



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FRUTICULTURA

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE FRUTO Y SEMILLA DE NANCHE *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth Y SU RELACIÓN CON LA CAPACIDAD GERMINATIVA

CAMELIA JAIMES ALBÍTER

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2009

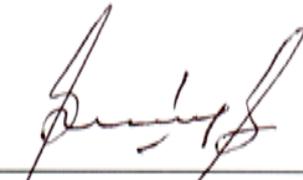
La presente tesis, titulada: **Caracterización morfológica de fruto y semilla de nanche *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth y su relación con la capacidad germinativa**, realizada por la alumna: **Camelia Jaimes Albiter**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

FRUTICULTURA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. GABINO GARCÍA DE LOS SANTOS

ASESOR



DR. GUILLERMO CALDERÓN ZAVALA

ASESOR



M. C. ADRIÁN HERNÁNDEZ LIVERA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, septiembre de 2009

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE FRUTO Y SEMILLA DE NANCHE
Byrsonima crassifolia (L.) Kunth, Y SU RELACIÓN CON LA CAPACIDAD
GERMINATIVA

Camelia Jaimes Albíter, M. C.
Colegio de Postgraduados, 2009

En la presente investigación, se buscó demostrar que la morfología de fruto y semilla de nanche, está relacionada con el comportamiento germinativo de la especie, así como identificar el tipo de latencia que presenta y evaluar el efecto de diversos tratamientos pre-germinativos, para facilitar la germinación de las semillas; para ello, se evaluaron caracteres morfológicos cuantitativos y cualitativos de planta, hoja, fruto y semilla y se realizaron dos pruebas de germinación estándar, una con semillas extraídas de los endocarpios y la otra con los endocarpios conteniendo a las semillas. La caracterización morfológica evidenció que el nanche es una especie ampliamente variable, y que los endocarpios de los ecotipos evaluados presentan dureza, espesor, número de semillas, número de semillas vanas y peso de semilla diferentes. La prueba con semillas extraídas, demostró que el endocarpio duro y grueso limita la germinación de éstas, al obtenerse los mejores porcentajes de germinación en los testigos de los cinco ecotipos (32, 42, 60, 75 y 58 % respectivamente); los resultados de la prueba de germinación con endocarpios, reafirman lo anterior, al obtener el máximo porcentaje de germinación (16.74 %) con la aplicación de Ácido Sulfúrico concentrado a 30 minutos, que desgastó el endocarpio, facilitando la protrusión de la radícula.

Las semillas de nanche presentaron latencia primaria atribuible a la dureza y espesor del endocarpio, que se elimina mediante escarificación mecánica y química; la capacidad germinativa de nanche está relacionada también con el número de semillas por endocarpio, número de semillas vanas y el peso de la semilla.

Palabras clave: caracterización morfológica, escarificación, germinación, latencia, tratamientos pre-germinativos.

MORPHOLOGIC CHARACTERIZATION OF FRUIT AND SEED OF NANCHE
Byrsonima crassifolia (L.) Kunth, AND HIS RELATIONSHIP WITH THE
GERMINATIVE CAPACITY

Camelia Jaimes Albíter, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2009

The purpose of the present investigation was to demonstrate that the morphology of fruit and seed of nanche, is related to the germinative behavior of the species, as well as to identify the type of dormancy that presents and to evaluate the effect of diverse pre-germinative treatments, that promote the germination of the seeds; to do this, morphologic quantitative and qualitative characters of plant, leaf, fruit and seed, were evaluated; also, two tests of standard germination, one with seeds extracted from the endocarps and the second one using the endocarps containing the seeds. The morphologic characterization demonstrated that the nanche is a widely variable species, and that the endocarps of the evaluated ecotypes present different hardness, thickness, number of seeds, number of vain seeds and weight of seed. The test with extracted seeds, demonstrated that the hard and thick endocarp limits the germination of these, since five of the check ecotypes obtained the best percentages of germination (32, 42, 60, 75 and 58 % respectively); the results of the germination test with endocarps, reaffirm the previous statements, since the maximum percentage of germination (16.74 %) with the application of Sulphuric Acid concentrated at 30 minutes was obtained, which facilitated the protrusión of the radicle.

The seeds of nanche presented primary dormancy attributable to the hardness and thickness of the endocarp, which is eliminated by means of mechanic and chemical scarification; the germinative capacity of nanche is also related to the number of seeds for endocarp, number of vain seeds and the weight of the seed.

Key words: morphologic characterization, scarification, germination, dormancy, pre-germinative treatments.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico para realizar mis estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados, por brindarme las facilidades para continuar con mi superación académica.

Al Dr. Gabino García de los Santos, por la dirección de la investigación, profesionalismo, apoyo incondicional, confianza, paciencia, y palabras de aliento, que en todo momento me brindó.

Al Dr. Guillermo Calderón Zavala, por el apoyo económico y material y por las atinadas aportaciones y sugerencias, que mejoraron el contenido del escrito.

Al M. C. Adrián Hernández Livera, por el apoyo técnico durante la conducción del experimento y valiosas sugerencias para mejorar la escritura del documento.

Al Dr. Fermín Jaimes Albíter, por el apoyo constante para resolver oportunamente, los inconvenientes durante la investigación.

A la M. C. Paola Elena Morelos Suet, entrañable y leal amiga, que siempre está conmigo en los momentos que más requiero su valioso apoyo.

Al M. C. Alejandro Romero Bautista, por el apoyo durante todo el desarrollo de la investigación y escritura de este documento.

A Galdino Jaimes Albíter y Jorge Osmín Jaramillo Benítez, por su invaluable apoyo en la colecta de ejemplares botánicos y frutos, en el municipio de Tejupilco, Estado de México.

A Rigoberto Hernández Condado y David Ruiz Hernández, estudiantes de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables, de la Universidad Autónoma Chapingo, por su apoyo en la ardua colecta de ejemplares botánicos y frutos de nanche, realizada en Tuxtepec, Oaxaca, México.

DEDICATORIA

A mis padres:

Bertín Jaimes López y Consuelo Albíter Gómez[†]

Dos personas humildes, pero de gran espíritu, que con sacrificio y decisión, hicieron posible mi desarrollo personal y formación profesional.

A Alejandro, Luis Alejandro y Sonia:

Esposo e hijos, por su amor, apoyo y paciencia, que me brindaron durante mis estudios y la ejecución de la investigación.

A mis hermanos:

Galdino, Misael, Fermín y Diana

Porque sin egoísmo aceptan y alientan mis aspiraciones, contribuyendo cada uno de ellos, con todo lo que está a su alcance y brindándome siempre su respaldo y apoyo en las circunstancias complicadas.

A mi hermana Herlinda[†]:

Porque cuando estuviste con nosotros fuiste mi segunda madre, y estoy segura de que desde donde te encuentres, continúas deseando lo mejor para mi.

A Ángel Rebollar Alvíter:

“Hermano”: gracias por contribuir siempre en todo lo que solicito para lograr mis objetivos; ¡Eres un ejemplo de superación!

A mis sobrinos Norma Patricia y Raúl García Jaimes:

Porque siguiendo las enseñanzas de mi querida hermana Herlinda[†], me patentan su apoyo y respaldo en todo momento.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	iii
SUMMARY	iv
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE CUADROS DEL APÉNDICE	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	3
1.2. Hipótesis	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Los recursos Fitogenéticos	5
2.2. Caracterización de Plantas	7
2.3. El nanche <i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth	8
2.3.1. Diversidad Biológica y Ecológica	8
2.3.2. Taxonomía	10
2.3.3. Descripción Botánica de <i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth	10
2.3.4. Sinonimia y Nombres Comunes	12

2.3.5. Distribución y Producción	12
2.3.6. Caracterización Morfológica	13
2.3.7. Disponibilidad de Recursos Genéticos	15
2.3.8. Propagación Sexual y Latencia	15
2.3.9. Usos del Nanche	22
2.4. Latencia de Semillas	24
2.4.1. Clasificación de la Latencia	25
2.4.2. Regulación Endógena de la Latencia	26
2.4.3. Control Exógeno de la Latencia	27
2.4.4. Tratamientos para Superar la Latencia	27
2.5. Calidad de Semillas	29
2.5.1. Contenido de Humedad	29
2.5.2. Viabilidad	31
2.5.3. Germinación	31
2.5.4. Vigor	32
III. MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1. Colecta e Identificación Taxonómica de Ejemplares Botánicos de Nanche	34
3.1.1. Descripción Geográfica y Climática de los Sitios de Colecta	35
3.2. Caracterización Morfológica	37
3.2.1. Variables Cuantitativas	39

3.2.2. Variables Cualitativas	43
3.2.3. Análisis Estadístico de los Datos	44
3.3. Acondicionamiento de Frutos y Semillas	45
3.3.1. Despulpado de los Frutos	45
3.3.2. Extracción de las Semillas de los Endocarpios	45
3.4. Pruebas Preliminares	46
3.4.1. Determinación del Contenido de Humedad de Semillas y Endocarpios	46
3.4.2 Prueba de Viabilidad con Tetrazolio (2, 3, 5, cloruro de trifeníl tetrazolio)	47
3.5. Prueba de Germinación Estándar con Semillas Extraídas de los Endocarpios	48
3.5.1. Localización del Experimento	48
3.5.2. Condiciones para la Germinación	50
3.5.3. Problemática Fitosanitaria de las Semillas	51
3.5.4. Diseño Experimental	51
3.5.5. Variables Evaluadas	52
3.5.6. Análisis Estadístico de los Datos	53
3.6. Prueba de Germinación Estándar con Semillas dentro del Endocarpio	53
3.6.1. Localización del Experimento	53
3.6.2. Condiciones para la Germinación	58

3.6.3. Necesidades de Riego	58
3.6.4. Diseño Experimental	58
3.6.5. Variables Evaluadas	59
3.6.6. Análisis Estadístico de los Datos	59
IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
4.1. Caracterización Morfológica	60
4.1.1. Identificación Taxonómica de Nanche	60
4.1.2. Análisis de Componentes Principales	60
4.1.3. Análisis de Conglomerados Jerárquico	64
4.2. Pruebas preliminares	69
4.2.1. Viabilidad de las Semillas con Tetrazolio	69
4.2.2. Contenido de Humedad de Semillas y Endocarpios	70
4.2.3. Escarificación Química de Endocarpios	72
4.3. Prueba de Germinación Estándar con Semillas Extraídas de los Endocarpios	73
4.3.1. Porcentaje de Germinación	73
4.3.2. Velocidad de Germinación	78
4.4. Prueba de Germinación Estándar con semillas dentro del Endocarpio	80
4.4.1. Porcentaje de Germinación	80
4.4.2. Velocidad de Emergencia	85

4.5. Características Morfológicas de Fruto y Semilla de Cinco Ecotipos de Nanche Relacionadas con la Capacidad Germinativa	87
V. CONCLUSIONES	91
VI. RECOMENDACIONES	92
VII. LITERATURA CITADA	93
VIII. ANEXO 1	103
IX. APÉNDICE	105

LISTA DE CUADROS

	Página
1. Descripción ecoclimática y geográfica de 20 genotipos de nanche <i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth.	37
2. Variables cuantitativas y cualitativas evaluadas en 20 genotipos de nanche.	38
3. Tratamientos pre-germinativos aplicados a las semillas de cinco ecotipos de nanche.	49
4. Tratamientos preliminares evaluados para escarificar endocarpios de cinco ecotipos de nanche.	54
5. Tratamientos pre-germinativos evaluados en el ensayo definitivo, para promover la germinación de las semillas contenidas en el endocarpio, de cinco ecotipos de nanche.	55
6. Valores propios y proporción de la varianza explicada por los componentes principales, con base en 23 variables cuantitativas de 20 genotipos de nanche de dos regiones de México.	61
7. Comparación de medias de las 23 variables cuantitativas evaluadas en nanche para los agrupamientos obtenidos.	66
8. Viabilidad de semillas y contenido de humedad en semillas y endocarpios de cinco ecotipos de nanche.	69

9. Cuadrados medios y significancia estadística, para las variables fisiológicas evaluadas, en semillas de nanche extraídas de los endocarpios, 30 días después de la siembra en laboratorio.	73
10. Promedios de las variables fisiológicas evaluadas, en semillas de nanche extraídas del endocarpio, obtenidos 30 días después de la siembra en laboratorio.	74
11. Cuadrados medios y significancia estadística, para las variables fisiológicas evaluadas, en semillas de nanche dentro del endocarpio, 120 días después de la siembra en laboratorio.	80
12. Promedios de las variables fisiológicas evaluadas en semillas de nanche dentro del endocarpio, obtenidos 120 días después de la siembra en laboratorio.	81
13. Variables cuantitativas y cualitativas de endocarpio y semilla de cinco ecotipos de nanche, relacionados con la germinación de sus semillas.	87
14. Correlación entre 27 variables cuantitativas de planta, hoja, fruto y semilla con la viabilidad, porcentaje y velocidad de germinación y emergencia de las semillas extraídas y contenidas en el endocarpio.	89

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Diagrama de dispersión de 20 colectas de nanche, con base en los componentes principales 1 y 2.	63
2. Dendrograma de agrupamiento con base en distancias euclidianas, usando el método de Ward, para 23 variables cuantitativas y 12 cualitativas de 20 accesiones de nanche.	65

LISTA DE CUADROS DEL APÉNDICE

	Página
1A. Pruebas preliminares de escarificación química en endocarpios de cinco ecotipos de nanche.	106
2A. Matriz de correlación de Pearson entre 33 variables cuantitativas, usadas para caracterizar el germoplasma de nanche, con la viabilidad, el porcentaje y la velocidad de germinación y emergencia de las semillas, extraídas y contenidas en el endocarpio.	107

I. INTRODUCCIÓN

Como consecuencia del cambio climático, el problema más grave que enfrentará la humanidad en el futuro próximo, será la escasez de agua y la consecuente degradación y salinidad de los suelos. Por ello, como parte de los programas de mejoramiento en frutales, es prioritario iniciar la propagación y selección de especies (portainjertos y cultivares), con características de tolerancia a la salinidad progresiva, adaptación a suelos erosionados, a temperaturas altas y con sistemas radicales eficientes para la extracción de agua, pues sin duda, la producción de alimentos dependerá cada vez más del agua de lluvia, porque el agua de los acuíferos de calidad aceptable para los frutales se está agotando rápidamente (Borys y Leszczyńska-Borys, 2001).

Igualmente importante es la caracterización y evaluación de germoplasma de frutales, especialmente de los frutales nativos, ya que ésta provee a los mejoradores, de genotipos que permitan responder a los nuevos desafíos de los sistemas productivos (Abadie y Berretta 2001; González-Andrés, 2001).

De acuerdo con Agusti (2004) las especies forestales y los patrones de frutales se propagan por semilla, dando lugar a plantas fenotípica y genotípicamente diferentes entre sí y de las plantas madre. El elevado grado de heterocigosis y la polinización cruzada son los responsables de este fenómeno. Como consecuencia, las plantas procedentes de semilla presentan heterogeneidad que es importante para el mejoramiento genético, así también, la reproducción sexual garantiza que la transmisión de virosis sea muy escasa, por lo que los patrones francos constituyen un material de propagación muy importante desde el punto de vista sanitario.

En México existen 712 especies de frutales correspondientes a 75 familias y 169 géneros; de ese total, sólo 32 especies nativas se aprovechan de manera comercial, apareciendo únicamente 14 en las estadísticas oficiales, mientras que las restantes se encuentran en huertos familiares como cultivos de recolección (Borys y Leszczyńska-Borys, 2001).

El nanche *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth es uno de estos frutales nativos, conocido a nivel local y regional, pero que puede ser potencialmente productivo y generar ingresos económicos importantes a la población de las zonas donde prospera (Bayuelo-Jimenez *et al.*, 2006).

Como especie forestal frutícola, el nanche es poco conocido en México y en el mundo, por lo general se le encuentra en forma silvestre y en algunas zonas geográficas en la modalidad de semicultivo; se adapta a un amplio rango de condiciones ambientales y ha adquirido considerable importancia en los estados de la República Mexicana donde se cultiva, por los distintos satisfactores que ofrece: alimento, medicina, ornamental, combustible, curtiente, colorante, apícola, elemento reforestador y componente de sistemas agrosilvopastoriles (Medina-Torres *et al.*, 2004; Love y Spaner, 2005; Peraza-Sánchez *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2008).

En el aspecto nutricional, datos reportados por Villachica (1996) y Muñoz *et al.* (1996), muestran que los frutos poseen contenidos elevados de: aminoácidos (25.86 mg), vitamina C (7.27 mg), Fósforo (17-20 mg), Calcio (29-80 mg) y Ácido ascórbico (71 mg), entre otros, todos ellos elementos esenciales en la dieta humana; esto pone de manifiesto la importancia del conocimiento, manejo y conservación de este recurso fitogenético.

Esta especie presenta problemas para regenerarse de manera natural; la presencia de un endocarpio leñoso y grueso que envuelve a las semillas y el desbalance entre las sustancias inhibidoras y promotoras, dificultan en gran medida la germinación de sus semillas, provocando que ésta ocurra en un periodo amplio y que los porcentajes de germinación sean bajos (Villachica, 1996; García-Núñez *et al.*, 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Vaquero, 2005; Jaimes, 2006; Carvalho y Nascimento, 2008).

La latencia es una característica adquirida por las semillas durante el proceso evolutivo, que les permite tener la capacidad de supervivencia en condiciones ambientales adversas como el calor, el frío y la sequía, pero para fines de reproducción, es un obstáculo que debe disminuirse o eliminarse mediante

tratamientos pregerminativos adecuados (Moreno-Casasola, 1996; Bradford y Nonogaki, 2007).

La información científica disponible respecto a la reproducción sexual de nanche, y sobre la evaluación de tratamientos pregerminativos, es limitada y discrepante, por lo que es necesario continuar estudiando el comportamiento germinativo de dicha especie, pues hasta ahora la mayoría de los autores no reportan resultados sobre la explicación a los bajos porcentajes de germinación obtenidos, y los efectos variables que producen algunos tratamientos pregerminativos evaluados, a pesar de ser los mismos; quizá esto obedezca a que los autores han trabajado diferentes especies del género *Byrsonima*, o bien a que en una misma especie existan diferencias en el tipo y grado de latencia que presenten las semillas; de igual forma, exceptuando a Carvalho y Nascimento (2008), en las investigaciones sobre reproducción mediante semilla, que existen, no se relaciona la morfología con la capacidad germinativa del nanche; esto evidencia la relevancia de conocer los aspectos biológicos y morfológicos, en especial de los frutos y semillas y relacionarlos con la capacidad germinativa de esta especie, para aprovechar su potencial económico y ecológico.

Considerando los aspectos señalados anteriormente, en la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos e hipótesis.

1.1. Objetivos

1. Identificar la especie a la que pertenecen las poblaciones de *Byrsonima* y conocer la variabilidad genética que presenta este género, en dos sitios de la República Mexicana con condiciones climáticas contrastantes.
2. Caracterizar la morfología de fruto y semilla de las poblaciones de *Byrsonima* y relacionarla con su capacidad germinativa.
3. Identificar los tipos de latencia que presentan las poblaciones de nanche, de dos sitios geográficos de la República Mexicana.

4. Evaluar tratamientos pre-germinativos para eliminar la latencia de las semillas de nanche.

1.2. Hipótesis

1. Las poblaciones de *Byrsonima* utilizadas pertenecen a especies diferentes y la variabilidad genética del nanche, está relacionada con las condiciones climáticas de los sitios donde prospera la especie.
2. Existe variación en caracteres morfológicos de fruto y semilla en los diferentes ecotipos de nanche, que se relaciona con el potencial de germinación.
3. No todas las poblaciones de nanche presentan latencia.
4. La latencia de semillas de nanche se elimina mediante escarificación mecánica, química, promotores de la germinación y estratificación en húmedo.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Los Recursos Fitogenéticos

Los recursos fitogenéticos representan la diversidad genética vegetal, producto del proceso evolutivo que han sufrido desde la aparición de la vida en la tierra, hace aproximadamente 3,000 millones de años. La diversidad genética vegetal es fundamental e indispensable, ya que en ella se basa la obtención de nuevos alimentos, fibras, carburantes, productos químicos, medicinas, insecticidas y materia prima para la industria (Vallejo y Estrada 2002).

Dentro de los recursos fitogenéticos se incluyen variedades primitivas, modernas, especies silvestres y arvenses relacionadas con las especies cultivadas, especies silvestres de valor actual o potencial, y determinadas combinaciones genéticas útiles, por lo que constituyen un patrimonio de la humanidad invaluable, y su pérdida es un proceso irreversible que representa una grave amenaza para la estabilidad de los ecosistemas, el desarrollo agrícola y la seguridad alimentaria mundial (Martín, 2001).

La humanidad depende de menos del 1 % de las especies vegetales existentes en el planeta, y las restantes se desconocen o son subutilizadas; se estima que existen en el mundo, 250, 000 especies vegetales. De éstas solo 100 proveen más del 90 % del alimento, 20 suministran la mayoría de proteínas, calorías y aceites, y únicamente tres especies (maíz, arroz y trigo) ofrecen el 66 % de las proteínas y las calorías (Iriando, 2001).

La República Mexicana, y más específicamente el área conocida como Mesoamérica, que comprende parte de México y Centroamérica, es una de las regiones del mundo con mayor riqueza florística y se ha señalado como centro de origen y diversidad de plantas cultivadas que han adquirido gran importancia a nivel mundial (Borys y Leszczyńska-Borys, 2001).

México posee el 10 % de la flora del mundo y se estima que existen aproximadamente 30, 000 especies de plantas vasculares; tan sólo en Chiapas y

Veracruz, se han logrado inventariar más de 8, 000 plantas vasculares en cada estado. Una de las características más importantes de la diversidad biológica de México son los endemismos; entre 20 y 30 % de todas las especies son endémicas. La mayor riqueza florística en México se encuentra en las áreas húmedas, mientras que los porcentajes mas elevados de especies endémicas se registran en aquellas floras en donde predominan los matorrales desérticos y pastizales de zonas secas como Tehuacán en Puebla y los desiertos Sonorense y Chihuahuense (INIFAP, 1996).

La conservación, prospección, recolección, caracterización, evaluación y documentación de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura, son imprescindibles para lograr los objetivos de la declaración de Roma sobre la Seguridad Alimentaria Mundial y el Plan de Acción Mundial para un desarrollo agrícola sostenible para las generaciones presentes y futuras (Nieto, 2007). La conservación de los recursos fitogenéticos generalmente se hace de dos formas, *in situ* y *ex situ* (Estrella *et al.*, 2005).

La conservación *in situ* se refiere a la conservación de los ecosistemas y los hábitats naturales así como al mantenimiento y recuperación de poblaciones viables, de especies en sus entornos naturales, y en el caso de las especies domesticadas y cultivadas, en los entornos en los que se hayan desarrollado sus propiedades específicas (Rivas, 2001).

La conservación *ex situ* es el principal método de conservación de los recursos fitogenéticos y se refiere al mantenimiento de los organismos fuera de su hábitat natural, conservando las especies amenazadas y los recursos genéticos en bancos de semilla, bancos genéticos *in vitro*, bancos de genes, colecciones de campo y jardines botánicos. En los años setenta se hicieron colecciones masivas ante la amenaza de erosión genética, por lo que actualmente existen cerca de seis millones de muestras almacenadas en bancos de germoplasma en todo el mundo (Seguel, 2001).

En la actualidad, existen más de 1000 bancos de germoplasma y solo 30 países pueden proporcionar almacenamiento a largo plazo, debido a que hay

pocas provisiones para el ordenamiento sostenible. Esto ha propiciado el deterioro de muchas colecciones, y más de un millón de muestras requieren ser reemplazadas; los niveles de duplicación para el resguardo parecen ser bajos, pues se desconocen los datos precisos por la falta de información y documentación, en muchos de los bancos de germoplasma (Vallejo y Estrada, 2002).

En México se desarrollan 712 especies de frutales correspondientes a 75 familias y 169 géneros. De esa cifra, solo 32 especies nativas se explotan de manera comercial, aunque no aparecen en las estadísticas oficiales, 14 de ellas se expenden al público y 620 especies se encuentran en huertos familiares en estado de recolección, lo que demuestra que se desconoce el potencial de la mayoría de las especies frutícolas. El número de especies nativas con potencial comercial es alto, pero actualmente las que son aceptadas en el mercado no sobrepasan el 5 % del total de los recursos disponibles, si se incluyeran las especies autóctonas que se conocen a nivel regional se podría sobrepasar el 10 % del total de las especies conocidas por su uso comestible o industrial (Borys y Leszczyńska-Borys, 2001).

El potencial de frutales nativos como el nanche, radica también en la posibilidad de ser empleados como portainjertos para adaptar a aquellas especies del mismo género a las condiciones climáticas y edáficas aprovechando la compatibilidad vegetativa, incluso se podrían emplear en programas de mejoramiento genético (Bayuelo-Jimenez *et al.*, 2006).

2.2. Caracterización de Plantas

Se entiende por caracterización a la descripción de la variación que existe en una colección de germoplasma, en términos de características morfológicas y fenológicas de alta heredabilidad, es decir características cuya expresión es poco influenciada por el ambiente (Abadie y Berretta, 2001).

La caracterización permite diferenciar a las accesiones de una especie, estimar la variación genética, y discriminar grupos. El objetivo principal de ésta es

la identificación de las accesiones, mientras que el de la evaluación es conocer el valor agronómico de los materiales. La distinción entre ambas actividades es esencialmente de orden práctico (Enríquez, 2001).

Para la caracterización y evaluación se utilizan descriptores, que son caracteres considerados importantes y/o útiles en la descripción de una muestra, debiendo estos ser fácilmente observables, tener una alta acción discriminante y baja influencia ambiental; a cada descriptor se le asigna un estado que puede ser: un valor numérico, una escala, un código o un adjetivo calificativo, éste se registra *in situ* o *ex situ* dependiendo de la naturaleza del descriptor (González- Andrés, 2001).

Luego del registro de las variables o descriptores considerados en la caracterización, los datos obtenidos se analizan a través de técnicas estadísticas adecuadas, que van desde el uso de gráficos y estadísticos de tendencia central y dispersión, hasta los multivariados (Hidalgo, 2003).

2.3. El Nanche *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth

2.3.1. Diversidad Biológica y Ecológica

El nanche pertenece a la familia Malpighiaceae, la cual comprende 63 géneros y 1100 especies, aproximadamente (Campbell, 1996; Cordovil y Pezón, 2006). De acuerdo con Cavalcante (1996) y Vázquez-Yáñez *et al.* (1999) el nanche es originario de América tropical y nativo del sureste de México. El vocablo nanche proviene del náhuatl nantzincoyotl que significa fruto ácido de las madres o ancianas (Moreno, 2000).

Alrededor del 80 % de los géneros y 90 % de las especies se localizan en el Nuevo Mundo (Indias Occidentales y de la parte sureste de Estados Unidos hasta Argentina), concentrándose de 14 a 15 géneros en América Central (Williams, 1981). El género *Byrsonima* comprende el mayor número de especies dentro de la familia; abarca alrededor de 150 especies (Gentry, 1996), todas distribuidas en América (Stevens *et al.*, 2001) y generalmente son árboles característicos de

sabana o del dosel forestal, especialmente en áreas con suelos degradados (Martínez-Moreno *et al.*, 2006).

Williams (1981) indica que en México, principalmente en el sureste, se encuentran las especies *B. bucidaefolia* Standl y *B. crassifolia* (L.) H.B.K., así como otras especies de la familia Malpighiaceae, nativas de Mesoamérica y de importancia económica, que se distribuyen en la misma región: *Malpighia glabra* L. y *Malpighia puniceifolia* L. A su vez, Guízar y Sánchez (1991), en un estudio de la región Alto Balsas, señalan que además de *B. crassifolia*, se distribuyen otras especies de dicha familia, y que regionalmente tienen nombres comunes similares al nanche: *Malpighia mexicana* Jussie y *Bunchosia lanceolata* Turcz.

Por su parte, Niembro *et al.* (2004) señalan que el nanche en México presenta una amplia distribución geográfica, pues se le encuentra en toda la zona tropical que va desde el sur de Tamaulipas y este de San Luís Potosí, Veracruz, Tabasco, Yucatán y Quintana Roo, en la vertiente del Golfo, hasta Sinaloa, Nayarit, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, en la vertiente del Pacífico. Medina-Torres *et al.* (2004) reportan importantes áreas cultivadas con nanche a lo largo de la costa de Nayarit, México, en municipios con vegetación de sabana como: Acajoneta, Compostela, Santiago Ixcuintla, Rosamorada, Ruíz y San Blas.

Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006) refieren que se encuentra de manera natural en las zonas de transición de los climas templados y subtropicales del estado de Michoacán, México, mientras que Martínez-Moreno *et al.* (2006) señalan su existencia natural y semicultivada en la región Sierra del estado de Tabasco, México.

2.3.2. Taxonomía

La clasificación taxonómica de acuerdo con Avitia y Castillo (2001), es la siguiente:

Reino _____	Plantae
Subreino _____	Embryobionta
División _____	Magnoliophyta
Clase _____	Magnoliopsida
Orden _____	Polygalales
Familia _____	Malphigiaceae
Género _____	<i>Byrsonima</i>
Especie _____	<i>Byrsonima crassifolia</i>
N.científico _____	<i>Byrsonima crassifolia</i> L.
N.común _____	Nanche

2.3.3. Descripción Botánica de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth

Árbol caducifolio de 2 a 15 m de altura, con copa abierta, redonda o extendida, a veces irregular; el tronco es cilíndrico con diámetro normal de 30 a 40 cm, con ramas ascendentes; la parte externa de la corteza tiene escamas, que se desprende en fracciones rectangulares, es color café oscuro a moreno claro; corteza interna de color crema rosado, que cambia a pardo rosado, fibrosa y amarga; grosor total de corteza de 12 a 25 mm y de madera dura, rojiza, flexible, fuerte y pesada; la albura es de color más claro (crema amarillento) con vasos grandes, radios numerosos y estrechos; no toma un acabado liso y natural (Pennington y Sarukhan, 2005).

Las ramas cuando jóvenes, son de color gris pardo, con cicatrices anulares de las hojas y estípulas caídas; lenticelas escasas, pubescentes en las hojas más jóvenes. Las hojas generalmente son alargadas, decusadas, simples; láminas de 5 por 2 hasta 15 por 7.5 cm, de forma elíptica, margen entero, ápice agudo o redondeado y base aguda, color verde oscuro y casi glabras en el haz y verde amarillento grisáceo con abundantes tricomas en el envés; peciolos pubescentes

de 5 a 25 mm de largo; las yemas miden de 3 a 7 mm, agudas y cubiertas por dos estípulas ferruginosas (Vázquez-Yáñez *et al.*, 1999). Presenta Flores en racimos terminales de hasta 12 cm de largo; cáliz con cinco sépalos de forma oval-triangular (Moreno, 2000), cada uno con dos prominentes glándulas en la base. Son pubescentes; los pedicelos de 7 a 15 mm de largo. Las flores son de 1.5 cm de diámetro con cáliz de 5 mm de largo, cupular en la base, con cinco lóbulos ovados, agudos o redondeados, pubescentes en la superficie externa, con 10 glándulas grandes, oblongas, glabras en la base de la superficie externa. La corola consta de cinco pétalos amarillo-anaranjados, libres, alternos respecto a los lóbulos del cáliz, de 1 cm de largo, orbiculares o reniformes, con la parte superior cóncava, con márgenes ondulados o dentados, unguiculados y glabros (Cordero y Boshier, 2003). El limbo circular, cóncavo, con la base unguiculada. Gineceo con ovario súpero, formado por tres carpelos, lóbulos uniovulares, ovoides y glabros. Presenta tres estilos de 3 a 4 mm. El androceo consta de 10 estambres de 5 mm de largo, filamentos amarillos, vilosos en la parte inferior. Anteras pardas, alargadas, basifijas con los filamentos glabros, insertados en un torus hirsuto (Pennington y Sarukhan, 2005).

Los frutos se presentan en infrutescencias péndulas de 10 a 15 cm de largo; son drupas globosas de 1.2 a 2 cm de diámetro, con todas las partes florales persistentes (menos los pétalos), amarillentas a ligeramente anaranjadas, con abundante pulpa agrídulce que rodea al endocarpio y que contiene de 1 a 3 semillas blancas rodeadas por una testa delgada. El exocarpio es delgado, de color amarillo, verde o rojizo cuando el fruto está maduro; el mesocarpio (la parte comestible) es de consistencia pastosa, de color amarillo y de unos 5 mm de espesor; el endocarpio es redondeado u oval, rígido y reticulado (Moreno, 2000). La semilla se encuentra encerrada en el endocarpio que es duro y leñoso; de forma ovoide o subglobosa arrugada, gruesa o ligeramente comprimida, de 4 a 4.5 mm de diámetro; la testa es de color café claro, lisa, lustrosa, membranosa, muy delgada. El embrión es curvo, enrollado, color amarillo verdoso y ocupa toda la cavidad de la semilla. Las semillas contienen dos cotiledones grandes, largos, planos, carnosos, frecuentemente desiguales, enrollados a manera de espiral; la radícula es corta, superior, oblonga, endospermo nuclear escaso o ausente (Juárez, 1998).

2.3.4. Sinonimia y Nombres Comunes

La sinonimia de *Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K. es amplia, los que más se emplean son: *Byrsonima cumingana* Juss.; *Byrsonima fendleri* Turcz.; *Byrsonima panamensis* Beurl.; *Byrsonima pulcra* Sesé.; *Malpighia crassifolia* L.; *Malpighia pulcra* Sesé (Vázquez-Yáñez *et al.*, 1999; Cordero y Boshier, 2003), *Byrsonima cotinifolia* Kunth, *Byrsonima cubensis* Juss.; *Byrsonima Karwinskiana*; *Byrsonima lanceolata* DC., *Byrsonima rufescens* Bertol. (Niembro *et al.*, 2004); *Byrsonima cynerea* Dec., y *Byrsonima ferruginea*, entre otros (Cavalcante, 1996; Villachica, 1996).

Los nombres más comúnmente usados en toda su área de distribución son: nanche, nance, nanche agrio, nantzin; zac-pa (Maya-Yucatán); changunga, chengua (Michoacán); chi (Maya-Yucatán); huizaa, yaga-huizaa (Zapoteco-Oaxaca); mami-hña (chinanteco-Oaxaca), entre otros (Pennington y Sarukhán, 2005).

2.3.5. Distribución y Producción

El género *Byrsonima*, se distribuye desde México hasta el norte de Sudamérica debido a la tolerancia de los árboles a un amplio rango de condiciones ambientales (Campbell, 1996; León, 2000).

Existen plantaciones comerciales de nanche en Panamá, Brasil y México; en México, las plantaciones comprenden huertos semi-comerciales ubicados en los estados de Veracruz, Chiapas, Nayarit, Oaxaca, Tabasco y Guerrero. En el resto de la República Mexicana y partes de estas entidades federativas existen importantes áreas de recolección (Villachica 1996).

En el año 2005 se cosechó una superficie de 1476.2 ha, que erogaron una producción de 6007.88 t, con un rendimiento promedio de 4.070 t ha⁻¹, lo que dio un valor de la producción de \$ 21,383, 250.00 (SAGARPA, 2005). Los principales estados productores fueron, Guerrero, Oaxaca, Nayarit, Michoacán, Veracruz,

Campeche, Chiapas y Yucatán, siendo Guerrero y Oaxaca los líderes en producción, pues en éstos se cosecho 54.7 % del total de la superficie nacional.

De acuerdo con García y García (1992) la especie se distribuye en altitudes comprendidas entre los cero y 1600 m, pero preferentemente de los cero a los 500 m.

El nanche predomina en los climas cálidos, en sus diferentes variantes Aw (62.12 %), Am (14.61 %) y Af (6.31 %), le siguen los semicálidos y en menor proporción los secos y templados húmedos. Se adapta a una amplia gama de tipos de suelo, aunque tiene preferencia por los regosoles (20.93 %), vertisoles (14.62 %), luvisoles (12.3 %), cambisoles (11.62%) y rendzinas (10.93 %).

Coexiste con bosque tropical caducifolio, perenifolio, de *Quercus* y de coníferas, así como el pastizal y bosque tropical subcaducifolio (García y García, 1992).

2.3.6. Caracterización Morfológica

Respecto a la biología del nanche Nava y Uscanga (1980) mencionan que existen diferencias en la forma, tamaño, color, así como en sabor y consistencia de la pulpa de los frutos, debido a la polinización cruzada natural y a su propagación por semilla. Por su parte, Medina-Torres *et al.* (2004), caracterizaron a priori varias selecciones de *Byrsonima crassifolia* de los municipios de Rosamorada y San Blas, Nayarit, México; de acuerdo a las preferencias de los consumidores, evaluaron localización, color, tamaño y forma del fruto, y el sabor de la pulpa así como algunas características físicas y químicas en cada una de ellas.

Martínez-Moreno *et al.* (2006) caracterizaron morfométricamente frutos y semillas de *Byrsonima crassifolia* de la región Sierra del estado de Tabasco, México; utilizaron 22 caracteres que fueron digitalizados haciendo mediciones con un analizador de imágenes. Los datos se tomaron de 23 árboles silvestres y semicultivados de esa región, registrando los datos de pasaporte de cada una de

las accesiones. Evaluaron 13 variables de fruto y cinco de semilla. Mediante Análisis de Componentes Principales y Análisis Discriminante Canónico, encontraron que tres componentes principales explicaron 84.16 % de la variabilidad total, mientras que empleando la distancia euclidiana, se definieron cinco grupos, destacando el grupo III donde se agrupó a las colectas 14 y 21, las cuales poseen caracteres favorables en peso de fruto y pulpa, aspecto que es importante para la identificación de árboles de nanche con fines de selección.

Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006) caracterizaron morfológicamente 60 genotipos de nanche de tres localidades de Churumuco, Michoacán, México. Realizaron la exploración ecogeográfica e identificación del recurso genético silvestre y la caracterización *in situ*. Evaluaron dos descriptores para arbusto, dos para hojas, 19 para fruto y dos para la semilla. Mediante Análisis de Conglomerados, conformaron tres grupos de genotipos, a éstos les aplicaron análisis de componentes principales, encontrando que cuatro componentes explicaban el 83 % de la variación total observada. Los parámetros morfológicos más significativos para discriminar variabilidad entre genotipos fueron: diámetro del fruto, peso del fruto y peso del mesocarpio, lo que permitió identificar algunos genotipos sobresalientes que podrían utilizarse para hacer mejoramiento agronómico del recurso genético.

Carvalho y Nascimento (2008) caracterizaron morfológicamente pirenios y semillas de murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich); cultivar Açú, de la Colección de Germoplasma de las Frutas Tropicales de Embrapa Amazonia Oriental. Evaluaron 12 variables para los pirenios y cuatro en semillas. Los autores concluyeron que: los pirenios de murici clon Açú son de color gris, duro, forma oval, con la superficie exterior reticulada. Estas características son comunes en la mayoría de los tipos de murici. También encontraron que el peso del pirenio de murici cultivar Açú, fue de 1.3 a 2,5 veces mayor que la generalidad de los pirenios de los tipos de murici que prosperan en la amazonia Brasileña. La mayor frecuencia de semillas fue de dos por pirenio, y una pequeña proporción de pirenios que no presentaron semillas.

Reportan que las semillas se encuentran en lóculos seminíferos con paredes gruesas y menores que las externas, y representan de 10 a 12 % del peso del pirenio; también constataron que el endocarpio o pirenio, es permeable al agua y que la absorción de agua por las semillas es lenta.

2.3.7. Disponibilidad de Recursos Genéticos

Villachica (1996) menciona que *Byrsonima crassifolia* (L.), presenta importante diversidad genética, a juzgar por su amplia dispersión a lo largo de toda la América tropical. También indica que los recursos genéticos disponibles en instituciones a nivel mundial son limitados. Se reporta que el Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia (INPA), en Brasil tiene dos accesiones, mientras que el Subtropical Horticultural Research Center, de Florida, EE.UU., cuenta con seis introducciones, y hace referencia a que los agricultores en Colombia han seleccionado ecotipos con frutos más grandes y dulces. El autor sugiere como prioridades de investigación coleccionar germoplasma y continuar explorando para obtener variedades mejoradas bien definidas, con mayor rendimiento de pulpa, mejor sabor, aroma, grados brix y mayor precocidad, con miras a generar un mejor potencial de industrialización a nivel de microempresas.

2.3.8. Propagación Sexual y Latencia

La información científica disponible respecto a la propagación sexual de *Byrsonima spp.* es escasa y discrepante; ello posiblemente obedece a la variabilidad genética que presenta la especie.

Vega *et al.* (1981) mencionan que en semillas de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.), es posible lograr porcentajes de germinación de 30 % en 22 días posteriores a la siembra y que la viabilidad de las semillas se conserva por un periodo de seis meses; por otro lado, Sánchez (1986) señala que en la Mixteca de la costa Oaxaqueña en México, la propagación de la misma especie, se realiza mediante semillas de árboles previamente seleccionados por sus características deseables de producción, éstas se siembran en semilleros al ras del suelo con una pequeña sombra proporcionada por la presencia de hojarasca;

el tiempo de germinación es variable, pero en general, ocurre en un lapso de uno a cuatro meses y depende del grado de humedad del sustrato. Campos (1987) reporta que el periodo de germinación varía de seis a 12 meses, pero no precisa las condiciones en que se lleva a cabo.

FAO (1987) indica que *Byrsonima ferruginea* Kunth., conocido comúnmente como murici, se propaga generalmente por semillas, que empiezan a germinar a los 12-14 días y generan buenos porcentajes si se siembran frescas tras su extracción del fruto. Francis (1990) asevera que en *Byrsonima spicata*, comúnmente conocido como Maricao, la germinación se promueve mediante la apertura del rodal o la remoción del estrato inferior del bosque y a través de incendios. Las semillas pueden permanecer en el suelo hasta un año antes de germinar. La germinación en vivero es errática y ocurre en promedio 35 días posteriores a la siembra. Pruebas realizadas en Trinidad y Tobago produjeron porcentajes de germinación de cero a 15 % y no ocurrió germinación cuando las semillas permanecieron a la sombra.

Un lote de semillas en Puerto Rico, produjo 35 % de germinación al establecerlos en un ambiente con 50 % de sombra durante cinco meses; también en Puerto Rico, el resultado de otro ensayo, indicó que las semillas almacenadas por varios meses a temperatura ambiente germinaron mejor que las semillas frescas. Una prueba más, demostró que la germinación de las semillas de esta especie es muy baja; después de dispersar al vuelo 9,600 semillas se observó que en los siguientes seis meses, no se produjeron plántulas y después de un año emergieron 50 plántulas en terrenos labrados (Francis, 1990). Mientras tanto Guerrero (1993) escarificando con lija el endocarpio, obtuvo 35 % de germinación y 19 % en el testigo (semilla contenida en el endocarpio) entre 14 y 70 días posteriores a la siembra, en suelo de Santiago Ixcuintla, Nayarit, México; situado a 20 m de altitud a una temperatura de 26.4 °C y precipitación de 1178.9 mm anuales.

Villachica (1996) menciona que el indano o murici (*Byrsonima crassifolia* L.) Rich, se propaga por vía sexual o asexual, siendo la primera la más común. El órgano utilizado como semilla es el endocarpio, aunque el tamaño de la semilla

botánica es pequeño en relación al endocarpio que es duro y grueso. Cada endocarpio puede tener de una a tres semillas. La mayor frecuencia (71,0 %) es de endocarpios con tres semillas, seguido por los de dos (21,5 %) y con solo una semilla (7,5 %). Cuando un endocarpio tiene más de una semilla, éstas se encuentran en lóculos aislados.

La germinación es epigea y normalmente baja debido a la restricción del endocarpio para la absorción de agua y la expansión del embrión. Las semillas sin latencia representan alrededor de 20 % de cada lote y, generalmente, germinan entre 20 y 45 días después de la siembra. Cuando se desarrolla más de una semilla en un mismo endocarpio, éstas mantienen sus individualidades; así, una puede germinar a los 20 días de la siembra, mientras que las otras lo harán en períodos diferentes; raramente ocurre la germinación simultánea de semillas de un mismo endocarpio.

Las semillas soportan el secado y el congelamiento, y son conservadas normalmente en el almacenamiento. El peso de 1,000 endocarpios es de 273 ± 16 g.

Camino (1998) en el Zamorano, Honduras, para mejorar la germinación del nance, probó 38 tratamientos en endocarpios de *Byrsonima* spp.; en laboratorio usó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones de 25 endocarpios cada una. Empleó como sustrato toallas de papel secante húmedas, y el experimento se desarrolló en un cuarto germinador a temperatura de 20 a 25 °C durante 14 semanas. El mejor tratamiento, fue el que combinó el secado durante dos meses a la sombra, almacenamiento por dos años y remojo en 4000 ppm de AG₃ durante 24 horas, pues obtuvo 58 % de germinación, mientras que el testigo alcanzó 8.9 %; tres tratamientos a base de secado de los endocarpios al sol por siete, 28 y 56 días, también estimularon la germinación, aunque fue muy baja; el autor concluye que la semilla de nance requiere un periodo de secado que contribuye a la postmaduración de la misma, y que el AG₃ es esencial porque contrarresta la presencia de inhibidores de la germinación.

Guadarrama (2000) exploró el efecto de tratamientos pregerminativos en *Malpighia mexicana* Jussieu a base de escarificación mecánica combinada con la inmersión de la semilla durante 24 horas en solución de Ácido Giberélico (AG₃) a 500 y 1000 ppm respectivamente, escarificación mecánica combinada con aplicación de Nitrato de Potasio (KNO₃) al 1 % y el testigo (semillas extraídas del endocarpio). El experimento se condujo en ambiente controlado, en una cámara de germinación a 25 °C de temperatura y oscuridad las 24 horas del día. Como sustrato empleó papel filtro; el experimento se estableció en un diseño completamente al azar con tres repeticiones.

La mejor germinación (80 %) se obtuvo con escarificación mecánica combinada con la inmersión en Ácido Giberélico a 500 ppm, al aplicar la combinación escarificación mecánica con Ácido Giberélico a 1000 ppm, el porcentaje de germinación disminuyó a 60 %, el testigo (semilla extraída del endocarpio), logró 43.3 % de germinación y el tratamiento con Nitrato de Potasio solo promovió la germinación en 26.6 %.

El autor concluye que las semillas de *Malpighia mexicana* Jussieu presentan latencia primaria, originada por la cubierta dura e inhibidores de la germinación, que se eliminan o disminuyen con la aplicación de Ácido Giberélico a 500 ppm; también indica que el Nitrato de Potasio, no tiene efecto en la germinación de esta especie, pues el testigo generó mejor porcentaje de germinación que el KNO₃.

García-Núñez *et al.* (2001) evaluaron por tres años en la sabana venezolana, la producción de semilla de *B. crassifolia* y la función del suelo como banco de semilla para la producción de propágulos de manera natural; encontraron un pico de germinación en la primera temporada y el resto en la siguiente estación lluviosa, y que al igual que otras especies estudiadas, a pesar de la alta incidencia de incendios, produce un sustancial número de propágulos viables, con la capacidad para germinar en condiciones de campo. En laboratorio, usando 30 ± 2 °C de temperatura y 12 horas de iluminación, encontraron que *Byrsonima crassifolia* tiene una viabilidad de 56.71 ± 4.93 % y presenta latencia mecánica

debido a la dureza del endocarpio, pues sólo en aquellos tratamientos con escarificación mecánica se logró 40 % de germinación.

Laskowski y Bautista (2002) en Venezuela monitorearon la germinación y emergencia del semeruco o cereza (*Malpighia emarginata* DC.), evaluando el efecto de varios tratamientos pregerminativos; como sustrato emplearon arena y suelo en proporción 1:1; el experimento se estableció con un diseño de bloques al azar, con cuatro repeticiones de 32 propágulos por unidad experimental; la prueba se condujo bajo cubierta que restringió el 80 % de la radiación y con una temperatura promedio de 26 °C. El porcentaje de germinación promedio fue de 12 %; los mejores tratamientos fueron los que combinaron el empleo de semillas extraídas del pirenio con 10 y 15 mm de profundidad y a 5 mm de profundidad en las semillas dentro del pirenio. El 50 % de la emergencia total se logró a los 15 días en la semilla libre de pirenio, a los 35 en los pirenios escarificados y entre 40 y 50 días en pirenios sin tratamiento; este comportamiento lo atribuyeron a las características propias de la especie, disminución del vigor del embrión por daño mecánico debido a la extracción de la semilla, posibilidad de pérdida de viabilidad de semillas extraídas del pirenio por deshidratación y a la restricción mecánica debida al pirenio que contiene a la semilla. La amplitud de los periodos de germinación se debe al tipo de propágulo empleado y a la variabilidad genética.

Las variaciones en el tamaño, longevidad y latencia de las semillas de una misma población, son producto de diferencias genéticas o fisiológicas. Los autores sugieren realizar nuevos ensayos para determinar la causa de la baja germinación de las semillas de semeruco.

Cuenca *et al.* (2003) recolectaron semillas de *Byrsonima crassifolia* durante un año en la sabana Venezolana, escarificaron con Ácido Sulfúrico concentrado durante 30 minutos. Las semillas fueron embebidas en agua destilada, colocadas en germinadores en condiciones de laboratorio, con temperatura media de 20 a 25 °C y monitoreadas durante tres meses. Encontraron que no hubo germinación.

García-Núñez y Azócar (2004) efectuaron estudios sobre la ecología de la regeneración de árboles de la sabana Venezolana (donde se encuentra el nanche) y señalan que estas especies producen una gran cantidad de propágulos

viales anualmente, con la capacidad de germinar en condiciones de campo, lo cual sugiere la importancia de la reproducción sexual en el mantenimiento a largo plazo de sus poblaciones; indican también que la alta resistencia al fuego de los propágulos tanto sexuales como vegetativos, evidencia que la disponibilidad de agua en las sabanas debe ser el factor determinante para la dinámica del establecimiento de dichas especies.

Loaiza (2004) evaluó la estimulación de la germinación de nance (*Byrsonima crassifolia*), mediante la aplicación de tratamientos con agua caliente a diferentes tiempos de inmersión, remojo de las semillas en Ácido Giberélico a 2000 y 4000 ppm durante 24 horas y un testigo, usando cajas de madera con tres partes de suelo franco y una parte de arena como sustrato, con 50 % de sombra, observó germinación a los 30 días posteriores a la siembra en las semillas tratadas con 2000 y 4000 ppm de Ácido Giberélico, con porcentajes de 85 y 95 % respectivamente; el testigo obtuvo 22.5 % de germinación y los tratamientos con agua caliente no estimularon la germinación, aún después de 60 días a la siembra.

Vaquero (2005) para estimular la germinación de la semilla de nance, ensayó 10 tratamientos térmicos a base de remojo de los endocarpios en agua caliente a diferentes tiempos de inmersión, remojo de los endocarpios en Ácido Giberélico a 3000 ppm durante 24 horas y el testigo; usó como sustrato arena y musgo, en proporción 1:1; el experimento se estableció con un diseño de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones de 25 semillas por tratamiento; los endocarpios se sembraron en un almácigo sombreado al 50 % y humedad adecuada. El Ácido Giberélico y la inmersión en agua caliente durante tres segundos estimularon la germinación, obteniendo 25.33 % en 45 días y 16 % de germinación en 65 días respectivamente. El autor concluye que las semillas de nance, presentan latencia originada por la deficiencia de promotores o exceso de inhibidores de la germinación, y que el grosor del endocarpio y el tamaño de la semilla, contribuyen a que la germinación sea baja y desuniforme.

Jaimes (2006) exploró 28 tratamientos pregerminativos para favorecer la germinación de semillas de nance, el experimento se condujo en condiciones

controladas, en una cámara de incubación a 30 °C de temperatura e iluminación las 24 horas del día; usó cajas de Petri y como sustrato papel filtro esterilizado y desinfectado. La escarificación mecánica (eliminación del endocarpio) con diferentes periodos de estratificación en húmedo (5, 7 y 10 días) a 5 °C, fueron los mejores, obteniendo germinación del orden de 30, 40 y 50 % en un periodo de 31 días; el testigo (semilla dentro del endocarpio) no germinó. Se concluyó que las semillas de nanche presentaron latencia exógena y endógena; la primera impuesta por la dureza del endocarpio, y la segunda por la presencia de inhibidores de la germinación.

Carvalho y Nascimento (2008) en pirenios de (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich). cultivar Açú, aplicaron tratamientos para superar la latencia, usaron cajas de plástico y una mezcla de arena y aserrín en proporción 1:1 previamente esterilizados, como sustrato; el experimento se estableció usando un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones de 50 pirenios cada una, y permaneció a 26.8 °C de temperatura. El mejor tratamiento fue el que combinó el remojo del pirenio en Ácido Giberélico a 500 mg·l⁻¹ durante 24 horas, con la consiguiente fractura de éste, obteniendo 93 % de germinación, que inició a los ocho días y terminó a los 46 días después de la siembra; cuando usaron remojo en agua durante 24 horas seguido de la fractura de los pirenios, la germinación inició a los 10 días y terminó a los 52 días después de la siembra y alcanzó 83.5 % de germinación; el remojo en Ácido Giberélico sin fractura de pirenio, mostró 63.5 % de germinación después de 50 días y el tratamiento de remojo en agua sin fractura, no tuvo efecto sobre la germinación o el tiempo necesario para el inicio de la misma. El mayor número de plántulas normales también se obtuvo con los tratamientos de remojo en Ácido Giberélico y remojo en agua combinados con la fractura del pirenio.

Se ha observado que la fractura en el pirenio después del remojo en agua, incrementa el porcentaje de germinación y reduce el tiempo para el inicio de la misma, lo que indica que esta estructura es la principal barrera para la germinación de la semilla de murici clon Açú. El pirenio aunque permeable al agua, por su espesor y consistencia, evita el alargamiento del embrión.

Probablemente en este cultivar de murici, existen cuatro grupos en términos de semillas latentes: 1) cuando el endocarpio no opone ninguna restricción para la germinación y además no existe latencia fisiológica en el embrión 2) el endocarpio representa impedimento para la germinación y la semilla no tiene latencia fisiológica 3) el endocarpio no representa una restricción grave para la germinación, pero la semilla tiene latencia fisiológica y 4) endocarpios muy resistentes que impiden el crecimiento del embrión y además las semillas son fisiológicamente inactivas (Carvalho y Nascimento, 2008). Los autores concluyeron que la germinación de las semillas de murici está regulada por mecanismos de latencia exógena y endógena, la primera obedece a la resistencia mecánica ejercida por el endocarpio al crecimiento del embrión, y la segunda es consecuencia de factores fisiológicos.

2.3.9. Usos del Nanche

El nanche como especie forestal-frutícola, ha incrementado su uso debido a su versatilidad, pues se utiliza como alimento, medicina, elemento reforestador y componente de sistemas agrosilvopastoriles (Medina-Torres *et al.*, 2004; Love y Spaner, 2005; Peraza-Sánchez *et al.*, 2005).

Se consume como fruta fresca, en bebidas refrescantes, bebidas alcohólicas embotelladas, helados, paletas y pasteles (Medina-Torres *et al.*, 2004). El fruto es nutritivo y complementa la dieta de la población local, por su alto contenido de vitamina A y vitamina C (más de 369 g/100 g y 650 mg·g⁻¹, respectivamente) (Nava y Uscanga, 1978).

En medicina tradicional es importante su uso; la infusión de hojas y corteza funciona como eficaz antidiarréico, antipirético, astringente, antiinflamatorio y expectorante; es un excelente antídoto para mordedura de víbora, corrige la dismenorrea, ayuda a expulsar la placenta, atenúa las contracciones durante el parto y es eficaz en casos de colitis aguda (Bejar y Malone, 1993), además es útil en las afecciones renales y el control de la diabetes (Argueta *et al.* 1994).

En la investigación farmacéutica formal, Peraza-Sánchez *et al.* (2005) evaluaron la actividad in vitro de extractos de plantas nativas de Yucatán contra *Giardia lamblia*, encontrando que todas mostraron actividad contra el parásito y *B. crassifolia* ocupó el cuarto lugar en efectividad. A su vez, Olivares y Peña (2004) evaluaron la concentración de flúor en relación a varios elementos metálicos y fenoles totales en las hojas de nanche en Venezuela, encontrando altas proporciones de compuestos de flúor que son consumidos cuando se beben las infusiones preparadas con ellas.

El nanche es propuesto por Sánchez (1986) como elemento reforestador para las zonas agroecológicas de trópico seco de México, donde hay una marcada etapa de ausencia de lluvias; es recomendado por su doble función: forestal y frutícola. Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006) indican que es una especie con amplio rango de adaptación en las zonas de transición de climas templados y subtropicales del estado de Michoacán, México, debido a que se adapta a suelos degradados, con pendientes pronunciadas, y por ello lo consideran un valioso recurso genético en los programas de reforestación. A su vez, García-Núñez y Azócar (2004) analizaron procesos involucrados en la regeneración de varias especies de la sabana estacional venezolana (entre ellas *B. crassifolia*), evidenciando que dichas especies producen una gran cantidad de propágulos viables anualmente, con la capacidad de evadir el déficit hídrico estacional, de resistencia a los incendios, y de producir suficiente biomasa en su primera estación de crecimiento, permitiéndoles rebrotar y sobrevivir después del fuego durante la estación seca; ello es una demostración de la funcionalidad de la reproducción sexual en especies de la sabana.

Como componente de sistemas agroforestales, silvopastoriles o agrosilvopastoriles, Grande *et al.* (2004) caracterizaron los sistemas silvopastoriles de la región tropical montañosa de Tabasco, México; encontraron que los principales sistemas utilizados son: árboles dispersos sobre pastizales y cercas vivas, incluyendo pastos nativos e introducidos asociados con especies arbóreas entre las que destaca *Byrsonima crassifolia*, que ofrecen diversos productos y beneficios ambientales como: cercas, sombra, alimento para humanos, forraje, madera, materiales para construcción, combustible,

ornamentales, medicina y conservación de la fertilidad del suelo, entre otros. Los árboles multipropósito de estos sistemas silvopastoriles mostraron la importancia y los múltiples beneficios que pueden ser obtenidos si se conocen las especies y su potencial, contribuyendo así al mejor uso de los recursos genéticos disponibles y a la sustentabilidad de dichos sistemas.

En estudios de postcosecha, Ríos-Morgan *et al.* (2004) encontraron en los frutos de nanche diferentes ácidos grasos insaturados tales como: linoléico (46 %), oléico (34.3 %), palmítico (11.3 %), esteárico (5.3 %), cis-yaccénico (1.2 %) y otros (1.5 %). En la semilla identificaron 20 ácidos tales como: oléico (47.3 %), palmítico (26.0 %), linoléico (5.3 %), palmitoléico (4.5 %) y otros (16.9 %). También en la pulpa del fruto se detectaron los siguientes componentes: grasas (3.0 %), proteínas (3.1 %), lípidos en base seca (10.3 %), fibra cruda (1.0 %) y cenizas (3.37 %). De igual manera se encontraron compuestos antinutricionales como taninos (7.49 %) y ácido fítico (4.91 %). En la semilla en base seca se encontraron: Lípidos (6 %), fibra cruda (1.4 %), cenizas (2.0 %), proteínas (5.3 %), ácido fítico (1.56 %) y taninos (6.02 %).

2.4. Latencia de Semillas

Se denomina latencia al fenómeno por el cual una semilla viable no germina cuando se coloca en un sustrato húmedo, aireado y a temperatura adecuada para que ocurran los procesos metabólicos que conducen a la germinación (Agusti, 2004; Bradford y Nonogaki, 2007).

La latencia es una fase de la vida de la semilla, después de la maduración, en la cual su desarrollo se detiene por factores estructurales o fisiológicos, dependiendo de la propia semilla. A la fase de latencia se contraponen la de reposo o quiescencia, en la que la actividad metabólica de la semilla se detiene, debido a que alguno de los factores ambientales no es favorable para la germinación (Bewley y Black, 1994).

La mayoría de las semillas de plantas cultivadas, maduras, secas y sanas, germinan rápida y uniformemente cuando se siembran en condiciones adecuadas

y en el momento apropiado, cuando se pasa de las plantas cultivadas, a las plantas silvestres, las anomalías que se presentan en la germinación son tan grandes, que la germinación rápida y uniforme es más bien una rara excepción que una regla general (Moreno-Casasola, 1996).

La latencia ha contribuido al desarrollo de nuevas especies y a la dispersión de las ya existentes. Como parte del mecanismo para sobrevivir a las condiciones adversas, ésta, ofrece una estrategia para distribuir la germinación en el tiempo y el espacio con el fin de disminuir el riesgo de muerte prematura por una catástrofe ambiental (Fenner, 2000).

2.4.1. Clasificación de la Latencia

En función de su origen, de manera general se reconocen dos tipos de latencia: latencia primaria o innata y latencia secundaria o adquirida (Baskin y Baskin, 2004).

La latencia primaria o innata, se establece durante el desarrollo y maduración de la semilla y ocurre principalmente por embriones rudimentarios, embriones fisiológicamente inmaduros, cubiertas impermeables o mecánicamente resistentes e inhibidores de la germinación, como los taninos entre otros (Moreno-Casasola, 1996; Fenner, 2000; Bradford y Nonogaki, 2007); la latencia secundaria, se presenta cuando las semillas están expuestas a condiciones ambientales desfavorables para la germinación (Bewley y Black, 1994). Ésta puede inducirse como se ha observado en semillas de lechuga, durante las pruebas de germinación en laboratorio, especialmente cuando las condiciones de temperatura, no se controlan adecuadamente (Dias, 2005).

El que la semilla posea latencia independientemente de la causa que la provoque, depende de las condiciones ambientales que predominan durante su desarrollo, y de su constitución genética (Copeland y McDonald, 2001). Las condiciones ambientales, influyen más en la latencia impuesta por el endocarpio, que en la latencia del embrión (Besnier, 1989).

En lo que respecta a la latencia que presentan específicamente las semillas de los frutales, Díaz-Montenegro (2002) menciona que las semillas provenientes de frutales tropicales y subtropicales, no requieren tratamientos específicos para germinar, ya que solo presentan paradormancia, ecodormancia o ambas, sin embargo las semillas de frutales caducifolios, necesitan exposición al frío, para disminuir o eliminar las concentraciones de Ácido Abscísico.

2.4.2. Regulación Endógena de la Latencia

Internamente la latencia puede originarse por falta de nutrientes en el embrión, así como por cambios de tipos de proteínas, y se ha observado que, por ejemplo, cuando se estratifican en húmedo endocarpios de durazno, hay una reducción de proteínas grandes con la consecuente germinación (Salisbury y Ross, 2000). De igual manera, las hormonas desempeñan un rol importante en la germinación de semillas de frutales, pues si no existe suficiente cantidad o actividad de hormonas estimulantes o bien el contenido y actividad de los inhibidores es alto, la germinación no ocurre (Azcon-Bieto y Talón, 2000). Respecto a las auxinas, existen pocas evidencias de que tengan una función en la latencia de semillas que requieren frío para germinar (Hartman y Kester, 2001). El rol de las citocininas, es aún inconcluso ya que solo en algunos casos existe respuesta a la aplicación, y cuando se presenta, ocurre después de que la semilla ha sido expuesta al frío sin que pueda reemplazar a éste (Salisbury y Ross, 1994). En cambio las giberelinas, en especial el Ácido Giberélico (AG) es necesario en la iniciación de la germinación, y puede también influenciar el tiempo de la emergencia foliar. Consistente con esto, el mayor incremento de niveles de AG durante la germinación usualmente ocurre justo antes de la protrusión de la radícula, ya que uno de los efectos que las giberelinas producen en las semillas, es el estímulo de la elongación celular, para que la radícula pueda empujar a través del endospermo, la cubierta de la semilla o la cubierta del fruto, que restringen su crecimiento (Salisbury y Ross, 2000).

La aplicación de AG puede eliminar la latencia de semillas de numerosas especies; esto se observó en algunas accesiones de *Arabidopsis* tales como *Landsberg erecta* (Ler), pero no en la accesión Cvi que es más dormante (Bewley

y Black, 1994; Bradford y Nonogaki, 2007). En contraparte, cuando las semillas presentan niveles endógenos altos de giberelinas, al aplicar exógenamente más de esta hormona, ocurre un efecto inhibitorio del fenómeno que debiera favorecer (Harvey y Oaks, 1974).

El Ácido Abscísico impone la latencia a las semillas, ya que frena el metabolismo del embrión, e impide su crecimiento. En cultivares de *Arabidopsis*, se reporta que el frío induce la destrucción de esta hormona, y favorece la síntesis de Ácido Giberélico, aumentando así el potencial germinativo del embrión (Audesirk *et al.*, 2003).

Se ha encontrado que las semillas obtenidas de frutos maduros de manzano, durazno y ciruelo entre otros, contienen poca cantidad de giberelinas y que éstas se incrementan cuando se exponen a condiciones de frío húmedo. En las semillas de frutos tropicales y subtropicales como el caso del nanche, se acepta que pueden tener un contenido adecuado de giberelinas para germinar (Díaz-Montenegro, 2002).

2.4.3. Control Exógeno de la Latencia

Las semillas de los frutales caducifolios requieren temperaturas bajas entre 5 y 7 °C para germinar, la germinación ocurre con mayor rapidez si las semillas permanecen en la oscuridad, pero en general, no se conoce que la latencia esté regulada por la cantidad o tipo de luz (Díaz-Montenegro, 2002). Por otro lado, se ha observado que la aplicación de biorreguladores como el Ácido Giberélico a 200 ppm, reduce el periodo de estratificación y acelera el proceso de germinación; no obstante, el efecto y la concentración requerida, es variable para cada especie (Copeland y McDonald, 2001).

2.4.4. Tratamientos para Superar la Latencia

Para superar la latencia de las semillas se pueden emplear los métodos que a continuación se describen.

Escarificación mecánica. Consiste en la alteración o adelgazamiento de la cubierta de las semillas, mediante frotación en superficies abrasivas, calentamiento, exposición a cambios de temperatura, inmersión en agua caliente, perforación de la cubierta entre otros, para permitir la entrada del agua, el intercambio de gases y facilitar la protrusión de la radícula (Salisbury y Ross, 1994).

Escarificación química. Puede efectuarse mediante la aplicación de productos químicos que adelgazan la cubierta. El Ácido Sulfúrico concentrado es la sustancia más empleada (Bewley, 1997).

Nitrato de Potasio. Se recomienda el uso de una solución al 0.1 y 1 % de KNO_3 , para el humedecimiento inicial del sustrato en las pruebas de germinación (Bradford y Nonogaki, 2007); sin embargo, resultados obtenidos en semillas de lechuga, muestran que en algunos casos puede ser perjudicial (Copeland y McDonald, 2001).

Estratificación en húmedo. Se colocan las semillas en un sustrato húmedo y se someten a un periodo de enfriamiento. Se recomiendan temperaturas de 5 a 10 °C. Los periodos varían según los requerimientos de cada especie (Dias, 2005).

Temperaturas alternantes. Se ha encontrado que ciertas semillas germinan cuando se les somete a temperaturas diurnas altas, y durante la noche se disminuyen (Camacho, 1994).

Presecado. Las semillas se someten a temperaturas que no excedan los 40 °C y se les mantiene bajo continua circulación de aire durante siete días (Moreno, 1996).

Prelavado de las semillas. Si existen inhibidores de la germinación en la cubierta de las semillas, se recomienda lavarlas en agua corriente, antes de la prueba de germinación (Audesirk *et al.*, 2003).

Ácido Giberélico. Cuando la latencia es débil se sugiere humedecer el sustrato con una solución de 200 ppm, pero cuando es profunda, es conveniente usar soluciones de 1000 ppm o más dependiendo los requerimientos de cada especie (Copeland y McDonald, 2001).

2.5. Calidad de Semillas

La calidad es un atributo o propiedad que indica superioridad o excelencia (Delouche, 2005). La obtención de semilla de calidad es una parte importante y costosa en la producción, por ello debe elegirse cuidadosamente la semilla a reproducir, para responder a las exigencias del consumidor (Hampton, 2001).

La calidad de las semillas se define como la suma de múltiples atributos referidos a la aptitud de éstas para germinar (Hampton, 2002), tales como: pureza genética, ausencia de daño mecánico, capacidad de germinación y vigor, tamaño y uniformidad de la semilla, contenido de humedad, presencia de contaminantes y ausencia de fitopatógenos e insectos transmisibles (Flores, 2004); dichos atributos son útiles para diferenciar a un lote de semillas de los demás (Zorato, 2005), y contribuyen al rendimiento final de un cultivo (Basra, 1995). La mayor calidad de una semilla, se obtiene cuando ésta alcanza su madurez fisiológica (Copeland y McDonald, 2001), por ello, es importante conocer indicadores visuales que permitan efectuar la cosecha en el momento apropiado, para evitar el deterioro en el campo (Dias, 2001). El deterioro inicia después de que la semilla alcanza la madurez fisiológica y continúa hasta perder su capacidad para germinar (Delouche, 2002).

2.5.1. Contenido de Humedad

El contenido de humedad, es la cantidad de agua presente en las semillas; se expresa en porcentaje, y se calcula con base en peso seco o en peso húmedo (Copeland y MacDonald, 2001); éste es el principal factor que determina el mantenimiento de la calidad, pues altos contenidos de humedad pueden provocar el deterioro, que conduce a la pérdida de viabilidad y vigor de las semillas en

poco tiempo, además de estimular la proliferación de insectos y hongos en el almacén (María, 2002).

En las semillas continuamente ocurren procesos de evaporación y absorción de agua, cuando la evaporación y absorción son iguales, se dice que el contenido de humedad de la semilla está en equilibrio, y éste varía según la especie (Moreno, 1996).

La variación interespecífica del contenido de humedad de las semillas, obedece al porcentaje de aceite que éstas contienen; las semillas que almacenan sus reservas en forma de proteínas o almidón, tienen un contenido de humedad en equilibrio más alto a una humedad relativa determinada, que las que almacenan sus reservas en forma de grasas y aceites, pues las primeras son hidrófilas mientras que las segundas son hidrófobas (Jara, 1997).

Existen varios métodos para determinar el contenido de humedad de la semilla, pero actualmente el más utilizado es el de la estufa, y a través de este método se asume que solo se elimina agua de la muestra, mediante la aplicación de calor, luego se pesa la materia seca y por diferencia se calcula el contenido de humedad (María, 2002).

El contenido de humedad se calcula mediante la siguiente fórmula (Moreno, 1996).

$$\% \text{ de humedad (con base en peso humedo)} = \left[\frac{(P_2 - P_3)}{(P_2 - P_1)} \right] * 100$$

En donde: P_1 = Peso en gramos de la caja y su tapa

P_2 = Peso en gramos de la caja, tapa y semilla

P_3 = Peso en gramos de la caja, tapa y semilla después del secado

2.5.2. Viabilidad

La viabilidad es la capacidad de una semilla para germinar, y se reporta que ésta es mejor si es retenida a bajas temperaturas y altas concentraciones de bióxido de carbono, porque reducen la actividad metabólica (Copeland y McDonald 2001).

La ISTA (2005) menciona que en una prueba de germinación, la viabilidad contempla al total de semillas que germinaron independientemente de que hayan generado plántulas normales o anormales. Basu (1995) indica que la viabilidad es la propiedad de la semilla que le confiere la capacidad para germinar en condiciones favorables, siempre que cualquier tipo de latencia se supere antes de que la prueba de germinación se realice.

La determinación de la viabilidad puede realizarse a través de distintas pruebas, y la más común es la prueba de tetrazolio (2,3,5 cloruro de trifeníl tetrazolio), que estima en forma rápida, la condición biológica de las semillas en cuanto a viabilidad y vigor (Fenner, 2000); se basa en la reacción bioquímica de ciertas enzimas de las células vivas con la sal de tetrazolio, la cual consiste en la reducción del tetrazolio formándose un compuesto rojo llamado formazán; estos sistemas enzimáticos decrecen a la par de la viabilidad de la semilla, por lo que una coloración rojo intenso indica presencia de células vivas en el embrión, en cambio la no coloración o coloración rosa pálido, indican la muerte o poca viabilidad de las células embrionarias (Moreno, 1996).

2.5.3. Germinación

Desde el punto de vista fisiológico, la germinación se define como la emergencia de la radícula a través de la cubierta de la semilla (Salisbury y Ross, 2000). Para los analistas de semillas, la germinación es la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que

manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables (Copeland y McDonald, 2001); la ISTA 2005 indica que en laboratorio, la germinación de una semilla se considera como, la emergencia y desarrollo de la plántula, a un estado donde el aspecto de sus estructuras esenciales, indican si es apta para dar origen a una planta normal en condiciones favorables.

La germinación inicia con la absorción de agua por la semilla y termina con el alargamiento del eje embrionario (Bewley, 1997), aunque el signo visible de que la germinación ha concluido, aparece cuando la radícula traspasa las estructuras que rodean al embrión (Bradford y Nonogaki, 2007), posteriormente continúan eventos relacionados con la movilización de reservas, para finalizar con el crecimiento de la plántula, momento en el que los tejidos de almacenamiento dejan de intervenir en las actividades metabólicas (Salisbury y Ross, 1994).

Para que la germinación ocurra, es necesario que la semilla esté fisiológicamente madura, que sea viable, que no presente latencia y que se encuentre expuesta a condiciones ambientales favorables (Hartman y Kester, 2001; Agusti, 2004).

La prueba de germinación, cuyo principal objetivo es conocer la calidad fisiológica de la semilla, no es la medida más óptima para evaluar el potencial de una semilla para la producción de plántulas, debido a que se conduce en condiciones ambientales controladas en laboratorio (Delouche, 2002); en contraparte, la prueba de vigor sí define la calidad de un lote de semillas, porque simula las condiciones de campo (Pereira *et al.*, 2002).

Cuando la semilla no presenta latencia, el porcentaje de plántulas normales en una prueba de germinación, debe ser próximo al 100 %, si predominan las plántulas anormales o las semillas muertas, es indicativo de que el deterioro fisiológico ha iniciado (Hampton, 2002).

2.5.4. Vigor

El vigor es la suma de las propiedades que determinan el nivel de actividad, y capacidad de la semilla durante la germinación y emergencia de la plántula. Las semillas de buen comportamiento se denominan de alto vigor y las de pobre comportamiento, de bajo vigor (ISTA, 2005). Es importante el uso de semillas vigorosas porque aseguran un buen porcentaje de germinación, velocidad y uniformidad de la germinación de la semilla y crecimiento de la plántula, la velocidad y uniformidad de la emergencia de la plántula y crecimiento en el campo y resistencia al ataque de patógenos, bajo condiciones desfavorables (Copeland y McDonald, 2001).

Vigor de semillas y deterioro están fisiológicamente ligados, son aspectos recíprocos de la calidad de semillas; el vigor disminuye a medida que el deterioro aumenta. Deterioro significa envejecimiento y muerte de semilla y el vigor, es el componente de la calidad más afectado por el proceso de deterioro (Delouche, 2002).

El vigor de las semillas está determinado por la constitución genética, las condiciones ambientales y nutrimentales de la planta madre, madurez de la semilla a la cosecha, tamaño peso y densidad de la semilla, condición física e integridad de la semilla, edad y deterioro y presencia de patógenos (Hampton, 2002); conocer el vigor es útil para explicar las diferencias en comportamiento de diferentes lotes de semillas. Cuando las condiciones ambientales en el campo o en el almacén no son favorables, el comportamiento de la semilla no se puede predecir si no se conoce su vigor (Filho, 2002). Es conveniente realizar una prueba de vigor al inicio del almacenamiento y repetirla dos meses antes de la siembra, para predecir el comportamiento del lote de semillas (Pereira *et al.*, 2002).

Existen diferentes pruebas para evaluar el vigor, las más utilizadas son las de frío y envejecimiento acelerado, para semillas de maíz y soya respectivamente; las pruebas de conductividad eléctrica y de lixiviación de potasio, se usan principalmente en semillas de leguminosas. La evaluación del vigor de manera sencilla y económica, se logra mediante la observación del desempeño de las plántulas en términos de la velocidad de germinación o emergencia de plántulas,

primer conteo de la prueba de germinación, peso de la materia verde o seca y crecimiento de plántulas o de algunas partes de ellas (Ana, 2001).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se efectuó en dos etapas. En la primera se realizó la colecta de ejemplares botánicos para su identificación taxonómica y la caracterización morfológica de planta, hoja, fruto y semilla de 20 genotipos de nanche, de éstos, 12 proceden de Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México y ocho del ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca, México. La segunda, comprendió las actividades de: colecta de frutos de cada genotipo en ambas regiones y su posterior limpieza y acondicionamiento, hasta la obtención de endocarpios libres de pulpa y la extracción de semillas enteras; determinación del contenido de humedad de semillas y endocarpios, realización de prueba de viabilidad de semillas con Tetrazolio (2, 3, 5, cloruro de trifenil tetrazolio) al 1 %; aplicación de diversos tratamientos pre-germinativos a semillas y endocarpios y desarrollo de dos pruebas de germinación, una con semillas extraídas del endocarpio y la otra con los endocarpios enteros conteniendo a las semillas; es conveniente mencionar, que para reunir la cantidad necesaria de semillas y endocarpios para las pruebas de germinación, se mezclaron los frutos de los genotipos con características morfológicas similares colectados en cada región, y de esta manera, se integraron los cinco ecotipos de los que se hace mención en lo sucesivo.

3.1. Colecta e Identificación Taxonómica de Ejemplares Botánicos de Nanche

La investigación inició con la colecta de ejemplares botánicos para su identificación taxonómica, con la finalidad de conocer si todos los ecotipos correspondían a la misma especie. Para tal efecto se colectaron cinco ramas de aproximadamente 50 cm de longitud de cada árbol correspondiente a una población con características morfológicas semejantes (ecotipo); las muestras contenían hojas, flores y frutos, que fueron tomadas del estrato medio de los

árboles y/o arbustos de cada uno de los ecotipos, siendo acomodadas en hojas de papel periódico y prensas, para su traslado.

Las muestras, se llevaron al área de secado del Herbario-Hortorio del Postgrado de Botánica del Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo; se les cambió el papel periódico y nuevamente fueron prensadas antes de ser ingresadas a la secadora donde permanecieron durante cuatro días a 36 °C de temperatura; transcurrido este tiempo, se sacaron de la secadora y se dejaron en el Herbario de la Institución para la identificación taxonómica por parte del Dr. Stephen D. Koch Olt, Profesor-investigador Titular, responsable del Herbario-Hortorio.

Los ejemplares botánicos y los frutos empleados tanto en la caracterización morfológica como en las pruebas de germinación, se colectaron en dos sitios geográficos de la República Mexicana reportados con variabilidad de nanche. De los cinco ecotipos integrados, tres proceden de la comunidad de Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México (Amarillo silvestre, Verde y Semi-cultivado) y dos de el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca (Amarillo Oaxaca y Canelo).

3.1.1. Descripción Geográfica y Climática de los Sitios de Colecta

La colecta de los ejemplares botánicos y frutos de los ecotipos empleados en la investigación, proceden de sitios ubicados en dos estados de la República Mexicana (Cuadro 1). Las condiciones ambientales de éstos, se describen a continuación:

Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México

La información se obtuvo de las cartas temáticas E14A56 “Tejupilco de Hidalgo, Estado de México”; escala 1:50,000 (INEGI, 1998).

Ubicación. Se localiza al suroeste de la entidad, en los límites con los estados de Guerrero y Michoacán, enclavado en la depresión del río Balsas. Sus

coordenadas geográficas extremas son: 18° 58' 25" de latitud norte y 100° 08' 00" de longitud oeste, a una altitud de 1545 m.

Clima. Corresponde al tipo (A) C (w₂); semicálido del grupo C, con temperatura y precipitación media anual de 19 °C y 1338.9 mm, respectivamente (García, 1988).

Orografía. Relieve muy accidentado por situarse en la provincia fisiográfica de la Sierra Madre del Sur, en la subprovincia fisiográfica Depresión del río Balsas.

Vegetación. Predomina la selva baja caducifolia, bosque de pino (*Pinus oocarpa*) y pastizal inducido.

Hidrología. Constituida por algunas corrientes temporales y permanentes

Suelo. Son del tipo Regosol y Acrisol, con textura arcillosa, profundidad entre 15 y 50 cm, pedregosos, con problemas de acidez (pH de 5 a 6.5) y erosionados.

Ejido el Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca

La información, se obtuvo de las cartas temáticas E14B89 "San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca"; escala 1:50,000, (INEGI, 1998).

Ubicación. Se localiza al noreste de la entidad, en la cuenca del río Papaloapan, antes de su confluencia con el río Tonto, en el límite con el estado de Veracruz; sus coordenadas geográficas extremas son: 18° 02' 39" de latitud norte y 96° 07' 00"; de longitud oeste, a 45 m de altitud.

Clima. Corresponde al tipo Am; tropical húmedo, con temperatura media anual de 24.9 °C y precipitación media anual de 2304.3 mm (García, 1988).

Orografía. Constituida por lomeríos suaves, por ubicarse en la subprovincia fisiográfica Planicie Costera del Golfo de México.

Vegetación. Es de tipo secundario, constituida por plantaciones de árbol del hule (*Hevea brasiliensis*) y palma coyol (*Acrocomia mexicana*) así como pastizal inducido.

Hidrología. Constituida principalmente por la corriente permanente del río Papaloapan.

Suelo. Corresponden al tipo Luvisol, profundos, de color café, arcillosos, que pierden rápido la fertilidad, pero son aptos para la agricultura.

Cuadro 1. Descripción ecoclimática y geográfica de 20 genotipos de nanche *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth.

Genotipo	Procedencia	Latitud N	Longitud O	Altitud (m)	Temperatura (°C)	Precipitación. (mm)
1	Edo. México	18° 59' 45"	100° 08' 34"	1593	19.3	1362
2	Edo. México	18° 59' 47"	100° 08' 34"	1593	19.3	1362
3	Edo. México	18° 59' 46"	100° 08' 30"	1594	19.3	1362
4	Edo. México	18° 59' 46"	100° 08' 26"	1595	19.3	1362
5	Edo. México	18° 59' 47"	100° 08' 22"	1595	19.3	1362
6	Edo. México	18° 59' 57"	100° 08' 10"	1611	19.3	1362
7	Edo. México	18° 59' 57"	100° 08' 09"	1613	19.3	1362
8	Edo. México	18° 59' 57"	100° 08' 23"	1605	19.3	1362
9	Edo. México	18° 58' 59"	100° 07' 54"	1553	19.3	1362
10	Edo. México	18° 58' 59"	100° 07' 54"	1553	19.3	1362
11	Edo. México	18° 58' 59"	100° 07' 54"	1553	19.3	1362
12	Edo. México	18° 58' 59"	100° 07' 54"	1553	19.3	1362
13	Oaxaca	18° 02' 39"	96° 06' 47"	45	24.6	2317.8
14	Oaxaca	18° 02' 39"	96° 06' 47"	45	24.6	2317.8
15	Oaxaca	18° 02' 39"	96° 07' 17"	47	24.6	2317.8
16	Oaxaca	18° 02' 48"	96° 07' 48"	45	24.6	2317.8
17	Oaxaca	18° 02' 38"	96° 06' 46"	45	24.6	2317.8
18	Oaxaca	18° 02' 35"	96° 07' 37"	43	24.6	2317.8
19	Oaxaca	18° 02' 38"	96° 06' 46"	45	24.6	2317.8
20	Oaxaca	18° 02' 35"	96° 07' 37"	43	24.6	2317.8

3.2. Caracterización Morfológica

Con la finalidad de explicar la variabilidad encontrada en los sitios de colecta, se realizó la caracterización de los 20 genotipos de nanche, evaluando diferentes características: para la planta, tres variables cuantitativas; para la hoja, dos variables cuantitativas y tres cualitativas; en el caso del fruto, 16 cuantitativas y 8 cualitativas; para la semilla, 10 cuantitativas y una cualitativa. También se incluyeron entre las variables cuantitativas registradas, los datos de temperatura y precipitación de cada región, dando en total, 33 variables cuantitativas y 12 cualitativas evaluadas por genotipo (Cuadro 2). El tamaño de muestra para frutos y hojas fue de 25, que se tomaron del estrato medio de la periferia de cada árbol.

Cuadro 2. Variables cuantitativas y cualitativas evaluadas en 20 genotipos de nanche.

Órgano	Cuantitativas	Cualitativas
Planta	Altura	
	Diámetro del tallo a 30 cm	
	Diámetro del tallo a 130 cm	
Hoja	Largo de la hoja	Color
	Ancho de la hoja	Forma
		Pubescencia
Fruto	Peso de 25 frutos	Color
	Peso individual	Sabor
	Volumen de 25 frutos	Forma
	Volumen individual	Tamaño aparente
	Diámetro ecuatorial	
	Diámetro polar	
	Peso del mesocarpio	
	Volumen del mesocarpio	
	Espesor del mesocarpio	
	Peso de 25 endocarpios	Forma del endocarpio
	Peso individual del endocarpio	Color del endocarpio
	Volumen de 25 endocarpios	Tamaño aparente del endocarpio
	Volumen individual del endocarpio	Dureza del endocarpio
	Diámetro ecuatorial del endocarpio	
	Diámetro polar del endocarpio	
	Espesor del endocarpio	
Semilla	Número de semillas en 25 endocarpios	Color de la testa de la semilla
	Número de semillas por endocarpio	
	Número de semillas vanas en 25 endocarpios	
	Número de semillas vanas por endocarpio	
	Peso fresco de semillas de 25 endocarpios	
	Peso individual de semillas	
	Volumen de las semillas de 25 endocarpios	

3.2.1. Variables Cuantitativas

- 1. Altura del árbol.** Se midió con una cinta que se ató a una vara para hacer pasar ésta junto al tallo y estimar la altura, hasta la punta del árbol, el dato se estimó en metros (m).
- 2. Diámetro del tallo a 30 cm del suelo (D1).** Se estimó mediante una cinta métrica y el resultado se expresó en centímetros (cm).
- 3. Diámetro del tallo a 1.30 m (D2).** Se estimó con la misma metodología que el diámetro a 30 centímetros.
- 4. Largo de la hoja (LH).** Se midió con una regla, y el resultado se registró en centímetros (cm).
- 5. Ancho de la hoja (AH).** Se utilizó una regla, y la medición se hizo de la parte media de la hoja, el resultado se expresó en centímetros (cm).
- 6. Peso de 25 frutos (PTF).** La cuantificación se hizo en gramos, usando una balanza electrónica OHAUS marca Braunber de 400 g de capacidad.
- 7. Peso de fruto (PF).** Se pesó cada fruto en una balanza electrónica, se sumaron las lecturas obtenidas y la sumatoria se dividió entre 25, que fue el número total de frutos y se expresó en gramos (g).
- 8. Volumen de 25 frutos (VTF).** Se determinó en mililitros, usando una probeta graduada de plástico de 250 ml; en ella se colocaron 100 ml de agua, se introdujeron los 25 frutos y se registró el volumen de agua desplazado.
- 9. Volumen de fruto (VF).** En la probeta graduada se colocaron 50 ml de agua y se introdujeron los frutos uno a uno, a la vez que se registraba el volumen de

agua desplazado; al final se hizo la sumatoria de las cantidades de agua desplazadas por cada fruto, el resultado se dividió entre 25 y se expresó en mililitros (ml).

- 10. Diámetro ecuatorial de fruto (DEF).** Se determinó en cm, mediante un calibrador vernier metálico con carátula, marca GM cuya precisión es de 0.001 pulgada. Se midió el diámetro de cada fruto, se sumaron las lecturas obtenidas y se dividieron entre 25.
- 11. Diámetro polar de fruto (DPF).** Se determinó con la misma técnica empleadas en la evaluación del diámetro ecuatorial, y el resultado también se expresó en centímetros (cm).
- 12. Peso del mesocarpio (PM).** Para determinar esta variable, se restó del peso total de cada fruto, el peso del endocarpio, se hizo la sumatoria de los datos, y el resultado se dividió entre 25; el dato se registró en gramos (g).
- 13. Volumen del mesocarpio (VM).** Se determinó por diferencia entre el volumen promedio unitario de los frutos y el volumen promedio unitario de los endocarpios, se sumaron los resultados y se dividieron entre 25; se expresó en mililitros (ml).
- 14. Espesor del mesocarpio (EM).** Al diámetro del fruto se le restó el diámetro del endocarpio, la diferencia resultante, se dividió entre dos, considerando que el mesocarpio envuelve completamente al endocarpio.
- 15. Peso de 25 endocarpios (PTE).** La determinación se hizo en g, mediante una balanza electrónica con capacidad de 400 gramos.
- 16. Peso de endocarpio (PE).** En la balanza electrónica se pesó cada endocarpio, se sumaron las lecturas de cada uno y el resultado se dividió entre 25; se registró en gramos.
- 17. Volumen de 25 endocarpios (VTE).** En una probeta graduada de 250 ml se depositaron 100 ml de agua, se agregaron uno a uno los endocarpios que

aún contenían en su interior a las semillas, registrando el volumen de agua desplazado en mililitros.

- 18. Volumen de endocarpio (VE).** Para cuantificar esta variable, con una jeringa de plástico se improvisó una probeta de 12 ml, se le adicionaron 5 ml de agua y después se agregaron uno a uno los endocarpios, se registró el volumen unitario desplazado, se hizo la sumatoria de los 25 datos y se dividió entre el total de endocarpios, la lectura se hizo en mililitros (ml).
- 19. Diámetro ecuatorial de endocarpio (DEE).** Al igual que en los frutos, para los endocarpios la determinación se hizo mediante un calibrador vernier metálico marca GM cuya precisión es de 0.001 pulgadas. Se hizo la medición del diámetro de cada endocarpio, se sumaron las lecturas obtenidas y se dividieron entre 25, la cifra resultante se registró en milímetros (mm).
- 20. Diámetro polar de endocarpio (DPE).** Se usó la misma técnica que para la determinación del diámetro ecuatorial, y también el resultado se expresó en milímetros (mm).
- 21. Espesor de endocarpio (EE).** Con un calibrador vernier se midió el espesor de cada endocarpio, se sumaron los resultados y se dividió la cifra resultante entre 25, anotando esta en milímetros (mm).
- 22. Número de semillas en 25 endocarpios (NTS).** Se partió cada uno de los endocarpios con un tornillo de banco y se extrajeron y contabilizaron las semillas contenidas en los 25 endocarpios.
- 23. Número de semillas por endocarpio (NSE).** Se partieron cada uno de los endocarpios y se registró el número de semillas contenidas.
- 24. Número de semillas vanas en 25 endocarpios (NTV).** Al extraer las semillas, se registró el número de ellas que no estaban bien desarrolladas por cada endocarpio, y posteriormente se hizo la sumatoria para obtener el dato para los 25 endocarpios.

- 25. Número de semillas vanas por endocarpio (NSV).** Los endocarpios de nanche tienen tres cavidades o lóculos donde se desarrolla una semilla en cada uno, por lo que para determinar esta variable, se contabilizaron las semillas de cada endocarpio que no estaban bien desarrolladas, y se dividió el resultado entre tres, una vez obtenido el dato por endocarpio, se hizo la sumatoria y se dividió entre el número total de endocarpios (25).
- 26. Peso fresco de las semillas de 25 endocarpios (PTS).** Se extrajeron las semillas de 25 endocarpios y se pesaron en la balanza, el peso se registró en gramos (g).
- 27. Peso de semilla (PS).** Este se determinó con la balanza electrónica. Cada una de las semillas se pesó, se hizo la sumatoria de los datos de las 25 semillas y el resultado se dividió entre el total, y se expresó en gramos (g).
- 28. Volumen de las semillas de 25 endocarpios (VTS).** En una probeta de 12 ml se depositaron 6 ml de agua, se agregaron una a una las semillas extraídas de los 25 endocarpios y se registró el volumen de agua desplazado en mililitros (ml).
- 29. Volumen de semillas (VS).** Con una jeringa de plástico se improvisó una microprobeta cuya capacidad y precisión es de un mililitro y 0.01 ml respectivamente. Se agregó una cantidad conocida de agua en la microprobeta y se introdujeron una a una las semillas, registrando los resultados individuales de la cantidad de agua desplazada; se efectuó la sumatoria de todas las lecturas y se dividió la cifra final entre 25, anotando el resultado en mililitros (ml).
- 30. Largo de la semilla (LS).** Cada una de las 25 semillas se colocó sobre una hoja de papel milimétrico y usando una lupa cuenta hilos, se cuantificó el largo de éstas; se sumaron los datos obtenidos y se dividieron entre el total de semillas, el resultado se expresó en milímetros (mm).

31. **Ancho de la semilla (AS).** Se empleó la misma metodología usada para determinar el largo promedio de la semilla, y se expresó en milímetros (mm).
32. **Temperatura media anual (TM).** Este dato se tomo de (García, 1988) y se expresó en °C.
33. **Precipitación media mensual (PP).** Dato consultado en (García, 1988) y expresado en milímetros (mm).

3.2.2. Variables Cualitativas

La determinación de estas variables se llevó a cabo *in situ*, para los dos sitios de colecta.

1. **Color de la hoja (CH).** El color se determinó a través de la apreciación visual.
2. **Forma de la hoja (FH).** Esta variable se determinó mediante la comparación con esquemas botánicos de diferentes tipos de hojas.
3. **Pubescencia de la hoja (P).** Se registró alguno de los siguientes caracteres: sin pubescencia, con pubescencia en el envés y presencia de pubescencia en el haz y el envés.
4. **Color del fruto (CF).** Los colores se registraron de acuerdo a la apreciación visual.
5. **Sabor del fruto (SF).** El sabor se evaluó mediante apreciación gustativa.
6. **Forma del fruto (FF).** Se apreció visualmente.
7. **Tamaño aparente del fruto (TAF).** Los tamaños se estimaron subjetivamente, mediante la apreciación visual.
8. **Forma del endocarpio (FE).** La forma se determinó visualmente

- 9. Color del endocarpio (CE).** Se hizo cuando el endocarpio estuvo húmedo, mediante la apreciación visual.
- 10. Tamaño aparente del endocarpio (TAE).** Se determinó visualmente y se asignó el término relativo de pequeño mediano y grande.
- 11. Dureza del endocarpio (DE).** Esta fue determinada de acuerdo al grado de dificultad que representó partirlos para extraer las semillas; se emplearon calificativos como: suave, ligeramente suave, duro y muy duro.
- 12. Color de la testa de la semilla (CTS).** Se determinó en forma visual.

3.2.3. Análisis Estadístico de los Datos

Con los promedios de cada una de las 33 variables cuantitativas de planta, hoja, fruto y semilla, se construyó una primera matriz básica de datos (MBD), a ésta se le aplicó un análisis de correlación de Pearson ($P \leq 0.01$) mediante el programa estadístico Meet Minitab 15, para seleccionar los caracteres altamente correlacionados, posteriormente, se elaboró una nueva MBD con las variables que fueron significativas, y a partir de ella, se realizó el análisis de componentes principales (ACP), previa estandarización de los datos mediante el valor de Z, utilizando la siguiente fórmula:

$$Z = (Xb - Xm) s^{-1}$$

En donde:

Z es el valor estandarizado

Xb es el valor original de la variable

Xm es el promedio general de la variable

s^{-1} es el inverso de su desviación estándar.

El análisis de componentes principales, se efectuó con el programa estadístico Biplot (Smith y Lipkovich, 2002).

Después de hacer el análisis de componentes principales, se elaboró una matriz mixta, con las 23 variables cuantitativas que fueron significativas y las 12 cualitativas, con los datos de esta matriz, se realizó el Análisis de Conglomerados Jerárquico o Análisis Cluster, empleando el programa estadístico Meet Minitab 15; los coeficientes de similitud, se calcularon con las distancias euclidianas, y el agrupamiento se hizo mediante el método de Ward, que maximiza la variación entre grupos y la minimiza dentro de ellos (Dillon y Goldsten, 1984; Hair *et al.*, 1992); finalmente, para verificar las diferencias significativas de las variables cuantitativas evaluadas, en los dos grupos formados, se realizaron pruebas de F mediante el procedimiento GLM de SAS versión 9.0 (2001), así como la comparación múltiple de medias a través de la prueba de Tukey.

3.3. Acondicionamiento de Frutos y Semillas

3.3.1. Despulpado de los Frutos

Para facilitar la eliminación de la pulpa del fruto, fue necesaria la fermentación de éste. Para ello, los frutos se mantuvieron en bolsas de plástico cerradas y se expusieron al sol, lo que facilitó el ablandamiento del mesocarpio; posteriormente los frutos se frotaron en un tamiz de malla metálica y se enjuagaron con agua hasta que los residuos de mesocarpio desaparecieron.

3.3.2. Extracción de las Semillas de los Endocarpios

Para extraer las semillas de los endocarpios, se utilizó un tornillo de banco que se fijó a una superficie plana, y se aplicó presión gradual para abrir los endocarpios, una vez abiertos, con la ayuda de una aguja de disección, se presionó el área del rafe de la semilla para separar el endocarpio, siempre cuidando de no dañar la semilla.

Las semillas extraídas se colocaron en recipientes de plástico con tapa hermética para evitar la deshidratación, en tanto se establecía la prueba de germinación

3.4. Pruebas Preliminares

Previo a la prueba de germinación estándar, se determinó el contenido de humedad en semillas y endocarpios y se hizo la prueba de viabilidad con tetrazolio (2, 3, 5, cloruro de trifenil tetrazolio) en solución al 1 % en las semillas de cada uno de los ecotipos de nanche.

3.4.1. Determinación del Contenido de Humedad de semillas y Endocarpios

Para determinar del contenido de humedad de las semillas, se tomó la muestra utilizando varios endocarpios de cada ecotipo. Se usó un gramo de semilla de cada uno y este dato se registró como el peso fresco de la muestra; posteriormente, las semillas se colocaron en cajas de aluminio destapadas y previamente pesadas, se introdujeron a la estufa marca Cenco, por un periodo de 17 horas a 103 °C de temperatura. Después del periodo de secado, las muestras se sacaron de la estufa, e inmediatamente se pesaron para registrar el peso seco de cada una. Para la determinación de humedad de los endocarpios, se procedió de la misma forma, tomando una muestra de un gramo de endocarpios por cada ecotipo y este se consideró como el peso fresco de la muestra, que luego fue depositada en cajas de aluminio previamente pesadas y se introdujeron junto con las muestras de semillas a la estufa durante el mismo tiempo y a la misma temperatura. Transcurrido el tiempo de secado, se sacaron las muestras, se pesaron y se registraron estos datos como los pesos secos correspondientes a cada ecotipo.

Los resultados de contenido de humedad de las semillas y los endocarpios, se expresaron en porcentaje y los cálculos se realizaron aplicando la siguiente fórmula sugerida por Moreno (1996).

$$\% \text{ de humedad (con base en peso humedo)} = \left[\frac{(P2 - P3)}{(P2 - P1)} \right] * 100$$

En donde:

P₁ = Peso de la caja y su tapa

P_2 = Peso de la caja, tapa y semilla

P_3 = Peso de la caja, tapa y semilla después del secado en la estufa.

Es importante aclarar que por insuficiencia de material genético, la determinación del contenido de humedad no se hizo con las dos repeticiones que normalmente se recomiendan.

3.4.2. Prueba de viabilidad con Tetrazolio (2, 3, 5, cloruro de trifenil tetrazolio)

Se usaron 50 semillas de cada ecotipo, divididas en dos repeticiones de 25 semillas cada una.

Las semillas se acondicionaron durante 18 horas mediante remojo en agua destilada, posteriormente se eliminó la testa y se remojaron durante 24 horas en la solución de tetrazolio. Se cuidó que las semillas quedaran completamente sumergidas, para garantizar que la tinción de las células vivas fuera uniforme.

Transcurrido el periodo de tinción, las semillas se sacaron de la solución, se enjuagaron con agua destilada y permanecieron todo el tiempo en contacto con agua mientras se hizo la evaluación de la prueba.

Evaluación de la prueba de tetrazolio. Como el nanche es una especie para la que no existen protocolos en las normas de la ISTA para realizar dicha prueba, ésta se llevó a cabo con base en observaciones cuidadosas y aplicando criterios derivados de los patrones de tinción observados en las semillas de nanche y los definidos para otras especies.

Se calificaron como viables todas las semillas que presentaron coloración rosa intenso y con la tinción cubriendo la totalidad del tejido o la mayor parte de él; como de baja viabilidad aquellas cuya coloración fue de un tono rosa ligeramente pálido pero con tejido teñido casi en su totalidad; y finalmente se clasificaron como semillas no viables, todas las que no presentaron ninguna coloración o bien aquellas en donde las estructuras de la semilla como la radícula o los cotiledones no se tiñeron; ya que esto es un indicativo de que dicha semilla

no dará origen a una plántula normal, pues carecerá de la raíz (ausencia de tinción en la radícula) o la plúmula (ausencia de tinción en los cotiledones) según el caso.

3.5. Prueba de Germinación Estándar con Semillas Extraídas de los Endocarpios

3.5.1. Localización del Experimento

Esta etapa de la investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Análisis de Semillas, del Programa de Semillas, en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, en Texcoco, Estado de México; el periodo de experimentación comprendió los meses de septiembre a noviembre de 2008.

El material genético empleado, se colectó en agosto de 2008, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México y en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca.

Para establecer el experimento, fue necesario realizar algunas actividades previas que a continuación se puntualizan.

1. Desinfección y tratamiento preventivo de la semilla. Previo a la aplicación de los tratamientos pre-germinativos, las semillas se desinfectaron durante 10 minutos, en una solución de Hipoclorito de Sodio al 0.3 %, usando el producto comercial Cloralex (al 6 % de i.a.); posteriormente se enjuagaron con agua destilada y finalmente se trataron durante 10 minutos con una solución de Captán a dosis de 1g l^{-1}

2. Limpieza y desinfección de los materiales. Las cajas sandwicheras de plástico utilizadas en la estratificación de algunas semillas, así como las cajas de Petri utilizadas como unidades experimentales para la prueba de germinación, se lavaron y desinfectaron con una solución de Hipoclorito de Sodio al 0.3 % y luego se secaron.

3. Aplicación de tratamientos pre-germinativos. Debido a la discrepante información que existe sobre germinación de semillas de nanche, se decidió probar algunos tratamientos a base de productos reguladores del crecimiento promotores de la germinación, y otros que disminuyen la presencia de inhibidores o bien promueven el balance entre promotores e inhibidores de la germinación (Cuadro 3).

Cuadro 3. Tratamientos pre-germinativos aplicados a las semillas de cinco ecotipos de nanche.

Tratamiento	Concentración	Tiempo de inmersión
T ₁ Testigo	0	0
T ₂ Ácido Giberélico	250 mg·l ⁻¹	24 horas
T ₃ Ácido Giberélico	500 mg·l ⁻¹	24 horas
T ₄ Nitrato de Potasio	0.1%	24 horas
T ₅ Estratificación en húmedo	5 °C	10 días
T ₆ Estratificación en húmedo	5 °C	15 días
T ₇ Estratificación en húmedo	5 °C	20 días

La metodología empleada para aplicar los tratamientos pregerminativos a las semillas, se detalla a continuación:

T₁ (testigo). La semilla previamente desinfectada y tratada, sin aplicar ningún tratamiento, se colocó sobre papel filtro húmedo dentro de las cajas de Petri o unidades experimentales; posteriormente, cada una de las cajas de Petri con las semillas se introdujo a la cámara de germinación y permanecieron en ella durante 30 días.

T₂ Inmersión en solución de Ácido Giberélico a 250 mg·l⁻¹ durante 24 horas. Se usó el producto comercial Assigib 90 en polvo, del laboratorio Agroenzimas S. A. de C.V. con pureza de 91 %. Luego se preparó un litro de solución de Ácido Giberélico a 250 mg·l⁻¹, utilizando 0.274 g de Assigib 90.

T₃ Inmersión en solución de Ácido Giberélico a 500 mg·l⁻¹ durante 24 horas Para este tratamiento, también se usó el producto comercial Assigib 90 en

polvo, con pureza es de 91 %. Luego se preparó un litro de solución con 0.549 g de Assiggib 90.

La preparación de la solución, requirió disolver el Assiggib en 5 ml de alcohol etílico, posteriormente, se aforó a un litro agregando poco a poco agua caliente; se agitó vigorosamente hasta lograr una solución cristalina y homogénea.

T₄ Inmersión en solución de Nitrato de Potasio al 0.1 % durante 24 horas.

Para preparar la solución de Nitrato de Potasio (KNO₃) al 0.1 % se requirió agregar 0.1 g de KNO₃ en 1 litro de agua y posteriormente se remojaron las semillas, durante el tiempo establecido.

T₅ Estratificación en húmedo durante 10 días.

Para exponer a las semillas al enfriamiento en húmedo, se colocaron 50 de ellas en cada una de las cajas sandwicheras previamente lavadas y desinfectadas en las que se colocó papel filtro desinfectado y húmedo como sustrato. Las cajas fueron selladas herméticamente, se etiquetaron y acomodaron en un refrigerador marca Whirlpool; durante los periodos de estratificación establecidos, se usó una temperatura constante de 5 °C. Este tratamiento se llevó a cabo en el Laboratorio de Bioquímica de Semillas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

T₆ Estratificación en húmedo durante 15 días. Se siguió la misma metodología que en el tratamiento cinco.

T₇ Estratificación en húmedo durante 20 días. La metodología empleada fue la misma del tratamiento cinco y seis.

3.5.2. Condiciones para la Germinación

El proceso de germinación se condujo en condiciones controladas, en una cámara de germinación marca Seedburo utilizando una temperatura constante de 25 °C e iluminación durante ocho horas diarias.

Como sustrato se usó una capa de papel filtro que también fue desinfectado con Hipoclorito de Sodio al 0.3 % y humedecido con agua destilada, cuidando que la humedad del sustrato fuera la adecuada, y revisando, que al presionar no se formara una película de agua alrededor de las semillas. Durante el desarrollo del experimento (30 días posteriores a la siembra), se hicieron observaciones diarias para monitorear la ocurrencia de la germinación, y vigilar la sanidad de las semillas en cada una de las unidades experimentales; se revisó que la temperatura de la cámara y la humedad del sustrato fueran las establecidas.

3.5.3. Problemática Fitosanitaria de las Semillas

Las semillas de nanche son muy susceptibles al ataque de bacterias y hongos, y un problema durante el experimento, fue la presencia de hongos con apariencia de algodoncillo blanco que cubría la superficie de las semillas afectadas; esta sintomatología se presentó a los dos días de establecido el experimento; en lo sucesivo, ocurrió una infección bacteriana aguda que inició con el reblandecimiento progresivo de las semillas y aroma fétido que se percibía desde el momento en que se abría la cámara de germinación, aún cuando las cajas de Petri que contenían a las semillas permanecieran tapadas; se observó que, la mayoría de las semillas con infección bacteriana se reblandecieron, algunas se endurecieron y tomaron una coloración verde oscura permaneciendo en esa condición hasta el final de la prueba. Por lo anterior, se implementó un plan de control fitosanitario estricto, que consistió en aplicar quincenalmente aspersiones de Oxiclورو de Cobre y Mancozeb a razón de 2 g l^{-1} , a las semillas de todas las unidades experimentales que presentaran o no síntomas de infección; esto disminuyó considerablemente el problema ocasionado por bacterias, pero no lo erradicó, incluso se perdieron la mayor parte de las semillas de algunas unidades experimentales, antes de que transcurrieran los 30 días, tiempo establecido para monitorear la germinación.

Para el caso de los hongos se aplicó Captán a dosis de 1 g l^{-1} cuando aparecieron los primeros síntomas, lográndose controlar el problema.

3.5.4. Diseño Experimental

Se usó un diseño de tratamientos factorial (5x7), en un diseño experimental completamente al azar, donde los factores fueron: ecotipos y tratamientos y los niveles fueron los cinco ecotipos (Amarillo silvestre, Verde, Semi-cultivado, Amarillo Oaxaca y Canelo) y los siete tratamientos pre-germinativos evaluados respectivamente, dando un total de 35 tratamientos con cuatro repeticiones; el tamaño de muestra fue de 25 semillas. La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales y su ubicación en la cámara de germinación se hizo de acuerdo con el diseño empleado. Se utilizaron un total de 140 cajas de Petri de plástico de 10 cm de diámetro, como unidades experimentales.

3.5.5. Variables Evaluadas

Porcentaje de germinación. Se determinó al finalizar el experimento, mediante la contabilización del total de semillas germinadas y el resultado se expresó en porcentaje.

Velocidad de germinación (VG). Se evaluó realizando conteos diarios del número de semillas germinadas; se inició a partir del cuarto día de la siembra, momento en el que germinaron las primeras. Se consideró como semilla germinada la que presentó alargamiento de la radícula y desenvolvimiento de los cotiledones. El último conteo se efectuó 30 días después de establecido el experimento. La VG se calculó mediante la siguiente fórmula, propuesta por Maguire (1962):

$$VG = \sum_{i=1}^n \left(\frac{X_i}{N_i} \right)$$

En donde:

VG = velocidad de germinación

X_i = Número de semillas germinadas en el i-ésimo conteo

N_i = Número de días después de la siembra en el i-ésimo conteo

n = Número de conteos; 1,2,..., n conteos

3.5.6. Análisis Estadístico de los Datos

Porcentaje y velocidad de germinación. Los resultados de porcentaje y velocidad de germinación, se transformaron con la función arcoseno para disminuir la varianza de los datos (Castillo, 2000; Box *et al.*, 2001); posteriormente, se realizó el análisis de varianza para cada variable con $\alpha \leq 0.05$, y la comparación múltiple de medias, con la prueba de Tukey, mediante el paquete estadístico SAS para Windows Versión 9.0 (2001).

3.6. Prueba de Germinación Estándar con Semillas Dentro del Endocarpio

3.6.1. Localización del Experimento

Al igual que la prueba de germinación con semillas extraídas de los endocarpios, la prueba de germinación con semillas dentro del endocarpio se realizó en el Laboratorio de Análisis de Semillas del Programa de Producción de Semillas del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo en Texcoco, Estado de México. El periodo de experimentación comprendió los meses de septiembre de 2008 a febrero de 2009.

El material genético empleado se colectó en agosto de 2008, en Almoloya de las Granadas, Tejupilco, Estado de México y en el ejido El Esfuerzo, Tuxtepec, Oaxaca, dos regiones de la República Mexicana donde existen condiciones climáticas contrastantes adecuadas para el crecimiento de esta especie.

Antes de establecer el experimento, se realizaron algunas actividades previas destacando:

1. Desinfección y tratamiento preventivo de los endocarpios. Previo a la aplicación de los tratamientos pre-germinativos evaluados, los endocarpios con

las semillas en su interior, se desinfectaron durante 10 minutos, en una solución de Hipoclorito de Sodio al 0.3 %, con el producto comercial Cloralex; posteriormente se enjuagaron con agua destilada, y para disminuir la presencia de patógenos, se trataron con una solución de Captán a razón de $1\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ de agua, durante 10 minutos.

2. Limpieza y desinfección de los materiales. Las cajas sandwicheras de plástico empleadas para la estratificación de algunos endocarpios, así como los domos de plástico utilizados como unidades experimentales en la prueba de germinación, se lavaron perfectamente, después se desinfectaron con Hipoclorito de Sodio al 0.3 % y se dejaron secar antes de utilizarse.

3. Ensayo preliminar de escarificación. Debido a que la información disponible sobre germinación de la especie es limitada, se evaluaron algunos tratamientos de manera preliminar, utilizando la escarificación química con Ácido Sulfúrico, Clorhídrico e Hidróxido de Sodio (sosa cáustica) tal como se indica en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Tratamientos preliminares evaluados para escarificar endocarpios de cinco ecotipos de nanche.

Tratamiento	Concentración (%)	Periodo de inmersión
Ácido Sulfúrico	97	90 minutos
Ácido Clorhídrico	33	6 horas
Ácido Clorhídrico	33	8 horas
Ácido Clorhídrico	33	10 horas
Hidróxido de Sodio	50	24 horas
Hidróxido de Sodio	50	36 horas
Hidróxido de Sodio	50	48 horas

4. Aplicación de los tratamientos pregerminativos. Como la semilla de nanche está envuelta en un endocarpio endurecido y grueso, se aplicaron ocho tratamientos con ácidos corrosivos para adelgazar la cubierta, tres a base de estratificación en húmedo y un testigo (endocarpios sin tratamiento); todo esto

con el objetivo de facilitar la emergencia de la radícula como inicio visible del proceso de germinación (Cuadro 5).

Cuadro 5. Tratamientos pre-germinativos evaluados en el ensayo definitivo, para promover la germinación de las semillas contenidas en el endocarpio, de cinco ecotipos de nanche.

Tratamiento	Concentración	Tiempo de inmersión
T ₁ Testigo	0	0
T ₂ Ácido Sulfúrico	97 %	30 minutos
T ₃ Ácido Sulfúrico	97 %	60 minutos
T ₄ Acido Sulfúrico	97 %	90 minutos
T ₅ Ácido Clorhídrico	33 %	30 minutos
T ₆ Ácido Clorhídrico	33 %	60 minutos
T ₇ Ácido Clorhídrico	33 %	90 minutos
T ₈ Hidróxido de Sodio	50 %	24 horas
T ₉ Hidróxido de Sodio	50 %	36 horas
T ₁₀ Estratificación en húmedo	5 °C	2 semanas
T ₁₁ Estratificación en húmedo	5 °C	4 semanas
T ₁₂ Estratificación en húmedo	5 °C	6 semanas

La metodología empleada para la aplicación de los tratamientos pre-germinativos a los endocarpios, se describe a continuación:

T₁ (Testigo). Los endocarpios previamente desinfectados, tratados y sin aplicarles ningún tratamiento pre-germinativo, se sembraron en domos de plástico de 15 x 15 cm, que contenían 30 g de sustrato de una mezcla en proporción de 2:1 de agrolita y musgo respectivamente. Al sustrato se le agregaron 100 ml de agua destilada para garantizar la humedad apropiada.

T₂ Inmersión de los endocarpios en Acido Sulfúrico (H₂SO₄) a 97 % durante 30 minutos. Cien endocarpios de cada uno de los ecotipos de nanche previamente lavados y desinfectados, se sometieron a escarificación química; para ello los endocarpios se depositaron en un matraz Erlenmeyer de 1000 ml y después se agregaron lentamente 150 ml de ácido, a la vez que se agitaba constantemente durante el periodo de tratamiento. Al transcurrir el tiempo

preestablecido de inmersión, los endocarpios se retiraron del ácido auxiliándose de un colador de plástico, e inmediatamente se enjuagaron con abundante agua destilada. Se escurrió el exceso de agua y posteriormente se sembraron en cada una de las unidades experimentales.

T₃ Inmersión de los endocarpios en Ácido Sulfúrico a 97 % durante 60 minutos. Se procedió de igual manera que en el tratamiento anterior; lo único que varió fue el tiempo que los endocarpios permanecieron inmersos en el agente escarificador.

T₄ Inmersión de los endocarpios en Ácido Sulfúrico a 97 % durante 90 minutos. Se realizó el mismo procedimiento que en los dos tratamientos anteriores, pero en este caso el periodo de inmersión de los endocarpios en el ácido fue de 90 minutos.

T₅ Inmersión de los endocarpios en Ácido Clorhídrico (HCL) a 33 % durante 30 minutos. Cien endocarpios de cada ecotipo se sometieron a escarificación química con Ácido Clorhídrico; para llevar a cabo el proceso de escarificación, los endocarpios se depositaron en un matraz Erlenmeyer de vidrio de 1000 ml, se agregaron 150 ml de ácido y se agitó continuamente hasta completar el tiempo establecido de tratamiento; posteriormente, los endocarpios se sacaron del ácido, se enjuagaron con abundante agua destilada, luego se dejaron escurrir y se procedió a sembrar.

T₆ Inmersión de los endocarpios en Ácido Clorhídrico a 33 % durante 60 minutos. Se usó la misma metodología que para el tratamiento anterior, solo varió el tiempo de inmersión de los endocarpios en el agente químico escarificador siendo este de 60 minutos.

T₇ Inmersión de los endocarpios en Ácido Clorhídrico a 33 % durante 90 minutos. Se procedió de la misma manera que en los dos tratamientos anteriores, pues solo se diferenció por el tiempo que los endocarpios se mantuvieron en proceso de escarificación química, que en este caso fue de 90 minutos.

T₈ Inmersión de los endocarpios en Hidróxido de Sodio a 50 % (Sosa cáustica) durante 24 horas. Cien endocarpios de cada ecotipo de nanche fueron escarificados en Hidróxido de Sodio, de grado comercial, marca Grayco; para proporcionar el tratamiento, se vaciaron los endocarpios en recipientes de plástico de 500 ml y se agregaron 250 ml del agente escarificador; se cuidó que los endocarpios quedaran cubiertos para que el tratamiento fuera uniforme, y la mezcla se agitó frecuentemente; al cumplirse el periodo de tratamiento preestablecido, los endocarpios se lavaron con abundante agua destilada, escurriendo el exceso y se sembraron en las unidades experimentales correspondientes.

T₉ Inmersión de los endocarpios en Hidróxido de Sodio a 50 % durante 36 horas. Se usó la misma metodología del tratamiento número ocho, lo único diferente fue el tiempo que permanecieron en escarificación.

T₁₀ Estratificación en húmedo a 5 °C durante dos semanas. Para el caso de este tratamiento, se colocaron 100 endocarpios de cada ecotipo en cajas sandwicheras de plástico que contenían como sustrato papel filtro húmedo; tanto las cajas como el sustrato se desinfectaron previamente en una solución de Hipoclorito de Sodio al 0.3 %. Una vez que se colocaron los endocarpios dentro de las cajas, éstas se sellaron herméticamente, se etiquetaron y acomodaron en un refrigerador doméstico, que durante el tratamiento mantuvo una temperatura constante de 5 °C; semanalmente se revisaba que el sustrato conservara la humedad adecuada.

T₁₁ Estratificación en húmedo a 5 °C durante cuatro semanas. Se usó la misma metodología del tratamiento anterior, variando solo la duración de la estratificación húmeda.

T₁₂ Estratificación en húmedo a 5 °C durante seis semanas. Usando la metodología de los dos tratamientos anteriores, se dio estratificación en húmedo a los endocarpios de cada ecotipo, variando la duración de ésta.

3.6.2. Condiciones para la Germinación

El proceso de germinación se condujo en condiciones controladas, en un cuarto de germinación utilizando una temperatura constante 25 °C e iluminación durante las 24 horas del día.

Como sustrato se usó una mezcla de agrolita y musgo en proporción 2:1 humedecida con agua destilada, a nivel de que al ejercer ligera presión con el dedo, éste quedara húmedo. Durante el desarrollo del experimento (120 días posteriores a la siembra), se hicieron observaciones diarias para monitorear la ocurrencia de la germinación, y vigilar la sanidad de las semillas en cada una de las unidades experimentales; se revisó que la temperatura del ambiente y la humedad del sustrato fueran las establecidas.

3.6.3. Necesidades de Riego

Para determinarlo, al inicio del experimento se eligió una unidad experimental donde ya se había sembrado y regado adecuadamente, se pesó y se registró el dato diariamente; la disminución de peso indicó la cantidad de agua perdida por evaporación y/o evapotranspiración a partir de que inició la germinación; también se estableció un límite máximo de pérdida de humedad que fue de 10 ml, así que en cuanto se alcanzaba esa cifra, se recuperaba a cada unidad experimental la misma cantidad de agua.

3.6.4. Diseño Experimental

Se usó un diseño de tratamientos factorial (5x12), en un diseño experimental completamente al azar, donde los factores fueron: ecotipos y tratamientos, y los niveles fueron los cinco ecotipos (Amarillo silvestre, Verde, Semi-cultivado, Amarillo Oaxaca y Canelo) y los 12 tratamientos pre-germinativos evaluados respectivamente, dando un total de 60 tratamientos con cuatro repeticiones; el tamaño de muestra fue de 25 semillas (endocarpios). La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales y su ubicación en el cuarto de

germinación, se hizo de acuerdo con el diseño empleado. Se utilizaron un total de 240 domos de plástico de 15 x 15 cm, como unidades experimentales.

3.6.5. Variables Evaluadas

Porcentaje de germinación. Se determinó al finalizar el experimento, mediante la contabilización del total de plántulas emergidas y el resultado se expresó en porcentaje.

Velocidad de emergencia (VE). Para evaluarla, se realizaron conteos diarios del número de plántulas emergidas, se inició a partir del décimo séptimo día después de la siembra, momento en el que emergieron las primeras. Se consideró como plántula emergida la que presentó los cotiledones sobre la superficie del sustrato.

El último conteo se efectuó 120 días después de establecido el experimento. La VE se calculó mediante la siguiente fórmula, propuesta por Maguire (1962).

$$VE = \sum_{i=1}^n \left(\frac{X_i}{N_i} \right)$$

En donde:

VE = Velocidad de emergencia

X_i = Número de plántulas emergidas por día

N_i = Número de días después de la siembra

n = Número de conteos; 1,2,..., n conteos

3.6.6. Análisis Estadístico de los Datos

Porcentaje de germinación y velocidad de emergencia. Los datos de porcentaje de semillas germinadas y velocidad de emergencia, se transformaron mediante la función arcoseno para disminuir la varianza de éstos (Castillo, 2000; Box *et al.*, 2001); posteriormente se realizó el análisis de varianza para cada variable con $\alpha \leq 0.05$ y la comparación múltiple de medias, con la prueba de Tukey, mediante el paquete estadístico SAS para Windows Versión 9.0 (2001).

IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización Morfológica

4.1.1. Identificación Taxonómica de Nanche

El dictamen de la identificación taxonómica de las muestra botánicas de los 20 genotipos de nanche evaluados, indicó que todos pertenecen a *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth. Comunicación personal del Dr. Stephen D. Koch Olt. (Anexo 1).

4.1.2. Análisis de Componentes Principales

Con la finalidad de conocer la relación que existe entre las variables cuantitativas consideradas y la semejanza entre las accesiones (Hidalgo, 2003), se realizó el análisis de componentes principales (Cuadro 6), previa estandarización de los datos.

En el Cuadro 6 se observan los tres componentes principales que describen la mayor variación de los datos, así como los valores propios y las varianzas absoluta y acumulada. Respecto a los valores propios de cada uno de los componentes, se aprecia que la mayor varianza se concentra en el componente principal uno (CP1), y que decrece gradualmente en los dos componentes restantes, indicando, una relación directa entre la proporción de la variación de los datos que explica cada componente, con el valor propio de cada uno de ellos.

Las variables cuantitativas que se concentran en estos componentes, explican el 93.4 % de la variación total de las accesiones; el CP1 explica el 80.1 % de la variabilidad total, dentro de éste, los caracteres que en mayor proporción definen la variabilidad, son el peso del mesocarpio, el peso de 25 frutos y el peso unitario del fruto. En resumen, la elevada proporción de la variabilidad que explica el componente principal uno, está altamente correlacionada con tres caracteres morfológicos de fruto.

Cuadro 6. Valores propios y proporción de la varianza explicada por los componentes principales, con base en 23 variables cuantitativas de 20 genotipos de nanche, de dos regiones de México.

Variables	CP1	CP2	CP3
Temperatura media anual (°C)	0.216	-0.226	-0.058
Precipitación media mensual (mm)	0.216	-0.226	-0.058
Altura del árbol (m)	0.209	-0.039	-0.285
Diámetro a 30 cm (cm)	0.154	-0.001	-0.620
Diámetro a 130 cm (cm)	0.160	-0.028	-0.582
Largo de la hoja (cm)	0.217	-0.050	0.153
Ancho de la hoja (cm)	0.210	-0.136	0.100
Peso de 25 frutos (g)	0.222	0.215	0.019
Peso de fruto (g)	0.222	0.215	0.019
Volumen de 25 frutos (ml)	0.217	0.262	0.060
Volumen de fruto (ml)	0.217	0.262	0.060
Diámetro ecuatorial del fruto (mm)	0.213	0.247	0.053
Diámetro polar del fruto (mm)	0.189	0.352	0.075
Peso del mesocarpio (g)	0.223	0.201	0.024
Volumen del mesocarpio (ml)	0.218	0.244	0.063
Espesor del mesocarpio (mm)	0.216	0.182	0.054
Espesor del endocarpio (mm)	-0.165	0.137	0.196
No. de semillas en 25 endocarpios	0.217	-0.222	0.128
No. de semillas por endocarpio	0.217	-0.222	0.128
No. de semillas vanas en 25 endocarpios	-0.217	0.222	-0.128
No. de semillas vanas por endocarpio	-0.217	0.222	-0.128
Peso fresco de semillas de 25 endocarpios	0.210	-0.226	0.133
Volumen de las semillas de 25 endocarpios	0.212	-0.248	0.105
Valor propio	18.415	1.789	1.261
Varianza absoluta (%)	80.100	7.800	5.500
Varianza acumulada (%)	80.100	87.900	93.400

El componente principal dos (CP2), explica solamente el 7.8 % de la variación total, a través de 13 variables, donde la mayor proporción de ese porcentaje, la explica el diámetro polar del fruto y le continúan, el volumen de 25 frutos, volumen de fruto, volumen de semillas de 25 endocarpios, volumen del mesocarpio, diámetro ecuatorial del fruto, peso fresco de las semillas de 25

endocarpios, temperatura, precipitación, número de semillas en 25 endocarpios, número de semillas por endocarpio, número de semillas vanas en 25 endocarpios y el número de semillas vanas por endocarpio.

Por su parte, el componente principal tres (CP3) únicamente explica el 5.5 % de variabilidad total de los datos, siendo el diámetro del tallo del árbol a 30 cm, el carácter que contribuye en mayor proporción, seguido por el diámetro a 130 cm y la altura del árbol. La variabilidad existente entre las características morfológicas evaluadas, está relacionada con las condiciones climáticas y edáficas de los sitios de colecta; los frutos que se obtuvieron en Tuxtepec, Oaxaca (trópico húmedo) superaron notoriamente el peso del fruto y el espesor del mesocarpio de los frutos colectados en la región de Tejupilco, Estado de México (trópico seco), ya que mientras los primeros se desarrollan en suelos fértiles aptos para la agricultura, los segundos crecen en forma silvestre, en suelos ácidos, poco profundos y pedregosos. Por otro lado, el número de semillas por endocarpio fue menor en los genotipos originarios de trópico seco, mientras que el número de semillas vanas, fue mayor.

La dispersión de los genotipos de nanche que se muestra en el diagrama bidimensional (Figura 1), en un plano formado por CP1 y CP2 (87.9 % de la variabilidad total), agrupa las accesiones de nanche de acuerdo a sus semejanzas.

En la Figura 1, se evidencia que los genotipos se concentraron en dos grupos; el grupo I quedó conformado por los ocho genotipos (árboles) de trópico húmedo, mismos que presentaron los frutos más pesados y con mayor peso de mesocarpio (especialmente los genotipos 15 y 20), con mejor sabor, mayor número de semillas por endocarpio, menor número de semillas vanas, espesores de endocarpio y dureza de los mismos menores que los del grupo II. Estos genotipos presentaron las mejores características para consumo en fresco, por lo que podrían ser considerados para instaurar algún programa de selección y mejoramiento genético de este frutal, con ese objetivo.

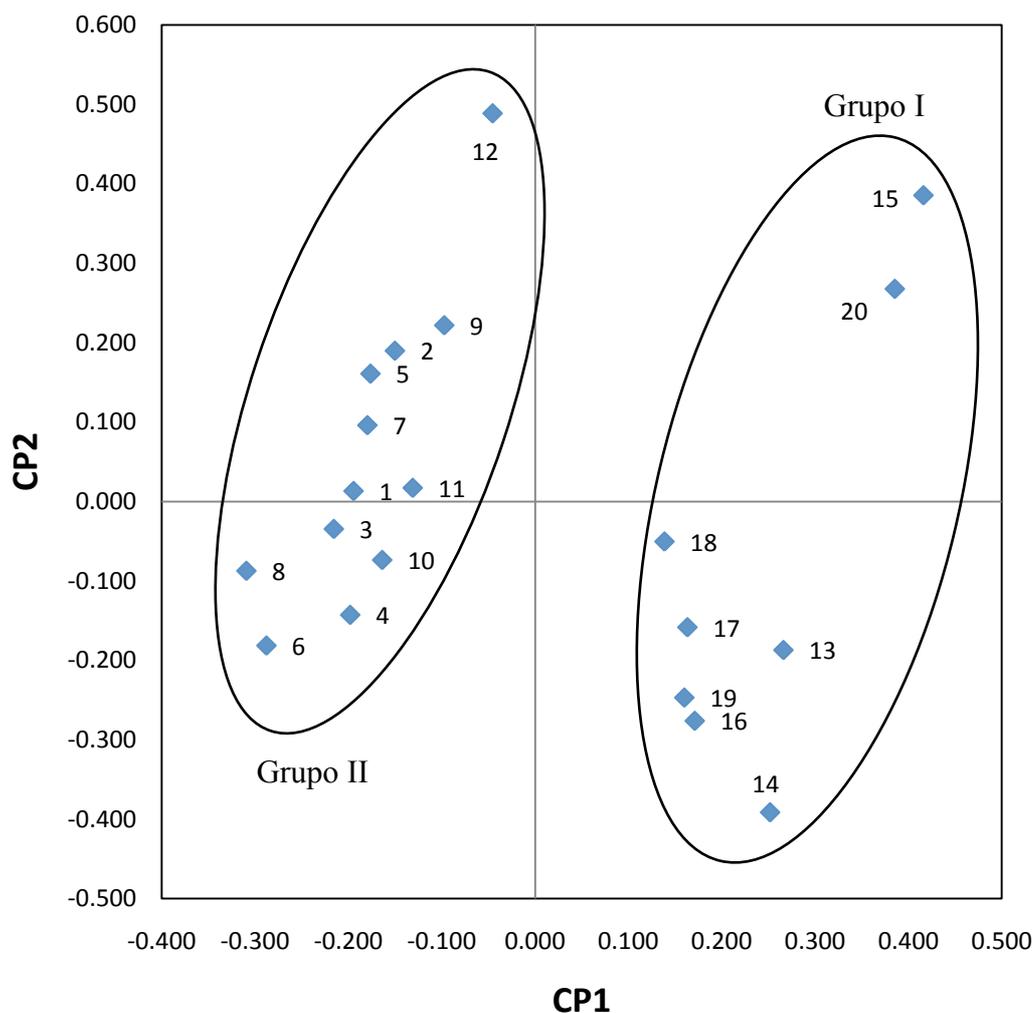


Figura 1. Diagrama de dispersión de 20 colectas de nanche, con base en los componentes principales 1 y 2.

Por otro lado, el grupo II lo integran 12 genotipos, que son los que prosperan en la región de trópico seco; de los 12, ocho son arbustos silvestres pequeños que forman parte de la vegetación natural y se desarrollan en suelos erosionados, con déficit de humedad la mayor parte del año (colectas 1-8); producen frutos pequeños, con sabores que varían del ácido al amargo, presentan endocarpios más gruesos y duros que los del trópico húmedo; así también, el número de semillas por endocarpio es menor que en el grupo I, y existe una alta proporción de semillas vanas. Los cuatro restantes (colectas 9-12), corresponden a los genotipos semi-cultivados; presentan mejores caracteres que los anteriores del mismo grupo, porque provienen de reproducción asexual, pero como se desarrollan en las mismas condiciones climáticas y edáficas que los primeros

ocho, existe cierta similitud en las características morfológicas evaluadas. En el grupo II se observa que las colectas 3, 4, 6, 8 y 10 se dispersan en el plano negativo formado por CP1 y CP2, estos genotipos presentaron los frutos más pequeños; en tanto que las colectas 1, 2, 5, 7, 9, 11 y 12 tomaron valores positivos con respecto al CP2 y son los que presentaron tamaños de fruto que variaron del mediano al grande, siendo el genotipo 12 el que mostró superioridad sobre todos los del grupo. Los genotipos que constituyen este grupo en general, si bien presentan las características más desfavorables para el consumo en fresco, son valiosos para emplearse en programas de reforestación de áreas erosionadas y con déficit de humedad, por lo que la reproducción de dicha especie representa una alternativa importante para el mejoramiento del suelo (Sánchez, 1986) y el medio ambiente en general. Por el lado de la fruticultura, estos genotipos son importantes para la generación de portainjertos francos que garantizan mayor resistencia a la virosis (Agusti, 2004) y buena capacidad de adaptación a un amplio rango de condiciones ambientales (Bayuelo-Jimenez *et al.*, 2006; Campbell, 1996).

4.1.3. Análisis de Conglomerados Jerárquico

Con el objetivo de clasificar las accesiones de nanche, en grupos relativamente homogéneos con base en alguna similitud existente entre ellos (Hair *et al.*, 1992; López e Hidalgo, 1994b), se realizó el Análisis de Conglomerados Jerárquico (Figura 2), empleando 23 caracteres cuantitativos y 12 cualitativos (Crisci y López, 1983).

En la Figura 2, se muestra que de las 20 colectas de nanche, considerando una distancia Euclidiana de 25.0, se definen dos grupos principales, el primero integrado por ocho genotipos originarios de Tuxtepec, Oaxaca (colectas 13-20) y el segundo constituido por 12 genotipos provenientes de Almoloya de las Granadas, Tejupilco Estado de México (colectas 1-8). La agrupación coincidió con la dispersión proyectada por los componentes principales 1 y 2 del diagrama bidimensional (Figura 1).

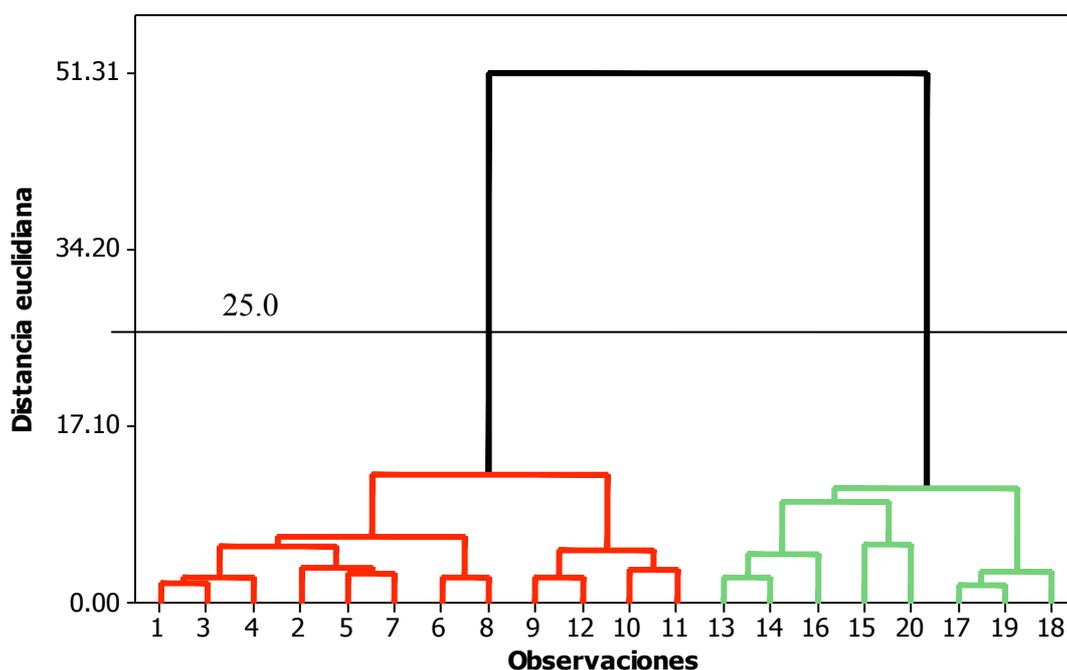


Figura 2. Dendrograma de agrupamiento con base en distancias euclidianas, usando el método de Ward, para 23 variables cuantitativas y 12 cualitativas de 20 accesiones de nanche.

Los resultados ilustrados con las Figuras 1 y 2, y el dictamen de la identificación taxonómica emitido por el Dr. Stephen D. Koch Olt (Anexo 1), demuestran que *Byrsonima crassifolia* presenta una gran variabilidad atribuible a la diversidad ambiental (climática y edáfica principalmente), que prevalece en el territorio mexicano.

Después de definir los grupos, se realizó un concentrado de las medias de las variables evaluadas (Cuadro 7), para determinar las similitudes y diferencias entre los caracteres de cada grupo.

Los datos del Cuadro 7, muestran que de las 23 variables cuantitativas evaluadas, 20 fueron significativas para el grupo I y solo tres para el grupo II, en los agrupamientos definidos. En particular los genotipos del grupo I, provenientes de Tuxtepec, Oaxaca, fueron mejores que los de Tejupilco, Estado de México.

Cuadro 7. Comparación de medias de las 23 variables cuantitativas evaluadas en nanche, para los agrupamientos obtenidos.

Variables	Grupo I	Grupo II
Temperatura media anual (° C)	24.60 a	19.30 b
Precipitación media mensual (cm)	193.55 a	113.50 b
Altura del árbol (m)	8.94 a	3.25 b
Diámetro a 30 cm (cm)	98.38 a	53.00 b
Diámetro a 130 cm (cm)	72.00 a	38.75 b
Largo de la hoja (cm)	13.96 a	8.23 b
Ancho de la hoja (cm)	6.87 a	4.24 b
Peso de 25 frutos (g)	124.58 a	68.07 b
Peso de fruto (g)	4.98 a	2.72 b
Volumen de 25 frutos (ml)	106.63 a	64.61 b
Volumen de fruto (ml)	4.27 a	2.58 b
Diámetro ecuatorial del fruto (mm)	20.87 a	17.05 b
Diámetro polar del fruto (mm)	17.99 a	15.46 b
Peso del mesocarpio (g)	4.73 a	2.47 b
Volumen del mesocarpio (ml)	4.03 a	2.33 b
Espesor del mesocarpio (mm)	6.29 a	4.54 b
Espesor del endocarpio (mm)	1.27 b	1.58 a
No. de semillas en 25 endocarpios	46.50 a	19.17 b
No. de semillas por endocarpio	1.86 a	0.77 b
No. de semillas vanas en 25 endocarpios	28.50 b	55.83 a
No. de semillas vanas por endocarpio	1.14 b	2.23 a
Peso fresco de las semillas de 25 endocarpios (g)	0.85 a	0.26 b
Volumen de las semillas de 25 endocarpios (ml)	1.06 a	0.41 b

Medias con la misma letra en cada variable entre grupos, no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); Grupo I: genotipos procedentes de Tuxtepec, Oaxaca; Grupo II: genotipos procedentes de Tejupilco, Estado de México.

El grupo I mostró superioridad en la mayoría de las variables (20), a diferencia del grupo II que solo fue superior en tres, no existiendo similitud alguna entre las variables evaluadas en los grupos. La información del Cuadro 7, confirma la dispersión y el agrupamiento obtenido mediante el Análisis de Componentes Principales y el de Conglomerados Jerárquico.

Al comparar los resultados obtenidos con los de otros autores, se evidencia que existe mucha variabilidad de caracteres morfológicos en la especie *Byrsonima crassifolia*:

En lo que se refiere a la altura del árbol, ésta varió de 1.85 a 14 m, con promedio de 5.52 m, estos datos superan los que obtuvieron Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006); los datos de diámetro a la altura del pecho (1.3 m), fueron de 25 a 120 cm con promedio de 52.05 cm, que también fueron superiores a los reportados por Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006) ya que estos fluctuaron entre 8 y 10 cm.

Con relación a caracteres de las hojas, la longitud varió de 6.56 a 15.46 cm, en cambio Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006) obtuvo longitudes de 5.4 a 6.0 cm; el ancho de la hoja mostró valores entre 3.48 a 8.63 cm, siendo superiores a las cifras citadas por Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006) de 3.4 a 4.0 cm. Posiblemente los contrastes obedecen a las condiciones climáticas que prevalecen en los sitios donde los autores efectuaron la investigación.

En cuanto a características de fruto, el peso varió de 1.78 a 7.18 g con promedio de 3.63 g, siendo nuevamente superior a los reportados por Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006), quienes obtuvieron pesos de 1.8 a 3.8 g. El diámetro polar del fruto osciló entre 1.30 y 2.17 cm, con un promedio de 1.16 cm, este resultado, discrepa de los obtenidos por Martínez-Moreno *et al.* (2006), ya que ellos citan intervalos de 1.82 a 2.63 cm, con un promedio de 2.22 cm. Por su parte Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006) reportan que éste fluctuó entre 1.28 y 1.65 cm; en cambio tienen cierta similitud con los resultados reportados por Garriz (1986) quien obtuvo valores de 1.2 a 2.2 cm de diámetro, siendo el promedio de 1.7 cm; a la vez son superiores a los citados por Sánchez (1986) con valores de 0.7 a 1.3 cm de largo; también tienen cierta superioridad respecto a los reportados por Cavalcante (1996), que variaron de 1.2 a 2 cm, al igual que los mencionados por Sauri-Duch (2001) de 1.5 a 2.0 cm, también Niembro *et al.* (2004) citan intervalos entre 1.7 a 2.0 cm. Por otro lado Medina-Torres *et al.* (2004), en las selecciones de nanche que evaluaron en Nayarit, México, encontraron que la longitud de los frutos varía de 1.62 a 2.29 cm.

Respecto al diámetro ecuatorial o anchura del fruto, este varió de 1.4 a 2.3 cm, con promedio de 1.86 cm; estos valores son inferiores a los que reportan Medina -Torres *et al.* (2004) de 1.68 a 2.48 cm, así como los obtenidos por Martínez-Moreno *et al.* (2006) quienes reportan rangos de 1.75 a 2.55 cm. De igual manera, el espesor del mesocarpio obtenido, se ubica dentro del rango comprendido entre 1.47 y 5.76 mm con un promedio de 3.01 mm, esto contrasta con lo reportado por Cavalcante (1996) quien menciona valores de 5 mm; Martínez-Moreno *et al.* (2006) obtuvo cifras que fluctuaron entre los 4 y 7 mm; mientras que Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006) reportó espesores de 7.7 a 10.8 mm.

El peso de la pulpa (mesocarpio) tuvo valores entre 1.59 y 6.88 g, estos son inferiores a los reportados por Medina-Torres *et al.* (2004) de 4.15 a 8.87 g; presentan similitud con los que refiere Martínez-Moreno *et al.* (2006) que fueron de 2.26 a 6.32 g y muestran superioridad con respecto a lo que obtuvo Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006), de 1.5 a 3.3 g.

El espesor del endocarpio tuvo valores entre 1.06 y 1.67 mm con un promedio de 1.45 mm, siendo notablemente inferiores a los promedios reportados por Bayuelo-Jiménez *et al.* (2006), que fueron de 6.8 a 8.5 mm, y son superiores a los citados por Carvalho y Nascimento (2008) que fueron de 0.27 y 0.70 mm. Quizá la diferencia se deba a que los genotipos con los que se trabajó, están más evolucionados que los de Bayuelo-Jimenez *et al.* (2006), pero menos que los de Carvalho y Nascimento (2008).

En cuanto al peso fresco de la semilla, éste se situó en un rango de 0.01 a 0.02 g, y fue menor al reportado por Medina-Torres *et al.* (2004) que fue de 0.13 a 0.40 g, y también al que obtuvieron Martínez-Moreno *et al.* (2006) de 0.4 a 0.93 g; en cambio fue superior al encontrado por Carvalho y Nascimento (2008), quienes reportaron pesos de 0.0034 a 0.037g.

4.2. Pruebas Preliminares

4.2.1. Viabilidad de las Semillas con Tetrazolio

Con el objetivo de conocer la capacidad de las semillas de nanche para germinar (Cuadro 8) se realizó la prueba con tetrazolio.

Cuadro 8. Viabilidad de las semillas y contenido de humedad en semillas y endocarpios de cinco ecotipos de nanche.

Ecotipo	Descripción	Viabilidad (%)	Contenido de Humedad (%)	
			Semillas	Endocarpios
1	Amarillo silvestre	86	12.6	12.4
2	Verde	50	6.3	11.5
3	Semi-cultivado	78	7.3	12.7
4	Amarillo Oaxaca	86	6.6	12.1
5	Canelo	98	22.5	19.6

En el Cuadro 8 se observa que los porcentajes de viabilidad obtenidos son buenos, exceptuando el ecotipo Verde; sin embargo, al comparar los porcentajes de viabilidad con los de germinación de semillas extraídas, obtenidas por la interacción de los diversos tratamientos pre-germinativos aplicados en cada uno de los ecotipos, se aprecia que en la mayoría de los casos, el porcentaje de viabilidad de las semillas estuvo muy distante del porcentaje de germinación obtenido (Cuadro 10); estos resultados discrepan de lo que menciona Moreno (1996), en cuanto a que los resultados de viabilidad son muy semejantes a los esperados en la germinación. El comportamiento que tuvieron las semillas de los diferentes ecotipos de nanche con los que se experimentó, obedece por una parte, a que la prueba viabilidad, detecta la presencia de células vivas en los tejidos de la semilla y en base a ello determina la viabilidad; en realidad la diferencia se debe a que en la evaluación de la viabilidad con tetrazolio se incluyen todas las semillas que pudieran presentar latencia, y que por supuesto en la prueba de germinación, éstas no germinarán en tanto el mecanismo de latencia no se elimine; lo cual implica una disminución en el porcentaje de germinación al compararse con el de viabilidad; por otro lado, en la prueba de

germinación se observa que probablemente los porcentajes se afectaron negativamente por problemas fitosanitarios, lo que impidió a las semillas expresar el potencial germinativo real, y que en este caso en particular, los problemas fitosanitarios, principalmente los causados por bacterias y en menor medida por hongos, fueron un problema grave que propició en algunos casos, la pérdida de una buena parte de las semillas en algunas unidades experimentales. De igual manera, el bajo porcentaje de germinación obtenido en algunos ecotipos, pudo deberse al daño ocasionado al embrión, durante la extracción de la semilla del endocarpio, el cual es duro y grueso; esto coincide con lo que reportan Laskowski y Bautista (2002).

Por otro lado, al comparar los resultados de viabilidad con tetrazolio con los de germinación de las semillas dentro del endocarpio (Cuadro 12), se observa un comportamiento muy variable, pues al igual que en el caso de la germinación con semillas extraídas de los endocarpios, según Moreno (1996), los resultados de viabilidad deben de ser semejantes a los que se esperan en la prueba de germinación, cuando ésta se efectúa en condiciones ambientales favorables. Dicha concordancia entre ambos datos no se cumple; pues existe una variación muy amplia en las diferentes interacciones entre los ecotipos y tratamientos pre-germinativos evaluados, entre el porcentaje de viabilidad y el de germinación. El comportamiento mostrado por el material genético, puede tener como origen las siguientes situaciones: la restricción mecánica para la protrusión de la radícula impuesta por el endocarpio, el tipo de sustrato y la presencia de latencia secundaria en la que posiblemente entraron las semillas por un descontrol en la temperatura (Dias, 2005).

4.2.2. Contenido de Humedad de Semillas y Endocarpios

Se determinó el contenido de humedad de semillas y endocarpios de cinco ecotipos de nanche mediante el método de la estufa.

Los resultados concentrados en el Cuadro 8, permiten apreciar que las semillas con mayor contenido de humedad fueron las del ecotipo Canelo,

seguidas de las del Amarillo silvestre, y las que presentaron menor contenido de humedad fueron las del ecotipo Verde seguidas de las del Amarillo Oaxaca.

En nanche, no existe información científica respecto a la relación que guardan el contenido inicial de humedad de las semillas, con el comportamiento germinativo de las mismas, por lo que especulando, se esperaría que a mayor contenido de humedad de las semillas, la germinación ocurriera más rápido; esto considerando que las semillas sean viables y no tengan problemas de latencia, por lo que el porcentaje de germinación se esperaría que fuese mayor. En todo caso un contenido de humedad diferente en los ecotipos, si podría influenciar el periodo de imbibición de las semillas y por lo tanto la velocidad de germinación; sin embargo, otra vez, no debemos olvidar el aspecto de la latencia que presenta esta especie y que hace difícil observar lo que en otras especies ocurre. Por lo tanto, es recomendable uniformizar, hasta donde sea posible, la humedad en las semillas para evitar interacciones indeseables. Jara (1997) menciona que la variación del contenido de humedad en la semilla, está en función del porcentaje de aceite que ésta posea; así, las semillas que almacenan sus reservas en forma de proteínas o almidón, tienen un contenido de humedad mayor que las que los almacenan en forma de grasa o aceite. Con base en lo anterior, puede pensarse que no existe relación entre el contenido de humedad de las semillas y el comportamiento germinativo de éstas, por lo que los resultados de germinación obtenidos, pueden ser atribuibles a las características genéticas del germoplasma, a las condiciones ambientales de los sitios geográficos donde se colectaron los frutos y quizá al tipo de clasificación de semilla en que se ubique esta especie (ortodoxa, intermedia o recalcitrante). Lo anterior evidencia la falta de investigación en la especie estudiada.

En lo referente al contenido de humedad de los endocarpios, en el Cuadro 8 se observa que los contenidos de humedad que presentaron los endocarpios son variables, encontrando que el mayor porcentaje de humedad lo tuvo el ecotipo Canelo, seguido del Semi-cultivado; en contraparte, el ecotipo que mostró menor contenido de humedad fue el Verde seguido de el Amarillo Oaxaca, quedando el Amarillo silvestre con el menor contenido de humedad, aunque con un porcentaje muy cercano al Amarillo Oaxaca.

Los resultados obtenidos parecen no tener relación directa con el comportamiento de la germinación (Cuadro 12), pues la combinación del ecotipo Amarillo Oaxaca con escarificación química con Ácido sulfúrico durante 30 minutos, obtuvo el mayor porcentaje de germinación y velocidad de emergencia, a pesar de que los endocarpios de este ecotipo fueron de los que presentaron menores contenidos de humedad. Donde si parece haber relación, es en lo referente a que a mayor porcentaje de germinación, mayor velocidad de emergencia (Cuadro 12).

Por lo anterior, el comportamiento diverso en cuanto a contenido de humedad en los endocarpios, puede tener su origen en el aspecto genético combinado con el factor ambiental de los sitios donde se desarrollan los ecotipos con los que se trabajó, y a la variabilidad genética que presenta la especie, producto de la reproducción por semilla y a la polinización cruzada natural (Nava y Uscanga, 1980; Agusti, 2004).

4.2.3. Escarificación Química de Endocarpios

Con el propósito de seleccionar los mejores intervalos de inmersión de los tres agentes escarificadores (Cuadro 1A), de manera preliminar se ensayaron diferentes periodos de remojo. Posterior a la escarificación de los endocarpios, se extrajeron las semillas y se practicó una prueba de viabilidad para comprobar si conservaban su capacidad germinativa o se hacía un ajuste en los tiempos de tratamiento. Los resultados obtenidos (Cuadro 1A), permitieron descartar los tratamientos que resultaron perjudiciales a las semillas, para luego evaluar, en el experimento definitivo, únicamente los que no dañaron la viabilidad de éstas.

4.3. Prueba de Germinación Estándar con Semillas Extraídas de los Endocarpios.

4.3.1. Porcentaje de Germinación.

En el Cuadro 9, se presenta el análisis de varianza con $\alpha \leq 0.05$ para porcentaje y velocidad de germinación.

Cuadro 9. Cuadrados medios y significancia estadística, para las variables fisiológicas evaluadas, en semillas de nanche extraídas de los endocarpios, 30 días después de la siembra en laboratorio.

F.V.	G.L.	Porcentaje de germinación	Velocidad de germinación [†]
Ecotipo	4	0.344 ***	0.022 ***
Tratamiento	6	0.424 ***	0.030 ***
Ecotipo*Tratamiento	24	0.076 ***	0.005 *
Error	105	0.009	0.003
C.V.		11.8	6.3

* = $P \leq 0.05$; *** = $P \leq 0.0001$

[†] = Número de semillas germinadas por día.

En el Cuadro 9, se aprecia que existieron diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.0001$), para ecotipos y tratamientos, lo que implica que al menos uno de los ecotipos y tratamientos pre-germinativos, promovió un efecto diferente de los demás, en las variables fisiológicas evaluadas, pero lo más trascendente es que la interacción ecotipo*tratamiento también resultó altamente significativa ($P \leq 0.0001$), lo que indica que los tratamientos promovieron efectos diferentes en cada uno de los ecotipos, y por lo tanto resta importancia al estudio de los factores principales por separado; por lo anterior se procedió a realizar la comparación múltiple de medias, considerando la interacción de los dos factores principales (Cuadro10) mediante la prueba de Tukey.

Cuadro 10. Promedios de las variables fisiológicas evaluadas, en semillas de nanche extraídas del endocarpio, obtenidos 30 días después de la siembra en laboratorio.

Int.	Descripción	Germinación (%)		Velocidad de Germinación [†]	
		Transformada	Media real	Transformada	Media real
1	AS Testigo	0.856	32.0 efghi	0.907	1.205 abcde
2	AS AG3 250	0.682	14.8 ghijk	0.840	0.545 abcde
3	AS AG3 500	0.806	27.0 efghijk	0.880	0.942 abcde
4	AS KNO3 0.1%	0.754	21.9 efghijk	0.866	0.801 abcde
5	AS Estr. 10 d.	0.567	3.9 k	0.798	0.125 e
6	AS Estr. 15 d.	0.674	13.9 ghijk	0.815	0.300 cde
7	AS Estr. 20 d.	0.724	18.9 efghijk	0.866	0.804 abcde
8	V Testigo	0.959	42.0 bcdef	0.944	1.560 abcde
9	V AG3 250	0.796	26.0 efghijk	0.896	1.101 abcde
10	V AG3 500	0.814	27.9 efghijk	0.879	0.933 abcde
11	V KNO3 0.1%	0.907	37.0 cdefg	0.886	1.003 abcde
12	V Estr. 10 d.	0.848	31.2 efghij	0.942	1.536 abcde
13	V Estr. 15 d.	0.844	30.9 efghij	0.886	0.995 abcde
14	V Estr. 20 d.	0.917	38.0 cdefg	0.965	1.758 abc
15	SM Testigo	1.173	60.0 bc	0.979	1.888 ab
16	SM AG3 250	0.959	42.0 bcdef	0.896	1.093 abcde
17	SM AG3 500	0.846	31.0 efghij	0.883	0.969 abcde
18	SM KNO3 0.1%	0.847	31.1 efghij	0.874	0.884 abcde
19	SM Estr. 10 d.	0.579	4.9 jk	0.793	0.073 e
20	SM Estr. 15 d.	0.578	4.8 jk	0.796	0.105 e
21	SM Estr. 20 d.	0.653	12.0 ghijk	0.851	0.657 abcde
22	AO Testigo	1.571	75.0 a	0.987	1.961 a
23	AO AG3 250	1.202	62.0 b	0.958	1.694 abcd
24	AO AG3 500	0.980	44.0 bcde	0.896	1.096 abcde
25	AO KNO3 0.1%	0.846	31.0 efghij	0.861	0.756 abcde
26	AO Estr. 10 d.	0.917	38.0 cdefg	0.871	0.857 abcde
27	AO Estr. 15 d.	0.866	33.0 efghi	0.858	0.724 abcde
28	AO Estr. 20 d.	0.684	15.0 ghijk	0.834	0.488 abcde
29	C Testigo	1.146	58.0 bcd	0.952	1.633 abcd
30	C AG3 250	0.715	18.0 efghijk	0.837	0.511 abcde
31	C AG3 500	0.633	10.0 hijk	0.814	0.284 cde
32	C KNO3 0.1%	0.694	15.9 fghijk	0.829	0.440 bcde
33	C Estr. 10 d.	0.600	6.9 ijk	0.806	0.201 de
34	C Estr. 15 d.	0.704	16.9 fghijk	0.822	0.368 cde
35	C Estr. 20 d.	0.896	36.0 defgh	0.879	0.933 abcde
DMS		0.274		0.1537	

Medias con la misma letra dentro de cada variable, no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05); [†] = Número de semillas germinadas por día. AS= Amarillo silvestre; V= Verde; SM= Semi-cultivado; AO= Amarillo Oaxaca; C= Canelo.

De los datos del Cuadro 10, se infiere que el mejor efecto en la germinación se obtuvo al combinar el ecotipo Amarillo Oaxaca con el Testigo (semilla extraída del endocarpio sin aplicar ningún tratamiento), pues fue estadísticamente significativo en la prueba de Tukey, además de que obtuvo el máximo valor promedio de germinación (75 %), también se observa que aunque con porcentajes de germinación inferiores al anterior, las interacciones del Testigo con los ecotipos Amarillo silvestre, Verde, Semi-cultivado y Canelo, obtuvieron mejores resultados en la variable respuesta que cuando se combinaron con los restantes tratamientos pre-germinativos aplicados; lo anterior evidencia que en general las semillas de los ecotipos de nanche estudiados, tienen la capacidad para germinar y el mayor obstáculo para que esto ocurra, es la presencia del endocarpio endurecido y grueso que las contiene, lo cual coincide con lo señalado por Díaz-Montenegro (2002), en el sentido de que los frutales tropicales en general, solo presentan problemas de ecodormancia, paradormacia o ambas. En este caso como el endocarpio se eliminó, no hubo restricción para que las semillas sin necesidad de tratamientos adicionales expresaran su potencial germinativo, esto concuerda con lo que encontraron García-Núñez *et al.* (2001).

La interacción ecotipo Amarillo Oaxaca con Ácido Giberélico a 250 mg l^{-1} le sigue en orden de significancia estadística, lo que indica que tuvo efecto favorable en la variable respuesta (62 % de germinación), aún cuando no superó a la combinación Amarillo Oaxaca-Testigo, esto tiene semejanza con lo que encontró Guadarrama (2000), aunque en este caso, tomando en cuenta el efecto de esta interacción en los restantes ecotipos (Cuadro 10) puede pensarse que quizá la concentración de Ácido Giberélico empleada no fue la ideal, por lo que es conveniente probar inmersiones en soluciones menos concentradas, pues a diferencia de lo que reportan algunos autores (Camino, 1998; Loaiza, 2004; Vaquero, 2005; Carvalho y Nascimento, 2008), quienes obtuvieron resultados de germinación favorables al aplicar Ácido Giberélico en concentraciones que variaron de 500 a 4000 ppm; para el caso que nos ocupa, las altas concentraciones no promovieron la germinación de *Byrsonima crassifolia*. Quizá la respuesta discrepante se deba a que los autores antes citados usaron este tratamiento en endocarpios, por lo que existe la posibilidad de que como en nanche el tratamiento se aplicó en semillas extraídas del endocarpio, la

concentración empleada y el tiempo de inmersión hayan sido inadecuados, propiciando con esto toxicidad en el embrión, o bien, que las semillas de los ecotipos evaluados hayan tenido suficiente cantidad de giberelinas para germinar (Díaz-Montenegro, 2002), por lo que al aplicar más en forma exógena, haya ocurrido un efecto inhibitorio, contrario al que se deseaba promover (Harvey y Oaks, 1974).

Por otro lado, la combinación Amarillo silvestre con Estratificación durante 10 días, fue la que promovió el menor efecto en el porcentaje de germinación (3.9 %), aunque en la mayoría de los ecotipos (Cuadro 10) el efecto fue mejorando a medida que el periodo de estratificación aumentó (Amarillo silvestre, Verde, Semi-cultivado y Canelo); esto implica que algunas de las semillas de nanche empleadas en la prueba, presentaron problemas de latencia primaria, quizá por alta concentración de Ácido Abscísico en el embrión, misma que disminuyó paulatinamente con la exposición al enfriamiento (Díaz-Montenegro, 2002; Audesirk *et al.*, 2003), pero no queda determinado el periodo de estratificación apropiado para superar la latencia. Se sugiere hacer pruebas de estratificación en húmedo, con semillas de los mismos ecotipos para determinarlo.

En lo relativo a la interacción de los diferentes ecotipos con el Nitrato de Potasio al 0.1 %, puede decirse que no tuvo efecto favorable en la germinación de las semillas de nanche, lo que coincide con Guadarrama (2000), quien reporta que el tratamiento con Nitrato de Potasio al 1 %, no estimuló la germinación de las semillas de *Malpighia mexicana* Jusieu. El comportamiento antes indicado, probablemente sea una característica de las especies que pertenecen a la familia Malpighiaceae; que a su vez puede estar relacionado con lo que mencionan Copeland y McDonald (2001), respecto a que la aplicación de Nitrato de Potasio, puede ser perjudicial para algunas semillas.

El efecto variable que las interacciones de los niveles de los factores principales, promovieron en el porcentaje de germinación de las semillas de nanche, excepto el testigo (Cuadro 10), pueden explicarse, en primer lugar, en términos de los problemas fitosanitarios debido a bacterias y hongos en menor proporción, que se presentaron a los dos días de establecida la prueba y con tal

magnitud, que en unas cuantas horas a partir de que aparecieron los primeros síntomas, la infección se diseminó a la mayoría de las unidades experimentales; esto sin duda, impidió a las semillas de algunos ecotipos desarrollar su potencial germinativo; al respecto, es conveniente resaltar que quizá la infección bacteriana se agudizó, producto del posible daño causado a las semillas al momento de extraerlas de los endocarpios, o bien, a que los microorganismos se encontraran en el interior del embrión y por lo tanto, los tratamientos preventivos y de desinfección, no fueron efectivos. Por otro lado, el comportamiento de las semillas de los diferentes ecotipos estudiados no es inesperado, ya que en los escasos estudios que de germinación se han efectuado, la mayoría de los autores reportan porcentajes de germinación alrededor de 35 % (Vega *et al.*, 1981; Francis, 1990; Guerrero, 1993; García-Núñez *et al.*, 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Cuenca *et al.*, 2003; Vaquero, 2005; Jaimes, 2006), esto sugiere la necesidad de continuar investigando la causa por la que no se logran porcentajes de germinación mejores. Probablemente los bajos porcentajes de germinación en algunos ecotipos y los problemas de latencia, están asociados también a la poca domesticación que tienen ciertas especies de la familia Malpighiaceae como el nanche, determinada en gran medida también por el factor genético, las condiciones ambientales donde se desarrollan los ecotipos, la propagación sexual y la polinización cruzada natural (Nava y Uscanga 1980; Agusti, 2004). Posiblemente las semillas de algunos ecotipos como el Amarillo silvestre, que en general mostró los porcentajes de germinación más bajos (Cuadro 10), contengan en el embrión sustancias inhibitoras de la germinación que contribuyeron a limitar la capacidad germinativa, o a otras sustancias, como en el caso reportado por Ríos-Morgan *et al.* (2004) quienes encontraron taninos en la pulpa del fruto y en la semilla en base seca; los taninos son sustancias fenólicas que pueden inhibir la germinación de las semillas (Moreno-Casasola, 1996; Fenner, 2000; Bradford y Nonogaki, 2007). Las condiciones nutricionales de las semillas de algunos ecotipos pueden también influir en el comportamiento mostrado (Copeland y McDonald, 2001). De la observación visual de las plántulas obtenidas, los ecotipos Amarillo Oaxaca y Canelo que provienen de suelos fértiles del trópico húmedo, produjeron plántulas vigorosas (radículas largas y de mayor diámetro, hojas embrionarias de color verde oscuro); en cambio, las plántulas de los ecotipos Amarillo silvestre y Verde que proceden de suelos erosionados, ácidos y

con déficit de humedad la mayor parte del año, dieron origen a plántulas más débiles, con radículas cortas, de menor diámetro y hojas embrionarias de color verde pálido. Para posteriores estudios es conveniente considerar la realización de un análisis nutrimental de las semillas de las regiones de trópico húmedo y trópico seco, evaluar el vigor en los genotipos y relacionarlo con el clima y condiciones edáficas del lugar de colecta. Respecto al ecotipo Canelo procedente de trópico húmedo, se observó que fue más susceptible al ataque por bacterias, que su homólogo Amarillo Oaxaca.

Finalmente, el grado de evolución del germoplasma empleado, puede estar también influyendo en las diferencias encontradas. Por ejemplo, el Amarillo silvestre y el Verde, son arbustos silvestres que crecen formando parte de la vegetación natural de la zona y no existe intervención del hombre en la propagación ni en el proceso productivo del frutal, en cambio los ecotipos Amarillo Oaxaca y Canelo, se reproducen por semilla de manera natural bajo el dosel de los árboles, pero de allí se seleccionan las plántulas por sus características deseables (sabor, color, tamaño) y posteriormente son trasplantadas a los solares de los domicilios, jardines y plazas públicas donde crecen y se reproducen. En el caso del Semi-cultivado, aunque proviene de trópico seco, también está más evolucionado, pues se propagó por injerto y crece en un huerto, no recibe manejo agronómico formal, pero si le proporcionan riegos de auxilio en la temporada seca, por lo que su comportamiento se asemeja a los ecotipos de trópico húmedo. Esta explicación sobre el grado de evolución concuerda con Moreno-Casasola (1996) quien indica que la germinación rápida y homogénea de semillas de plantas silvestres, es más bien una rara excepción que una regla general.

4.3.2. Velocidad de Germinación

En el Cuadro 9, se aprecia que existieron diferencias estadísticas altamente significativas ($P \leq 0.0001$), para ecotipos y tratamientos, lo que implica que al menos uno de los ecotipos y tratamientos pre-germinativos, promovió un efecto diferente a los demás en la velocidad de germinación, pero lo más sobresaliente, es que la interacción ecotipo*tratamiento también resultó significativa ($P \leq 0.005$),

esto indica que al menos una de las interacciones tuvo un efecto diferente de las demás en la variable respuesta y por lo tanto, resta importancia al estudio de los factores principales por separado; por lo anterior se procedió a realizar la comparación múltiple de medias, sólo para la interacción de los dos factores principales (Cuadro10) mediante la prueba de Tukey.

En el Cuadro 10, se observa que al igual que el porcentaje de germinación, la velocidad de germinación de las semillas, estuvo influenciada favorablemente por la interacción entre el ecotipo Amarillo Oaxaca y el Testigo (semilla extraída del endocarpio sin ningún tratamiento pre-germinativo), pues fue estadísticamente significativo de acuerdo con la prueba de Tukey, y también obtuvo el mayor promedio de semillas germinadas por día (1.96); esto nuevamente permite inferir que las semillas de nanche tienen potencial para germinar y que el endocarpio representa una barrera mecánica importante, que no sólo limita el porcentaje de germinación, sino también la velocidad con la que ésta ocurre, esto explica en parte los bajos porcentajes de germinación y el amplio periodo en el que se presenta en condiciones naturales (García-Núñez *et al.*, 2001).

Por otro lado, las interacciones del ecotipo Semi-cultivado con 10 y 15 días de estratificación así como la combinación del Amarillo silvestre con 10 días de estratificación, fueron los tratamientos que menos estimularon la velocidad de germinación de las semillas de los ecotipos evaluados (Cuadro 10), con esto se evidencia que el mayor problema para la germinación de las semillas de los ecotipos de nanche evaluados, no es de tipo fisiológico.

El comportamiento que mostraron las semillas probablemente obedece a diversas circunstancias: en primer lugar, puede ser resultado de la composición genética, pues el vigor es una característica altamente heredable, otro factor que pudo influir, es el estado nutricional de la planta madre, ya que una planta con deficiencias nutrimentales, con frecuencia es susceptible al ataque de plagas y enfermedades y esto influye en el tamaño y vigor final de la semilla; un aspecto que también pudo contribuir a la disparidad en la velocidad de germinación, es el estado de madurez que la semilla de cada ecotipo haya alcanzado al momento de la recolección, ya que el máximo potencial de germinación y vigor de una semilla,

se presenta cuando ésta alcanza su madurez fisiológica; igualmente importante, es el papel que pudo desempeñar el posible daño mecánico que se haya provocado en la semilla al momento de extraerla del endocarpio, lo que posiblemente ocasionó la disminución del vigor además de propiciar susceptibilidad al ataque por organismos patógenos (Hampton, 2002).

4.4. Prueba de Germinación Estándar con Semillas dentro del Endocarpio

4.4.1. Porcentaje de Germinación

En el Cuadro 11 se presenta el análisis de varianza efectuado, con $\alpha \leq 0.05$ para esta variable fisiológica.

Cuadro 11. Cuadrados medios y significancia estadística, para las variables fisiológicas evaluadas, en semillas de nanche dentro del endocarpio, 120 días después de la siembra en laboratorio.

F.V.	G.L	Porcentaje de germinación	Velocidad de emergencia [†]
Ecotipo	4	0.0070 ***	0.0030 **
Tratamiento	11	0.0040 ***	0.0030 ***
Ecotipo* tratamiento	44	0.0020 ***	0.0010 **
Error	224	0.0008	0.0008
C.V.		5.40	3.47

** = $P \leq 0.001$; *** = $P \leq 0.0001$

[†] = Número de plántulas emergidas por día.

La información del Cuadro 11, muestra que hubo diferencia estadística altamente significativa para los ecotipos y tratamientos pregerminativos evaluados ($P \leq 0.0001$), lo que indica que al menos un tratamiento y un ecotipo produjeron un efecto diferente al de los demás en la variable respuesta, pero lo más importante es que la interacción de los factores principales también fue altamente significativa ($P \leq 0.0001$), por lo que se dio especial atención únicamente a los efectos diferentes que hayan promovido en el porcentaje de germinación, al menos una de las interacciones de los factores principales, y se realizó la prueba de comparación múltiple de medias únicamente para la interacción (Cuadro 12), empleando la prueba de Tukey.

Cuadro 12. Promedios de las variables fisiológicas evaluadas, en semillas de nanche dentro del endocarpio, obtenidos 120 días después de la siembra en laboratorio.

Int.	Descripción	Germinación (%)		Velocidad de emergencia [†]	
		Transformada	Media real	Transformada	Media real
1	AS Testigo	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
2	AS H ₂ SO ₄ 30 min.	0.535	0.98 b	0.791	0.006 b
3	AS H ₂ SO ₄ 60 min	0.535	0.98 b	0.792	0.007 b
4	AS H ₂ SO ₄ 90 min	0.546	1.98 b	0.808	0.022 b
5	AS HCl 30 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
6	AS HCl 60 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
7	AS HCl 90 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
8	AS NaOH 24 h	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
9	AS NaOH 36 h	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
10	AS Est. 2 semanas	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
11	AS Est. 4 semanas	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
12	AS Est. 6 semanas	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
13	V Testigo	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
14	V H ₂ SO ₄ 30 min.	0.535	1.94 b	0.802	0.017 b
15	V H ₂ SO ₄ 60 min	0.546	2.98 b	0.822	0.036 b
16	V H ₂ SO ₄ 90 min	0.546	2.94 b	0.822	0.036 b
17	V HCl 30 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
18	V HCl 60 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
19	V HCl 90 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
20	V NaOH 24 h	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
21	V NaOH 36 h	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
22	V Est. 2 semanas	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
23	V Est. 4 semanas	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
24	V Est. 6 semanas	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
25	SM Testigo	0.535	0.98 b	0.788	0.003 b
26	SM H ₂ SO ₄ 30 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
27	SM H ₂ SO ₄ 60 min	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
28	SM H ₂ SO ₄ 90 min	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
29	SM HCl 30 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
30	SM HCl 60 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
DMS		0.0851		0.0812	

Medias con la misma letra, no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha = 0.05$)

[†] = Número de plántulas emergidas por día; Int = Número de la interacción de factores.

Cuadro 12. Continuación...

Int.	Descripción	Germinación (%)		Velocidad de emergencia [†]	
		Transformada	Media real	Transformada	Media real
31	SM, HCl 90 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
32	SM, NaOH 24 h	0.568	4.82 b	0.833	0.048 b
33	SM, NaOH 36 h	0.578	3.89 b	0.825	0.040 b
34	SM, Est. 2 sem.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
35	SM, Est. 4 sem.	0.535	0.98 b	0.792	0.006 b
36	SM, Est. 6 sem.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
37	AO, Testigo	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
38	AO, H ₂ SO ₄ 30 min.	0.702	16.74 a	0.925	0.137 a
39	AO, H ₂ SO ₄ 60 min	0.546	0.98 b	0.797	0.012 b
40	AO, H ₂ SO ₄ 90 min	0.567	1.98 b	0.809	0.024 b
41	AO, HCl 30 min.	0.546	1.94 b	0.803	0.017 b
42	AO, HCl 60 min.	0.535	0.98 b	0.797	0.012 b
43	AO, HCl 90 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
44	AO, NaOH 24 h	0.590	3.96 b	0.832	0.047 b
45	AO, NaOH 36 h	0.557	1.94 b	0.805	0.020 b
46	AO, Est. 2 sem.	0.535	1.94 b	0.805	0.019 b
47	AO, Est. 4 sem.	0.535	0.98 b	0.794	0.009 b
48	AO, Est. 6 sem.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
49	C, Testigo	0.546	0.98 b	0.798	0.013 b
50	C, H ₂ SO ₄ 30 min.	0.557	4.95 b	0.834	0.048 b
51	C, H ₂ SO ₄ 60 min	0.557	2.94 b	0.816	0.030 b
52	C, H ₂ SO ₄ 90 min	0.579	5.91 b	0.835	0.049 b
53	C, HCl 30 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
54	C, HCl 60 min.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
55	C, HCl 90 min.	0.546	1.94 b	0.800	0.015 b
56	C, NaOH 24 h	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
57	C, NaOH 36 h	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
58	C, Est. 2 sem.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
59	C, Est. 4 sem.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
60	C, Est. 6 sem.	0.524	0.00 b	0.785	0.000 b
DMS		0.0851		0.0812	

Medias con la misma letra, no son estadísticamente diferentes (Tukey $\alpha = 0.05$)

[†] = Número de plántulas emergidas por día. Int = Número de interacción de factores.

Los resultados de la comparación de medias (Cuadro 12), evidencian que la interacción Amarillo Oaxaca con Ácido Sulfúrico al 97 % durante 30 minutos, tuvo la mejor germinación de semillas dentro del endocarpio (16.74 %) y resultó estadísticamente significativo en la prueba de Tukey; esto posiblemente obedece a que los endocarpios de éste, fueron menos duros y gruesos que los de los ecotipos Amarillo silvestre, Verde y Semi-cultivado; en el caso del ecotipo Canelo, aunque no fue estadísticamente significativa ninguna de las interacciones, es conveniente mencionar que numéricamente, los tratamientos con Ácido Sulfúrico también estimularon la germinación en grado importante, pues este ecotipo presentó los endocarpios más delgados y suaves; esto a la vez pudo ser una desventaja ante la aplicación de los agentes químicos escarificadores, porque existe la probabilidad de que en algunos endocarpios las sustancias aplicadas hayan penetrado y dañado al embrión, lo que puede explicar la diferencia de porcentajes de germinación obtenidos entre el ecotipo Canelo y el Amarillo Oaxaca.

Para el caso del Hidróxido de Sodio (sosa cáustica) durante 24 horas, su efecto favorable se notó en los ecotipos Amarillo Oaxaca y Semi-cultivado, lo que seguramente se debe a que los endocarpios no son muy duros (Cuadro 15), pero produjo menos germinación en el Semi-cultivado que en el Amarillo Oaxaca, esto posiblemente se debió a que éste último, es más duro que el Amarillo Oaxaca; en cambio la aplicación de Hidróxido de Sodio (sosa cáustica) durante 36 horas produjo el efecto inverso en estos dos ecotipos, estimuló la germinación tanto en el Amarillo Oaxaca como en el Semi-cultivado, pero generó un porcentaje de germinación mayor en el Semi-cultivado, quizá porque el endocarpio del Amarillo Oaxaca es más blando que el Semi-cultivado; cabe también la posibilidad de que la sosa haya penetrado y dañado los embriones del Amarillo Oaxaca, sin embargo en el Semi-cultivado por tener el endocarpio más duro y grueso, el efecto favorable fue más notorio.

En lo que respecta al Testigo, el mejor porcentaje de germinación se obtuvo en el Canelo, este ecotipo tuvo el endocarpio más blando y menos grueso que los demás (Cuadro 12), lo que facilitó la protrusión de la radícula; el Semi-cultivado también logró germinación, y en este caso también el endocarpio fue menos duro

que en los ecotipos silvestres; los ecotipos que reaccionaron positivamente a la escarificación con Ácido Clorhídrico fueron el Canelo a 90 minutos y el Amarillo Oaxaca a 60 minutos de inmersión.

Por el comportamiento que mostró el germoplasma, se infiere que las características morfológicas del endocarpio del fruto que contiene a las semillas (espesor y dureza principalmente) de la especie estudiada, tienen relación con la dificultad de las semillas para germinar de manera natural (García-Núñez *et al.*, 2001), y que ésta se elimina o disminuye cuando los endocarpios se someten a escarificación química, siendo más notorio el efecto a medida que el agente químico escarificador es más corrosivo, como es el caso del Ácido Sulfúrico concentrado durante 30 minutos, que si bien es cierto, el mismo ácido a 60 y 90 minutos de inmersión provocó un efecto favorable para la germinación en algunos ecotipos (Amarillo Silvestre, Verde y canelo), estadísticamente no fue significativo, por lo anterior, es conveniente entonces conocer la dureza y el espesor de los endocarpios, para elegir el tiempo de inmersión que producirá el mejor efecto en la variable respuesta.

En general la germinación de las semillas dentro del endocarpio fue muy baja (fluctuó entre cero y 16.74 %), esto coincide con lo que han obtenido algunos autores como Francis (1990) quien reporta porcentajes de germinación de cero a 15 %, mientras que, Camino (1998) obtuvo 8.9 % de germinación en el testigo; así también Laskowski y Bautista (2002) reportan que la germinación fue de 12 %. Los porcentajes de germinación bajos son quizá producto del componente genético, las condiciones ambientales que prevalecen en los sitios geográficos donde prospera la especie, pues al respecto, Copeland y McDonald (2001) mencionan que aunque las características germinativas se atribuyen en gran medida al componente genético, las condiciones del entorno a las que está sujeta la planta progenitora influyen en el tipo y grado de letargo que las semillas manifiesten. Por su parte, Besnier (1989) argumenta que las condiciones ambientales en las que madura la semilla, influyen más en la latencia dependiente de las cubiertas (endocarpio) que en la latencia del embrión. Atendiendo a lo que mencionan estos autores, lo cual fue corroborado con los datos de caracterización morfológica (Cuadro 13), se infiere que las semillas de

los ecotipos Amarillo silvestre y Verde por desarrollarse en condiciones de trópico seco donde las temperaturas son altas y la humedad relativa es baja, la latencia impuesta por el endocarpio, representa un mayor problema que en el caso de los ecotipos provenientes de trópico húmedo, por lo que es lógico esperar germinaciones menores en los ecotipos de trópico seco; además de esto, como ya se mencionó, los ecotipos de trópico húmedo están más evolucionados que los de trópico seco, lo que marca diferencias a favor de los de trópico húmedo. También cabe la posibilidad de que dentro de un mismo ecotipo existan circunstancias distintas en cuanto a latencia, que permitan o restrinjan la ocurrencia de la germinación como lo reportan Carvalho y Nacimiento (2008), ellos encontraron que en el germoplasma de murici cultivar Açú, existen endocarpios que no imponen restricción mecánica a la semilla y que ésta no posee latencia fisiológica, por lo que puede germinar sin necesidad de ningún tratamiento pre-germinativo; encontraron un segundo grupo, donde el endocarpio si opone resistencia mecánica y la semilla no tiene latencia fisiológica; el tercer grupo de endocarpios, corresponde a los que presentan semillas con latencia fisiológica y que además el endocarpio representa una barrera mecánica, y el cuarto grupo, involucra a los endocarpios que oponen una importante restricción mecánica y que además las semillas presentan latencia fisiológica. En el caso que nos ocupa, la germinación en laboratorio se detuvo a los tres meses de establecido el experimento, tiempo durante el cual había ocurrido germinación de semillas de algunos ecotipos. La detención de la germinación sugiere la posibilidad de latencia secundaria o adquirida como respuesta a algún factor ambiental desfavorable para la germinación (Bewley y Black, 1994; Moreno-Casasola, 1996; Fenner, 2000; Dias, 2005; Bradford y Nonogaki, 2007).

4.4.2. Velocidad de Emergencia

La información del Cuadro 11, muestra que hubo diferencia estadística altamente significativa entre los ecotipos ($P \leq 0.001$) y tratamientos pre-germinativos evaluados ($P \leq 0.0001$), lo que indica que al menos un tratamiento y un ecotipo produjeron un efecto diferente al de los demás en la variable respuesta, pero lo más sobresaliente es que la interacción de los factores principales también fue altamente significativa ($P \leq 0.001$), por lo que se dio

especial atención a los efectos diferentes que hayan promovido en la velocidad de emergencia, al menos una de las interacciones de los factores principales, y se realizó la comparación múltiple de medias únicamente para la interacción (Cuadro 12), mediante la prueba de Tukey.

La velocidad de emergencia que mostraron las semillas de nanche dentro del endocarpio (Cuadro 12), fue casi imperceptible, obteniéndose el mejor efecto, con la interacción Amarillo Oaxaca y Ácido Sulfúrico al 97 % durante 30 minutos (0.137 plántulas emergidas por día). Por el contrario, las interacciones restantes estadísticamente promovieron el mismo efecto en la variable respuesta, éste fluctuó entre cero y 0.049 plántulas emergidas por día.

El comportamiento que mostraron las semillas de los diferentes ecotipos, puede obedecer a diversas circunstancias como ya se abordaron en el apartado de porcentaje de germinación, resaltando entre las más importantes, las diferentes características morfológicas del endocarpio de cada ecotipo (dureza, espesor, número de semillas por endocarpio, número de semillas vanas entre otros), aunque también existe la posibilidad de que el amplio periodo en el que ocurre la germinación, sea una característica propia de la especie y en general de la familia Malpighiaceae a la que pertenece el nanche, tal como lo reportan algunos autores (Campos, 1987; Francis, 1990; Villachica, 1996; Camino, 1998; García- Núñez *et al.*, 2001; Laskowski y Bautista, 2002; Vaquero, 2005; Jaimes, 2006; Carvalho y Nascimento, 2008), y quizá también influya el que en el mismo ecotipo puedan existir grupos diferentes de semillas latentes, como lo mencionan Carvalho y Nascimento (2008). Es factible pensar en que esta posibilidad existe, pues los endocarpios de los ecotipos con los que se experimentó presentan dureza y espesor variable (Cuadro 13). Por otro lado, es importante mencionar que la velocidad de emergencia es una prueba para evaluar el vigor de las semillas (Ana, 2001), por lo que en este contexto, es valioso considerar que el comportamiento mostrado por el germoplasma de nanche, puede obedecer a las características genéticas de cada ecotipo, a las condiciones nutricionales de la planta madre, al estado de madurez de la semilla en el momento de la recolección del fruto, a la condición física e integridad de la semilla, y a la presencia de patógenos. Todos los aspectos mencionados repercuten directamente sobre el

vigor de la semilla, que en la práctica, la disminución de éste, se manifiesta en porcentajes y velocidades de germinación bajos, semillas y plántulas susceptibles al ataque de microorganismos entre otros (Copeland y McDonald 2001); también puede ser relevante el papel que desempeña el grado de evolución de las semillas de cada ecotipo, o bien, el comportamiento del material genético puede ser consecuencia primordialmente de la variabilidad genética producida en la especie como resultado de la reproducción sexual y la polinización cruzada natural que ocurre en la especie (Nava y Uscanga, 1980; Agusti, 2004).

4.5. Características Morfológicas de Fruto y Semilla de cinco Ecotipos de Nanche, Relacionadas con la Capacidad Germinativa

Desde los inicios de la investigación, se plantearon hipótesis que sostienen la posibilidad de que algunos caracteres morfológicos de fruto y semilla de nanche (Cuadro 13), están relacionados con el comportamiento germinativo de esta especie.

Cuadro 13. Variables cuantitativas y cualitativas de endocarpio y semilla de cinco ecotipos de nanche, relacionadas con la germinación de sus semillas.

Variables	E	C	O	T	I	P	O
	AS	V	SM		AO		C
EE	1.5	1.6	1.6		1.4		1.1
DE	Muy duro	Muy duro	Duro		Ligeramente suave		Suave
NTS	17	16	25		52		41
NSV	2.31	2.38	2.04		0.91		1.40

AS = Amarillo silvestre; V = Verde; SM = Semicultivado; AO = Amarillo Oaxaca; C = Canelo; EE = Espesor del endocarpio (mm); DE = Dureza del endocarpio; NTS = Número de semillas en 25 endocarpios; NSV = Número de semillas vanas por endocarpio.

Del Cuadro 13, se puede resaltar lo siguiente: para el caso de los ecotipos Amarillo silvestre y Verde procedentes de trópico seco, si bien tienen el mismo grado de dureza, el espesor del endocarpio es ligeramente mayor en el Verde, lo cual le daría mayores posibilidades al Amarillo silvestre para lograr la protrusión

de la radícula durante la germinación, sin embargo, al analizar el número de semillas promedio en 25 endocarpios y el promedio de semillas vanas, se observa que el Verde tiene menor número de semillas en 25 endocarpios y además tiene más semillas vanas; en general de la comparación de estos dos ecotipos, se explica el porque se tuvo un comportamiento en la germinación muy parecido (Cuadro 13). Por otro lado, al comparar los ecotipos Amarillo Oaxaca y Canelo procedentes de trópico húmedo, se observa que el grado de dureza y el espesor del endocarpio son diferentes, pues en el Amarillo Oaxaca es más duro y más grueso que en el Canelo (Cuadro 13); esto significa ventaja en apariencia para el Canelo, por lo que se esperaría que en este último, la germinación ocurriera sin mayor problema, por su menor grosor y suavidad de endocarpio que el de el Amarillo Oaxaca, sin embargo el porcentaje de germinación y la velocidad de emergencia del Amarillo Oaxaca, superaron notablemente al Canelo (Cuadro 12), quizá ocurrió así debido a que el ecotipo Canelo tuvo menor cantidad de semillas y mayor proporción de vanas que el Amarillo Oaxaca. Respecto al ecotipo Semi-cultivado, sigue manteniendo un comportamiento intermedio y con tendencia a parecerse a los ecotipos de trópico húmedo. Los datos anteriores reflejan la gran variabilidad de características morfológicas que posee cada ecotipo y probablemente a esto y otros factores se deben las respuestas tan variables que se obtienen en los aspectos de germinación y vigor, siendo los factores principales, la variabilidad genética que encontramos, la propagación por semilla y la polinización cruzada natural que ocurre en la especie, y al parecer en la familia Malpighiaceae en general (Nava y Uscanga, 1980; Laskowski y Bautista, 2002; Agusti 2004).

La información contenida en el Cuadro 13, se complementa con la del Cuadro 14 (los datos presentados son un extracto del cuadro 2A), donde se correlacionan 27 de las 33 variables cuantitativas evaluadas en la fase de caracterización, con la viabilidad, el porcentaje y la velocidad de germinación y emergencia, que mostraron las semillas de nanche fuera y dentro del endocarpio.

Cuadro 14. Correlación entre 27 variables cuantitativas de planta, hoja, fruto y semilla con la viabilidad, porcentaje y velocidad de germinación y emergencia de las semillas fuera y dentro del endocarpio.

VFi \ VMo	% GE		% GS		VGE		VGS		VIA	
	<i>r</i>	P	<i>r</i>	P	<i>r</i>	P	<i>r</i>	P	<i>r</i>	P
TM	-		-		-		-		0.628	0.003**
PP	-		-		-		-		0.628	0.003**
AA	-		-		-		-		0.571	0.009**
LH	-		-		-		-		0.598	0.005**
AH	-		-		-		-		0.575	0.008**
PTF	-		-		-		-		0.576	0.008**
PF	-		-		-		-		0.576	0.008**
VTF	-		-		-		-		0.568	0.009**
VF	-		-		-		-		0.568	0.009**
DEF	-		-		-		-		0.644	0.002**
PM	-		-		-		-		0.576	0.008**
VM	-		-		-		-		0.571	0.009**
EM	-		-		-		-		0.652	0.002**
PTE	-		-0.529	0.016*	-		-0.538	0.014*	-	
PE	-		-0.529	0.016*	-		-0.538	0.014*	-	
EE	-		-		-0.482	0.031*	-		-0.795	0.000**
NTS	-		0.534	0.015*	-		-		0.594	0.006**
NSE	-		0.534	0.015*	-		-		0.594	0.006**
NTV	-		0.534	0.015*	-		-		-0.594	0.006**
NSV	-		0.534	0.015*	-		-		-0.594	0.006**
PTS	-		0.467	0.038*	-		-		0.612	0.004**
PS	-		-		-		-		0.685	0.001**
VTS	-		0.465	0.039*	-		-		0.703	0.001**
VS	-		-		-		-		0.683	0.001**
AS	-		-		-		-		0.743	0.000**
%GE	-		-		0.885	0.000**	-		-	
%GS	-		-		-		0.885	0.000**	-	

VFi = Variable fisiológica; VMo = Variable morfológica caracterizada; % GE = Porcentaje de germinación en endocarpios; % GS = Porcentaje de germinación en semillas; VGE = Velocidad de germinación en endocarpios; VGS = Velocidad de germinación en semillas, VIA = Viabilidad de las semillas; *r* = Coeficiente de correlación; P = Probabilidad; * = Significativo con $P \leq 0.05$; ** = Significativo con $P \leq 0.01$.

En lo que se refiere a la viabilidad (Cuadro 14), se aprecia que tiene correlación positiva altamente significativa ($P \leq 0.01$) con: temperatura, precipitación, altura del árbol, longitud y amplitud de la hoja, peso, volumen y diámetro de fruto, peso, volumen y espesor del mesocarpio, así como con el peso, volumen y ancho de la semilla y el número total de semillas por endocarpio; en contraparte existe una correlación negativa con el espesor del endocarpio,

número de semillas vanas por endocarpio y número de semillas vanas en 25 endocarpios. Con base en estas correlaciones, puede inferirse que los ecotipos que se desarrollan en condiciones climáticas favorables darán origen a endocarpios más delgados con menor dureza, con menor número de semillas vanas y en consecuencia, altos porcentajes de viabilidad, esta situación se constató en las semillas de los ecotipos de Oaxaca, que presentaron altos porcentajes de viabilidad (Cuadro 8).

Por otro lado, el porcentaje de germinación de semillas extraídas del endocarpio, mostró importante correlación positiva con, el número de semillas en 25 endocarpios, número de semillas por endocarpio, número de semillas vanas en 25 endocarpios, número de semillas vanas por endocarpio, peso de las semillas de 25 endocarpios y volumen de las semillas de 25 endocarpios y correlacionó negativamente con el peso de 25 endocarpios y el peso individual del endocarpio.

En cuanto al porcentaje de germinación de las semillas dentro del endocarpio, no presentó correlación con ninguna de las variables morfológicas evaluadas.

Para el caso de la velocidad de germinación de las semillas extraídas de los endocarpios, hubo correlación positiva altamente significativa (0.885^{**}) con el porcentaje de germinación, pero correlacionó de manera negativa con el peso de 25 endocarpios (-0.538^*) y con el peso individual del endocarpio (-0.538^*).

La velocidad de emergencia de las semillas dentro del endocarpio, correlacionó positivamente con el porcentaje de germinación (0.885^{**}), y muestra correlación negativa con el espesor del endocarpio (-0.482^*).

En resumen, puede decirse que la capacidad germinativa de las semillas de nanche, está determinada en gran medida por las condiciones climáticas donde crece la planta madre, mismas que influyen en la morfología de fruto y semilla, y ésta a su vez, limita o favorece la germinación, dependiendo del ambiente donde se hayan desarrollado.

V. CONCLUSIONES

1. Los cinco ecotipos de nanche evaluados, pertenecen a una sola especie *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth.
2. El nanche presenta amplia variabilidad genética, atribuible a la diversidad ambiental (climática y edáfica principalmente) que prevalece en el territorio mexicano.
3. El espesor y dureza del endocarpio, número de semillas por endocarpio, el número de semillas vanas por endocarpio y el peso de la semilla, de los ecotipos de nanche evaluados, se relacionan con la capacidad germinativa que presenta la especie.
4. Las semillas de los ecotipos de nanche estudiados, presentaron latencia primaria impuesta por el endocarpio duro y grueso que las contiene.
5. La latencia de las semillas de los ecotipos con los que se experimentó, se elimina mediante escarificación mecánica.
6. El mejor tratamiento para promover la germinación de las semillas de nanche dentro del endocarpio, es la escarificación química con ácido sulfúrico.
7. El ecotipo que mejor comportamiento germinativo presentó fue el Amarillo Oaxaca.
8. Los ecotipos provenientes de trópico seco presentaron endocarpios más duros y gruesos, así como menor número de semillas por endocarpio y mayor proporción de semillas vanas que los de trópico húmedo.
9. La germinación de nanche con semillas extraídas del endocarpio, es muy susceptible al ataque de microorganismos (bacterias y hongos).

VI. RECOMENDACIONES

Para futuras investigaciones se sugiere:

1. Efectuar una prueba de tolerancia a la desecación y deterioro fisiológico, en semillas de nanche, para clasificarlas dentro de la categoría que corresponda (ortodoxa o recalcitrante); se sugiere emplear diferentes tipos de envases como: frascos de vidrio, bolsas de papel, bolsas de tela, entre otros.
2. Con la finalidad de continuar investigando la causa de los bajos porcentajes de germinación obtenidos por la mayoría de los autores, se propone evaluar la capacidad germinativa empleando diferentes sustratos como: arena de río esterilizada, aserrín, musgo y suelo proveniente del mismo sitio donde prospera de manera natural la especie, y combinarlos con tratamientos pregerminativos a base Ácido Giberélico, a concentraciones inferiores a 250 mg l^{-1} seguido de la fractura del endocarpio, remojo en agua de los endocarpios durante 24 horas, previo a la siembra, remojo de los endocarpios en agua durante 24 horas, con la consecuente fractura de éste.
3. Establecer pruebas de germinación con las semillas dentro del endocarpio, para evitar daño al embrión al momento de extraerlas, ya que esto reduce el vigor, y repercute en el porcentaje y velocidad de germinación, así como en la proliferación de microorganismos.
4. Las pruebas pueden establecerse en laboratorio o invernadero, pero debe mantenerse un estricto control de las condiciones ambientales, especialmente de la temperatura y la humedad, para evitar la detención de la germinación.
5. Para la desinfección de los materiales a utilizar en la prueba de germinación, se sugiere usar soluciones de Hipoclorito de Sodio más concentradas, para garantizar la prevención de problemas fitosanitarios, que limitan el potencial germinativo de las semillas.

VII. LITERATURA CITADA

- Abadie, T. y A. Berretta. 2001.** Caracterización y evaluación de recursos fitogenéticos. *In: estrategia en recursos fitogenéticos para los países del cono sur.* Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. IICA. San José, Costa Rica. pp. 91-100.
- Agusti, M. 2004.** Fruticultura. Ediciones Mundi-prensa, México, D. F. 493 p.
- Ana, D. L. L. 2001.** Evaluación de la calidad de las semillas. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml> Consultado el 20 de junio de 2009.
- Argueta, V. A., Cano A., L. M.; Rodarte M. E. 1994.** Atlas de las plantas de la medicina tradicional Mexicana II. Instituto Nacional Indigenista. México. D. F., pp. 1032-1033.
- Audesirk, T. G.; Audesirk; B. E. Byers; H. J. Escalona G. y R. L. Escalona G. 2003.** Biología: La vida en la tierra. 6ª Edición. Pearson Educación. 889 p.
- [http://books.google.com.mx/books?id=uO48-
=book_result&ct=result&resnum=6](http://books.google.com.mx/books?id=uO48-
=book_result&ct=result&resnum=6) Consultado el 16 de junio de 2009.
- Avitia, G. E. y A. M. Castillo G. 2001.** Taxonomía y nomenclatura de especies frutícolas. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 61 p.
- Azcon-Bieto J. y M. Talón. 2000.** Fundamentos de Fisiología vegetal. Ediciones Universitarias de Barcelona. Barcelona, España. 522 p.
- Baskin, J. and C. Baskin. 2004.** A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research.* 14:1-6.
- Basra, A. S. 1995.** Seed quality: basic mechanism and agricultural implications. Food products Press. New York, USA. 83 p.
- Basu, R. N. 1995.** Seed viability. *In: Seed quality; basic mechanism and agricultural implications.* A. S. Basra. (ed.). Food Products Press, New York, USA. pp: 1-44
- Bayuelo-Jiménez, J. S.; J. C. Lozano R. and I. E. Ochoa. 2006.** Caracterización morfológica de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth nativa de Churumuco, Michoacán, México. *Revista Fitotecnia Mexicana.* 29(2): 31-36.

- Bejar, E. and M. H. Malone. 1993.** Farmacological and chemical screening of *Byrsonima crassifolia*, a medical tree of Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* 39(2): 141-158.
- Besnier, R. F. 1989.** Semillas Biología y Tecnología. Mundi-Prensa. Madrid, España. 637 p.
- Bewley, J. D. and M. Black. 1994.** Seeds: Physiology of Development and germination Second Ed. Plenum Press. New York, USA. 445 p.
- Bewley, J. D. 1997.** Seed germination and dormancy. *The plant cell.* 9 (7): 1055-1066.
- Borys M. W.; Leszczńska-Borys H. 2001.** El potencial genético frutícola de la República Mexicana. Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S. C. Coatepec Harinas, Estado de México. 99 p.
- Box, G. E. P.; W. G. Hunter y J. S. Hunter. 2001.** Estadística para investigadores, Introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y construcción de modelos. 2ª reimpresión. Reverte. Barcelona, España. 675 p.
- Bradford, K. and H. Nonogaki. 2007.** Seed Development, Dormancy and Germination. *Annual Plant Review.* Vol. 27. Editorial Blackwell Publishing LTD. Oxford, UK. 392 p.
- Camino, J. 1998.** Ensayos para mejorar la germinación del nance *Byrsonima spp.* Tesis de Licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras. 14 p.
- Campbell, R. J. 1996.** South American fruits deserving further attention. *In:* J. Janick (ed.), *Progress in new crops.* ASHS Press. Arlington, VA. USA. pp. 431-439.
- Camacho, M. F. 1994.** Dormición de semillas: causas y tratamientos. Trillas. México, D. F. 125 p.
- Campos, A. J. 1987.** La changunga (*Byrsonima crassifolia* L.). *Revista de Fruticultura del estado de Michoacán* 2(14): 35-42.
- Carvalho, José Edmar Urano de y Nascimento, Walnice Maria Oliveira do 2008.** Caracterização dos pirênios e métodos para acelerar a germinação de sementes de muruci do clone Açú. *Rev. Bras. Frutic.* [online]., vol.30, n.3 pp. 775-781. Disponible en: <<http://www.scielo.br/scielo.php?>> Consultado el 07 de abril de 2009.

- Castillo, M. L. E. 2000.** Introducción a la Estadística Experimental. Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, México. 263 p.
- Cavalcante, P. B. 1996.** Frutas Comestíveis da Amazonia. Museu Paraense Emilio Goeldi. Colecao Adolpho Ducke. Belem-Pará, Brasil. 279 p.
- Copeland, O. L. and M. B. McDonald. 2001.** Principles of Seed Science and Technology. 4th edition. Kluwer Press. New York. USA. 488 p.
- Cordero, J. y H. Boshier (eds.). 2003.** Árboles de Centroamérica. Un Manual para Extensionistas. Instituto Forestal de Oxford-CATIE. San José, Costa Rica. 1079 p.
- Cordovil, B. R. M. e L. A. Pezón. 2006.** Biología floral e sistema reproductivo de *Byrsonima coccolobifolia* (Kunth) em uma savana amazonica. Acta amazonica 36(2): 159-168.
- Crisci, J. V.; López, A. M, F. 1983.** Introducción a la Teoría y Práctica de la Taxonomía Numérica. Secretaría General de la Organización de los Estados Unidos Americanos. Washington, D. C. , U. S. A. 132 p.
- Cuenca, G.; Zita D. A.; Milagros I.; Laurie F.; Erasmo M.; Milagro M. y Rubén M. 2003.** Pre-selección de plantas nativas y producción de inóculos de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) de relevancia en la rehabilitación de áreas degradadas de la gran sabana, Estado Bolívar, Venezuela. Ecotrópicos 16(1):27-40. Sociedad Venezolana de Ecología.
- Delouche, C. J. 2002.** Germinación, deterioro y vigor de semillas. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml> Consultado el 15 de junio de 2009.
- Delouche, C. J. 2005.** Calidad y desempeño de la semilla. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml> Consultado el 15 de junio de 2009.
- Dias, D. C. F. S. 2005.** Dormancia en semillas. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml> Consultado el 17 de junio de 2009.
- Dias, D. C. F. S. 2001.** Maduración de la semilla. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml> Consultado el 17 de junio de 2009.

- Díaz-Montenegro, D. H. 2002.** Fisiología de árboles frutales. AGT. Editor. México, D. F. 390 p.
- Dillon, W. R. y Goldsten, M. 1984.** Multivariate analysis: Methods and applications. Wiley, Nueva York. 587 p.
- Enríquez, G. 2001.** Descripción y evaluación de los recursos genéticos. *In:* Técnicas para el manejo y uso de recursos genéticos vegetales. Castillo, R. y Estrella, J. Tapia, C (eds.). Editorial Porvenir. Quito, Ecuador. pp. 116-160.
- Estrella, E. J. E., M. Rosana; J. Mariaca y M. Ribadeneira. 2005.** Biodiversidad y Recursos Genéticos: una guía para su uso y acceso en el Ecuador. Abya Yala. Quito, Ecuador. 116 p.
- Fenner, M. (ed). 2000.** Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. 2^a edition. CAB International. Oxon, UK. 410 p.
- Filho, M. J. 2002.** Probando el vigor de las semillas. Seed news 6: 8-9
- Flores, H. A. 2004.** *Introducción a la tecnología de las semillas. Universidad Autónoma Chapingo. Unidad Regional de Zonas Áridas. Chapingo, México. 160 p.*
- Francis, J. K. 1990.** [(*Byrsonima spicata* Cav.) H.B.K.] Maricao. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. New Orleans, LA: USA .5 p.
- García, E. 1988.** Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. Universidad Nacional autónoma de México. México, D. F. 217 p.
- García-Núñez, C.; A. Azócar and J. F. Silva. 2001.** Seed production and soil seed bank in three evergreen woody species from a neotropical savanna. Journal of Tropical Ecology 17: 563-576.
- García-Núñez, C. y A. Azócar. 2004.** Ecología de la regeneración de árboles de la sabana. Ecotropicos 17(1-2): 1-24.
- García, R. M. A. y García C., J. M. 1992.** “Contribución al estudio etnobotánico del nanche *Byrsonima* spp., distribución geográfica y alternativas de conservación de su plasma germinal”. Tesis de Licenciatura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 139 p.
- Gárriz, P.I. 1986.** Estudio de algunos caracteres morfológicos del nanche (*Byrsonima crassifolia* L.). Revista Centro Agrícola. 8(4): 82-91.

- Gentry, A. H. 1996.** A field guide to the families and genera of woody plants of northwest South America (Colombia, Ecuador, Perú) with supplementary notes on herbaceous taxa. The University of Chicago, Press. U.S.A. pp: 574-581.
- González-Andrés, F. 2001.** Caracterización morfológica. *In*: Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos. González-Andrés, F.; Pita V., J. M. (eds). Publicaciones Instituto Nacional de Educación Agrícola. Valladolid, España. pp. 199-217.
- Grande, D.; G. Pérez; H. Lozada; M. Maldonado; J. Nahed and F. Pérez-Gil. 2004.** Characterization of tree species in silvopastoral systems in the mountain region of Tabasco, Mexico. *Ciencia e Agrotecnología* 28(5): 876-887.
- Guadarrama, A. P. 2000.** Contribución al estudio etnobotánico de *Malpighia mexicana* Jussieu, distribución geográfica y germinación. Tesis de Licenciatura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 67 p.
- Guerrero, M. H. M. 1993.** “Estudio preliminar sobre escarificación en nanche (*Byrsonima crassifolia* L.). Tesis de Licenciatura. Departamento de Fitotecnia. Universidad autónoma Chapingo. Chapingo, México. 43 p.
- Guízar, N. E. y A. Sánchez V. 1991.** Guía para el conocimiento de los principales árboles del Alto Balsas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 207 p.
- Hair, J. F. Anderson; Anderson, R. E., Tatham, R. L.; y Black, W. C. 1992.** Multivariate data analysis. Mcmillan Publ. Co. Nueva York. 544 p.
- Hampton J. G. 2001.** ¿Que significa calidad de semillas?. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml> . Consultado el 15 de junio de 2009.
- Hampton, J. G. 2002.** What is seed Quality?. *Seed Sci.. and Technology*. 30: 1-10.
- Hartman, T. H. y D. E. Kester. 2001.** Propagación de plantas: principios y prácticas. 8ª reimpresión. Editorial continental. México, D. F. 760 p.
- Harvey, B. M. R. and A. Oaks, 1974.** The role of AG₃ in the hidrólisis of endosperms reserves in *Zea mays*. *Planta*. 121: 67-74.

- Hidalgo, R. 2003.** Variabilidad Genética y Caracterización de especies vegetales. pp. 2-26. *In: Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos.* Franco, T. L. y R. Hidalgo. (eds.). Boletín Técnico No. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). 1998.** Cartas temáticas escala 1:50,000 E14A56 "Tejupilco de Hidalgo, Estado de México" y E14B89 "San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca".
- INIFAP. 1996.** Informe nacional para la conferencia técnica internacional de la FAO sobre los recursos fitogenéticos. México, D. F. 37 p.
- Iriondo, A. J. M. 2001.** Conservación de Recursos Genéticos. *In: Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos.* González- Andrés, F.; Pita V., J. M. (eds). Publicaciones Instituto Nacional de Educación Agrícola. Valladolid, España. pp. 15-32.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2005.** International rules for seed testing. Rules 2005. Zurich, Suiza. 300 p.
- Jaimes, A. C. 2006.** Tratamiento pregerminativo a la semilla de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) y su efecto en la germinación. Tesis de licenciatura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 46 p.
- Jara, N. L. F. 1997.** Secado, Procesamiento y Almacenamiento de semillas forestales. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 139 p. disponible en http://www.google.com.mx/search?hl=es&q=contenido+de+humedad+de+las+semillas&meta=&rlz=1R2GGLL_es&aq=f&og. Consultado el 30 de abril de 2009.
- Juárez, D. J. C. 1998.** La familia Malpighiaceae en el estado de Morelos. Tesis profesional. Universidad autónoma del estado de Morelos. Facultad de Ciencia Biológicas. Cuernavaca, Morelos. 90 p.
- Laskowski, L. y D. Bautista. 2002.** Efecto de la escarificación y profundidad de siembra sobre la germinación y emergencia de *Malpighia emarginata* D C. Bioagro 14(2): 77-83.
- León, J. 2000.** Botánica de los cultivos tropicales. Tercera edición. Colección Libros y materiales Educativos núm., 84. IICA. San José, Costa Rica. 523 p.

- Loaiza, O. R. J. 2004.** Estimulación de la germinación de nance (*Byrsonima crassifolia*) con giberelinas y agua caliente. Tesis profesional. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras. 65p.
- López, J. A, e Hidalgo, M. D. 1994b.** Análisis de conglomerados. En Ato, M. y López, J. J. (eds.). Fundamentos de estadística con Systat. Addison Wesley Iberoamericana. pp 505-532.
- Love, B. and D. Spaner. 2005.** A survey o small-scale farmers using trees in pastures in Herrera Province, Panama. Journal of Sustainable Forestry 20(3): 37-65.
- Maguire, J. D. 1962.** Speed of germination-Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop science. 2: 176-177.
- María, L. L. 2002.** Medidores de humedad. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml> consultado el 18 de junio de 2009.
- Martín, M. I. 2001.** Conservación de Recursos Fitogenéticos. Centro de Recursos Fitogenéticos. Instituto Nacional de Investigación y tecnología Agraria (INIA). Venezuela. 9 p. disponible en: http://www.esporus.org/recursos/articles/agrobiodiversitat/conservacion_rec_fitog_isaura_martin.pdf Consultado el 08 de mayo de 2009.
- Martínez-Moreno, E.; T. Corona-Torres; E. Avitia-García; A. M. Castillo-González; T. Terrazas-Salgado y M. T. Colinas-León. 2006.** Caracterización morfométrica de frutos y semillas de nanche [(*Byrsonima crassifolia* L.)H.B.K.]. Revista Chapingo. Serie Horticultura 12(1): 11-17.
- Martínez, M. E.; H. J., Santiaguillo, F. y J. A. Cuevas, S. 2008.** Principales usos del nanche [(*Byrsonima crassifolia* L.) H.B.K.]. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 57 p.
- Medina-Torres, R; S. Salazar-García y J. R. Gómez-Aguilar. 2004.** Fruit quality indices in eight nance [*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.] selections. HortScience 39(5): 1070-1073.
- Meet Minitab 15 para Windows 2007.** Minitab Inc. Estados Unidos de América. 136 p.
- Moreno, M. E. 1996.** Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 3ª edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 393 p.

- Moreno- Casasola, P. 1996.** Vida y obra de granos y semillas. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 437 p.
- Moreno, G. M. N. 2000.** “El nance [(*Byrsonima crassifolia* L.) H.B.K.] como recurso natural antimicrobiano en enfermedades gastrointestinales y respiratorias”. Universidad de Ciencias y Artes del estado de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. 74 p.
- Muñoz, de Ch. M.; Chávez V., A.; Roldán A., J. A.; Ledesma S., J. A.; Mendoza M., E.; Pérez-Gil R., F. 1996.** Tablas de valor nutritivo de los alimentos. Tercera reimpresión. Instituto Nacional de la Nutrición “Salvador Zubirán”. Editorial Pax. México. D.F. 132 p.
- Nava, K. G. G. y B. Uscanga, M. 1978.** Contribución al estudio de nueve tipos de *Spondia* sp. y 17 tipos de *Byrsonima crassifolia* L. en dos regiones del estado de Veracruz. *In:* CONAFRUT. Memoria del Simposium La investigación, el desarrollo experimental y la docencia. Comisión Nacional de Fruticultura. México. pp: 819-834.
- Nava, K. G. G. y B. Uscanga, M. 1980.** Estudio físico y químico comparativo de 28 tipos de *Byrsonima crassifolia* L. en el estado de Veracruz. Memoria del simposium: La investigación, el desarrollo experimental y la docencia. México. CONAFRUT. pp. 534-546.
- Niembro, R. A.; I. Morato y J. A. Cuevas-Sánchez. 2004.** Catálogo de Frutos y Semillas de Árboles y Arbustos de Valor Actual y Potencial para el Desarrollo Forestal de Veracruz y Puebla. Instituto de Ecología, A. C. Xalapa, Veracruz, México. 928 p.
- Nieto, A. R. (ed). 2007.** Frutales nativos, un recurso fitogenético de México. Universidad autónoma Chapingo. Chapingo, México. 270 p.
- Olivares, E. and E. Peña. 2004.** Fluoride and metals in *Byrsonima crassifolia*, a medicinal tree from the neotropical savannahs. *Intercience* 29(3): 145-152.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 1987.** Especies forestales productoras de frutas y otros alimentos. 3 ejemplos de América Latina. Roma Italia. Disponible en www.metabase.net/docs/magfor/00896.html Consultado el día 6 de abril
- Pennington, T. D. y J. Sarukhán. 2005.** Árboles Tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. Universidad Nacional

Autónoma de México. Instituto de Ecología. Fondo de Cultura Económica. México, D. F. pp: 304-305.

- Peraza-Sánchez, S. R.; S. Poot-Kantun; L. W. Torres-Tapia; F. May-Pat; P. Sima-Polanco and R. Cedillo-Rivera. 2005.** Screening of native plants from Yucatán for anti-*Giardia lamblia* activity. *Pharmaceutical Biology* 43(7): 594-598.
- Pereira, C. N. Franca-Neto, F. C. Krisanowskie y A. a. Henning. 2002.** Nueva metodología para la prueba de tetrazolio en soya. *Seed News* 6: 10-11
- Ríos-Morgan, A.; Corral-Aguayo, R: D.; Ramírez-Padilla, G. D., Camacho-Hernández, I. L.; Delgado-Vargas, F. 2004.** "Fatty acid composition and physicochemical analysis of nance (*Byrsonima crassifolia*)". *In: Resúmenes del Institute of Food Technologist Annual Meeting*. Las Vegas, Nevada, USA. pp 123-128.
- Rivas, M. 2001.** Conservación de recursos fitogenéticos *In situ*. *In: estrategia en recursos fitogenéticos para los países del cono sur*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. IICA. San José, Costa Rica. pp. 65-78.
- SAGARPA. 2005. Siacon. 2005.** Sistema de Información Agropecuaria de Consulta 1980-2005.
- Salisbury, F. B. y C. Ross. 1994.** Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamericana. México. D. F. 759p.
- Salisbury, F. B. y C. Ross, 2000.** Fisiología de las plantas 3. Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental. Paraninfo. Madrid, España. 765 p.
- Sánchez, V. A. 1986.** El nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) y otros elementos reforestadores no convencionales para los trópicos secos. *Revista Chapingo* 11(50-51): 33-41.
- Sauri-Duch, E. 2001.** Frutas exóticas de la Península de Yucatán. Consejo Nacional del Sistema de educación Tecnológica-Instituto Tecnológico de Mérida. Mérida, Yucatán, México. 108 p.
- SAS. Institute Inc. 2001.** SAS/STAT User' guide. Release 9.0 edition. North Carolina, USA.1289 p.
- Seguel, B. I. 2001.** Conservación de recursos fitogenéticos *ex situ*. *In: estrategia en recursos fitogenéticos para los países del cono sur*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. IICA. San José, Costa Rica. pp 79-90.

- Smith, E. P. and Lipkovich, I. A. 2002.** Biplot: complemento de Microsoft office Excel. Departamento de Estadística del Tecnológico de Virginia, USA. Versión electrónica.
- Stevens, W. D; C. Ulloa; A. Pool y M. Montiel. 2001.** Flora de Nicaragua. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis Missouri, U. S. A. 720 p.
- Vallejo, C. F. A. y Estrada, I. E. S. 2002.** Mejoramiento genético de plantas. Universidad Nacional de Colombia. P. no disponible. en: <http://books.google.com.mx/books?id=iTvUXML4-rcC&printsec=frontcover> Consultado el 08 de mayo de 2009.
- Vaquero, B. J. L. 2005.** Estimulación de la germinación de semilla de nance (*Byrsonima crassifolia* L.) con giberelina y agua caliente. Tesis de Licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano, Honduras. 19 p.
- Vázquez-Yáñez, C.; A. I. Bátiz-Muñoz; M. I. Alcocer-Silva; M. Gual-Díaz y C. Sánchez-Dirzo. 1999.** Árboles y Arbustos Potencialmente Valiosos para la Restauración Ecológica y la Reforestación. CONABIO. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F., México. 311 p.
- Vega, E. C.; Patiño, B. F; Rodríguez A. A. 1981.** Viabilidad en semillas en 72 especies forestales tropicales almacenadas al medio ambiente. *In:* Reunión sobre problemas en semillas forestales tropicales. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales (INIF). San Felipe Bacalar, Quintana Roo, México. Publicación especial No. 35: Vol. 1. 325-345.
- Villachica, H. 1996.** Frutales y hortalizas promisorias de la Amazonia. Tratado de cooperación Amazónica. Secretaría Pro Tempore. Lima, Perú. 367 p.
- Williams, L. O. 1981.** The useful plants of Central America. *Ceiba* 24(1-4): 203-204.
- Zorato, F. 2005.** Evolución del Laboratorio de Análisis de Semillas. En línea: <http://www.seednews.inf.br/espanhol/archivo.shtml> Consultado el 15 de Junio de 2009.

VIII. ANEXO



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION Y EXTENSION EN CIENCIAS AGRICOLAS

MEXICO - PUEBLA - SAN LUIS POTOSI - VERACRUZ - TABASCO - CORDOBA - CAMPECHE

BOTÁNICA

Montecillo, Texcoco, Estado de México a 23 de enero, 2009.

DR. GABINO GARCIA DE LOS SANTOS
Profesor Investigador Adjunto
Programa de Semillas
Campus Montecillo
Presente

Por medio de la presente, le informo que he revisado los especímenes del género *Byrsonima* (Malpighiaceae) colectados, prensados y disecados por la Ing. Camelia Jaimes Albitar como parte de su proyecto de investigación de la tesis de Maestría. En base a esta revisión, la comparación de los especímenes con aquellos en el Herbario-Hortorio del Colegio de Postgraduados, la consulta de la literatura relevante y una consulta con el especialista mundial de la familia, Dr. William R. Anderson, del herbario de la Universidad de Michigan, he concluido que todos los ejemplares pertenecen a la especie *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth.

Esta especie es notablemente variable debido a su distribución geográfica desde México y las Antillas hasta Sudamérica, la amplia variedad de condiciones ambientales en donde vive y los efectos de selección informal por el hombre.

Se han nombrado algunas de las variantes como taxones distintas de *B. crassifolia*, pero hasta que haya un estudio riguroso de ellas, se considera que es más aconsejable incluir todos dentro de una sola especie variable, *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth.

Si se necesita más información al respecto, estoy a sus órdenes.

Atentamente,

DR. STEPHEN D. KOCH OLT
Profesor-Investigador Titular
Responsable del Herbario-Hortorio del
Colegio de Postgraduados

c.c.p. Ing. Camelia Jaimes Albitar, Alumna de Maestría en Ciencias. Fruticultura. Presente

Dirección Postal (Mailing adress) Programa de Botánica, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados.
Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, C.P. 56230. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.
Telefono y Fax. D.F. 5804 59 47 ó 01 (595) 952 0247, Conmutador 01 (595) 952 02 00 Exts. 1300 y 1301

IX. APÉNDICE

Cuadro 1A. Pruebas preliminares de escarificación química en endocarpios de cinco ecotipos de nanche.

Tratamiento	Concentración	Periodo de inmersión	Ecotipo	Viable
Ácido sulfúrico	97	90 minutos	Amarillo silvestre	Si
			Verde	Si
			Semicultivado	Si
			Amarillo Oaxaca	Si
			Canelo	Si
Ácido clorhídrico	33	6 horas	Amarillo silvestre	No
			Verde	No
			Semicultivado	No
			Amarillo Oaxaca	No
			Canelo	No
Ácido clorhídrico	33	8 horas	Amarillo silvestre	No
			Verde	No
			Semicultivado	No
			Amarillo Oaxaca	No
			Canelo	No
Ácido clorhídrico	33	10 horas	Amarillo silvestre	No
			Verde	No
			Semicultivado	No
			Amarillo Oaxaca	No
			Canelo	No
Hidróxido de sodio	50	24 horas	Amarillo silvestre	Si
			Verde	Si
			Semicultivado	Si
			Amarillo Oaxaca	Si
			Canelo	Si
Hidróxido de sodio	50	36 horas	Amarillo silvestre	Si
			Verde	Si
			Semicultivado	Si
			Amarillo Oaxaca	Si
			Canelo	Si
Hidróxido de sodio	50	48 horas	Amarillo silvestre	No
			Verde	No
			Semicultivado	No
			Amarillo Oaxaca	No
			Canelo	No

