

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



“Germinación de semillas e inducción de brotes en plantas de *Cordia elaeagnoides*

A. DC. (Boraginaceae)”

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

ANA MARÍA GASPAS PERALTA

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO, ENERO DEL 2008

TESIS/CUCBA



Universidad de Guadalajara
Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias

Coordinación de Carrera de Licenciado en Biología

984/ C. C. BIOLOGÍA

M en C. LIBERATO PORTILLLO MERTÍNEZ - SINODAL TITULAR
DR. AGUSTIN GALLEGOS RODRÍGUEZ- SINODAL TITULAR
M en C. MARTHA CEDANO MALDONADO – SINODAL TITULAR
DR. JORGE ALBERTO PÉREZ DE LA ROSA – SINODAL SUPLENTE
P R E S E N T E.

Por medio de la presente comunicamos a usted que ha sido designado como sinodal para el proyecto: **“GERMINACIÓN DE SEMILLAS E INDUCCIÓN DE BROTES EN PLÁNTULAS DE *Cordia elaeagnoides* A. DC. (*Boraginaceae*)”** elaborado por el alumno: **C. ANA MARÍA GASPAR PÉRALTA** con la MODALIDAD: Tesis e Informes **OPCIÓN: Tesis**

El Director del Trabajo es el: **DR. FERNANDO SANTACRUZ RUVALCABA** y el asesor/a es el/la:

Le reiteramos que como sinodal, le corresponde evaluar la viabilidad (si/no) de este proyecto y, en su caso de aprobarlo. Se requiere que su respuesta no exceda el plazo de una semana a partir de la fecha en que lo reciba.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“PIENSA Y TRABAJA”
Las Agujas, Zapopan., 6 de Febrero del 2007.


DR. CARLOS ALVÁREZ MOYA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN


M en C. ISELA LETICIA ÁLVAREZ BARAJAS
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN


RESPONSABLE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

Dr. Fco. Martín Huerta Martínez.
 Presidente del Comité de Titulación.
 Licenciatura en Biología.
 CUCBA.
 Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad **tesis o informes**, opción **tesis** con el título: "**Germinación de semillas e inducción de brotes en plántulas de *Cordia elaeagnoides* A. DC. (Boraginaceae)**" que realizó el/la pasante **Gaspar Peralta Ana María** con número de código **B00003514** consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente
 Ana María Gaspar Peralta

Las Agujas, Zapopan, Jalisco a 8 de enero de 2008



Dr. Santacruz Ruvalcaba Fernando
 Director/a



M.C Mora Santacruz Antonio
 Asesor

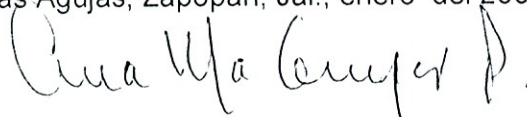


Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
Dr. Portillo Martínez Liberato		10/01/08
Dr. Gallegos Rodríguez Agustín		8/01/08
M.C Cedano Maldonado Martha		Enero 14, 2008.
Dr. Pérez de la Rosa Jorge Alberto		10/E/2007

Dr. Francisco Martín Huerta Martínez.
Presidente del Comité de Titulación.
Licenciatura en Biología.
CUCBA.
Presente.

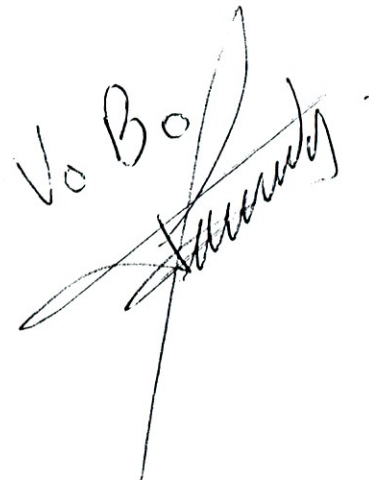
El motivo de éste oficio es con la intención de solicitarle, si es posible el cambio de formato de tesis para la impresión, al formato de tamaño carta ya que mi tesis contiene cuadros, gráficas, fotografías y un mapa, considero que al hacerse más pequeñas las imágenes, los números y las gráficas, se perdería el fin de este trabajo. El título de mi tesis es: "Germinación de semillas e inducción de brotes en plantas de *Cordia elaeagnoides* A. DC. (Boraginaceae)".

ATENTAMENTE
Las Agujas, Zapopan, Jal., enero del 2008



Ana María Gaspar Peralta

B00003514
Código



DEDICATORIAS

A Dios, por ser mi guía y mi fortaleza.

A mis queridos padres Josafath Gaspar Rodríguez† y María Elena Peralta Arista, de ustedes aprendí el gusto por estudiar y superarme todos los días.

A mis hermanos Mario, Josafath, Pedro, Libertad, Esteban, Malena, Paty, José y Charo, con ustedes he contado en todo momento, gracias por ser tan humanos.

A Eliseo, por ser un maravilloso esposo, amigo, compañero incondicional, gracias por tu apoyo.

A Elizabeth por ser paciente conmigo al enseñarme a manejar la computadora e instruirme en la manera de preparar mis presentaciones.

A Jazmín, sin tí no hubiera podido pasar química, gracias por ayudarme con los experimentos de mi tesis y las horas que pasamos en el invernadero transplantando.

A Anahí gracias por acompañarme en las desveladas, cuando luchaba por hacer mis tareas y tú estuviste conmigo.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, Dr. Fernando Santacruz Ruvalcaba, gracias por ser tan paciente y ser una persona muy honesta y comprometida con su trabajo.

Al M en C Antonio Mora Santacruz gracias por su asesoría.

Al Biólogo Carlos Fernando Regla Márquez, gracias por tu apoyo y tus comentarios para mi tesis, eres un gran amigo.

Al Dr. Jorge Alberto Pérez de la Rosa, por ser un excelente maestro y persona.

Al Dr. Agustín Gallegos Rodríguez un maestro ejemplar, al M en C Gerardo González Cuevas, gracias por todas tus atenciones, Al M en C Jesús Hernández Alonso† por sus enseñanzas, a los maestros del departamento forestal gracias por todo su apoyo.

.A Toño, José Luis, Dany, Miriam, Naye y Oly amigos incondicionales.

A mis amigos, la Maestra Isabel Torres M, Paulina, Cristi, Juve, Ana, Adriana, gracias por los ratos tan agradables que pasamos.

	Página
ÍNDICE	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE CUADROS	v
RESUMEN	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Descripción taxonómica de <i>Cordia elaeagnoides</i> A. DC.	3
2.2 Distribución geográfica de <i>C. elaeagnoides</i>	5
2.3 Usos	6
2.3.1 Sustancias químicas encontradas en el género <i>Cordia</i>	7
2.4 Propagación sexual	7
2.4.1 Semillas	8
2.4.2 Longevidad natural de las semillas	9
2.4.3 Germinación	11
2.4.4 Latencia	12
2.4.1.1 Mecanismos de latencia	13
2.5 Propagación asexual	15
2.5.1. Reforestación clonal	16
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. HIPÓTESIS	18
5. OBJETIVOS	19
6. MATERIALES Y MÉTODOS	20
6.1 Localización del sitio	20
6.1.1 Clima	20
6.1.2 Suelos	20
6.1.3 Vegetación	20
6.2 Selección y recolección de material biológico	21
6.3 Experimentos	21
6.3.1 Prueba preliminar para identificar presencia de embriones sanos	21
6.3.2 Evaluación de viabilidad de embriones	23
6.3.3 Imbibición de semillas	23
6.3.4 Tratamiento de semillas con ácido giberélico para su germinación en sustrato de musgo canadiense y composta	24
6.3.5 Inducción de brotación en plantas por medio de citocininas	25

6.4 Análisis estadístico	26
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
7.1 Ensayos preliminares	27
7.1.1 Evaluación para identificar presencia de embriones sanos.	27
7.1.2 Evaluación de viabilidad de embriones con tetrazolio	31
7.1.3 Estimación de porcentajes de semillas viables por el método de imbibición	33
7.1.4 Determinación de tratamientos de semillas con ácido giberélico para su germinación en charolas.	35
7.1.5 Inducción de brotes en plantas por medio de citocininas	41
8. CONCLUSIONES	46
9. LITERATURA CITADA	47

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Distribución de <i>Cordia elaeagnoides</i> en México (Pennington y Sarukhán, 2005).	6
Figura 2. Semillas de <i>Cordia elaeagnoides</i> utilizadas para identificar presencia de embriones sanos y embriones dañados.	30
Figura 3. Prueba de viabilidad de embriones con cloruro de tetrazolio al 1% en semillas de <i>Cordia elaeagnoides</i> .	32
Figura 4. Prueba de germinación de <i>Cordia elaeagnoides</i> con 20 muestras.	33
Figura 5. Prueba de germinación de semillas de <i>Cordia elaeagnoides</i> perforadas y con 24 h de imbibición y el testigo sin perforación y con 24 h de imbibición.	34
Figura 6. Proceso para el tratamiento de imbibición de semillas de <i>Cordia. elaeagnoides</i> .	34
Figura 7. Prueba de germinación de <i>C. elaeagnoides</i> en los 20 lotes disponibles con 3 tiempos de imbibición y una dosis de 260 ppm de AG ₃ .	35
Figura 8 Germinación en charolas de <i>C. elaeagnoides</i> con un tratamiento de 260 ppm de AG ₃ y 24 h de imbibición.	36
Figura 9. Prueba de germinación de <i>C. elaeagnoides</i> en los 20 lotes disponibles con 24 horas de imbibición y una dosis de 260 ppm de AG ₃ y el testigo sin tratamiento.	37
Figura 10. Prueba de germinación de <i>C. elaeagnoides</i> con tratamiento de 260 ppm de AG ₃ con los lotes 13, 17 y 19	38

Figura 11. Prueba de germinación de *C. elaeagnoides* sin aplicación de AG₃ con los lotes 13, 17 y 19 39

Figura 12. Plantas de *Cordia elaeagnoides* bajo tratamientos de citocininas, poda y el testigo. 45

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Prueba de corte de <i>C. elaeagnoides</i> considerando 100 semillas por lote para calcular el porcentaje de embriones sanos y dañados.	27
Cuadro No. 2. Resultados obtenidos en la prueba para contabilizar el número de semillas sanas de <i>C. elaeagnoides</i> , utilizando una máquina separadora de semillas, considerando 100 semillas por lote.	28
Cuadro 3. Comparación entre métodos utilizados para contabilizar semillas con embriones sanos y dañados de <i>C. elaeagnoides</i> .	29
Cuadro 4. Resultados obtenidos en la prueba de viabilidad de embriones con cloruro de tetrazolio al 1%.	31
Cuadro 5. Análisis de varianza para número de semillas germinadas de <i>C. elaeagnoides</i> a los 45 d.	40
Cuadro 6. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para evaluar el número de semillas germinadas en los tres tiempos manejados.	40
Cuadro 7. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para determinar el No. de lote de semilla de <i>C. elaeagnoides</i> con más alto potencial de germinación.	40

Cuadro 8. . Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para determinar viabilidad al realizar tratamientos con AG ₃ en la semilla de <i>C. elaeagnoides</i>	41
Cuadro 9. Análisis de varianza para el número de brotes de <i>C. elaeagnoides</i> con cinco tratamientos a los 45 d.	41
Cuadro 10. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para determinar el número de brotes de <i>C. elaeagnoides</i> al aplicar tratamiento con citocininas a los 45 días.	42
Cuadro 11. Análisis de varianza para la altura de planta en <i>C. elaeagnoides</i> con cinco tratamientos.	42
Cuadro 12. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para determinar la altura de <i>C. elaeagnoides</i> con cinco tratamientos a los 45 días.	43
Cuadro 13. Análisis de varianza para número de hojas en plantas de <i>C. elaeagnoides</i> con cinco tratamientos a los 45 días.	43
Cuadro 14. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para el número de hojas de <i>C. elaeagnoides</i> con cinco tratamientos a los 45 días.	43

RESUMEN

Existen en México numerosas especies tropicales maderables y aunque son de una importancia considerable, no han sido aprovechadas de una manera integral y tampoco se ha desarrollado un manejo sustentable de ellas.

Cordia elaeagnoides es un árbol de 15 a 20 m de alto y de hasta 30 cm de diámetro, se distribuye en la vertiente del Pacífico en Sinaloa y desde Jalisco hasta Oaxaca.

Debido al bajo porcentaje de germinación existente en la semilla de *C. elaeagnoides*, aunado a la demanda que se ha dado últimamente de planta producida en vivero para plantaciones comerciales forestales, fue posible llevar a cabo un trabajo de investigación para conocer el comportamiento de la semilla y su respuesta al someterla a diferentes tratamientos pregerminativos para la obtención posterior de planta idónea para plantaciones. Asimismo, evaluar diferentes dosis de citocininas en plantas de *C. elaeagnoides* para conocer su capacidad de producción de brotes, y tomarla como una posible alternativa en la producción de plantas, propagadas por medio de esquejes.

En la prueba de viabilidad con tetrazolio se obtuvo un promedio de 80% en tres muestras, particularmente con el lote 13 se alcanzó el 100% de viabilidad.

En el ensayo de imbibición de semillas en agua con diferentes tiempos de remojo se produjo un resultado de un 1.1% de germinación. En experimento posterior de imbibición de semillas, con diferentes tiempos de remojo, pero adicionando diferentes dosis de ácido giberélico (AG)₃, se obtuvo un porcentaje de germinación de 96% con el lote 13, con 24 h de imbibición y 260 ppm de AG₃.

En cuanto a la producción de brotes, de número de hojas y altura en planta de *C. elaeagnoides* se obtuvieron resultados favorables con la aplicación de citocininas con las dosis de 2, 4 y 6 mL y la poda física.

1. INTRODUCCIÓN

México cuenta con importantes recursos forestales que no han sido apreciados en su justa medida, a pesar de su relevancia y representación en nuestro país. Gran parte de los ecosistemas forestales no se aprovechan integralmente y lo que es más grave aún, no son objeto de un manejo sustentable. Esto se debe, en gran parte a la falta de opciones de desarrollo productivo que contribuyan, por una parte a disminuir las enormes presiones de conversión de las zonas boscosas a usos agropecuarios y que además, generen los incentivos necesarios para promover la conservación de dichas áreas, sin poner en riesgo los aspectos socioeconómicos y ambientales de las comunidades humanas que las habitan.

Se menciona que en México, la explotación comercial de los bosques tropicales ya sea para madera o pulpa, llegará a su fin en menos de treinta años (Fuentes, 1992).

Una alternativa para revertir el deterioro en los bosques es el establecimiento de plantaciones forestales comerciales, éstas se pueden llevar a cabo con éxito en áreas que antes fueron destinadas a la agricultura o la ganadería.

Algunas especies típicas de la vegetación secundaria derivada de estas selvas por perturbación (Sarukhán, 1964); y que por su abundancia y características de la madera deben ser objeto de mayor atención por parte de las industrias forestales son: *Bursera simaruba* (L) Sarg., *Cecropia obtusifolia*, Bertol, *Cordia alliodora* Ruiz y Pavón, *Cordia elaeagnoides* A. DC. y *Croton draco* Schtdl., entre otras. La investigación ecológica de la vegetación secundaria en las zonas tropicales ha demostrado mediante numerosos trabajos realizados en ella, poseer aspectos de enorme interés económico para un uso sostenido de recursos, que son básicos para un aprovechamiento forestal de las especies secundarias y para planificar la restauración y el posible manejo de masas forestales (Pennington y Sarukhán, 1998).

La familia Boraginaceae es cosmopolita y está compuesta por 130 géneros y unas 2300 especies (Takhtajan, 1996; Mabberley, 1997). *Cordia elaeagnoides* pertenece a esta familia y es un árbol cuya madera es explotada comercialmente;

pero, debido a que no existe un manejo adecuado en los bosques naturales y a que se ha intensificado su aprovechamiento clandestino, ha traído como consecuencia el bajo número de poblaciones o individuos.

Por ello, es importante llevar a cabo trabajos de investigación para conocer su comportamiento, ya que una problemática encontrada en esta especie, es el bajo porcentaje de germinación que se obtiene al trabajarla en vivero, y una alternativa a investigar es la producción de brotes para producción de esquejes o estacas que se obtienen a partir de reproducción asexual ya que los esquejes son segmentos de la planta que conservan la potencialidad de enraizar y este proceso a la larga podría llevarnos a la instauración de plantaciones forestales clonales.

Actualmente, los aprovechamientos forestales maderables de *Cordia elaeagnoides*, proviene de bosques naturales, siendo una especie con un alto potencial para utilizarse en plantaciones comerciales y de ésta manera disminuir la presión sobre las plantaciones naturales.

2. ANTECEDENTES

2.1 Descripción taxonómica de *Cordia elaeagnoides* A. DC.

Reino: Plantae

Superdivisión: Spermatophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Boraginaceae

Género: *Cordia*

Especie: *C. elaeagnoides*

Cordia elaeagnoides es una especie de la familia Boraginaceae. Estos árboles presentan alturas de 15 a 20 m y de hasta 30 cm de diámetro, con un tronco recto, con las ramas gruesas y horizontales y la copa dispersa, corteza externa fisurada, con las costillas escamosas, suberificadas y pardo grisácea. En la parte interna es de color crema amarillento que cambia a pardo, laminada, con un sabor amargo.

El grosor total de la corteza es de 13 mm, la albura es de color crema parduzco, con vasos grandes, parénquima vasicéntrico y bandas de parénquima apotraqueal y rayos conspicuos. La madera es dura.

Barajas y León (1989), estudiaron las características anatómicas de la madera de siete especies pertenecientes a la familia Boraginaceae: *Bourreria* sp., *Cordia alliodora*, *C. dentata*, *C. elaeagnoides*, *C. salvadorensis*, *C. seleriana* y *C. sonora* encontrando que todas las especies presentan cristales prismáticos en las células radiales. También observó la presencia de este tipo de cristales en las células de parénquima axial de *Cordia alliodora*, *C. dentata*, *C. elaeagnoides* y *C. sonora*.

Ramas. Cuando jóvenes son de grises a verde grisáceas, escasas lenticelas en las partes jóvenes pero abundantes y pálidas en las ramas viejas, con abundante pubescencia adpresa.

Yemas. De 4 a 10 mm de largo, ovoides-desnudas con pubescencia adpresa. Estípulas ausentes.

Hojas. Son simples dispuestas en espiral y sin estípulas; las láminas de 6.5 a 14 cm de largo y de 3 a 6.5 cm de ancho, aovadas a ampliamente elípticas, con el ápice acuminado, el margen entero, base cortamente atenuada, glabras lisas, de color verde oscuro en el haz, grisáceas en el envés, haz con escasos pelos adpresos o glabra, y el envés seríceo con abundantes pelos adpresos, nervadura central prominente con abundantes pelos largos y con abundantes puntos glandulosos transparentes a lo largo de la lámina y pecíolos de 2-4 cm de largo, pubescentes.

Flores. En amplias panículas axilares o terminales de 10-20 cm de largo, grises pubescentes; pedicelo de 2-5 mm de largo; flores actinomorfas de 2-2.5 cm de diámetro; cáliz acampanulado de 5-6 mm de largo, con costillas conspicuas, con cuatro a seis dientes aovados, irregulares, densamente pubescentes corola blanco cremoso tubular en la parte inferior expandida en la porción superior en cinco lóbulos oblongos, obtusos, abiertos, glabros en la superficie externa, con algunos pelos en la base del tubo; cinco estambres, exsertos, glabros, los filamentos amarillos unidos en la parte inferior en unos bordes prominentes del tubo de la corola; anteras pardas; ovario súpero, tetralocular, lóculos uniovulares, estrechamente aovado, glabro; estilo dos veces bifurcado, glabro; los estigmas cuatro, truncados y papilosos. Florece de septiembre a diciembre. El fenómeno de heterostilia es frecuente en éste género, donde también ocurre dioecia (Ercolini-Barroso *et al.*, 2002).

Frutos. Estas son nuececillas con todas las partes florales persistentes, los pétalos convertidos en alas papiráceas, morenas de hasta 2.8 cm de diámetro, contiene hasta cuatro semillas de hasta 3 mm de longitud, alargadas en el ápice. El ovario es tetralocular y posee un óvulo por lóbulo. Los frutos son monospermos (Agostini, 1966; Hoyos, 1985). Maduran de noviembre a febrero (Pennington y Sarukhán, 1998).

Florece de julio a septiembre siendo en esta época las copas de los árboles muy conspicuas, inclusive a gran distancia. Los árboles de esta especie pierden sus

hojas durante el período de la sequía, ocurriendo el máximo desprendimiento de las mismas, hacia los meses de agosto-septiembre.

Algunos árboles que se encuentran aislados en lugares abiertos o cerca de las casas, prolongan un poco más su periodo de floración y fructificación así como el desprendimiento de sus hojas

2.2 Distribución geográfica de *Cordia elaeagnoides*

Cordia elaeagnoides se distribuye exclusivamente en la vertiente del Pacífico en Sinaloa, y desde Jalisco hasta Oaxaca, incluyendo la cuenca del Río Balsas. Es un componente conspicuo de la selva mediana subcaducifolia y baja caducifolia constituyéndose en la especie dominante en la parte expuesta de laderas y en las cimas de pequeñas lomas, sobre suelos someros de origen volcánico, metamórfico y calizo, hasta una altitud de unos 500 m. (Pennington y Sarukhán, 1998).

También se le encuentra en cañones angostos con acantilados y afloramientos de roca caliza. En selva baja caducifolia se le asocia con *Bursera sp* y *Mimosa sp*, predominando en suelos pedregosos, calizos. Así como en vegetación secundaria, en el lecho de ríos perturbados. En suelos arenosos, profundos, asociado con *Psidium guajaba*. En vegetación ruderal, junto a la superficie asfaltada y terrenos de cultivo. En bosque tropical subdeciduo, con dominancia de *Brosimum alicastrum*, *Cordia alliodora* y *Hura polyandra*. Abunda en suelos planos de aluvión. En vegetación perturbada de selva baja caducifolia.

Cordia elaeagnoides es una especie que se localiza en regiones de clima tropical seco, la vegetación de los alrededores es de selva baja caducifolia; los suelos son arcilloso-arenosos y en suelos café rojizos oscuros, sin moteado, consistencia en seco duro, ligeramente moteado, numerosos poros finos, pH neutro (CONAFOR, 2006).

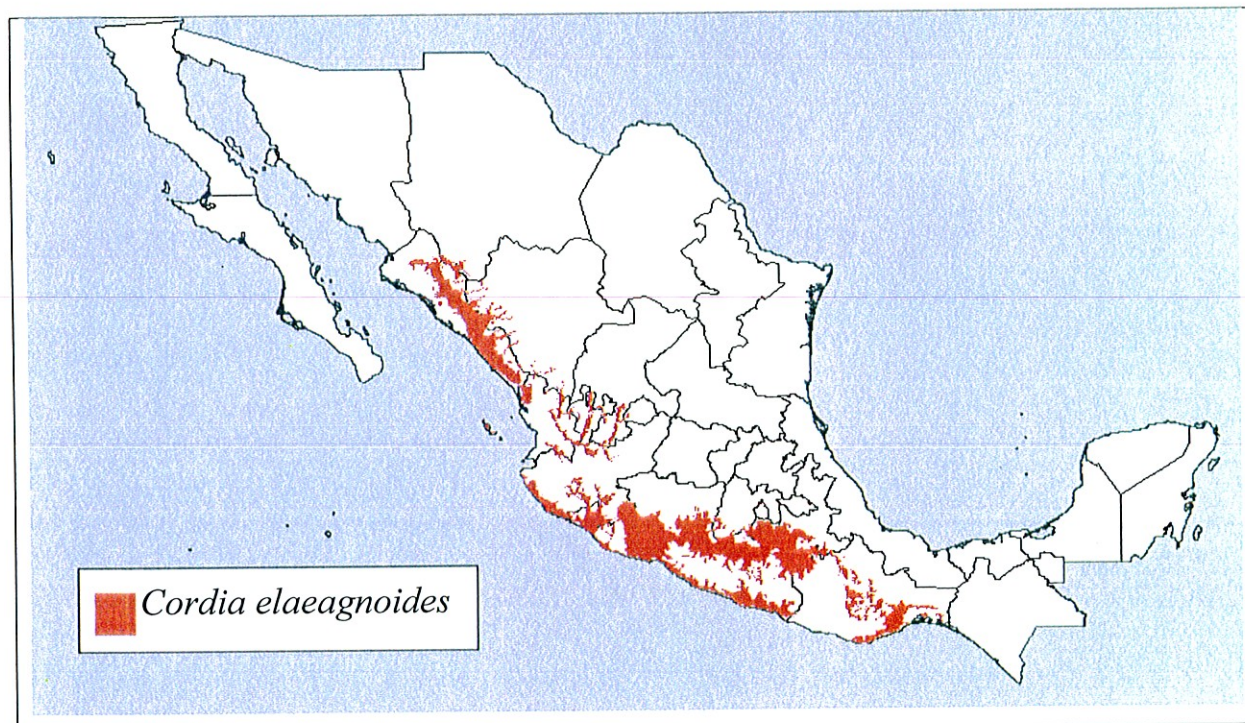


Figura 1. Distribución de *Cordia elaeagnoides* en México (Pennington y Sarukhán, 2005)

2.3 Usos

De acuerdo a las diversas poblaciones en las que se le localiza en México, recibe distintos nombres; barcino (Jalisco, Colima); bocote (Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca) cueramo, güeramo (Jalisco, Michoacán, Guerrero) bogote, bocate (Guerrero); ocotillo, ocotillo meco, anacahuite de tehuantepec, grisiña de ocote, guiri siña, guiri, siña, quiri-xina (Oaxaca) (Martínez, 1979; Miranda y Hernández, 1963; Pennington y Sarukhán, 1968; Saldívar, 1975).

Es una especie que ha sido ampliamente explotada por que su madera es muy apreciada, ya que se usa en construcciones rurales ligeras, fabricación de muebles, soleras, artículos artesanales, mobiliario, ebanistería, pisos, mangos de cepillos y artículos de tornería. También es cultivada por sus flores y follaje atractivo (CONAFOR, 2006).

2.3.1 Sustancias químicas encontradas en el género *Cordia*

Gibbs (1974) llevó a cabo estudios en diferentes géneros de la familia Boraginaceae, desde el punto de vista químico, indicando la presencia de las siguientes clases de sustancias en género *Cordia*: quinonas, hidroquinonas, terpenoides, alcoholes terpénicos, compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas, compuestos nitrogenados.

Entre las especies más importantes se encuentra *C. elaeagnoides*, Manners (1983) estudiando esta especie mexicana procedió a separar un extracto de las ramas en las cuales encontró nueve compuestos pertenecientes al grupo de las geranil hidroquinonas, cuatro de estas ya habían sido separadas de *C. alliodora*.

Los compuestos separados e identificados son los siguientes; geranil hidroquinona, alliodorina, aliolorol y cordolinol. Tiempo después se trabajó en *C. elaeagnoides* y fueron separados e identificados los siguientes compuestos; elaeagnina, diidroelaeagnina, cielocordalinol, cordalinol y cordiacromeno A.

Entretanto, hacen faltan trabajos científicos que comprueben que la elaboración de medicamentos, con base en la extracción de metabolitos de estas especies antes mencionadas, justifiquen su uso en tratamientos de enfermedades (Ercolini-Barroso *et al.*, 2002).

2.4 Propagación sexual

La semilla es una unidad reproductiva compleja, característica de las plantas vasculares superiores, que se forma a partir del óvulo vegetal, generalmente después de la fertilización.

Se encuentra en las plantas con flores (angiospermas) y en las gimnospermas. En las angiospermas los óvulos se desarrollan dentro de un ovario; en tanto que en las gimnospermas la estructura que los contiene es muy diferente, pues no constituye una verdadera flor; sin embargo, la estructura de las semillas de estas plantas es básicamente similar a la de las plantas con flores.

2.4.1 Semillas

La semilla es el principal órgano reproductivo de la gran mayoría de las plantas superiores terrestres y acuáticas. Ésta desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de plantas, la regeneración de los bosques y la sucesión ecológica. En la naturaleza es una fuente de alimento básico para muchos animales. También, mediante la producción agrícola, es un componente vital de la dieta del hombre (Sánchez *et al.*, 2004).

La semilla es uno de los principales recursos para el manejo agrícola y silvícola de las poblaciones de plantas, la reforestación, la conservación del germoplasma vegetal y para la recuperación de especies valiosas sobreexplotadas. Éstas pueden almacenarse vivas por largos periodos, asegurándose así la preservación de especies y variedades de plantas valiosas.

La ciencia de las semillas se ha desarrollado a lo largo de muchos años, acumulándose hasta la fecha un importante volumen de conocimientos acerca de muchos aspectos de su biología y manejo. Existen numerosas publicaciones científicas y técnicas en este campo y se conocen con detalle varias características de su biología y de las plantas cultivadas más importantes, y de algunos árboles de valor forestal; sin embargo, las semillas de las plantas tropicales y subtropicales no han corrido con igual suerte y su estudio se ha quedado muy rezagado.

Como parte del estudio de las plantas tropicales forestales es necesario intensificar la investigación acerca de las mismas, sus características fisiológicas, sus mecanismos de latencia y germinación, su longevidad (ecológica y potencial) y su posible uso para la propagación y conservación de las plantas, es preciso que la ecología de semillas, adopte una visión muchos más amplia que contemple en su totalidad, el ciclo de vida de las plantas (Guariguata y Kattan, 2002).

Las reservas energéticas de la semilla son: grasas, carbohidratos y a veces proteínas que sostendrán a la futura planta durante sus primeras etapas de vida. Estas reservas, son una función de la composición química y de su peso específico. La cantidad de carbono almacenado ya sea como lípido o como carbohidrato, varía

mucho entre una especie y otra (Levin 1974; Barclay y Earl, 1974). Los lípidos son el compuesto de almacenamiento por excelencia, pues su rendimiento energético por unidad de peso es casi el doble que el de los carbohidratos; sin embargo, en las plantas, la vía metabólica para el desdoblamiento de los lípidos es poco eficiente desde el punto de vista bioquímico (Chapin, 1989).

Levin (1974) encontró que, proporcionalmente los árboles tenían mayor contenido de lípidos que los arbustos y las herbáceas, y que ese contenido se podía correlacionar positivamente con el peso de las semillas. Como hemos dicho, pueden encontrarse en diferentes tejidos o en el embrión mismo y todo está relacionado con la germinación y el desarrollo de un nuevo individuo.

Una semilla consta usualmente de un embrión, tejidos nutritivos y cubierta. La forma, el tamaño, la textura, la consistencia y el color de estas partes son variables, de acuerdo a la especie o variedades (Camacho, 1994).

El fruto del género *Cordia* es un tipo de drupa y clásicamente se considera con un solo carpelo, conteniendo una semilla (Roth, 1977; Spjut, 1994). Esos mismos autores afirman que las drupas también pueden originar varios carpelos cenocárpicos con varias semillas.

Raven *et al.* (2001) dice que estos frutos de un modo general evolucionaron para dispersarse por mecanismos diversos, involucrando diferentes agentes, especialmente animales.

2.4.2 Longevidad natural de las semillas

En el estado de madurez fisiológica, las semillas alcanzan normalmente su máxima calidad representada por el peso seco, potencialidad de germinación y vigor. A partir de ese estado comienza una disminución progresiva de su calidad fisiológica. El progreso del deterioro varía entre especies, entre lotes de semillas de la misma especie y entre semillas del mismo lote (Popinigis, 1977).

Su longevidad depende de las condiciones ambientales (Roberts, 1960; Harrison, 1966; Ellis y Roberts, 1980). Siendo el ambiente seco y frío el más

adecuado para el almacenamiento de las semillas ortodoxas (Roberts, 1972; 1973 y 1981; Bewley y Black, 1986).

La viabilidad tiende a disminuir en general, cuando la temperatura de almacenamiento es mayor a 20 °C (ISTA, 1988).

Las semillas por su longevidad, se dividen actualmente en dos tipos principales (Roberts, 1973).

- Ortodoxas. Semillas que pueden secarse hasta un contenido de humedad bajo, de alrededor del 5% (peso en húmedo), y almacenarse perfectamente a temperaturas bajas o inferiores a 0 °C durante largos periodos.
- Recalcitrantes. Semillas que no toleran que se les seque más allá de un contenido de humedad relativamente alto (con frecuencia en el intervalo de 20-50%; peso húmedo) y que no toleran el almacenamiento durante largos periodos.

A medida que, semillas de otras especies se han ido incorporando a estos estudios, se detectaron casos en que el comportamiento se apartaba de aquellas dos categorías iniciales, incluyéndose una tercera llamada intermedia (Ellis *et al.*, 1990)

Esta categoría abarca aquellas semillas ortodoxas que no toleran la posterior desecación artificial hasta el 5% y/o muestran alguna susceptibilidad al frío (en estado deshidratado). También incluye a semillas recalcitrantes que pierden viabilidad con contenidos de humedad relativamente bajos, aunque no tanto como el que alcanzarían deshidratándose naturalmente (Roqueiro *et al.*, 2006)

En promedio la semilla de *Cordia alliodora* mide 7 mm largo y 4 mm ancho y tiene una forma ovoide. Las semillas de esta especie son ortodoxas, el manejo para este tipo de semillas es el siguiente:

- Almacenamiento con contenido de humedad de 6-7 %
- Temperaturas de 0 °C

Estas condiciones permiten viabilidad por varios meses. Al parecer esta semilla no presenta latencia (CONAFOR, 2006)

2.4.3 Germinación

Los factores ambientales tales como disponibilidad de agua, temperatura, luz, oxígeno y dióxido de carbono entre otros, influyen tanto sobre el porcentaje como sobre la velocidad de germinación de las semillas siendo muchos de ellos más o menos específicos para cada especie (Bewley y Black, 1986)

La viabilidad de la semilla también está influenciada por las características genéticas de la planta progenitora, condiciones climáticas durante la floración, formación, desarrollo y maduración del fruto, el grado de madurez de la semilla a la cosecha y el manejo en colecta (Carvalho y Nakagawa, 1983; Hartman y Kester, 1988).

Otro factor que influye considerablemente en la conservación de la viabilidad de la semilla aunado a la especie, es la calidad y cantidad de sustancias químicas contenidas en el embrión y en los tejidos (Niembro, 1990).

Las causas que originan el deterioro de dichas sustancias y que conllevan a la pérdida del vigor y la germinabilidad de las semillas son diversas y aún no se conocen, sin embargo, como las estructuras subcelulares están compuestas por lípidos y proteínas con el paso del tiempo la membrana celular gradualmente se va deteriorando y perdiendo así su capacidad selectiva, este deterioro se lleva a cabo a consecuencia de la autooxidación de los lípidos en semillas con reservas de aceites, formando peróxidos que activan algunas enzimas y que afectan la viabilidad y vigor de las semillas (Harrington, 1973; Priestley, 1986; Niembro, 1992).

La germinación de las semillas incluye tres etapas sucesivas que se superponen parcialmente:

- La absorción de agua por imbibición, causando su hinchamiento y la ruptura de la testa.
- El inicio de la actividad enzimática y del metabolismo respiratorio, translocación y asimilación de las reservas alimentarias en las regiones en crecimiento del embrión.
- El crecimiento y la división celular que provoca la emergencia de la radícula y posteriormente de la plúmula.

En la mayoría de las semillas el agua penetra inicialmente por el micrópilo y la primera manifestación de la germinación exitosa es la emergencia de la radícula.

La germinación de las semillas puede requerir ácido giberélico (AG_3) para la activación del crecimiento vegetativo del embrión, para el debilitamiento de las capas que rodean el embrión y para la inmovilización de reservas alimenticias del endospermo (Acosta *et al.*, 2004)

Durante la germinación el AG_3 promueve la producción y/o secreción de enzimas hidrolíticas principalmente α -amilasa, envueltas en la solubilización de las reservas del endospermo. El almidón y las proteínas son desdobladas por una variedad de enzimas hidrolíticas y los azúcares, aminoácidos y otros productos son transportados para el crecimiento del embrión (Taíz y Zeiger, 1998).

2.4.4 Latencia

La latencia de las semillas tendría una función adaptativa, debido a que es un mecanismo que evita que las pequeñas plántulas emerjan desde el suelo cuando las condiciones ambientales son inadecuadas para su establecimiento exitoso (Figueroa y Armesto, 2001). Para que ocurra la germinación, las semillas no deben estar en un estado de latencia y las condiciones ambientales para la germinación deben ser las apropiadas (Baskin y Baskin, 1989).

Existen antecedentes de que el impedimento más frecuente de la germinación para especies leñosas es la latencia física, provocada por una testa dura e impermeable. La cubierta de la semilla llega a ser permeable naturalmente con el paso del tiempo, a través de escarificación natural, calor, fuego y la acción de ácidos que corroen la testa (Mohamed-Yasseen *et al.*, 1994).

Se cuenta con evidencia de que la latencia de semillas es heredable (Harper, 1977); y que la selección puede cambiar las propiedades de la latencia de una población.

Para terminar con la latencia, algunas semillas de ciertas especies necesitan estar húmedas y con temperaturas bajas, por periodos prolongados, esto podría ser posible en algunos lugares que cumplen con estas condiciones climatológicas, para

otras especies de zonas áridas las semillas solo germinan si existe una lluvia abundante con la cual puedan establecerse las plántulas. Otras especies requieren de iluminación para germinar, evitando de esa manera que el proceso se desarrolle cuando las semillas están enterradas profundamente o son muy sombreadas por otras plantas (Patiño *et al.*, 1983; Willan, 1991).

En resumen, la latencia de las semillas termina cuando existe algún estímulo ambiental que anuncie que las condiciones son favorables para el desarrollo de la planta.

2.4.1.1 Mecanismos de latencia

El impedimento de la germinación de semillas viables bajo condiciones ambientales adecuadas es provocado por mecanismos de distintos tipos de latencia que se describen a continuación (Hartmann y Kester, 1988; Willan, 1991).

1) Latencia exógena o provocada por la cubierta de las semillas

- Latencia física. Característica de un gran número de especies de plantas, en las cuales la testa o secciones endurecidas de otras cubiertas de la semilla son impermeables. El embrión está quiescente, pero se encuentra encerrado dentro de una cubierta impermeable que puede preservar las semillas con bajo contenido de humedad durante varios años, aún con temperaturas elevadas.
- Latencia mecánica. En ésta categoría las cubiertas de las semillas son demasiado duras para permitir que el embrión se expanda durante la germinación. Probablemente éste factor no es la única causa de la latencia, ya que en la mayoría de los casos se combina con otros tipos para retardar la germinación.
- Latencia química. Corresponde a la producción y acumulación de sustancias químicas que inhiben la germinación, ya sea en el fruto o en las cubiertas de las semillas.

2) Latencia morfológica o endógena

- Se presenta en aquellas familias de plantas, cuyas semillas, de manera característica en el embrión, no se han desarrollado por completo en la época de maduración. Como regla general, el crecimiento del embrión es favorecido por temperaturas cálidas, pero la respuesta puede ser complicada por la presencia de otros mecanismos de letargo. Dentro de ésta categoría hay dos grupos:
- Embriones rudimentarios. Se presenta en semillas cuyo embrión es apenas algo más que un proembrión embebido en un endospermo, al momento de la maduración del fruto. También en el endospermo existen inhibidores químicos de la germinación, que se vuelven en particular activos con altas temperaturas.
- Embriones no desarrollados. Algunas semillas, en la madurez del fruto tienen embriones poco desarrollados, con forma de torpedos, que pueden alcanzar un tamaño de hasta la mitad de la cavidad de la semilla. El crecimiento posterior del embrión se efectúa antes de la germinación.

3) Latencia interna

En muchas especies la latencia es controlada en el interior de los tejidos. En el control interno de la germinación están implicados dos fenómenos separados. El primero es el control ejercido por la semi-permeabilidad de las cubiertas de las semillas, y el segundo es un letargo presente en el embrión que se supera con exposición a enfriamiento en húmedo.

- Fisiológica. Corresponde a aquella en que la germinación es impedida por un mecanismo fisiológico inhibitorio.
- Interno intermedio. Esta latencia es inducida principalmente por las cubiertas de las semillas y los tejidos de almacenamiento circundante. Este es característico de las coníferas.

- Del embrión. Se caracteriza principalmente porque para llegar a la germinación se requiere un período de enfriamiento en húmedo y por la incapacidad del embrión separado de germinar con normalidad.

4) Latencia combinada morfofisiológica

- Consiste en la combinación de subdesarrollo del embrión con mecanismos fisiológicos inhibidores fuertes.

5) Latencia combinada exógena - endógena

- Se denomina así a las diversas combinaciones de latencia de la cubierta o el pericarpio con latencia fisiológica endógena.

En los trópicos con menor precipitación pluvial, es usual la latencia de la cubierta de la semilla, y es necesario algún tipo de tratamiento previo para obtener una germinación rápida y uniforme.

2.5 Propagación asexual

La reproducción asexual, o sea la reproducción utilizando partes vegetativas de una planta original, es posible realizarla porque cada célula vegetal contiene las características genéticas necesarias para generar una nueva planta. Es conocido que de una célula individual se pueden iniciar nuevas plantas. Este tipo de reproducción se utiliza para obtener plantas que son copias (clones) de la planta original seleccionada por sus buenas características fenotípicas que resulta de la interacción del genotipo con el ambiente en el cual se ha desarrollado la planta y por consiguiente, en plantas provenientes de clones, pueden ocurrir cambios por variaciones ambientales, pero no ocurren cambios en el genotipo del clon. Esta reproducción puede ocurrir mediante la formación de raíces y tallos adventicios o por medio de la unión de partes vegetativas o injertos.

Asimismo, las estacas y acodos tienen capacidad para formar raíces, pudiendo constituir un nuevo sistema de brotación. Las hojas también pueden regenerar tanto raíces como tallos, además es posible injertar entre sí una nueva raíz y un tallo para formar una nueva planta (Montoya, 2007).

Al respecto vale destacar que la propiedad de las células vegetativas vivientes de regenerar organismos completos se le denomina totipotencia

2.5.1 Reforestación clonal

Debido al auge que ha tomado la reforestación clonal, han surgido inquietudes sobre posibles criterios técnicos y regulaciones mínimas tales como el número pequeño de clones a usar en reforestación comercial, el tamaño máximo de los bloques monoclonales, posibilidad de plantar solo los árboles de la cosecha, como manejar problemas fitosanitarios y el posible manejo de programas de conservación genética entre los más importantes (Murillo *et al.*, 2001).

Asimismo, la reforestación basada en clones permitirá la utilización de especies con limitaciones en su biología reproductiva para garantizar la cantidad de semilla necesaria para un proyecto de reforestación; como por ejemplo, especies de fructificación irregular o especies dioicas (Obando, 2005).

A partir de 1973 fueron realizados varios congresos internacionales sobre propagación vegetativa de especies forestales y sus aplicaciones, pero no fue hasta 1993 que un grupo de expertos logro publicar el primer libro especializado en la materia con el nombre de Clonal Forestry I y II editado por Ahuja y Libby, donde se compiló un gran bagaje de experiencia y estado de conocimiento en este campo (Kleinschmit *et al.*, 1993). La silvicultura clonal impone un cambio en toda la concepción del modelo de plantación, que se establece en forma de un mosaico de bloques monoclonales, donde cada uno de estos bloques es un solo genotipo replicado miles de veces y tendrá entonces un comportamiento idéntico en crecimiento y calidad (Murillo, *et al.*, 2001).

3. JUSTIFICACIÓN

Por medio de éste trabajo se pretende, conocer el comportamiento de la semilla de *Cordia elaeagnoides*, ya que aunado a la demanda que se ha dado últimamente de planta producida en vivero para realizar tanto reforestaciones en bosques naturales como para plantaciones forestales comerciales, se pretende someter la semilla a diferentes tratamientos pregerminativos con la finalidad de aumentar el porcentaje de germinación y producción de planta.

De manera paralela y tomando en cuenta la capacidad de producción de brotes de la especie es factible evaluar, diferentes dosis de citocininas y tomarla como una posible alternativa en la inducción de brotación y posteriormente en la producción de plantas en forma asexual.

4. HIPÓTESIS

Es posible desarrollar un protocolo para inducir la germinación de semillas *Cordia elaeagnoides* en vivero.

La aplicación de citocininas en plantas de *C. elaeagnoides* favorece la producción de brotes.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Desarrollar una metodología para la germinación de semillas y lograr la inducción de brotes en plantas de *Cordia elaeagnoides* A. DC.

5.2 Objetivos particulares

- Determinar la viabilidad de embriones en semillas de *C. elaeagnoides*.
- Evaluar la capacidad germinativa de 20 de semillas de *C. elaeagnoides*.
- Conocer un tratamiento pregerminativo idóneo para semillas de *C. elaeagnoides*.
- Evaluar la respuesta en la brotación de plantas de *C. elaeagnoides* a la aplicación de diferentes dosis de citocininas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Localización del sitio

Se seleccionaron árboles de *Cordia elaeagnoides* en la localidad de Tomatlán, Jalisco, éste municipio se localiza al oeste del estado, en el sur de la región de Vallarta en las coordenadas 19°56'3" de latitud norte y 105°14'8" de longitud oeste, a una altura de 50 msnm. Limita al norte con los municipios de Talpa, Cabo Corrientes y Atenguillo; al sur, La Huerta, Villa Purificación y el Océano Pacífico; al este, Cuautla, Ayutla y Villa Purificación; y al oeste, el Océano Pacífico. (INEGI, 1995)

6.1.1 Clima

El clima del municipio es semiseco con invierno y primavera secos; cálido sin estación invernal definida. La temperatura media anual es de 26 °C y tiene una precipitación media anual de 890 mm con régimen de lluvia en los meses de junio a octubre. Los vientos dominantes son en dirección sur.

6.1.2 Suelos

Los suelos dominantes pertenecen al tipo cambisol crómico y eútrico; y como suelo asociado se encuentra el regosol eútrico y acrisol órtico.

6.1.3 Vegetación

La vegetación en el municipio de Tomatlán es muy variada, pues incluye la característica de la zona costera, así como de la sierra. Destacan las especies arbóreas maderables como: *Cordia elaeagnoides* (barcino), *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb, (parota), *Swietenia humilis* Zucc, (cobano), *Hura polyandra* Baill, (habillo), *Roseodendrum donnell-smithii* (Rose) F. Miranda,

(primavera amarilla), *Tabebuia rosea* (Bertol), (rosa morada), *Pinus* (pino) y *Quercus* (encino, roble).

6.2. Selección y recolección de material biológico

Se eligieron ejemplares sanos (árboles), de buena altura, masa foliar amplia y se numeraron del uno al veinte para tener un control de estos lotes. La semilla utilizada en este experimento fue colectada en conjunto con investigadores del Departamento de Producción Forestal durante los meses de noviembre a enero de 2004-2005.

La colecta de semillas se realizó con la ayuda de pértigas con tijeras, éstas pértigas medían alrededor de 5 m de longitud, se seleccionaron los árboles cuyas flores mantenían un color café y que al sacudir las ramas las flores (semillas) se desprendían fácilmente lo que significa que están en el mejor momento de madurez para llevar a cabo la colecta, se almacenaron en costales de yute, de acuerdo a su procedencia y se numeraron.

Se trasladó la semilla al laboratorio y se procedió a la limpieza manual, en ésta limpieza se utilizó una malla metálica, con la que se tamizó y eliminó las impurezas. La semilla mide en promedio 8 mm de longitud por 4 mm de ancho.

Este trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Cultivo de Tejidos del Departamento de Producción Agrícola del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) ubicado en las Agujas, Zapopan, Jalisco.

6.3 Experimentos

6.3.1 Prueba preliminar para identificar presencia de embriones sanos.

Cuando se desea estimar el potencial de germinación de un determinado lote de semillas, el método más indicado es la germinación o desarrollo directo de una muestra. También se pueden utilizar otros procedimientos por medio de los cuales se estima la presencia de embriones con precisión y en menor tiempo.

El método de corte de semilla es el más sencillo para determinar la presencia de embriones sanos de una manera visual y directa de las semillas, que fueron previamente abiertas con bisturí o con tijeras. Si el endospermo tiene un color blanco (normal) y el embrión está bien desarrollado, la semilla tiene muchas posibilidades de germinar. Pero es difícil considerar como viables las semillas que tienen el embrión lechoso amarillento, poco firme, mohoso, podrido consumido o con olor rancio y las semillas abortivas que carecen de embrión (Bonner, 1974), pero no es posible distinguir las semillas que recientemente fueron dañadas o muertas y que conservan el mismo aspecto que las semillas viables.

Cuando las semillas estuvieron limpias, se procedió a realizar la prueba de corte para conocer la existencia de embriones en la misma, el propósito de realizar este procedimiento en particular fue para obtener un estimado rápido y determinar la viabilidad individual de las semillas con latencia o la viabilidad de una muestra de trabajo (ISTA, 1993)

Para realizar la prueba de corte, se utilizaron tijeras con las cuales se cortó y se retiró parte de la testa de la semilla, para observar si el endospermo es color blanco (normal) y la textura del embrión se encuentra bien desarrollado, así se espera que tenga buena probabilidad de germinación. Para esta prueba se contó con 20 muestras de semillas de *C. elaeagnoides*, de cada lote se tomaron 100 y se les realizó un corte en un extremo de la misma. Se contabilizó el número de semillas con embrión entero y sano por lote seleccionado.

En otra prueba realizada se llevó a cabo, un conteo de más, para determinar por medio del peso si éstas se encontraban llenas o eran vanas, esto se realizó en el Laboratorio de Semillas del CUCBA y se utilizó una máquina que consta de un cilindro neumático que por medio de aire, separa las semillas vanas a un recipiente que por el poco peso que tienen éstas suben y aquellas con mayor peso quedan en la parte inferior del cilindro. Esto fue utilizado como una alternativa, éste experimento proporcionó una base para dar continuidad a los experimentos. Se contabilizó el porcentaje de semillas llenas y vanas para establecer un comparativo entre estos dos métodos.

6.3.2 Evaluación de viabilidad de embriones

Se realizó una prueba bioquímica, la cual es utilizada para evaluar la viabilidad y en la que se emplea cloruro de 2,3,5, -trifenil- tetrazolio (sal de tetrazolio al 1%), que en los procesos de reducción de las células vivas toma el hidrógeno liberado por las enzimas deshidrogenasas y forma una sustancia roja, estable y no difusible, el trifenil formazan (ISTA, 1985). Además de las semillas viables, completamente coloreadas y de aquellas no coloreadas que son las muertas, pueden aparecer semillas parcialmente coloreadas a las cuales se les clasifica como de vitalidad limitada. Se establecen diferentes grados de tinción en regiones esenciales (radícula, plúmula, eje embrional y cotiledones entre otros) y se relaciona con presencia o ausencia de germinación. La viabilidad expresa el potencial de una semilla para germinar (ISTA, 1999).

Para llevar a cabo esta prueba se seleccionaron los tres lotes de semillas que arrojaron los mayores porcentajes de presencia de embriones sanos. De manera aleatoria se tomaron 10 semillas de los lotes 13, 17 y 19, posteriormente se llevó a cabo la remojo de los frutos por un periodo de 2 h, enseguida observando en el estereoscopio y con la ayuda de bisturí y pinzas se procedió a retirar la capa suave y carnosa que cubre la testa, una vez que se obtuvo la semilla se realizaron cortes, siguiendo los ejes para extraer el embrión.

Los embriones fueron sumergidos en solución de cloruro tetrazolio al 1% y se colocaron en la cámara de germinación a una temperatura constante de 55 °C por espacio de una hora. Al término de éste tiempo se retiraron de la cámara y fueron sumergidos en agua destilada para eliminar residuos de la sal, para posteriormente ser observados al microscopio.

6.3.3 Imbibición de semillas

Para realizar este experimento se tomaron 50 semillas de cada lote, es decir una muestra de los 20 lotes existentes. Se procedió a separar 25 semillas de las 50 de cada una de las muestras y se colocaron en cajas de petri, (estas cajas se

acondicionaron con papel filtro previamente humedecido) sin remojo y las otras 25 semillas de la muestra se pusieron a remojar en agua por 24 h y posteriormente se colocaron también en cajas de petri. Todas las cajas fueron rotuladas y colocadas en la cámara de germinación a una temperatura de 25 °C y humedad constante.

Como parte de este mismo experimento se derivó la realización de otros trabajos. Se tomaron 50 semillas por lote y se dividieron en dos partes, 25 se remojaron por 24 h y se procedió a hacer una limpieza total por medio de un bisturí y con el soporte de un estereoscopio. Se realizó una perforación en la testa procurando que la semilla no sufriera daños que pueden reducir o destruir su capacidad de germinación provocado por lastimaduras al embrión, las 25 restantes sólo con 24 h de imbibición.

Con este primer experimento se evaluó el porcentaje de germinación por lote de semilla.

6.3.4 Tratamientos de semillas con ácido giberélico para su germinación en charolas con sustrato de musgo canadiense y composta

En este segundo experimento, se tomaron 30 semillas de cada muestra, estas semillas fueron seleccionadas de acuerdo al tamaño, eligiéndose las de mayor medida y que no presentaran perforaciones.

Se preparó una solución de AG₃ en tres recipientes diferentes pero con la misma dosis que consistió en 260 ppm de AG₃, en las cuales se sumergieron las semillas, con tres tiempos de inmersión que fueron de 24, 48 y 72 h con esto se observó el número de semillas germinadas de acuerdo al tiempo de inmersión en dichos tratamientos, comparando este ensayo con un testigo sin tratamiento.

Las semillas fueron sembradas en charolas germinadoras, previamente desinfectadas con agua y jabón y una preparación de cloro comercial al 6% diluido con agua en una proporción de (1:10).

El sustrato utilizado constó de una mezcla de musgo canadiense y composta en una proporción de 40:60 respectivamente, enseguida se procedió a humedecerlo

de una manera uniforme para conservar las mismas condiciones para todas las semillas y luego se colocó una semilla por cavidad.

Todas las charolas fueron trasladadas al invernadero, en este lugar se conservaron las condiciones ambientales estables para un resultado uniforme, se mantuvieron a temperatura media constante de 30 °C y riego diario uniforme.

La evaluación de germinación se realizó a los 7, 14, 21 y 28 d y se tomó como semilla germinada la aparición de las hojas cotiledonares y raíz.

La germinación se define como el surgimiento y desarrollo, a partir del embrión de la semilla, de las estructuras esenciales que indican la capacidad de la semilla para producir una planta normal en condiciones favorables (Justice, 1972; ISTA, 1976).

Posteriormente, se realizó una repetición de éste experimento, en el cual solo se incluyeron los tres lotes con los que se obtuvieron mayor porcentaje de germinación, tomando en cuenta a las procedencias 13, 17 y 19. Y de la misma manera se tomaron 30 semillas por lote, aplicando el tratamiento de 260 ppm de AG_3 con 24 h de inmersión, la revisión se realizó a los 7, 14, 21 y 28 d.

6.3.5 Inducción de brotación en plantas por medio de citocininas.

Para llevar a cabo este ensayo se utilizaron plantas de tres meses de edad, estas plantas fueron producidas previamente en el invernadero.

Para realizar este trabajo se transplantaron las plantas a macetas, cuyas medidas son de 6 por 6 cm y se aplicó un sustrato que consistió en composta de borrego y turba canadiense (peat most) en una proporción de 60:40.

Se observó que las plantas inicialmente mantuvieran una altura de 10 cm y desarrollo uniforme, para que las variables a evaluar partieran de un mismo parámetro, dichas variables se enumeran a continuación:

- Número de brotes
- Altura
- Número de hojas

En este experimento se evaluaron cuatro concentraciones (tratamientos) y un testigo y se desarrolló bajo un diseño completamente al azar que constó de doce repeticiones por cada tratamiento (Unidad experimental=planta/maceta). Los cuales fueron los siguientes:

- T1. Poda física
- T2. Tratamiento 2 mL de citocininas*/L de agua
- T3. 4 mL de citocininas/L de agua
- T4. 6 mL de citocininas/L de agua
- T5. Testigo con riego normal

El trabajo se llevó a cabo en el invernadero, en la aplicación de cada uno de los tratamientos se realizaron tres aplicaciones (cada 15 d), durante un lapso de 45 d, las plantas fueron asperjadas completamente y el riego se llevó a cabo diariamente para mantener húmedas las plantas y la temperatura constante.

6.4 Análisis estadístico.

Las variables a evaluar fueron: número de brotes, el número de hojas y la altura de la plantas, se realizaron evaluaciones con base en análisis de varianza y comparación múltiple de medias mediante la Prueba LSD (Diferencia Mínima Significativa). Para llevar a cabo estos análisis se utilizó el paquete de cómputo Statgraphics Plus 4.0 (Statistical Graphics Corp).

* **Citokin:** producto comercial con citocininas de BASF®

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Ensayos preliminares

7.1.1 Evaluación para identificar presencia de embriones sanos

Esta prueba se realizó para conocer porcentajes de embriones sanos y de esta manera seleccionar lotes para llevar a cabo las pruebas de germinación.

Se obtuvieron porcentajes bajos de embriones sanos, en la prueba que se realizó por medio del corte de semilla, obteniendo un promedio de 33.8% de embriones sanos y un 66.2% de embriones dañados (Cuadro 1).

Cuadro 1. Prueba de corte de *Cordia alliodora* considerando 100 semillas por lote para calcular el porcentaje de embriones sanos y dañados.

Lotes de semillas	Embriones sanos	Embriones dañados
1	20	80
2	30	70
3	19	81
4	35	65
5	41	59
6	20	80
7	50	50
8	49	51
9	61	39
10	22	78
11	7	93
12	12	88
13	31	69
14	8	92
15	35	65
16	70	30
17	42	58
18	41	59
19	45	55
20	38	62
	Promedio 33.8%	Promedio 66.2%

En la siguiente prueba, que se llevó a cabo para conocer y separar la cantidad de semillas sanas (Figura 2), por medio de una máquina que funciona con base en aire, se puede apreciar de la misma manera que en el trabajo anterior, el porcentaje de semillas sanas reportado fue bajo, contando con un 33.5% de embriones sanos y un 66.5% de embriones dañados (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resultados obtenidos en la prueba para contabilizar el número de semillas sanas de *C. elaeagnoides*, utilizando una máquina separadora de semillas, considerando 100 semillas por lote.

Lotes de semillas	Embriones sanos	Embriones dañados
1	22	78
4	40	60
5	30	70
7	32	68
8	35	65
9	49	51
10	30	70
13	40	60
17	40	60
19	35	65
20	15	85
	Promedio 33.5	Promedio 66.5

Para poder conocer de una manera más amplia el resultado de ambas pruebas, se decidió realizar una comparación entre los dos métodos utilizados, así se pudo observar que no existe una gran diferencia entre ellos.

Aunque en el procedimiento llevado a cabo por el medio manual se observa un aumento ligero en proporción al método de separación por medio de aire (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación entre métodos utilizados para contabilizar semillas con embriones sanos y dañados de *C. elaeagnoides*.

Lotes de semillas	Embriones sanos		Embriones dañados	
	Máquina separadora de semillas	Corte manual (tijeras)	Máquina separadora de semillas	Corte manual (tijeras)
1	22	20	78	80
4	40	35	60	65
5	30	41	70	59
7	32	59	68	59
8	35	49	65	51
9	49	61	51	39
10	30	22	70	78
13	40	31	60	69
17	40	42	60	58
19	35	45	65	55
20	15	11	85	89

Este resultado se debe, a que en el momento de llevar a cabo la prueba de corte de semillas, aunque se observó claramente el embrión completo (Figura 2 B), no se pudo determinar con exactitud el hecho de dictaminar la viabilidad del embrión, así que estas pruebas fueron tomadas como una tendencia hacia los experimentos a realizar posteriormente. Por otra parte el método por medio de aire sólo confirmó dicha tendencia.

Es probable que éste problema se encuentre relacionado con la distilia, que es una reacción de incompatibilidad que según los autores (Taisma y Wolfgang, 2005) afecta a muchas especies del género *Cordia*, que consiste en la incompatibilidad de los morfos florales ya que poseen un morfo longiestilo y un morfo breviestilo y presentan con frecuencia sistemas de autoincompatibilidad genética en el que sólo el polen del morfo opuesto es compatible (Solbrig, 1976; Nettancourt, 1977;

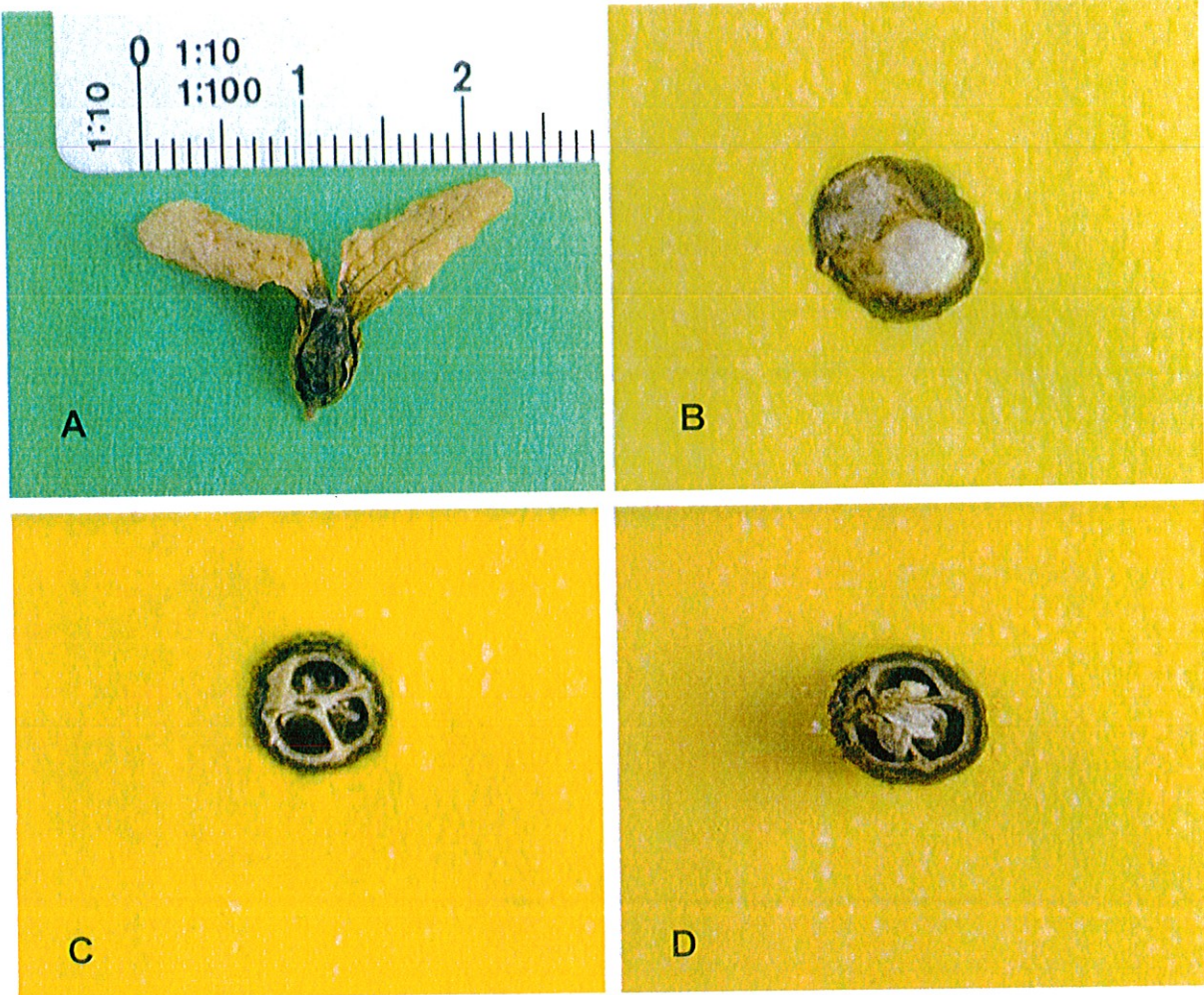


Figura 2. Semillas de *Cordia elaeagnoides* utilizadas para identificar presencia de embriones sanos y embriones dañados. **A)** Semilla con parte de pétalos que forman la flor. **B)** Semilla con embrión sano. **C)** Semilla con cavidades vacías. **D)** Semilla con embriones dañados.

7.1.2 Evaluación de viabilidad de embriones con tetrazolio

Para llevar a cabo esta prueba se tomaron en cuenta sólo las muestras con las que se obtuvieron los resultados más altos en cuanto a la sanidad de embriones, de acuerdo a las pruebas de embriones sanos y dañados que se realizaron previamente, se trabajó con los lotes 13, 17 y 19 (Cuadro 4).

Dichos lotes obtuvieron las cifras más estables y por lo tanto se seleccionaron para realizar este ensayo de inmersión en cloruro de tetrazolio al 1%, por otra parte fueron las semillas con mejor aspecto físico. Con esta prueba de viabilidad pregerminativa (Figura 3) se confirmó que los antes mencionados son los más indicados para llevar a cabo los estudios de germinación ya que se logró una tinción adecuada de la totalidad del embrión, que es indicativo de viabilidad, se alcanzó un promedio general de 80 % de viabilidad, obteniéndose el 100 % de viabilidad con la muestra 13 (Figura 3 C). A pesar que los ensayos en éste caso no se presentaron problemas al momento de realizar el tratamiento de germinación presentan dificultades a la hora de aplicarlos en semillas de especies que presentan fuerte letargo, como son los del ámbito forestal (Moreno *et al*, 2001),

Cuadro 4. Resultados obtenidos en la prueba de viabilidad de embriones con cloruro de tetrazolio al 1%.

Lotes de semillas	No. de semillas	% de viabilidad
13	10	100
17	10	90
19	10	50

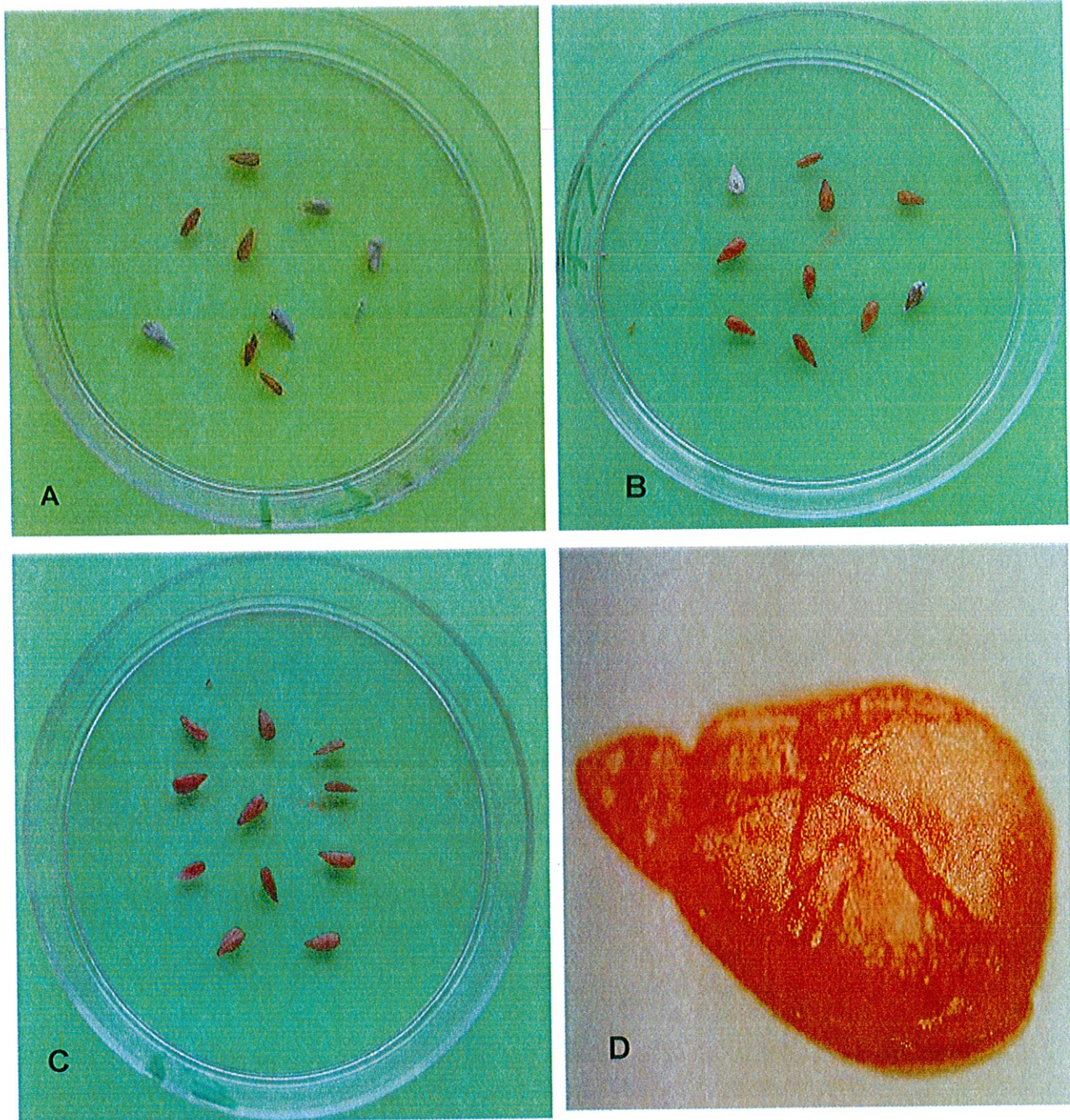


Figura 3. Prueba de viabilidad de embriones con cloruro de tetrazolio al 1% en semillas de *Cordia elaeagnoides*. **A)** Lote de semillas 19 con un 50 % de viabilidad de embriones. **B)** Lote de semillas 17 con un 90 % de viabilidad de embriones. **C)** Lote de semillas 13 con un 100 % de viabilidad de embriones. **D)** Acercamiento de un embrión viable

7.1.3 Estimación de porcentaje de semillas viables por el método de imbibición.

Se observó durante este experimento que el tratamiento basado en la imbibición en agua por 24 h (Figura 4) y posterior germinación en cajas de petri, en las muestras 13, 15 y 17 se obtuvo una respuesta favorable, pero el porcentaje de germinación fue bajo y en el tratamiento sin imbibición la respuesta fue nula para todos los genotipos, por lo tanto se cree que este no es el tratamiento más adecuado. CONAFOR (2006) plantea que la semilla de *Cordia elaeagnoides* no presenta latencia pero, después de haber realizado el anterior tratamiento es posible señalar que presenta más de un tipo de latencia, y una de esas dormancias puede ser de origen físico por el tipo de testa que presenta la semilla, que no permite el paso de agua.

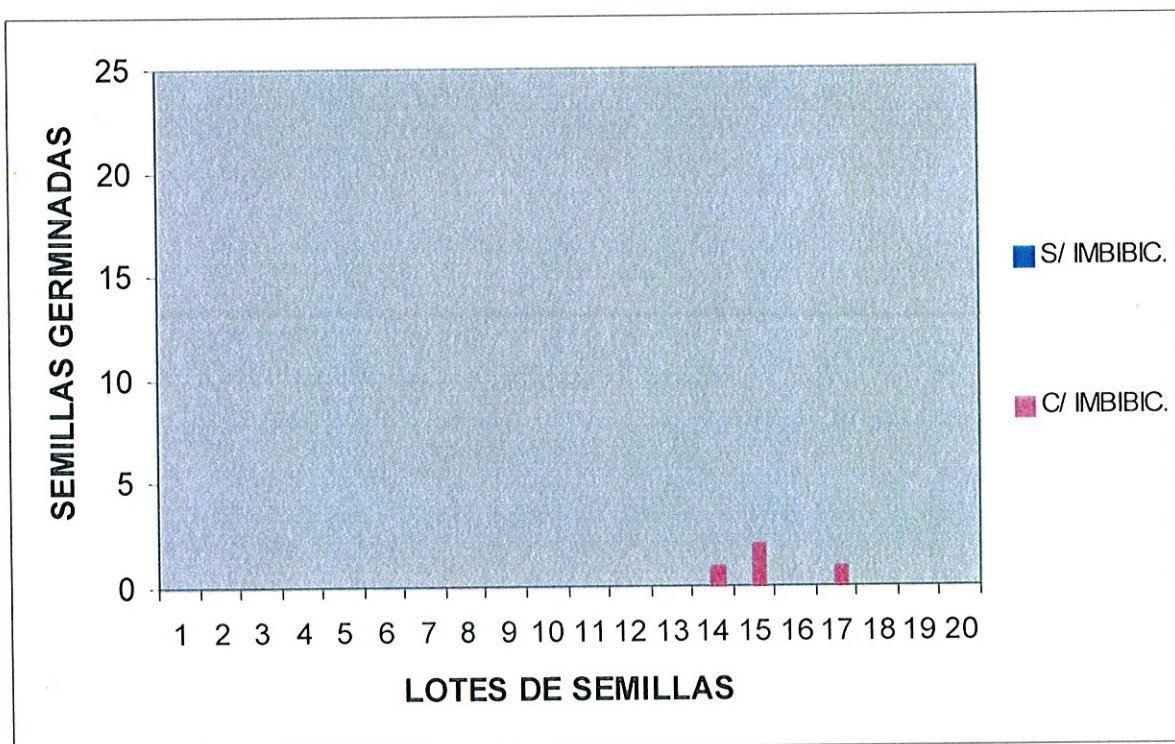


Figura 4. Prueba de germinación de *Cordia elaeagnoides* con 20 muestras.

El experimento siguiente, consistió en la perforación de las semillas con 24 h de imbibición y el testigo sin perforación y con 24 h de remojo en agua (Figura 6), se

obtuvo un 1.1 % de germinación y aún cuando el porcentaje fue bajo y no resultó el tratamiento adecuado para establecer germinación en sustrato se considera un avance en la investigación (Figura 5).

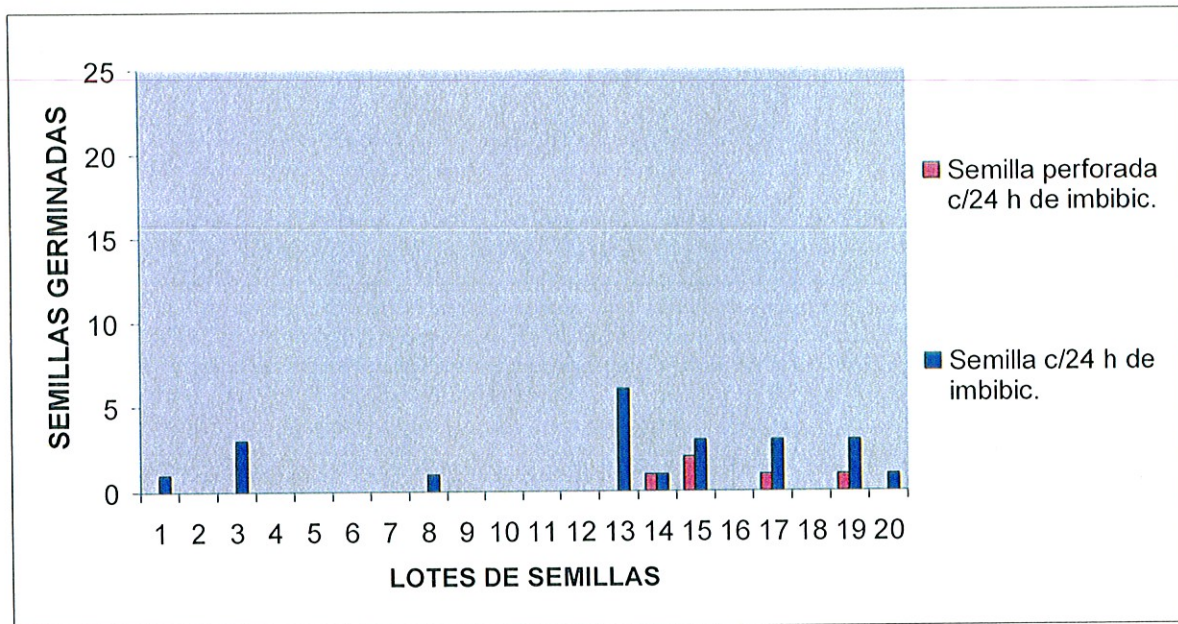


Figura 5. Prueba de germinación de semillas de *Cordia elaeagnoides* perforadas y con 24 h de imbibición y el testigo sin perforación y con 24 h de imbibición.

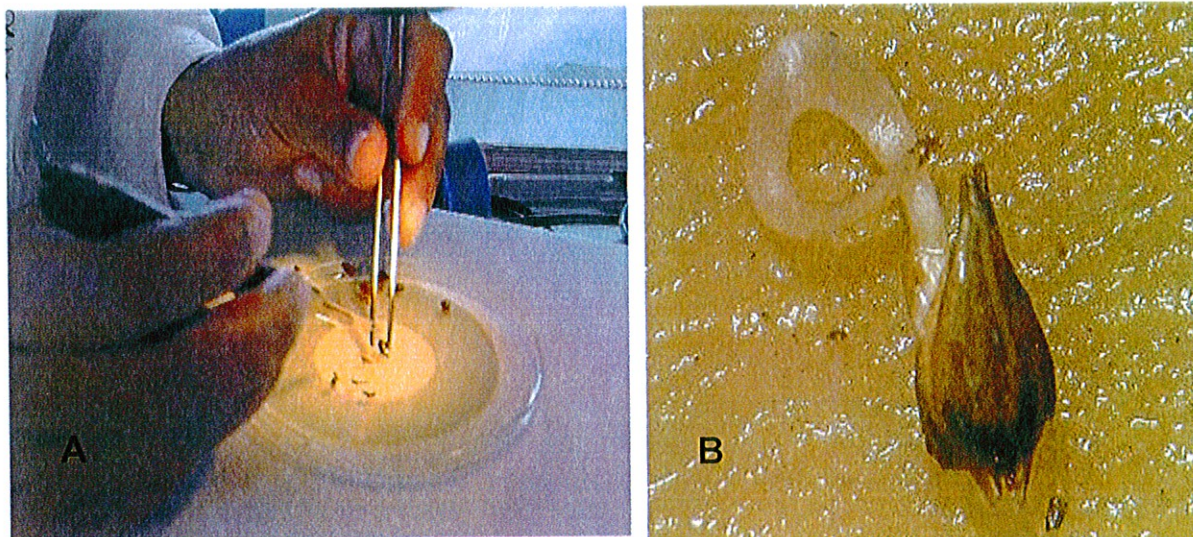


Figura 6. Proceso para el tratamiento de imbibición de semillas de *Cordia elaeagnoides*. A) Limpieza y perforación de semillas de *C. elaeagnoides*, con pinzas, bisturí y estereoscopio. B) Semilla de *C. elaeagnoides* con perforación y 24 h de imbibición.

7.1.4 Determinación de tratamientos de semillas con ácido giberélico para su germinación en charolas.

Se probaron tres periodos de imbibición, para determinar cual de ellos es el idóneo para la germinación de 20 lotes de semillas de *C. elaeagnoides*.

Respecto a este tratamiento que consistió en tres tiempos de imbibición y una dosis de 260 ppm de AG₃, se pudo constatar que no se obtuvo respuesta positiva de todos ellos, logrando nuevamente que los lotes 13, 17 y 19 alcanzaran los niveles más altos de germinación con un tiempo de 24 h de imbibición (Figura 7).

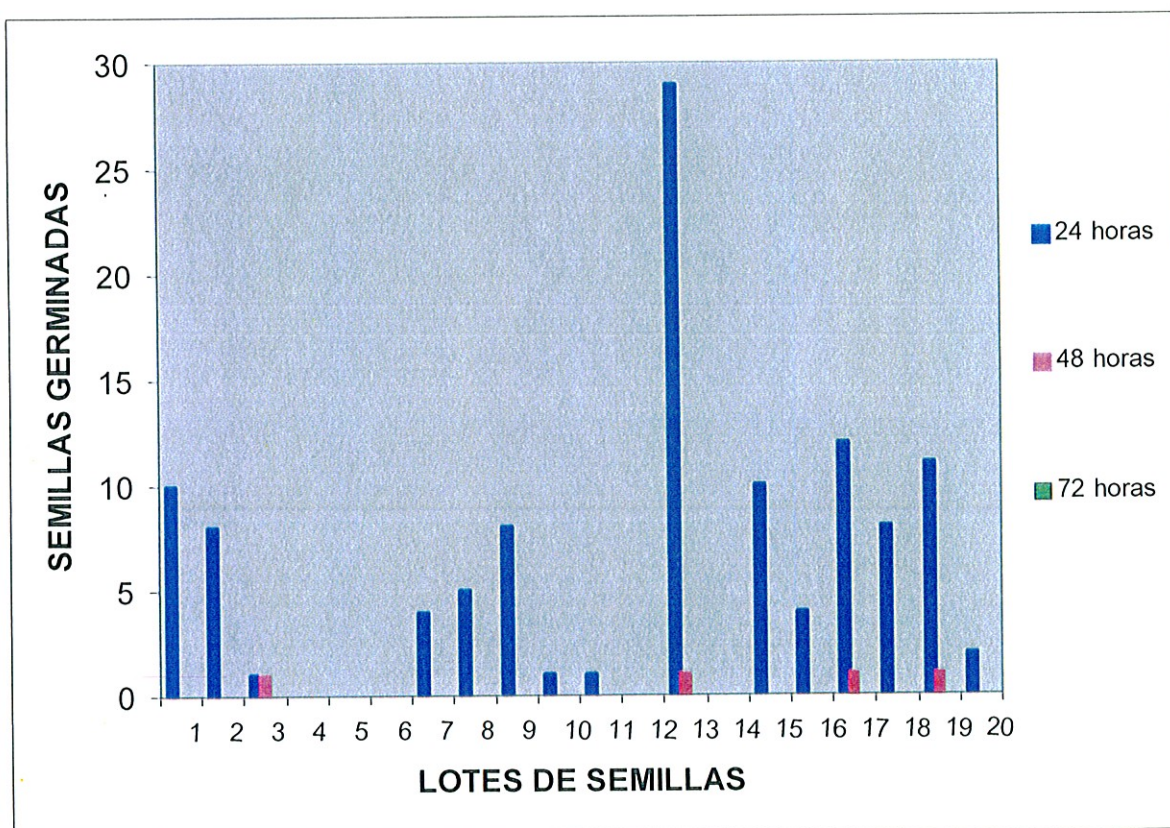


Figura 7. Prueba de germinación de *C. elaeagnoides* en los 20 lotes disponibles con tres tiempos de imbibición y una dosis de 260 ppm de AG₃

En la germinación de semillas de *C. elaeagnoides* se obtuvo un efecto positivo en la ruptura de la latencia por la acción del AG₃ (Figura 8), por lo que al establecer una comparación entre los tres tiempos de imbibición, se puede decir que

el tratamiento que ofreció mejores resultados es el observado en el lote 13, con 96.6 % de germinación y un tiempo de imbibición de 24 h en 260 ppm de AG₃.

La activación del embrión posiblemente se debió a la estimulación enzimática mediada por el AG₃. Besnier (1979), reporta que AG₃ promueve la síntesis de diversas enzimas entre las que destacan α -amilasa y la dextrina límite; la α y β glucosidasas, las endo- β gluconasas y las endoxilasas permitiendo la movilización de hidratos de carbono para el crecimiento y desarrollo del embrión.



Figura 8. Germinación en charolas de *C. elaeagnoides* con un tratamiento de 260 ppm de AG₃ y 24 h de imbibición. **A)** Germinación de *C. elaeagnoides* en charola con tratamiento de 260 ppm de AG₃ a 45 d de la germinación. **B)** Plantas de *C. elaeagnoides* en macetas individuales.

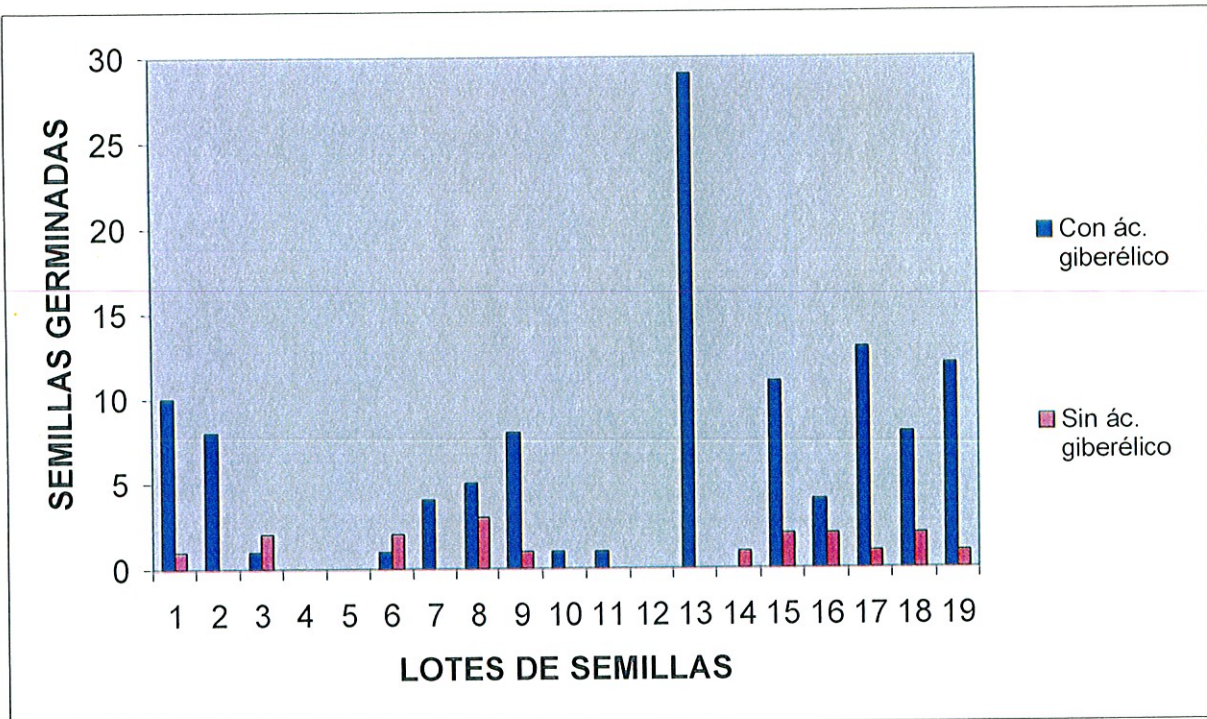


Figura 9. Prueba de germinación de *C. elaeagnoides* en los 20 lotes con 24 h de imbibición y una dosis de 260 ppm de AG₃ y el testigo sin tratamiento.

En esta prueba sólo se manejó el tiempo de 24 h de imbibición en 260 ppm de AG₃, este procedimiento se llevó a cabo para confirmar el resultado obtenido en el tratamiento anterior, el cual consistió en 24, 48 y 72 h de imbibición con la misma dosis de AG₃, se aplicaron en los veinte lotes existentes y se ratificó el mismo resultado en las muestras 13, 17 y 19 (Figura 9). Después de realizar este experimento, es posible señalar que, otro tipo de latencia existente en esta semilla de *Cordia elaeagnoides* puede ser de tipo fisiológica, ya que existe una respuesta positiva a la imbibición y a el AG₃, y que aunada a la latencia física existente en especies leñosas, como lo señala Mohamed-Yansseen *et al.*, (1994), la cubierta de éstas semillas llega a ser tan impermeable y dura que no permite la entrada del agua y solo llega a ser impermeable con la acción del tiempo, a través de escarificación natural, calor o fuego y redunda en una baja germinación en esta especie. Es probable que ésta combinación de latencias asegure en el campo la dispersión de la especie en el tiempo y escapar de la depredación o a condiciones ambientales poco favorables para la germinación y establecimiento de plántulas (Saldaña *et al.*, 2001).

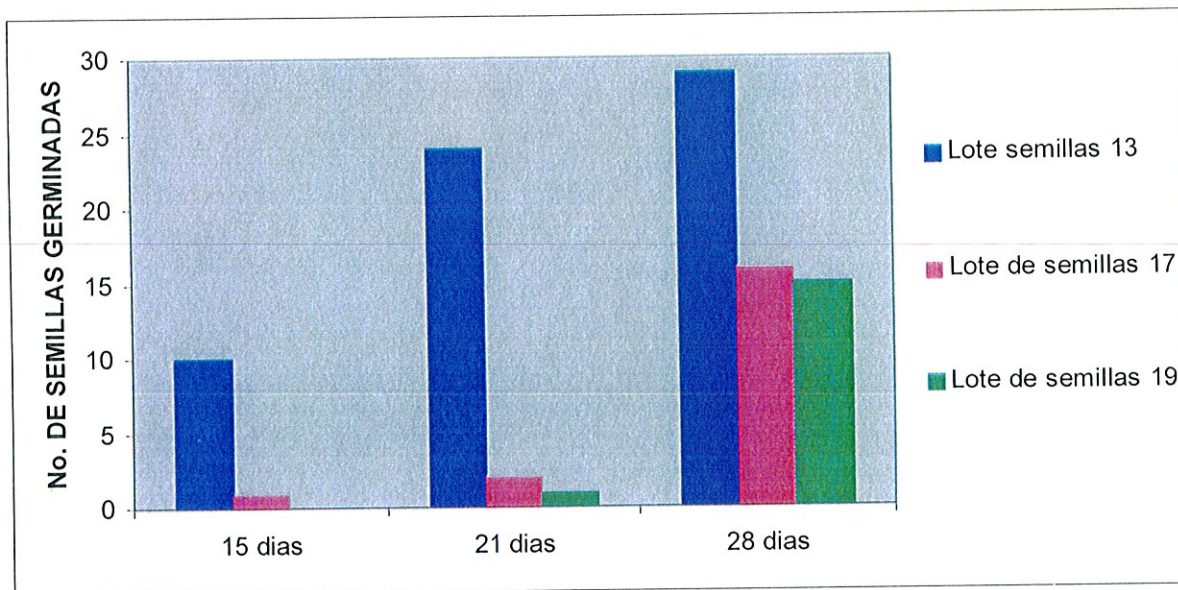


Figura 10. Prueba de germinación de *C. elaeagnoides* con tratamiento de 260 ppm de AG_3 con los lotes 13, 17 y 19

Durante las pruebas de germinación de semillas de *C. elaeagnoides*, los lotes 17, 19 y 13 con tratamiento de imbibición de 24 h y 260 ppm de AG_3 (Figura 10), fueron los que alcanzaron más altos porcentajes y de ellos sobresalió el 13 con un 96.6 % de germinación.

En la prueba testigo los resultados no fueron favorables ya que en los tres lotes de semillas, la germinación sólo alcanzó un 6 % y fue en el lote 19 el que reflejó un número más alto de germinación (Figura 11).

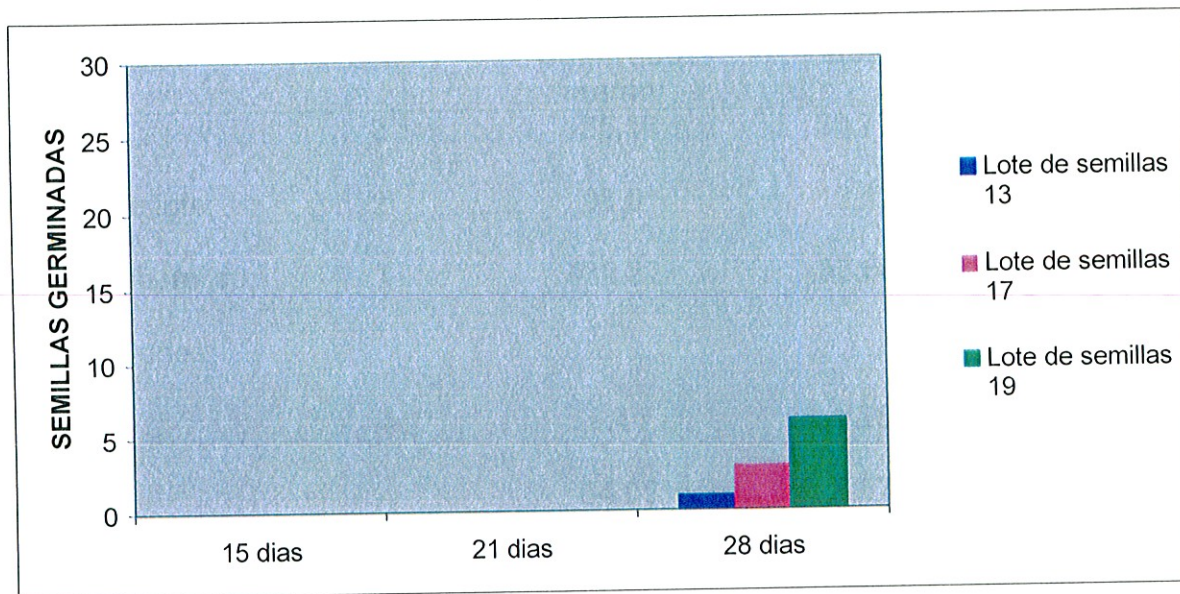


Figura 11. Prueba de germinación de *C. elaeagnoides* sin aplicación de AG_3 con los lotes 13, 17 y 19.

Para el ensayo de germinación de *C. elaeagnoides* con tratamiento de 260 ppm de AG_3 con los lotes 13, 17 y 19 se llevó a cabo un análisis de varianza evaluando tres variables: el número de días, el número de lote de semilla y el ácido giberélico. El resultado que nos arrojó es que el número de lote es significativo pero para el número de días y el ácido giberélico fue altamente significativo (Cuadro 5), en la interacción el número de días con el número de lote de semillas no fue significativo, el número de días y el ácido giberélico fue significativo y el número de lote de semilla con el ácido giberélico fue altamente significativo.

La comparación múltiple de medias mediante la prueba LSD (Diferencia Mínima Significativa) se llevó a cabo para determinar el número de días evaluados y se encontró que a los 15 y 21 días no son significativamente diferentes (Cuadro 6), pero a los 28 días se registró el mayor promedio de semillas germinadas.

Para la evaluación de número de lote de semillas se realizó la comparación múltiple de medias y éste nos arrojó los siguientes resultados, el lote número 13 obtuvo el más alto promedio de germinación y por lo tanto es el recomendable para realizar éstos ensayos, los lotes número 17 y 19 no son significativamente diferentes (Cuadro 7).

Cuadro 5. Análisis de varianza para número de semillas germinadas de *C. elaeagnoides* a los 45 d.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	Prob > F
A: Días	2	155.16	20.77	0.0077**
B: No. de lote	2	98.0	13.12	0.0175*
C: Ac. giberélico	1	430.22	57.58	0.0016**
Interacciones				
AB	4	9.41	1.26	0.4140 ^{ns}
AC	4	64.05	8.57	0.0358*
BC	2	134.88	18.05	0.0099**

** Altamente significativo * Significativo ^{ns} No significativo

Cuadro 6. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para evaluar el número de semillas germinadas en los tres tiempos manejados

Días evaluación	No. de semillas	S. germinadas Media	Grupos homogéneos
15	6	1.83	a
21	6	4.5	a
28	6	11.66	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha=0.05$

Cuadro 7. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para determinar el No. de lote de semilla de *C. elaeagnoides* con más alto potencial de germinación.

No. de lote de semilla	No. de semillas	S. germinadas Media	Grupos homogéneos
19	6	3.66	a
17	6	3.66	a
13	6	10.66	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha=0.05$

Se realizó la comparación múltiple de medias para especificar si la aplicación de AG₃ en la semillas de *C. elaeagnoides* es determinante para la germinación. El resultado logrado en esta prueba nos indica que si es necesaria dicha aplicación (Cuadro 8).

Cuadro 8. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para determinar viabilidad al realizar tratamientos con AG₃ en la semilla de *C. elaeagnoides*

Aplicación de AG ₃	No. de semillas	S. germinadas	Grupos homogéneos
		Media	
No	9	1.11	a
si	9	10.88	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha=0.05$

7.1.5 Inducción de brotes en plantas por medio de citocininas.

Dentro de este mismo experimento se evaluaron tres variables de respuesta que fueron medir el número de brotes, el número de hojas y la altura de la plantas tomando en cuenta diferentes tratamientos que se aplicaron (Figura 12).

Al ser analizados de manera estadística mediante un ANVA, en las primeras dos evaluaciones se obtuvieron resultados significativos para esta variable de producción de brotes a los 45 d de haberse iniciado el experimento encontrando que fue altamente significativo (Cuadro 9)

Cuadro 9. Análisis de varianza para número de brotes de *C. elaeagnoides* con cinco tratamientos a los 45 d.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	Prob > F
Tratamientos	4	24.39	17.79	0.0000**
Error	55	1.37		
Total	59			

** Altamente significativo

Se realizó la comparación múltiple de medias mediante la prueba LSD (Diferencia Mínima Significativa) y se encontró que el mayor número de brotes (Figura 12 D) se dio a los 45 d y se presentó con el tratamiento de poda (Cuadro 10). Es importante señalar que al aplicar cualquier dosificación de citocininas se induce la

brotación, la obtención de crecimiento vegetativo abundante se ha observado con la aplicación de citocininas (García, 2002).

Cuadro 10. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para el número de brotes de *C. elaeagnoides* al aplicar tratamiento con citocininas a los 45 días.

Trat./ brotes	No. de brotes Media	Observaciones	Grupos homogéneos
Testigo	3.83	12	a
ML 6	5.08	12	b
ML 2	6.08	12	c
ML 4	6.5	12	c
Poda	7.58	12	d

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha=0.05$

Al analizar los tratamientos aplicados se puede apreciar que el testigo fue inferior a todos los procedimientos y las diferencias entre los tratamientos realizados no tienen una diferencia alta, por lo que se puede afirmar que todos los tratamientos de citocininas producen brotes, aunque el mejor resultado obtenido fue el de la poda.

Respecto al efecto de diferentes tratamientos en la altura de plantas de *C. elaeagnoides* se advirtió que la evaluación realizada a los 45 d de iniciado el tratamiento por medio del ANVA, mostró que tiene alta significancia (Cuadro 11).

Cuadro 11. Análisis de varianza para la altura de planta en *C. elaeagnoides* con cinco tratamientos.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	Prob > F
Tratamientos	4	17.06	5.07	0.0015**
Error	55	3.36		
Total	59			

** Altamente significativo

Por medio de la comparación de múltiples de medias se observó que la altura máxima alcanzada por las plantas a los 45 d se dió con los tratamientos altos de citocininas (4 y 6 ml) y la poda (Figura 12 B); las plantas llegan a alcanzar tallas hasta 105 % más que el testigo (Cuadro 12), éste resultado es contrario a lo reportado por García (2002), en el cual observó que el efecto de citocininas (BA) en *Pinus pseudostrobus* no fue favorable a la planta, en ese trabajo se menciona que el testigo obtuvo la mejor altura.

Cuadro 12. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para determinar la altura de *C. elaeagnoides* con cinco tratamientos a los 45 d.

Trat./ altura	Altura cm. Media	Observaciones	Grupos homogéneos
Testigo	2.96	12	a
ML 4	4.0	12	ab
ML 2	5.0	12	bc
ML 6	5.12	12	bc
Poda	6.08	12	c

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha=0.05$

En cuanto al efecto de diferentes tratamientos en la producción de hojas en plantas de *C. elaeagnoides* (Figura 12 D), los resultados obtenidos de éste experimento se llevó a cabo un ANVA a los 45 d y se puede observar que es altamente significativo (Cuadro 13).

Cuadro 13. Análisis de varianza para número de hojas en planta de *C. elaeagnoides* con cinco tratamientos a los 45 d.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	Prob > F
Tratamientos	4	381.87	35.83	0.0000**
Error	50	10.65		
Total	54			

** Altamente significativo

Al realizar la comparación múltiple de medias se encontró que para la variable número de hojas el tratamiento apropiado para ésta especie es la poda observándose a los 45 d la mayor producción de hoja (Cuadro 14). García (2002) mencionó que la biomasa aérea de las plantas de *Pinus* con aplicación de citocininas fue siempre significativamente mayor a la obtenida por la planta control.

Cuadro 14. Comparación múltiple de medias LSD (Diferencias Mínimas Significativas) para el número de hojas de *C. elaeagnoides* con cinco tratamientos a los 45 d.

Trat./ hojas	Media	Observaciones	Grupos homogéneos
Testigo	6.25	12	a
ML 2	6.28	12	a
ML 4	7.33	12	ab
ML 6	9.83	12	b
Poda	19.92	12	c

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha=0.05$

El inconveniente que se puede encontrar en la poda es que, aún cuando se lleva a cabo sólo una vez al año y con un costo menor de mano de obra, se puede tener daño físico en la planta lo que provocaría susceptibilidad a la entrada de patógenos, mientras que con la aplicación de citocininas no provocaría ningún tipo de daño físico y el tratamiento es de fácil aplicación.



Figura 12. Plantas de *Cordia elaeagnoides* bajo tratamientos de citocininas, poda y el testigo **A)** Planta de *C. elaeagnoides* con tratamiento de poda y en la que se midió la variable de producción de hojas. **B)** Planta de *C. elaeagnoides* con tratamiento de 6 mL de citocininas y en la que midió la variable de altura. **C)** Ejemplo de los cuatro tratamientos aplicados, el testigo y las variables a medir. **D)** Planta de *C. elaeagnoides* con tratamiento de poda en la cual se aprecia el número de yemas. **E)** Planta *C. elaeagnoides* con tratamiento de 4 mL de citocininas

CONCLUSIONES

- 1.- En el ensayo de corte de semilla de *Cordia elaeagnoides* fue posible diferenciar y estimar porcentajes de presencia o ausencia de embriones sanos.
- 2.- Con la prueba de la máquina separadora de semillas aún cuando es más rápida no se obtuvieron los resultados esperados para ésta especie.
- 3.- La prueba de viabilidad de embriones por medio de cloruro de tetrazolio al 1%, además de rápida es efectiva considerando las pruebas realizadas.
- 4.- La imbibición de semillas de *C. elaeagnoides* en agua por 24 h no favoreció la germinación.
- 5.- El tratamiento pregerminativo más adecuado para *C. elaeagnoides* fue el de 260 ppm de AG₃ por 24 h de imbibición, efecto que se observó en la mayoría de los genotipos.
- 6.- En la aplicación de citocininas para la producción de brotes, las dosis utilizadas 4 y 6 mL de citocininas y la poda beneficia la brotación.
- 7.- Respecto a la variable de la altura los tratamientos 4 y 6 mL de citocininas y la poda inducen el crecimiento de las plantas de *C. elaeagnoides*.
- 8.- En cuanto a la producción de hojas en *C. elaeagnoides* los tratamientos más efectivos fueron 4 y 6 mL de citocininas y la poda.

10 LITERATURA CITADA

- Acosta M., R. Cortéz. L. Rodríguez. y T. Mosquera. 2004. Influencia de algunos factores en la germinación e inducción floral de *Bomarea hispida*, Baker y *Bomarea patinii*. *Agronomía colombiana* 22 (2): 128-139.
- Agostini, G. 1966. El género *Cordia* en Venezuela. Tesis. Universidad Central de Venezuela. 116. p.
- Barajas, M. J. y G. León. 1989. Anatomía de maderas de México: especies de una selva baja caducifolia. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. México D.C. 83. p.
- Barclay, A. S. y F. R. Earl. 1974. Chemical analyses of seeds III. Oil and protein content of 1253 species. *Economic Botany* 28: 178-236.
- Baskin, J. M. y C. C Baskin. 1989. Physiology of dormancy and germination in relation to seed bank ecology. En: Leck MA, VT Parker & RL Simpson (eds) *Ecology of soil seed bank*: 231-256. Academic Press, San Diego, California, E.U.A.
- Besnier, R. F. 1979. *Semillas, biología y tecnología*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Bewley, J .D. y M. Black. 1986. *Seeds physiology of development and germination*. Plenun Press, Nueva York y Londres. 367. p.
- Bonner, F.T. 1974. Seed Testing En: *Seeds of woody plants in the United States*, Agriculture Handbook № 450. For. Service, USDA, Wáshington D.C.

- Camacho, M. F. 1994. Dormición de semillas: causas y tratamientos. Editorial Trillas México D.F. 5-20.
- Carvalho, M.N. y J. Nakagawa. 1983. Sementes. Ciencia, Tecnología e produção. 2da. Ed. Fundacao Cargill. Campinas. 429.
- CONAFOR. 2006. SIRE-Paquetes Tecnológicos, *Cordia elaeagnoides*.
www.conafor.gib.mx/portal/docs/
- Chapin, F. S. 1989. The cost of tundra plant structures: evaluation of concepts and currencies. *American Naturalist* 133: pp 1-19.
- Charlesworth, D. y B. Charlesworth. 1979. A model for the evolution of distyly. *Am. Nat.* 114: p 467-498.
- Ellis, R. H. y E. H. Roberts. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany* 45: 13-30.
- Ellis, R. H. T. D. Hon. y E.H. Roberts. 1990. An intermediate category of seed. Storage behaviour. *Annals of Botany* 41: 1167-1174.
- Ercolini-Barroso, I. C. F. Oliveira. L.H.B. Zanini. E.T.K. Myiake. y T.D. García. 2002. *Revista Lecta, Braganca Paulista*, v.20(1): 15-34.
- Figueroa, J. A y J. J Armesto 2001. Community wide germination strategies in a temperate rainforest of southern Chile: ecological and evolutionary y correlates. *Australian Journal of Botany* 4: 411-425.
- Fuentes, A. L. 1992. Cambios en el uso del suelo agrícola en México. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. pp 36-55.

- García, M. J. J. 2002. Influencia en la aplicación de reguladores de crecimiento sobre la plasticidad fenotípica del *Pinus pseudostrobus*. Lindl. (Pinaceae). Tesis doctoral. pp 17- 45.
- Gibbs, R. D. 1974. Chenotaxonomy of flowering plants. London: Mc. Gill-Queen's: University Press. V.3, p 1748-1755.
- Guariguata R. M y G. H Kattan. 2002. Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales. Costa Rica.
- Harper, J. L. 1977. Population biology of plants. London. Academic Press. 892.
- Harrington, J. F. 1973. Biochemical Basis of Seed Longevity. Seed SCI an Technologia. 1. pp 453-461.
- Harrison, B. J. 1966. Seed deterioration in relation to storage conditions and its influence upon germination, chromosomal damage and plant performance. Journal of National Institute of Agricultural Botany 10: 644-663.
- Hartmann H. y D. Kester. 1988. Propagación de Plantas. México D.F. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. 760 p.
- Hoyos, J. Y. 1985. La flora de la Isla de Margarita, Venezuela. Monografía No. 34. Fundación La Salle de Ciencias Naturales. Caracas, Venezuela. pp 268-269.
- INEGI, 1995. Censo de Población y Vivienda, 1995. Resultados definitivos. Tabulados Básicos. Jalisco Tomos I y II. Aguascalientes, Ags.
- ISTA. 1976. International Rules for Seed Testing Rules and annexes. International Seed Testing Association Seed SCI and Technology. pp. 3-177.

- ISTA. 1985. Handbook on tetrazolium testing. International Seed Testing Association. Zurich. Switzerland. pp100.
- ISTA. 1988. International Rules for Seed Testing Rules. Seed Science y Technology. Tropical and sub-tropical tree and shrub seed handbook. Zurich. Switzerland. pp 153-154.
- ISTA. 1993. International Rules for Seed Testing Rules. Seed Science y Technology, pp 21, Supplement.
- ISTA. 1999. Reglas Internacionales para Ensayos de Semillas. Ensayo topográfico al tetrazolio. Secretaria de Estado de Agricultura y Ganadería. España. pp 2-5.
- Justice, O. L. 1972. Essentials of seed testing. En Seed Biology Vol. 3. (Ed. T.T. Kozlowski). Academic Press, Nueva York y Londres. pp 301-370.
- Kleinschmit, I. D. K. Kurana., H. D. Gerhold y W. J. Libby. 1993. Past, present and anticipated applications of clonal forestry. En Ahuja y Libby (eds). Clonal forestry II, Conservations and Application. Springer-Verlang Berlín; pp 9-41.
- Levin, D. A. 1974. The oil content of seeds: An ecological perspective. American Naturalist 108: pp 193-206.
- Mabberley, D. J. 1997. The plant book. Second. Ed. Cambridge Univ. Press.
- Manners, G. D. 1983. The hydroquinone terpenoids of *Cordia elaeagnoides*. J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1, p 39-43.
- Martínez, M. 1979. Catalogo de nombres vulgares y científicos de Plantas Mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México. pp 1210.

- Miranda, F. y X. E. Hernández. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. Bol. Soc. Bot. de México. 2B. pp 129-179.
- Mohamed-Yasseen Y. S.A Barringer. W. E Splittstoesser y S. Costanza, 1994. The role of seed coats in seed viability. Botanical Review 60: pp 426-439.
- Moreno, A. M. T. M. L. F. Benito. S. N. Herrero. L. S. Domínguez y R. J. L. Peñuelas. 2001. Estudios de nuevos métodos de determinación de la viabilidad de las semillas forestales. Actas del III Congreso Forestal Español. Granada. pp 653.
- Murillo O; J. L. Rojas y Y. Badilla. 2001. Reforestación clonal. FUNDECOR, COSTA MADERA, Escuela de Ingeniería Forestal, Instituto Tecnológico de Costa Rica. pp 5-11.
- Nethancourth, D. 1977. Incompatibility in Angiosperms. Springer. Berlín. Alemania. 202.
- Niembro R. A. 1990. La composición química de las semillas y su efecto en la conservación. In: Memoria del Seminario-Taller sobre Investigaciones en Semillas Forestales. Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal (CONIF) octubre 26-28, 1988, Bogotá Colombia. pp 111-118.
- Niembro R.A. 1992. Métodos para determinar la viabilidad y el vigor de las semillas forestales. Semita. No. 3 Año 1. pp. 1-9.
- Obando G. 2005. Reforestación clonal. Kurú: Revista Forestal. 2 (6): pp 1.
- Patiño F. P. De La Garza. Y. Villagómez. J. Talavera y F. Camacho. 1983. Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales. México.

- 19 D.F. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Subsecretaría
Ge Forestal. Boletín Divulgativo No. 63. pp 181.
- z, . Pennington T. D. y J. Sarukhán. 1998. Árboles tropicales de México, Manual para la
ecc identificación de las principales especies. UNAM, Fondo de Cultura
Vo Económica. México. pp 521.
- a, / Pennington T. D. y J. Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México, Manual para la
Re identificación de las principales especies. UNAM, Fondo de Cultura
Ma Económica. México. pp 523.
- ar, F Popinigis F. 1977. Fisilogía da semente. Brasilia D.F. Segunda edición. Pp 289.
- ark
de Priestley, D. A. 1986. Seed ageing: implications for seed storage and persistent in
the soil. New York. Comstock.
- nán,
co Roberts E. H. 1960. Viability of cereal seed in relation to temperature and moisture.
Pu Annals of botany 24; pp 12-31.
- g, O Roberts E.H 1972. Seed deterioration and loss of viability. Advances in Research
Mc and Technology of Seed. 4: pp 25-42.
- R.W Roberts E.H 1973 Predicting the storage life of seeds. Seed Science & Technology
V. 1: pp 499-514.
- a, N Roberts E.H 1981. Physiology of ageing and its application to drying and storage.
dis Seed Scientia and Technology 9: pp 359-372.
- 43 Roqueiro G., Maldonado S., Maroder H. 2006. Avances sobre las causas del rápido
L y deterioro de las semillas de sauce y su reversión. Actas Jornadas de
Ma Salicáceas: pp 369.

- Roth I. 1977. Fruits of angiosperms. Encyclopaedia of plant anatomy. Berlín: Gebrüder Borntrae ger. V 1. pp 666.
- Sanchez, J. A; Muñoz, B.C, Montejo, L. A; Fresneda, J. A; Reino, J. 2004. Estudio ecofisiológico de semillas de interés agroforestal. Biotecnología aplicada. Vol. 21, No. 3. pp 172-174.
- Saldaña, A. A, M. S. Zuluoga, P.E.J. Jardel. 2001. Germinación de *Acer skulchii* Rehder y *Magnolia iltisiana* Vázquez. En la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán, Jalisco, México. Foresta Veracruzana. 3 (2) : pp 5.
- Saldívar, R.M.C. 1975. Proyecto para el estudio del crecimiento cambial de especies arborescentes en la región de Chamela, Jal, Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, U.N.A.M. Méx. pp 166.
- Sarukhán, J. 1964. Estudio sucesional de un área talada en Tuxtepec, Oax., en contribución al estudio fitoecológico de las zonas cálido-húmedas de México. Pub. Esp. Inst. Nal. Inv. For. Méx. núm.3. pp 65-175.
- Solbrig, O. T. 1976. On the relative advantages of cross and self-fertilization. Ann. Mo. Bot. Gard. 63: p 263-276.
- Spjut R.W. 1994. A systematic treatment of fruit types. Men. New York . Bot. Gard. V. 70. pp 1-72.
- Taisma, M. A and V.C. Wolfgang. 2005. Sistema de compatibilidad en la especie distíllica *Cordia curassavica* (JACQ.) R&S (Boraginaceae). *INCI*, 30 (7): pp 431-435.
- Taiz L y E. Zeiger. 1998. Plant Physiology. Sinauer Associates, Inc Suderland, Massachusetts. pp 792.

Takhtajan, A. 1996. Diversity and clasification of flowering plants. Columbia.

Willan R.L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales, estudio con especial referencia a los trópicos. FAO Montes 20/20. pp 502.

TESIS/CUCBA