pureza física fue de 85.5%, el número de semillas por kg fue de 248,200. El mayor porcentaje de viabilidad (61%) fue registrado en los primeros quince días, sin embargo, la germinación aumentó al paso del tiempo hasta llegar a su máximo a los 75 días después de su recolecta.

- ***Licania spp***

Gómez Restrepo y Toro Murillo (2009) recomendaron sembrar la semilla de *Licania cabreræ* Prance de forma desnuda, esto es, sin el epicarpio y mesocarpio, en una mezcla de tierra y arena (2:1) a plena exposición. Las semillas así sembradas alcanzan una potencia germinativa de 40%. La germinación inicia entre 88 y 96 días después de la siembra y se completa un mes más tarde. La germinación es hipogea y hasta el momento no se han observado ataques de plagas ni enfermedades.

- ***Licania arborea Seem***

García (2007), con la finalidad de estudiar y describir las principales características del proceso de germinación y desarrollo de las plántulas de especies forestales nativas del Bosque Seco Tropical de Costa Rica, siendo *Licania arborea Seem* una de las principales, se procedió a la localización de los árboles y con una periodicidad de entre tres y cinco semanas, se visitaron para hacer las evaluaciones considerando las características fenológicas y recolectar así los frutos y las semillas. A los frutos y a las semillas se les hizo una morfometría y se les determinó sus dimensiones. Las mediciones correspondientes, salvo algunas excepciones, fueron hechas al menos a 50 frutos y a 50 semillas, provenientes de al menos 5 árboles. Se realizaron pruebas de germinación en placas de Petri o bandejas, según la especie, con no menos de 100 semillas. A partir de la imbibición se evaluó diariamente el porcentaje de germinación, hasta que las semillas se dañaron o se consideró que este proceso había concluido. Para reducir el ataque de hongos patógenos se aplicó fungicida vitavax®. Se sometieron, en cámaras de germinación, a temperaturas de 15, 20 y 30° C, así como alternancia de 18-25°C y 20-35°C, para determinar su efecto sobre la germinación. También, se sembró directamente semillas en el suelo, arena o turba, con el propósito

de caracterizar el desarrollo de la plántula. Como resultado encontraron que *L. arborea* presenta una sola semilla color pardo por fruto con un largo de 8.98 mm y ancho de 5.65 mm; sin embargo, las características del proceso de germinación como porcentaje promedio de germinación, días mínimos para germinar, tipo de germinación y tipo de plántula fueron desconocidos, esto debido a algunos problemas observados, en el caso de *L. arborea* es una especie difícil de germinación cuya causa es una rápida pudrición. Por lo que es importante continuar la investigación en aquellas especies que no se pudo obtener germinación, a pesar de todas las pruebas desarrolladas.

Ríos-García *et al.* (2017), identificaron los hongos asociados en el proceso germinativo de *Licania arborea* Seem, aislaron los hongos presentes en un cultivo *in vitro* de 50 semillas en cajas Petri con PDA, realizaron la identificación morfológica y molecular por extracción de ADN, además de una amplificación utilizando los iniciadores ITS1 e ITS4. Con los productos de PCR procedieron a la digestión enzimática de las muestras, utilizando las enzimas HhaI, HaeIII y HinfI. Para la verificación utilizaron un marcador de 100 pb. La visualización de los geles se realizó en un fotodocumentador y el análisis en el software QuantityOne. Posteriormente realizaron la secuenciación de las muestras, corroborando las secuencias existentes en el GenBank, considerando un score del 99%. Identificaron tres especies de hongos con un fragmento de ADN de 600 pb cuyo perfil de HhaI, HaeIII y HinfI fue: *Neurospora sitoi* (249.99, 88.76) (249.72, 84.94) (173.22, 119.92, 89.76), *Neurospora pannonica* (468.36, 106.26) (476.68, 99.45) (255.28, 92.92) y *Penicillium ludwigii* (281.62, 257.30) (276.46, 252.43) (289.23, 174.16). Concluyen que estos hongos se encuentran asociados en el proceso germinativo de las semillas de *L. arborea*.

La deficiencia de trabajos acerca de envejecimiento, viabilidad, manejo y propagación por varias vías de *Licania arborea* hace imposible tener antecedentes acerca de esta especie. Por ello el presente estudio permitirá conocer algunas problemáticas presentes en el árbol de totoposte. Asimismo se podrán buscar soluciones a corto plazo que puedan mejorar y solucionar estas carencias, y así poder estructurar un manejo de la

especie y aprovecharla de mejor manera, además de que facilitará la propagación del árbol, como alternativa de conservación.

## IV. HIPÓTESIS

H1. El almacenamiento de las semillas de *Licania arborea* alterará el vigor de la semilla, y se verá reflejada en la calidad, donde se espera que conforme se prolongue el tiempo de almacenamiento haya un envejecimiento prematuro; mostrando una pérdida de la viabilidad, baja humedad, aumento en la conductividad eléctrica, así como disminución en el porcentaje final de germinación.

H2. Respecto a las condiciones de germinación, se espera que el cultivo *in vitro* sea el método que presente alta germinación, comparado con el procedimiento *in situ* y en vivero.

## V. OBJETIVOS

### 5.1 General

Analizar aspectos morfofisiológicos de las semillas del árbol de totoposte (*Licania arborea*) con el propósito de contar con información que en un futuro sirva para establecer estrategias de propagación como alternativa de conservación de la especie.

### 5.2 Particulares

- Determinar las características morfológicas y alométricas de las semillas de totoposte (*L. arborea*), con fines de descripción y conocimiento de su anatomía.
- Evaluar la viabilidad, conductividad eléctrica, imbibición y humedad de las semillas de *L. arborea* a distintos tiempos de almacenamiento (0, 3, 6, 9, 12 meses), como un estándar de la calidad y periodo de vida.
- Evaluar la capacidad germinativa de *L. arborea* en condiciones de vivero, *in situ* e *in vitro* a distintos tiempos de almacenamiento (0, 3, 6, 9, 12 meses) y establecer la mejor metodología para su propagación.
- Describir el proceso fenológico de la germinación, y el crecimiento-desarrollo de plántulas de *L. arborea*.

## VI. ÁREA DE ESTUDIO

La cabecera municipal de Jiquipilas, Chiapas se ubica a 64 km de la capital Tuxtla Gutiérrez (Figura 11), según el censo de población y vivienda del año 2010 cuenta con un total de 9 894 habitantes en la cabecera municipal (INEGI, 2010).

### 6.1 Ubicación geográfica

Se encuentra en la región fisiográfica denominada Depresión Central de Chiapas, dentro de un valle con lomeríos, geográficamente se encuentra en la parte noroeste del estado (INEGI, 2005), está situado a  $93^{\circ} 38' 40''$  de latitud oeste y  $16^{\circ} 40' 6''$  de latitud norte, a una altitud de 560-600 m (FORTAM, 1984).

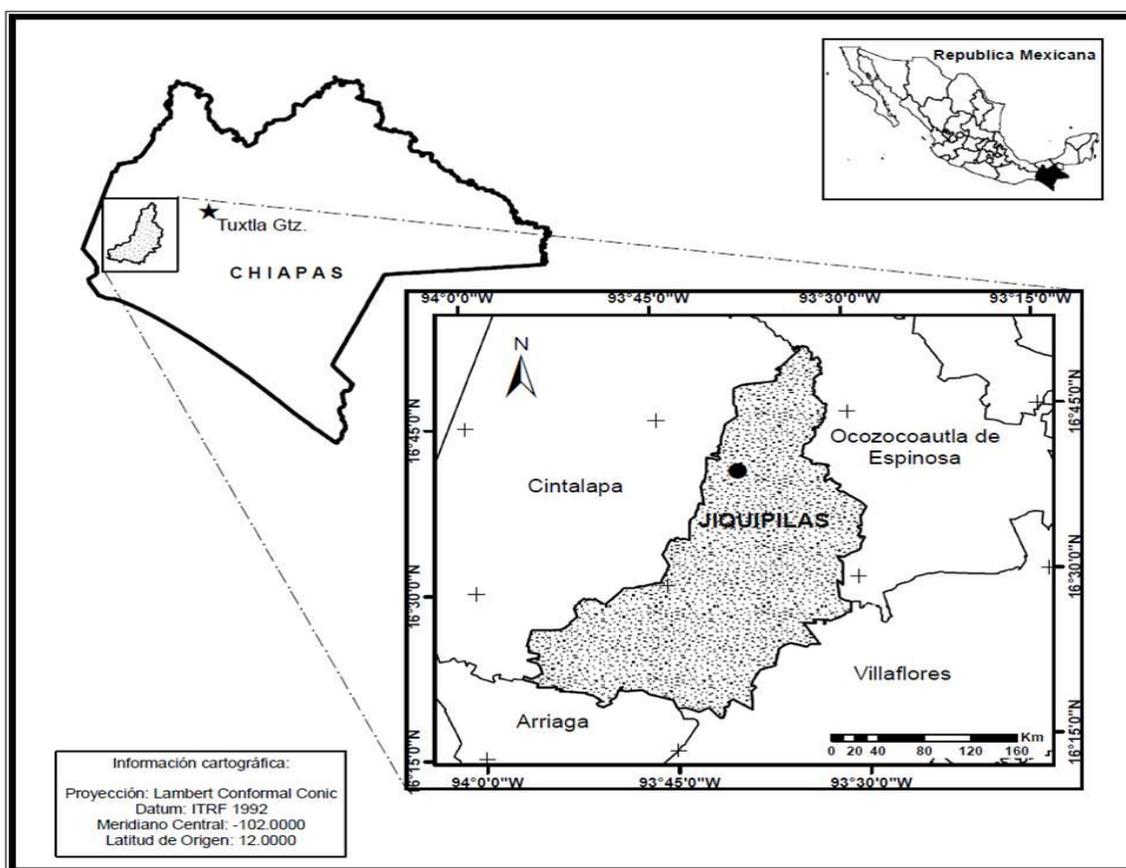


Figura 11. Localización del municipio de Jiquipilas y la cabecera municipal

El municipio colinda al Norte con los municipios de Cintalapa y Ocozocoautla de Espinosa; al Este con los municipios de Ocozocoautla de Espinosa y Villaflores; al Sur con los municipios de Villaflores y Arriaga; al Oeste con el municipio de Cintalapa. Ocupa el 1.76 % de la superficie del estado (INEGI, 2005).

En Jiquipilas se encuentra una parte de la Reserva de la Biosfera Selva el Ocote (REBISO), localizada al noroeste del municipio (SEMARNAT, 2001); mientras que al sur donde las elevaciones son más notorias se distribuye parte de la Reserva de la Biosfera La Sepultura (REBISE) (CONANP, 2007).

## 6.2 Vegetación

Las asociaciones vegetales dominantes en el municipio es de pinares (Bosque de pino) (32.34%) y selva baja caducifolia (18.71%) (Miranda y Hernández, 1963), sin embargo en las zonas planas y urbanas (cabecera municipal) sólo se aprecian algunos de sus elementos arbóreos en pequeños fragmentos aislados, rodeados por potreros y cultivos agrícolas (FORTAM, 1984).

Entre la flora se encuentran especies como: cedro (*Cedrela odorata* L.), caoba (*Swietenia humilis* Zucc.), hormiguillo (*Cordia dentata* Poir.), pino (*Pinus* sp L.), guanacastle (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.), nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth), roble o matilishuate (*Tabebuia rosea* (Bertol.) DC.), sabino (*Taxodium mucronatum* Ten.), guaje (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit), huisache (*Acacia farnesiana* Wall.), tepezcohuite (*Mimosa tenuiflora* Benth.), ixcanal (*Acacia collinsii* Saff.) y sospó (*Pseudobombax ellipticum* (Kunth) Dugand) (INEGI, 2010; Flora mesoamericana, 2010).

## 6.3 Fauna

Las principales especies encontradas en el municipio tigrillo (*Leopardus wiedii* Schinz, 1821), mico de noche (*Potos flavus* Schreber, 1774), tepezcuintle (*Caniculus paca* Linnaeus, 1776), oso hormiguero (*Tamandua mexicana* Saussure, 1860)), mapache

(*Procyon lotor* Linnaeus, 1758), zorrillo (*Conepatus* sp Gray, 1837) venado (*Odocoileus virginianus* Zimmermann, 1780), danta (tapir) (*Tapirus bairdii* Gill, 1865), iguana (*Iguana iguana* Linnaeus, 1758), cantil (*Agkistrodon bilineatus* Günther, 1863), chachalaca (*Ortalis vetula* Wagler, 1830), pájaro carpintero (*Melanerpes* sp Swainson. 1832), gavilán (*Accipiter* sp Brisson, 1760) y urraca copetona (*Calocitta Formosa* Swainson, 1827) (INEGI, 2010).

#### **6.4 Clima**

Predomina el tipo caliente subhúmedo con lluvias en verano (*Aw*) (Köeppen modificada por García, 2004). Los meses más calurosos son marzo, abril y mayo. La cabecera registra una temperatura media anual de 25.4 °C y una precipitación pluvial de 1 018 milímetros; los vientos por lo general se dirigen de Norte a Sur cuando las temperaturas son bastante favorables (INEGI, 2010).

#### **6.5 Hidrología**

Los cursos de agua que irrigan el municipio son los ríos Jiquipilas (río Soyatenco), Santa Lucía y Las Flores (La Venta), río Cintalapa y río La Punta, todos ellos de caudal permanente (INEGI, 2005).

## **VII. MATERIALES Y MÉTODO**

### **7.1 Recolecta de material biológico**

Se eligieron 15 individuos de manera dirigida por accesibilidad de muestreo (Ramírez-González, 2006) localizados en los alrededores de la cabecera municipal de Jiquipilas, Chiapas (93° 38' 40" W y 16° 40' 6" N), para la colecta de los frutos. Con ayuda de pinzas botánicas, se colectaron frutos maduros. La coloración y presencia de exocarpo duro, permite ver el grado de maduración (Las semillas inmaduras se observan de color verde claro, que va oscureciendo de acuerdo con el tiempo). El número de frutos recolectados fue de 500 por árbol (N= 7, 500 en total mezclados de manera homogénea, eliminándose los frutos dañados y/o vanos). El fruto es de tipo drupa que contiene una semilla la cual se mantiene unida del exocarpo y mesocarpo, por lo que la separación no es posible realizarla. Las semillas fueron colocadas en bolsas de papel para su traslado al laboratorio y banco de germoplasma de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH), donde fueron almacenadas en bolsas de papel estraza, en una alacena de madera libre de humedad, a temperatura ambiente (25 °C) (Gálvez-Ramírez, 2013).

### **7.2 Fase experimental y de análisis**

#### **7.2.1 Pruebas básicas de calidad de semillas**

Se realizaron las pruebas básicas de calidad que establecen las reglas de la International Seed Testing Association a las semillas (ISTA, 2010): morfometría (n= 600), alometría de semillas (n= 600), peso de 1000 semillas, número de semillas por kilogramo, contenido de humedad (CH) (n= 500), viabilidad (n= 500), conductividad eléctrica (CE) (n= 500), prueba de imbibición (n= 1500) y prueba de germinación n=600). Cabe mencionar que las pruebas de humedad, viabilidad, conductividad eléctrica, imbibición y germinación se realizaron durante periodos de almacenamiento de 0, 3, 6, 9, 12 meses.

## a) Morfometría y Alometría de semillas

### • Morfometría

Para describir la morfometría externa e interna, se realizaron observaciones al estereoscopio; la descripción se realizó de acuerdo a la guía de Niembro (1989) (Anexo 1). Se realizó una visualización por rayos X en una cámara de irradiación digital TruView cube®, para observar la forma en que se encuentran distribuidas las estructuras.

### • Alometría

Para la caracterización alométrica se utilizaron seis muestras aleatorias de 100 semillas, donde se determinaron de manera individual: el ancho (AS) (se consideró como ancho al diámetro perpendicular) y, largo de la semilla (LS) (largo al diámetro paralelo con respecto al eje del micrópilo) en mm (Figura 12), mediante un calibrador digital Caliper® con precisión de 0,1 mm; por otro lado, las características de peso por semilla (PS) se midieron en g, con una balanza analítica Ohaus® con un grado de precisión de 0.001 g. Se realizó un análisis exploratorio de datos, obteniendo media, mínimos, máximos, varianza, rangos, límites y desviación estándar (Valdés-Rodríguez *et al.*, 2013).

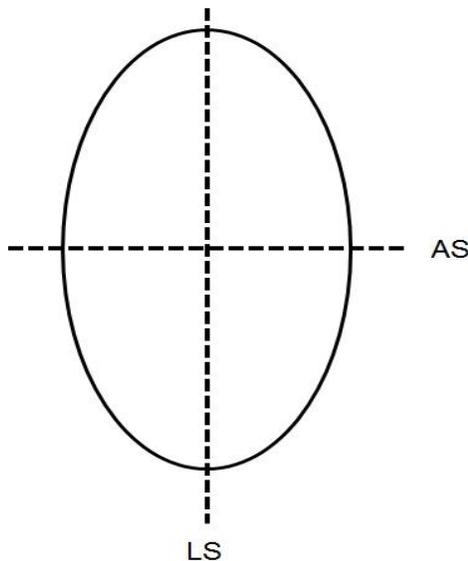


Figura 12 Ejes de medición para la determinación alométrica de semillas, largo de semillas (LS) y ancho de semillas (AS).

Se obtuvo el número de semillas por kilogramo mediante el conteo total de semillas, por cuatro repeticiones; así como el peso de 1000 semillas (ISTA, 2010; Agustín-Sandoval *et al.*, 2017), mediante las técnicas siguientes:

A partir de un cálculo matemático, se determinó la varianza ( $S^2$ ), la desviación típica (S) y el coeficiente de variación (CV) que oscila entre 0 y 7, en 4 repeticiones de 100 semillas (ISTA, 2010).

$$S^2 = n (\text{sumatoria } X) - (\text{sumatoria } x) / n(n-1)$$

$$S = \sqrt{S^2}$$

$$CV = S \times 100$$

Dónde:

X = peso en g de cada repetición.

N = número de repeticiones

x = media del peso de 100 semillas.

Peso de 1000 semillas utilizando una regla de tres:

$$P_{1000\text{semillas}} = \frac{1000 * (\text{promedio de peso de 100 semillas})}{100}$$

#### **b) Determinación de contenido de humedad de la semilla**

Dicha determinación es importante en virtud de que el agua y otras sustancias son los elementos principales para la determinación de la viabilidad, germinación, así como de la conservación de las semillas (Poulsen, 2000). Para evaluar el porcentaje de humedad (%), se utilizaron 10 g de semillas puras previamente maceradas con cinco repeticiones (ISTA, 2010), las cuales se colocaron en un determinador de porcentaje de humedad marca Ohaus®, con una temperatura de  $101 \pm 2$  °C por 10 minutos.

### c) Determinación de porcentaje de viabilidad de la semilla

Se tomaron cuatro muestras de 25 semillas, las cuales fueron colocadas en agua destilada por 12 horas para facilitar la eliminación de la testa. Con la ayuda de una navaja se dividieron por los cotiledones y se le agregaron 10 gotas de 2, 3, 5 trifenil cloruro de tetrazolio diluido (1% p/v), posteriormente se cubrieron con papel aluminio para la incubación a temperatura ambiente por 12 horas (Hartmann & Kester, 2001, Orantes-García *et al.*, 2007), terminada la incubación se evaluó el patrón de tinción de las semillas bajo un microscopio estereoscópico marca Leica Zoom®; considerando el número de semillas basado en el color adquirido por los embriones, principalmente aquellos que presentaron un color rojo intenso (vigoroso), excluyendo los que tenían un color ligeramente pálido o no tenían color, que se consideraron no viables o muertos (Maldonado-Peralta *et al.*, 2016). La fórmula que se utilizó fue la siguiente:

$$\% \text{ de viabilidad} = \frac{\text{Número de semillas coloreadas}}{\text{Número total de semillas}} \times 100$$

Enseguida las semillas se clasificaron en tres categorías y se realizaron los patrones topológicos, según el patrón de tinción de acuerdo a Rao *et al.*, (2007):

- Semillas totalmente teñidas que son viables
- Semillas totalmente libres de coloración que son no viables
- Semillas parcialmente teñidas que producirán plántulas normales o anormales, dependiendo de la intensidad y patrón de la tinción.

### d) Prueba de vigor por Conductividad eléctrica (CE)

Para la prueba de la conductividad eléctrica (CE) fueron utilizadas cinco repeticiones de 20 semillas. Las semillas previamente fueron pesadas con una balanza analítica Ohaus® con un grado de precisión de 0.001 g y posteriormente fueron colocadas para embeber en recipientes de plástico con 100 mL de agua desionizada cada uno, en los siguientes periodos de tiempo: 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24 h, a una temperatura ambiente de 25 °C (Anexo 3, Figura 3).

Después de cada período de imbibición, los valores de la conductividad eléctrica fueron medidos empleándose un conductímetro de la marca HM Digital®. El valor de cada lectura de conductividad eléctrica fue dividido por el respectivo peso de la muestra y los resultados fueron expresados en  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  de semilla (AOSA, 1983). Por cada tiempo de almacenamiento se realizó un análisis de regresión polinómica, para conocer la relación entre la conductividad eléctrica y el tiempo de almacenamiento.

#### **e) Prueba de imbibición de semillas**

La curva de imbibición determina el incremento de la biomasa de una semilla expuesta a remojo y a diferentes intervalos de tiempo hasta no mostrar variación. Dada por las diferencias de potencial hídrico (mátrico) entre la semilla y la solución de imbibición (Suárez y Melgarejo, 2010). Para esto se registró el peso inicial de tres lotes de 100 semillas, posteriormente fueron colocadas en frascos de boca ancha con 100 mL de agua destilada a temperatura ambiente, seguido de ello se registró el peso a intervalos de tiempo (0, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 36, 48, 60 h), hasta que el peso no varió (Moreno *et al.*, 2006). Previo a cada medición, a las muestras se les eliminó el exceso de agua con papel adsorbente. Se realizó un análisis de regresión polinómica, para conocer la relación entre la imbibición y el tiempo de almacenamiento.

#### **f) Métodos de germinación**

Las semillas de *L. arborea* fueron evaluadas mediante un diseño experimental de bloques completos al azar, bajo tres procedimientos distintos (*In situ*, in vitro y en vivero), para cada método se utilizaron 200 semillas de tamaño homogéneo, distribuidas en cuatro repeticiones de 50 semillas de manera aleatoria, es decir cada semilla tuvo las mismas probabilidades de germinar y ser considerada en el experimento. Cada semilla fue tomada como unidad experimental. A continuación se detalla cada uno de los métodos utilizados para la germinación de las semillas.

##### **i. Grupo testigo (*In situ*)**

El experimento se llevó a cabo en un predio ejidal del municipio de Jiquipilas; Chiapas. Las semillas fueron sembradas en bloques elaborados de tierra de campo bajo

vegetación, con una cubierta vegetal del 70% evaluado por el método de fotografía lente ojo de pez (Mostacedo y Fredericksen, 2000), estas fueron colocadas a una profundidad de 2 cm, con el micrópilo hacía abajo. Las condiciones del experimento fueron dadas por el ambiente.

Las observaciones se realizaron cada tres días en un periodo de 84, hasta tener una humedad del 60%. Se consideraron germinadas las semillas cuando presentaron emergencia de la planta sobre el sustrato (>5 mm) (Hartmann y Kester, 2001; Pita-Villamil y Pérez-García, 1998).

#### ii. **Cultivo en vivero**

El vivero se localiza en el Instituto de Ciencias Biológicas-UNICACH, con malla-sombra 70% de cobertura. Las semillas fueron sembradas a una profundidad de 2 cm, colocando el micrópilo hacía abajo, en charolas de unicel de tipo forestal con medidas de 60 cm de largo x 35 cm de ancho y 12 cm de profundidad, el sustrato empleado fue polvillo de coco y agrolita (2:1) (Anexo 3, Figura 1).

Las observaciones se realizaron cada tres en un periodo de 84 días, aplicando riego homogéneo con agua a capacidad de campo, manteniendo 60% de humedad. Se consideraron germinadas las semillas cuando presentaron emergencia de la planta sobre el sustrato (>5 mm) (Hartmann y Kester, 2001; Pita-Villamil y Pérez-García, 1998) (Anexo 3, Figura 2). Las mediciones de precipitación y temperatura se obtuvieron mediante un higrómetro manual para exteriores.

#### iii. **Cultivo *in vitro***

El medio utilizado con frecuencia en el cultivo *in vitro* de plantas leñosas es el medio Murashige y Skoog (MS) (Ramos, 2012). Por lo que las sales basales de MS (Sigma®) se emplearon como medio de cultivo. Para darle la consistencia adecuada al medio se le agregó Phytigel (Sigma®) y se calentó hasta llevar a ebullición (Rossi, 2003); finalmente se le agregó 1 mL de solución de Cicloheximida® al 0.01 g/mL, como antifúngico.

Se vertieron 30 ml del medio de cultivo en tubos de ensaye de vidrio de 200 x 25 mm (Kimax®), ambos esterilizados en autoclave (Felisa®) durante 15 minutos a una atmósfera de 121°C y 15 psi. Los tubos de ensaye fueron cerrados herméticamente con tapas de vaquelita de 20 x 25 cm (Kimax®). Finalmente los tubos de ensaye fueron sellados con polietileno (Kleen pack®). Se dejó solidificar durante 15 minutos y a prueba de esterilidad durante tres días en un lugar fresco.

- **Desinfestación de semillas**

Las semillas fueron desinfestadas en dos tiempos:

a) fuera de la campana: con una solución de hipoclorito al 2% durante dos minutos, se enjuagaron con agua destilada y se colocaron en condiciones asépticas.

b) Dentro de la campana: se sumergieron en agromycin® al 1% con movimiento constante y se lavaron tres veces con agua destilada esterilizada durante 10 minutos. Posteriormente se trataron con hipoclorito de sodio al 2% por dos minutos, se lavaron con agua destilada, finalmente se sumergieron en etanol al 70%.

- **Siembra de semillas en medios de cultivo**

Se sembró una semilla en cada tubo de ensaye de vidrio de 200 x 25 mm (Kimax®), para ello se utilizaron pinzas de disección previamente esterilizadas, se sumergieron en etanol al 96%, se flamearon y enfriaron en el medio de cultivo antes y después de sembrar cada una de las semillas. Los tubos de ensaye fueron cerrados herméticamente y sellados nuevamente con polietileno (Kleen pack®). Todo el proceso se llevó a cabo en un ambiente estéril en la campana de flujo laminar horizontal de tal forma que se pudiera evitar la proliferación de cualquier microorganismo. Los tubos se etiquetaron y se colocaron en una germinadora marca Seedbura® del Banco de Germoplasma Vegetal del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH) (Anexo 3, Figura 4), mantenidos bajo luz fluorescente blanca fría ( $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{S}^{-1}$ ), fotoperiodos de 16/8 h luz/oscuridad, humedad relativa de 60% y temperatura constante de  $23 \pm 2^\circ \text{C}$ .

Las observaciones se realizaron durante 84 días, se consideraron germinadas las semillas cuando presentaron emergencia de la radícula (>5 mm) (Hartmann y Kester, 2001).

### **7.2.2 Fase de análisis**

El primer paso fue comprobar si los datos cumplían con los requisitos de normalidad, por medio de la prueba de Shapiro Wilk (Shapiro, 1965) con niveles de significancia de  $p \leq 0.05$ ; y la homogeneidad de varianza mediante la prueba Levene. Una vez realizada la comprobación de los requisitos básicos de los datos, se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, para determinar el efecto que tiene la variable independiente X (Tiempo) sobre la variable dependiente Y (Medias asociadas a los distintos niveles del factor). Esto se consideró para cada prueba: humedad, viabilidad, conductividad eléctrica, imbibición, porcentaje de germinación final (PG), germinación acumulada (GA), el tiempo promedio de germinación (T), la velocidad de germinación (M), el índice de germinación (IG) y el coeficiente de velocidad (CV) (ver anexo 2) (González-Zertuche y Orozco-Segovia 1996).

Si el análisis de varianza fue significativo se realizó un test de Tukey de comparaciones pareadas para un nivel de significancia del 5% ( $p \leq 0.05$ ), para comparar las medias de los niveles de un factor después de haber rechazado la hipótesis nula de igualdad de medias e identificar el resultado óptimo en el experimento. El análisis estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico R.3.2.4® y los gráficos fueron realizados en Statgraphics Centurión® y Microsoft Excel®.

### **7.2.3 Crecimiento y desarrollo fenológico de plántulas de *Licania arborea***

Para realizar esta evaluación se tomaron 50 semillas al azar en la etapa inicial de la germinación, cabe mencionar que esto solo se realizó en el procedimiento en vivero, esto por el fácil manejo, ya que *in situ* fue difícil porque muchas plántulas fueron atacadas por insectos y por el exceso de lluvias provocando que murieran, y en el ensayo *in vitro* solo se observó la emergencia de radícula y crecimiento de epicótilo, debido al poco espacio en los tubos, el resto de las etapas no pudo observarse.

Las variables consideradas fueron altura, grosor de tallo, número de hojas y longitud de la raíz de acuerdo a Hartmann y Kester (2001). Para poder identificar la especie en un estadio temprano (plántulas). Las mediciones de cada plántula se realizaron con un calibrador digital caliper de 0-150 mm con precisión de 0,1 mm marca Ohaus®. Las hojas solo se contaron de acuerdo al número de brotes. Las mediciones se tomaron a los 33, 38, 48, 63 y 78 días después de la siembra, donde se dieron los principales cambios en las plántulas. Los riegos se realizaron cada 3 días. La descripción se consideró a partir de la escala BBCH, tomando en cuenta las etapas 0: Germinación, brotación, desarrollo de la yema y 1: Desarrollo de las hojas (tallo principal) de acuerdo a Hack *et al.*, (1992).

## VIII. RESULTADOS

### 8.1 Pruebas básicas de calidad de semillas

#### 8.1.1 Morfometría y Alometría de semillas

##### a) Morfometría de semillas

La semilla se presenta desnuda con una testa de color blanca mate, las cuales pueden adquirir una coloración verdusca al estar unidas con el mesocarpo y exocarpo. Las semillas presentan una testa delgada de consistencia fibrosa y superficie corrugada, con un micrópilo conspicuo y posición basal; además de un hilo inconspicuo basal lateral oval. El rafe es lineal y se encuentra en el lateral de la semilla (Figura 13).

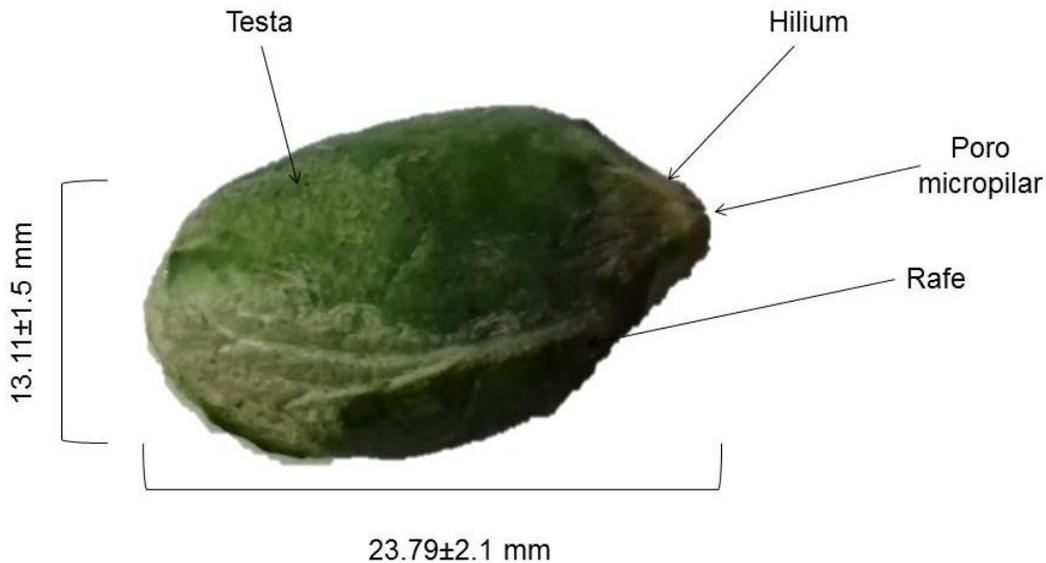


Figura 13. Morfología externa de las semillas de *Licania arborea*, se observa la testa verdusca por estar al contacto con el mesocarpo, y la superficie corrugada, con consistencia fibrosa.

Las semillas presentan un endospermo escaso, amarillento y consistencia carnosa. Por otro lado presentan un embrión central, prominente, lineal curvo y amarillento de aproximadamente  $0.5 \pm 2$  mm. Posee dos cotiledones ovados de superficie lisa, margen entero, gruesos y carnosos, sin nervación. Estos se encuentran separados entre sí y

con un tamaño similar (Figura 14). La radícula se encuentra parcialmente incluida en los cotiledones y dirigida hacia el micrópilo (Figura 15).

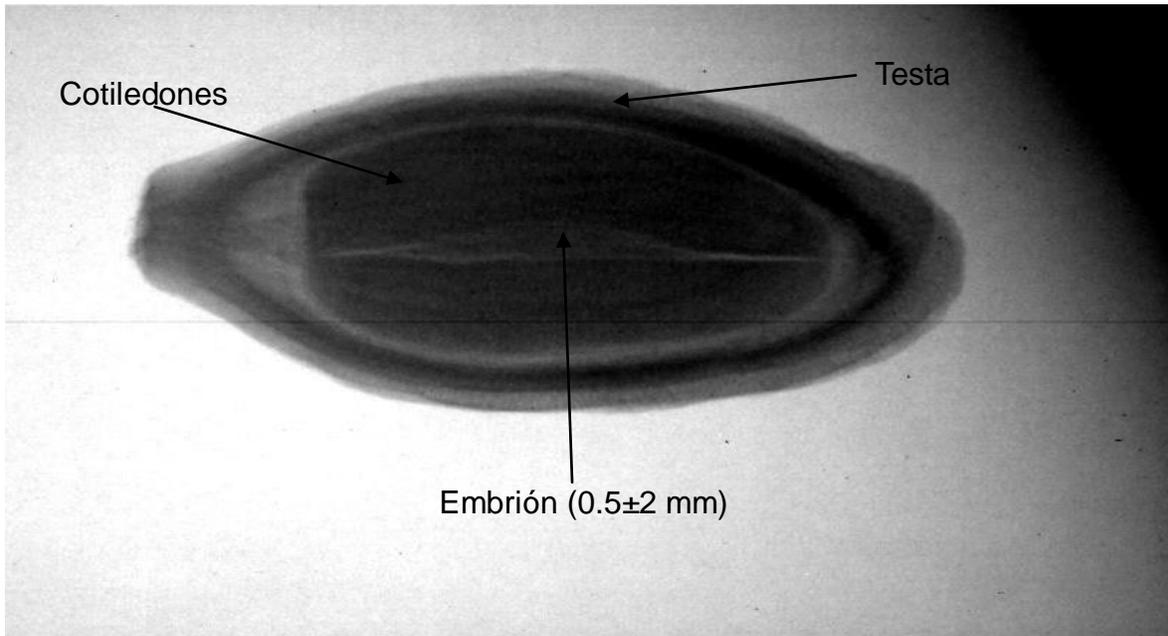


Figura 14. Vista de rayos X de la semilla de *Licania arborea* mostrando la disposición de los cotiledones y la ubicación del embrión dentro de la semilla.

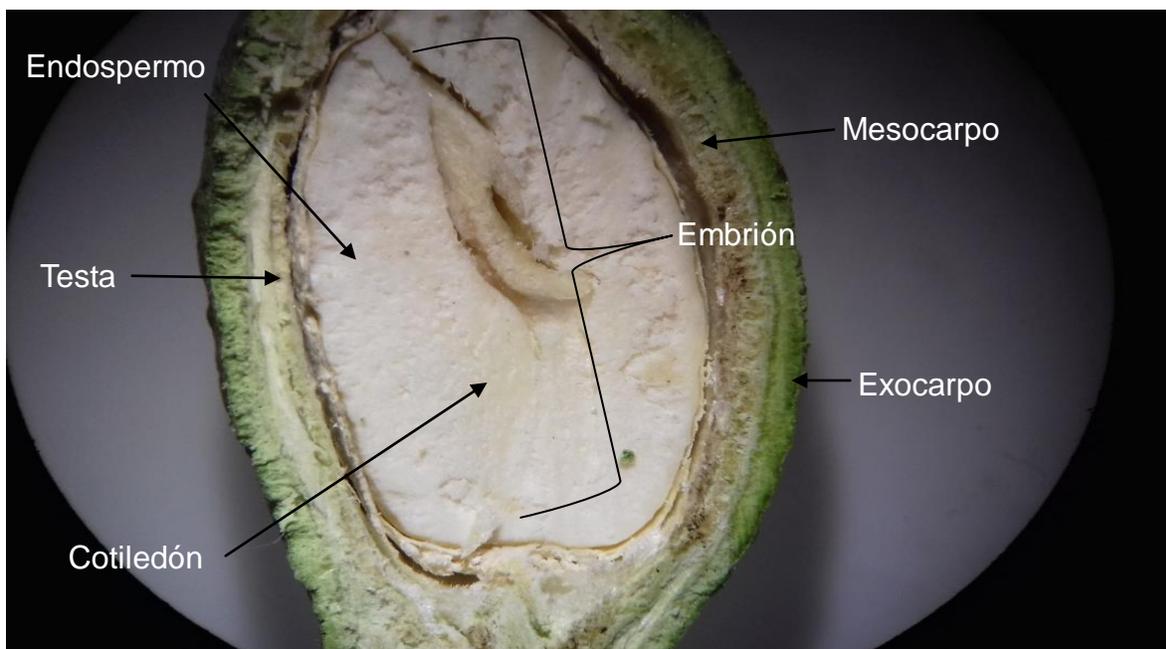


Figura 15. Morfología interna de la semilla de *Licania arborea* mostrando el embrión, el endospermo, cotiledón y testa, como partes principales de la semilla.

## b) Alometría de semillas

Las semillas de *Licania arborea* presentan un largo que oscila entre  $11.84-38.78 \pm 2.1$  mm y una media de  $23.79 \pm 2.1$  mm, llegando a medir más de 40 mm en algunos casos, el ancho de la semilla se encuentra entre  $8.24-27.35 \pm 1.5$  mm y una media de  $13.11 \pm 1.5$  mm, mientras que el peso varía de  $1-5.26 \pm 1$  g con una media de  $2.28 \pm 1$  g (Cuadro 3).

Cuadro 3. Estadísticas descriptivas de las semillas de *Licania arborea*, especie nativa de México.

VARIABLES	Largo (mm)	Ancho (mm)	Peso (g)
Media	23.79	13.11	2.28
Mínimo	11.84	8.24	1
Máximo	38.78	27.35	5.26
Desviación estándar	2.10	1.53	1.08
Varianza	4.45	2.34	1.17
Rango	26.94	19.11	24.26
Límite inferior	11.84	8.24	1
Límite superior	66.84	63.24	56

Dentro de las características alométricas de la semilla, el peso, juega un papel importante en el número (n) de semillas por kilo, debido a que determina la pureza de nuestra muestra. El peso de mil semillas se utiliza para determinar la cantidad necesaria de semilla para lograr un número de plantas predeterminado, éste es variable y está determinado en gran parte por las condiciones ambientales en que se desarrollan los árboles.

Entre la misma especie hay diferencias en el peso de 1000 semillas, debido a la variedad de tamaños; encontramos que el número de semillas en 1 kg es igual a 624, mientras que el peso de 1000 semillas de acuerdo a la fórmula ISTA encontramos que sería de 2271 g (2.271 g cada semilla) que al modificar la fórmula a una regla de tres, el resultado obtenido es de 2320.25 g (2.32 g cada semilla), teniendo una variación de

$\pm 49.25$  g (Cuadro 4). De acuerdo al coeficiente de variación (C.V.: 5.80) que puede encontrarse de 0 a 7, muestra una relación entre el peso ideal de la semilla del Cuadro 4 y el peso real mostrado en el Cuadro 3. Los valores obtenidos tanto en las mediciones como en las ecuaciones, muestran resultados similares.

Cuadro 4. Peso de semillas en 1 kg y peso de 1000 semillas de *Licania arborea*, siguiendo dos fórmulas distintas.

Medida	Resultado
Número de semillas en 1 kg	612
Peso de 1000 semillas ISTA	2271 g
Peso promedio de semilla	2.27 g
Varianza	0.03
Desviación estándar	0.17
Coeficiente de variación	5.80
Peso de 1000 semillas modificada (regla de tres)	2320.25

### 8.1.2 Determinación de contenido de humedad de la semilla

El contenido de humedad como factor de importancia que afecta a las semillas, nos permite conocer la calidad de estas, más aún si tiene alguna importancia e impacto en el ecosistema. En las pruebas realizadas encontramos que la humedad inicial de la semilla de *Licania arborea*, fue considerablemente alta ( $78.7 \pm 3.5\%$ ); sin embargo, este atributo fisiológico presentó una disminución a los tres meses de almacenamiento a  $51.38 \pm 11.6\%$ , mientras que a los seis y nueve meses las semillas se reducen a  $29.34 \pm 5\%$  y  $23.88 \pm 2.3\%$  respectivamente, para finalmente alcanzar un porcentaje de humedad de  $11.94 \pm 1.18\%$  a un año de almacenamiento (Figura 16), mostrándose diferencias altamente significativas en la humedad por meses de almacenamiento en el que fueron analizadas ( $F = 96.86$ ,  $p = 0.000$ ). De acuerdo a la prueba de Tukey (Cuadro 5) el mes cero de almacenamiento presenta mayor porcentaje de humedad.

Esto nos ha permitido deducir que la semilla presenta una velocidad promedio de pérdida de humedad del 30% aproximadamente por cada tres meses de almacenamiento. Con lo cual podemos suponer que se trata de una semilla del tipo intermedia (entre ortodoxas y recalcitrantes) y esto por el porcentaje de humedad y la durabilidad de este atributo a lo largo de un año.

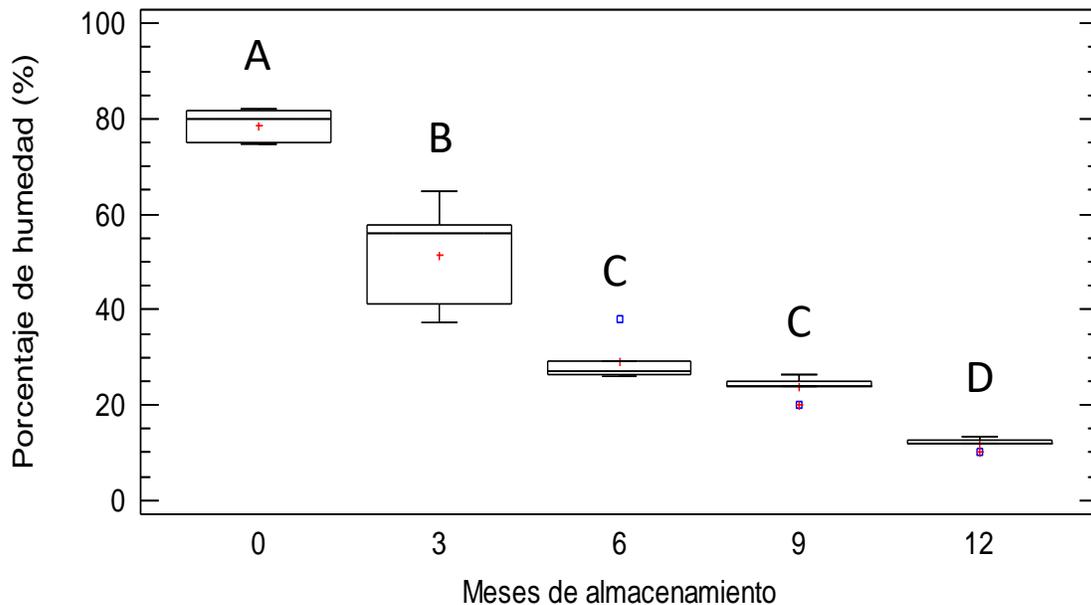


Figura 16. Gráfica de porcentaje de humedad por meses de almacenamiento en semillas de *Licania arborea*, se observa la disminución de este atributo y las diferencias de acuerdo a la prueba de Tukey.

Cuadro 5. Comparaciones pareadas de la prueba de Tukey para prueba de humedad.

Tiempo	diff	lwr	upr	p adj
<b>Mes12-Mes0</b>	2999.2857	1453.9249	4544.6465	0.0000368
<b>Mes3-Mes0</b>	698.5714	-846.7894	2243.9323	0.0065085
<b>Mes6-Mes0</b>	1838.7143	293.3535	3384.0751	0.0134597
<b>Mes9-Mes0</b>	2077.7143	532.3535	3623.0751	0.0042509
<b>Mes3-Mes12</b>	-2300.7143	-3846.0751	-755.3535	0.0013870
<b>Mes6-Mes12</b>	-1160.5714	-2705.9323	384.7894	0.0153276
<b>Mes9-Mes12</b>	-921.5714	-2466.9323	623.7894	0.0318477

<b>Mes6-Mes3</b>	1140.1429	-405.2180	2685.5037	0.0301739
<b>Mes9-Mes3</b>	1379.1429	-166.2180	2924.5037	0.0481276
<b>Mes9-Mes6</b>	239.0000	-1306.3608	1784.3608	0.9911902

### 8.1.3 Determinación de porcentaje de viabilidad de la semilla

La prueba de viabilidad con tetrazolio en semillas de *Licania arborea* se realizó inmediatamente después de la recolecta, en la cual se determinó un  $90\pm 5\%$  de viabilidad. Sin embargo, las semillas presentaron una disminución a partir del tercer mes de almacenamiento, descendiendo a  $55\pm 20\%$ . Para el sexto mes la viabilidad determinada fue de  $25\pm 17.23\%$ , y finalmente en  $7\pm 5\%$  y  $1\pm 1.5\%$  para nueve y doce meses (Figura 17). Lo que indica que el almacenamiento juega un papel importante en la disminución de esta característica fisiológica, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de viabilidad y los meses de almacenamiento ( $F=45.26$ ,  $p=0.000$ ). De acuerdo a la prueba de Tukey (Cuadro 6), el mes cero presenta mejores resultados, debido a que la viabilidad es alta respecto al resto de los meses.

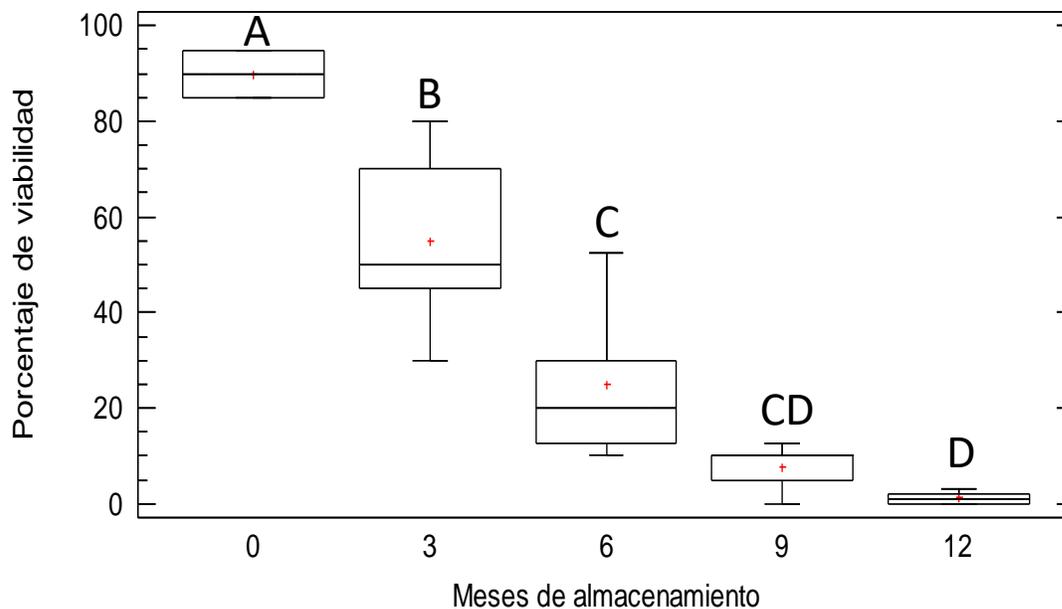


Figura 17. Gráfica de porcentaje de viabilidad por meses de almacenamiento en semillas de *Licania arborea*, podemos observar la disminución de este atributo fisiológico y las diferencias que existen entre cada uno, de acuerdo a la prueba de Tukey.

Cuadro 6. Comparaciones pareadas de la prueba de Tukey para prueba de viabilidad.

<b>Tiempo</b>	<b>diff</b>	<b>lwr</b>	<b>upr</b>	<b>p adj</b>
<b>Mes12-Mes0</b>	-88.8	-111.9568033	-65.643197	0.0000000
<b>Mes3-Mes0</b>	-35.0	-58.1568033	-11.843197	0.0017320
<b>Mes6-Mes0</b>	-65.0	-88.1568033	-41.843197	0.0000005
<b>Mes9-Mes0</b>	-82.5	-105.6568033	-59.343197	0.0000000
<b>Mes3-Mes12</b>	53.8	30.6431967	76.956803	0.0000086
<b>Mes6-Mes12</b>	23.8	0.6431967	46.956803	0.0421333
<b>Mes9-Mes12</b>	6.3	-16.8568033	29.456803	0.9232028
<b>Mes6-Mes3</b>	-30.0	-53.1568033	-6.843197	0.0074258
<b>Mes9-Mes3</b>	-47.5	-70.6568033	-24.343197	0.0000478
<b>Mes9-Mes6</b>	-17.5	-40.6568033	5.656803	0.1985653

También se determinaron tres patrones topológicos en la tinción por tetrazolio en la determinación de la viabilidad de semillas de *L. arborea*, la primera de ellas es de semillas totalmente teñidas o viables, en las cuales el embrión, y cotiledones se tiñeron sin ningún problema virando de rosa a rojo intenso (Figura 18a), esto nos garantiza una alta viabilidad en las semillas, lo que nos producirá plántulas en buen estado, enseguida encontramos semillas libres de coloración, es decir que la reacción del TTC y el embrión no se llevó a cabo; por lo que se comprueba que la semilla es inviable (Figura 18b); y finalmente las semillas parcialmente teñidas que producirán plántulas normales o anormales, dependiendo de la intensidad y patrón de la tinción que de igual manera puede virar de un rosa a rojo intenso (Figura 18c).

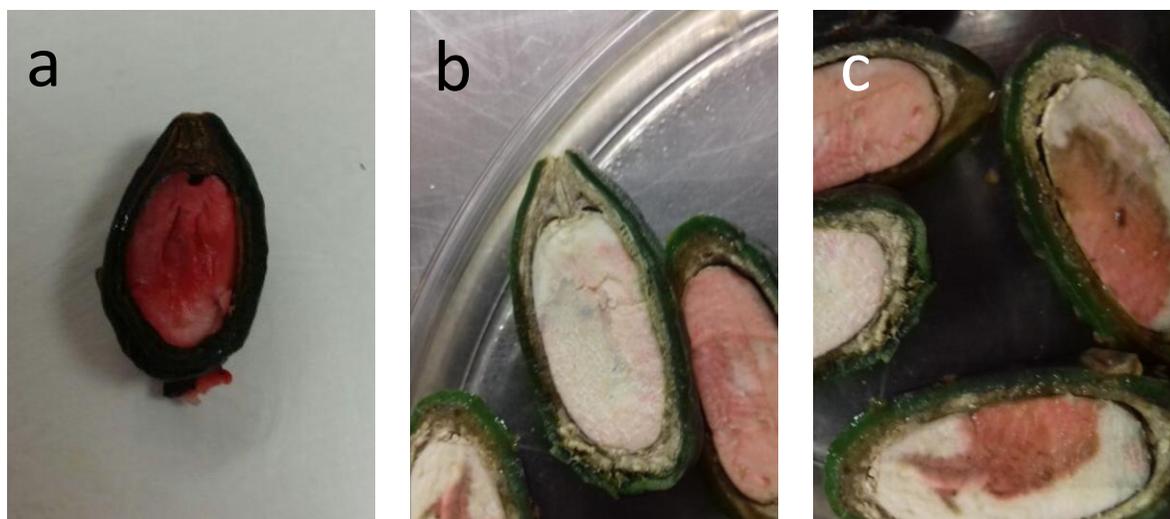


Figura 18. Patrones topológicos de las semillas de *Licania arborea*, a) Semillas totalmente teñidas que son viables, b) Semillas totalmente libres de coloración que son no viables y c) Semillas parcialmente teñidas que producirán plántulas normales o anormales, dependiendo de la intensidad y patrón de la tinción.

#### 8.1.4 Prueba de vigor por Conductividad eléctrica (CE)

Se encontró que las semillas con menos tiempo de almacenamiento presentan valores menores de conductividad eléctrica durante 24 horas de almacenamiento (Figura 19), en el tiempo 0 de almacenamiento presentan una conductividad eléctrica inicial de  $28 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  y una final de  $148 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  ( $R^2=0.9866$ ), el tiempo de almacenamiento de 3 meses, presenta una conductividad eléctrica inicial de  $249 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ , una final de  $1462 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  ( $R^2=0.947$ ); por otro lado, el tiempo de almacenamiento de 6 meses, presenta una conductividad eléctrica inicial de  $609 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ , una final de  $3199 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  ( $R^2=0.9266$ ). A los 9 meses, presenta una conductividad eléctrica inicial de  $629 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ , una final de  $3501 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  ( $R^2=0.9491$ ) y finalmente a los 12 meses de almacenamiento las semillas presentan una conductividad eléctrica inicial de  $1062 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ , una final de  $4522 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  ( $R^2=0.9763$ ).

Se pueden observar que en todos los tiempos de almacenamiento, el resultado de los análisis de regresión se aproxima a 1. El análisis de varianza (ANOVA) muestra diferencias significativas entre los meses de almacenamiento y el valor de

conductividad eléctrica ( $F=9.84$ ,  $p=0.000$ ). La prueba de Tukey (Cuadro 7) muestra cuatro grupos diferentes, el grupo A corresponde al mes cero, el cual presentó mejores resultados al poseer menor conductividad eléctrica, lo que indica que las semillas aparentemente se encuentran en buen estado, el grupo AB al mes tres, el grupo BC a los seis y nueve meses y finalmente el grupo C al mes 12.

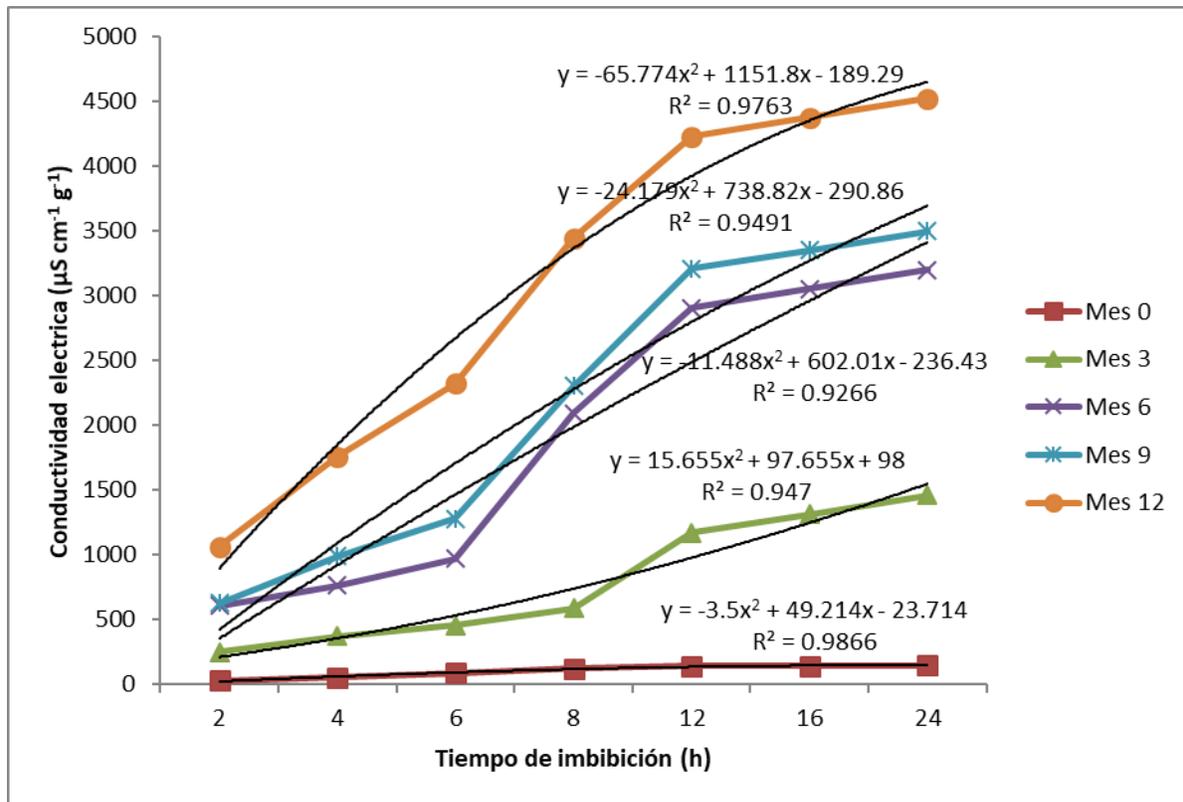


Figura 19. Mediciones de conductividad eléctrica ( $\mu\text{S}$ ) en semillas de *Licania arborea* con distintos tiempos de almacenamiento, embebidas a distintas horas.

Cuadro 7. Comparaciones pareadas de la prueba de Tukey para prueba de conductividad eléctrica.

Tiempo	diff	lwr	upr	p adj
<b>Mes12-Mes0</b>	2999.2857	1453.9249	4544.6465	0.0000368
<b>Mes3-Mes0</b>	698.5714	-846.7894	2243.9323	0.6865085
<b>Mes6-Mes0</b>	1838.7143	293.3535	3384.0751	0.0134597

<b>Mes9-Mes0</b>	2077.7143	532.3535	3623.0751	0.0042509
<b>Mes3-Mes12</b>	-2300.7143	-3846.0751	-755.3535	0.0013870
<b>Mes6-Mes12</b>	-1160.5714	-2705.9323	384.7894	0.2153276
<b>Mes9-Mes12</b>	-921.5714	-2466.9323	623.7894	0.4318477
<b>Mes6-Mes3</b>	1140.1429	-405.2180	2685.5037	0.2301739
<b>Mes9-Mes3</b>	1379.1429	-166.2180	2924.5037	0.0981276
<b>Mes9-Mes6</b>	239.0000	-1306.3608	1784.3608	0.9911902

### 8.1.5 Prueba de imbibición de semillas

En la Figura 20 se muestra la relación entre la masa y el tiempo de imbibición de las semillas de *Licania arborea*, se observa que las semillas con más tiempo de almacenamiento presentan un incremento en su peso, siendo mayor en las almacenadas por 12 meses, donde el mayor incremento en el peso de las semillas se da durante las primeras 16 h de imbibición manteniéndose hasta las 36 h donde se da el siguiente incremento. También se muestra la relación polinómica entre el tiempo de imbibición y el incremento en peso de las semillas. Se observa el coeficiente de correlación ( $R^2$ ), el cual, entre más cercano se encuentre a 1, indica una relación positiva entre el tiempo de imbibición y el incremento en masa de las semillas por cada uno de los tiempos de almacenamiento. Sin embargo no hay diferencias significativas entre el tiempo de almacenamiento y los valores de peso ( $F=1.86$ ,  $p=0.302$ ).

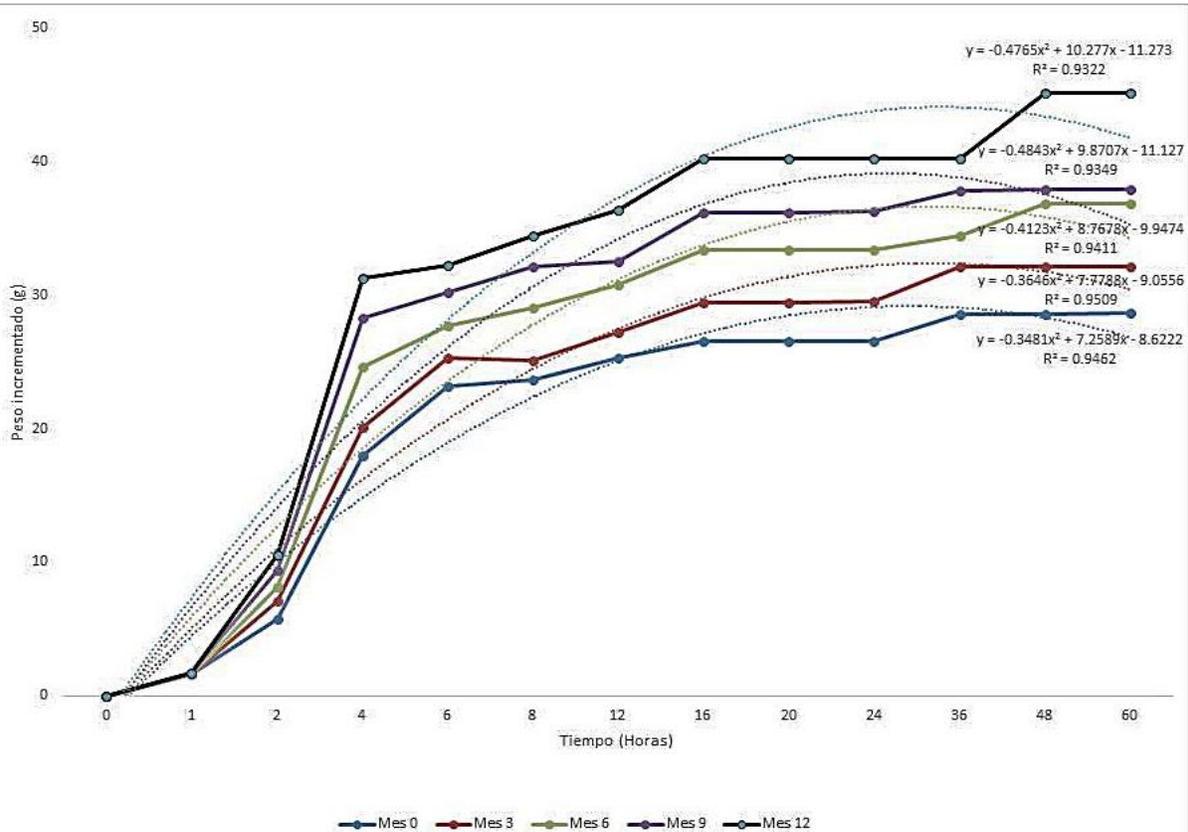


Figura 20. Gráfica de incremento de peso en semillas de *Licania arborea* almacenadas durante 0, 3, 6, 9 y 12 meses, expuestas a distintos tiempos de imbibición. Se observa mayor incremento en semillas con 12 meses de almacenamiento. Las líneas de tendencia corresponden al tipo polinómica.

## 8.2. Prueba de germinación

En la Figura 22, se observa que la media general para el PG en el ensayo *in vitro*, para el tiempo cero de almacenamiento fue de  $70 \pm 10.8\%$ , disminuyendo a  $50 \pm 12.2\%$  para el tercer mes, mostrando un mayor descenso en el porcentaje de germinación total a partir del sexto mes con un  $35 \pm 8.16\%$ ,  $17 \pm 1.4\%$  para el mes nueve y  $5 \pm 3.2\%$  para el mes 12, mostrando un patrón de disminución promedio de 23% aproximadamente por cada tiempo. El análisis de varianza (ANOVA) demostró que existen diferencias significativas entre el porcentaje de germinación final y el tiempo de almacenamiento aplicado a las semillas de *Licania arborea* ( $F=318.75$ ,  $p=0.000$ ). La prueba de Tukey determinó que

existen tres grupos diferentes. El grupo A corresponde al mes 0, donde se presentó el mayor porcentaje de germinación, seguido del grupo B a los meses 3 y 6 y finalmente el grupo C donde encontramos al mes 9 y el mes 12 de almacenamiento.

El ensayo realizado en condiciones de vivero (malla-sombra), presentó un porcentaje de germinación de  $55\pm 10.8\%$ , disminuyendo a  $35\pm 7.07\%$  al tercer mes de almacenamiento y a los seis meses a  $10\pm 4\%$ , en el mes 9 y 12 no hubo germinación. El análisis de varianza (ANOVA) demostró que existen diferencias significativas entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de germinación de semillas en *Licania arborea* ( $F=10500.17$ ,  $p=0.000$ ). La comparación de medias de Tukey determinó que existen tres grupos diferentes. El grupo A corresponde al mes 0, donde hubo mayor porcentaje de germinación, el grupo B al mes 3 y el grupo C que corresponde al mes 6.

El ensayo control realizado en condiciones naturales, presentó los menores porcentajes de germinación el mes cero de almacenamiento tuvo  $15\pm 4.08\%$ , seguido del mes tres con  $10\pm 4.08\%$  y  $5\pm 2.04\%$  en el sexto mes; mientras que para los meses nueve y doce el porcentaje fue de cero. El análisis de varianza (ANOVA) demostró que existen diferencias significativas entre el tiempo de almacenamiento y el porcentaje de germinación de semillas en *Licania arborea* ( $P\leq 0.000$ ). La diferencia de Tukey (Cuadro 8) mediante la comparación de medias determinó que existen tres grupos diferentes (Figura 21). El grupo A corresponde al mes 0 que resultó ser el mejor, al presentar un alto porcentaje de germinación, el grupo B al mes 3 y el grupo C que corresponde al mes 6 (Figura 22). Se encontraron diferencias estadísticas entre los ensayos ( $F=10.76$ ,  $p=0.0002$ ).

Comparando los tres ensayos de germinación, se observa que hay diferencias significativas entre cada uno de ellos ( $F=10.76$ ,  $p=0.0002$ ), donde se encontraron dos grupos siendo el ensayo *in vitro* el óptimo, seguido del ensayo en vivero e *in situ*, de acuerdo a la prueba de Tukey (Figura 22).

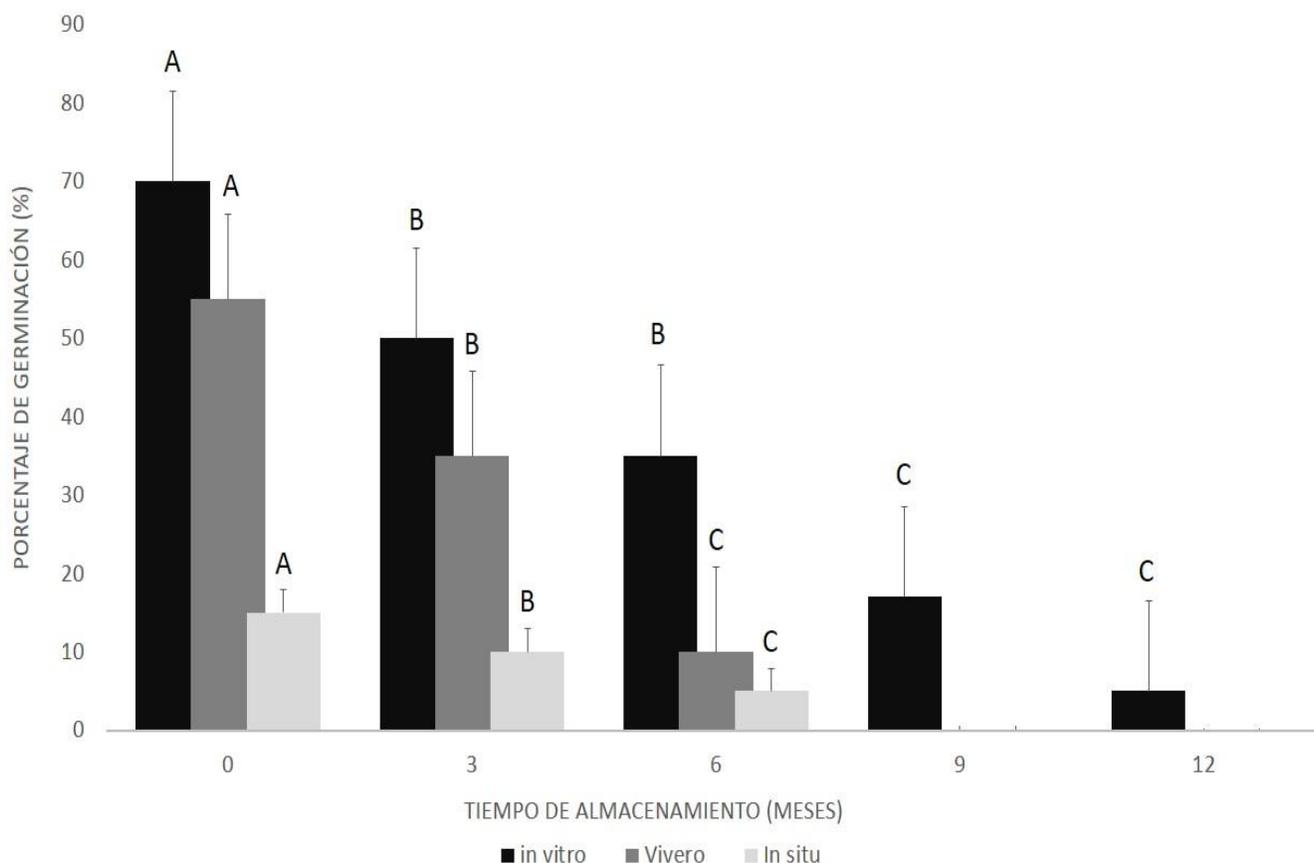


Figura 21. Ensayos de germinación realizados en semillas de *Licania arborea*, se observa que las germinadas *in vitro* tienen un mayor porcentaje y durabilidad, a comparación del ensayo en vivero e *in situ* (Las barras corresponden a desviación estándar).

Cuadro 8. Comparaciones pareadas de la prueba de Tukey para ensayos de germinación.

Ensayo	Tiempo	diff	lwr	upr	P adj
In situ	Mes3-Mes0	-1.500000e+01	-20.9797401	-9.0202599	0.0000110
	Mes6-Mes0	-1.000000e+01	-15.9797401	-4.0202599	0.0009350
	Mes6-Mes3	-1.000000e+01	-15.9797401	-4.0202599	0.0009350
Vivero	Mes3-Mes0	-2.000000e+01	-33.221703	-6.778297	0.0023801
	Mes6-Mes0	-4.500000e+01	-58.221703	-31.778297	0.0000002
	Mes6-Mes3	-2.500000e+01	-38.221703	-11.778297	0.0002709

	<b>Mes12-Mes0</b>	-65	-83.163717	-46.8362833	0.0000001
	<b>Mes3-Mes0</b>	-20	-38.163717	-1.8362833	0.0277292
	<b>Mes6-Mes0</b>	-35	-53.163717	-16.8362833	0.0002219
	<b>Mes9-Mes0</b>	-53	-71.163717	-34.8362833	0.0000017
<b>In vitro</b>	<b>Mes3-Mes12</b>	45	26.836283	63.1637167	0.0000128
	<b>Mes6-Mes12</b>	30	11.836283	48.1637167	0.0010539
	<b>Mes9-Mes12</b>	12	-6.163717	30.1637167	0.2947544
	<b>Mes6-Mes3</b>	-15	-33.163717	3.1637167	0.1311950
	<b>Mes9-Mes3</b>	-33	-51.163717	-14.8362833	0.0004097
	<b>Mes9-Mes6</b>	-18	-36.163717	0.1637167	0.0426561

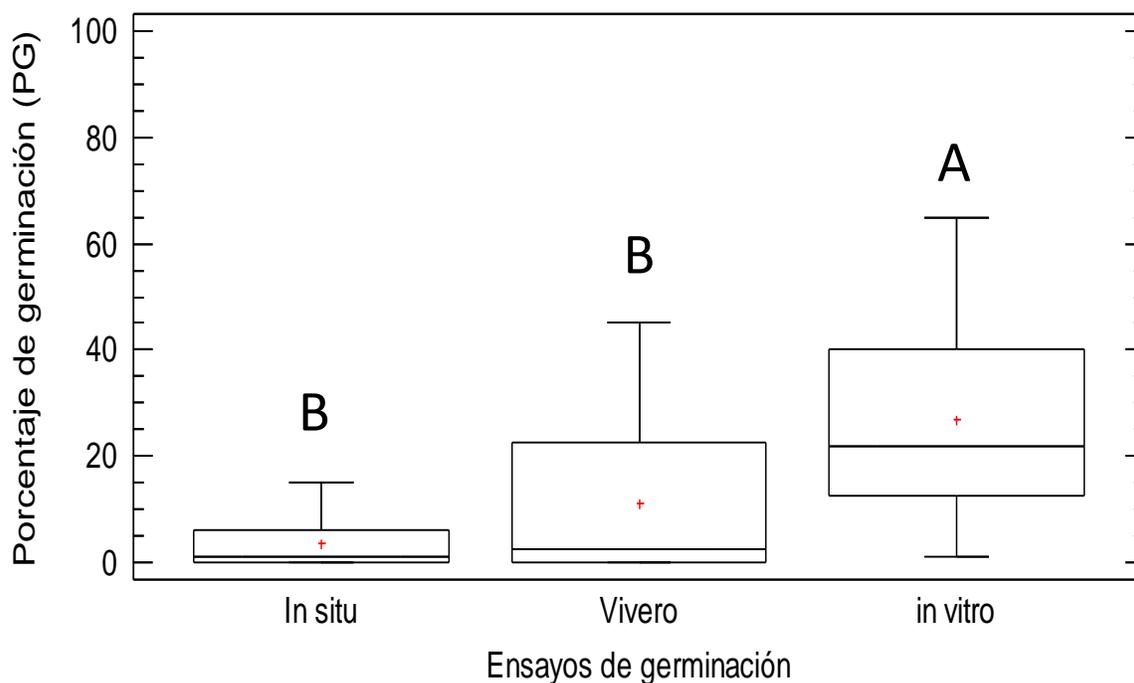


Figura 22. Porcentaje de germinación final de las semillas de *Licania arborea*, realizados en vivero, *in situ* e *in vitro*.

### Germinación acumulada

Las gráficas de germinación acumulada nos permitieron conocer el inicio y fin de la germinación de las semillas de *Licania arborea*, en el ensayo en vivero, *in vitro*, e *in situ*, a los distintos tiempos de almacenamiento. En el ensayo realizado en las

condiciones *in situ*, la emergencia sobre el sustrato se da a los 27 días después de la siembra y finaliza a los 81 días para el mes cero, mientras que para los meses tres y seis, la germinación inicia a los 30 días; a los nueve y doce meses no hubo germinación (Figura 23).

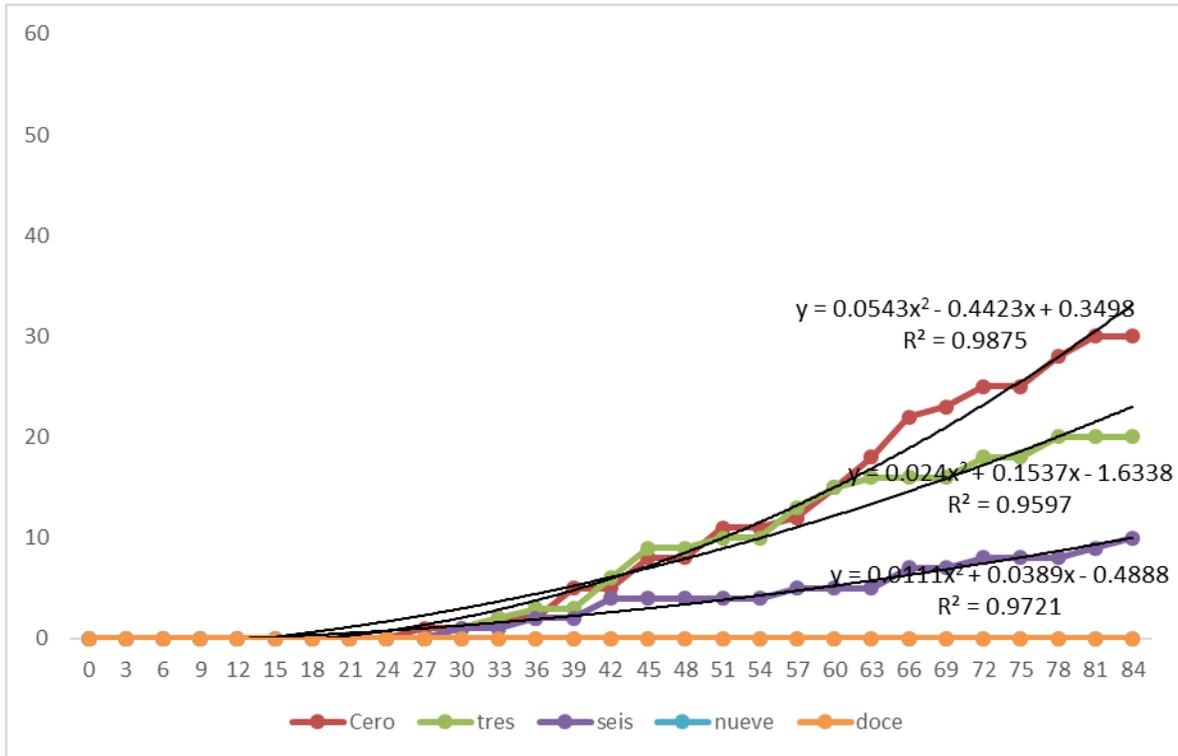


Figura 23. Germinación acumulada *in situ* de semillas de *Licania arborea*.

En el ensayo realizado en el vivero, la emergencia sobre el sustrato se da a los 30 días después de la siembra y finaliza a los 78 días; el tiempo cero de almacenamiento presenta un mayor número de individuos (cinco) al inicio de la germinación. Para los tres y seis meses de almacenamiento, el inicio se da a los 33 días con la emergencia de cuatro y un individuo respectivamente; a los nueve y doce meses no hubo germinación (Figura 24).

En el ensayo realizado *in vitro*, la emergencia de la radícula en el tiempo cero de almacenamiento se da a los 18 días después de la siembra y finaliza a los 84 días. Para los tres meses de almacenamiento, el inicio se da a los 21 días, mientras que para los seis, nueve y doce meses, la germinación inició a los 24 días. (Figura 25).

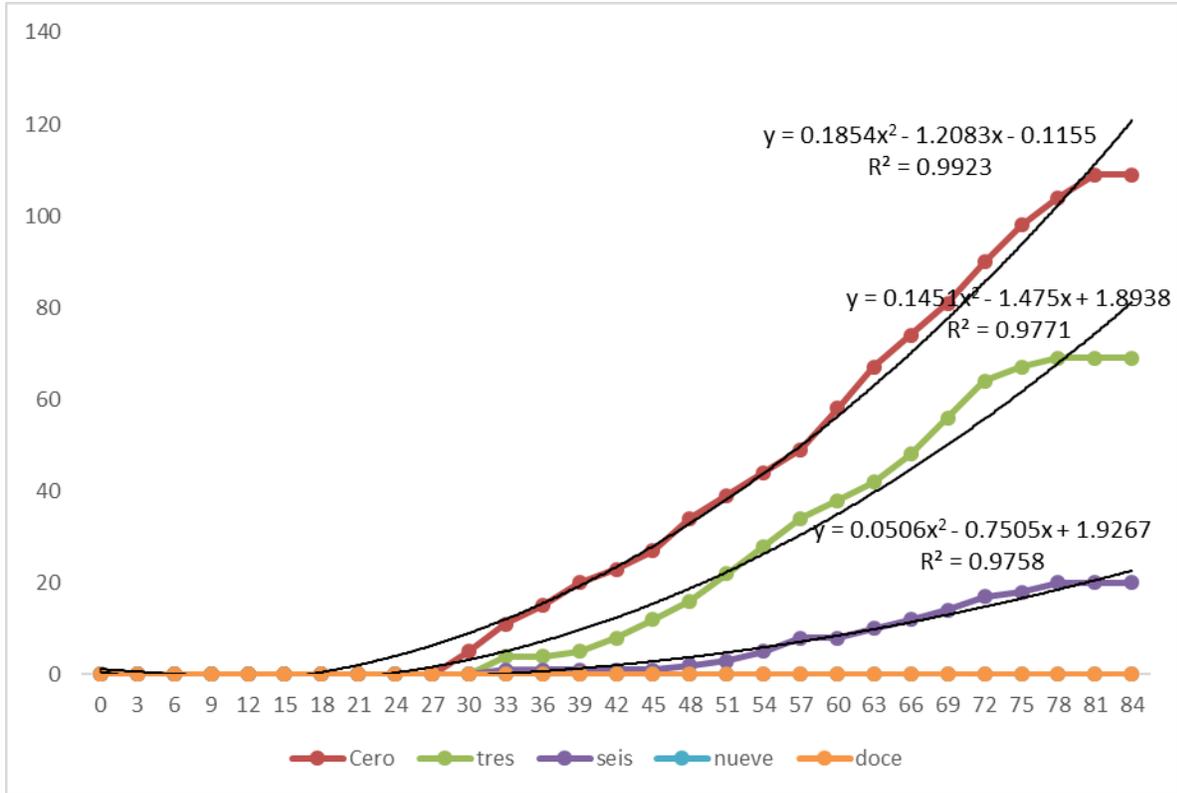


Figura 24. Germinación acumulada en vivero de semillas de *Licania arborea*.

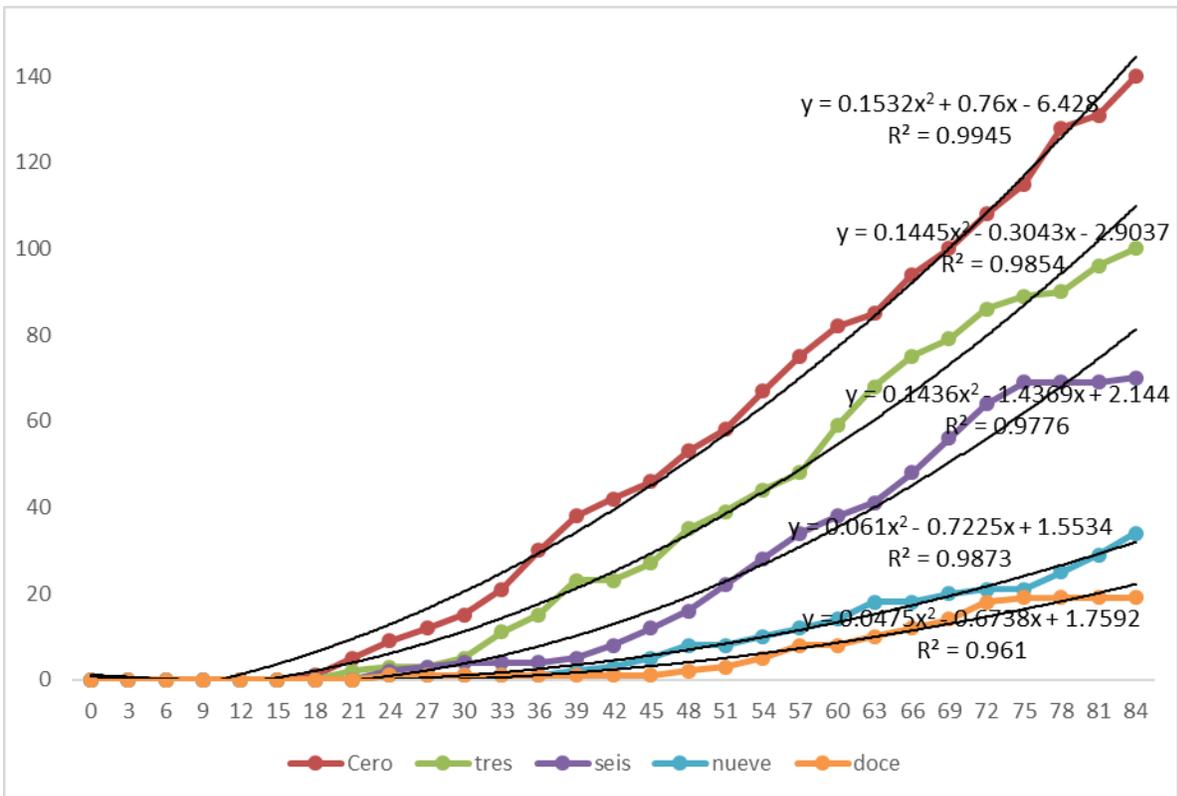


Figura 25. Germinación acumulada *in vitro* de semillas de *Licania arborea*.

En el Cuadro 9 se presentan las variables del proceso germinativo de *Licania arborea*, las letras corresponden a las diferencias entre grupos de acuerdo a la prueba de Tukey, donde la letra A corresponde al resultado más óptimo. El tiempo promedio de germinación representado con la letra T, es una medida que expresa el tiempo que requieren las semillas para completar la germinación, el ensayo en vivero muestra un tiempo de 84 días, en el cual la mayor parte de las semillas habrán germinado, por otro lado el ensayo *in situ* presenta variaciones, donde las semillas más viejas serán más tardadas en germinar, como sucede en el mes tres (86.8b) y mes seis (100.8c); en ambos ensayos los meses nueve y doce no presentaron germinación. Para el ensayo *in vitro* el tiempo promedio para el mes cero es de 52.84 y para el resto la T es de 84 días. El análisis de varianza (ANOVA) de T determinó que si existen diferencias significativas entre los meses de almacenamiento y los ensayos de germinación ( $P \leq 0.000$ ). La MG expresa el número de semillas germinadas en relación con el tiempo de germinación, de acuerdo a los resultados la máxima velocidad de germinación (MG) se registró en el tiempo cero de almacenamiento para el ensayo *in vitro*, *in situ* y en vivero, con 1.29, 0.35 y 1.66 respectivamente, y disminuye con el almacenamiento, siendo menor a los 12 meses. El análisis de varianza (ANOVA) de MG señaló que existen diferencias estadísticamente significativas entre los ensayos realizados ( $P \leq 0.0000$ ). El IG muestra a qué velocidad promedio las semillas germinan, ya que relaciona las semillas germinadas en el tiempo, con el número total de semillas sembradas. De acuerdo a los resultados obtenidos las semillas con tiempo cero de almacenamiento presentan los valores más altos para los tres ensayos de germinación, con 45.78, 13.02, 36.99, para vivero, *in situ* e *in vitro* respectivamente y estos disminuyen a 0, 0 y 0.22 a los 12 meses. El análisis de varianza (ANOVA) de IG determinó que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0.000$ ). Finalmente se determinó el CV de cada uno de los tratamientos debido a que expresa la velocidad de germinación en un sentido más estricto que el IG, ya que no se ve afectado por la capacidad de germinación sino que muestra la distribución de la germinación en el tiempo en relación con el número de semillas germinadas; en el ensayo de vivero en los meses cero, tres y seis el valor de CV fue de 1.19, el resto fue de cero. En el ensayo *in situ* presentó un valor de CV de 1.19 para el mes cero, de 1.15 para el mes tres y 0.99

para el mes seis, para los meses nueve y doce el valor fue de cero. En el tratamiento *in vitro* el valor para el mes cero es de 1.89 y para el resto fue de 1.19. El análisis de varianza (ANOVA) de CV determinó que si existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $P \leq 0.000$ ).

Cuadro 9. Efecto de tiempos de almacenamientos en semillas de *Licania arborea* sobre el porcentaje de germinación final (PG), tiempo promedio de germinación (T), velocidad de germinación (MG), índice de germinación (IG) y coeficiente de velocidad (CV) en tres condiciones de germinación.

Ensayo de germinación	Tiempo de almacenamiento	T	IG	MG	CV	PG
<b>Vivero</b>	0	84±0.57a	45.78±0.04a	1.29±0.05a	1.19±0.05a	55±06a
	3	84±1.52a	28.98±0.04b	0.82±0.01b	1.19±0.05a	35±1.52b
	6	84±0.57a	8.82±0.01c	0.25±0.02b	1.19±0.05a	10±1.15c
<b><i>in situ</i></b>	0	84±0.57a	13.02±0.01a	0.35±0.01a	1.19±0.01a	15±1a
	3	86.8±0.01b	8.4±0.02b	0.23±0.01b	1.15±0.01b	10±1b
	6	100.8±0.01c	5.04±0.01c	0.11±0.01c	0.99±0.01c	5±1c
<b><i>in vitro</i></b>	0	52.84±0.02a	36.99±0.05a	1.66±0.01a	1.89±0.01a	70±5a
	3	84±0.02b	42±0.05b	1.19±0.01b	1.19±0.01b	50±10b
	6	84±0.02b	29.4±0.05c	0.83±0.01c	1.19±0.005b	35±5b
	9	84±0.02b	14.28±0.05d	0.4±0.01d	1.19±0.005b	17±2c
	12	84±0.02b	7.98±0.05e	0.22±0.01e	1.19±0.005b	5±1c

### 8.3 Proceso fenológico de la germinación, crecimiento y desarrollo de plántulas de *Licania arborea*

La germinación de las semillas fue del tipo hipogea (Figura 26), es decir, son semillas que quedan enterradas en el sustrato y el epicótilo emerge. Enseguida a ello, las principales estructuras que se van desarrollando a lo largo del crecimiento de la plántula son las mostradas en el Cuadro 10 y Figura 27, además de la aparición y el blanqueamiento del envés de las hojas, característica peculiar en las plántulas de esta

especie (Figura 28). Las hojas presentan ciertas características, las cuales permiten identificar a la especie en la etapa de plántulas, las cuales son las siguientes:

- Hojas simples
- Verde oscura en el haz y ligeramente blanquizca en el envés
- Elíptica
- Ápice acuminado
- Base aguda
- Margen entero
- Nervación eucamptodroma
- Disposición del primer par de hojas opuestas
- Hojas dispuestas en espiral teniendo como eje el tallo de la plántula

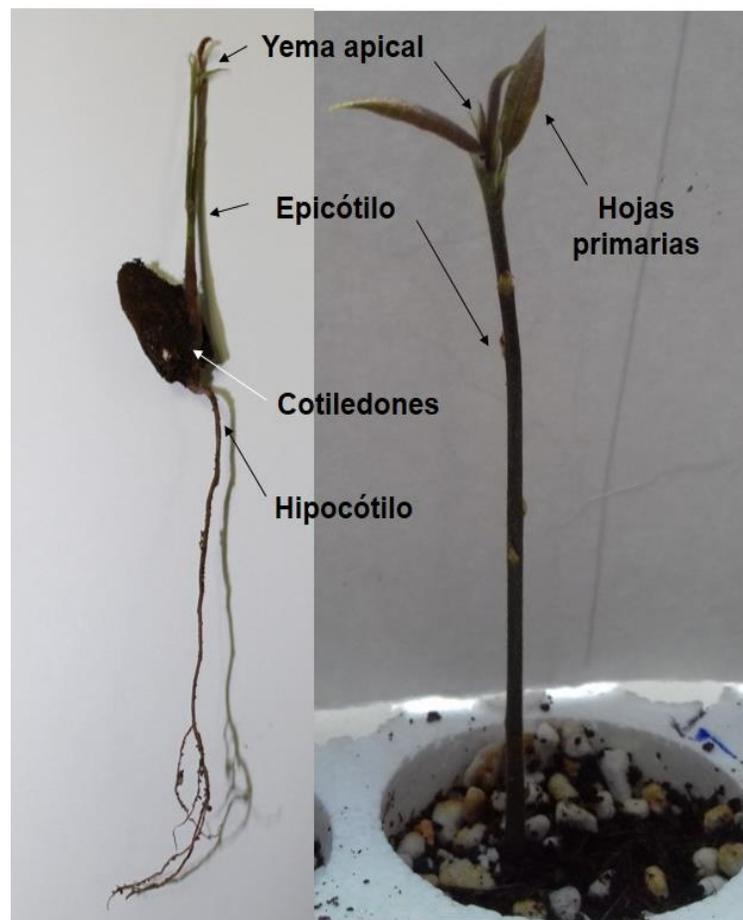


Figura 26. Germinación de *Licania arborea* correspondiente al tipo hipogea.

Cuadro 10. Descripción fenológica de acuerdo a la escala BBCH y promedio de medidas de plántulas de *Licania arborea* después de la siembra (dds).

Escala general	Escala secundaria	Descripción	Tiempo (días)	Medidas (mm)						
				Hojas			Tallo		Raíz	
				L	G	Núm	L	G	L	Adv.
Germinación, brotación, desarrollo de la yema	00	Semilla seca	0	0	0	0	0	0	0	0
	01	Comienza imbibición de semilla	1	0	0	0	0	0	0	0
	02									
	03	Imbibición completa	3	0	0	0	0	0	0	0
	04									
	05	La radícula emerge de la semilla	18	0	0	0	0	0	3.5	No
	06	Elongación de la radícula, formación de pelos radiculares	25	0	0	0	0	0	4.1	Si
	07	El epicótilo sale a través del tegumento seminal	33	0	0	0	5.9	0.1	8.4	Si
	08	El epicótilo crece	35	0	0	0	6.1	0.1	8.9	Si
	09									
Desarrollo de las hojas (brote o tallo principal)	10	Aparición de la yema apical								
	11	Crecimiento de tallo principal	38	0	0	0	6.4	0.1	9.6	Si
	12	Desarrollo de hojas primarias								
	13	Crecimiento y engrosamiento de tallo principal	48	0	0	0	7.2	0.8	10.3	Si
	14	Desarrollo de las primeras hojas verdaderas								
	15	Crecimiento y engrosamiento de tallo principal	63	3.5-7.1	1.4-2.5	4-5	10.8	2.1	11.6	Si
	16	Desarrollo del segundo par de hojas verdaderas								
	17	Crecimiento y engrosamiento de tallo principal	78	4.5-7.5	1.6-4.1	4-7	13.5-17.2	3.2-3.5	12.6-20	Si
	18	Desarrollo del tercer par de hojas verdaderas								
	19									



Figura 27. Proceso de desarrollo de plántulas de *Licania arborea* después de la siembra (dds), en vivero.



Figura 28. A) Envés, se muestra la coloración blanquizca y la nervación eucamptodroma y B) haz de hojas de *Licania arborea*.

## IX. DISCUSIÓN

### a) Morfometría y alometría

La aplicación de las características morfométricas en el presente estudio radica en su asociación con el sistema adaptativo, dado que la variación en las mismas expresa en forma directa, mecanismos de adaptación del individuo al ambiente (Donoso *et al.*, 2004).

La longitud de la semilla tuvo un intervalo de variación de 11.84-38.78  $\pm$  2 mm con un promedio de 8.24-27.35  $\pm$  2 mm de ancho. Estos resultados son contrastantes y son inferiores a los reportados por García (2007) quien mencionó valores de 8.98 cm de largo y 5.65 cm de ancho. Esto muestra la variabilidad existente para estos caracteres en diferentes regiones de Centroamérica. Los análisis de regresión lineal mostraron relaciones positivas en largo, ancho y peso.

De acuerdo a Werker (1997), las variaciones morfométricas pueden deberse a que el tamaño y peso de la semilla están determinados genéticamente y son afectados por factores ambientales factores como nutrientes, luz, sombra, época del año, defoliación, temperatura y humedad, así como la posición en el fruto; además, de influir en características de las semillas como el grosor y ancho de la semilla, cuya función radica en la orientación de la semilla durante la dispersión de la misma. Por otro lado Ramírez-Morales y Orozco-Cardona, (2010), mencionan que el peso de las semillas es afectado por el tamaño, estructura, contenido y proporciones celulares, dados al momento del desarrollo, desde polinización hasta formación del fruto. Tal variación se relaciona con diferencias en los requerimientos para germinar y en el rompimiento de la latencia (Baskin y Baskin, 2001). Por ello, tener en cuenta los caracteres de largo, ancho y peso es de gran importancia, ya que el tamaño de la semilla influye en el vigor de las plántulas, el cual juega un papel en su sobrevivencia (Moegenburg, 1996; Iglesias y Y. Tivo, 2006). Según Leishmann *et al.* (2000), la supervivencia de plántulas está directamente relacionada con el tamaño de la semilla.

Por otro lado, la variación en la coloración del fruto y semillas es distinta, mientras García (2007), describe el fruto como un color negro y en su interior una semilla parda, aquí se describe en color verde oscuro y una semilla blanca mate. Debeajun *et al.* (2002) mencionan que el color de las semillas está correlacionado positivamente con los componentes fenólicos y distribución de los pigmentos en la cubierta seminal.

Según Oliveira *et al.* (2009) este tipo de estudios relacionados con las características anatómicas, morfológicas, dimensiones y peso de las semillas de especies forestales, juegan un papel importante para la determinación de la viabilidad, germinación, comportamiento y adaptación de las especies en diferentes ecosistemas, para su conservación, uso en viveros y silvicultura.

## **b) Humedad y viabilidad**

Las semillas de *L. arborea* presentaron un alto porcentaje de humedad al inicio del experimento (78.7%). Sin embargo, este atributo fisiológico disminuyó después de los 12 meses de almacenamiento alcanzando un porcentaje de 11.94%. Por lo que realizar este tipo de pruebas es de gran importancia, principalmente para establecer programas de conservación *ex situ*, donde se deben considerar las características fisiológicas y de vulnerabilidad a la desecación, tomando en cuenta la clasificación de las semillas. Roberts (1973), clasifica a las semillas en: ortodoxas o "tolerantes" a la deshidratación y recalcitrantes o "susceptibles" a la deshidratación. De acuerdo a este autor, las semillas de *Licania arborea* estarían en la clasificación de recalcitrantes debido a la pérdida de humedad que presentan durante el almacenamiento. Por otro lado, las semillas recalcitrantes son aquellas que no toleran deshidrataciones por debajo de un contenido de humedad (CH) relativamente alto (12-31%) y por lo tanto no pueden ser conservadas en bancos de germoplasma a largo plazo. Ellis *et al.* (1991), agregan la clasificación de semillas intermedias, modificando la clasificación de la semilla de *Licania arborea*, debido a que el tiempo de humedad aún prevalece durante un año por arriba de 7-10%. Sin embargo, el CH que pueden contener las semillas de esta categoría puede variar considerablemente (Hong *et al.*, 1998; Pritchard, 2004; Carvalho *et al.*, 2006; José *et al.*, 2007). Comparando con varios autores se ha sugerido que

semillas frescas con contenido de humedad menor al 15% serían probablemente ortodoxas (Hong *et al.*, 1998; Muñoz *et al.*, 2009; Razanameharizaka *et al.*, 2006). Dentro de los problemas que presenta las semillas recalcitrantes e intermedias presentan es una dependencia de la tolerancia a la deshidratación debido a bajas concentraciones de azúcares solubles y proteínas oleosinas que estabilizan los cuerpos grasos en semillas (Leprince *et al.*, 1993; Guilloteau *et al.*, 2003); como ocurre en *Licania arborea*, que de acuerdo a Palacios (2006), es una semilla con grandes cantidades de aceite, colocándola como una especie oleaginosa. Además la tasa de pérdida de agua también presenta relación con el grosor de las cubiertas de la semilla (Chacón y Bustamante, 2001) de modo que semillas con cubiertas rotas o delgadas se desecan más rápidamente (Mwang'Ingo *et al.*, 2004).

El análisis de tetrazolio a los cero meses presentó 90% de viabilidad; sin embargo, las semillas presentaron una disminución a 1% a los 12 meses de almacenamiento. La prueba de tetrazolio se destaca por su velocidad, ya que los resultados se pueden obtener en aproximadamente 24 h, y su fiabilidad se ha probado en la evaluación de la calidad de semillas de especies forestales (Alzugaray *et al.*, 2006; Abbade y Takaki, 2014). Bidwell (2002) menciona que el envejecimiento es un factor que generalmente disminuye la viabilidad en las semillas, y es de suma importancia conocer para determinar el periodo de tiempo en el que conservan su capacidad para germinar. La disminución de la viabilidad de la semillas de *Licania arborea*, se debe principalmente al almacenamiento que juega un papel importante sobre este atributo, mostrando una pérdida porcentual conforme avanza el tiempo. Por lo que es importante establecer métodos para la conservación para especies con potencial para reforestación productiva en zonas degradadas de selva (Ríos-García *et al.*, 2016).

Por otro lado, Rao *et al.* (2007) mencionan que el ensayo de viabilidad muestra la capacidad que tienen las semillas para germinar en sus condiciones ambientales favorables. Por lo que este tipo de estudio favorece el establecimiento de periodos de almacenamiento para futuras accesiones en bancos de germoplasma. Principalmente aquellas regiones débilmente coloreadas en algunas partes del embrión, que nos

indicarán que las células presentan una disminuida actividad respiratoria y, por consiguiente, menor actividad de enzimas deshidrogenasas (Rao *et al.*, 2007; Rodríguez *et al.*, 2008). Esto pudo observarse en las pruebas topológicas de semillas, que muestran tres tipos de semillas, las inviables que no se tiñeron, las viables que se tiñeron y las dudosas con tinción parcial.

Para comprender mejor el proceso que ocurre durante la maduración y el almacenamiento, se deben comprender ciertos procesos bioquímicos relacionados a diversos factores importantes en la pérdida de la viabilidad de semillas, uno de ellos es el estrés oxidativo (Kermode y Finch-Savage, 2002; Pukacka y Ratajczak, 2005; Dussert *et al.*, 2006). De acuerdo a Hendry *et al.*, (1992) esto se da por la disminución en las actividades de las enzimas antioxidantes que están directamente asociadas con la pérdida de viabilidad. El nivel del ácido ascórbico es incapaz de prevenir o retrasar el daño oxidativo inducido por la deshidratación. Caso contrario con semillas ortodoxas, donde los sistemas antioxidantes de la ruta del ácido ascórbico-glutatiión tienen un papel importante en la disminución del daño celular durante el desarrollo y germinación (Vertucci y Farrant, 1995; Tomassi *et al.*, 2006), eliminando los radicales libres de oxígeno (RLO) generados en estas condiciones.

Otro factor importantes es el ácido abscísico (ABA), que influye en la síntesis de varias clases de proteínas implicadas en la adquisición del estado latente y la tolerancia a la deshidratación, promoviendo testas delgadas o gruesas (Bewley y Black, 1994; Berjak y Pammenter, 2004). Haciendo a las semillas más susceptibles a la deshidratación, provocando una disminución en la viabilidad.

### **c) Conductividad eléctrica**

El análisis de conductividad eléctrica en semillas almacenadas a distintos tiempos de almacenamientos nos permitió conocer la variabilidad que presenta este atributo. De acuerdo a Soto-Gonzales y Valiengo-Valeri, (2011), el determinar la calidad fisiológica de lotes de semillas de una especie en un periodo de corto tiempo se torna práctico y

económico para pruebas de vigor en condiciones de laboratorio, y tiene ventajas de facilitar la selección entre lotes de semillas con diferente potencial fisiológico.

Esta prueba como herramienta de calidad de semillas, evalúa indirectamente el grado de estructuración de las membranas celulares, mediante la determinación de la cantidad de iones lixiviados en la solución de imbibición (Marcos-Filho *et al.*, 1987). La prueba de la conductividad eléctrica ha sido propuesta como un ensayo para evaluar el vigor de las semillas, considerando que semillas con bajo vigor generalmente presentan menor velocidad de restaurar la integridad y reorganización de las membranas celulares (Rosa *et al.*, 2000; Soto-Gonzales y Valiengo-Valeri, 2011), como consecuencia de una menor estructura y selectividad de las membranas celulares, las semillas de menor potencial fisiológico liberan mayor concentración de iones lixiviados; en el ensayo pudimos notar que las semillas con mayor tiempo de almacenamiento presentan un valor mayor de CE lo que indica que las semillas entre más tiempo tengan de almacenamiento, la degradación de sus membranas es más evidente, por lo consiguiente tienen menor vigor que una semilla recién colectada.

Ante todo esto la Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA, por sus siglas en inglés) solo acepta tres métodos rápidos de evaluación de la viabilidad como oficiales: la escisión del embrión, el ensayo topográfico de tetrazolio y el método de rayos X (ISTA, 2010), dejando a un lado el análisis por conductividad eléctrica, sin embargo podemos decir que la prueba de conductividad eléctrica tiene la ventaja de simplicidad y rapidez y reúne los requerimientos de una buena prueba de vigor (Hampton y Coolbear, 1990). En *Licania arborea* la prueba de conductividad eléctrica mantuvo relación con la prueba de germinación, de acuerdo a Soto-Gonzales y Valiengo-Valeri (2011), lo ideal es que ambas pruebas mantengan estrecha correlación.

#### **d) Imbibición**

La imbibición de semillas mostró un incremento en los distintos tiempos, principalmente durante las primeras 16 h de estar expuestas al agua, lo cual corresponde a la primera

etapa de la germinación; Bewley (1997) y Sánchez *et al.* (2001) mencionan que las semillas en la fase I, la más corta en tiempo, absorben rápidamente agua, inician la respiración, y se lleva a cabo la reparación del material genético y de las mitocondrias e inicia la síntesis de proteínas a partir de mensajeros preformados.

Por otro lado la imbibición fue mayor conforme se aumentó el tiempo de almacenamiento de la semilla, esto debido a que la absorción de agua por parte de la semilla se da con más facilidad en aquellas que están secas, además de no importar si ésta se encuentra viable o no (Azcón-Bieto y Talon, 2003), debido a que la absorción de agua por parte de la semilla está directamente influenciada por la presencia de la testa y la permeabilidad que ésta tenga (Moreno *et al.*, 2006), además las semillas que están más tiempo sumergidas en agua, imbiben más agua y por consiguiente aumenta la tasa de imbibición, para finalmente mantenerse (Méndez-Natera *et al.*, 2008).

### **e) Germinación**

La germinación de semillas de *Licania arborea* se da entre los 27 y 30 días después de la siembra y culmina aproximadamente a los 84 días, Gómez-Restrepo y Toro-Murillo (2009), mencionan que la germinación de *L. cabreræ* inicia entre 88 y 96 días después de la siembra y se completa un mes más tarde, a pesar de ser especies pertenecientes al mismo género, las diferencias en su germinación son notorias. Sin embargo, *L. arborea* presenta dificultades para germinar, debido a una rápida pudrición de la semilla de acuerdo a García (2007), lo que podría ser uno de los factores para establecer un manejo de la especie.

Para iniciar, las semillas fueron expuestas a diversos tiempos de almacenamiento, mostrando en todos los casos se presenta una disminución del porcentaje final, principalmente en semillas almacenadas a partir del tercer mes. Orantes-García y Moreno-Moreno (2013) mencionan que el envejecimiento de las semillas tiene como consecuencia una declinación en la capacidad de germinación, además que las condiciones de germinación juegan un papel importante en la capacidad germinativa de las semillas, la cual se ve reflejada en la variación de las variables del proceso

germinativo de la especie, como lo es el tiempo promedio de germinación, velocidad de germinación, coeficiente de germinación, índice de germinación, etc., que en los tres ensayos de germinación muestran un valor menor con el aumento del tiempo, como factor de la disminución de este atributo fisiológico.

Por otro lado, en los ensayos de germinación, encontramos que Arriaga *et al.* (1994) consideran que en condiciones de vivero se debe de obtener al menos 60% de semillas germinadas para considerar como aceptable la producción de plántulas. En este caso las semillas de *Licania arborea* se encontraron por debajo de este límite con un 55% a los cero meses de almacenamiento, lo cual disminuyó durante los primeros seis meses. En las condiciones *in situ*, con semillas del mismo lote de semillas, las especies mostraron menor porcentaje de germinación con relación al vivero con 15%, 10% y 5% durante los cero, tres y seis meses de almacenamiento, esta disminución comparada con las condiciones en vivero pueden deberse básicamente a la depredación por la fauna silvestre o atacadas por hongos, disminuyendo así la cantidad final de semillas (Pérez-Hernández *et al.*, 2011). En este sentido, Martínez-Ramos (1994) y Jordano *et al.* (2002) argumentan que la depredación es la causa principal de la disminución del número final de semillas que germinan en condiciones naturales, la cual puede ser por hormigas.

Además, las condiciones de un vivero son muy heterogéneas y variables, al igual que *in situ*. De acuerdo a Hartmann y Kester (2001) la temperatura y el tiempo son variables que influyen en la germinación de las semillas, esto lo pudimos corroborar en ambos ensayos, los cuales dependen del clima durante el periodo de realización de las pruebas de germinación, afectando negativamente y en mayor grado la evaluación de los parámetros de la germinación (Espitia *et al.*, 2016); además de factores que no se pueden controlar, como microorganismos, caso contrario en laboratorio, que posee condiciones controladas. Por otro lado, el uso de medios en condiciones controladas *in vitro* garantizan la presencia nutritiva y la permanencia de variables ambientales homogéneas, además que proporcionan las condiciones para una buena germinación (Arteca, 1996) lo cual ocurrió en el trabajo, ya que las semillas puestas a germinar en el

medio ms y a condiciones controladas mostraron un elevado índice de germinación, siendo mayor a los ceros meses con 70%, manteniéndose hasta los doce meses con 5%, además que al añadir antifúngicos, se garantiza la eliminación de patógenos como los mencionados por Ríos-García et al., (2017), que corresponden a *Neurospora pannonica*, *Neurospora saitoi* y *Penicillium ludwigii*.

A todo esto, la evaluación de ensayos para la germinación permite conocer la capacidad germinativa de un lote para su almacenamiento en un banco de germoplasma, además que servirá para evaluar la metodología de propagación y su adecuación para cada especie en particular. Por lo que debemos considerar la importancia de los ensayos y protocolos de germinación que de acuerdo a Navarro, (2014), ya que nos permiten conocer si las semillas guardadas presentan latencia, de qué tipo y cómo romperla, para saber cómo proceder para hacerlas germinar cuando sea necesario, permiten conocer mejor la fenología y ecología de una especie, además de facilitar la obtención de plántulas para su propagación en vivero.

Además, la evaluación de los ensayos de germinación en *Licania arborea*, permitirá la elección de métodos adecuados para la aplicación en la silvicultura; una estrategia con gran potencial para la obtención de productos forestales deseados (como maderas, leñas, semillas, cortezas) (Santillán, 1986). Existen diversos beneficios indirectos, tales como el evitar o corregir la erosión del suelo, regular el caudal de los manantiales, impedir la formación de aludes, fijar las arenas en movimiento, atenuar el efecto de los vientos, regular el microclima, acondicionar lugares de esparcimiento y mejorar la calidad de los suelos (Santillán, 1986). Este tipo de prácticas fomentan el cuidado del ambiente y de sus poblaciones que estarán establecidas en el medio. Si bien la silvicultura significa cultivar las masas forestales de manera semejante a las que realiza un hortelano o un agricultor en su parcela, tiene la diferencia de que los productos forestales se obtienen a un plazo más largo, por lo que es necesario hacer consideraciones muy cuidadosas. Teniendo una gran capacidad de espera, aunque con una retribución económica (Hernández-Ramírez, s/a).

De acuerdo a los tratamientos realizados, podemos decir que el tratamiento más adecuado para la propagación de semillas de *Licania arborea*, resulta ser el de *in vitro*, debido a que alcanza un mayor porcentaje de germinación comparado con el resto de los ensayos, en el análisis de varianza las diferencias significativas son evidentes ( $F=10.76$ ,  $p=0.0002$ ), además de que la prueba de Tukey muestra este ensayo como el más óptimo, coincidiendo con Arteca (1996), por lo que comprobamos que la hipótesis es aceptada.

#### **f) Proceso fenológico de plántulas de *Licania arborea***

En el desarrollo de plántulas de *Licania arborea*, se encontró que esta tiene una germinación de tipo hipogea, al igual que lo descrito por Gómez Restrepo y Toro Murillo (2009), con *Licania cabreræ*, una especie del mismo género, que al igual que *L. arborea* presenta germinación hipogea, sin embargo solo *L. cabreræ* presenta gran resistencia a patógenos, donde hasta el momento no se han observado ataques de plagas ni enfermedades (Idem).

Las plántulas presentaron aparición de las primeras hojas verdaderas a los 48 días después de la siembra. De acuerdo a Aguilera (1996), el estado de plántula queda delimitado entre los 35 y 40 días después de la siembra, con lo anterior podemos decir que a partir de la evaluación de 60 días en *Licania arborea* y por las características en su desarrollo que presenta, nos permite considerarla como una plántula, ya que en este tiempo se detiene el alargamiento del tallo y se da el crecimiento en grosor, esto le permite obtener un alto porcentaje de supervivencia (Arriaga *et al.*, 1994; Pereyra y Fredericksen, 2002), además las raíces ayudan ya que hay un alargamiento de estas, aparición de adventicias, promoviendo mayor captación de agua y nutrientes (Mundarain *et al.*, 2005).

Por otro lado evaluar la fenología de las primeras etapas del crecimiento y desarrollo de plántulas permite conocer las principales estructuras desarrolladas y el tiempo aproximado en el que suceden. La escala BBCH es un sistema para una codificación uniforme de identificación fenológica de estadios de crecimiento para todas las especies

de plantas mono - y dicotiledóneas. En el caso de la escala BBCH, la descripción de un estadio de crecimiento está basada en las características principales de una planta individual (Hack *et al.*, 1992). Sin embargo esta escala es ampliamente utilizada para cultivos agrícolas, por el tiempo que suceden los fenómenos de germinación, crecimiento, reproducción y muerte. González-Esquinca *et al.*, (2016) realizaron un estudio fenológico con esta escala en cuatro especies de Anonas (Annonaceae), especies maderables, con la finalidad de describir y clasificar los cambios fenológicos y morfológicos para la comprensión de los ciclos de vida de estas especies de árboles. Por lo que aquí nos damos cuenta que esta escala se puede ampliar más allá de la agricultura, empleándose en el área forestal, como una herramienta de trabajo en la fenología de árboles.

## X. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se analizaron aspectos importantes de la morfofisiología de semillas donde encontramos la morfología y alometría, la viabilidad, humedad, el vigor de semillas mediante la evaluación de conductividad eléctrica e imbibición, con el fin de establecer estrategias de propagación sexual (*in vitro*, *in situ* y vivero) evaluando la capacidad germinativa de las semillas y el proceso fenológico de las plántulas, como alternativa de conservación de la especie, llegando a las siguientes conclusiones:

- Las semillas de *Licania arborea*, alcanzan un promedio de longitud de 23.79 mm, 13.11 mm de ancho y 2.28 g de peso; la cual contrasta con las mediciones de Centroamérica, donde las semillas tienen un mayor tamaño, lo que indica que las condiciones ambientales de cada sitio determinan este atributo, además de la coloración tanto de la semillas como del fruto.
- De acuerdo al análisis ISTA, el peso de 1000 semillas corresponde a 2271 g, un kilo es igual a 612 semillas, lo que nos sugiere que realizar cálculos matemáticos para la determinación de este valor resulta confiable y más rápido.
- La humedad de las semillas disminuye a partir del tercer mes de almacenamiento, hasta alcanzar los 12 meses, lo cual nos permite clasificar a las semillas como intermedias, ya que a pesar del tiempo de almacenamiento aun presentan una humedad arriba del 10%, por otro lado el porcentaje de viabilidad de las semillas a los cero meses de almacenamiento fue de 90% y este disminuyó a 1% a los doce meses, este conocimiento es importante en el ámbito de la conservación de germoplasma, principalmente para especies en peligro de extinción o la reforestación de comunidades perturbadas.
- Existe una relación positiva entre el envejecimiento y la conductividad eléctrica (CE), presentándose un mayor valor de CE en semillas con mayor tiempo de almacenamiento, caso contrario con las de menor tiempo de almacenamiento.

- La prueba de conductividad eléctrica puede ser considerada como una prueba rápida y no invasiva para determinar la viabilidad de semillas de *Licania arborea*
- El incremento del peso en la imbibición de semillas es mayor en aquellas que tienen 12 meses de almacenamiento, mientras que las semillas más jóvenes tienen menor aumento en su peso final.
- El ensayo *in vitro*, presentó mayor porcentaje de germinación a los cero meses de almacenamiento con un 70%, y se mantuvo hasta los 12 meses con 5% de germinación final, lo que nos indica que las condiciones controladas permiten un mayor éxito en la capacidad germinativa y cantidad de plántulas, por lo que se sugiere que este tipo de propagación sea la adecuada y óptima para la propagación de la especie.
- Las plántulas de *Licania arborea* presentan un crecimiento a partir de los 15 días después de la emergencia de la radícula, las hojas verdaderas aparecen a los 20 días y a partir de los 45 días hay un incremento en el grosor del tallo, tiempo en el cual se pueden utilizar para trasplante.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Es recomendable realizar estudios sobre criopreservación de semillas, para evaluar la factibilidad de este procedimiento en periodos de almacenamiento.
2. Establecer rodales semilleros *in situ* en el área de colecta de las semillas, como una estrategia factible de colección viva (Banco de germoplasma vivo).
3. Evaluar la reproducción asexual por estacas o esquejes como ensayo para la propagación de *Licania arborea*.
4. Evaluar la supervivencia de plántulas y semillas *in situ* como estrategia para la conservación de las poblaciones silvestres de *Licania arborea*.

## XII. LITERATURA CITADA

- Abbade, L.C. y Takaki, M. 2014. Teste de tetrazolio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sandwith - Bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. *Revista Árvore* 38: 233-240.
- Abdul-Baki, A.A. 1980. Biochemical aspects of seed vigor. *HortScience* 15 (6): 765- 771 pp.
- Aguilera, J. 1996. Efecto de edad de transplante en tres selecciones de Ají dulce. Tesis de Posgrado. Escuela de Ingeniería Agronómica. Universidad de Oriente. Jusepín. 200 pp.
- Agustín-Sandoval, W.G., Espinosa-Zaragoza, S., Avendaño-Arrazate, C.H., Reyes-Reyes, A.L., Ramírez-González, S.I., López-Baez, O., Andrade-Rodríguez, M. y Rangel-Zaragoza, J.L. 2017. Calidad de Semillas de primavera (*Roseodendron donnell-smithii* Miranda syn *Tabebuia donnell-smithii* Rose). *Agroproductividad*. 3 (10): 81-86.
- Alonso, O., Delgado, A., Sánchez, S. 1996. Hongos asociados a las semillas de una leguminosa tropical (*Leucaena leucocephala* CV. Perú). *Pastos y forrajes*. 2 (19): 8.
- Alzugaray, C., Carnevale, N.J., Salinas, A.R. y Pioli, R. 2006. Calidad de semillas de *Aspidosperma quebracho-blanco* Schltr. *Quebracho*. 13: 26-35.
- AOSA (Association of Official Seed Analysts, US). 1983. Seed vigour testing handbook. Lincoln, USA. AOSA. 88 pp.
- Angiosperm Phylogeny Group (A.P.G.) 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Bot. Journal Linnean Society*. 181: 1-20.
- Arguedas, M. y Torres, G. 1996. Problemas fitosanitarios en semillas forestales. No. 11. ITCR-CIT. Cartago. 8 pp.
- Arriaga, M.V., Cervantes, V.G. y Vargas-Mena, A. 1994. Manual de reforestación con especies nativas: colecta y preservación de semillas, propagación y manejo de plantas. 1ª edición. Instituto Nacional de Ecología, SEDESOL, UNAM. México, D.F. 179 pp.

- Arteca, R. 1996. Plant growth substances. Principles and Applications. Editorial Chapman and Hall. New York, U.S.A. 331 pp.
- Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 2003. Fundamentos de Fisiología Vegetal McGrawHill/Interamericana. Barcelona, España. 522 pp.
- Baskin, C.C. y Baskin, J.M. 2001. Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. San Diego, CA: Academic Press. 666 pp.
- Berjak, P. and Pammenter, N. 2004. Recalcitrant seeds. En: Benech-Arnold, R. and Sánchez, R. (eds.). Handbook of seed physiology. Food Products Press, New York. 305-345 pp.
- Berjak, P. y Pammenter, N.W. 2010. Semillas ortodoxas y recalcitrantes. En: Vozzo, J.A. Manual de semillas de árboles tropicales. Departamento de agricultura de los Estados Unidos, servicio forestal. Estados Unidos. 143-155 pp.
- Bewley, J.D. and Black M. 1994. Seeds: physiology of development and germination. Plenum Press, New York. 445 pp.
- Bewley, J. D. 1997. Seed germination and dormancy. Plant Cell. 9:1055-1066
- Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009. Cacahuananche. México. [En línea] <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7299> [Consulta: 13/Septiembre/2014].
- Bidwell, R.G.S., 2002. Fisiología vegetal. AGT Editores, S.A. México, DF. 784 pp.
- Carpio-Malavassi, I.M., 2003. Maderas de Costa Rica: 150 especies forestales. Editorial Universidad de Costa Rica, Costa Rica, 340 pp.
- Carvalho, R.T., Da Silva, E.A. y Davide, A.C. 2006. Storage behaviour of forest seeds. Rev. Bras. Sementes 28: 15-25 pp.
- Castro-Soto, G. 2010. Los impactos ecológicos en Chiapas. Otros mundos A.C. Amigos de la Tierra México. San Cristóbal de las Casas, Chiapas; México. 3 pp.
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 1980. Semilla de frijol de buena calidad. 2ª edición. Centro internacional de Agricultura Tropical. Calí, Colombia. 37 pp.

- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).1983. Desarrollo y morfología de la semilla. Guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad Audiotutorial sobre el mismo tema. Cali, Colombia. CIAT. 32 pp.
- Chacón, P. and Bustamante, R.O. 2001. The effects of seed size and pericarp on seedling recruitment and biomass in *Cryptocarya alba* (Lauraceae) under two contrasting moisture regimes. *Vegetatio* 152 (2): 137-144.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. 2007. Programa de atención a incendios forestales en las Reservas de la Biosfera el Ocote, la Encrucijada y la Sepultura en Chiapas. 115 pp (PDF) [En Línea] [http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/infFR001\\_7a\\_parte.pdf](http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/infFR001_7a_parte.pdf). (Consulta: 20 Febrero 2015).
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 2016. Enciclovida. CONABIO. México. [En Línea]: <http://enciclovida.mx/inicio/acerca?tab=queEs>.
- De la Cuadra, C. 1993. Germinación, latencia y dormición de las semillas. Ed. Madrid: Instituto Nacional de Reforma y Desarrollo Agrario. España. 24 pp.
- Debeajun, I., Kloosterziel, M. and Koorneef, M. (2002). Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 122: 304-414.
- Diario Oficial de la Federación, 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres - Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio - Lista de especies en riesgo. 30 de Diciembre, 2010. México. 78 pp.
- Dirzo, R. 2001. Tropical forests. *In*: F. S. Chapin III, Sala O. E. and Huber-Sannwald, E. (eds). *Global biodiversity in a changing environment. Scenarios for the 21st century.* Ecological Studies 152. Springer. Nueva York.: 251-276.
- Donoso, C., Premoli, A., Gallo, L. y Ipinza, R. 2004. Variación interespecífica en las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Editorial Universitaria. 420 pp.
- Durán-Espinosa, C. y Lorea-Hernández, F.G. 2010. Chrysobalanaceae. Flora de Veracruz. Instituto de Ecología. Veracruz, México. 38 pp.

- Dussert, S., Davey, M.W., Laffargue, A., Doulebeau, S., Swennen, R. and Etienne, H.. 2006. Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds. *Physiology Plants*. 127: 192–204.
- Ellis, H.R., Hong, T.D. and Roberts, E.H. 1991. An intermediate category of seed storage behaviour? I Coffee. *J. Exp. Bot.* 41:1167-1174.
- Espinosa-Floresguerra, A. 2003. Propagación sexual y conservación de semilla de polialtia (*Polyalthia longifolia* (son.) Thwaites). Tesis de Licenciatura. Escuela agrícola Panamericana El zamorano. Honduras. 29 pp.
- Espitia, M., Cardona, C. y Araméndiz, H. 2016. Pruebas de germinación de semillas de forestales nativos de Cordoba, Colombia, en Laboratorio y casa-malla. *Revista U.D.C.A. actualidad & Divulgación Científica*. 19 (2): 307-315.
- Farrant, J.M., Pammenter, N.W. and Berjak, P.1993. Seed development in relation to desiccation tolerance: a comparison between desiccation sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* and desiccation tolerant types. *Seed Science Resource*. 3: 1-13.
- Flora Mesoamericana. 2010. Chrysobalanaceae. Núm. 3 (2): 41 pp [En línea] <http://www.tropicos.org/docs/meso/chrysobalanaceae.pdf>. Consultado el 13/septiembre/2014.
- FORTAM, 1984. Jiquipilas: Diagnostico Municipal. Gobierno del Estado de Chiapas, Tuxtla Gutiérrez. 10 pp.
- Gálvez-Ramírez, C. 2013. Almacenamiento de semillas. En: Sánchez-Lancha, A. 2013. Material vegetal de reproducción: Manejo, conservación y tratamiento. España: 131- 148 pp.
- García, E. 2004. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Serie Libros (Obra general) UNAM. México. 90 pp.
- García, E.G. 2007. Estudio de la germinación y desarrollo de plántulas de especies forestales del bosque seco de Costa Rica. Informe final proyecto de investigación. Universidad de Costa Rica. 22 pp.
- Gentil, D.F.O. 2001. Conservação de sementes do cafeeiro: resultados discordantes ou complementares?. *Bragantia*. 60(3): 149-154.

- Gispert-Cruells, M., H. Rodríguez-González y A.R. González-Esquinca, 2002. Los diversos y floridos árboles de los parques de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Universidad Nacional Autónoma de México, Gobierno del estado de Chiapas, México. 102 pp.
- Gold, K., León-Lobos, P. y Way, M. 2004. Manual de recolección de semillas de plantas silvestres. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Intihuasi, La Serena, Chile. Boletín INIA N° 110. 62 pp.
- Gómez-Restrepo, M.L. y Toro-Murillo, J.L. 2009. Manejo de las semillas y la propagación de doce especies arbóreas nativas de importancia económica y ecológica: Boletín Técnico Biodiversidad. Corporación Autónoma Regional del Centro de Antioquia – Corantioquia. Medellín, Colombia. Corantioquia. Num. 4. 71 pp.
- González-Esquinca, A.R., De la Cruz-Chacón, I., Castro-Moreno, M. and Riley-Saldaña, C.A. 2016. Phenological strategies of *Annona* species from the tropical deciduous forest of Chiapas, México. Botanical Sciences. 94 (3): 531-541.
- González-Hernández, O. 2013. Germinación y longevidad de semillas de genotipos de pithaya (*Hylocereus* spp) y pitaya (*Strnocereus* spp). Tesis de maestría en Ciencias. Colegio de postgraduados. México. 94 pp.
- González, Z.L. y Orozco, S.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.
- Guilloteau, M., M. Laloi, D. Blais, D. Crouzillat and J. McCarthy. 2003. Oil bodies in *Theobroma cacao* seeds: cloning and characterization of cDNA encoding the 15.8 and 16.9 kDa oleosins. Plant Science. 164: 597-606.
- Hack, H., Gall, H., Klemke, T.H., Klose, R., Meier, U., Stauss, R. and Witzemberger, P. 1993. Scale for phenological growth stages of potato (*Solanum tuberosum* L.). Proceedings der 12. Dreijahrestagung der Euro. Gesell. für Kartoffelforschung Paris: 153–154.
- Hampton, J.G. and Coolbear, P. 1990. Potential versus actual seed performance Can vigour Testing provide an answer?. Seed Science and Technology 18: 215-228.

- Hartmann, H. y Kester, E. D. 2001. Propagación de Plantas: principios y prácticas. CECOSA. México. D. F. 760 pp.
- Hendry, G.A.F., Finch-Savage, W.E., Thorpe, P.C., Atherkon, N.M., Buckland, S.H., Nilsson, K.A. and Seel, W.E. 1992. Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. *New Phytology*. 122: 273-299 pp.
- Hernandez-Ramírez, M. s/a. Silvicultura y manejo integral de los recursos forestales. 27 pp [En Línea]. [http://www.rivasdaniel.com/Unidad\\_III.Silvicultura.pdf](http://www.rivasdaniel.com/Unidad_III.Silvicultura.pdf).
- Herrera, J., Alizaga, R., Guevara, E. y Jiménez, V. 2006. Germinación y crecimiento de la planta. Editorial Universidad de Costa Rica. Costa Rica, San José. 113 pp.
- Hong, T., Linington, S. and Ellis, R. 1998. Compendium of Information on Seed Storage Behaviour. Botanical Royal Garden, Kew, Reino Unido. 908 pp.
- Humblebaek, D. 1993. Seed quality: Concept, measurement and methods to increase quality. Danida Forest Seed Centre. Lecture Note. 14 pp.
- Iglesias, L. y Y-Tivo, F. 2006. Caracterización morfométrica de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. Universidad Autónoma Indígena de México Mochicahui, El Fuerte, Sinaloa. *Ra Ximhai*, (2): 449-468.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. 2005. Marco Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. 9 pp. (PDF). <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/07/07046.pdf> (Consulta: 20 Febrero 2016).
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. 2010. Información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. <http://www.inegi.org.mx/> (Consulta: 20 Febrero 2016).
- International Seed Testing Association (ISTA). 2010. Reglas del ISTA. Septiembre de 2010. On line: [http://www.analisisdesemillas.com.ar/index.php?option=com\\_content&task=view&id=15&Itemid=31](http://www.analisisdesemillas.com.ar/index.php?option=com_content&task=view&id=15&Itemid=31).
- Jordano, P., Zamora, R., Marañón, T. y Arroyo, J. 2002. Claves ecológicas para la restauración del bosque mediterráneo. Aspectos demográficos, ecofisiológicos y

- genéticos. *Ecosistemas* 10 (1). [En línea]: <http://www.revistaecosistemas.net/pdfs/312.pdf>. (Consulta: 13/10/2017).
- José, A.C., Da Silva, E.A. e Davide, A.C.. 2007. Classificação fisiológica de sementes de cinco espécies florestais da mata ciliar em quanto a tolerância á dedicação y armazenamento. *Rev. Bras. Sementes* 29: 171-178.
- Kermode, A.R. and Finch-Savage, W.E. 2002. Desiccation sensitivity in orthodox and recalcitrant seeds in relation to development. In: Black, M. y H.W. Pritchard, editors. *Desiccation and survival in plants. Drying without dying*. CABI Publishing. 149-184.
- Leishmann, M.R., Wright, I.J., Moles, A.T. and Westoby, M. 2000. The evolutionary ecology of seed size. In M. Fenner (Ed.). *The Ecology of regeneration in plant communities*. London: CABI Publishing. 31-57.
- Leprince, O., Hendry, G.A. and McKersie, B.D. 1993. The mechanism of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Science Resource*. 3: 231-246.
- Liegel, L.H. and Venator, C.R., 1987. A technical guide for forest nursery management in Caribbean and Latin America. USDA. For. Ser. Southern Forest Experiment Station. Gen. Technology Rep. SO-67. 37-42.
- Lippitt, L., Fidelibus, W.M. and Bainbridge A.D. 1994. Native seed collection, processing and storage for revegetation projects in the Western United States. *Restoration Ecology*, 2: 120-131.
- Lobato-Cameselle, R. y Cidrás-Ferradás, J. 2013. Evolución vegetal: La conquista de la tierra firme. Universidad de Vigo. *Arquegoniadas*. 1-8.
- López-Ríos, G.F. 2005. *Ecofisiología de árboles*. Universidad Autónoma Chapingo. México. 480 pp.
- Maldonado-Peralta MA, García SG, García-Nava JR, Ramírez-Herrera C, Hernández-Livera A, Valdez-Carrasco JM, Torres-Corona T and Cetina-Alcalá VW. 2016. Seed viability and vigour of two nanche species (*Malpighia mexicana* and *Byrsonima crassifolia*). *Seed Science & Technology*. 44: 1-9.
- Magaña, P. y Villaseñor, J.L. 2002. La flora de México. *Revista ciencias*. México. 66: 24-26.

- Magnitskiy, S.V. y Plaza, A.G. 2007. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana*. 25: 96–103.
- Marcos-Filho, J., Cícero, S.M. e Silva, W.R.. 1987. Avaliação da qualidade das sementes. Piracicaba, San Pablo. Brasil. Fealq. 230 pp.
- Martínez-Ramos, M. 1994. Regeneración natural y diversidad de especies arbóreas en selvas húmedas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 54:179-224.
- Matilla, A.J. 2008. Desarrollo y germinación de las semillas. En: Azcón-Bieto, J. y Talón, M. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill interamericana. España. 537-558 pp.
- Mauseth, J.D. 2003. *Botany and Introduction to plant Biology*. 3 era Edición. Massachusetts. 862 pp.
- Méndez-Natera, J.R., Merazo-Pinto, J.F., Montañó-Mata, N.J. 2008. Relación entre la tasa de imbibición y el porcentaje de germinación en semillas de maíz (*Zea mays* L.), Caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y Quinchoncho (*Cajanus cajan* (L.) Mill.). *Revista UDO agrícola* 8 (1): 61-66.
- Miranda, F. y Hernández-X., E. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la sociedad Botánica de México*. 29-176.
- Miranda, F. 1952. *La vegetación de Chiapas*, 1ª edición. Edit. Consejo Estatal para la Cultura y las Artes de Chiapas. México. 596 pp.
- Miranda, F. 2015. *La vegetación de Chiapas*, 4ª edición. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. México. 596 pp.
- Moegenburg, S.M. 1996. Sabal palmetto seed size-causes of variation, choices of predators, and consequences for seedlings. *Oecologia*. 106: 539-543.
- Moreno, F., Plaza, G.A. y Magnitskiy, S.V. 2006. Efecto de la testa sobre la germinación de semillas de caucho (*Hevea brasiliensis* Muell.). *Agronomía Colombiana* 24: 290-295 pp.
- Mostacedo, B. y Fredericksen, T. 2000. *Manual de métodos básicos de muestreo y análisis en ecología vegetal*. BOLFOR. Bolivia. 92 pp.
- Mundarain, S., Coa, M. y Cañizales, A. 2005. Fenología del crecimiento y desarrollo de plántulas de ají dulce (*Capsicum frutescens* L.). *Revista UDO Agrícola*. 5 (1): 62-67.

- Muñoz, B. C., Sánchez, J. A., Montejo, L. A., Gonzáles Y. y Reino, J., 2009. Valoración germinativa de 20 accesiones de leguminosas almacenadas en condiciones desfavorables. *Pastos y Forrajes* 32: 1- 15 pp.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C. and Tenover, R.H. 1995. *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. 1482 pp.
- Mwang'Ingo, P., Teklehaimanot, Z., Maliondo, S. and Msanga, H. 2004. Storage and presowing treatment of recalcitrant seeds of Africa sandalwood. *Seed Science Technology*. 32: 547-560.
- Navarro, A. 2014. ¿Por qué son importantes los ensayos y protocolos de germinación?. (En Línea). En: <https://www.uv.es/elalum/CursIVAPANavarro2.pdf>. (Consulta: 11/Octubre/2017).
- Niembro, A. 1989. *Semillas de plantas leñosas: morfología comparada*. Editorial Limusa. México. 224 pp.
- Oliveira, F.R.A., Oliveira, F.A., Guimarães, I.P., Medeiros, J.F., Oliveira, M.K.T., Freitas, A.V.L. and Medeiros, M.A. 2009. Emergency of seedlings of *Moringa oleifera* Lam irrigated with water of different levels of salinity. *Bioscience Journal*. 25 (5): 66–74.
- Orantes-García, C., Miceli-Méndez, C.L., Garrido-Ramírez, E. R., Velázquez-Méndez, A. M. y Moreno-Moreno, R. A. 2007. Cultivo y propagación de caoba, mujú y chicozapote. Colección Jaguar UNICACH. México. 45 pp.
- Orantes-García, C., Pérez-Farrera, M.A., Rioja-Paradela, T.M. y Garrido-Ramírez, E.R. 2013. Viabilidad y germinación de semillas de tres especies arbóreas nativas de la selva tropical, Chiapas, México. *Polibotánica*. 36: 117-127.
- Orantes-García, C. y Moreno-Moreno, R.A. 2013. Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad de las semillas de *Tabebuia rosea* (Bertol) DC. Y *Tabebuia donnell-smithii* Rose (Bignoniaceae) en Chiapas, México. *Lacandonia*. 7 (2):67-72.
- Palacios, E., 2006. Ficha técnica de *Licania arborea*. Cuarenta y ocho especies de la flora de Chiapas incluidas en el PROY-NOM-059-ECOL-2000, Instituto de historia natural y ecología, Base de datos SNIB-CONABIO, Proyecto No. W008. México, D.F. 6 pp.

- Pennington, T.D. y Sarukhán, J. 2005. Árboles tropicales de México: manual para la identificación de las principales especies. Fondo de cultura económica. México. 523 pp.
- Pereyra, M.M. y Fredericksen, S.T. 2002. Regeneración por semilla de especies maderables en áreas de aprovechamiento forestal en un bosque húmedo tropical en Bolivia. Documento Técnico. Objetivo Estratégico de Medio Ambiente (USAID/Bolivia). 16 pp.
- Pérez, E., Ramírez, R., Núñez, H. y Ochoa, N. 1999. Introducción al cultivo de tejidos vegetales. Editorial Universidad Autónoma de Aguascalientes. México. 179 pp.
- Pérez-García, F. y Pita-Villamil, J.M. 2001. Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Madrid, España. 16 pp.
- Pérez-Hernández, I., Ochoa-Gaona, S., Vargas-simón, G. Mendoza-Carranza, M. y Gonzalez-Valdivia, N.A. 2011. Germinación y supervivencia de seis especies nativas de un bosque tropical de Tabasco, México. Madera y bosques. 12 (1): 71-91 pp.
- Pierik, R.L.M. 1990. Cultivo *in vitro* de las Plantas Superiores. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 326 pp.
- Pita-Villamil, J.M. y Pérez-García, F. 1998. Germinación de semillas. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación. Madrid, España. 20 pp.
- Poulsen, M.K. 2000. Técnicas para la germinación de semillas forestales. Centro agronómico tropical de investigación y enseñanza (CATIE). Proyectos de semillas forestales. Turrialba, Costa Rica. 54 pp.
- Prance, G.T. 1972. Chrysobalanaceae. Flora Neotropica. Hafner Publishing Company, Inc. New York. 9: 410.
- Prance, G.T. 2001. Chrysobalanaceae. In: W.D. Stevens, C. Ulloa U., A. Pool & O.M. Montiel. Flora de Nicaragua. Monography Systematic Botany. 85: 606-614.
- Pritchard, H. 2004. Classification of seed storage types for ex situ conservation in relation to temperature and moisture, In: Guerrant, E.O., Havens, K. & Maunder, M. (eds.). *Ex situ* plant conservation: supporting species survival in the wild. Island, Washington, EEUU. 139-161.

- Pukacka, S. and Ratajczak, E. 2005. Antioxidative response of ascorbate glutathione pathway enzymes and metabolites to desiccation of recalcitrant *Acer saccharinum* seeds. *Journal Plant Physiol.* 163: 1259–1266.
- Ramírez-González, A. 2006. *Ecología: métodos de muestreo y análisis de poblaciones y comunidades.* Editorial Pontificia universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 271 pp.
- Ramírez-Morales, S.V. y Orozco-Cardona, A.F. 2010. Maduración del fruto y morfometría de semillas de *Genipa americana* L. en el departamento del Quindío. *Revista de investigación de la Universidad de Quindío, Colombia* (21): 73-81 pp.
- Ramos, A. J. E. 2012. *Avances de la micropropagación in vitro de plantas leñosas.* Tesis de Licenciatura. Universidad Abierta y a Distancia (UNAD). Bogotá, Colombia. 71 pp.
- Rao, N.K., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Novell, D. y Larinde, M. 2007. *Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma.* Bioersivity International. No. 8. Roma, Italia. 165 pp.
- Razanameharizaka, J., Grouzis, M., Ravelomanana, D. and Danthu, P., 2006. Seed storage behaviour and seed germination in African and Malagasy baobabs (*Adansonia species*). *Seed Science Research* 16: 83- 88.
- Ríos-de León, N.C. 2016. *Germinación in vitro de Guaiacum sanctum* L. (Zygophyllaceae) como alternativa de conservación y aprovechamiento sustentable. Tesis de Licenciatura. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. 79 pp.
- Ríos-García, C.A., Orantes-García, C. y Sánchez-Cortés, MS. 2014. Aprovechamiento del árbol tropical *Licania arborea* Seem (Chrysobalanaceae) en una comunidad campesina de Chiapas, México. *Revista iberoamericana de ciencias.* 6 (1): 27-31.
- Ríos-García, C.A., Orantes-García, C., Moreno-Moreno, R.A. y Farrera-Sarmiento, O. 2016. Viabilidad y germinación de semillas de jopi (*Ochroma pyramidale* (Cav.exLam.)Urb.) (Malvaceae). *Lacandonia.* 2 (10):7-11.

- Ríos-García, C.A., Orantes-García, C., Garrido-Ramírez, E.R. y Verdugo-Valdez, A.G. 2017. Hongos asociados a la germinación de *Licania arborea*, árbol tropical amenazado. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 35: 127.
- Roberts, E. H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science Technology*. 1:499-514 pp.
- Roca, W. y Mroginski, L.A. 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. 1a. ed. Editorial CIAT. Colombia. 970 pp.
- Rodríguez, I., Adam, G. y Durán, J.M. 2008. Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas. *Agricultura* 912: 836-842.
- Rodríguez-Laguna, R. 2010. Manual de prácticas de viveros forestales. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. México. 51 pp.
- Rosa, S.D.V.F., Pinho, E.V.R.V., Vieira, M.G.G.C. e Veiga, RD. 2000. Eficácia do teste de condutividade elétrica para uso em estudos de danos de secagem em sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes* 22(1): 54-63.
- Rossi, L. 2003. Cultivo *in vitro*. Fotosíntesis reseña histórica. Consultado el 26/05/15. [www.upch.edu.pe/facien/fc/dcbf/bioaplicada/CULTIVO%20IN%20VITRO.ppt](http://www.upch.edu.pe/facien/fc/dcbf/bioaplicada/CULTIVO%20IN%20VITRO.ppt).
- Rost, T.L., Barbour, M.G., Stocking, C.R. and Murphy, T.M. 1997. *Plant biology*. Belmont, California, USA: Wadsworth Publishing Company. 537 pp.
- Sánchez, J. A.; Orta, B. R. y Muñoz, C. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agronomía Costarricense*. 25 (1): 67-91 pp.
- Sandoval, A. 2000. Semillas de árboles forestales. En: Espinosa-Floresguerra, A. 2003. Propagación sexual y conservación de semilla de polialtia (*Polyalthia longifolia* pendula). Tesis de Licenciatura. Escuela agrícola Panamericana El zamorano. Honduras. 29 pp.
- Santillán, P.J. 1986. *Elementos de Dasonomía*. DICIFO. UACH. México. 348 pp.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2001. Programa de manejo de la Reserva de la Biosfera Selva El Ocote. SEMARNAT. México. 152 pp.
- Seemann, B.C. 1853. *The Botany of the Voyage of H.M.S. Lovell Reeve*. London. 1852-1857 pp.

- Shapiro, S.S. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52 (3-4): pp. 591–611. Disponible en <http://sci2s.ugr.es/keel/pdf/algorithm/articulo/shapiro1965.pdf>. Visitado 03 enero 2018.
- Smith, R. 2011. *Plant tissue culture: techniques and experiments*. Thorpe ed. Amsterdam. 32 pp.
- Soto-Gonzales, J.L. y Valiengo-Valeri, S. 2011. Prueba de la conductividad eléctrica en la evaluación fisiológica de la calidad de semillas en *Zeyheria tuberculos*. *BOSQUE* 32(2): 197-202 pp.
- Stewart, W.N. and Rothwell, G.W. 1993. *Paleobotany and the evolution of plants*, 2a ed. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 521 pp.
- Suárez, D. y Melgarejo, L.M. 2010. Biología y germinación de semillas. In: Melgarejo, L.M. *Experiments in plant physiology*. First edition. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 13-24 pp.
- Takhtajan, A. 2009. *Flowering plants*. Springer Science & Business Media. Rusia. 871 pp.
- Tommasi, F., Paciolla, C., de Pinto, M.C. and de Gara, L. 2006. Effects of storage temperature on viability, germination and antioxidant metabolism in *Ginkgo biloba* L. seeds. *Plant Physiology Biochemistry*. 44, 359-368.
- Trujillo, E. 1995. *Manejo de semillas forestales: Guía técnica para el extensionista forestal*. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 52 pp.
- Valdés-Rodríguez, O.A., Sánchez-Sánchez, O., Pérez-Vázquez, A. y Zavala-Del-Ángel, I. 2013. Alometría de semillas de *Jatropha curcas* L. mexicanas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 5: 967-978 pp.
- Vertucci, C. and Farrant, J. 1995. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: Kigel, J. y G. Galilli (eds.). *Seed development and germination*. Marcel Dekker, New York. 237-271 pp.
- Viana, V.M., Tabanez, A.J. and Batista, L.F.J. 1997. Dynamics and restoration of forest fragments in the Brazilian Atlantic Moist Forest. In: W.F. Laurance y R.O. Bierregaard, eds. *Tropical forest remnants. Ecology, management and*

- conservation of fragmented communities. University of Chicago Press. Chicago. 351-365.
- Walters, C. 2004. Principles for preserving germplasm in gene Banks. In: Guerrant, E.O., Havens, K. & Maunder, M. (eds.). *Ex situ* plant conservation: supporting species survival in the wild. Island, Washington, EEUU. 113-138 pp.
- Werker, E. 1997. Seed anatomy. Encyclopedia of plant anatomy. Tomo X. Gebrüder. Borntraeger, Berlín. 424 pp.
- Wightman, K.E., Cornelius, J.P. y Ugarte-Guerra, L.J. 2006. Manual sobre el establecimiento, manejo y aprovechamiento de plantaciones maderables para productores de la Amazonía peruana. World Agroforestry Centre (ICRAF). Perú. 193 pp.
- Witmore, T.C. 1997. Tropical forest disturbance, disappearance, and species loss. In: W.F. Laurance y R.O. Bierregaard, eds. Tropical forest remnants. Ecology, management and conservation of fragmented communities. University of Chicago Press. Chicago. 3-12 pp.
- Zurita-Valencia, W., Gómez-Cruz, J.E., Atrián-Mendoza, E., Hernández-García, A., Granados-García, M.E., García-Magaña, J.J., Salgado-Garciglia, R. y Sánchez-Vargas, N.M. 2014. Establecimiento de un método eficiente de germinación in vitro y micropropagación del cirimo (*Tilia mexicana* Schlecht.) (Tiliaceae). Polibotánica. 38:129-144.

## XIII. ANEXOS

### Anexo 1. Guía para la descripción de semillas forestales de acuerdo a Niembro (1989).

1. La semilla de \_\_\_\_\_ se desarrolla en el interior de frutos:

- |                   |                        |
|-------------------|------------------------|
| 1.1 bayas ( )     | 1.8 sámaras ( )        |
| 1.2 drupas ( )    | 1.9 nueves ( )         |
| 1.3 pomos ( )     | 1.10 aquenios ( )      |
| 1.4 vainas ( )    | 1.11 esquizocarpos ( ) |
| 1.5 cápsulas ( )  | 1.12 conos ( )         |
| 1.6 folículos ( ) | 1.13 gálbulas ( )      |
| 1.7 silicuas ( )  | 1.14 otros             |

2. Las semillas presentan una forma:

- |                    |                     |
|--------------------|---------------------|
| 2.1 oblonga ( )    | 2.13 elipsoide ( )  |
| 2.2 elíptica ( )   | 2.14 obovoide ( )   |
| 2.3 circulas ( )   | 2.15 ovoide ( )     |
| 2.4 cuadrada ( )   | 2.16 piriforme ( )  |
| 2.5 triangular ( ) | 2.17 turbinada ( )  |
| 2.6 obovada ( )    | 2.18 angulosa ( )   |
| 2.7 falcada ( )    | 2.19 cilíndrica ( ) |
| 2.8 lineal ( )     | 2.20 deltoide ( )   |
| 2.9 oblata ( )     | 2.21 esférica ( )   |
| 2.10 cuneada ( )   | 2.22 globular ( )   |
| 2.11 ovada ( )     | 2.23 cónica ( )     |
| 2.12 reniforme ( ) | 2.24 otra           |

3. Las semillas presentan un tamaño:

- 3.1 diminuto (menores de 1 mm de largo) ( )
- 3.2 chico (de 1.0 a 5.0 mm de largo) ( )
- 3.3 mediano (de 5.1 a 10.0 mm de largo) ( )

3.4 grande (de 10.1 a 20.0 mm de largo) ( )

3.5 extragrande (mayores de 20.0 mm de largo) ( )

4. Las semillas de encuentran:

4.1 Desnudas ( )

4.2 ariladas ( )

5. El arilo se encuentra encubriendo:

5.1 menos de la mitad de la semilla ( )

5.2 aproximadamente la mitad de la semilla ( )

5.3 más de la mitad de la semilla ( )

5.4 completamente la semilla ( )

6. El arilo se origina del:

6.1 funículo ( )

6.4 rafe ( )

6.2 micrópilo ( )

6.5 cálaza ( )

6.3 exostomo ( )

6.6 otro

7. El arilo presenta una consistencia:

7.1 carnoso ( )

7.5 coriáceae ( )

7.2 cartilaginosa ( )

7.6 papiráceae ( )

7.3 fibrosa ( )

7.7 otra

7.4 membranosa ( )

8. El arilo presenta una coloración:

8.1 roja ( )

8.5 blanca ( )

8.2 rosada ( )

8.6 castaño ( )

8.3 amarilla ( )

8.7 otra

8.4 naranja ( )

9. El arilo presenta un margen:

9.1 entero ( )

9.4 crenulado ( )

- 9.2 fimbriado ( )
- 9.3 laciniado ( )
- 9.5 otro

10. La cubierta seminal presenta una coloración:

- 10.1 castaño claro ( )
- 10.2 castaño oscuro ( )
- 10.3 negra ( )
- 10.4 blanca ( )
- 10.5 roja ( )
- 10.6 naranja ( )
- 10.7 variegada ( )
- 10.8 discolor ( )
- 10.9 otro

11. La cubierta seminal presenta una reflejabilidad:

- 4.1 mate ( )
- 4.2 lustrosa ( )

12. La cubierta seminal presenta una consistencia:

- 12.1 carnosa ( )
- 12.2 papirácea ( )
- 12.3 cartilaginosa ( )
- 12.4 coriácea ( )
- 12.5 córnea ( )
- 12.6 crustácea ( )
- 12.7 esponjosa ( )
- 12.8 fibrosa ( )
- 12.9 leñosa ( )
- 12.10 ósea ( )
- 12.11 otro

13. La cubierta seminal presenta una superficie:

- 13.1 lisa ( )
- 13.2 alveolada ( )
- 13.3 escrobiculada ( )
- 13.4 ampollosa ( )
- 13.5 estriada ( )
- 13.6 corrugada ( )
- 13.7 areolada ( )
- 13.8 faveolada ( )
- 13.9 muricada ( )
- 13.11 tuberculada ( )
- 13.12 rugosa ( )
- 13.13 reticulada ( )
- 13.14 con venaciones ( )
- 13.15 ciliada ( )
- 13.16 hirsuta ( )
- 13.17 pilosa ( )
- 13.18 lanada ( )
- 13.19 tomentosa ( )

13.10 sulcada ( )

13.20 otra

14. La cubierta seminal presenta

14.1 un pleurograma abierto en el extremo hilar ( )

14.2 un pleurograma cerrado en el extremo hilar ( )

14.3 no presenta pleurograma ( )

15. La cubierta seminal se encuentra expandida en un ala

15.1 terminal adnada ( )      15.5 marginal corta ( )

15.2 terminal articulada ( )      15.6 rudimentaria ( )

15.3 doble ( )      15.7 no tiene ala ( )

15.4 marginal amplia ( )

16. El ala presenta una consistencia:

16.1 membranosa ( )      16.4 fibrosa ( )

16.2 papirácea ( )      16.5 otra

16.3 coriácea ( )

17. El ala es:

17.1 opaca ( )      17.3 transparente ( )

17.2 hialina ( )

18. Las semillas presentan un hilo:

18.1 conspicuo ( )

18.2 inconspicuo ( )

19. El hilo presenta una posición

19.1 basal ( )      19.3 apical ( )

19.2 lateral ( )      19.4 otro

20. El hilo presenta una forma

20.1 elíptica ( )      20.3 oval ( )



28.El perispermo se encuentra:

- 28.1 entre la cubierta seminal y el endospermo ( )
- 28.2 entre la cubierta seminal y el embrión ( )
- 28.3 rodeado por el embrión ( )
- 28.4 otro

29.Las semillas presentan endospermo:

- 29.1 abundante ( )
- 29.2 escaso ( )
- 29.3 limitado a varias o a una célula de grosor observable solo con ayuda del microscopio ( )
- 29.4 no tienen endospermo ( )

30.El endospermo se presenta en forma:

- 30.1 uniforme ( )
- 30.2 ruminada ( )

31.El endospermo presenta una coloración:

- 31.1 blanquecina ( )
- 31.2 verdosa ( )
- 31.3 amarillenta ( )
- 31.4 otra

32.El endospermo presenta una consistencia:

- 32.1 carnosa ( )
- 32.2 córnea ( )
- 32.3 vidriosa ( )
- 32.4 farinácea ( )
- 32.5 mucilaginosa ( )
- 32.6 líquida ( )
- 32.7 otra

33.El endospermo se encuentra:

- 33.1 rodeando completamente al embrión ( )
- 33.2 en ambas caras del embrión a manera de emparedado ( )
- 33.3 alrededor de la radícula ( )
- 33.4 entre los cotiledones ( )

34. Las semillas presentan gametofito femenino:

- 34.1 abundante ( )
- 34.2 escaso ( )
- 34.3 no lo presentan ( )

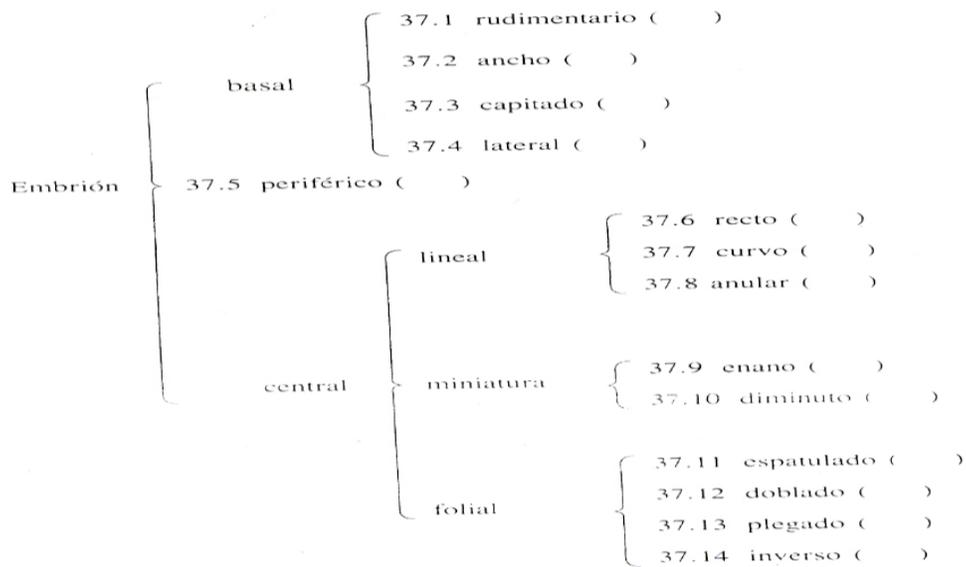
35. El gametofito femenino se presenta en forma:

- 35.1 uniforme ( )
- 35.2 ruminada ( )

36. El gametofito femenino presenta una coloración:

- 36.1 blanquecina ( )
- 36.2 rosada ( )
- 36.3 otra ( )

37. Las semillas presentan un embrión:



38. El embrión presenta una coloración:

- 38.1 blanquecina ( )
- 38.2 amarillenta ( )
- 38.3 verde ( )
- 38.4 verde amarillenta ( )
- 38.5 otra

39. El número de cotiledones presentes en el embrión es de:

- 38.1 blanquecina ( )
- 38.4 verde amarillenta ( )

- 38.2 amarillenta ( )      38.5 otra  
38.3 verde ( )

40. La apariencia de los cotiledones es:

- 40.1 delgados y foliáceos ( )      40.3 aciculares ( )  
40.2 gruesos y carnosos ( )

41. Los cotiledones presentan una forma:

- 40.1 circular ( )      40.4 lineal ( )  
40.2 elíptica ( )      40.5 ovada ( )  
40.3 lanceolada ( )      40.6 otra

42. Los cotiledones presentan una superficie:

- 42.1 lisa ( )      42.5 manchada ( )  
42.2 corrugada ( )      42.6 glandular ( )  
42.3 nervada ( )      42.7 otra  
42.4 pilosa ( )

43. Los cotiledones presentan el margen:

- 43.1 entero ( )      43.4 sinuado ( )  
43.2 lobado ( )      43.5 otro  
43.3 revoluto ( )

44. Los cotiledones presentan el ápice:

- 44.1 apiculado ( )      44.4 acuminado ( )  
44.2 emarginado ( )      44.5 redondeado ( )  
44.3 hendido ( )      44.6 otro

45. Los cotiledones presentan la base

- 45.1 cordada ( )      45.4 obtusa ( )

- 45.2 auriculada ( )      45.5 redondeada ( )  
45.3 hendida ( )      45.6 otra

46. Los cotiledones se encuentran:

- 46.1 separados entre sí ( )      46.4 connados en el margen ( )  
46.2 connados completamente ( )      46.5 connados en la base ( )  
46.3 connados en el ápice ( )

47. Los cotiledones presentan un tamaño

- 47.1 igual ( )      47.3 uno muy pequeño rodeado  
por el otro muy grande ( )  
47.2 desigual ( )      47.4 otro

48. Los cotiledones presentan una vernación:

- 48.1 circinada ( )      48.4 conduplicada ( )  
48.2 concoluta ( )      48.5 otra ( )  
48.3 contortuplicada ( )      48.6 no presentan vernación ( )

49. La radícula presenta una forma:

- 49.1 recta ( )      49.3 otra ( )  
49.2 curva ( )

50. La radícula se encuentra:

- 50.1 totalmente saliente ( )  
50.2 parcialmente incluido entre los cotiledones ( )  
50.3 completamente incluida entre los cotiledones ( )  
50.4 otra

51. La radícula es:

- 51.1 superior ( )      51.2 inferior ( )

52. La radícula presenta una superficie

52.1 glabra ( )

52.2 hirsuta ( )

53. La radícula se encuentra dirigida:

53.1 al hilo ( )

53.3 otra

53.2 al micrópilo ( )

**Anexo 2. Variables del proceso germinativo de semillas de acuerdo a González-Zertuche y Orozco-Segovia, (1996):**

- a) Tiempo promedio de germinación (T), como el tiempo promedio que necesitan las semillas para germinar

$$T = \frac{\Sigma(niti)}{\Sigma ni}$$

Dónde: ni= número de semillas germinadas en el día i, y ti= tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla

- b) Índice de germinación (IG), que es afectado por la capacidad de germinación y no proporciona información acerca de la distribución de los eventos de la germinación en el tiempo.

$$IG = \frac{\Sigma(niti)}{N}$$

Dónde: N= Total de semillas sembradas

- c) Velocidad de germinación (MG), que relaciona el número de semillas germinadas con el tiempo de germinación.

$$T = \Sigma \left( \frac{ni}{ti} \right)$$

- d) Coeficiente de germinación (CV), basado en el número de semillas germinadas y se relaciona de forma inversa con el tiempo y el número de semillas germinadas por día.

$$PG = \frac{\sum ni}{\sum (niti)} \times 100$$

e) Porcentaje de germinación final (% G), Para determinar el efecto del almacenamiento sobre la capacidad germinativa de las semillas.

$$PG = \frac{ni}{N} \times 100$$

f) Germinación acumulada (GA), que muestra la forma en que se incrementa la germinación y el tiempo (días) de inicio de la germinación.

$$GA = \frac{\%n1 + \%n2 + \%n3 + \%nx}{nx}$$

Dónde: %n1= porcentaje de semillas germinadas en el tiempo 1, %n2= porcentaje de semillas germinadas en el tiempo 2, %n3= porcentaje de semillas germinadas en el tiempo 3 y nx= tiempo en que se presentó la germinación

### Anexo 3. Imágenes del desarrollo del proyecto de investigación



Figura 1. Colocación de las semillas en charolas para la germinación en vivero, el sustrato corresponde a polvillo de coco y agrolita



Figura 2. Emergencia de plántulas de *Licania arborea* en condiciones de vivero



Figura 3. Evaluación de conductividad eléctrica en semillas de *Licania arborea*



Figura 4. Colocación de los tubos con medio de cultivo dentro de la germinadora

## Anexo 4. Productos generados de la tesis de Maestría

- a) Estancia de investigación. Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C. Proyecto. Conservación y morfofisiología de semillas. Co-Tutor: Dr. Alfonso Larqué-Saavedra. Beca mixta CONACYT 2017.



"Año del Centenario de la promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

### A QUIEN CORRESPONDA:

Me permito comunicar a usted que el **C. CARLOS ALBERTO RÍOS GARCÍA**, estudiante de la Maestría en Ciencias en Biodiversidad y Conservación de Ecosistemas Tropicales de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, ha realizado satisfactoriamente su **ESTANCIA DE INVESTIGACIÓN** de acuerdo a la Convocatoria Becas Mixtas 2017 para Movilidad Nacional (291211) en este Centro, de acuerdo a lo siguiente:

ADSCRIPCION	PERIODO
UNIDAD DE RECURSOS NATURALES	DEL 19 de abril al 7 de junio de 2017

Se extiende la presente constancia para los fines que se consideren pertinentes en la Ciudad de Mérida, Yucatán a los siete días del mes de junio del año dos mil diecisiete.

### Atentamente

**Dr. José Luis Hernández Stefanoni**  
Director de la Unidad de Recursos Naturales

c.c.p. ASESOR/ DR. ALFONSO LARQUÉ

b) Participación en XVII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería 2017



**XVII**  
CONGRESO NACIONAL DE  
**BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA**

La Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería, A.C.  
otorga la presente

**Constancia**  
A

Carlos Alberto Ríos-García, Carolina Orantes-García, Eduardo R. Garrido-Ramírez, Alma Gabriela Verdugo-Valdez

por su participación con la Presentación en Cartel

**GERMINACIÓN DEL ÁRBOL LICANIA ARBOREA (Chrysobalanaceae), ESPECIE TROPICAL AMENAZADA**

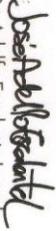
Puerto Vallarta, Jal., 25 al 30 de junio de 2017.



Dr. Carlos Regalado González  
Presidente de la SMBB 2016 - 2018



Dr. Adolfo Escalante Lozada  
Presidente del Comité Organizador 2016 - 2018



Dr. Nicolás Oscar Soto Cruz  
Presidente del Comité Científico 2016 - 2018







