



Iztapalapa

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

Osmoacondicionamiento de semillas de *Beaucarnea gracilis* Lem. como tratamiento pregerminativo.

TESIS

Para obtener el grado de
Maestro en Biología

Presenta:

Biólogo Julio Enrique Méndez Flores

Comité tutorial:

Director:

Dra. María Dolores García Suárez

Asesores:

Dr. Fernando Díaz de León Sánchez

Dr. Héctor Fernando Serrano

México, DF.

Abril 2014

El Programa de Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT registro 001464 en el Nivel Consolidado, y cuenta con apoyo del mismo Consejo.

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo proporcionada por el CONACYT a través de la beca con número de registro 266020.

Miembros del Jurado

El jurado designado por la Comisión Académica del Posgrado en Biología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana aprobó la Tesis titulada:

Osmoacondicionamiento de semillas de *Beaucarnea gracilis* Lem. como tratamiento pregerminativo.

Que presentó:

Biólogo Julio Enrique Méndez Flores

El día 4 de Abril de 2014.

Sinodales

Presidente

Dr. Héctor Fernando Serrano
Profesor Titular "C"
Departamento de Ciencias de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa
Email: hser@xanum.uam.mx

Secretaria

Dra. María de Lourdes Yáñez López
Profesor Titular "C"
Departamento de Biotecnología.
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
Email: lyanez@xanum.uam.mx

Sinodal

Dr. Fernando Díaz de León Sánchez
Profesor Titular "C"
Departamento de Ciencias de la Salud.
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
Email: fdls@xanum.uam.mx

Sinodal

M. en B. E. José Ángel Lechuga Corchado
Profesor Titular "C"
Departamento de Biotecnología.
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
Email: jalc@xanum.uam.mx

Miembros del Jurado

El jurado designado por la Comisión Académica del Posgrado en Biología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana aprobó la Tesis titulada:

Osmoacondicionamiento de semillas de *Beaucarnea gracilis* Lem. como tratamiento pregerminativo.

Que presentó:

Biólogo Julio Enrique Méndez Flores

El día 4 de Abril de 2014.

Sinodales

Presidente

Dr. Héctor Fernando Serrano
Profesor Titular "C"
Departamento de Ciencias de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa
Email: hser@xanum.uam.mx

Sinodal

Dr. Fernando Díaz de León Sánchez
Profesor Titular "C"
Departamento de Ciencias de la Salud.
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
Email: fdls@xanum.uam.mx

Secretaria

Dra. María de Lourdes Yáñez López
Profesor Titular "C"
Departamento de Biotecnología.
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
Email: lyanez@xanum.uam.mx

Sinodal

M. en B. E. José Ángel Lechuga Corchado
Profesor Titular "C"
Departamento de Biotecnología.
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.
Email: jalc@xanum.uam.mx

Comité Tutorial

DIRECTORA

Dra. María Dolores García Suárez

Profesor Titular “C”

Departamento de Biología. División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Email: loli@xanum.uam.mx

ASESORES

Dr. Fernando Díaz de León Sánchez

Profesor Titular “C”

Departamento de Ciencias de la Salud. División de Ciencias Biológicas y de la Salud.

Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Email: fdls@xanum.uam.mx

Dr. Héctor Fernando Serrano

Profesor Titular “C”

Departamento de Ciencias de la Salud. División de Ciencias Biológicas y de la Salud.

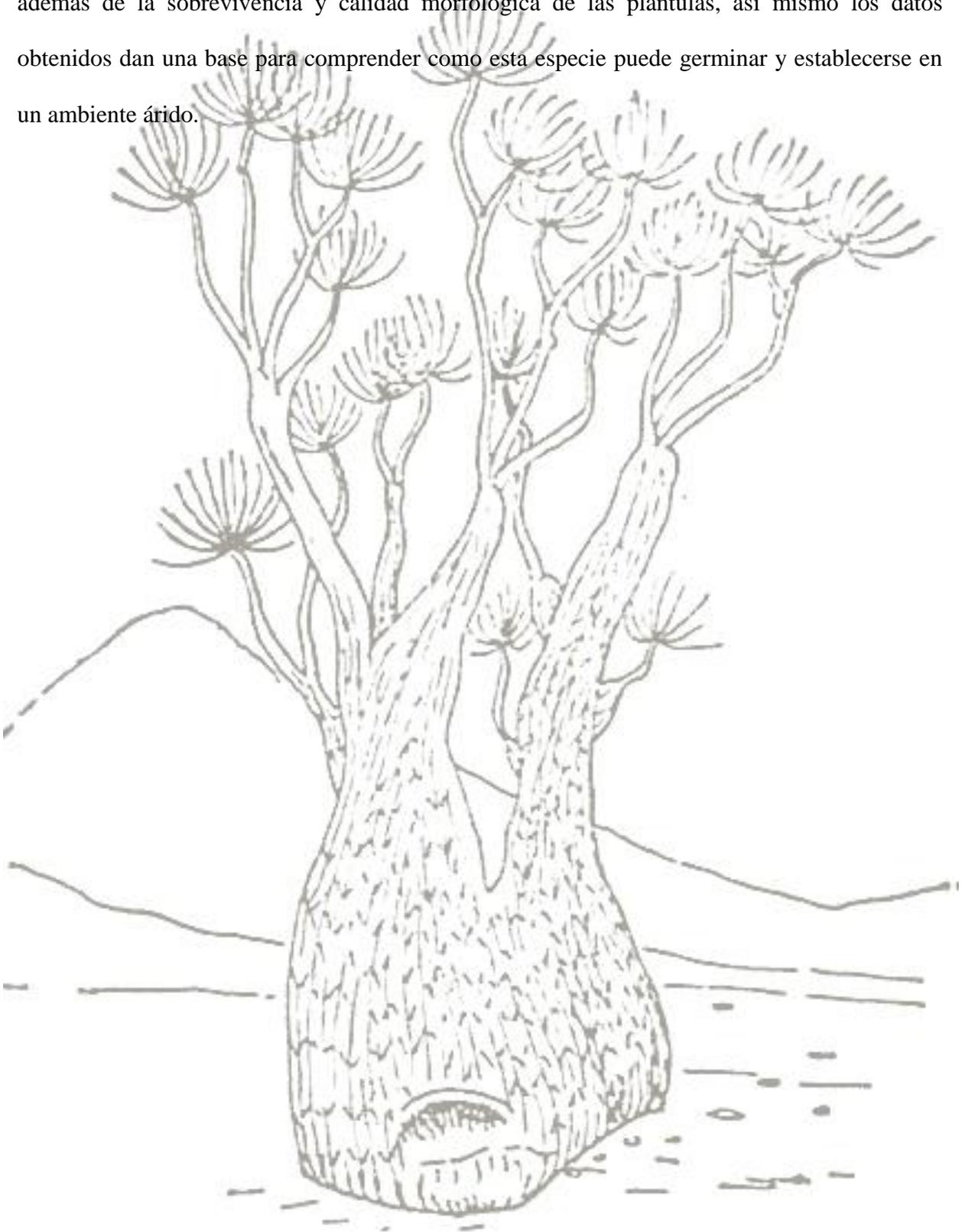
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Email: hser@xanum.uam.mx

Resumen

El osmoacondicionamiento es un tratamiento de presembrado el cual consiste en remojar las semillas en una solución con potencial osmótico conocido, ésta permite la imbibición y la activación del metabolismo pregerminativo de las semillas pero no la germinación. *Beaucarnea gracilis* (Nolinaceae) es un árbol suculento endémico de la zona semiárida de Tehuacán, Puebla, es considerado como especie amenazada por la Norma Oficial Mexicana de Ecología Ecol.059. 2010 por lo cual estudios sobre su germinación y establecimiento contribuirán con la preservación de la especie. Es así que se realizó el presente estudio a fin de evaluar el efecto del osmoacondicionamiento sobre la calidad fisiológica de semillas de *Beaucarnea gracilis*. Los bioensayos de osmoacondicionamiento se realizaron con KNO_3 , KCl , NaCl y PEG-8000 a 0, -5, -10, -15 y -20 atm de presión osmótica durante 0, 24, 48, 72, y 96 horas de imbibición, posteriormente se almacenaron durante 0, 7, 30, 60, 90 y 180 días de presembrado para evaluar si el beneficio de las semillas se mantiene con el paso del tiempo. Se realizaron pruebas de germinación estándar con 30 semillas con 4 repeticiones, en cámara de germinación a 35°C y 16 horas luz. Después del tratamiento, el porcentaje y velocidad de germinación respondieron de manera diferente en función del agente osmótico, su potencial, duración del tratamiento y periodo de almacenaje. Los resultados más sobresalientes muestran que el osmoacondicionamiento con KCl a -5 atm durante 72h, KNO_3 a -5 y -10 atm durante 24 h y PEG 8000 a -10 atm durante 24h, mejoraron la calidad fisiológica de la semilla de *Beaucarnea gracilis*, efecto que persistió hasta por 180 días después del tratamiento. Los tratamientos han demostrado mejoras en el porcentaje y uniformidad de la germinación,

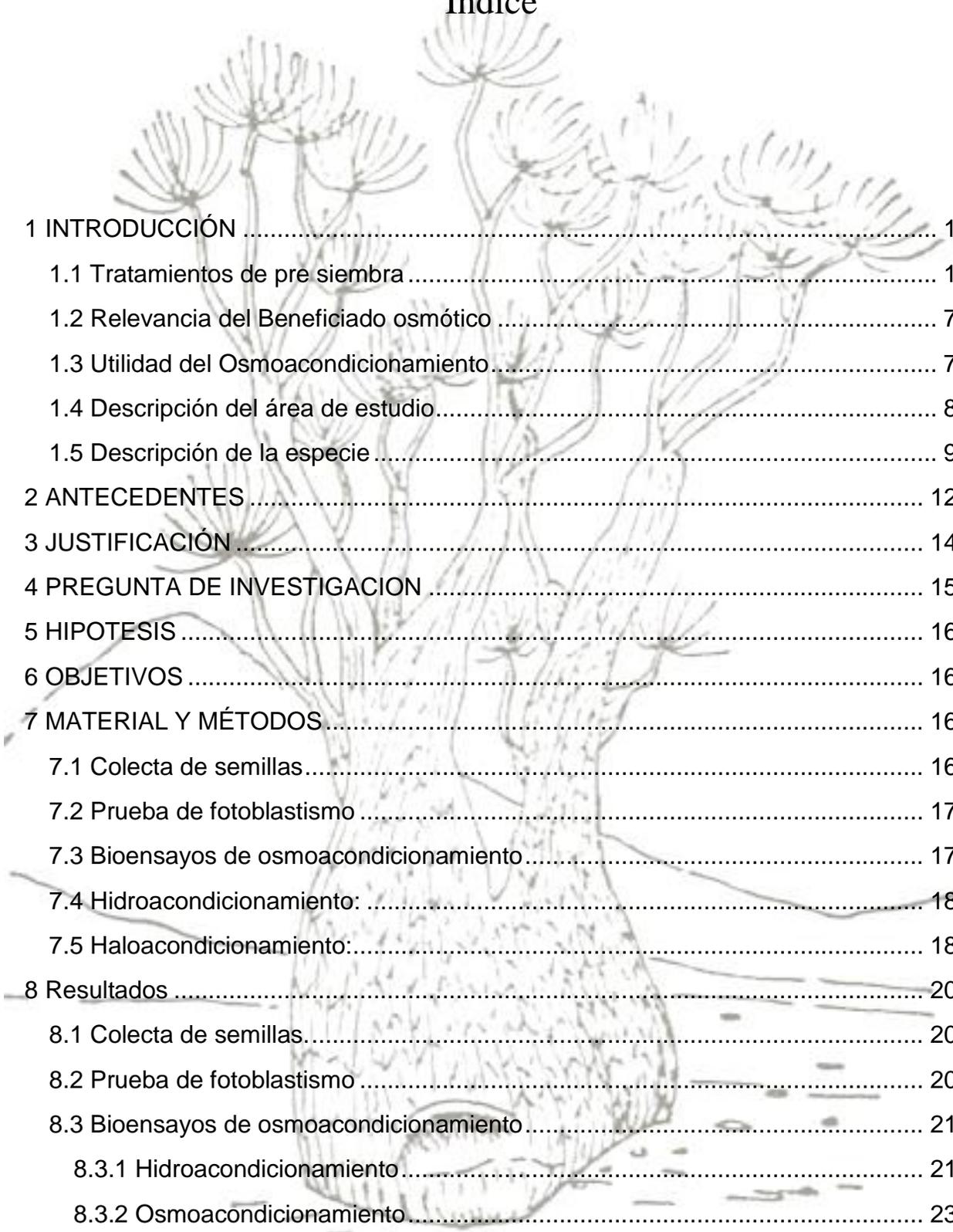
además de la sobrevivencia y calidad morfológica de las plántulas, así mismo los datos obtenidos dan una base para comprender como esta especie puede germinar y establecerse en un ambiente árido.



Abstract

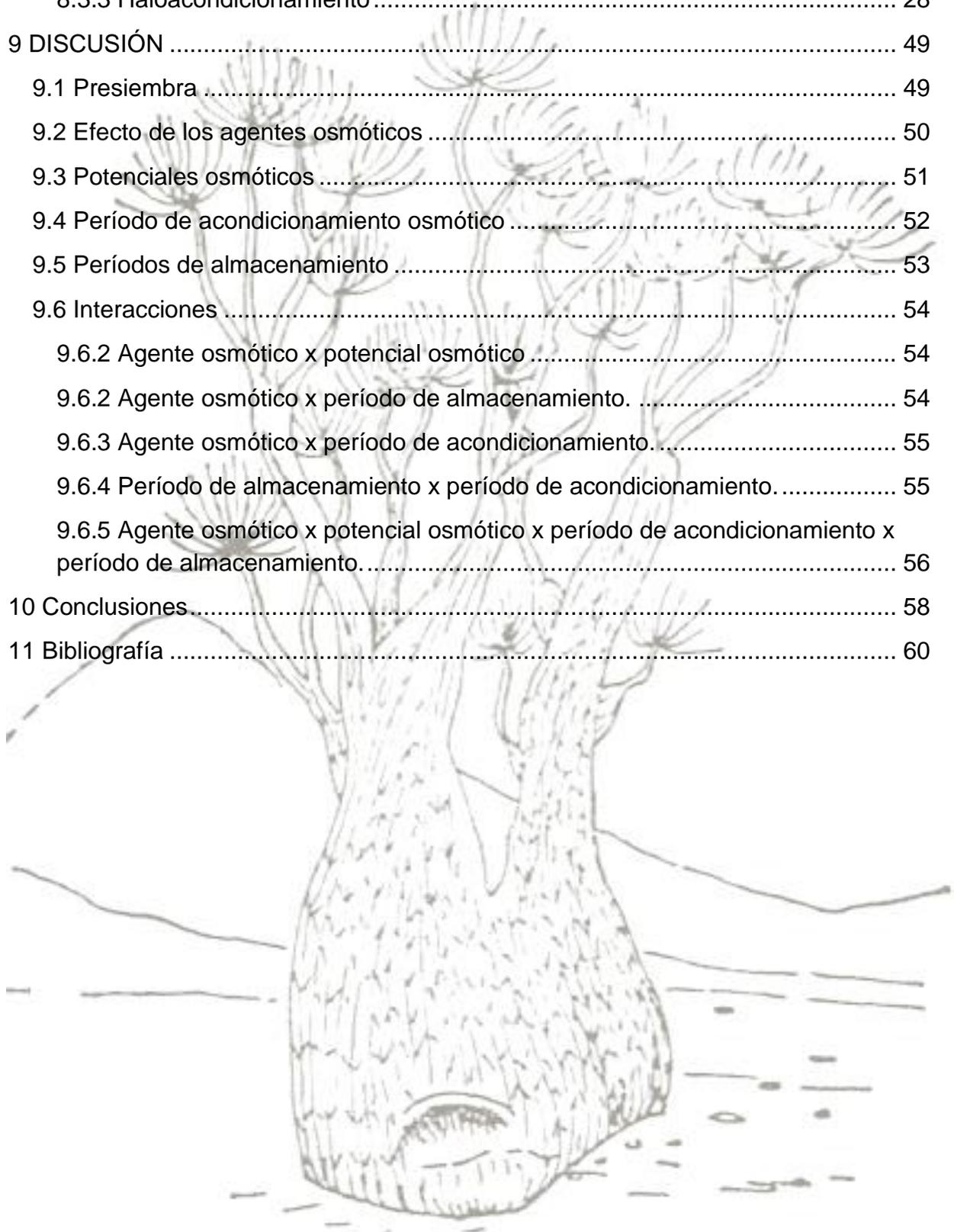
Seed priming is a pregerminative technique for improving seed germination and vigor, it involves imbibition of seeds in water under controlled conditions to initiate early events of germination followed by drying the seed back to its initial moisture content, in order to have a control on germination. *Beaucarnea gracilis* (Nolinaceae) is an endemic succulent tree from the semiarid zone of Tehuacán, Puebla, considered as a threatened species by NOM Ecol 59 (2010). Studies related on germination as well as on seedling establishment will contribute to its conservation. This study evaluated the effect of osmopriming under KNO₃, KCl, NaCl and PEG 8000 at 0, -5,-10,-15 and -20 atm., on the physiological quality of *Beaucarnea gracilis* seeds, with 0, 24, 48, 72 and 96 imbibition hours, then dried and stored during 0, 7, 30, 60 ,90 and 180 days in order to evaluate this as a pregerminative treatment. Germination proves were done with 30 seed per treatment with four repetitions under a germination chamber stated with 35°C and 16 light hours. After treatment germination percentage as well as germination rate were evaluated for each osmotic agent, imbibitions, and dried period. To know the difference between treatments ANOVA analysis was applied. The results show that osmopriming with a 24 hour imbibition with KCL-5 and 10 atm., as well as with PEG 800 at -10 atm improved the physiological category of the *Beaucarnea gracilis* seed, the effect continued after 180 days of treatment. The osmopriming pretreatment showed an increase on rate and final germination, improved survival and morphological look of seedlings. The data obtained will contribute to the knowledge of seeds treated in saline conditions it happens with the soils from arid lands.

Índice



1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Tratamientos de pre siembra	1
1.2 Relevancia del Beneficiado osmótico	7
1.3 Utilidad del Osmoacondicionamiento	7
1.4 Descripción del área de estudio	8
1.5 Descripción de la especie	9
2 ANTECEDENTES	12
3 JUSTIFICACIÓN	14
4 PREGUNTA DE INVESTIGACION	15
5 HIPOTESIS	16
6 OBJETIVOS	16
7 MATERIAL Y MÉTODOS	16
7.1 Colecta de semillas	16
7.2 Prueba de fotoblastismo	17
7.3 Bioensayos de osmoacondicionamiento	17
7.4 Hidroacondicionamiento:	18
7.5 Haloacondicionamiento:	18
8 Resultados	20
8.1 Colecta de semillas	20
8.2 Prueba de fotoblastismo	20
8.3 Bioensayos de osmoacondicionamiento	21
8.3.1 Hidroacondicionamiento	21
8.3.2 Osmoacondicionamiento	23

8.3.3 Haloacondicionamiento	28
9 DISCUSIÓN	49
9.1 Presiembra	49
9.2 Efecto de los agentes osmóticos	50
9.3 Potenciales osmóticos	51
9.4 Período de acondicionamiento osmótico	52
9.5 Períodos de almacenamiento	53
9.6 Interacciones	54
9.6.2 Agente osmótico x potencial osmótico	54
9.6.2 Agente osmótico x período de almacenamiento.	54
9.6.3 Agente osmótico x período de acondicionamiento.....	55
9.6.4 Período de almacenamiento x período de acondicionamiento.....	55
9.6.5 Agente osmótico x potencial osmótico x período de acondicionamiento x período de almacenamiento.....	56
10 Conclusiones.....	58
11 Bibliografía	60



1 INTRODUCCIÓN

1.1 Tratamientos de pre siembra

Los agricultores han utilizado en el transcurso de los años, diferentes tratamientos que aplican a las semillas antes de su siembra y que con el tiempo, se han tomado como técnica común, al realizar una revisión de estas experiencias se llega a la conclusión de que las semillas remojadas en agua y después secadas a temperatura ambiente con tiempo suficiente, germinan más rápido que las semillas no tratadas.

La alta competitividad en el mercado, aunado a la demanda de cultivos más rentables ha propiciado que los tratamientos de pre siembra, con el fin de mejorar el desarrollo de las semillas en el campo se hayan incrementado recientemente, pero son escasos los trabajos que se realizan para especies no comerciales (Giménez Sampaio *et al.*, 1991; Piña Espejel *et al.*, 2010 a). Los estudios en semillas de especies de interés comercial han mostrado que los tratamientos pregerminativos incrementan la viabilidad y longevidad de las semillas (Butler *et al.*, 2009).

Por ello, en los últimos años la práctica de los tratamientos pregerminativos ha alcanzado un amplio desarrollo, convirtiéndose en un procedimiento casi normal para un grupo de especies, principalmente hortícolas como: zanahoria, cebolla, jitomate, chile, melón, pepino y brócoli (Giménez Sampaio *et al.*, 1991; Piña Espejel *et al.*, 2010 b).

El osmoacondicionamiento o seed priming, se puede definir como un tratamiento de pre siembra que proporciona agua suficiente a las semillas para activar el metabolismo pregerminativo pero no para germinar.

Este tratamiento de hidratación parcial de las semillas puede lograrse con el uso de soluciones bioquímicamente inertes como el polietilenglicol (PEG), o con compuestos bioactivos y pueden ser fundamentalmente usados con tres propósitos (Heydecker *et al.*, 1973):

- 1.-Revigorigar semillas envejecidas, es decir semillas que tienen un tiempo prolongado de almacenamiento (seed revigorigation)
- 2.-Acondicionar semillas para acelerar y uniformar la germinación (seed priming)
- 3.-Robustecer semillas para incrementar la resistencia de las plantas a condiciones adversas del medio (seed hardening).

Según Hegarty (1978), el efecto del osmoacondicionamiento de semillas depende fundamentalmente del grado de hidratación que alcancen las semillas, la temperatura y duración del tratamiento, la cantidad de semillas tratadas en un mismo lote, el agente osmótico que se utilice para el tratamiento y el método de secado que se use posteriormente a la imbibición.

En la historia del mejoramiento de la calidad de los cultivos se ha realizado constantemente un mejoramiento genético mediante la selección de híbridos con las características deseadas y que provienen de cruas realizadas por el agricultor, hoy en día también se pueden aplicar diversos

tratamientos a las semillas para mejorar el comportamiento germinativo, como es el uso de soluciones osmóticas con el fin de mejorar la calidad germinativa de las semillas de varias especies comerciales.

El uso de soluciones osmóticas como tratamiento pre-germinativo, se basa en el concepto de transporte celular que se lleva a cabo de manera natural en el sistema semilla-solución. En este sistema el flujo de agua se establece con base en las diferencias de potenciales osmóticos e involucra tanto osmosis como difusión hasta llegar a un equilibrio del sistema dependiendo del potencial y presión osmótica tanto de la solución como de la semilla (Rojo Hernández 2005, Reino Molina 2005).

Otros tratamientos considerados de importancia como pre-germinativos son los relacionados con la fitosanidad vegetal, así el uso de fungicidas, bactericidas e insecticidas entran dentro del concepto (Giménez Sampaio *et al.*, 1991).

En las disciplinas de la Fisiología Vegetal y la Biotecnología de Semillas se han desarrollado diferentes metodologías que pueden evaluar la viabilidad y vigor de las semillas, así como las condiciones adecuadas para almacenarlas y con ello, prolongar su viabilidad. Con ello se pretende demostrar y obtener lotes de semillas de alto vigor que producirán más plántulas normales, con tasas elevadas de crecimiento con la consecuente mejora de los cultivos así como de las cosechas. Dentro de los parámetros de los bioensayos realizados para evaluar el vigor de las semillas se debe considerar la velocidad de germinación, el número y las características de las plántulas obtenidas así como su apariencia, malformaciones y la velocidad de crecimiento (Poulsen 1993; Reino Molina 2005).

Entre los ensayos de viabilidad utilizados más frecuentemente se encuentran la evaluación de radiografías con rayos X, la prueba con tetrazolio y el ensayo de germinación estándar. Este último es el más simple ya que consiste en colocar las semillas sobre papel filtro humedecido con agua destilada, dentro de cajas Petri que se colocan dentro de una cámara de incubación con luz y temperatura controlada. La protrusión de la radícula es el criterio que se utiliza para determinar si una semilla ha germinado y los resultados se emiten como porcentaje de semillas germinadas (Poulsen, 1993, Reino Molina 2005, Rojo Hernández 2005).

El osmoacondicionamiento (o priming en Inglés) es un tratamiento de presembrado en el cual las semillas se sumergen momentáneamente en una solución con un potencial osmótico conocido; la semilla realiza la imbibición y la activación del metabolismo pregerminativo, pero no se permite la emergencia de la radícula a través de la cubierta seminal, es decir no se presenta la germinación de la semilla. Posteriormente la semilla que se deseca nuevamente a su humedad original deberá pasar por otro período de hidratación, el cual reactivará el metabolismo para llegar hasta el evento final de la germinación (Fig. 1).

Durante el osmoacondicionamiento se llevan a cabo una serie de cambios dentro de la semilla tales como la síntesis de proteínas a partir de mRNA preexistente, reparación y formación de mitocondrias, reparación de ADN, entre otras que se muestran en la Figura 2 (Anuradha *et al.*, 2010). La cantidad de agua absorbida durante el osmoacondicionamiento es similar a la absorbida en la germinación normal pero la tasa de absorción es más lenta y controlada (Campos-Álvarez *et al.*, 2002; López y Piedrahita 1990 y Sharifi y Pouresmael 2006).

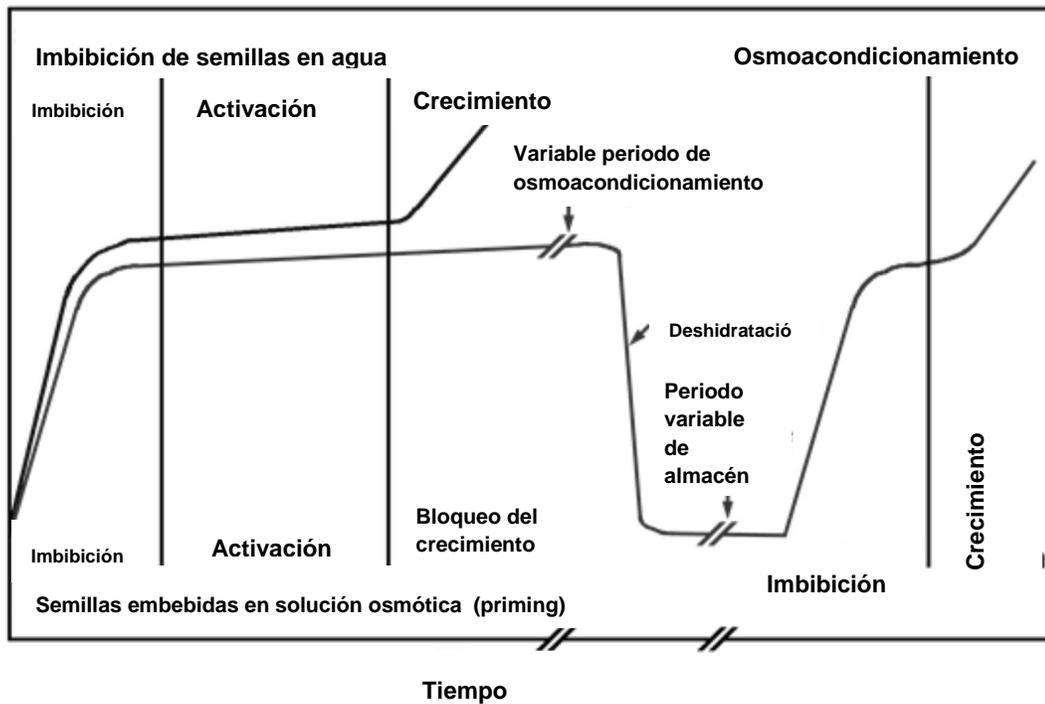


Figura.1. Imbibición, activación y germinación de una semilla con (línea inferior) y sin (línea superior) tratamiento de priming. (Modificado de Gerhard Leubner 2006)

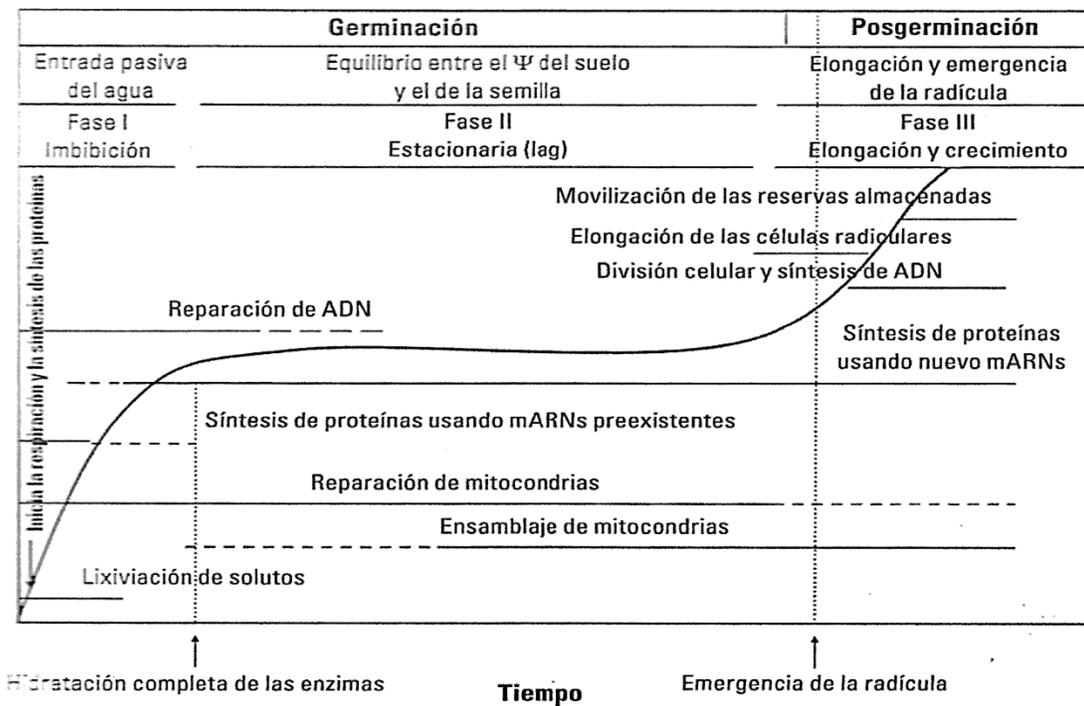


Figura 2. Patrón de absorción de agua por la semilla y los eventos metabólicos que ocurren durante el seed priming. (Modificado de Anuradha *et al.*, 2010)

Heydecker *et al.*, (1975) dividen esta técnica en cuatro tipos de tratamientos que son:

I Hidroacondicionamiento: implica sumergir las semillas en agua durante un tiempo determinado y luego secarlas para la posterior siembra.

II Osmoacondicionamiento: implica sumergir las semillas en soluciones con alto peso molecular que controlen la cantidad de agua durante la imbibición como el polietilenglicol (PEG) el cual ha sido recomendado como compuesto ideal para el tratamiento osmoacondicionante ya que no penetra las membranas celulares, no presenta características tóxicas, además de mantener casi constante la molaridad de la solución y cuando están presentes en pequeñas cantidades, permite un recambio gaseoso aceptable del medio (McDonald 2000; Parmar y Moore 1968)

III Haloacondicionamiento: consiste en sumergir semillas en soluciones salinas con bajo peso molecular como: K_3PO_4 , KNO_3 , $NaCl$, $MgSO_4$. A estas soluciones se les atribuye la promoción de la germinación por sus propiedades osmóticas y no a sus propiedades químicas (Thanos y Georghiou, 1988). A diferencia de los componentes como el PEG, pueden afectar las estructuras celulares de las semillas, potencialmente presentan un efecto nutricional y por consiguiente, se altera su viabilidad (Bradford, 1995; Khan *et al.*, 1983).

IV Acondicionamiento Mátrico: controla la hidratación de las semillas usando sustratos sólidos con potencial hídrico bajo como vermiculita, peat moss (turba canadiense) y arcilla. Con el acondicionamiento mátrico aplicado a hortalizas se han obtenido los mejores resultados para el incremento de la germinación con relación al acondicionamiento osmótico, aunque las

diferencias fisiológicas que producen en las semillas ambos tratamientos han sido poco evaluadas (Khan 1992).

1.2 Relevancia del beneficiado osmótico

El beneficio del osmoacondicionamiento se observa en forma de una germinación rápida y uniforme (Fig. 3), después de la remoción del agente osmoacondicionador (Campos-Álvarez *et al.*, 2002).

Bajo este tipo de tratamientos el proceso germinativo puede ser detenido y mantenerse en un tiempo que será definido según la especie de semilla que sea tratada, así como también el tipo de osmoacondicionante utilizado. Cada semilla se puede desecar y continuar posteriormente con el proceso germinativo; la interrupción temporal se realiza cuando las semillas son retiradas del medio acuoso o del medio conteniendo el osmoacondicionante. El secado de la semilla debe realizarse cuidando de no dañar al embrión, así como también durante su posterior rehidratación, tratando de no ocasionar ninguna alteración fisiológica ni metabólica que tenga consecuencias desfavorables que alteren su crecimiento y que no aceleren el envejecimiento de las semillas.

La utilidad del beneficiado osmótico, se observa sobre la viabilidad, longevidad y vigor de las semillas así como de las plántulas producidas.

1.3 Utilidad del Osmoacondicionamiento

El osmoacondicionamiento ha probado su utilidad en diferentes especies y con él se logra adelantar etapas del proceso de germinación y detenerlo en el estadio conveniente. La

germinación parcial controlada permite que en el campo las semillas germinen rápidamente. Al acelerar la germinación también se acelera la emergencia de plántulas por lo que el cultivo progresa con rapidez y se reducen el riesgo de plagas y enfermedades antes de la emergencia de las plántulas. En resumen el osmoacondicionamiento confiere mayor precocidad a las semillas, esto reduce la pérdida de plántulas y propicia cultivos con mayor producción.

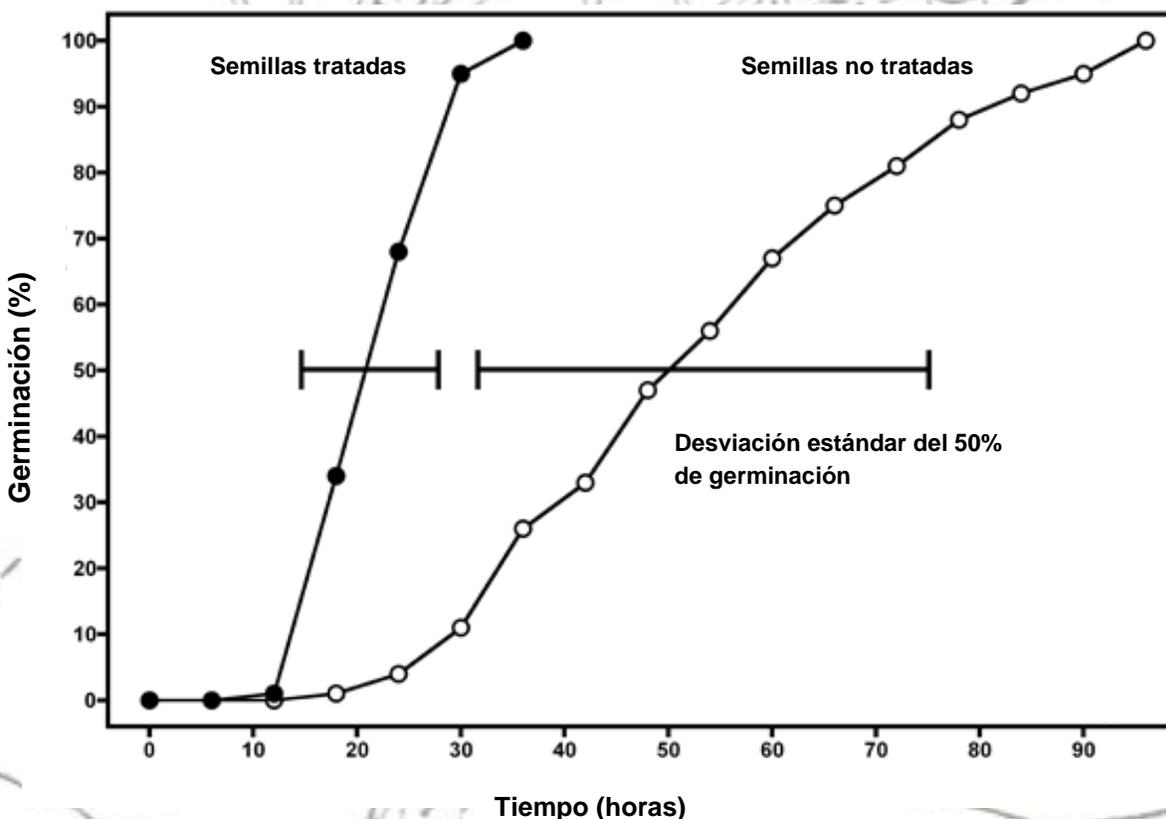


Figura 3. Curva de germinación con y sin tratamiento de priming, en la cual se aprecia que las semillas tratadas aumentan la tasa y velocidad de germinación. (Modificado de Gerhard Leubner 2006)

1.4 Descripción del área de estudio

Se localiza en el valle de Zapotitlán, ubicado en la zona semiárida Poblano-Oaxaqueña dentro de las coordenadas 18° 20' de latitud Norte y 97° 28' de longitud Oeste, se reconocen cuatro principales unidades fisonómicas: matorral espinoso, tetchera, cardonal e izotal (Zavala

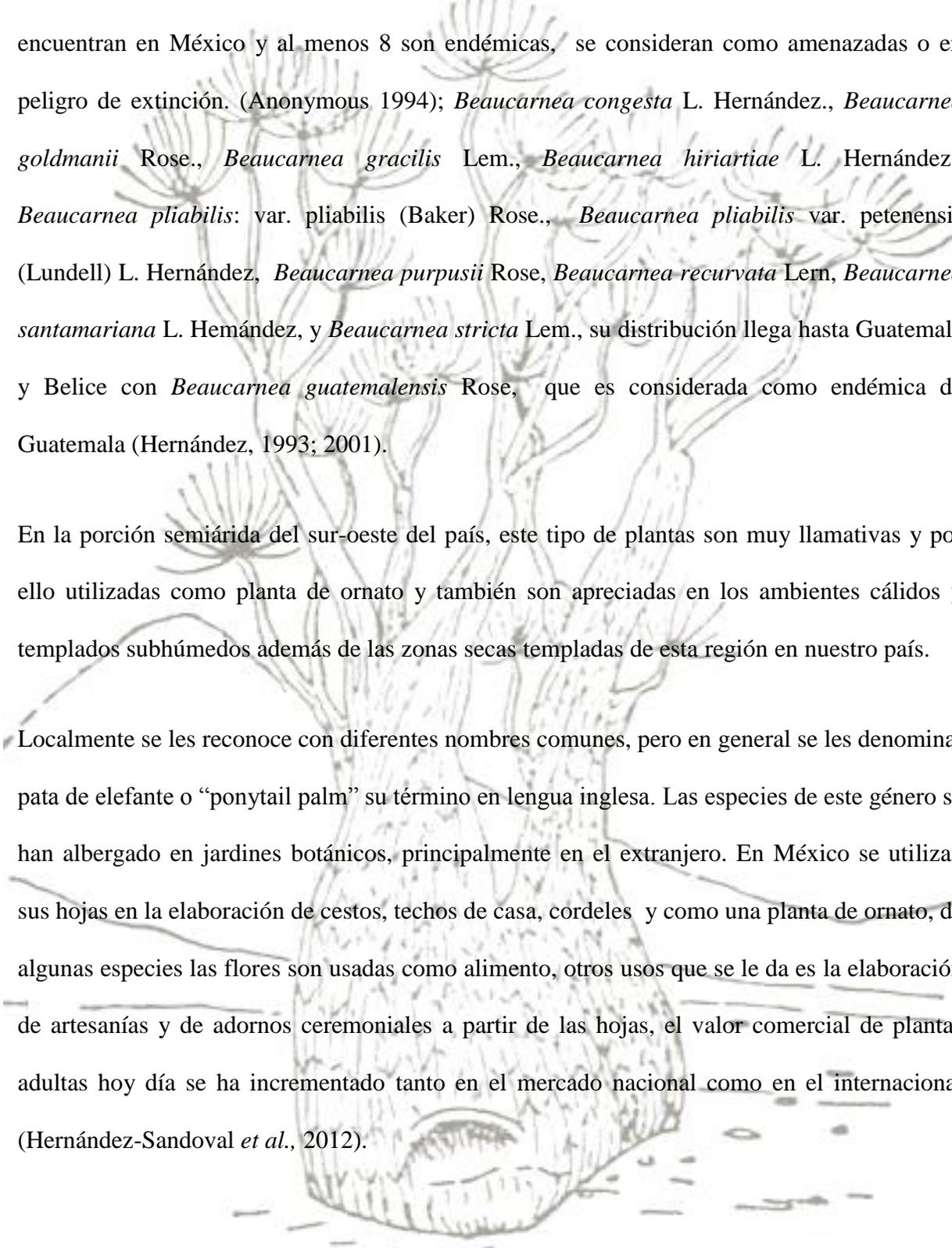
1982). Presenta una superficie de 484 km², su elevación es de 1280 a 2720 msnm, su clima es seco con una precipitación anual de alrededor de 400 mm con lluvia entre mayo y agosto, algunas veces en septiembre, las temperaturas máximas pueden ser de 40°C en el verano y las mínimas en el invierno cerca a los 0° C, con una temperatura promedio anual entre los 18° a 22°C.

Las principales actividades productivas desarrolladas en la región, comprenden agricultura de temporal con cultivos principalmente de maíz, se realiza la práctica de huertos familiares, plantaciones de maguey y de nopal, plantaciones de pitayas y la ganadería. Las actividades comerciales más importantes se centran en tres aspectos, la creación de talleres de artesanías de mármol y ónix, la explotación de sal gema y granjas avícolas (Montoya, *et al.*, 2003).

Es una de las regiones donde se concentra el grupo indígena llamado Popolocas. El nombre es un peyorativo puesto por los mexicas, cuyas traducciones van desde “tartamudos” hasta “poco inteligentes”. Esta, ha sido una cultura considerada como poco desarrollada y ha permanecido fuera del interés académico pues no hay vestigios de zonas arqueológicas monumentales. Sin embargo, esta característica se debe a la situación geográfica y a la inestabilidad social y política resultado de constantes invasiones (Gámez, 1999).

1.5 Descripción de la especie

El género *Beaucarnea* (Nolinaceae) forma parte de las monocotiledóneas arborescentes con base globosa o cónica y con hojas acomodadas en rosetas, estas plantas son de crecimiento lento, dioicas, con inflorescencias de arreglo panicular donde cada fruto especializado para la dispersión eólica resguarda una semilla.



Una revisión sistemática relativamente actualizada reconoce 11 especies de las cuales 10 se encuentran en México y al menos 8 son endémicas, se consideran como amenazadas o en peligro de extinción. (Anonymous 1994); *Beaucarnea congesta* L. Hernández., *Beaucarnea goldmanii* Rose., *Beaucarnea gracilis* Lem., *Beaucarnea hiriartiae* L. Hernández., *Beaucarnea pliabilis*: var. *pliabilis* (Baker) Rose., *Beaucarnea pliabilis* var. *petenensis* (Lundell) L. Hernández, *Beaucarnea purpusii* Rose, *Beaucarnea recurvata* Lem, *Beaucarnea santamariana* L. Hernández, y *Beaucarnea stricta* Lem., su distribución llega hasta Guatemala y Belice con *Beaucarnea guatemalensis* Rose, que es considerada como endémica de Guatemala (Hernández, 1993; 2001).

En la porción semiárida del sur-oeste del país, este tipo de plantas son muy llamativas y por ello utilizadas como planta de ornato y también son apreciadas en los ambientes cálidos y templados subhúmedos además de las zonas secas templadas de esta región en nuestro país.

Localmente se les reconoce con diferentes nombres comunes, pero en general se les denomina: pata de elefante o “ponytail palm” su término en lengua inglesa. Las especies de este género se han albergado en jardines botánicos, principalmente en el extranjero. En México se utilizan sus hojas en la elaboración de cestos, techos de casa, cordeles y como una planta de ornato, de algunas especies las flores son usadas como alimento, otros usos que se le da es la elaboración de artesanías y de adornos ceremoniales a partir de las hojas, el valor comercial de plantas adultas hoy día se ha incrementado tanto en el mercado nacional como en el internacional (Hernández-Sandoval *et al.*, 2012).

Debido a las características geográficas, variabilidad y distribución geográfica, así como el uso que se le da antropocéntricamente al género, lo convierten en un recurso fitogenético de gran valor para el país. Desafortunadamente el uso actual y la explotación generan una merma en las poblaciones naturales debido a que los ejemplares son extraídos de su ambiente además de sus semillas lo que se traduce en una disminución importante en la diversidad genética lo que vuelve a estas especies vulnerables a la extinción (Hernández-Sandoval *et al.*, 2012).

Esta situación despierta el interés de los investigadores por conocer más acerca de este género además de diseñar estrategias y planes de manejo para la conservación de las especies del género. Las especies de *Beaucarnea* en México presentan un rango de distribución relativamente corto, siendo algunas endémicas como *Beaucarnea gracilis*, *Beaucarnea recurvata* y *Beaucarnea pliabilis*. Están distribuidas en montañas semiáridas y regiones secas tropicales, en el Noreste, Centro y Sureste de México y en el Norte de Centro América. Estas especies crecen en suelos con déficit de nutrientes, pobres y rocosos, de roca caliza y volcánica, sobre riscos o montañas con pendientes inclinadas. (Cardel *et al.*, 1996; Fuentes *et al.*, 2006).

Beaucarnea gracilis, es un árbol suculento endémico de la zona semiárida de Tehuacán Puebla, y forma parte de la comunidad vegetal conocida como izotal, donde predomina. Llega a medir de 6 hasta 12 m de altura, la corteza es rugosa, de color gris a gris oscuro, con placas de 1 a 3cm de grosor, sus ramas son gruesas con patrón pseudodicotómico, el tronco característicamente se encuentra engrosado en la base formando un cono con una circunferencia de 2 a 7 m, sus hojas son longitudinales, miden de 25 a 50 cm de largo por 0.3 a

0.7mm de ancho, de color verde pálido con superficie acanalada y rugosa, el margen es color verde pálido con puntos rojizos, microcerrulado con denticillos persistentes, sus flores son pequeñas acomodadas en panículas de color amarillo pálido a naranja, pueden producir hasta 30 inflorescencias de ± 1.5 m de longitud con $\pm 2,500$ frutos por inflorescencia. Los frutos son redondeados a elipsoides con tres alas, color amarillo paja y las semillas son elipsoides a globosas con tres lóbulos con ápices irregulares y testa color marrón rojizo (García-Suárez, *et al.*, 2002; Hernández-Sandoval *et al.*, 2012). La especie es dioica a poligamodioica con fecundación cruzada, florece anualmente y sirve como fuente de alimento para aproximadamente 46 especies de insectos y como hospedero de muchas especies de epifitas como bromeliáceas (Cardel *et al.*, 1997).

Debido a la alta demanda comercial de esta especie se han usado metodologías como el cultivo de tejidos para la propagación de la misma y esto ha dado resultados favorables pero son pocos los trabajos realizados con semillas (Díaz Austria, 1998; García Suárez y Serrano 1996; Osorio y Mata 2005).

2 ANTECEDENTES

Se han empleado diferentes metodologías en la propagación de *Beaucarnea gracilis* Lem. En algunas de ellas la germinación de semillas se realiza en cajas Petri con papel filtro o en agar al 4% para mantener la humedad relativa. El manejo de la escarificación puede ser variado implicando el uso de diferentes concentraciones de ácido sulfúrico, lija e inmersión en agua. En un estudio se encontró que las semillas germinadas en agar fueron muy sensibles a

contaminación por hongos y bacterias; las semillas escurificadas con ácido sulfúrico al 90 y 100% germinaron al 100% en tres días, la escurificación con lija tuvo una germinación de 99% en agar y 98.5% en papel filtro después de diez días; las semillas sumergidas en agua durante 24h sin escurificar germinaron el 100% después de diez días (Cardel *et al.*, 1997; Valiente-Banuet, 2001).

La utilidad de los medios nutritivos para la germinación ha sido investigada profusamente. Una primera aproximación ha sido utilizar la germinación de semillas en medio Murashige y Skoog (MS) para la obtención de plántulas <5 cm (Díaz Austria, 1998) o de 7 cm de altura (Osorio y Mata, 2005) como fuentes de explante. En estos estudios es claro el efecto que tienen los reguladores del crecimiento vegetal bencil-adenina (BA), bencil-adenina-purina (BAP) y ácido indolacético (AIA) sobre la progresión de los explantes indicando que la germinación permite la obtención de material de características adecuadas. En ambos estudios, la germinación fue irregular pero alcanzando porcentajes superiores al 80% después de periodos que abarcan entre los 5 y 30 días.

Los altos niveles de germinación en condiciones de laboratorio contrastan notablemente con el bajo establecimiento de plántulas observado en el campo. Esto puede atribuirse al potencial hídrico del suelo durante la etapa de establecimiento, características edáficas de la zona, depredación y pastoreo.

Las plántulas y cortes transversales de plántulas forman brotes bajo la acción principalmente de BA a los 30 días. Sin embargo, es común que se observen tejidos oxidados durante las primeras semanas e incluso, explantes necróticos (Osorio y Mata, 2005).

A pesar de que se ha tratado de hacer la micropropagación de *B. gracilis* a partir de tejidos adultos diferenciados, los resultados son poco promisorios. El uso de ramas y tratar de implementar la propagación por estacas, no ha dado resultado (Hernández- Sandoval, *et. al.*, 2012).

En otra vertiente de los estudios de la propagación de *B. gracilis*, se ha estudiado el efecto del potencial hídrico del suelo y la temperatura en la germinación de semillas (Flores y Briones, 2011). La tasa y velocidad de germinación aumentan cuando el potencial hídrico del suelo disminuye; el porcentaje de germinación a los 15 días fue de casi dos órdenes de magnitud mayor cuando se adicionan 15 – 21ml de agua al suelo y se mantuvo una temperatura de 26°C.

Otro de los factores que podrían afectar la germinación es la exposición luminosa. Nuestro grupo ha estudiado la germinación de *B. gracilis* sin tratamientos pre germinativos en presencia y ausencia de luz obteniendo un 28.2% y 25% respectivamente de éxito germinativo, indicando que es una especie fotoblastica indistinta (García Suárez *et al.*, 2002).

3 JUSTIFICACIÓN

Las poblaciones nativas de *Beaucarnea gracilis* se localizan en áreas ecológicamente restringidas. Éstas se encuentran en estado crítico debido a la continua destrucción de sus hábitats ya sea por la agricultura, construcción de caminos, urbanización, por el pastoreo de cabras. Así como la continua extracción de plantas de diferentes edades desde semillas, plántulas e incluso plantas maduras con propósitos comerciales, que son vendidas en México y otros países debido principalmente por su uso ornamental y fabricación artesanal de cestos,

abánicos y techos a partir de sus hojas (Cardel *et al.*, 1997; Hernández, 1993; Soler y Soler 2004).

La tasa de sobrevivencia de semillas y plántulas es baja debido a factores tanto bióticos como abióticos y dependiendo del estado fisiológico de la planta. Las semillas son depredadas por roedores o arrastradas por el agua de lluvia. Las plántulas son depredadas por cabras o mueren por la falta de agua; las inflorescencias son dañadas por parásitos, hormigas o por aves y murciélagos que las consumen por su contenido de líquidos, al igual que las infrutescencias. El aumento de la población no se produce fácilmente ya sea por causas naturales (principalmente la poca disponibilidad de agua), actividades de pastoreo u otros factores asociados a las actividades humanas.

Todo lo anterior muestra diferentes causas que evitan que la especie tenga un reclutamiento adecuado para la sobrevivencia de la especie (Hernández-Sandoval *et al.*, 2012). Con base en lo anteriormente mencionado es que se encuentra incluida dentro de la Norma Oficial Mexicana ECOL 059, donde se considera a esta especie como amenazada, lo que obliga a la realización de estudios de propagación con el fin de la conservación de este recurso natural, su adecuado manejo podría contribuir a aumentar las poblaciones de la especie además de dar la posibilidad de aumentar los bajos ingresos de los pobladores de la región (Cardel *et al.*, 1997).

4 PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuál es el mejor osmoacondicionante para incrementar el porcentaje y la uniformidad de la germinación de semillas de *Beaucarnea gracilis*?

5 HIPOTESIS

El osmoacondicionamiento incrementa la viabilidad y sincroniza la germinación, al someter las semillas a diferentes osmoacondicionantes se conocerá el tratamiento que favorezca la germinación rápida y homogénea de las mismas.

6 OBJETIVOS

- 1) Evaluar el efecto del acondicionamiento osmótico del PEG, KNO_3 , KCl y NaCl sobre la calidad germinativa de las semillas de *Beaucarnea gracilis*.
- 2) Determinar el osmoacondicionante más adecuado para incrementar, acelerar y uniformizar la germinación de las semillas de *Beaucarnea gracilis*.
- 3) Determinar el osmoacondicionante más adecuado para incrementar el tiempo de almacenamiento en que las semillas de *Beaucarnea gracilis* conserven el efecto del acondicionamiento.

7 MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Colecta de semillas

A partir de las observaciones directas y seguimiento del desarrollo de inflorescencias e infrutescencias del sitio reconocido localmente como el “Santuario del Sotolín”, localizado a 4 Km al Sur-Sureste del poblado de Zapotitlán de las Salinas, se colectaron 11 infrutescencias con características de desarrollo cercanas a la dispersión provenientes cada una de un árbol distinto y separados por una distancia de al menos 3 metros. Las semillas se obtuvieron de los

frutos por extracción manual. Después de contar y pesar por separado las semillas de cada individuo, se hizo una colección de todas las semillas obtenidas. A partir de ellas, se hicieron lotes de 30 semillas para cada uno de los tratamientos y determinaciones. Antes de iniciar los tratamientos de beneficiado, fue necesario determinar la viabilidad y la dependencia de la germinación a la luz.

7.2 Prueba de fotoblastismo

Se realizaron pruebas de fotoblastismo probando diferentes longitudes de onda: luz azul (430 nm), verde (560 nm), amarilla (600 nm), rojo (680 nm), rojo lejano (700 nm), blanca y obscuridad. Esto se realizó envolviendo las cajas de Petri que contenían las semillas en papel celofán del color correspondiente, excepto para luz blanca donde no se usó papel celofán, para luz rojo lejano se utilizó una combinación de 5 papeles combinando los colores: rojo, azul, rojo, azul, rojo, y para la obscuridad se empleó papel aluminio para cubrir la caja de la luz añadiendo un lote más de obscuridad adicionado con ácido giberélico (500 mg/l). A fin de determinar el fotoblastismo y viabilidad de las semillas.

7.3 Bioensayos de osmocondicionamiento

El diseño de los bioensayos de osmocondicionamiento fue utilizando una estrategia factorial en donde se utilizaron lotes de semillas provenientes de los 11 individuos señalada anteriormente y distribuidas de manera aleatoria. Como factores a evaluar se utilizaron el osmocondicionante (4 sustancias, incluyendo agua destilada), la presión osmótica del osmocondicionante (5 presiones), tiempo de imbibición (con 3 variables y un testigo) y el de almacenaje (con 5 variables y un testigo). En todos los casos, se evaluó la germinación diaria

una vez iniciada la siembra. Los parámetros indicadores fueron el porcentaje de germinación final y la germinación porcentual media (G50).

7.4 Hidroacondicionamiento:

La evaluación del efecto del hidroacondicionamiento se realizó embebiendo lotes de semillas en agua destilada por periodos de 0, 24, 48 y 72 horas, posteriormente se secaron sobre papel absorbente y almacenaron dentro de una gaveta por 0, 7, 30, 60, 90 y 180 días como periodos de almacenamiento.

7.5 Osmoacondicionamiento y haloacondicionamiento:

Para la evaluación del efecto de los tratamientos de osmoacondicionamiento y haloacondicionamiento, se embebieron lotes de semillas en soluciones de PEG, KNO₃, KCl, y NaCl de -5, -10, -15 y -20 atm de presión osmótica, durante 0, 24, 48 y 72 h. Posterior al tratamiento las semillas fueron secadas sobre papel absorbente a temperatura ambiente y almacenadas en una gaveta por periodos de almacenamiento de 0, 7, 30, 60, 90 y 180 días.

7.6 ajuste de potenciales osmóticos.

Las soluciones de PEG 8000 se ajustaron al potencial osmótico requerido siguiendo la metodología propuesta por Mitchel (1983):

$$[\text{PEG}] = [4 - (5.16 \Psi T - 560 \Psi + 16) / (2)] / [2.58 T - 280]$$

Dónde:

T= Temperatura de preparación de la solución en °C

Ψ = Potencial osmótico requerido en bares

[PEG]= Kilogramos de PEG por litro de agua destilada.

Las soluciones de KNO_3 , KCl , y NaCl se ajustaron al potencial osmótico requerido siguiendo la metodología propuesta por Wiggans y Gardner (1959):

$$G = (PVm) / (RT)$$

Dónde:

G = Gramos de soluto a utilizar

P = Presión osmótica deseada (atm)

V = Volumen en litros

m = Peso molecular del soluto

R = Constante igual a $0.0825 \text{ atm } 1 \text{ mol}^{-1} \text{ } ^\circ\text{K}^{-1}$

T = Temperatura a la que se prepara la solución ($^\circ\text{K}$).

En todos los casos, las condiciones de imbibición fueron utilizando frascos de vidrio cerrados con una superficie adsorbente en la cual se encontraba el agente osmoacondicionante. Para evitar evaporaciones excesivas se mantuvieron en un lugar fresco y de humedad constante dentro del cuarto de germinación.

El almacenamiento se realizó en bolsas de papel individuales para cada tratamiento. Las condiciones de almacenamiento fueron en un lugar seco y fresco dentro del laboratorio.

Las pruebas de germinación se realizaron en cajas Petri con papel absorbente y humedad constante durante todo el experimento, colocando 30 semillas por tratamiento con 4 repeticiones, las cajas se colocaron dentro de una cámara de germinación a $35 \pm 1^\circ \text{C}$, 16/8 horas luz/oscuridad durante 21 días.

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza general de una sola vía y posteriormente se realizó la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$) cuando fue necesario con el uso del paquete estadístico NCSS 2007.

8 RESULTADOS

8.1 Colecta de semillas.

Beaucarnea gracilis presentó un porcentaje considerable (>70%) de semillas viables en las diferentes cápsulas de las infrutescencias utilizadas, estas fueron consideradas como testigo al no tener ningún tratamiento previo a la siembra. El peso promedio de cada una de las semillas fue de 18 mg. (Fig. 5a)

8.2 Prueba de fotoblastismo

Algunas semillas presentan un impedimento para germinar que puede ser roto por luz, de tal forma que al aplicar un determinado tipo de luz las semillas germinan. En este experimento se corroboró que no hay un efecto significativo de los diferentes tipos de luz sobre el porcentaje

de germinación de las semillas de *Beaucarnea gracilis*. La germinación de estas semillas se da tanto en luz como en la obscuridad (Fig. 4).

Se determinó que las semillas son viables y son fotoblasticas indistintas, es decir: germinan tanto en luz como en obscuridad. Esta prueba se realizó con la finalidad de determinar la viabilidad de las semillas y las condiciones de luz necesarias para una germinación adecuada.

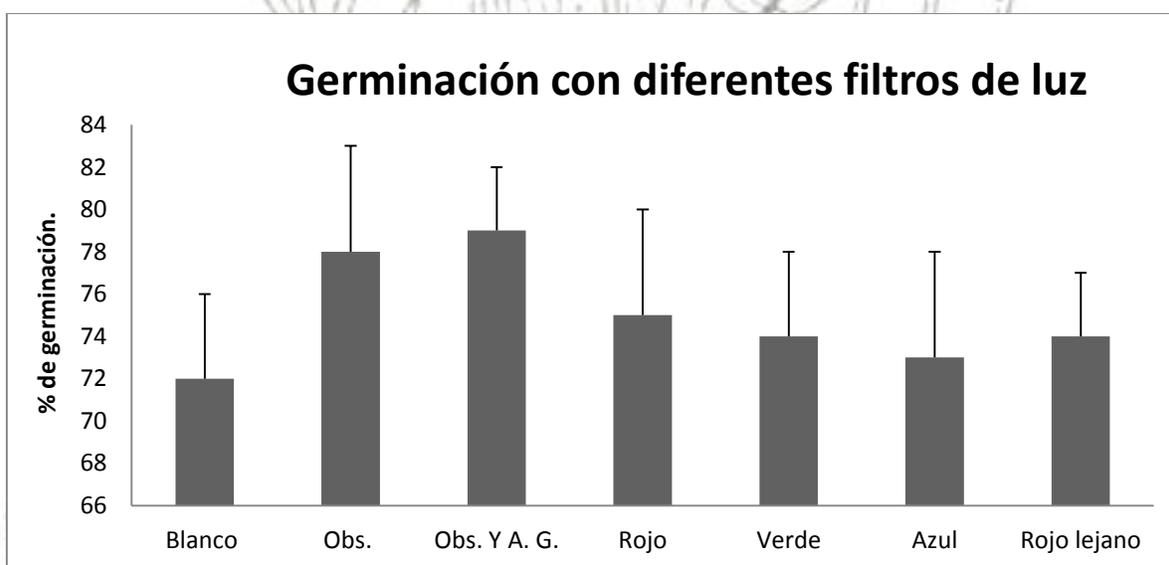


Figura 4. Porcentaje de germinación de las semillas bajo las diferentes calidades lumínicas, así mismo para la determinación de la viabilidad de las semillas.

8.3 Bioensayos de osmocondicionamiento

8.3.1 Hidrocondicionamiento

En general el hidrocondicionamiento es un tratamiento efectivo para acondicionar las semillas, ya que el porcentaje y la velocidad de germinación aumentan. Sin embargo, este beneficio dura poco tiempo, ya que el porcentaje como la velocidad de germinación disminuye al prolongar el periodo de almacenamiento de las semillas (Fig. 5).

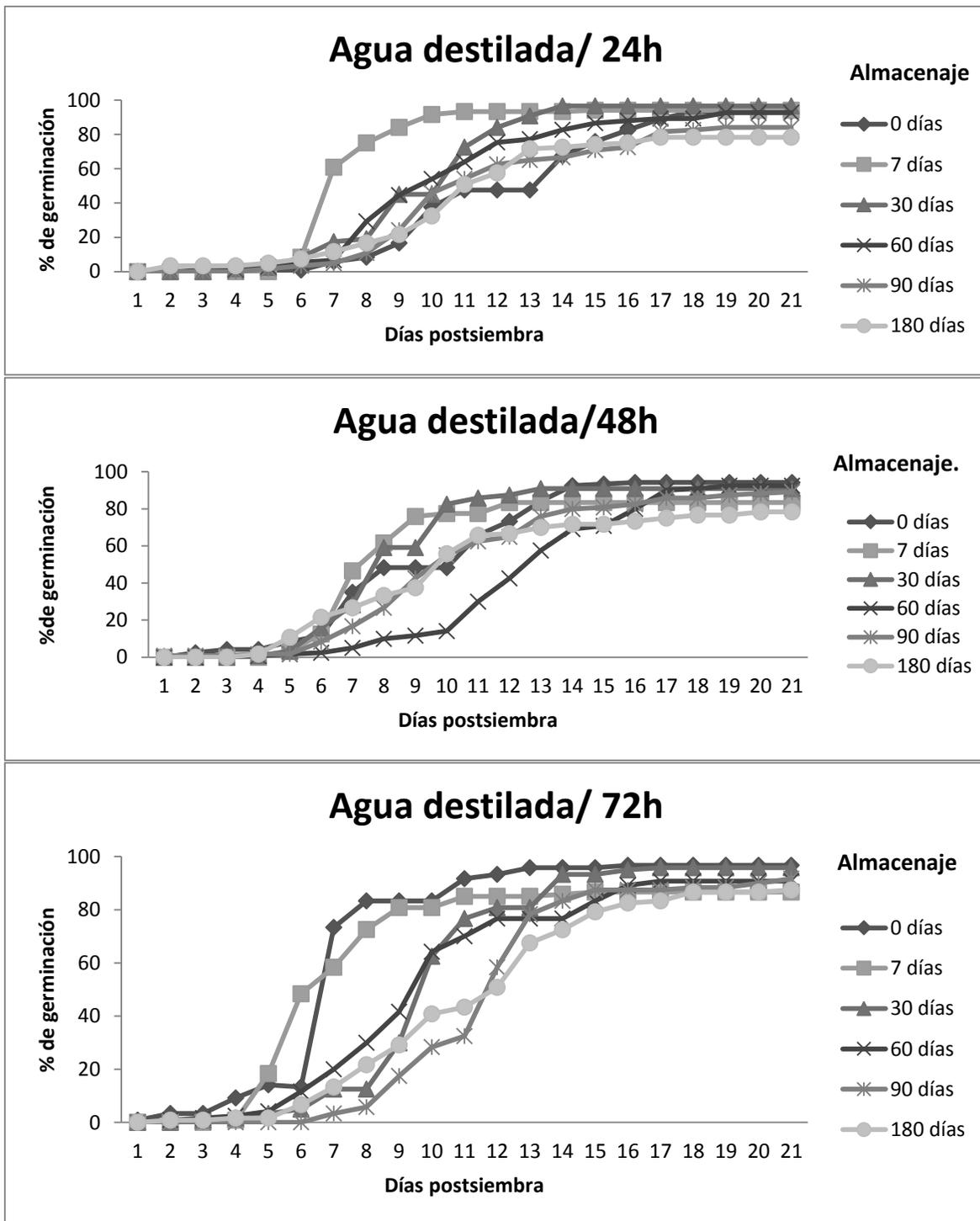


Figura 5. Efecto del hidroacondicionamiento sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

8.3.2 Osmocondicionamiento

Las figuras 6 a 9 muestran las curvas de germinación, de las semillas de *B. gracilis* sometidas a tratamientos con PEG, con las distintas presiones osmóticas, periodos de imbibición y periodos de almacenamiento.

En general las semillas tratadas con PEG tienen un periodo prolongado de beneficiado, al aumentar el tiempo de imbibición y/o la presión osmótica las semillas pierden viabilidad y vigor en un cierto grado pero este no es tan drástico, no obstante se obtienen resultados favorables respecto al porcentaje y velocidad de germinación en determinadas combinaciones con este reactivo.

Este tratamiento aparentemente es adecuado ya que el porcentaje de germinación y el vigor permanecen casi constantes en todos los periodos de tiempo excepto a los 180 días pero este cambio no es tan drástico.

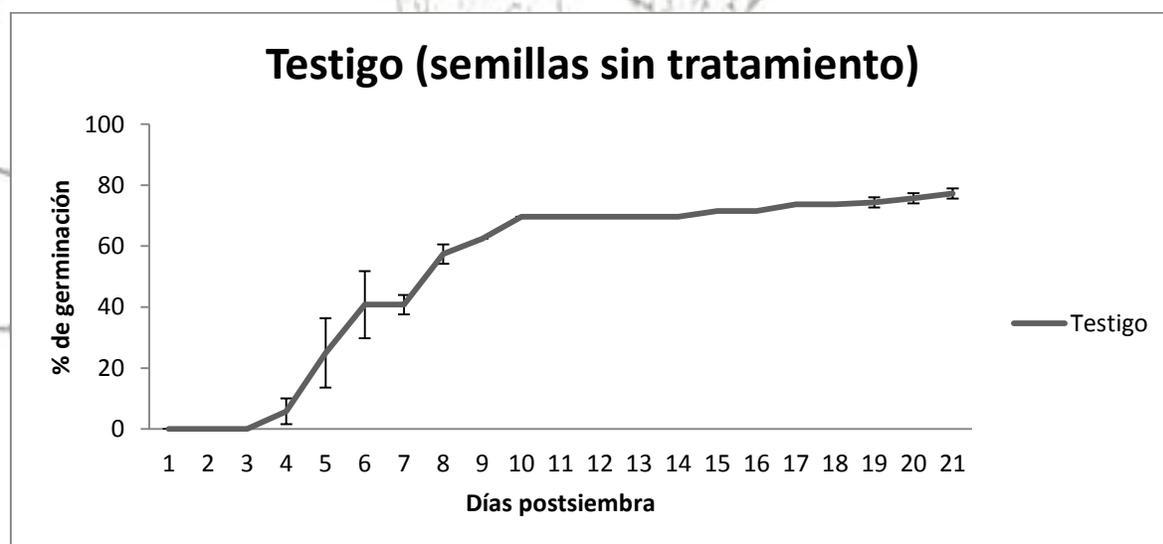


Figura 5a. Curva de germinación de las semillas sin tratamiento. G50 = 8 días. Porcentaje de germinación = 77 %.

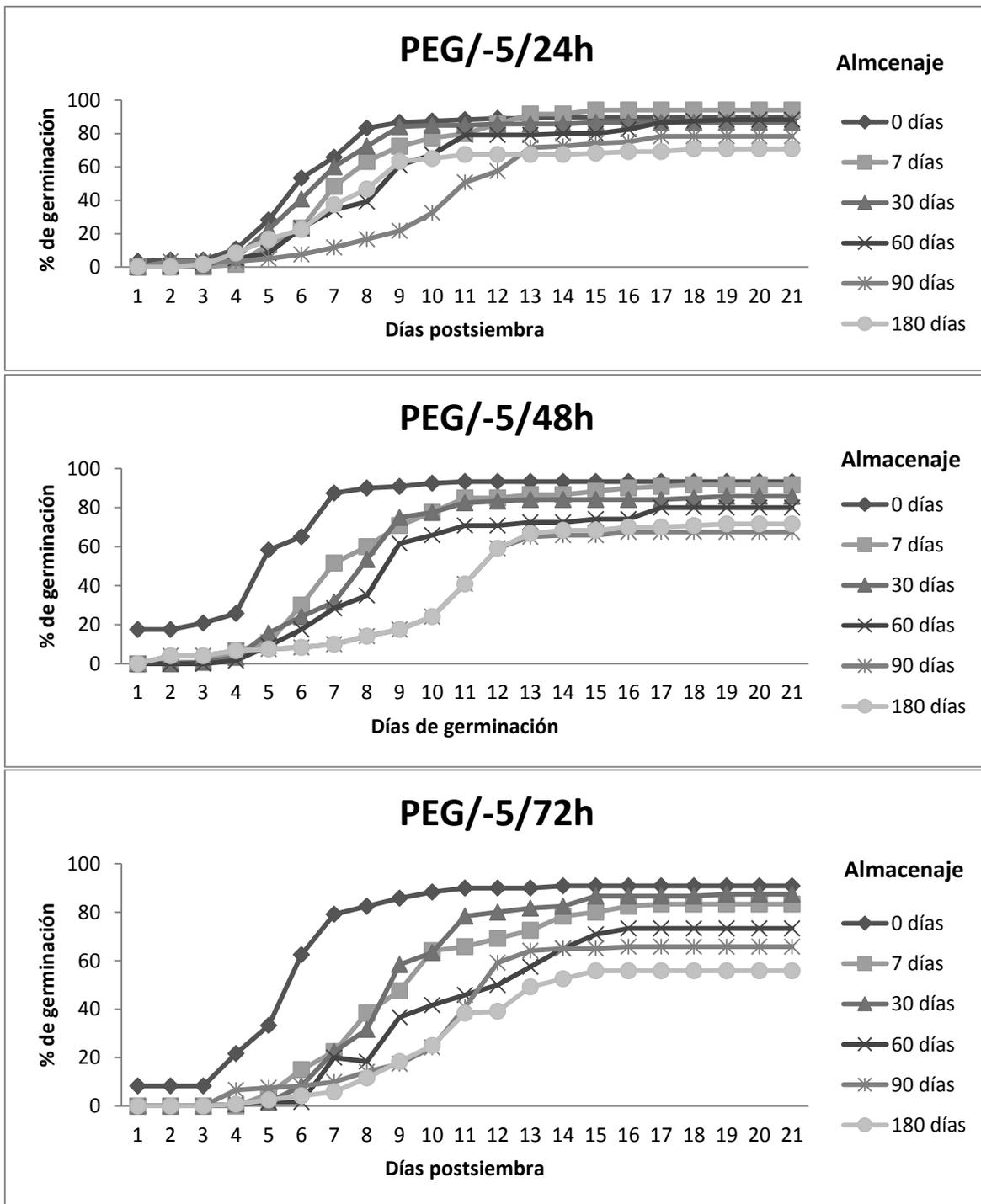


Figura 6. Efecto del osmoacondicionamiento de -5 atm de presión osmótica con los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

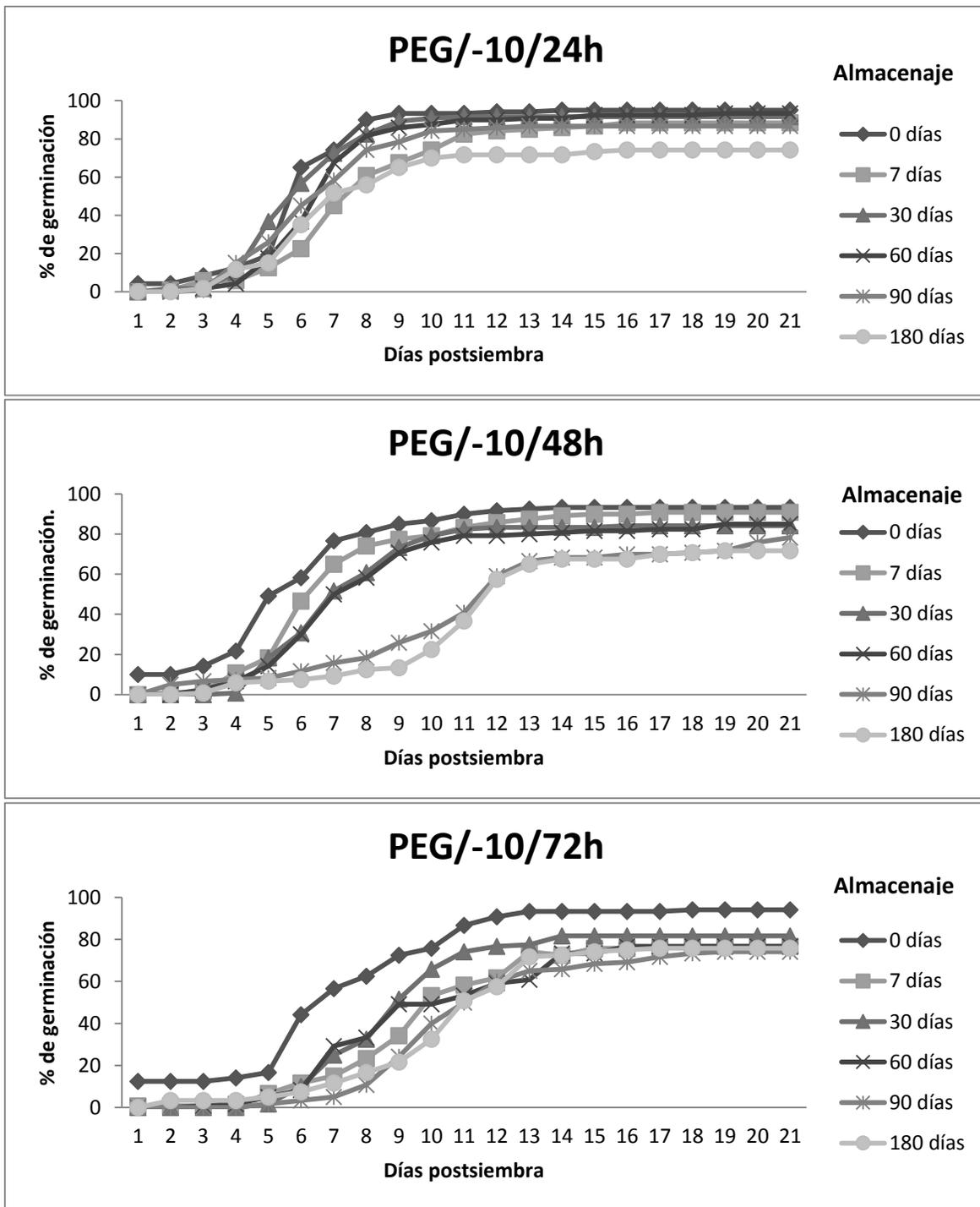


Figura 7. Efecto del osmoacondicionamiento de -10 atm de presión osmótica con los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

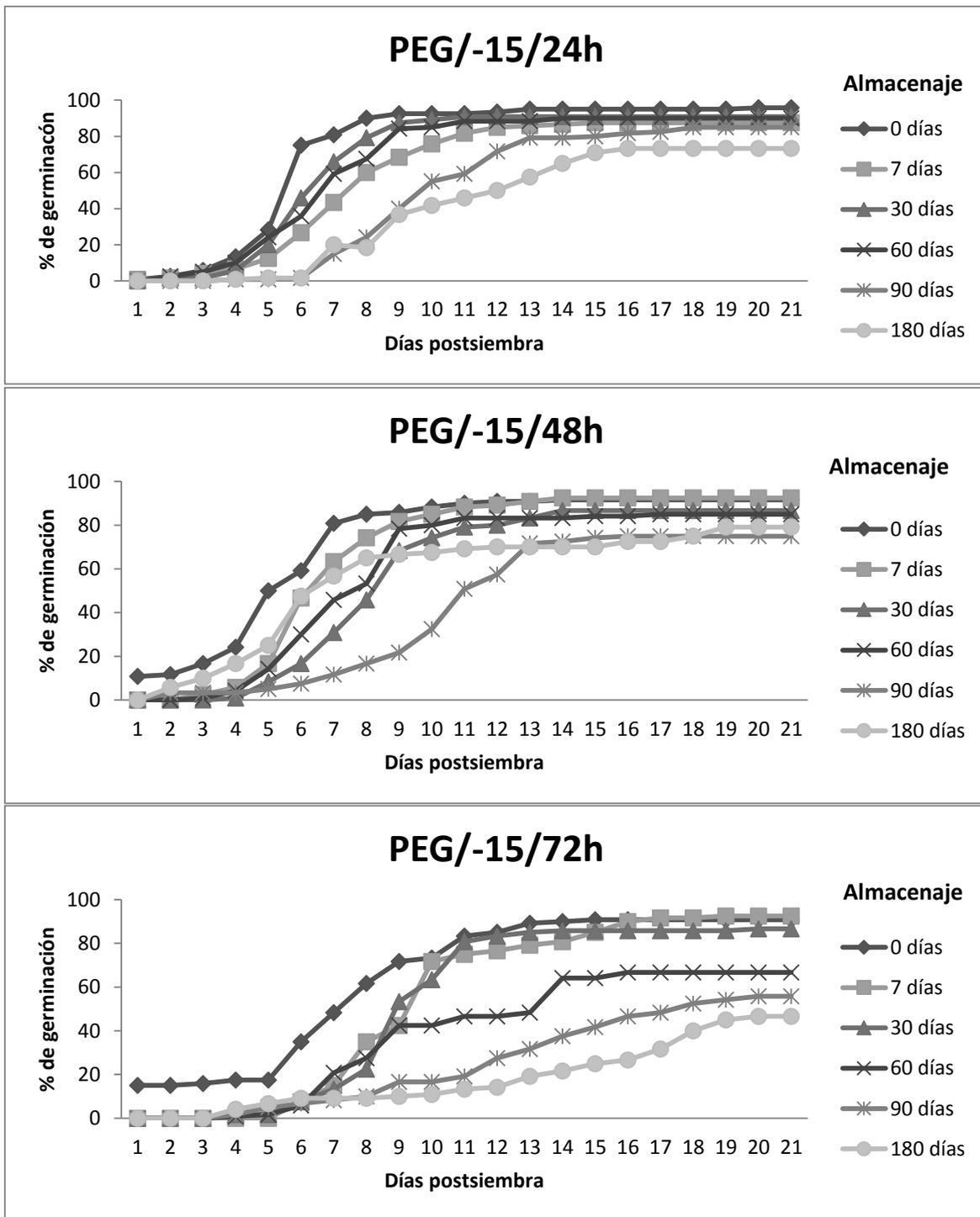


Figura 8. Efecto del osmoacondicionamiento de -15 atm de presión osmótica con los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

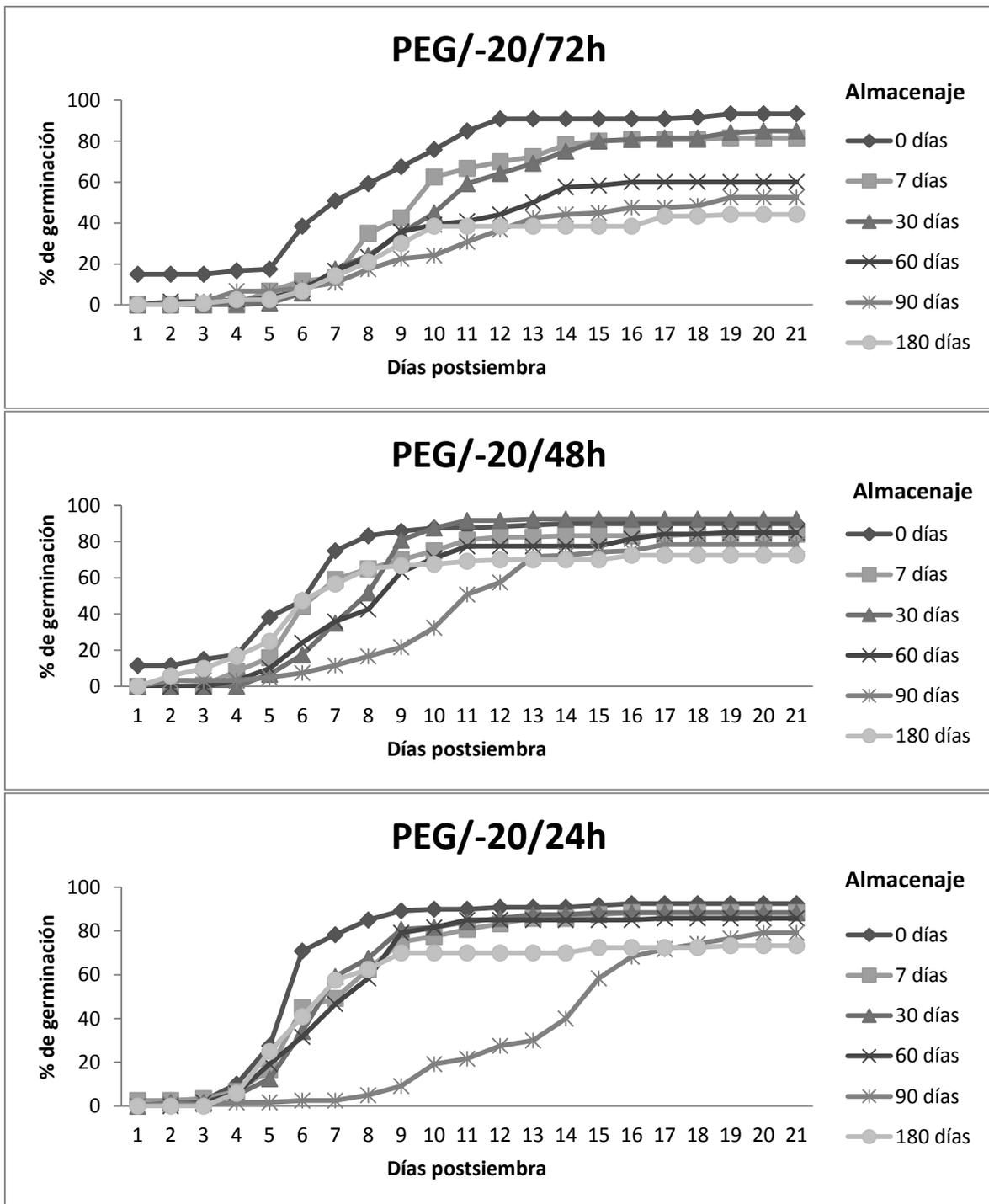


Figura 9. Efecto del osmoacondicionamiento de -15 atm de presión osmótica con los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

8.3.3 Halocondicionamiento

Las figuras 10 a 21 muestran el comportamiento germinativo de las semillas que fueron tratadas con los diferentes reactivos: KCl (Fig. 10 – 13), KNO₃ (Fig.14 – 17) y NaCl (Fig. 18 – 21), las distintas presiones osmóticas, los periodos de imbibición y almacenaje correspondientes.

En las figuras 10 – 13 se puede apreciar que al aumentar la concentración de KCl y/o el tiempo de imbibición de las semillas éstas se ven afectadas por el tratamiento presentando una disminución, según el caso, el porcentaje de germinación, la velocidad de germinación o ambas variables. El efecto adverso del KCl se puede apreciar desde el tratamiento con una presión osmótica de -5 atmosferas.

Basado en las curvas de germinación de las figuras 14 - 17 se puede ver que los tratamientos con KNO₃ mantienen el beneficiado durante los primeros 30 días, no obstante con el paso del tiempo se puede observar una disminución en el porcentaje y velocidad de germinación de las semillas. Aparentemente el daño que sufren las semillas no es tan notorio como en el caso de los tratamientos con KCl.

En las figuras 18 – 21 se puede apreciar que el tratamiento con NaCl es el más desfavorable para las semillas de *Beaucarnea gracilis*, al igual que en los demás tratamientos el porcentaje y velocidad de germinación se ven afectadas al aumentar la presión osmótica y/o el tiempo de imbibición. Al parecer este reactivo es el menos confiable para osmocondicionar las semillas ya que probablemente les ocasione daños más que beneficios a las mismas por ello la pérdida de velocidad y porcentaje de germinación de las semillas.

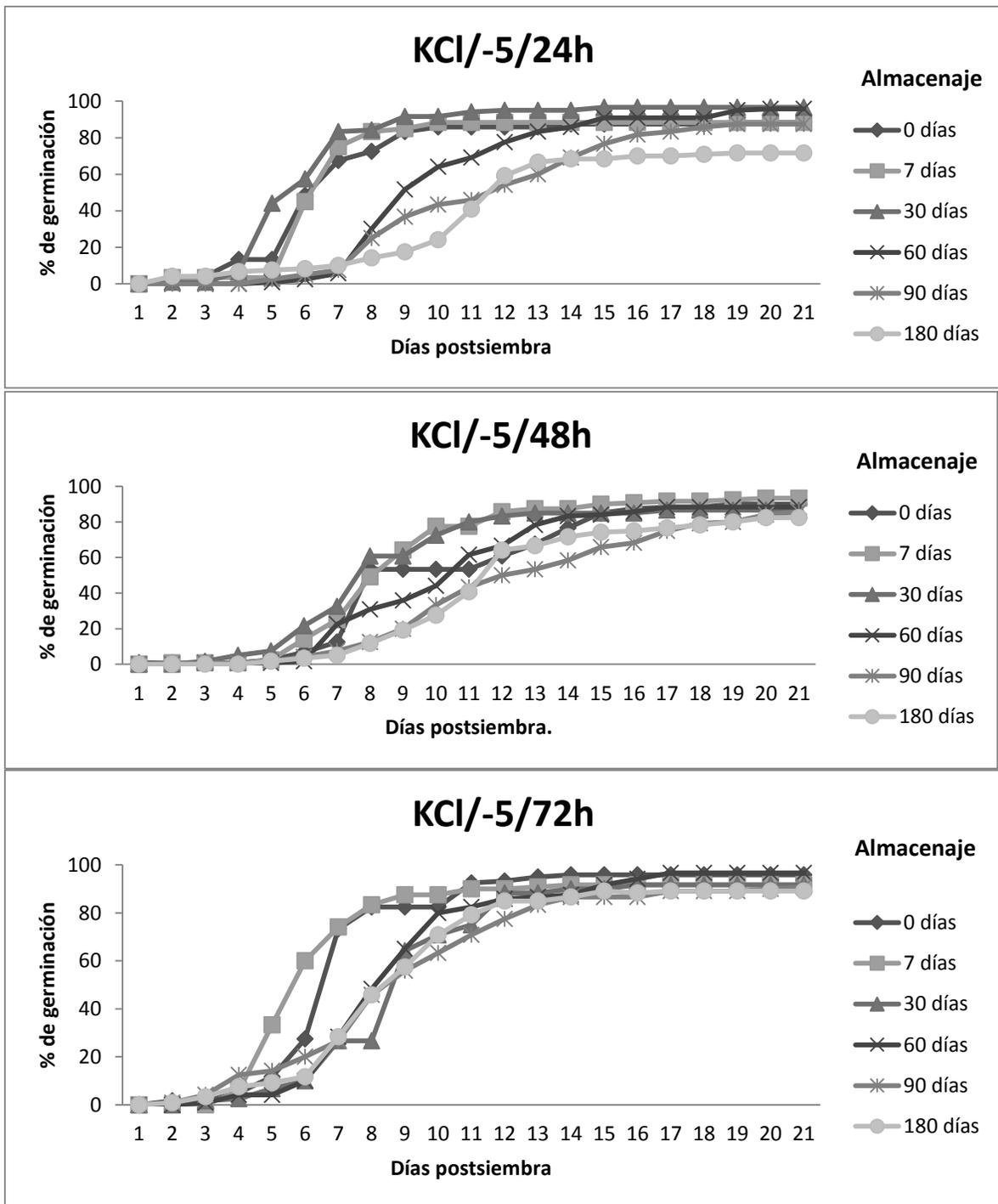


Figura 10. Efecto del haloacondicionamiento de -5 atm de presión osmótica con KCl y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*

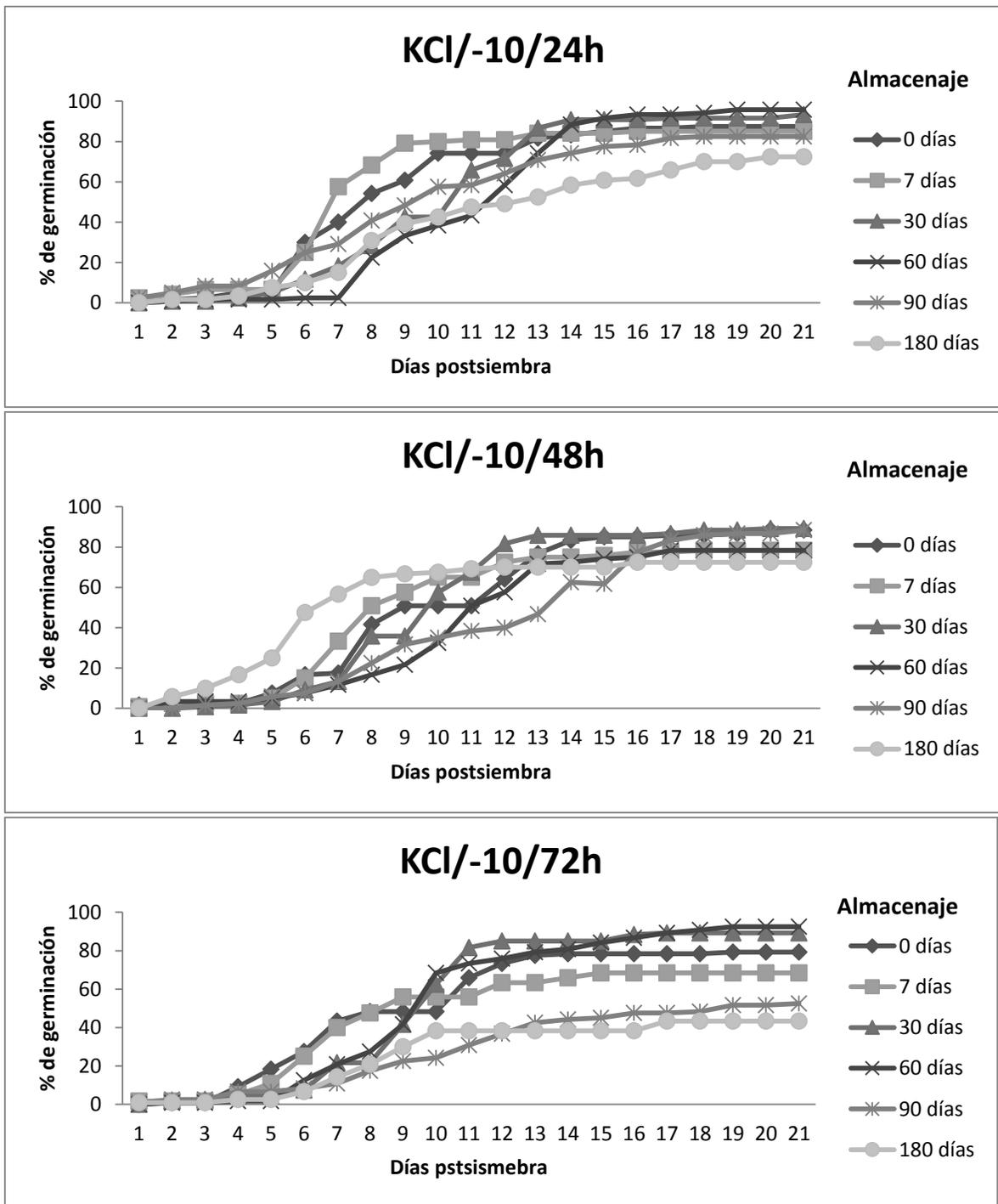


Figura 11. Efecto del halocondicionamiento de -10 atm de presión osmótica con KCl y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*

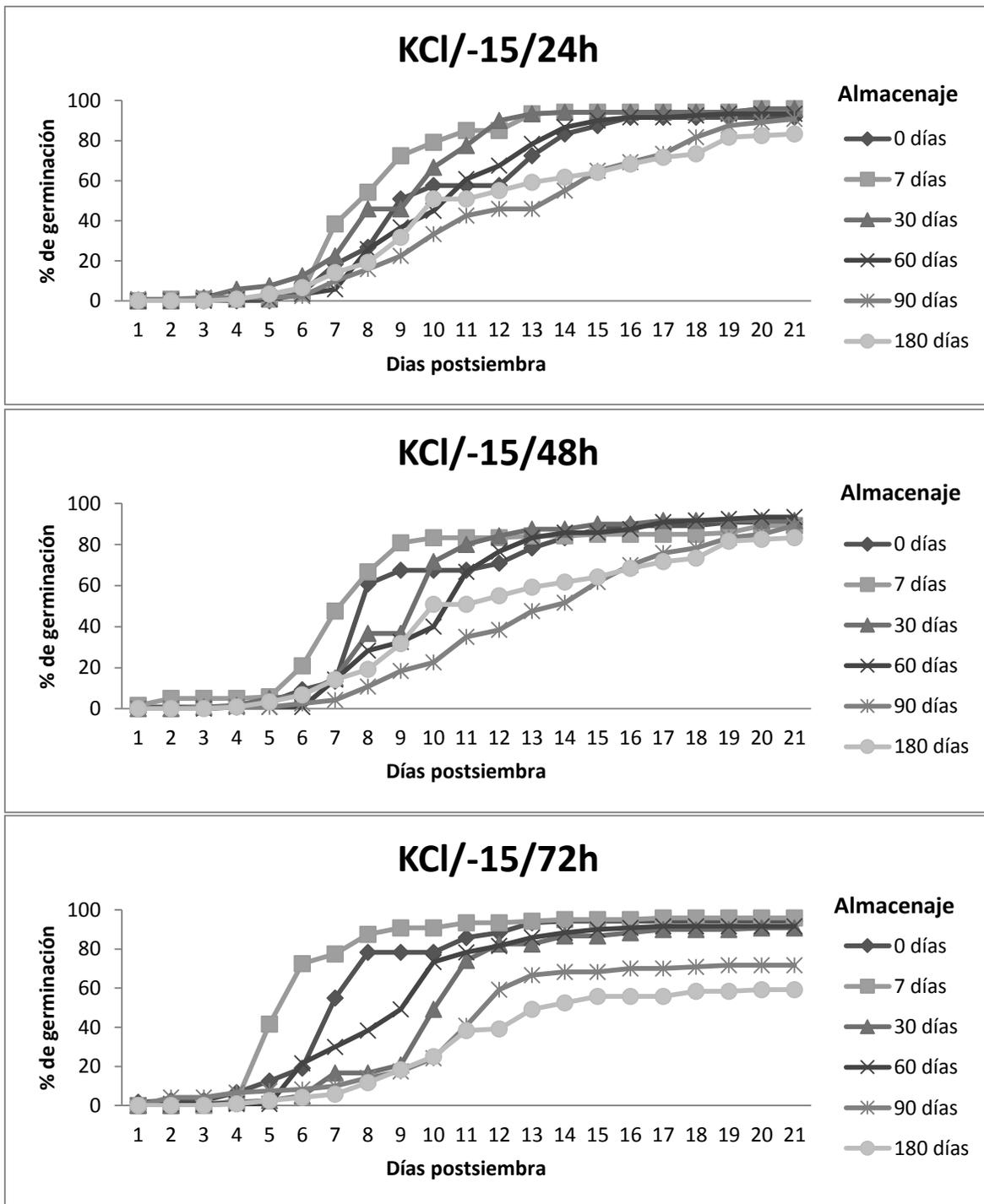


Figura 12. Efecto del halocondicionamiento de -15 atm de presión osmótica con KCl y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

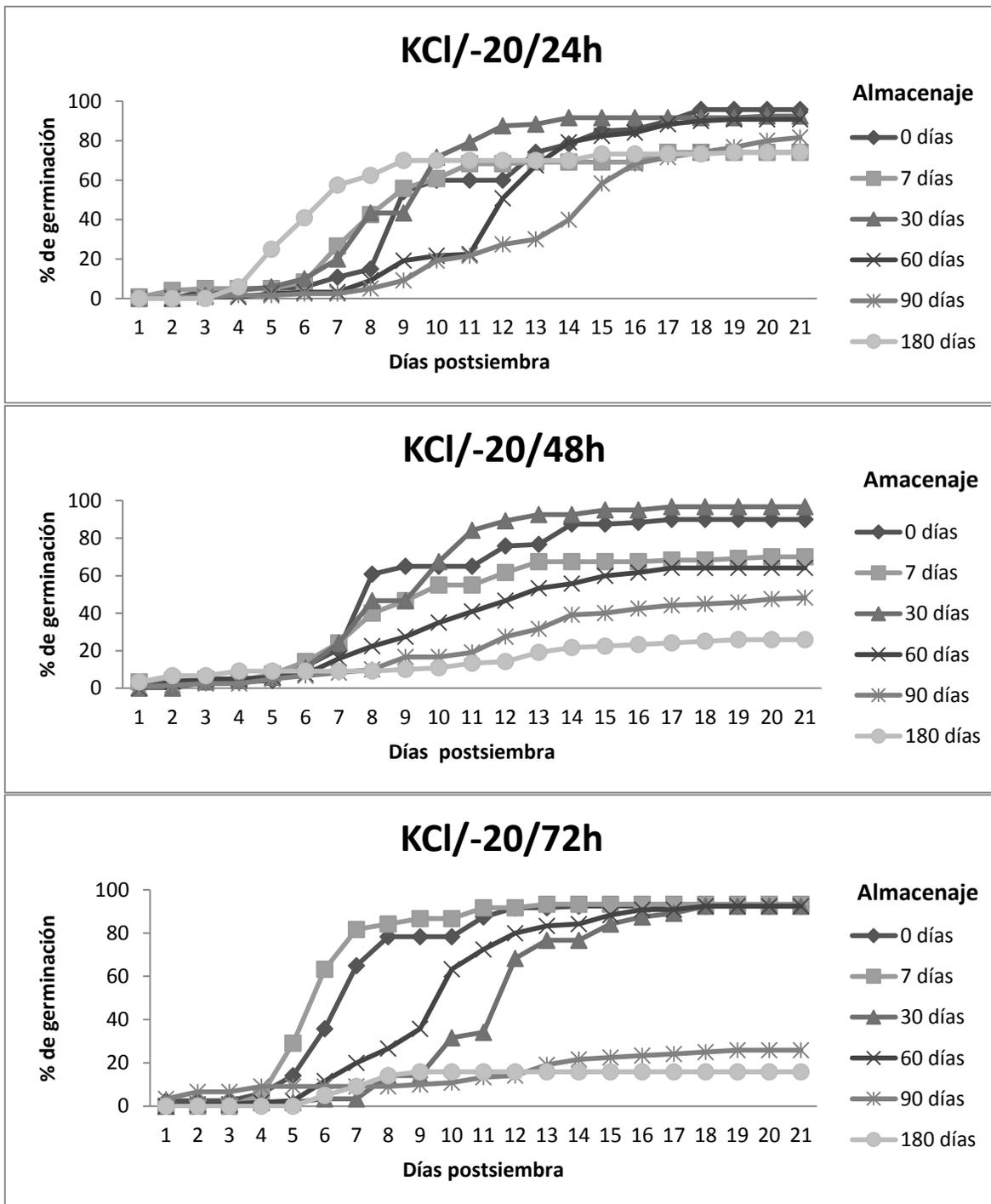


Figura 13. Efecto del haloacondicionamiento de -20 atm de presión osmótica con KCl y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

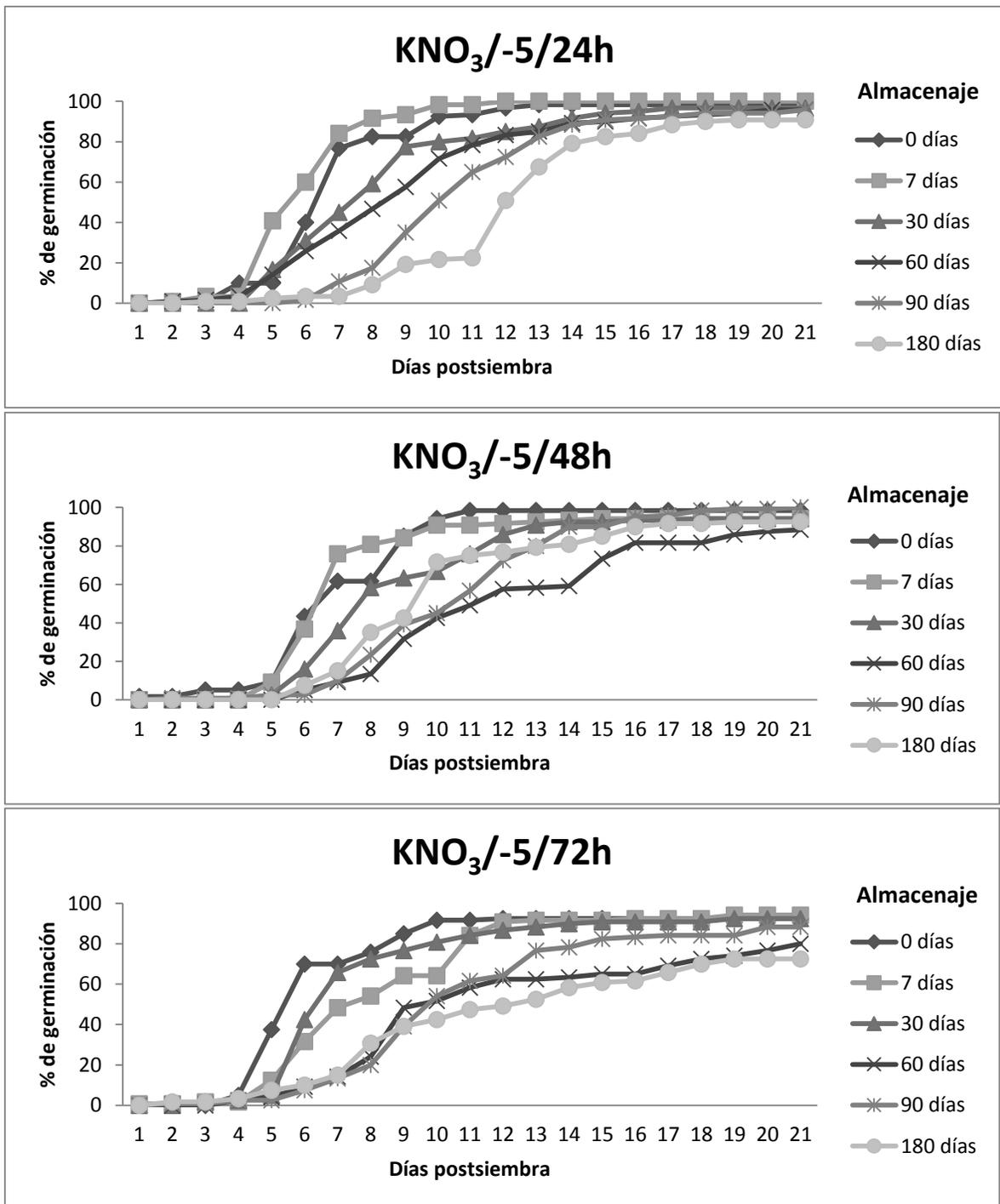


Figura 14. Efecto del halocondicionamiento de -5 atm de presión osmótica con KNO₃ y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

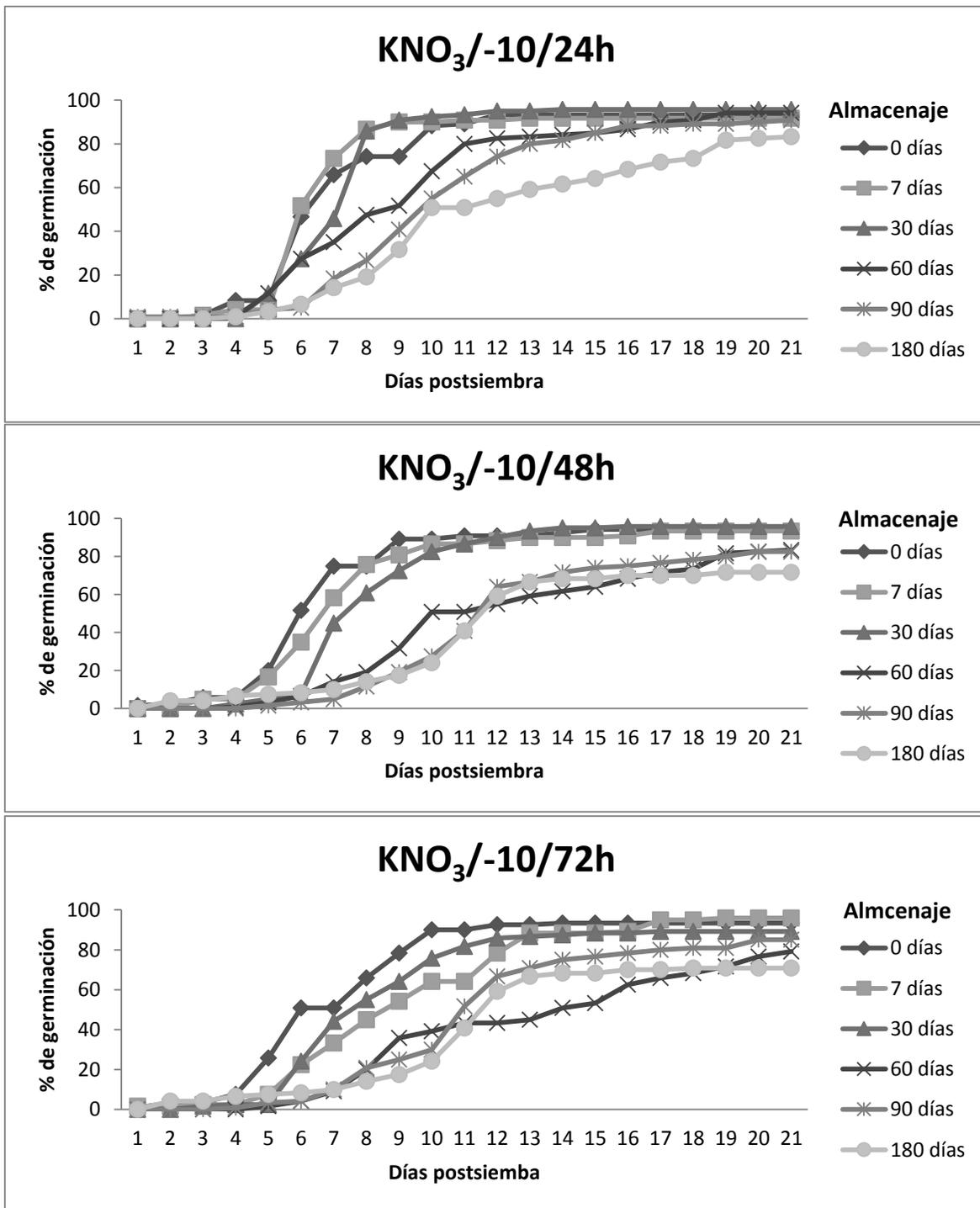


Figura 15. Efecto del halocondicionamiento de -10 atm de presión osmótica con KNO₃ y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

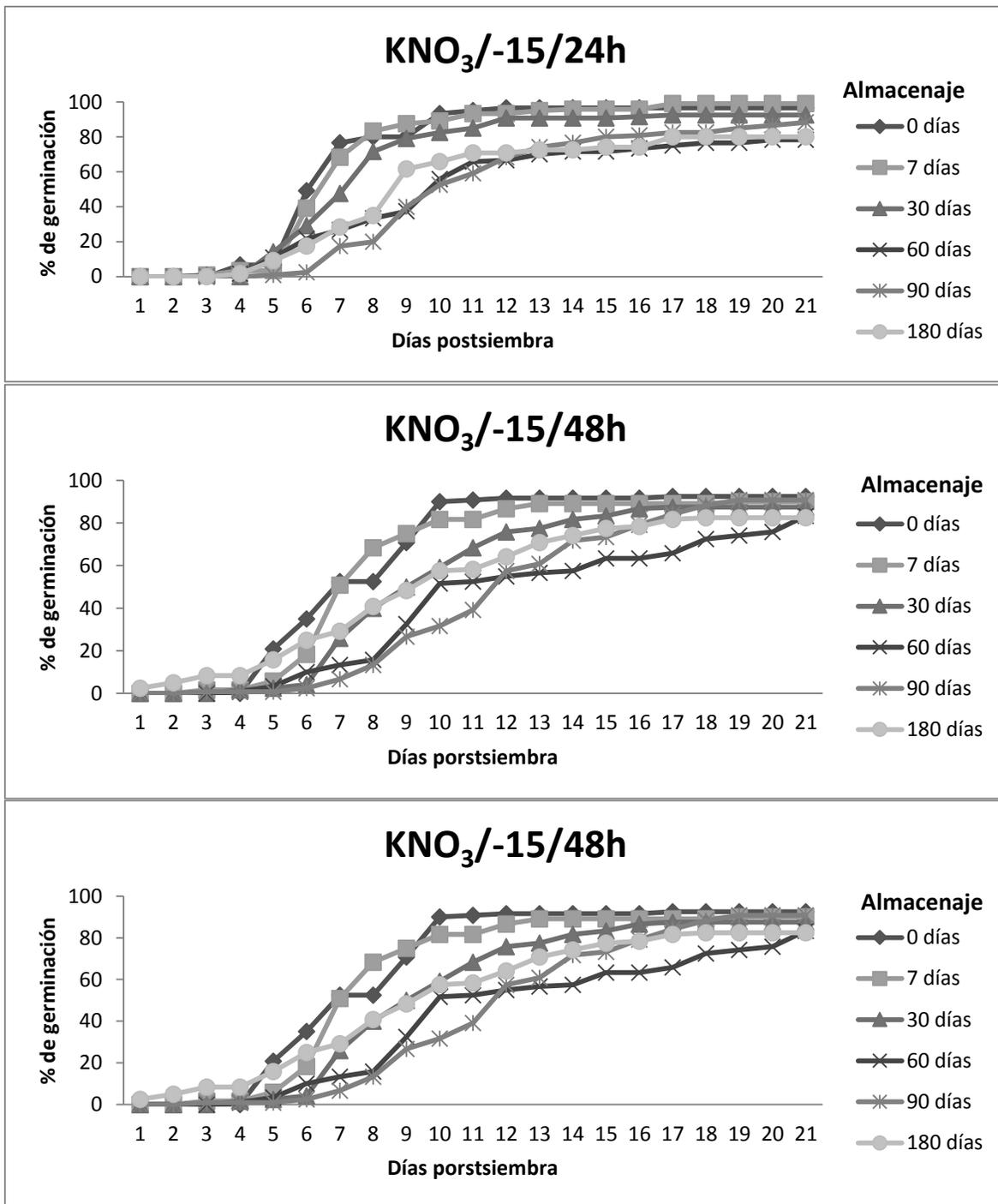


Figura 16. Efecto del halocondicionamiento de -15 atm de presión osmótica con KNO₃ y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

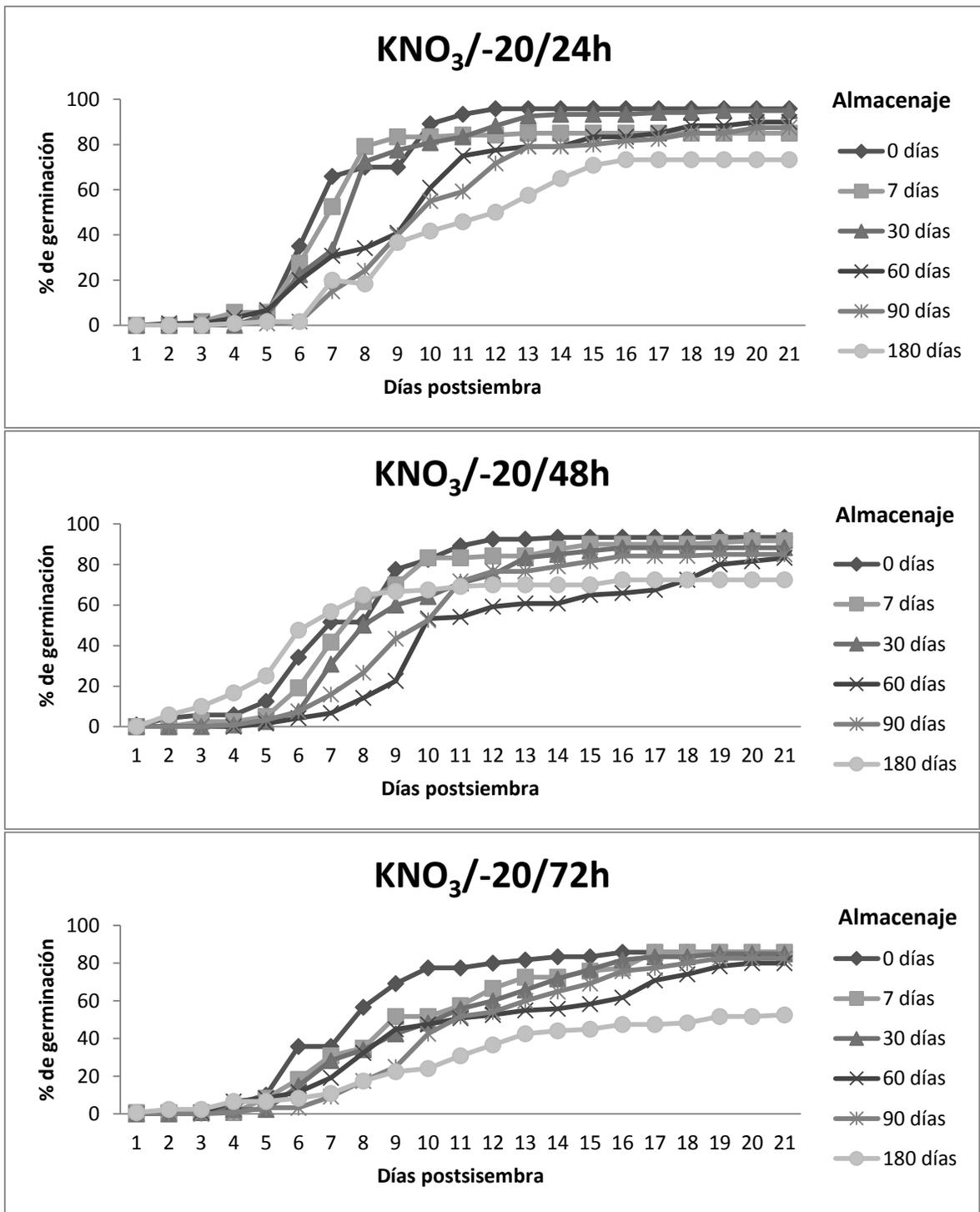


Figura 17. Efecto del halocondicionamiento de -20 atm de presión osmótica con KNO₃ y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

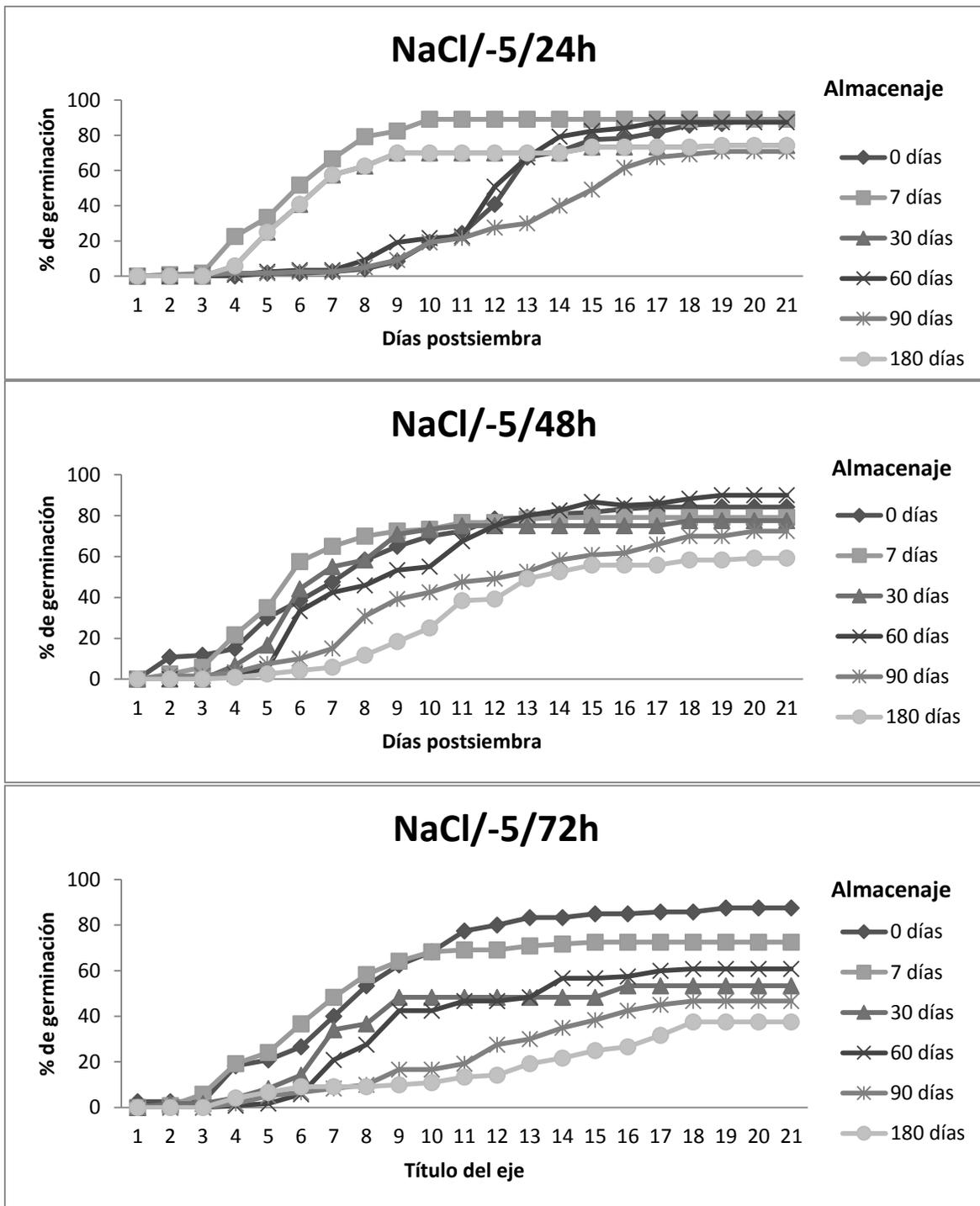


Figura 18. Efecto del haloacondicionamiento de -5 atm de presión osmótica con NaCl y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

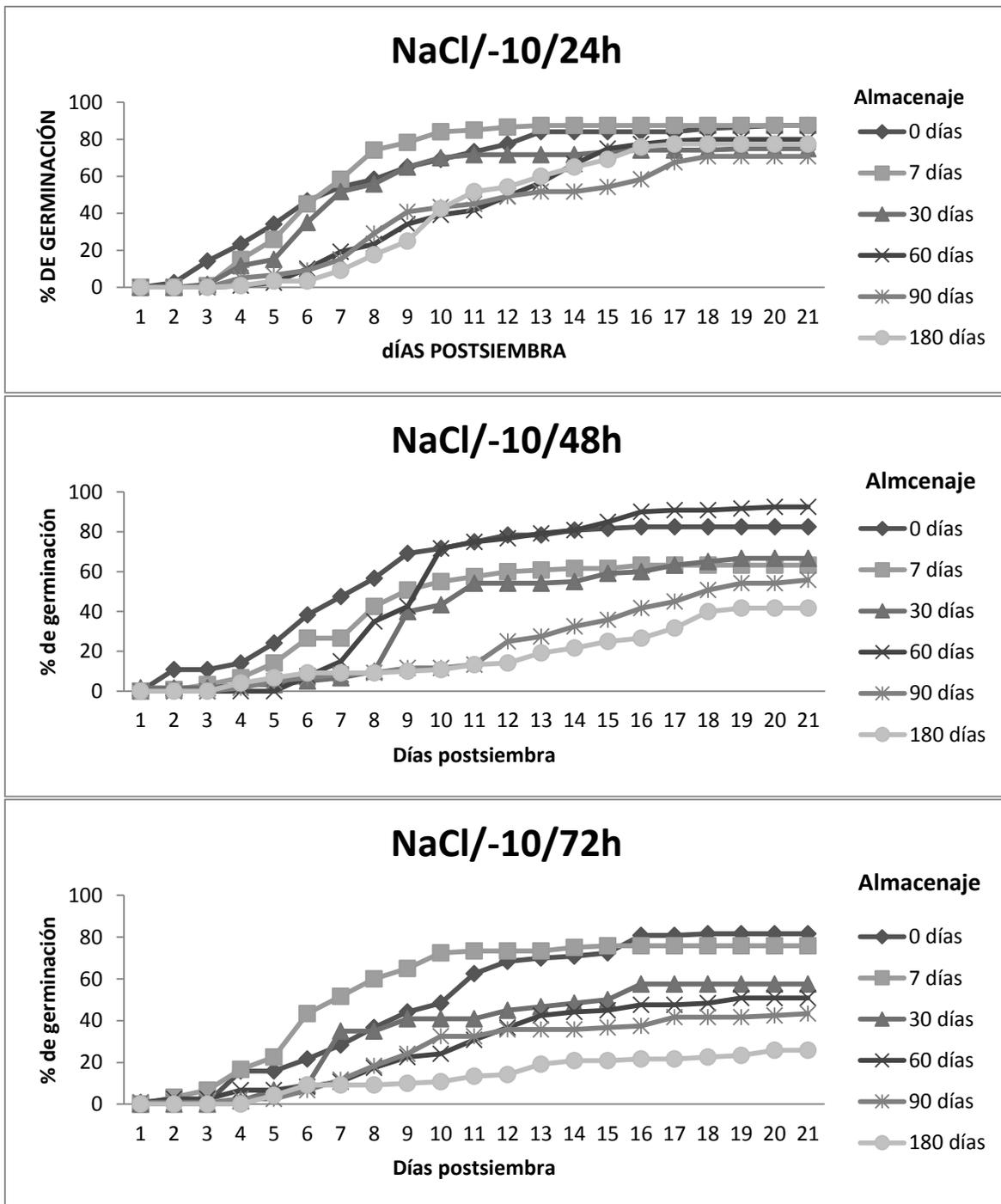


Figura 19. Efecto del halocondicionamiento de -10 atm de presión osmótica con NaCl y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*

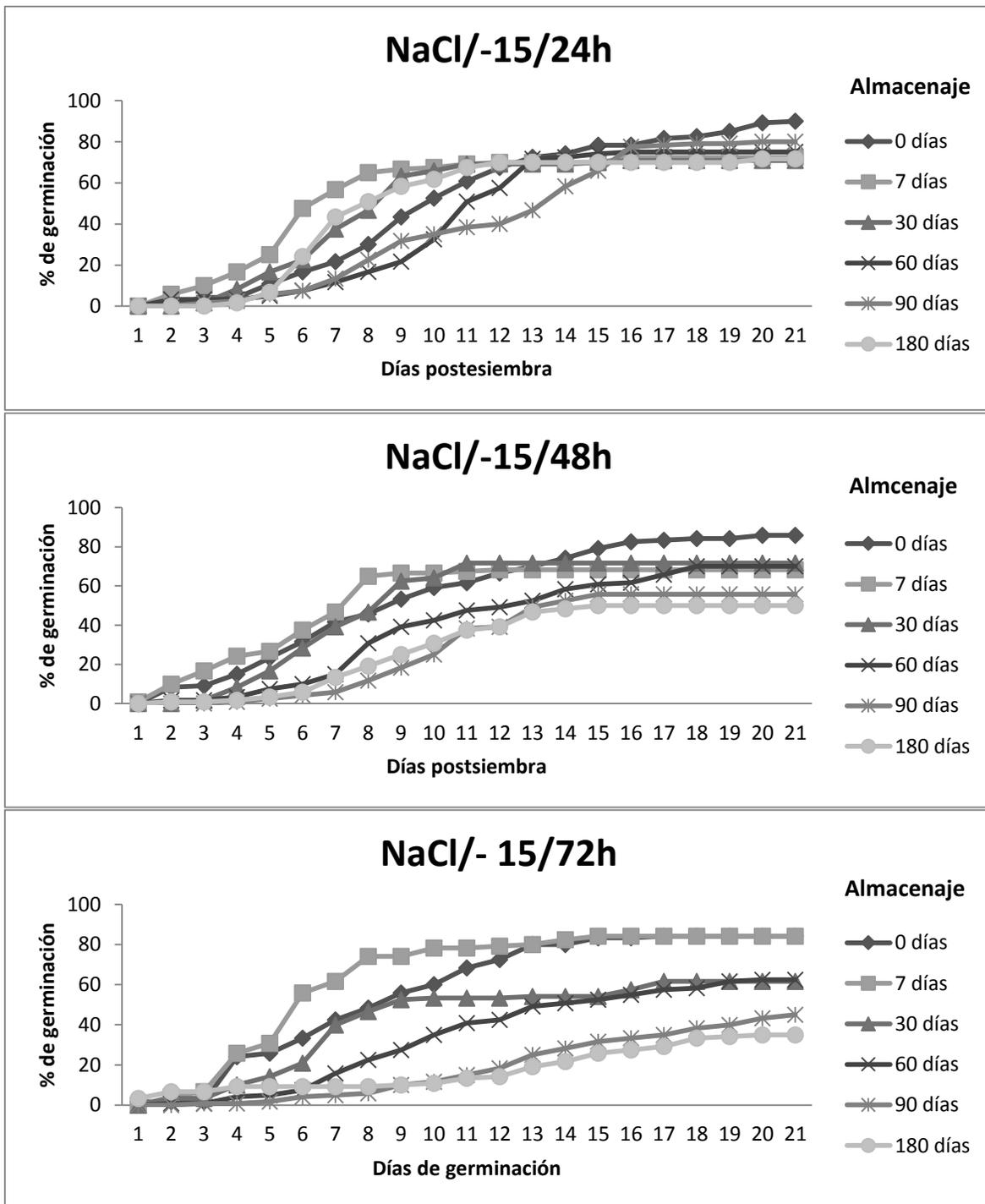


Figura 20. Efecto del halocondicionamiento de -15 atm de presión osmótica con NaCl y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*

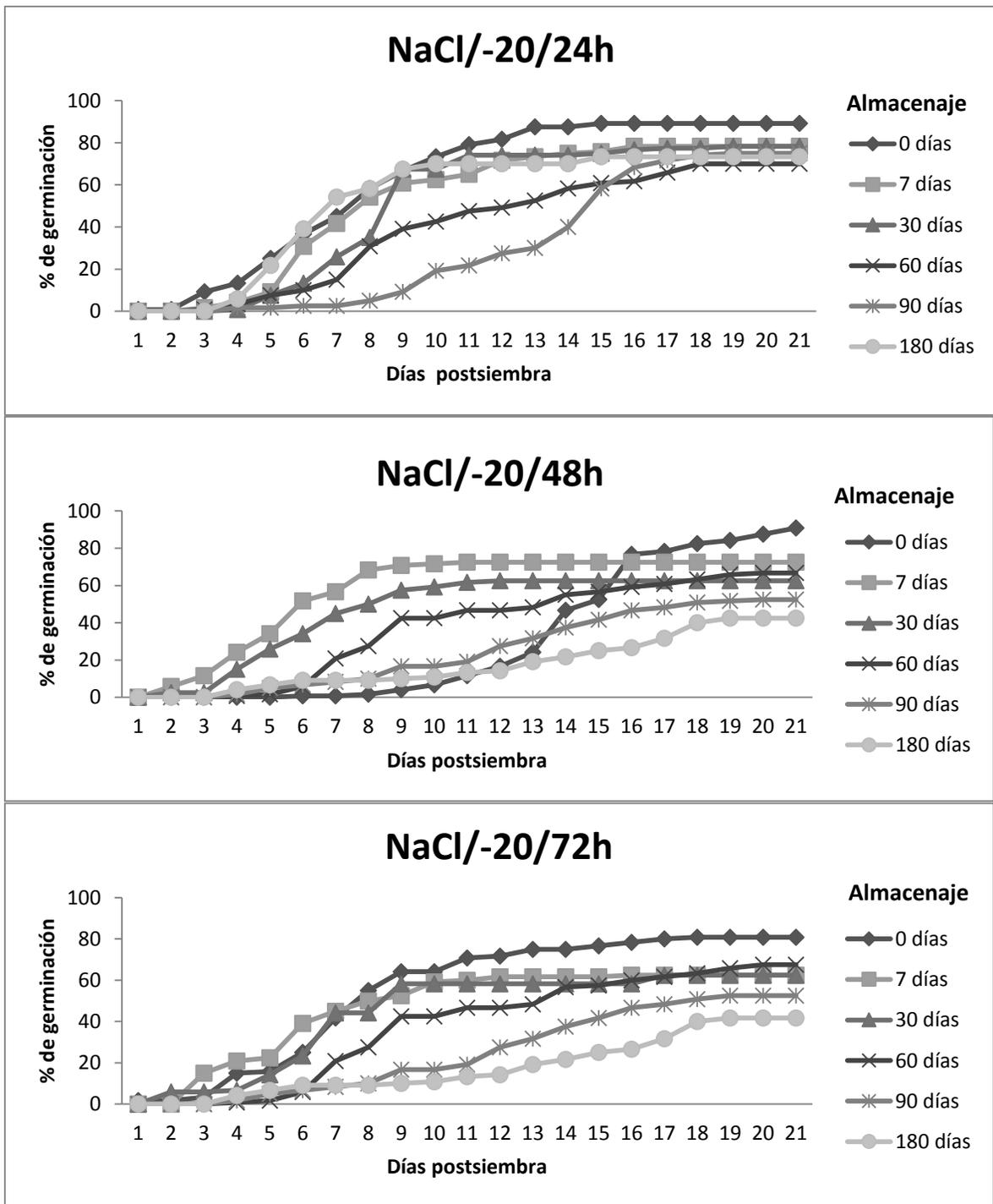


Figura 21. Efecto del halocondicionamiento de -20 atm de presión osmótica con NaCl y los diferentes periodos de imbibición sobre la germinación de semillas de *B. gracilis*.

Para determinar los tratamientos óptimos que favorecen una rápida y homogénea germinación de semillas éstos se agruparon en tres categorías según el porcentaje final de germinación: óptimos (86 – 100%), subóptimos (71 – 85%) y marginales (<70 %). (Tabla 1)

Tabla de grupos de tratamientos basada en el porcentaje de germinación.		
Óptimos. (86– 100%)	Subóptimos. (71 – 85%)	Marginales. (< 70%)
PEG/-15/24 +	PEG/-5/24	PEG/-5/72
PEG/-10/24 * 7.14	PEG/-20/24	PEG/-10/72
KNO ₃ /-20/24	PEG/-5/48	PEG/-15/72
KNO ₃ /-15/24	PEG/-10/48	PEG/-20/72
KNO ₃ /-10/24 * 6.25	PEG/-15/48	KCl/-20/48
KNO ₃ /-5/24 * 5.79	PEG/-20/48	KCl/-10/72
KNO ₃ /-5/48 +	H ₂ O/24	KCl/-20/72
KNO ₃ /-15/48	H ₂ O/48	NaCl/-10/48
KCl/72/-5 * 6.28	KNO ₃ /-20/48	NaCl/-15/48
KCl/-15/48	KNO ₃ /-10/48	NaCl/-20/48
KCl/48/-5 +	KNO ₃ /-5/72	NaCl/-5/72
KCl/24/-15 +	KNO ₃ /-10/72	NaCl/-10/72
KCl/-10/24	KNO ₃ /-15/72	NaCl/-15/72
KCl/-5/24	KNO ₃ /-20/72	NaCl/-20/72
H ₂ O/72	KCl/-20/24	13
15	KCl/-10/48	
	KCl/-15/24	
	NaCl/-5/24	
	NaCl/-10/24	
	NaCl/-15/24	
	NaCl/-20/24	
	NaCl/-5/48	
	23	

Tabla 1. Clasificación de los tratamientos respecto al por ciento final de germinación agrupadas por categorías (óptimos, subóptimos y marginales).

*: Mejores tratamientos con índice de velocidad de germinación.

+: Tratamientos con un buen porcentaje de germinación pero bajo índice de velocidad de germinación (recomendables).

A los tratamientos considerados óptimos según la tabla 1 se les realizó un análisis de varianza para determinar si existen diferencias significativas en el porcentaje de germinación.

Este análisis mostró que hay 8 tratamientos que tienen diferencias significativas en solo uno o ningún periodo de almacenaje.

Poulsen (1993) menciona que el porcentaje final de germinación de un lote de semillas no es suficiente para determinar el grado de calidad que tienen las semillas de una especie, por tanto se deben realizar análisis de vigor que son los más adecuados para evaluar las diferencias respecto a calidad germinativa en lotes de semillas que poseen un alto porcentaje de germinación final. En un lote de semillas, las más vigorosas germinan más rápido en cualquier condición de siembra. Esto es una ventaja para las plantas y el establecimiento de la futura población de la especie a tratar. Para definir el vigor de un lote de semillas, entre otros parámetros, se utiliza el potencial para una rápida y uniforme emergencia y desarrollo de plántulas normales en una amplia gama de condiciones ambientales ya que la velocidad de germinación es una expresión directa del vigor (Van de Venter, 2000).

De estos 8 tratamientos se determinó el índice de velocidad de germinación propuesto por Maguire (1962), que es uno de los más utilizados y se expresa como número de semillas germinadas por día. Su fórmula de cálculo es:

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_i}{N_i} + \dots + \frac{G_n}{N_n} = \sum_{i=1}^n \frac{G_i}{N_i}$$

Posteriormente se realizó nuevamente un análisis de varianza de una sola vía para determinar qué tratamiento es el que presenta el índice de velocidad más alto, y qué otros tratamientos no

son diferentes estadísticamente respecto al tratamiento con mayor índice de velocidad (Tabla 1).

Estos fueron: PEG a -10 atm por 24 horas de imbibición, KCl a -5 atm por 72 horas de imbibición y KNO_3 a -5 y -10 atm por 24 horas de imbibición, los cuales se muestran a continuación y se hace la comparación contra el testigo para evidenciar que en verdad hay un efecto benéfico sobre la velocidad y porcentaje de germinación de las semillas cuando no son tratadas. (Fig. 22 – 25)

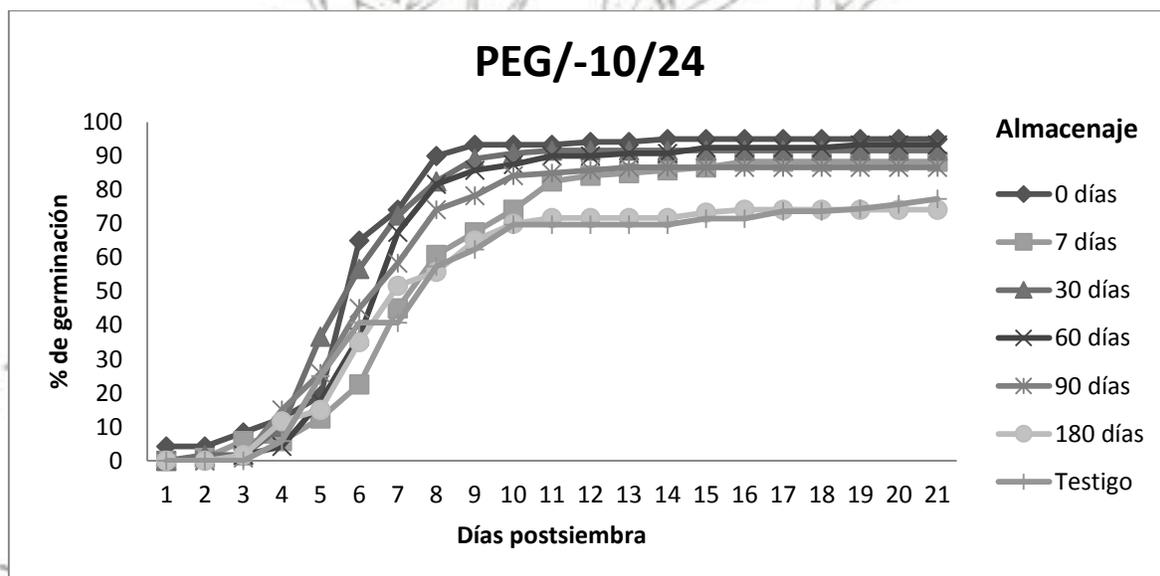


Figura 22. Comparación del testigo contra el osmoacondicionamiento con PEG por 24h y -10 atm de presión osmótica donde se aprecia que la velocidad y porcentaje de germinación es favorecido cuando las semillas son tratadas y estos son estadísticamente diferentes.

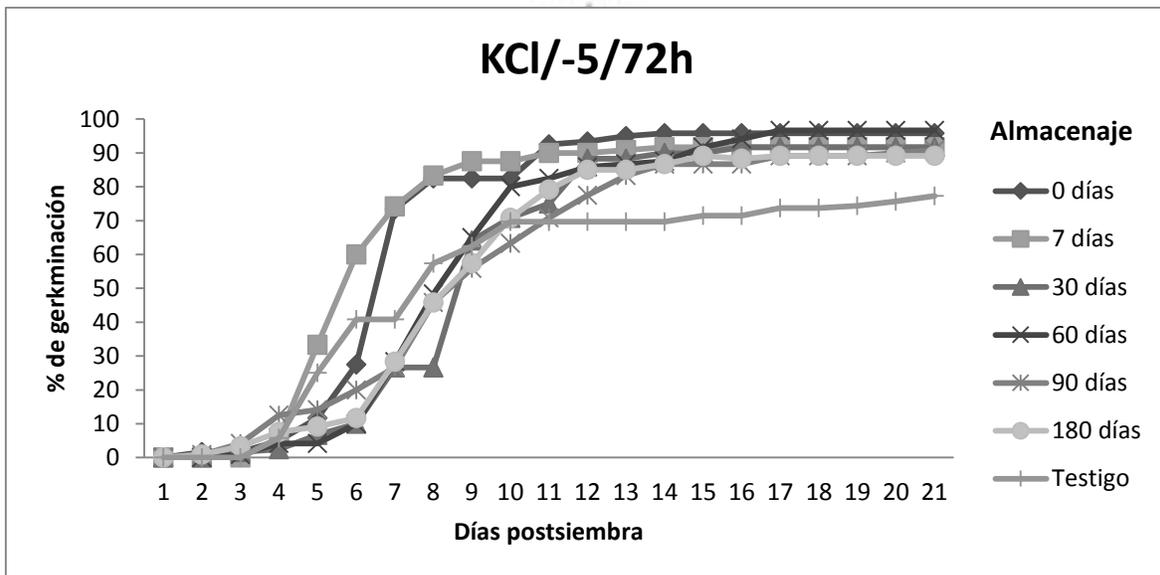


Figura 23. Comparación del testigo contra el haloacondicionamiento con KCl por 72h y -5 atm de presión osmótica donde se aprecia que la velocidad y porcentaje de germinación es favorecido cuando las semillas son tratadas y estos son estadísticamente diferentes.

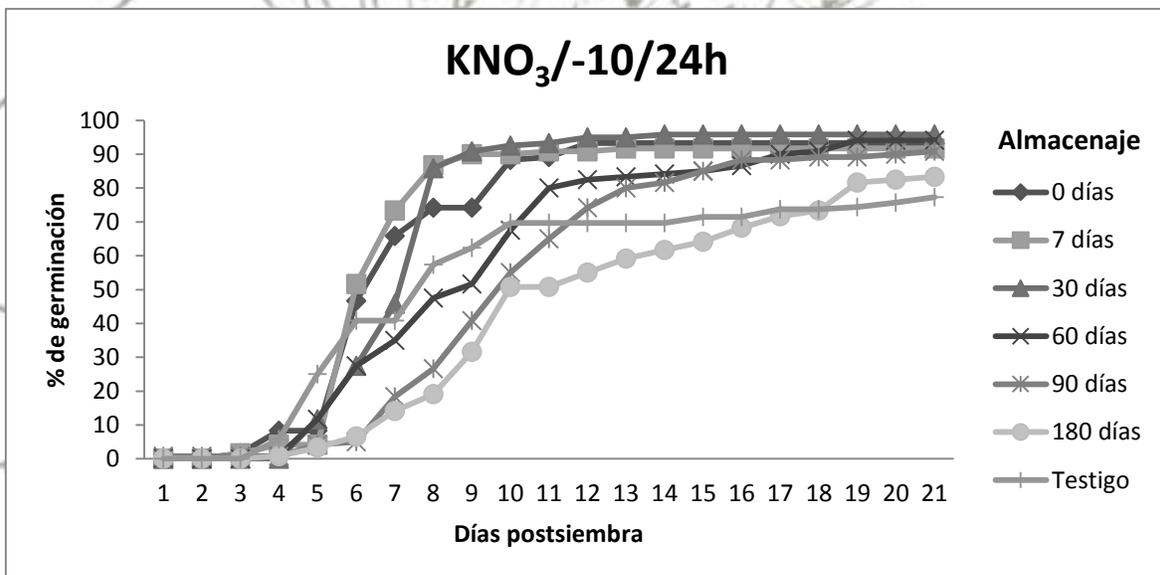


Figura 24. Comparación del testigo contra el haloacondicionamiento con KNO₃ por 24h y -10 atm de presión osmótica donde se aprecia que la velocidad y porcentaje de germinación es favorecido cuando las semillas son tratadas y estos son estadísticamente diferentes.

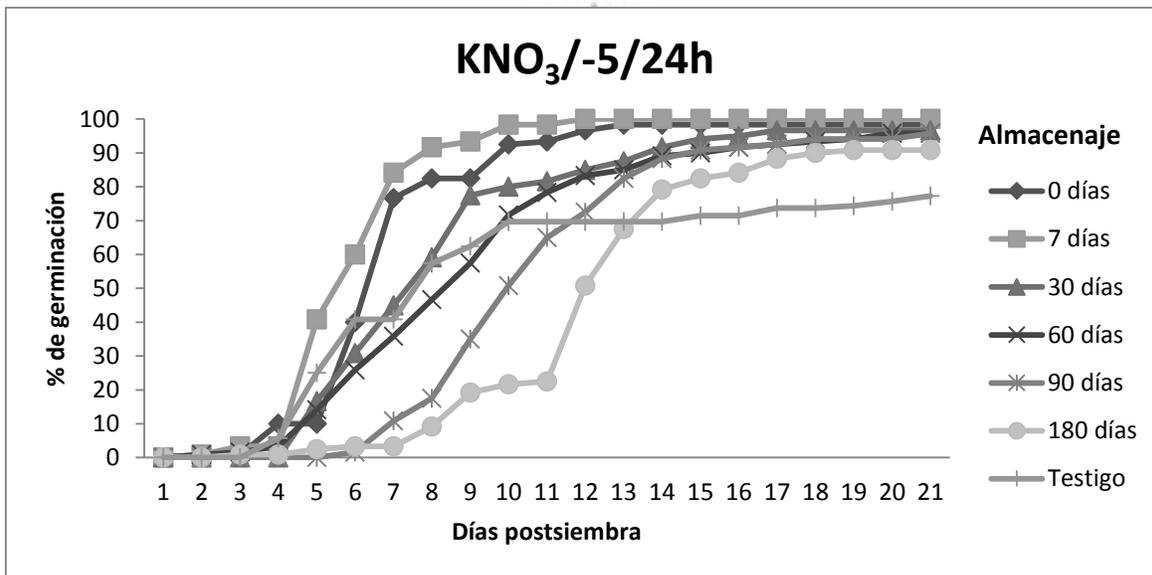


Figura 25. Comparación del testigo contra el haloacondicionamiento con KNO₃ por 24h y -5 atm de presión osmótica donde se aprecia que la velocidad y porcentaje de germinación es favorecido cuando las semillas son tratadas y estos son estadísticamente diferentes.

Adicionalmente se realizaron tablas (Tablas 2 – 4) donde se muestra el tiempo en días para alcanzar el G50 para cada osmoacondicionante, presión osmótica utilizada, tiempo de imbibición y almacenaje y se marca a que categoría pertenece según la Tabla 1.

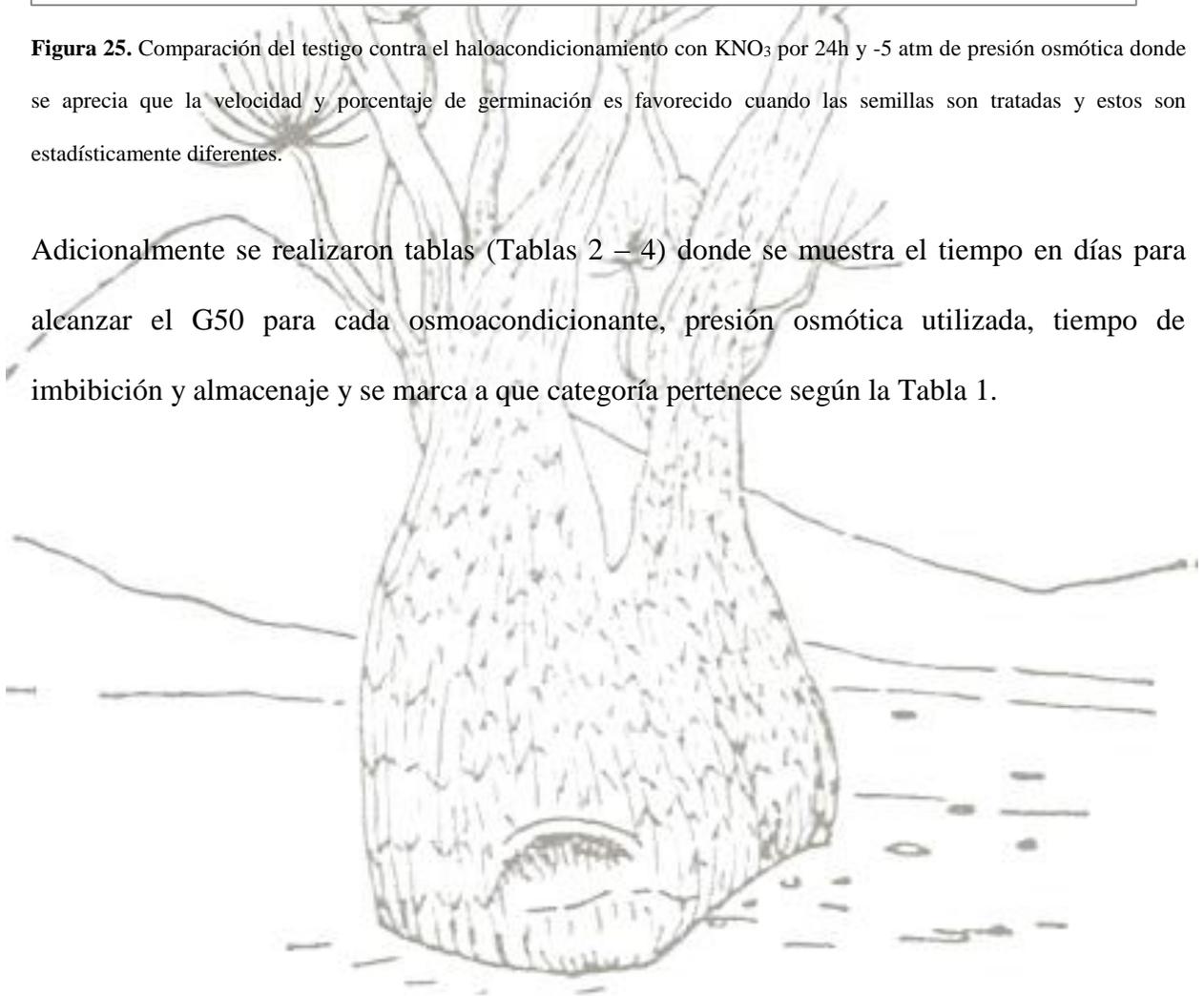


Tabla 2. Se muestra el tiempo (días) para alcanzar el G50 a los distintos tiempos de almacenaje, osmoacondicionantes empleados y presiones osmóticas con 24 horas de imbibición. Testigo 8 días.

0 días de almacén	24 horas de imbibición	0 atm.	-5 atm.	-10 atm.	-15 atm.	-20 atm.
	KCl	14 °	7 ±	8 ±	9 +	9 °
	KNO ₃		7 *	7 *	7 ±	7 ±
	NaCl		13 °	7 °	10 °	8 °
	PEG		6 °	6 *	6 +	6 °
7 días de almacén						
	KCl	7 °	7 ±	7 ±	8 +	9 °
	KNO ₃		6 *	6 *	7 ±	7 ±
	NaCl		6 °	7 °	7 °	8 °
	PEG		8 °	8 *	8 +	7 °
30 días de almacén						
	KCl	11 °	6 ±	11 ±	10 +	10 °
	KN O ₃		8 *	8 *	8 ±	8 ±
	NaCl		7 °	7 °	9 °	9 °
	PEG		7 °	6 *	7 +	7 °
60 días de almacén						
	KCl	10 °	9 ±	12 ±	11 +	12 °
	KNO ₃		9 *	9 *	10 ±	10 ±
	NaCl		12 °	11 °	11 °	11 °
	PEG		9 °	7 *	7 +	8 °
90 días de almacén						
	KCl	11 °	12 ±	10 ±	14 +	15 °
	KNO ₃		10 *	10 *	10 ±	10 ±
	NaCl		14 °	12 °	13 °	14 °
	PEG		11 °	7 *	10 +	10 °
180 días de almacén						
	KCl	11 °	12 ±	13 ±	10 +	7 °
	KNO ₃		12 *	10 *	9 ±	13 ±
	NaCl		7 °	11 °	15 °	7 °
	PEG		9 °	7 *	14 +	7 °

* Mejores. + Recomendables. ± Óptimos. ° Subóptimos. Marginales

Tabla 3. Se muestra el tiempo (días) para alcanzar el G50 a los distintos tiempos de almacenaje, osmoacondicionantes empleados y presiones osmóticas con 48 horas de imbibición.

0 días de almacén	48 horas de imbibición	0 atm.	-5 atm.	-10 atm.	-15 atm.	-20 atm.
	KCl	10 °	8 +	9 °	8 ±	8
	KNO ₃		7 +	6 °	7 ±	7 °
	NaCl		8 °	8	10	15
	PEG		5 °	6 °	6 °	7 °
7 días de almacén						
	KCl	8 °	9 +	8 °	8 ±	10
	KNO ₃		7 +	7 °	7 ±	8 °
	NaCl		6 °	9	8	6
	PEG		7 °	7 °	7 °	7 °
30 días de almacén						
	KCl	6 °	8 +	10 °	10 ±	10
	KNO ₃		8 +	8 °	10 ±	9 °
	NaCl		7 °	11	9	9
	PEG		8 °	7 °	9 °	8 °
60 días de almacén						
	KCl	6 °	11 +	11 °	11 ±	13
	KNO ₃		12 +	10 °	10 ±	10 °
	NaCl		9 °	10	12	14
	PEG		9 °	8 °	11 °	9 °
90 días de almacén						
	KCl	10 °	13 +	14 °	14 ±	X
	KNO ₃		11 +	12 °	12 ±	10 °
	NaCl		13 °	7	13	15
	PEG		10 °	12 °	11 °	11 °
180 días de almacén						
	KCl	10 °	12 +	7 °	9 ±	X
	KNO ₃		10 +	12 °	10 ±	7 °
	NaCl		14 °	X	15	X
	PEG		13 °	12 °	7 °	7 °

* Mejores. + Recomendables. ± Óptimos. ° Subóptimos. Marginales

Tabla 4. Se muestra el tiempo (días) para alcanzar el G50 a los distintos tiempos de almacenaje, osmocondicionantes empleados y presiones osmóticas con 72 horas de imbibición.

0 días de almacen	72 horas de imbibición	0 atm.	-5 atm.	-10 atm.	-15 atm.	-20 atm.
	KCl	7 +	7 *	11	7 °	7 °
	KNO ₃		6 °	6 °	8 °	8 °
	NaCl		8	11	6	7
	PEG		6	7	8	7
7 días de almacen						
	KCl	7 +	6 *	9	6 °	6 °
	KNO ₃		8 °	9 °	11 °	9 °
	NaCl		8	7	9	8
	PEG		10	10	10	10
30 días de almacen						
	KCl	10 +	9 *	10	11 °	12 °
	KNO ₃		7 °	8 °	12 °	11 °
	NaCl		16	14	14	8
	PEG		9	9	9	11
60 días de almacen						
	KCl	10 +	9 *	10	10 °	10 °
	KNO ₃		10 °	14 °	13 °	11 °
	NaCl		14	19	X	14
	PEG		11	11	11	13
90 días de almacen						
	KCl	12 +	9 *	19	12 °	10 °
	KNO ₃		10 °	11 °	14 °	11 °
	NaCl		X	X	X	18
	PEG		12	12	11	11
180 días de almacen						
	KCl	12 +	9 *	X	14 °	X
	KNO ₃		13 °	12 °	16 °	17 °
	NaCl		X	X	X	X
	PEG		12	11	12	12

* Mejores. + Recomendables. ± Óptimos. ° Subóptimos. Marginales

9 DISCUSIÓN

9.1 Presiembra

La siembra de una semilla puede parecer una acción sencilla ya que consiste en cavar un hoyo, introducir la semilla, cubrir con tierra, regar y esperar a que germine, sin considerar que existen otros aspectos del entorno que pueden afectar dicho proceso. Éstos son los efectos de los factores externos tanto bióticos (hongos, bacterias, insectos), como abióticos (luz, temperatura, agua, humedad relativa, medio ambiente gaseoso), a los que se expondrá y que podrían limitar o incluso inhibir su germinación y posterior crecimiento y desarrollo.

No todas las semillas germinan de inmediato después de desprenderse de la planta madre, particularmente para el caso de las semillas de los árboles y arbustos pueden tener la capacidad de retrasar su germinación y hacerlo en períodos del año donde las condiciones naturales favorezcan la supervivencia de las plántulas, desarrollando latencias o dormancias en sus semillas. Otras presentan cubiertas de sus testas tan duras que requieren de la abrasión para poder germinar y en la naturaleza esto puede lograrse debido al paso a través del tracto digestivo de aves u otros animales que se alimentan de sus frutos. Es así que se observó que muchas semillas sufren tratamientos de presiembra en la naturaleza y que es factible aplicarlos bajo condiciones controladas en el laboratorio y en los campos agrícolas (Taiz y Zeiger, 2006)

Si bien puede ser que ciertas semillas no requieran de ningún tratamiento de pregerminación como es el caso de la siembra directa, otras sí lo requieren, como son el caso de las semillas que requieren estratificación donde se da una rehidratación lenta y que permitirá una germinación más homogénea y la escarificación donde se adelgaza la cubierta exterior de las

semillas con tratamiento de agua a 90°C y posterior inmersión de agua a temperatura ambiente provocando un choque térmico.

Durante la germinación de la semilla tres aspectos deben de cuidarse: i) las sustancias de reserva, ii) la nutrición y iii) el vigor de su embrión. (Giménez Sampaio *et al.*, 1991; Rojo Hernández, 2005)

9.2 Efecto de los agentes osmóticos

Tres de los cuatro agentes osmóticos utilizados KCl, PEG 8000 y KNO_3 superaron al testigo en el porcentaje de germinación como se muestra en las Figuras 4 – 21 comparados con la Figura 0, particularmente en los tratamientos a 24 horas y a 48 horas de imbibición, no así para el de 72 horas; las Tablas 2 - 4 muestran el tiempo en que las semillas tratadas con los 4 osmoacondicionantes alcanzan el G50, se observa que estos tres agentes osmóticos (KCl, PEG 8000 y KNO_3) mejoran el tiempo de obtención del G50 así como los tiempos de imbibición de 24 y 48 horas conservan esta propiedad. Es así que las semillas osmoacondicionadas con KNO_3 , PEG 8000 y KCl mejoraron la tasa de germinación en más de 25%, reducen el número de semillas latentes (no germinadas) y se reducen de 24 a 72h el tiempo para alcanzar el G50 con respecto al testigo.

De los osmoacondicionantes utilizados el NaCl no mostró los resultados esperados ni en velocidad ni en porcentaje de germinación, reduciendo el porcentaje de germinación hasta en un 30% de las semillas con respecto al testigo.

9.3 Potenciales osmóticos

Como se observa en las Figuras 4 – 21, con 24 horas de imbibición en la solución y con presiones osmóticas de -5 atm y -10 atm hay diferencias significativas entre las variables evaluadas correspondientes a este factor (presión osmótica). A una menor presión osmótica (-15 atm y -20 atm) la germinación de las semillas disminuye con respecto al testigo y a los otros tratamientos para *Beaucarnea gracilis*.

Los potenciales osmóticos de -5 atm y -10 atm, mostraron mayor porcentaje de germinación, así como también mostraron una mayor rapidez en la germinación que se visualiza en la obtención del G50 en un tiempo menor. (Tablas 2 – 4)

El potencial osmótico de -10 atm, obtuvo el mayor porcentaje de germinación con PEG y 24 horas de imbibición. Así mismo bajo esta presión osmótica del PEG, se obtuvieron los mayores porcentajes de semillas germinadas, además de lograr el G50 en el período más corto, que fue de 6 días. Estos resultados difieren de los de Marín Sánchez *et al.*, (2007a) quienes obtuvieron resultados positivos para semillas de cebolla con su tratamiento de agua (hidroacondicionadas), es decir, con potenciales más altos que con las semillas con tratamiento osmótico, esto tal vez debido a las características biológicas propias de la especie estudiada. Rehman *et al.*, (1997) determinaron que para semillas de diez especies de *Acacia* coinciden en que al aumentar el tiempo de imbibición de las semillas en la solución osmótica o aumentar la concentración de sales de la misma, las semillas sufren daños que se ven reflejados en el vigor y viabilidad de las mismas, coincidiendo con el trabajo de Khan (1997).

Flores y Briones (2011) hacen constar que para *B. gracilis* un potencial osmótico menor a cero (- 6 atm), promueve una tasa de germinación mayor, concordando con nuestra obtención de

germinación entre -5 atm y - 10 atm donde obtuvimos los mayores porcentajes de germinación en comparación con el uso de agua destilada.

9.4 Período de acondicionamiento osmótico

En el tratamiento de imbibición de 24 horas con los cuatro osmoacondicionantes se observaron los mejores resultados en cuanto a la velocidad de germinación que en promedio para KCl fue de 9.87 días, de 8.62 días para el KNO_3 , para PEG 8000 de 7.95 días y NaCl de 9.96 días. Después de tratar por 48 horas las semillas, bajó la velocidad de germinación siendo de 10.06 días para KCl, KNO_3 8.99 días, PEG 8000 8.49 días y NaCl 10.49 días. A las 72 horas de imbibición, con excepción del KCl a 9.74 días para los otros tres osmoacondicionantes, se redujo aún más el porcentaje de germinación así como la velocidad para alcanzar el G50 siendo para el KNO_3 10.74 días, PEG 8000 10.58 días y en el NaCl 11.25 días. Rehman *et al.* (1997) reportan que un período de acondicionamiento osmótico prolongado daña las semillas donde se demuestra que con períodos prolongados existe el riesgo de que los iones de los agentes osmóticos penetren la semilla y el embrión (Rojo Hernández 2005); por su parte Binang et al. (2012) consideran que al osmoacondicionar semillas de arroz variedad NERICA obtuvieron la mejor calidad fisiológica con 24 horas de tratamiento y PEG 6000 como osmoacondicionante. Al prolongar el período de osmoacondicionamiento Sang et al. (2008) en semillas de pastos costero, Piedrahita (1998) con semillas de *Pinus patula* observaron que se incrementan los porcentajes de germinación así como la velocidad coincidiendo estos resultados con el presente estudio, demostrando así que el proceso de imbibición con osmoacondicionamiento activa el metabolismo al penetrar el agua de manera controlada para especies provenientes de distintos ecosistemas.

9.5 Períodos de almacenamiento

El acondicionamiento osmótico de las semillas es una técnica que mejora el proceso de germinación; sin embargo, reduce el período de almacenamiento, lo que representa una limitante de esta tecnología. Wolkers *et al.*, (1999) comentan que el almacenamiento para semillas osmoacondicionadas es el resultado de interacciones complejas entre factores físicos y bioquímicos que desestabilizan las proteínas y que se incrementa la susceptibilidad del ADN a sufrir daños durante el almacenamiento debido a que se modifica la cantidad de proteínas que codifica (Boubriak *et al.*, 2000 y Chiatante y Onelli, 1993). Gurusinghe y Bradford (2001) coincidieron con lo señalado anteriormente e indicaron que las semillas de varias especies osmoacondicionadas durante períodos cortos reducen su tiempo de almacenamiento. En esta investigación se demostró que al prolongar el tiempo de almacenamiento de las semillas, su calidad fisiológica fue perdiéndose, reflejada en la disminución de la viabilidad y vigor de las semillas como se observa en la columna de almacenamiento de las Tablas 2 - 4, donde se observa que a mayor tiempo la velocidad de germinación disminuye. No obstante algunos tratamientos, a pesar del paso del tiempo, conservan una calidad fisiológica de las semillas similar al ser poco notoria la pérdida de vigor y viabilidad al someterlas a germinación como se observa en la Tabla 1 - 4.

Los períodos de almacenamiento de 90 y 180 días mostraron el más bajo porcentaje de germinación y por consecuencia el mayor porcentaje de semillas latentes o muertas en comparación con los periodos cortos de almacenaje. Estos resultados concuerdan con los de Atherton y Faroque (1983), quienes observaron que los efectos benéficos del acondicionamiento osmótico pueden perderse durante el almacenamiento y difieren de los de

Marín Sánchez et al (2007b) con semillas de tomate verde, donde observaron que al prolongar el almacenamiento de las semillas, obtuvieron los mejores resultados, pero es de importancia señalar que atribuyen sus resultados a que las semillas carecen de un embrión maduro, por lo que es necesario un período de almacenamiento para que éste llegue a su madurez y la semilla pueda germinar adecuadamente.

9.6 Interacciones

9.6.1 Agente osmótico x potencial osmótico.

En esta interacción se observó que tanto el potencial osmótico como el reactivo utilizado tienen un efecto sobre las variables evaluadas, el NaCl no resultó ser un buen agente osmótico para las semillas de *B. gracilis* ya que las semillas que fueron tratadas con esta sal tuvieron un pobre desempeño tanto en velocidad como en el porcentaje de germinación con respecto al testigo y los demás agentes osmocondicionantes. Los mayores porcentajes de germinación e índices de velocidad se obtuvieron en las semillas tratadas con PEG 8000, a -10 atm, en comparación con los demás agentes osmóticos y el testigo, estos resultados concuerdan con el trabajo de Parera y Cantliffe (1994) quienes mencionaron que el polietilenglicol tiene ventajas sobre las sales inorgánicas al ser una sustancia inerte y no producir efectos tóxicos en el embrión, debido a que por ser tan grande la molécula del PEG-8000 no puede entrar en la semilla regulando el paso del agua.

9.6.2 Agente osmótico x período de almacenamiento.

Se observaron diferencias significativas para los porcentajes de germinación y la obtención del G50 en la relación agente osmótico/período de almacenamiento. Independientemente del

agente osmótico utilizado con el paso del tiempo de almacenamiento baja el porcentaje y velocidad de germinación.

La baja en la tasa de germinación y velocidad para obtener el G50 es menos evidente en los tratamientos con PEG 8000 a -10 atm con 24 horas de imbibición y con KNO₃ a -5 atm y -10 atm por 24 horas, como se muestra en las Figuras 4 - 21 y tablas 2 - 4, con su posterior almacenamiento, es decir, estos osmoacondicionantes mostraron el mayor porcentaje e índice de velocidad de germinación a través del tiempo sin perder el beneficiado, en comparación con el resto de las combinaciones y el testigo.

9.6.3 Agente osmótico x período de acondicionamiento.

La interacción agente osmótico por período de acondicionamiento muestra diferencias significativas para las variables evaluadas. El mayor porcentaje de germinación se observó en los tratamientos con KNO₃ y PEG 8000 durante 24 horas y KCl durante 72 horas en comparación con el testigo y el resto de los tratamientos. Basado en la Tabla 1 donde se observan los tratamientos considerados como óptimos se observa que el periodo de imbibición o acondicionamiento idóneo para las semillas de *Beaucarnea gracilis* es de 24 horas cuando se utiliza PEG 8000, KNO₃ y KCl como agentes osmoacondicionantes en comparación con los periodos de 48 y 72 horas. Para el osmoacondicionante NaCl, ningún período de imbibición fue favorable, coincidiendo con Rehman *et al.*, (1997) donde observa que este osmoacondicionante daña a las semillas.

9.6.4 Período de almacenamiento x período de acondicionamiento.

Se observaron disminuciones para el porcentaje de germinación y el tiempo en alcanzar el

G50. Cada período de almacenamiento responde diferente a cada período de imbibición obteniéndose un mayor porcentaje de germinación con cada tratamiento a un tiempo específico de almacén según el osmoacondicionante. Para cada osmoacondicionante la respuesta ante los períodos de almacenamiento varía así como también a la presión empleada.

Como se observa en la Tabla 1 las semillas osmoacondicionadas de 24 a 48 horas y almacenadas de 0 a 60 días presentan un mejor desempeño respecto al porcentaje y velocidad de germinación en comparación con las semillas que fueron embebidas por periodos más largos de tiempo o almacenadas durante 90 y 180 días. El tratamiento con KCl por 72 horas a -5 atm de presión osmótica es una excepción ya que a pesar de haber prolongado el periodo de imbibición, aún presentó un alto porcentaje e índice de velocidad de germinación. Sin embargo, no puede decirse que el KCl sea el osmoacondicionante más recomendable porque su índice de velocidad de germinación no es el más adecuado en comparación con el PEG 8000 y KNO_3 .

9.6.5 Agente osmótico x potencial osmótico x período de acondicionamiento x período de almacenamiento.

Haciendo una comparación entre todas las variables, esta interacción nos permite detectar con precisión el efecto conjunto de los tratamientos sobre las variables estudiadas. La semilla de *Beaucarnea gracilis* osmoacondicionada con PEG 8000 por 24 horas a -10 atm, KNO_3 por 24 horas a -5 atm y -10 atm y KCl por 72 horas a -5 atm mostraron el mejor comportamiento en porcentaje y velocidad de germinación durante todos los períodos de almacenamiento, superaron al testigo y a los demás tratamientos en las variables estudiadas como se observa en la Tabla 1.

Bewley y Black (1982) remarcan que la ventaja que le confiere el osmoacondicionamiento a las semillas es que el lento paso del agua a través de la cubierta seminal le da tiempo suficiente para activar el metabolismo pregerminativo y reparar aquellas estructuras que estén dañadas como las membranas celulares y no perder sustancias solubles en agua como aminoácidos, carbohidratos, proteínas, entre otras que son necesarias para una adecuada germinación y desarrollo de las plántulas.

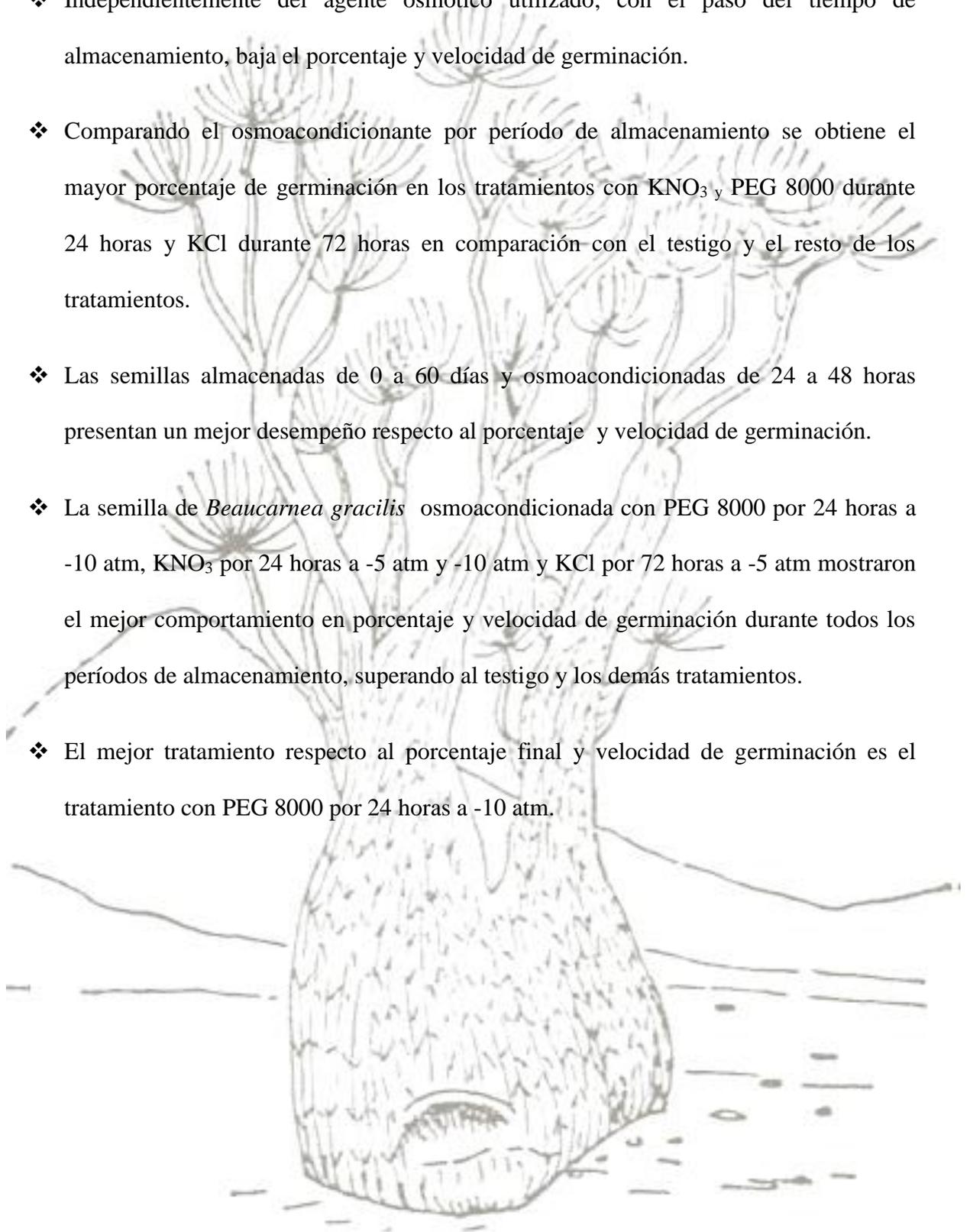
En la mayoría de los tratamientos se observó mayor calidad fisiológica en semillas acondicionadas que en el testigo, teniendo un mejor desempeño las semillas tratadas que las no tratadas como se observa en las Tablas 2 - 4. Szafirowska *et al.*, (1981), coinciden con que el osmoacondicionamiento mejora la movilidad de las reservas de la semillas hacia el embrión, lo cual influye en la uniformidad y velocidad de germinación., así como también McDonald (2000), considera que el acondicionamiento osmótico es exitoso en especies de semilla pequeña como zanahoria, pimienta, apio, tomate, cebolla y lechuga, al grado de convertirse en un procedimiento casi normal para éstas; Giménez Sampaio *et al.*, (1991) trabajando con semillas de chile ancho quien demuestra el buen desempeño de los osmoacondicionantes y Piña Espejel *et al.*, (2010 a) demuestran datos similares para una especie de *Agave*.

Este tratamiento logra un avance en el proceso de germinación. La finalidad de esta práctica es la activación controlada de las fases iniciales de la germinación, tanto para acelerarla así como para mejorar la uniformidad y el establecimiento de las plántulas que se obtengan.

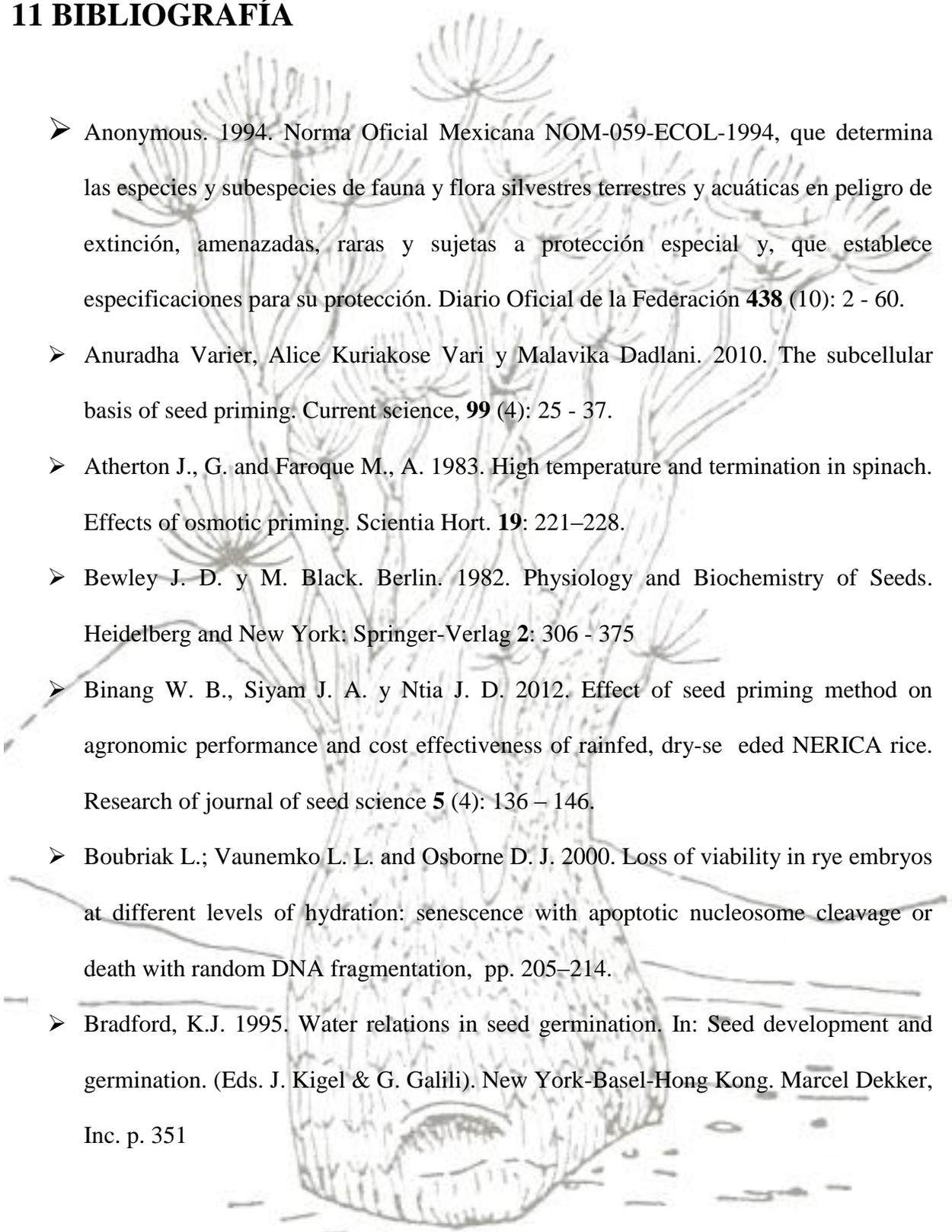
10 CONCLUSIONES

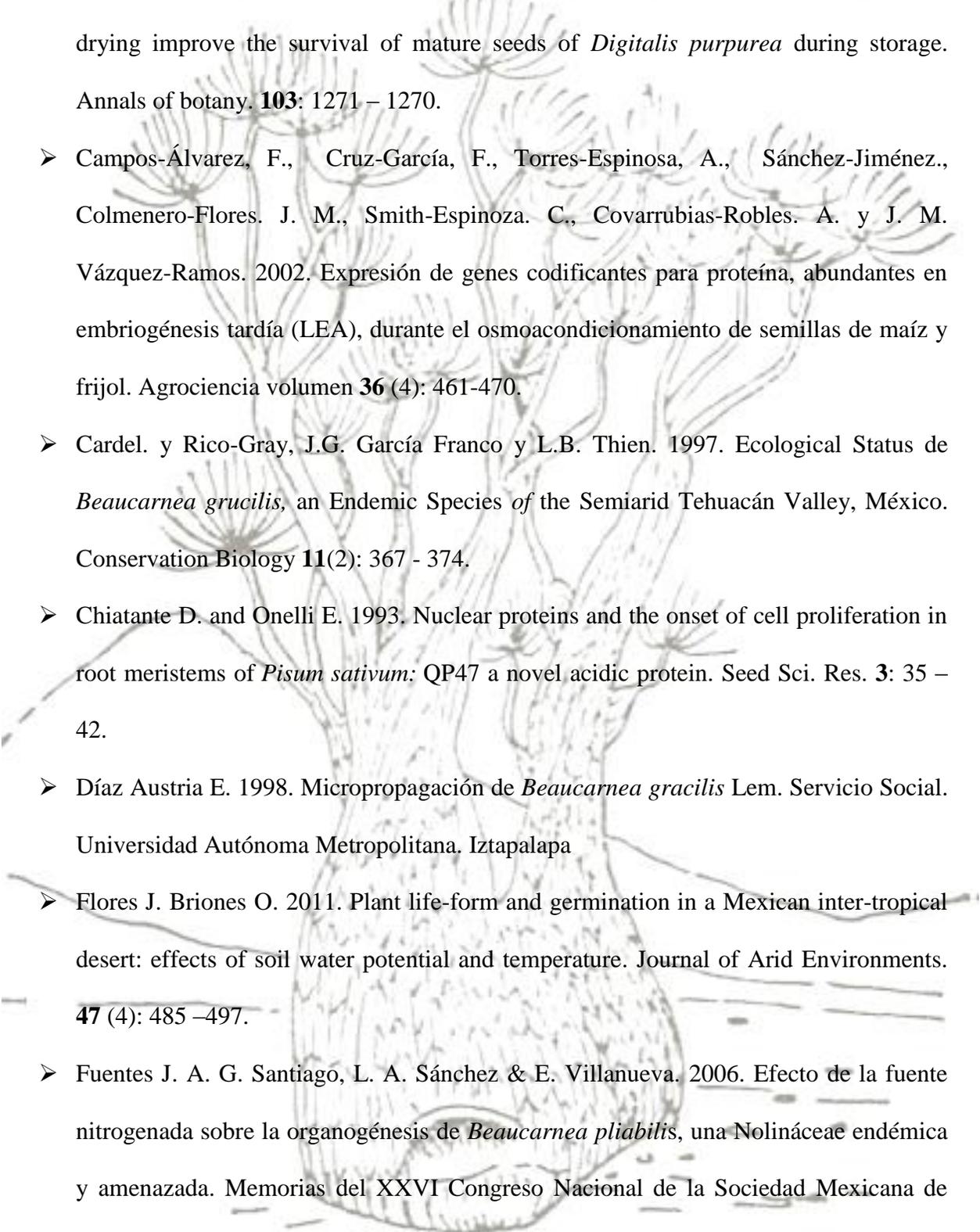
- ❖ Las semillas osmoacondicionadas de *Beuacanrea gracilis*, con KNO_3 , PEG 8000 y KCl mejoraron la tasa de germinación en más de 25%, redujeron el número de semillas latentes (no germinadas) con tiempo de imbibición de 24 horas.
- ❖ El NaCl, como osmoacondicionante para *B. gracilis* no se comportó idóneo, el porcentaje de germinación se redujo hasta en un 30% con respecto al testigo.
- ❖ A una menor presión osmótica (-15 atm y -20 atm) la germinación de las semillas disminuye con respecto al testigo y a los otros tratamientos para *Beaucarnea gracilis*.
- ❖ De todos los potenciales osmóticos utilizados, el de -10 atm, obtuvo el mayor porcentaje de germinación con PEG y 24 horas de imbibición.
- ❖ Al aumentar el tiempo de imbibición de las semillas a la solución osmótica o aumentar la concentración de sales de la misma, las semillas sufren daños que se ven reflejados en el vigor y viabilidad.
- ❖ Al prolongar el tiempo de almacenamiento de las semillas, reducen su calidad fisiológica, lo cual se refleja en la disminución de la velocidad y porcentaje de germinación de las semillas.
- ❖ Los mayores porcentajes de germinación e índices de velocidad se obtuvieron en las semillas tratadas con PEG 8000 a -10 atm, en comparación con los demás agentes osmóticos y el testigo.

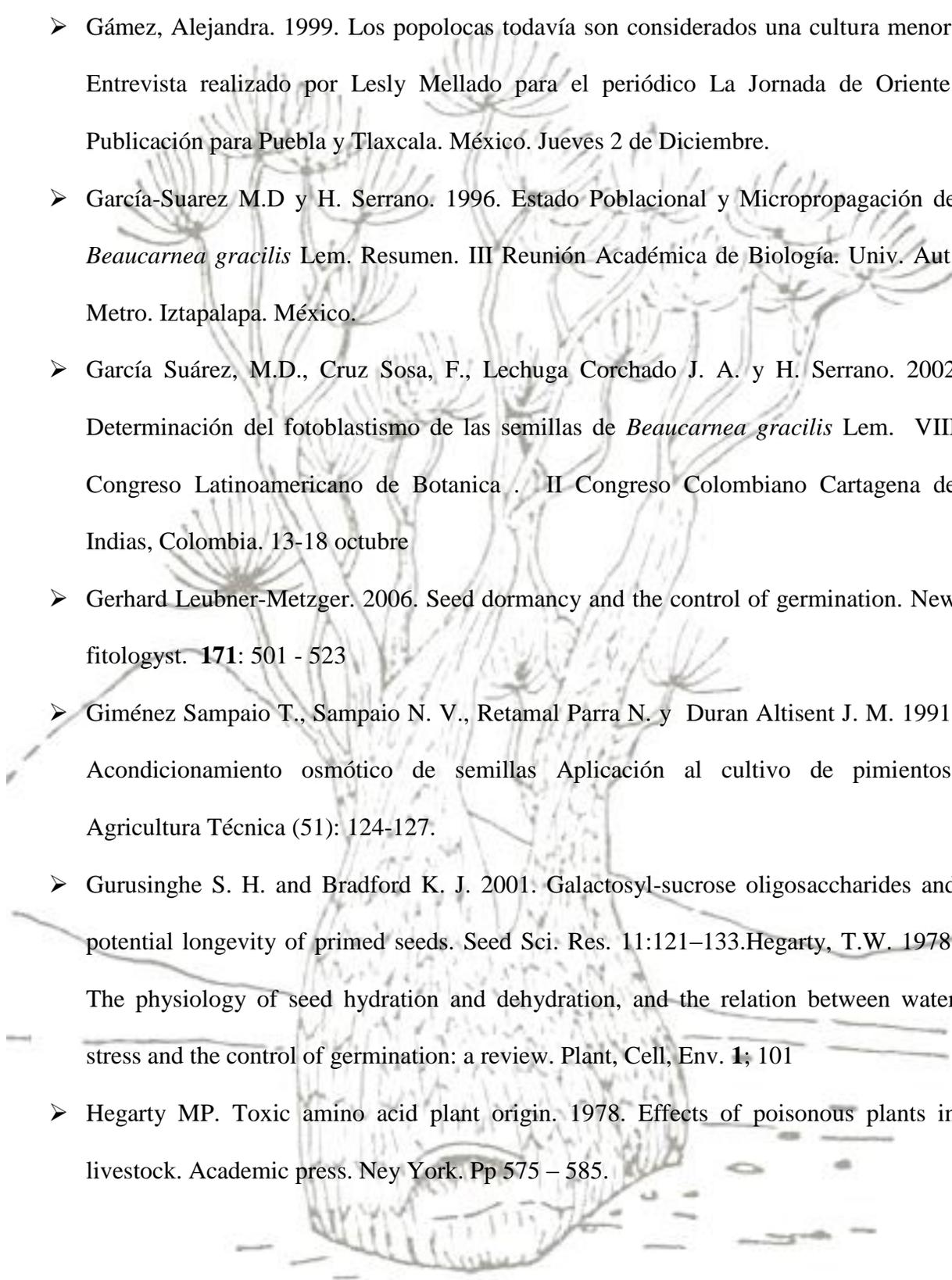
- ❖ Independientemente del agente osmótico utilizado, con el paso del tiempo de almacenamiento, baja el porcentaje y velocidad de germinación.
- ❖ Comparando el osmoacondicionante por período de almacenamiento se obtiene el mayor porcentaje de germinación en los tratamientos con KNO_3 y PEG 8000 durante 24 horas y KCl durante 72 horas en comparación con el testigo y el resto de los tratamientos.
- ❖ Las semillas almacenadas de 0 a 60 días y osmoacondionadas de 24 a 48 horas presentan un mejor desempeño respecto al porcentaje y velocidad de germinación.
- ❖ La semilla de *Beaucarnea gracilis* osmoacondionada con PEG 8000 por 24 horas a -10 atm, KNO_3 por 24 horas a -5 atm y -10 atm y KCl por 72 horas a -5 atm mostraron el mejor comportamiento en porcentaje y velocidad de germinación durante todos los períodos de almacenamiento, superando al testigo y los demás tratamientos.
- ❖ El mejor tratamiento respecto al porcentaje final y velocidad de germinación es el tratamiento con PEG 8000 por 24 horas a -10 atm.

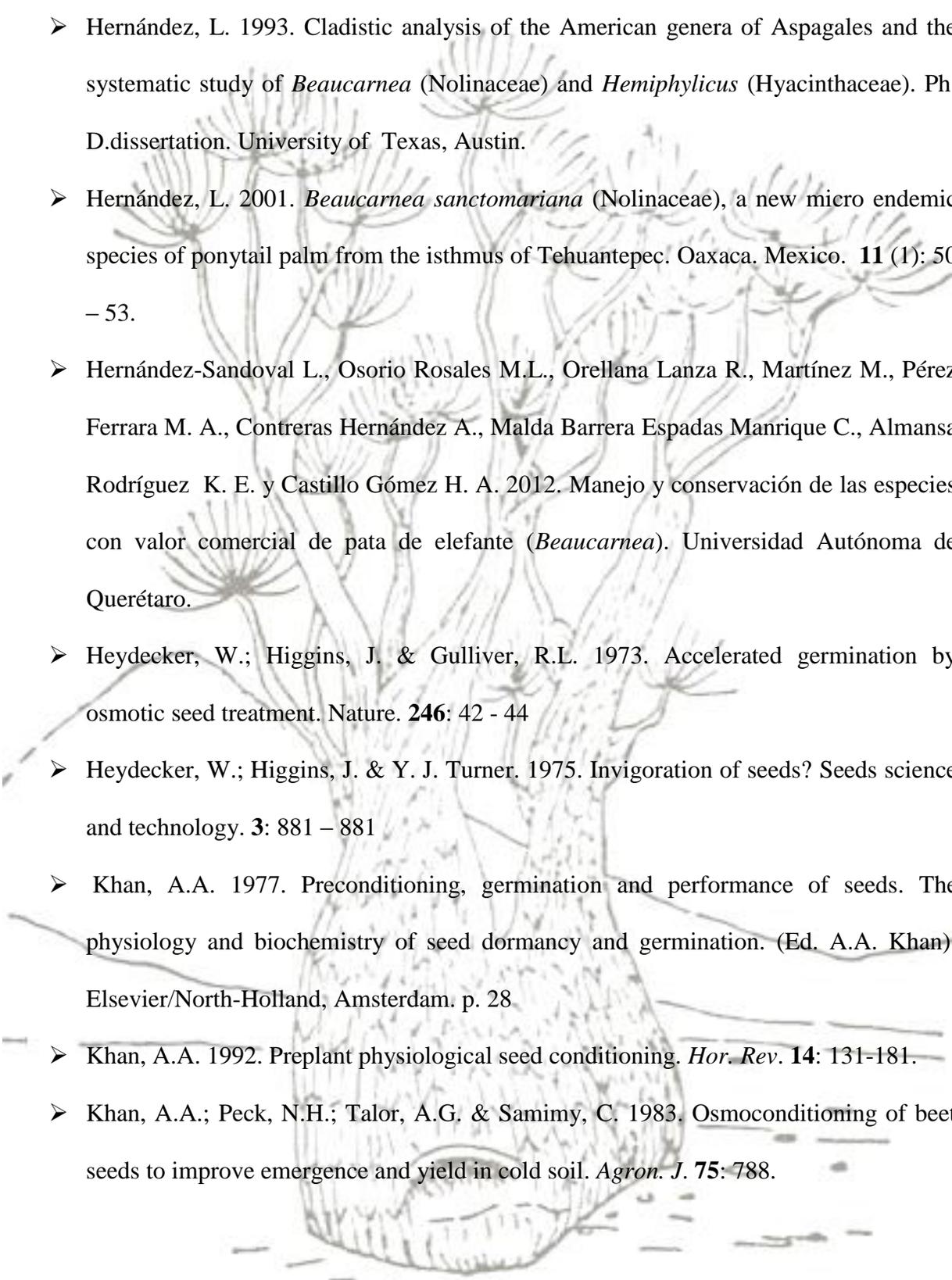


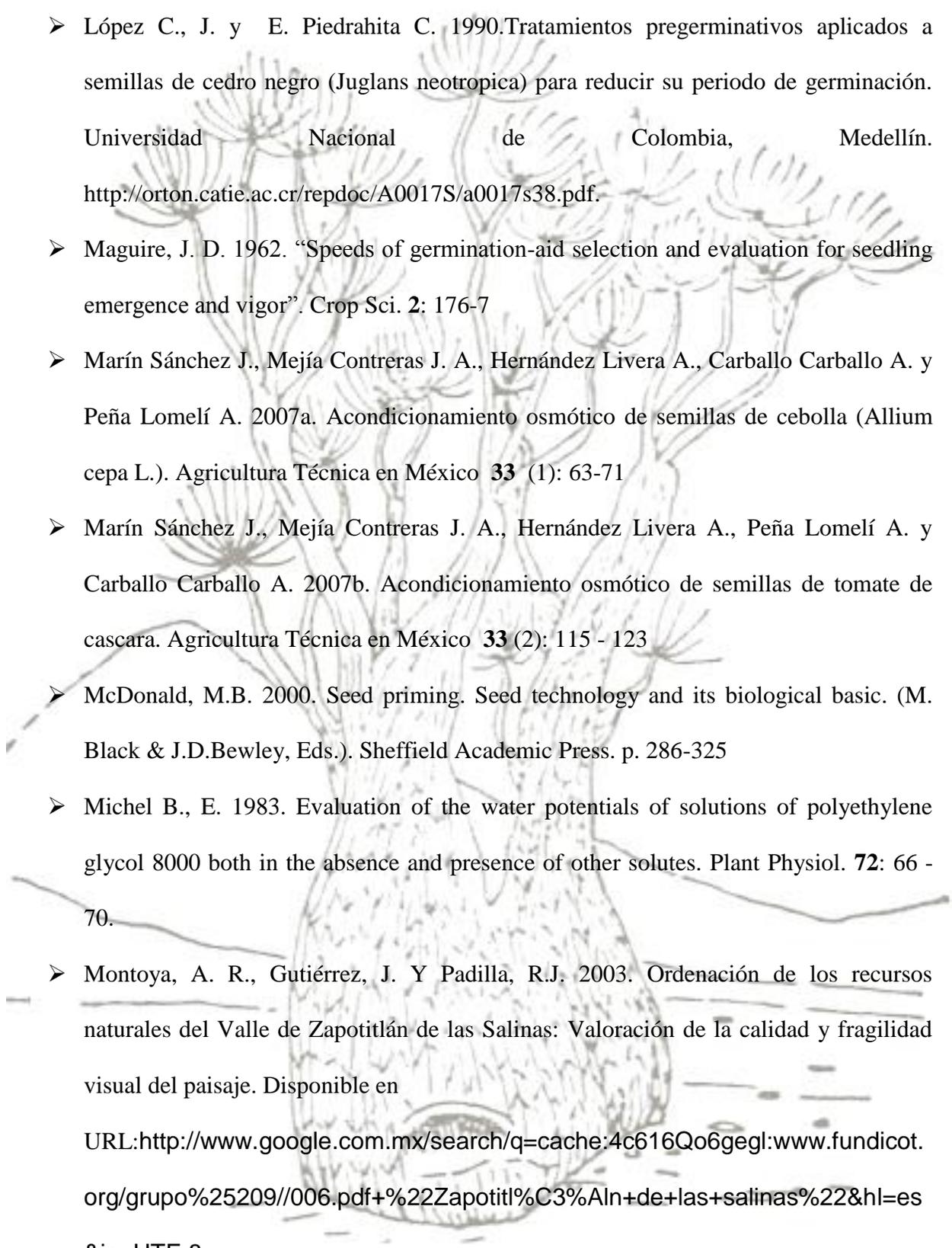
11 BIBLIOGRAFÍA

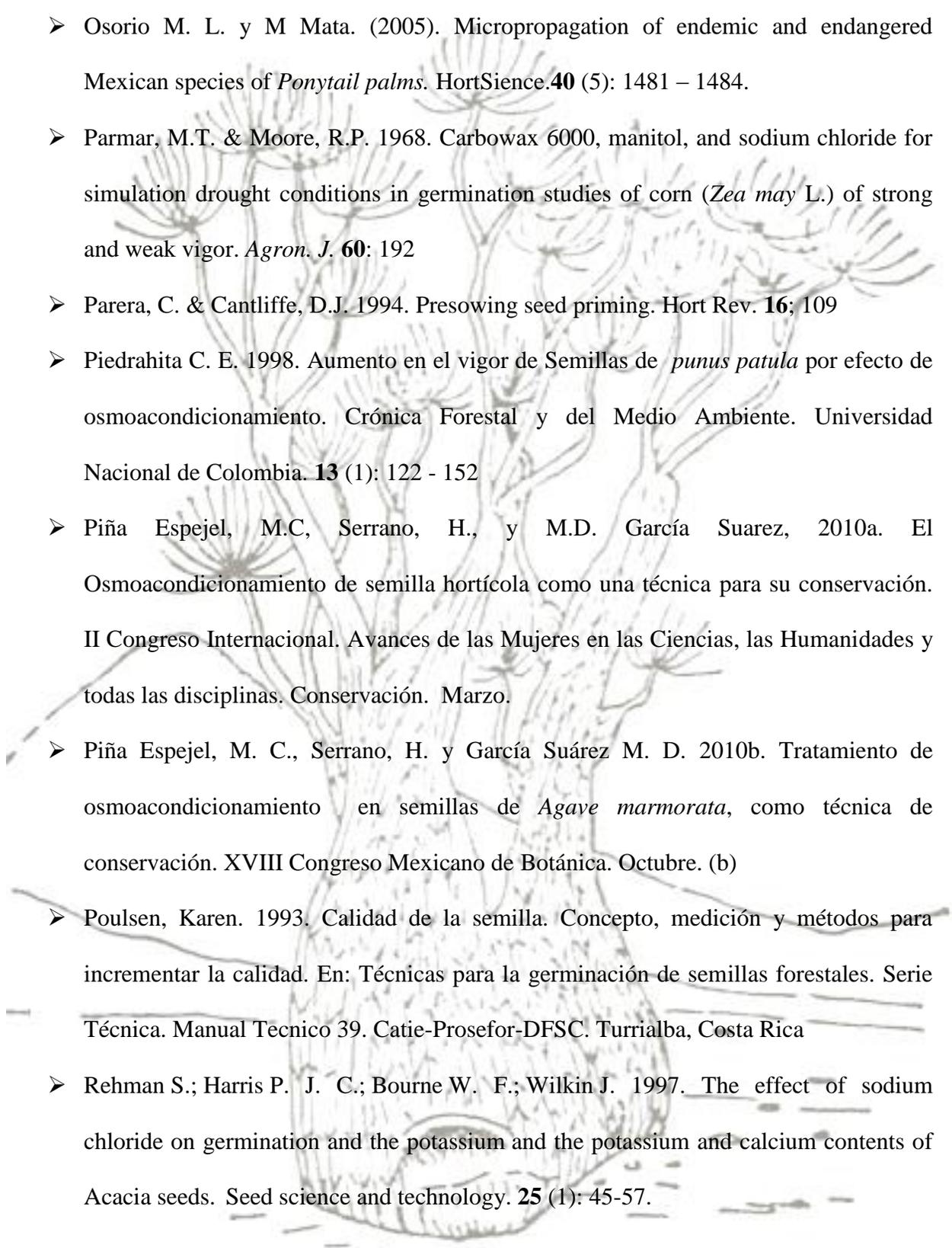
- 
- Anonymous. 1994. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994, que determina las especies y subespecies de fauna y flora silvestres terrestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas, raras y sujetas a protección especial y, que establece especificaciones para su protección. Diario Oficial de la Federación **438** (10): 2 - 60.
 - Anuradha Varier, Alice Kuriakose Vari y Malavika Dadlani. 2010. The subcellular basis of seed priming. Current science, **99** (4): 25 - 37.
 - Atherton J., G. and Faroque M., A. 1983. High temperature and termination in spinach. Effects of osmotic priming. Scientia Hort. **19**: 221–228.
 - Bewley J. D. y M. Black. Berlin. 1982. Physiology and Biochemistry of Seeds. Heidelberg and New York: Springer-Verlag **2**: 306 - 375
 - Binang W. B., Siyam J. A. y Ntia J. D. 2012. Effect of seed priming method on agronomic performance and cost effectiveness of rainfed, dry-seeded NERICA rice. Research of journal of seed science **5** (4): 136 – 146.
 - Boubriak L.; Vaunemko L. L. and Osborne D. J. 2000. Loss of viability in rye embryos at different levels of hydration: senescence with apoptotic nucleosome cleavage or death with random DNA fragmentation, pp. 205–214.
 - Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. In: Seed development and germination. (Eds. J. Kigel & G. Galili). New York-Basel-Hong Kong. Marcel Dekker, Inc. p. 351

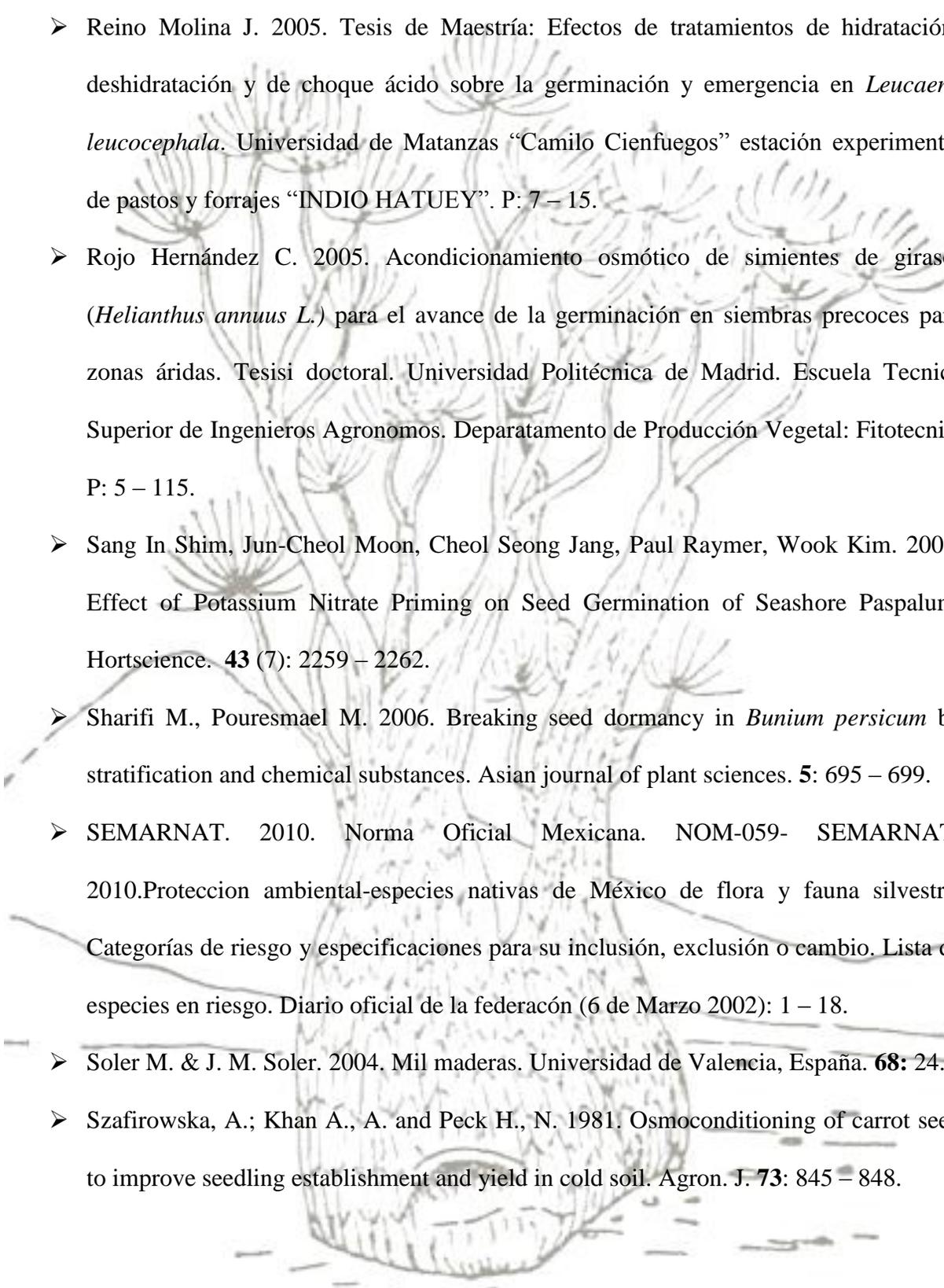
- 
- Butler L. H., Hay F. R., Ellis R. H., Smith R. D. y Murray T. B. 2009. Priming and re-drying improve the survival of mature seeds of *Digitalis purpurea* during storage. *Annals of botany*. **103**: 1271 – 1270.
 - Campos-Álvarez, F., Cruz-García, F., Torres-Espinosa, A., Sánchez-Jiménez., Colmenero-Flores. J. M., Smith-Espinoza. C., Covarrubias-Robles. A. y J. M. Vázquez-Ramos. 2002. Expresión de genes codificantes para proteína, abundantes en embriogénesis tardía (LEA), durante el osmoacondicionamiento de semillas de maíz y frijol. *Agrociencia* volumen **36** (4): 461-470.
 - Cardel. y Rico-Gray, J.G. García Franco y L.B. Thien. 1997. Ecological Status de *Beaucarnea gracilis*, an Endemic Species of the Semiarid Tehuacán Valley, México. *Conservation Biology* **11**(2): 367 - 374.
 - Chiatante D. and Onelli E. 1993. Nuclear proteins and the onset of cell proliferation in root meristems of *Pisum sativum*: QP47 a novel acidic protein. *Seed Sci. Res.* **3**: 35 – 42.
 - Díaz Austria E. 1998. Micropropagación de *Beaucarnea gracilis* Lem. Servicio Social. Universidad Autónoma Metropolitana. Iztapalapa
 - Flores J. Briones O. 2011. Plant life-form and germination in a Mexican inter-tropical desert: effects of soil water potential and temperature. *Journal of Arid Environments*. **47** (4): 485 –497.
 - Fuentes J. A. G. Santiago, L. A. Sánchez & E. Villanueva. 2006. Efecto de la fuente nitrogenada sobre la organogénesis de *Beaucarnea pliabilis*, una Nolináceae endémica y amenazada. *Memorias del XXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica*, A.C. Guanajuato. 12 al 17 de Noviembre del 2006.

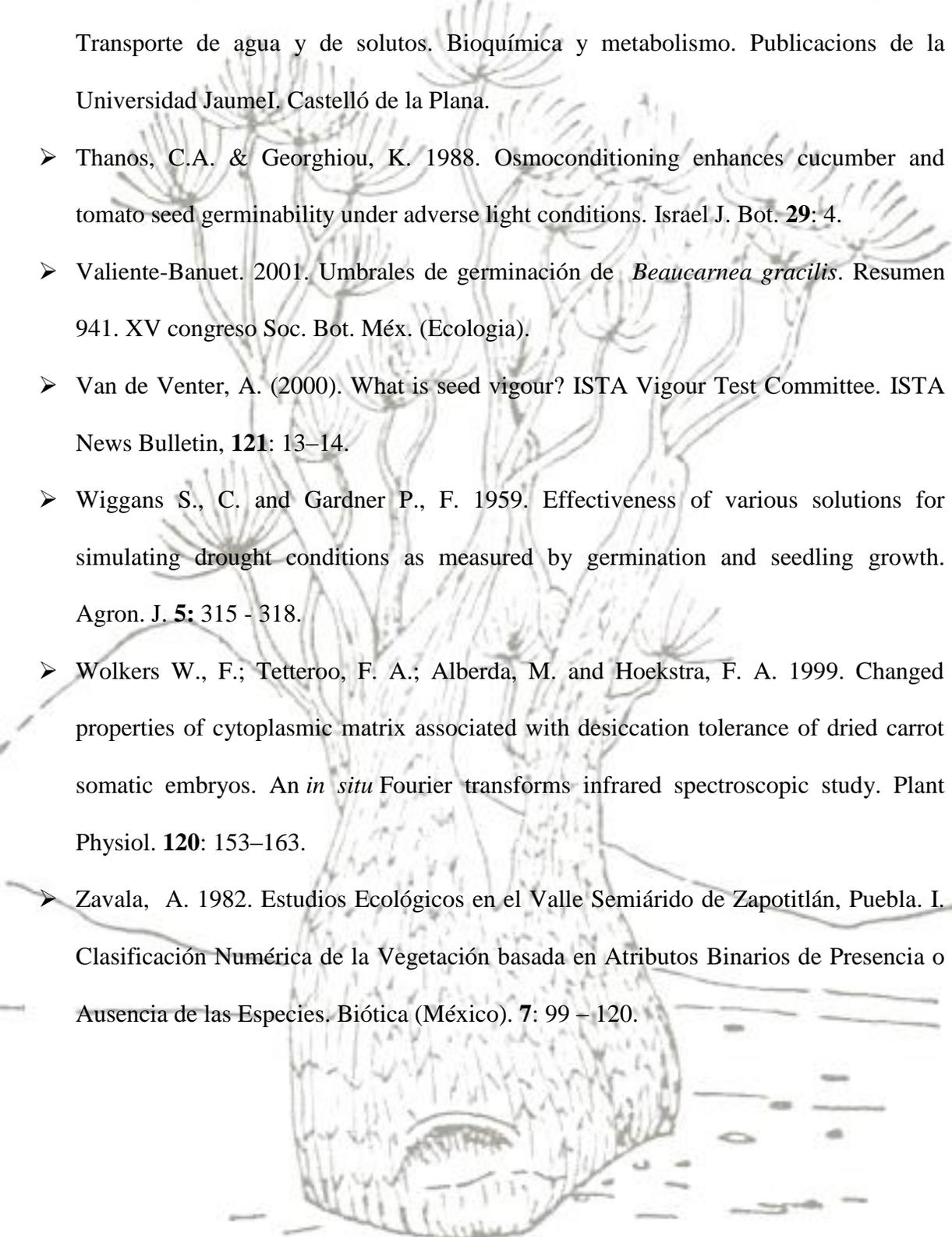
- 
- Gámez, Alejandra. 1999. Los popolocas todavía son considerados una cultura menor. Entrevista realizado por Lesly Mellado para el periódico La Jornada de Oriente. Publicación para Puebla y Tlaxcala. México. Jueves 2 de Diciembre.
 - García-Suarez M.D y H. Serrano. 1996. Estado Poblacional y Micropropagación de *Beaucarnea gracilis* Lem. Resumen. III Reunión Académica de Biología. Univ. Aut. Metro. Iztapalapa. México.
 - García Suárez, M.D., Cruz Sosa, F., Lechuga Corchado J. A. y H. Serrano. 2002. Determinación del fotoblastismo de las semillas de *Beaucarnea gracilis* Lem. VIII Congreso Latinoamericano de Botánica . II Congreso Colombiano Cartagena de Indias, Colombia. 13-18 octubre
 - Gerhard Leubner-Metzger. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New fitologist*. **171**: 501 - 523
 - Giménez Sampaio T., Sampaio N. V., Retamal Parra N. y Duran Altisent J. M. 1991. Acondicionamiento osmótico de semillas Aplicación al cultivo de pimientos. *Agricultura Técnica* (51): 124-127.
 - Gurusinghe S. H. and Bradford K. J. 2001. Galactosyl-sucrose oligosaccharides and potential longevity of primed seeds. *Seed Sci. Res.* 11:121–133.
 - Hegarty, T.W. 1978. The physiology of seed hydration and dehydration, and the relation between water stress and the control of germination: a review. *Plant, Cell, Env.* **1**; 101
 - Hegarty MP. Toxic amino acid plant origin. 1978. *Effects of poisonous plants in livestock*. Academic press. Ney York. Pp 575 – 585.

- 
- Hernández, L. 1993. Cladistic analysis of the American genera of Aspagales and the systematic study of *Beaucarnea* (Nolinaceae) and *Hemiphylicus* (Hyacinthaceae). Ph. D.dissertation. University of Texas, Austin.
 - Hernández, L. 2001. *Beaucarnea sanctomariana* (Nolinaceae), a new micro endemic species of ponytail palm from the isthmus of Tehuantepec. Oaxaca, Mexico. **11** (1): 50 – 53.
 - Hernández-Sandoval L., Osorio Rosales M.L., Orellana Lanza R., Martínez M., Pérez Ferrara M. A., Contreras Hernández A., Malda Barrera Espadas Manrique C., Almansa Rodríguez K. E. y Castillo Gómez H. A. 2012. Manejo y conservación de las especies con valor comercial de pata de elefante (*Beaucarnea*). Universidad Autónoma de Querétaro.
 - Heydecker, W.; Higgins, J. & Gulliver, R.L. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature*. **246**: 42 - 44
 - Heydecker, W.; Higgins, J. & Y. J. Turner. 1975. Invigoration of seeds? *Seeds science and technology*. **3**: 881 – 881
 - Khan, A.A. 1977. Preconditioning, germination and performance of seeds. *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination*. (Ed. A.A. Khan). Elsevier/North-Holland, Amsterdam. p. 28
 - Khan, A.A. 1992. Preplant physiological seed conditioning. *Hor. Rev.* **14**: 131-181.
 - Khan, A.A.; Peck, N.H.; Talor, A.G. & Samimy, C. 1983. Osmoconditioning of beet seeds to improve emergence and yield in cold soil. *Agron. J.* **75**: 788.

- 
- López C., J. y E. Piedrahita C. 1990. Tratamientos pregerminativos aplicados a semillas de cedro negro (*Juglans neotropica*) para reducir su periodo de germinación. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A0017S/a0017s38.pdf>.
 - Maguire, J. D. 1962. "Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor". *Crop Sci.* **2**: 176-7
 - Marín Sánchez J., Mejía Contreras J. A., Hernández Livera A., Carballo Carballo A. y Peña Lomelí A. 2007a. Acondicionamiento osmótico de semillas de cebolla (*Allium cepa* L.). *Agricultura Técnica en México* **33** (1): 63-71
 - Marín Sánchez J., Mejía Contreras J. A., Hernández Livera A., Peña Lomelí A. y Carballo Carballo A. 2007b. Acondicionamiento osmótico de semillas de tomate de cascara. *Agricultura Técnica en México* **33** (2): 115 - 123
 - McDonald, M.B. 2000. Seed priming. *Seed technology and its biological basic.* (M. Black & J.D.Bewley, Eds.). Sheffield Academic Press. p. 286-325
 - Michel B., E. 1983. Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutes. *Plant Physiol.* **72**: 66 - 70.
 - Montoya, A. R., Gutiérrez, J. Y Padilla, R.J. 2003. Ordenación de los recursos naturales del Valle de Zapotitlán de las Salinas: Valoración de la calidad y fragilidad visual del paisaje. Disponible en [URL:http://www.google.com.mx/search?q=cache:4c616Qo6gegl:www.fundicot.org/grupo%25209//006.pdf+%22Zapotitl%C3%A9n+de+las+salinas%22&hl=es&ie=UTF-8](http://www.google.com.mx/search?q=cache:4c616Qo6gegl:www.fundicot.org/grupo%25209//006.pdf+%22Zapotitl%C3%A9n+de+las+salinas%22&hl=es&ie=UTF-8)

- 
- Osorio M. L. y M Mata. (2005). Micropropagation of endemic and endangered Mexican species of *Ponytail palms*. *HortScience*. **40** (5): 1481 – 1484.
 - Parmar, M.T. & Moore, R.P. 1968. Carbowax 6000, manitol, and sodium chloride for simulation drought conditions in germination studies of corn (*Zea may* L.) of strong and weak vigor. *Agron. J.* **60**: 192
 - Parera, C. & Cantliffe, D.J. 1994. Presowing seed priming. *Hort Rev.* **16**; 109
 - Piedrahita C. E. 1998. Aumento en el vigor de Semillas de *pinus patula* por efecto de osmoacondicionamiento. *Crónica Forestal y del Medio Ambiente*. Universidad Nacional de Colombia. **13** (1): 122 - 152
 - Piña Espejel, M.C, Serrano, H., y M.D. García Suarez, 2010a. El Osmoacondicionamiento de semilla hortícola como una técnica para su conservación. II Congreso Internacional. Avances de las Mujeres en las Ciencias, las Humanidades y todas las disciplinas. Conservación. Marzo.
 - Piña Espejel, M. C., Serrano, H. y García Suárez M. D. 2010b. Tratamiento de osmoacondicionamiento en semillas de *Agave marmorata*, como técnica de conservación. XVIII Congreso Mexicano de Botánica. Octubre. (b)
 - Poulsen, Karen. 1993. Calidad de la semilla. Concepto, medición y métodos para incrementar la calidad. En: *Técnicas para la germinación de semillas forestales*. Serie Técnica. Manual Técnico 39. Catie-Prosefor-DFSC. Turrialba, Costa Rica
 - Rehman S.; Harris P. J. C.; Bourne W. F.; Wilkin J. 1997. The effect of sodium chloride on germination and the potassium and the potassium and calcium contents of *Acacia* seeds. *Seed science and technology*. **25** (1): 45-57.

- 
- Reino Molina J. 2005. Tesis de Maestría: Efectos de tratamientos de hidratación-deshidratación y de choque ácido sobre la germinación y emergencia en *Leucaena leucocephala*. Universidad de Matanzas “Camilo Cienfuegos” estación experimental de pastos y forrajes “INDIO HATUEY”. P: 7 – 15.
 - Rojo Hernández C. 2005. Acondicionamiento osmótico de semillas de girasol (*Helianthus annuus L.*) para el avance de la germinación en siembras precoces para zonas áridas. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Departamento de Producción Vegetal: Fitotecnia. P: 5 – 115.
 - Sang In Shim, Jun-Cheol Moon, Cheol Seong Jang, Paul Raymer, Wook Kim. 2008. Effect of Potassium Nitrate Priming on Seed Germination of Seashore Paspalum. *Hortscience*. **43** (7): 2259 – 2262.
 - Sharifi M., Pouresmael M. 2006. Breaking seed dormancy in *Bunium persicum* by stratification and chemical substances. *Asian journal of plant sciences*. **5**: 695 – 699.
 - SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana. NOM-059- SEMARNAT-2010. Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestre. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario oficial de la federación (6 de Marzo 2002): 1 – 18.
 - Soler M. & J. M. Soler. 2004. Mil maderas. Universidad de Valencia, España. **68**: 24.
 - Szafirowska, A.; Khan A., A. and Peck H., N. 1981. Osmoconditioning of carrot seed to improve seedling establishment and yield in cold soil. *Agron. J.* **73**: 845 – 848.

- 
- Taiz L, Zeiger E (eds) (2006) Fisiología Vegetal. Volumen 1: Las células vegetales. Transporte de agua y de solutos. Bioquímica y metabolismo. Publicacions de la Universidad Jaume I. Castelló de la Plana.
 - Thanos, C.A. & Georghiou, K. 1988. Osmoconditioning enhances cucumber and tomato seed germinability under adverse light conditions. *Israel J. Bot.* **29**: 4.
 - Valiente-Banuet. 2001. Umbrales de germinación de *Beaucarnea gracilis*. Resumen 941. XV congreso Soc. Bot. Méx. (Ecología).
 - Van de Venter, A. (2000). What is seed vigour? ISTA Vigour Test Committee. *ISTA News Bulletin*, **121**: 13–14.
 - Wiggans S., C. and Gardner P., F. 1959. Effectiveness of various solutions for simulating drought conditions as measured by germination and seedling growth. *Agron. J.* **5**: 315 - 318.
 - Wolkers W., F.; Tetteroo, F. A.; Alberda, M. and Hoekstra, F. A. 1999. Changed properties of cytoplasmic matrix associated with desiccation tolerance of dried carrot somatic embryos. An *in situ* Fourier transforms infrared spectroscopic study. *Plant Physiol.* **120**: 153–163.
 - Zavala, A. 1982. Estudios Ecológicos en el Valle Semiárido de Zapotitlán, Puebla. I. Clasificación Numérica de la Vegetación basada en Atributos Binarios de Presencia o Ausencia de las Especies. *Biótica (México)*. **7**: 99 – 120.