



**UNIVERSIDAD MICHOACANA  
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA  
EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE BIOLOGÍA**

**Factores que influyen en la viabilidad, germinación  
y establecimiento de *Carpinus caroliniana* Walt.**

**Tesis**

Que presenta:

**BIÓL. ERIKA RODRÍGUEZ NIETO**

como requisito para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Director de Tesis:

Dr. José Arnulfo Blanco García

Co Asesora:

Dra. Mariela Gómez Romero



Morelia Michoacán, Marzo 2019

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada (número: 618626) para la realización de mis estudios de posgrado.

A la Facultad de Biología, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, que durante dos años fue mi casa de estudios. Por permitirme realizar mi trabajo de campo en la Estación Biológica Vasco de Quiroga.

Al Laboratorio del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad de la UNAM, campus Morelia, por facilitar la infraestructura para la realización de los experimentos de laboratorio.

Al Laboratorio de Análisis y Síntesis Ecológica, y a la Coordinación de la Investigación Científica por el financiamiento otorgado para la realización de este proyecto.

A mi asesor Dr. José Arnulfo Blanco García, por permitirme trabajar por segunda ocasión en su laboratorio. Agradezco su apoyo, el tiempo y las observaciones brindadas durante la realización de este proyecto.

A mi Co-Asesora la Dra. Mariela Gómez Romero, por brindarme su tiempo y confianza en la realización de este proyecto. Por compartir su conocimiento y experiencia, por ser una excelente persona.

A los integrantes del comité tutorial, los doctores Yvonne Herrerías Diego, Leonel López Toledo y Oscar Briones Villarreal, por su apoyo y contribución en la mejora del manuscrito, que fueron fundamentales para la culminación de este estudio.

A Gustavo, por formar parte de este proyecto tan importante en mi vida, por tu compañía y comprensión en los momentos difíciles, por tu apoyo incondicional. Gracias.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio: Gera, Jors, Karlita, Ely, Arubi, Luis y Agla, quienes me acompañaron en gran parte de mi trabajo de campo, por su ayuda y disposición en todo momento. Por los buenos momentos que me brindaron dentro y fuera del laboratorio. ¡Gracias!

Agradezco de forma particular a Violeta, Andy, Mariela, Lupita y Esmar, quienes formaron parte de mi familia de generación. Agradezco su compañía y sus palabras de aliento en los momentos más difíciles. Gracias por brindarme su amistad.

## Índice

RESUMEN GENERAL.....	vii
GENERAL ABSTRACT .....	ix
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	x
El Bosque Mesófilo de Montaña .....	xiii
OBJETIVO GENERAL.....	xv
Capítulo I .....	1
Viabilidad y germinación en semillas de la especie arbórea <i>Carpinus caroliniana</i> .....	1
RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. ANTECEDENTES.....	7
2.1 Banco de semillas.....	7
2.2 Viabilidad .....	8
2.3 Germinación en <i>Carpinus caroliniana</i> .....	9
2.3 Ácido giberélico en la germinación de semillas.....	9
2.4 Trabajos realizados en tratamientos pregerminativos con Ácido giberélico en el género <i>Carpinus</i> .....	11
3. JUSTIFICACIÓN.....	13
4. OBJETIVOS.....	14
4.1 Objetivo general.....	14
4.2 Objetivos particulares .....	14
5. HIPÓTESIS.....	15
6. MATERIALES Y MÉTODOS .....	16
6.1 Especie de estudio.....	16
6.2 Colecta de material biológico.....	16
6.3 Densidad de semillas a diferente distancia en <i>Carpinus caroliniana</i> .....	17
6.4 Prueba de viabilidad.....	18
6.5 Germinación de semillas de <i>Carpinus caroliniana</i> mediante tratamientos pregerminativos.....	18
6.6 Ácido giberélico (AG3) en la germinación de semillas de <i>Carpinus caroliniana</i> .....	19
Análisis estadísticos.....	20
7. RESULTADOS .....	22
7.1 Efecto de la distancia en la densidad de semillas de <i>Carpinus caroliniana</i> .....	22
7.2 Prueba de Viabilidad.....	22
7.3 Germinación de <i>Carpinus caroliniana</i> bajo diferentes tratamientos pregerminativos.....	23
7.5 Ácido giberélico (AG3) en la germinación de semillas de <i>Carpinus caroliniana</i> .....	26

9. CONCLUSIONES .....	29
Capítulo II .....	30
Emergencia y supervivencia de plántulas de <i>Carpinus caroliniana in situ</i> .....	30
RESUMEN .....	31
Abstract.....	32
1. INTRODUCCIÓN.....	33
2. ANTECEDENTES.....	36
3. OBJETIVOS.....	38
3.1 Objetivo general.....	38
3.2 Objetivos particulares .....	38
4. HIPÓTESIS.....	39
5. ÁREA DE ESTUDIO .....	40
5.1 Sitio de Estudio.....	40
6. MATERIALES Y MÉTODOS .....	41
6.1 Evaluación de la emergencia y supervivencia de plántulas <i>in situ</i> de <i>Carpinus caroliniana</i> Walt. bajo distintas aperturas de dosel. ....	41
6.2 Efecto de la remoción de hojarasca en el establecimiento y supervivencia <i>in situ</i> de <i>Carpinus caroliniana</i> .....	41
Análisis estadísticos .....	42
7. RESULTADOS .....	43
7.1 Evaluación <i>in situ</i> en la emergencia y supervivencia de plántulas de <i>Carpinus caroliniana</i> bajo condiciones distintas de apertura de dosel. ....	43
Apertura del dosel. ....	43
Número de plántulas vs apertura de dosel.....	44
Supervivencia por cohorte.....	44
Humedad y temperatura del suelo vs apertura de dosel.....	47
7.2 Emergencia y supervivencia de plántulas <i>in situ</i> de <i>Carpinus caroliniana</i> bajo tratamientos de remoción de hojarasca.....	48
Evaluación por cohorte.....	49
8. DISCUSIÓN.....	53
9. CONCLUSIONES .....	56
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES.....	57
RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS GENERALES.....	58
LITERATURA CITADA .....	59

## Índice de Figuras

### Capítulo I

Figura 1.1 Esquema de extracción de tapetes de suelo.....	17
Figura 1.2 Semillas con tinción: a) inviable y b) viable.....	18
Figura 1.3 Germinación de semillas bajo tratamientos pregerminativos.....	19
Figura 1.4 Abundancia promedio de semillas y plántulas en tapetes de suelo tamizados y germinados, extraídos a dos distancias de la copa del árbol. Las líneas indican error estándar.....	22
Figura 1.5 Porcentaje de germinación de <i>Carpinus caroliniana</i> bajo tratamientos pregerminativos remojo, AIB (Ácido Indolbutírico), AG3 (Ácido Giberélico) y control (sin remojo y son fitohormonas). Las líneas indican el error estándar y letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.0001). .....	23
Figura 1.6. Velocidad de germinación de <i>Carpinus caroliniana</i> bajo tratamientos germinativos: Control, Remojo, AIB (Ácido Indolbutírico) y AG3 (Ácido giberélico) .....	24
Figura 1.7 Porcentaje de germinación de semillas de acuerdo con su categoría de peso en los tratamientos germinativos control, remojo, AIB (Ácido Indolbutírico) y AG3 (Ácido Giberélico. Peso bajo: 6 a 8 mg, peso medio: 8 a 10 mg, peso alto: 10 a 12 mg y peso muy alto: 12 a 17 mg. ....	25

### Capítulo II

Figura 2.4 Localización del área de estudio del Bosque Mesófilo de Montaña en la Estación Biológica Vasco de Quiroga UMSNH. Municipio de Uruapan, Michoacán, México. ....	40
Figura 2.2. a) Delimitación de parcelas <i>in situ</i> y b) marcaje de plántulas en la evaluación de establecimiento y supervivencia de plántulas de <i>Carpinus caroliniana</i> bajo distintas aperturas de dosel. ....	41
Figura 2.3. Porcentaje de apertura de dosel en parcelas de plántulas de <i>Carpinus caroliniana</i> bajo distintos tratamientos de dosel <i>in situ</i> . Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas P<0.0001. .....	43
Figura 2.4. Número acumulado de plántulas registradas bajo los tratamientos de apertura de dosel en parcelas <i>in situ</i> de <i>Carpinus caroliniana</i> . .....	44
Figura 2.5. Número de plántulas registradas por cohorte en parcelas <i>in situ</i> de <i>Carpinus caroliniana</i> bajo tratamientos de apertura de dosel.....	45

Figura 2.6 Supervivencia general por cohorte en plántulas <i>in situ</i> de <i>Carpinus caroliniana</i> bajo diferentes tratamientos de apertura de dosel. ....	46
Figura 2.7 Porcentaje de supervivencia de plántulas <i>in situ</i> de <i>Carpinus caroliniana</i> en la cohorte de Julio bajo tratamientos de apertura de dosel. ....	46
Figura 2.8 Promedio de humedad por mes bajo tratamientos de apertura de dosel, las barras indican el error estándar. ....	47
Figura 2.9 Curva de acumulación de plántulas registradas bajo los tratamientos de remoción de hojarasca <i>in situ</i> durante el tiempo de evaluación. ....	49
Figura 2.10 Densidad de plántulas registradas dentro de los tratamientos de remoción de hojarasca por cohorte. ....	49
Figura 2.11 Porcentaje de supervivencia en plántulas de <i>Carpinus caroliniana</i> en la cohorte de julio, bajo tratamientos de remoción de hojarasca (control, remoción parcial y remoción total) en parcelas <i>in situ</i> .....	50
Figura 2.12. Porcentaje de humedad del suelo registrado en los meses evaluados. Las barras indican la desviación estándar, letras diferentes muestran diferencias significativas (P<0.05).....	51

## Índice de cuadros

Cuadro 1. Análisis de riesgos proporcionales del efecto del peso de la semilla en la germinación de <i>Carpinus caroliniana</i> .-----	25
Cuadro 2. Análisis de riesgos proporcionales sobre el tratamiento en la germinación de semillas de <i>Carpinus caroliniana</i> . -----	26
Cuadro 3. Porcentaje de germinación en semillas de <i>Carpinus caroliniana</i> en lotes de semillas bajo diferentes concentraciones de Ácido giberélico. -----	26

## RESUMEN GENERAL

La germinación de las semillas y la supervivencia de plántulas son consideradas las etapas más críticas, que determinan en gran parte la regeneración natural de las especies, procesos que en su mayoría son desconocidos en las especies nativas del bosque mesófilo de montaña. Por tal motivo, en este trabajo evaluamos los factores que influyen en la viabilidad, germinación y supervivencia de la especie arbórea *Carpinus caroliniana*. Bajo condiciones controladas, evaluamos la densidad de semillas en muestras de dos distancias diferentes de la base del árbol. La viabilidad de la semilla se cuantificó con diferentes años de colecta (2015, 2016 y 2017), mediante la prueba de tinción con tetrazolio, con la finalidad de conocer el potencial de germinación de la especie. Se aplicaron diferentes tratamientos pregerminativos buscando incrementar el porcentaje de germinación en las semillas de esta especie, como parte complementaría, las semillas fueron pesadas individualmente para evaluar la influencia del peso en la germinación. Adicionalmente, se realizaron estudios en campo, donde se evaluó la densidad de plántulas de *C. caroliniana*, su establecimiento y supervivencia, bajo diferentes tratamientos de apertura de dosel y remoción de hojarasca. Encontramos que la semilla de *C. caroliniana* presenta una dispersión corta, donde la mayor densidad de semillas se concentra debajo de la copa del árbol. Esta especie presentó un bajo porcentaje de semillas viables, siendo el tratamiento intermedio el que mostró una mayor viabilidad (18%). El ácido giberélico (AG3) fue el tratamiento que presentó el porcentaje más alto de germinación (41%); y las semillas más pesadas (por encima de 10 mg) presentaron mayor porcentaje de germinación. Al evaluar la germinación mediante la aplicación de AG3 en semillas con diferente año de colecta, se encontró que la capacidad germinativa de la especie se pierde gradualmente, solo las semillas recientes (2017) mostraron germinación (T1: 3%, T2: 1% y T3: 4%). En condiciones *in situ*, se registró una alta densidad y emergencia de plántulas en los tratamientos de apertura de dosel y remoción de hojarasca. La apertura de dosel sombra e intermedio favorecieron la emergencia de plántulas, sin embargo, el porcentaje de supervivencia y establecimiento después de siete meses de evaluación fue nulo. No hubo efectos significativos de los tratamientos de remoción de hojarasca en la emergencia de plántulas. Las curvas de supervivencia fueron diferentes entre los tratamientos, en general, presentaron alta mortalidad durante

los primeros meses (más del 60%), registrando un porcentaje de establecimiento menor al 5%.

PALABRAS CLAVES: SUPERVIVENCIA, SEMILLAS, TETRAZOLIUM, ARBOL Y ÁCIDO GIBERÉLICO.



## GENERAL ABSTRACT

Seed germination and seedling survival are critical phases that determinates considerably the natural regeneration of the species, and these processes are mostly unknown in Tropical Mountain Cloud Forest species. In this paper we evaluated the factors that affect viability, germination and survival of *Carpinus caroliniana* tree species. Under controlled conditions we evaluated seed density in samples from two different distances of the tree base. Seed viability was quantified with different year of collect (2015, 2016 and 2017) by tetrazolium staining test in order to know the potential germination. Different pregerminative treatments were applied seeking to increase the percentage of germination in the seeds of this species, as a complementary part, the seeds were weighed individually to evaluate how weight influences germination. Additionally, field research was made to evaluate seedling density of *C. caroliniana*, and their establishment and survival about different treatments of canopy opening and leaf litter removal. We found that *C. caroliniana* seed presents low dispersion where the mayor density was centered under the tree top. This species presented a low percent of available seeds and intermediate storage treatment showed higher viability (18%). The gibberellic acid (GA3) showed the highest germination percent (41%); and heavier seeds (above 10mg) presented more germination. When evaluating the germination by means of the application of AG3 in seeds with different year of collection, it was found that the germinative capacity of the species is gradually lost, only recent seeds (2017) showed major germination, (T1: 3%, T2: 1% and T3: 4%). *In situ* conditions, it register a high density and seedling emerge in the treatments of canopy opening and leaf litter. The shade and the intermediate opening of the canopy cause the seedling to emerge, however, the survival and establishment percent after seven months was null. There were no significant effects of litter removal treatments in seedling germination and survival. The survival curves were not different between the treatments, in general, they presented high mortality during the first months (more than 60%) registering an establishment percent of less than 5%.

## INTRODUCCIÓN GENERAL

El bosque mesófilo de montaña (BMM) es considerado uno de los ecosistemas más importantes por la gran diversidad biológica que alberga por unidad de área, superior al de cualquier otro tipo de vegetación en México (López-Pérez *et al.*, 2011). La gran biodiversidad presente en este tipo de vegetación se debe al sistema montañoso que lo conforma; caracterizado por lluvias frecuentes, neblina y una alta humedad atmosférica durante todo el año particularmente la nubosidad (CONABIO 2010; González-Espinosa *et al.*, 2012). Este tipo de vegetación desempeña un importante papel en la provisión y regulación de los servicios ecosistémicos, así como el mantenimiento de los ciclos hidrológicos por medio de la recarga de los mantos acuíferos (Toledo 2009).

Actualmente este tipo de vegetación ocupa una superficie muy reducida y fragmentada. En México se estima que ocupa menos del 1% del territorio mexicano (Rzedowski 1996). El BMM alberga una gran cantidad de endemismos o especies únicas afines a ciertos lugares en este tipo de vegetación conocidos poco taxonómicamente, esto debido a su distribución fragmentada con preferencias por cañadas, terrenos inclinados, con abundante lluvia y humedad, dificultando así su estudio (Rzedowski 2006).

Entre las principales amenazas a las que se enfrenta el BMM en México se relacionan con el cambio de uso del suelo, el incremento demográfico y la extinción de algunas poblaciones por efectos del cambio climático global. Actualmente se ha reportado que el 60% de sus especies arbóreas enfrentan algún grado de amenaza (González-Espinosa *et al.*, 2012). El clima es uno de los principales factores que regulan la distribución de las especies de plantas, ya sea directamente, a través de limitaciones fisiológicas en el crecimiento y la reproducción o, indirectamente, por medio de los factores ecológicos, como la competencia por recursos (Shao y Halpin, 1995); (González-Espinosa 2012). Diversos estudios destacan que el cambio climático registrado en los últimos 30 años ha tenido un impacto en la distribución, abundancia, fenología y fisiología de muchas especies (Jarvis, Lane y Hijmans 2008).

Por otro lado, las especies nativas promueven la recuperación de la biodiversidad al coincidir con las necesidades de alimentos y cobertura o soporte de muchas otras especies, al atraer aves y mamíferos frugívoros que incrementan la dispersión de las semillas o al servir de nodrizas para el establecimiento de otras especies de árboles, arbustos y hierbas al hospedar plantas epifitas (Williams-Linera 2012). El uso de especies para la implementación de la recuperación o restauración de suelos degradados está limitado por la falta de información básica sobre métodos de propagación por semilla o vegetativa, requerimientos para su establecimiento exitoso y crecimiento como es el caso de la especie en estudio. Al ser las semillas reservorios de material genético y constituir una de las formas más importantes de germoplasma vegetal, el conocimiento de su biología, en especial de sus patrones de germinación, es fundamental para comprender no solo los procesos naturales que ocurren en las comunidades vegetales, tales como el establecimiento, la regeneración y la sucesión, sino para poder llevar a cabo una adecuada propagación, establecimiento y mantenimiento de las especies (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1993; Doria 2010).

Entre los factores que afectan la germinación de las semillas se dividen en dos tipos: factores *internos* y *externos*, entre los factores internos se encuentran: la madurez de la semilla que se presenta cuando ha alcanzado su completo desarrollo tanto desde el punto de vista morfológico como fisiológico y la viabilidad de la semilla que expresa el potencial de una semilla para germinar. Entre los factores *externos* se encuentran la humedad, temperatura, los gases, respiración y el metabolismo de la germinación (Doria 2010).

La semilla desempeña una función fundamental en la renovación, persistencia y dispersión de las poblaciones de las plantas, regeneración de los bosques y sucesión ecológica. De acuerdo a su tolerancia a la desecación, se clasifican en ortodoxas las cuales adquieren tolerancia a la deshidratación durante su desarrollo y pueden almacenarse en estado seco, por largos períodos y bajo condiciones específicas. En contraste, las semillas recalcitrantes son altamente sensibles a la deshidratación, se dispersan junto los tejidos carnosos del fruto después de la maduración con altos contenidos de humedad, al desprenderse el fruto o semilla su periodo de secado es muy corto (Doria 2010).

Aunado a esto, la duración de la estación de crecimiento es un factor determinante para el desarrollo y la supervivencia de muchas especies de plantas. En áreas templadas, la estación de crecimiento es determinada por la temperatura y la radiación solar, en cambio, en los trópicos está limitada principalmente por la disponibilidad de agua. Las plantas tienen un vasto arreglo de conductas adaptativas, desde límites de temperatura mínima a reproducción basada en duración del día, por lo que las especies individuales del bosque van a responder diferencialmente a los cambios climáticos, en su mayoría estas conductas son desconocidas por la falta de estudios presentes en este tipo de vegetación (Vaca y Golicher 2016). El aumento de la temperatura y la variación de la precipitación tendrán como efecto la disminución en la disponibilidad del recurso hídrico, lo que representa una alta vulnerabilidad ante efectos del cambio climático. Dado que se prevé que las demandas hídricas de las plantas se dupliquen, de no adquirir medidas de adaptación, estará en riesgo la desaparición de este importante ecosistema (González-Espinosa *et al.*, 2012; Monterroso-Rivas *et al.*, 2016).

En los últimos años se ha generado un gran avance en el desarrollo de técnicas y métodos de información espacial relacionada a procesos climáticos a escalas globales, sin embargo, el conocimiento sobre los factores ecológicos que influyen en la distribución de las especies han sido poco estudiados (Synes y Osborne, 2011; Vaca y Golicher 2016).

Por ello, el presente estudio tiene como objetivo determinar la viabilidad y germinación en semillas de *Carpinus caroliniana*, especie arbórea del bosque mesófilo de montaña, lo cual permitirá conocer aspectos importantes de su regeneración natural, así como de su propagación *ex situ* con fines de restauración ecológica. Actualmente la especie *Carpinus caroliniana* está enlistada en la NOM 059 SEMARNAT 2010, en estatus de Amenazada y estudios previos han mostrado un escaso potencial de germinación. Se evaluarán también aspectos del banco de plántulas y semillas en sitios naturales bajo distintas condiciones de apertura del dosel y de remoción de la hojarasca. De esta manera se contribuirá al conocimiento de la dinámica poblacional de esta especie para su conservación.

## El Bosque Mesófilo de Montaña

Los bosques mesófilos de montaña son comunidades vegetales muy complejas representadas por una alta riqueza florística y una distribución restringida a condiciones ambientales de alta humedad. Este tipo de bosque se encuentra en el mismo rango altitudinal que el encinar, pero se caracteriza por ocupar principalmente barrancas, en las cuales la alta humedad en el suelo y el aire favorecen su desarrollo (Gual-Díaz y Rendón-Correa 2014).

En Michoacán, los bosques mesófilos presentan características diferentes a otros BMM mexicanos debido a su ubicación geográfica dentro del sistema volcánico transversal. En nuestro estado, el BMM presenta un clima más cálido y seco, la temporada de lluvias es muy marcada, a causa de esto, no se crean las condiciones de niebla adecuadas como ocurre en otros BMM. Se encuentra en un intervalo altitudinal de 1865 a 2650 msnm, con una temperatura promedio anual estimada en 18°C. Se han reportado para el estado 57 especies arbóreas y arbustivas distribuidas en 41 géneros y 31 familias aproximadamente. Dentro de las especies dominantes de acuerdo a su valor de importancia relativa resaltan *Styrax argenteus*, *Pinus pseudostrobus* y *Ternstroemia lineata*. Actualmente los fragmentos de bosque mesófilo se han reducido drásticamente, presentando una disminución de su superficie original a causa de su conversión a huertos de aguacate, por lo que se encuentran seriamente amenazados (Santana *et al.*, 2014).

El BMM de Michoacán presentó una reducción de 364.8 ha en el periodo comprendido de 1994-2009, es decir 27.8 ha anuales. En 1994 ocupaba una superficie de 1,423.5 ha, mientras que en 2009 solo cubría 1,058.6 ha. De acuerdo al índice de valor de importancia este tipo de bosque se encuentra en un estado sucesional temprano, siendo el género *Pinus* la especie de mayor importancia ecológica. Actualmente estas áreas no han sido reforestadas adecuadamente, debido a que se han utilizado especies propias de bosques templados como pinos, generando bosques homogéneos con aprovechamiento forestal, en lugar de especies nativas del bosque que permitan recuperar un sistema similar al original (Martínez *et al.*, 2016).

Aunque existe una gran cantidad de especies nativas que pueden ser utilizadas en áreas que necesitan ser restauradas, no existe información disponible sobre su propagación, establecimiento y crecimiento para un manejo apropiado de las reforestaciones (Álvarez-Aquino, Williams-linera y Pedraza 2008).

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar los factores que influyen en la viabilidad, germinación y establecimiento y supervivencia de la especie arbórea *Carpinus caroliniana* del Bosque Mesófilo de Montaña.

# Capítulo I

## Viabilidad y germinación en semillas de la especie arbórea *Carpinus caroliniana*



## RESUMEN

Las especies nativas permiten la recuperación de áreas que han sido degradadas, sin embargo, su uso se ha limitado por la falta de información básica acerca de la colecta de semillas, dispersión, propagación y requerimientos para su establecimiento exitoso. En este trabajo se evaluó la densidad de semillas en tapetes de suelo, así como la viabilidad y germinación para la especie arbórea *Carpinus caroliniana* en condiciones controladas. La densidad de semillas se cuantificó mediante la comparación de tapetes de suelo tamizados y germinados extraídos a dos distancias de la base del árbol (2 y 4 m). La viabilidad se evaluó mediante la prueba de tetrazolio en lotes de semillas de tres diferentes años de colecta (2015, 2016 y 2017). Se aplicaron diferentes tratamientos pregerminativos para evaluar la germinación en semillas de colecta de año reciente. Finalmente, se evaluó el efecto del ácido giberélico (AG3) como promotor de la germinación en semillas con diferente año de colecta (2015, 2016 y 2017). Se encontró que la semilla presenta una corta dispersión al concentrar mayor densidad de semillas y plántulas a una distancia de dos metros. Los lotes de semillas presentaron bajo porcentaje de viabilidad, donde el lote del año 2015 presentó un 2%, el año 2016 obtuvo el 18% y el lote del año 2017 un 5%. El ácido giberélico fue el tratamiento que presentó el mayor porcentaje y velocidad de germinación (41%), respecto al control (28%). Se observó un efecto del peso en la germinación de las semillas, donde las categorías de peso alto y muy alto presentaron mayor efectividad de germinación. Se observó que la capacidad germinativa de la especie disminuyó con el tiempo de almacenamiento. Esta especie presenta una serie de filtros ecológicos (el peso, bajo porcentaje de viabilidad y germinación) que reducen fuertemente sus probabilidades de establecimiento en condiciones naturales. Debido a la categoría de riesgo que enfrenta la especie, es necesario realizar más estudios sobre los factores que permitan incrementar la supervivencia y establecimiento de la especie.

## ABSTRACT

The native species allow the recovery of areas that have been degraded, however, their use has been limited by the lack of basic information about the collection of seeds, dispersion, propagation and requirements for their successful establishment. In this study, the density of seeds in soil mats, viability and germination in the *Carpinus caroliniana* tree species under controlled conditions was evaluated. Seed density was quantified by comparing sifted and germinated soil mats extracted at two distances from the base of the tree (2 m and 4 m). Viability was evaluated by the tetrazolium test in seed lots of three different collection years (2015, 2016 and 2017). Different pre-germinative treatments were applied to evaluate the germination in seeds collected recently. Finally, the effect of gibberellic acid (GA3) was evaluated as a promoter of germination in seeds with different collection year (2015, 2016 and 2017). In this work it was found that the seed presents a short dispersion when concentrating greater density of seeds and seedlings at a distance of two meters. The lots of seeds presented low percentage of viability, where the lot of the year 2015 presented 2%, the year 2016 obtained 18% and the lot of the year 2017 5%. The gibberellic acid was the treatment that presented the highest percentage and speed of germination (41%), with respect to the control (28%). An effect of the weight in the germination of the seeds was observed, where the categories of high and very high weight were represented in smaller quantity, nevertheless, they presented greater effectiveness of germination. It was observed that the germinative capacity of the species decreased with the storage time. This species presents a series of ecological filters (weight, low percentage of viability and germination) that strongly reduce their chances of establishment under natural conditions. Due to the category of risk that the species faces, it is necessary to carry out more studies on the factors that allow to increase the survival and establishment of the species.

# 1. INTRODUCCIÓN

La especie *Carpinus caroliniana* (Pepinque) es representativa del bosque mesófilo de montaña en México, especialmente para el estado de Michoacán. Actualmente existe muy poca información sobre su regeneración natural, la mayoría de trabajos para este tipo de bosque son enfocados a especies de importancia forestal.

*Carpinus caroliniana* es una especie que ha tomado cierto interés por encontrarse en categoría de Amenazada según la Norma Oficial Mexicana 059 SEMARNAT-2010. Esta especie forma parte del componente arbóreo principal del bosque mesófilo de montaña, en donde su viabilidad se ha visto afectada por los disturbios antropogénicos (Pedraza-Pérez y Williams-Linera 2005). Los valores de producción de semilla son altos, aproximadamente 2.3 kg por árbol con diámetro menor a 20 m, sin embargo, se reporta que esta especie presenta problemas de viabilidad puesto que durante el primer año presenta una tasa de mortalidad en plántulas muy elevada (Álvarez-Aquino 2006).

La germinación de la semilla es un proceso complejo que requiere de condiciones específicas de luz, temperatura y humedad para finalizar con la emergencia del embrión (Araya *et al.*, 2000; Muñoz 2017). Para comprender este proceso es necesario incrementar el conocimiento sobre los mecanismos físicos y morfológicos implicados en la maduración de la semilla, así como las condiciones ambientales necesarias para la germinación de la semilla (Baskin y Baskin 2001; Muñoz 2017).

Nakashizuka and Shibata (1995) al evaluar la demografía en semillas y plántulas de cuatro especies del género *Carpinus*, reportaron que las especies presentan bajo porcentaje de germinación. Este género al utilizar el viento como medio de dispersión facilita su establecimiento y supervivencia en lugares abiertos, así mismo, se observó que las cuatro especies son intolerantes a la sombra en estadios tempranos al presentar una alta mortalidad de plántulas, por lo que la luz es un factor importante durante su primer año de establecimiento. Otro factor importante es tomar en cuenta el tiempo de colecta de la semilla, se recomienda colectar las semillas aun cuando están de color verde puesto que se ha reportado

que su capacidad de germinación disminuye al pasar el tiempo de maduración (Güney *et al.*, 2015b; Czapracki y Holubowicz 2010a).

Por otra parte, Pedraza y Williams-Linera (2005) al evaluar la germinación en semillas de esta especie encontró que la germinación fue más rápida en lotes con periodo de almacenamiento de diez meses que las guardadas durante solo dos meses. En tanto que, la germinación se dio a los dos días en las semillas con mayor tiempo de almacenamiento, en comparación con las de menor tiempo de almacenamiento que comenzó a los diez días, de acuerdo a estos resultados es posible que exhiba algún tipo de latencia. La especie *Carpinus caroliniana* presentó un porcentaje final de germinación del 35% y 31% para los lotes guardados durante dos y diez meses respectivamente. En el mismo estudio se encontró que las plántulas de *Carpinus* trasplantadas al interior del bosque presentaron mayor supervivencia, encontrándose mayor crecimiento en altura al exterior. Por lo que esta especie es considerada tolerante a las condiciones ambientales abiertas, con potencial para ser utilizada en programas de restauración.

En la mayoría de especies se ha determinado que el agua es un factor limitante para su establecimiento, aunado a esto se encontró que el agua influye fuertemente en la germinación de la semilla de la especie *Carpinus caroliniana*, se ha reportado que su porcentaje de germinación es más alto durante la época de lluvias y en menor tiempo que durante la estación seca, en donde la germinación comenzó a partir de los 50 días (Pedraza-Pérez y Williams-Linera, 2005).

Sin embargo, en un trabajo reciente por Rodríguez-Nieto (2016), al aplicar tratamientos pregerminativos de escarificación química en semillas de esta especie se observó que la germinación comenzó un mes después de la siembra. El porcentaje más alto en semillas se obtuvo en el tratamiento control siendo un porcentaje bajo (7.3%). Se ha descrito que esta especie exhibe un tipo de latencia y baja viabilidad debido a que su germinación es retardada con un porcentaje de germinación menor al 60%, así mismo, se han reportado porcentajes muy bajos de entre 1 a 5% (Metzger 1990).

A pesar de que esta especie se encuentra en categoría de amenazada, posee un banco de semillas con potencial para establecerse en ambientes de perturbación intermedia, sus plántulas han mostrado mayor supervivencia en el borde y claro del bosque, por lo que se puede encontrar colonizando en estadios tempranos de sucesión secundaria, ocupando diversos ambientes lumínicos (Pedraza-Pérez y Williams-Linera, 2005). De acuerdo a estas características se deduce que es una especie pionera con potencial para ser utilizada en programas de restauración ecológica. Actualmente, el BMM enfrentan a un alto grado de perturbación que amenaza con la desaparición de esta especie (Nakashizuka y Shibata, 1995), por lo que es necesario realizar más estudios sobre la biología, su viabilidad y métodos de propagación para su implementación en programas de recuperación y/o restauración ecológica de esta especie.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Banco de semillas.

El principal medio de propagación de las plantas superiores terrestres o acuáticas es mediante la semilla. La semilla lleva a cabo una función de vital importancia en la dispersión, permanencia y renovación de los bosques (Doria 2010). Para que una semilla se desarrolle de manera exitosa se requiere de conocer de todos los mecanismos que influyen en su formación. Al identificar los procesos germinativos que pudieran ser afectados por el estado general de la semilla, nos permitirán conocer su potencial de supervivencia (Moreno-Álvarez *et al.*, 2001; Doria, 2010).

Al conjunto de semillas viables presentes en el suelo de un hábitat, ya sea enterradas o mezcladas con la hojarasca se le denomina *Banco de semillas en el suelo (BSS)* (Marañón 2001). La composición del banco de semillas en el suelo, encierra gran parte del potencial de regeneración en la comunidad arbórea (Díaz-Villa, Marañón, and Arroyo 2002), y la reserva de semillas a largo plazo permite la recuperación de la población después de perturbaciones intensas o prolongadas, como incendios o cambios de uso de suelo (Marañón 2001).

La conformación del banco de semillas en los bosques templados se ha descrito como un proceso muy dinámico, y su composición depende en gran parte de la lluvia de semillas (Martínez Orea *et al.*, 2013). En cuanto a la variación vertical de semillas de un bosque húmedo, se ha reportado que el mayor número de semillas se encuentra en la parte superficial con un alto número de individuos por m<sup>2</sup>, y el número de semillas disminuye con la profundidad (Hernández y colaboradores (2009).

Se ha descrito que el banco de semillas en el suelo del BMM presenta un valor alto en cuanto a la riqueza de especies (Ortiz-Arrona y colaboradores 2008), sin embargo, la composición de las especies arbóreas del banco de semillas del suelo representa menos de la mitad de la vegetación en pie. Por tal motivo, las especies pioneras dominantes dentro del bosque mesófilo se encuentran formando bancos de semillas transitorios, mientras que las herbáceas y pastos

se encuentran dominando las formas de vida en estos bosques (Williams-Linera, Bonilla-Moreno y López-Barrera, 2016).

De esta forma, los bancos de semillas del suelo cumplen un papel fundamental en la recuperación de áreas con disturbio, al mismo tiempo, es necesaria la implementación de prácticas de manejo y conservación de estos bancos de semillas para la conservación de la diversidad florística y el mantenimiento social y económico de estos ecosistemas (Sabattini *et al.*, 2015).

## **2.2 Viabilidad**

La viabilidad en la semilla se expresa como el período de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar (Doria 2010). Uno de los métodos para estimar la viabilidad en semillas es la prueba de tetrazolio desarrollada y aprobada por la International Seed Testing Association (Kingdom and Determination 2014), esta prueba provee una evaluación del vigor de semillas viables que presentan dormición o germinación retardada, con la cual podemos conocer el potencial de germinación en un lote de semillas.

En esta prueba, la sal de tetrazolio (incolora) reacciona con el hidrogeno liberado por la actividad de las enzimas deshidrogenasas que intervienen en la respiración celular, esta reacción es posible únicamente si las células de los embriones están vivas, dando como resultado una tinción roja/rosa llamada formazan en las semillas viables, mientras que las no viables quedan del color natural de las semillas (Moreno-Álvarez *et al.*, 2001; Orantes-García *et al.*, 2013; González-Salvatierra *et al.*, 2013; Salazar Mercado and Gélvez Manrique 2015).

La prueba de viabilidad con tetrazolio resulta ser una prueba altamente confiable, tanto en semillas pequeñas de orquídeas (Salazar Mercado y Gélvez Manrique, (2015) como en semillas de tamaño grande de pinos y encinos (Moreno-Álvarez *et al.*, 2001; González-Salvatierra *et al.*, 2013), siempre y cuando la solución penetre con facilidad por medio de una ranura en la testa. Mediante esta prueba se ha podido cuantificar la pérdida de viabilidad de una semilla a través del tiempo de almacenamiento (Enríquez-Peña y Malda-Barrera, 2002), y el tiempo en que una semilla permanece viable en ausencia de daños por insectos (González-Salvatierra *et al.*, 2013). Para la especie de estudio *Carpinus*

*caroliniana* no se tiene documentado el porcentaje de semillas viables con la prueba de tetrazolio.

### **2.3 Germinación en *Carpinus caroliniana***

A pesar de la amplia distribución del género *Carpinus* en el centro y norte de América y Europa, la información existente acerca de la germinación de su semilla es muy limitada (Merou *et al.*, 2012). Las especies de *Carpinus* presentan latencia fisiológica impuesta tanto por el endospermo como por el embrión (Pijut, 2008). La especie *Carpinus caroliniana* produce una gran cantidad de semillas, sin embargo, debido a su tamaño contienen menor cantidad de reservas energéticas y presentan bajo porcentaje de viabilidad (Harms *et al.*, 2000). Las semillas dispersadas durante el otoño permanecen latentes durante el invierno, esta estratificación en frío natural ayudará a romper su latencia, y las semillas estarán listas para germinar en la primavera siguiente (Salazar y Soihet, 2001). Además, en algunas especies el bajo porcentaje de germinación se asocia a que las semillas dependen en gran parte de la humedad presente en el suelo para rehidratarse (Valencia-Díaz y Montaña, 2003).

La mayoría de las especies arbóreas producen una gran cantidad de semillas viables, sin embargo, algunas semillas son incapaces de germinar, aunque se presenten las condiciones bióticas y abióticas óptimas, por lo cual se dice que presentan una característica de supervivencia denominada latencia. La testa de la semilla se endurece después de ser secada, por lo que el contenido de humedad en la semilla juega un papel muy importante en la selección del método pregerminativo apropiado (Merou *et al.*, 2012). La testa dura les permite formar un banco de semillas latente en el suelo, bajo condiciones climáticas adversas para augurar la supervivencia de sus plántulas (Suzuki 2000; Saldívar-Iglesias *et al.*, 2010).

### **2.3 Ácido giberélico en la germinación de semillas.**

Existen diversos tratamientos pregerminativos que ayudan a romper la latencia y promover la pronta germinación de las semillas, entre ellos se encuentran las giberelinas; el ácido giberélico (AG3) inhibe la latencia al remplazar la necesidad de estímulos ambientales como luz y humedad (Saldívar-Iglesias *et al.*, 2010). El uso de reguladores del crecimiento y preenfriamiento en semillas que presentan latencia, aumentan la velocidad de germinación y activa el crecimiento



de plántulas (Ludeña-Velásquez, 2012). En las semillas, su principal efecto es estimular la elongación celular debilitando las paredes celulares, de tal manera que la radícula pueda empujar a través del endospermo, la cubierta seminal o la cubierta del fruto que restringe su crecimiento (Taiz and Zeiger 2006; Ludeña-Velásquez 2012).

En especies de bosques templados que exhiben latencia fisiológica, es necesario un periodo de estratificación en frío para incrementar el porcentaje de germinación (Elias Pipinis *et al.*, 2014). En un estudio previo se observó que la especie *Ostrya carpinifolia* alcanzó 98.34% de germinación con periodos de cuatro meses de estratificación en frío. Adicionalmente, la aplicación de AG3 reemplazó completamente los requerimientos de estratificación en frío necesarios para romper la dormición fisiológica en esta especie, en donde la germinación de semillas tratadas únicamente con 2000 ppm de AG3 fue de 94.17%, un porcentaje tan alto como el de semillas sujetas a cuatro meses de estratificación en frío (98.34%) (Pipinis *et al.*, 2014).

Por otra parte, las auxinas son sustancias químicas encargadas de regular el crecimiento, la división celular y la diferenciación de las raíces (Ramos-Amaya, 2012). Entre ellas destaca el Ácido Indolbutírico (AIB) al estimular la división inicial de las células de la raíz (Henrique *et al.*, 2006). Esta auxina ha sido la más utilizada en la regulación del crecimiento de una gran variedad de especies (Castrillón *et al.*, 2008; Mazariegos 2011) en una amplia gama de concentraciones debido a que no es tóxico para las plantas (García 2007). El enraizamiento por estacas con AIB se ha documentado ampliamente, especialmente en especies de coníferas y leñosas que presentan dificultad de propagación por semilla o establecimiento como: la especie tropical *Gmelia arborea* (Ruíz-García, Vargas Hernández, y Cetina Alcalá 2005), *Pinus caribea* (Henrique *et al.*, 2006), *Nothofagus gautla* (Uribe *et al.*, 2012) y *Pinus patula* (Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016) entre otras. Aunque ha mostrado un efecto positivo en el crecimiento, regeneración de raíces y ha potencializado el éxito de establecimiento después del trasplante (Mobli y Baninasab 2009), son escasos los estudios sobre su efecto en semillas de especie arbóreas que presentan problemas de germinación (Baños *et al.*, 2009). En la literatura consultada no

se encontró ninguna referencia sobre el uso del ÁIB en la germinación de la especie *Carpinus caroliniana*.

#### **2.4 Trabajos realizados en tratamientos pregerminativos con Ácido giberélico en el género *Carpinus*.**

Para promover la germinación de semillas de *Carpinus* se han probado diversos tratamientos pregerminativos. Suzuki (2000) encontró que las semillas de *C. laxiflora* y *C. tschonoskii* con un mes de estratificación en frío alcanzaron 90% y 70% de germinación respectivamente, mientras que *C. cordata* requirió de un periodo más largo de estratificación en frío (10 meses), exposición a la luz y alternancia de temperatura para romper la latencia e incrementar su germinación. En la especie *C. betulus*, el porcentaje de germinación más alto se obtuvo en semillas tratadas con AG3 (30%) (Güney *et al.*, 2015a). Czapracki *et al.*, (2010b) reportó un 81.3% de germinación en *C. betulus* aplicando AG3 al 0.5%. En *C. betulus* la aplicación de AG3 reemplazó (a partir de concentraciones de 500 a 2000 ppm) totalmente los periodos de estratificación cálida y disminuyó el periodo de estratificación en frío, mientras que en *C. orientalis* la estratificación en frío por cuatro meses alcanzó 84.2% (Pipinis *et al.*, 2012); *C. orientalis* alcanzó 84% de germinación con estratificación en frío (4°C) por doce semanas (Tsitsoni, Tsakalimi y Tsouri 2013); por su parte Merou (Merou *et al.*, 2012) encontró que *C. orientalis* obtuvo 100% de germinación en estratificación en frío a 5°C por tres meses.

Incluso en las poblaciones de *Carpinus caroliniana* que se distribuyen en Europa, son necesarios periodos de uno a dos meses de estratificación con temperatura cálida, seguida de dos a tres meses de estratificación con temperatura fría para romper su latencia (ISTA 1993 en Pujut, 2008). Mientras que Bretzloff y Pellet (1979 en Pujut 2008) reportan que los tratamientos con ácido giberélico a 25, 100 y 500 ppm incrementaron la germinación de semillas estratificadas a 4°C por 6, 12, y 18 meses.

De acuerdo a los antecedentes mencionados, este estudio tiene como objetivo evaluar la dispersión de las semillas, su viabilidad y germinación mediante la aplicación de tratamientos pregerminativos, con la finalidad de incrementar el conocimiento sobre los factores que influyen en la fenología y propagación de esta especie.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Esta especie se distribuye dentro de un hábitat altamente susceptible al disturbio y las condiciones ambientales. Adicionalmente, la reducción de sus poblaciones se ha visto afectada por su bajo porcentaje de germinación, años con producción baja de semilla, aunado a la falta de conocimiento sobre el comportamiento del reservorio de su banco de semillas y su regeneración natural.

El bajo porcentaje de germinación que presentan algunas especies se encuentra relacionado a la baja viabilidad que presentan sus semillas. Actualmente no existen estudios en esta especie que evalúen la viabilidad de las semillas mediante la aplicación de métodos colorimétricos, como es el uso de tetrazolio. Este método nos permite conocer si la semilla es viable aun cuando presenta algún tipo de latencia o inmadurez en la semilla.

Otro aspecto que se desconoce sobre esta especie es el reservorio del banco de semillas. En esta especie, la dispersión de semillas es por medio del viento y animales que se alimentan de estos frutos, por lo que la mayoría de semillas cae cerca de la planta madre, al extraer tapetes y evaluarlo en condiciones controladas podemos conocer el tipo de banco que conforman, ya que estas especies producen gran cantidad de semillas, sin embargo, presentan muy poca germinación que puede afectar la estructura y composición de esta especie. Por lo cual, es importante realizar investigaciones que nos permitan conocer los factores que influyen en el desarrollo y establecimiento de esta especie.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

- Determinar los factores que influyen en la viabilidad y germinación de semillas de la especie arbórea *Carpinus caroliniana* del bosque mesófilo de montaña.

### 4.2 Objetivos particulares

- Evaluar la densidad de semillas a diferentes distancias del árbol mediante la tamización y germinación de tapetes de suelo.
- Evaluar la viabilidad de semillas de *Carpinus caroliniana* mediante la prueba de azul de tetrazolio.
- Evaluar la germinación y capacidad de almacenamiento en semillas de *Carpinus caroliniana* mediante tratamientos pregerminativos.

## 5. HIPÓTESIS

En estudios previos se ha demostrado un escaso potencial de germinación, supervivencia y establecimiento de plántulas de *Carpinus caroliniana*, por lo que se sugiere que la distancia de dispersión, el tiempo de almacenamiento y el uso de tratamientos pregerminativos tendrá un efecto positivo en la germinación de las semillas de esta especie.

- Los tapetes de suelo colectados cerca de la base del árbol progenitor presentarán un banco de semillas con mayor densidad, y la emergencia de plántulas incrementará en comparación con tapetes de suelo localizados al borde de la copa del árbol.
- Las semillas de colectas recientes (año de colecta) presentarán mayor viabilidad, en comparación con lotes de semillas con mayor tiempo (uno y dos años) de almacenamiento.
- La aplicación de tratamientos pregerminativos incrementará la velocidad y porcentaje de germinación de las semillas de *Carpinus caroliniana*.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

La densidad de semillas en la especie *Carpinus caroliniana*, se evaluó mediante la extracción de tapetes de suelo; la viabilidad se determinó mediante una prueba con tetrazolio en semillas con diferente año de colecta (2015, 2016 y 2017), y la germinación se evaluó mediante la aplicación de diferentes tratamientos pregerminativos. Adicionalmente, se evaluó el tiempo de viabilidad con la aplicación del mejor tratamiento pregerminativo a las colectas de los diferentes años.

### 6.1 Especie de estudio.

La especie arbórea *Carpinus caroliniana* mide 25 m o más de altura, de corteza lisa a rugosa, sus hojas son compuestas por una lámina oblonga a largamente ovada, de (5) 6 a 12 cm de largo y de (2) 3 a 4.5 cm de ancho, ápice largamente acuminado a agudo, margen doblemente serrado. Los frutos son en forma de una nuez ovoide pequeña de 3 a 4 mm de largo con nervaduras, contiene una sola semilla, cada semilla está acompañada de una bráctea envolvente con tres lóbulos. Los frutos maduran a finales del mes de junio y son dispersados durante el mes de julio por el viento a corta distancia, mientras que, las aves cumplen la función de dispersión a mayores distancias. Los frutos se colectan cuando presentan un color verde grisáceo a café antes de estar completamente maduros (Carranza González y Madrigal Sánchez, 1995).

### 6.2 Colecta de material biológico.

Las semillas para este estudio se obtuvieron de colectas directas de los árboles de un remanente de Bosque Mesófilo de Montaña en el Municipio de Uruapan, Michoacán. Previo a la colecta de semillas, se realizó el monitoreo fenológico de la especie durante los meses de febrero-julio del año 2015, 2016 y 2017, con la finalidad de colectar frutos y semillas maduros de 8 individuos. Los frutos y semillas se colectaron con una garrocha extensible y mantas para la captura de la semilla. Las semillas se limpiaron removiendo la bráctea alar y se almacenaron en bolsas herméticas de plástico a una temperatura de 4°C, en el Laboratorio de

Restauración Ambiental del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES), UNAM campus Morelia.

### 6.3 Densidad de semillas a diferente distancia en *Carpinus caroliniana*.

Se extrajeron tapetes de suelo de 20 x 20 x 8 cm eliminando la capa de hojarasca en el mes de agosto del año 2017, de cinco árboles seleccionados aleatoriamente. De cada árbol se colectaron 12 tapetes de suelo a dos distancias, seis bajo la copa del árbol (2m de la base del árbol) y seis más al borde de la copa del árbol (4m desde la base del árbol) (Fig. 1). Los tapetes fueron colocados y etiquetados en bolsas de plástico herméticas tipo ziploc para su traslado al laboratorio de Restauración Ambiental del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad (IIES) UNAM Campus Morelia.

Para la densidad de semillas en la especie *Carpinus caroliniana* se utilizaron dos métodos:

- Tamizado: Los tapetes de suelo fueron secados y tamizados para separar la materia orgánica, extraer y contabilizar el número de semillas presentes en cada bloque.
- Germinación: los tapetes de suelo se colocaron en charolas de plástico (60 x 40 x 7 cm), y se mantuvieron en condiciones de invernadero con riego cada tercer día y/o a capacidad de campo. Se llevó a cabo el registro de la emergencia de plántulas semanalmente, tomando como referencia la emergencia de la plántula sobre el sustrato.

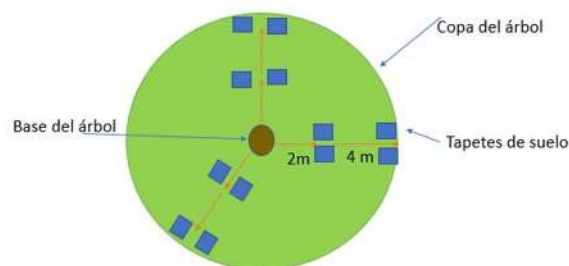


Figura 1.1 Esquema de extracción de tapetes de suelo.



#### 6.4 Prueba de viabilidad.

La prueba de viabilidad se realizó en lotes de semillas de tres diferentes años de colecta (en el mes de junio de 2015, 2016 y 2017). Las semillas se hidrataron en agua destilada por 12 horas, posterior al remojo, se realizó un corte longitudinal a las semillas dejando los embriones expuestos. Las semillas se colocaron en vasos de precipitados en una solución de Cloruro de Tetrazolio (J.T. Baker ®, Cloruro 2,3,5-trifenil-2h- tetrazolio, 0.12g/30ml de agua) por 72 horas y cubiertas con papel aluminio (ISTA 2017). Al finalizar el tiempo de inmersión, se procedió a retirar el excedente y contabilizar las semillas viables (teñidas de rojo) (Fig. 1.2). Cada lote contó con tres réplicas de 100 semillas.

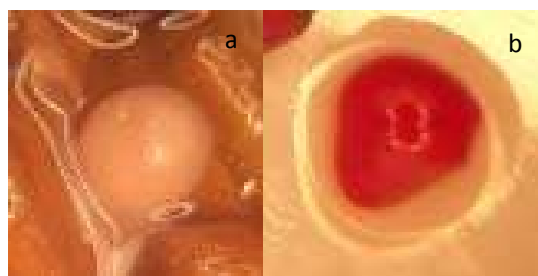


Figura 1.2 Semillas con tinción: a) inviable y b) viable.

#### 6.5 Germinación de semillas de *Carpinus caroliniana* mediante tratamientos pregerminativos.

La germinación en semillas colectadas en junio del año 2018 se evaluó mediante la aplicación de tres tratamientos pregerminativos y un control, en cada uno de los tratamientos se utilizaron 400 semillas divididas en cuatro réplicas de 100 semillas siguiendo las reglas de la Asociación Internacional de Pruebas de Semillas (ISTA 2016). Los tratamientos aplicados fueron: 1) Control (sin tratamiento pregerminativo y sin hormona), 2) Remojo en agua por una semana, 3) Adición directa en sustrato de 0.143 g de Ácido Indol-tres-butirico (AIB, raizon ®) e 4) Inmersión en Ácido giberelico (AG3, SIGMA®) a 1000 ppm por 24 horas. Previo a la aplicación de los tratamientos, las semillas fueron pesadas y colocadas individualmente en viales Eppendorf de 1.5 ml. Después de aplicados

los tratamientos se realizó la siembra en charolas de plástico (60 x 40 x 7 cm), con sustrato hecho a base de Agrolita y Peat moss (turba) en proporciones de 1:1. Las charolas se etiquetaron con el tratamiento correspondiente y se dispersaron de forma aleatoria dentro de la casa sombra (Fig. 1.3). Se mantuvieron bajo condiciones de invernadero, con riego cada tercer día y/o a capacidad de campo. La germinación se registró cada tercer día durante 10 semanas.



Figura 1.3 Germinación de semillas bajo tratamientos pregerminativos.

### **6.6 Ácido giberélico (AG3) en la germinación de semillas de *Carpinus caroliniana*.**

Adicionalmente, se probó si la aplicación de ácido giberélico (AG3) incrementa la germinación de las semillas con diferente año de colecta (2015, 2016 y 2017). Para ello, las semillas de *Carpinus caroliniana* fueron estratificadas por cuatro semanas a 4°C, en sustrato humedecido con agua destilada a capacidad de campo fueron sometidas a un tratamiento pregerminativo con AG3 (SIGMA®), en dos concentraciones: 1000 ppm (T1) y 2000 ppm (T2) y un control (T3). Se utilizaron tres lotes de semillas (2015, 2016 y 2017), que fueron pesadas

individualmente y colocadas en viales Eppendorf de 1.5 ml para la aplicación del tratamiento, generando un total de nueve tratamientos. Las semillas se sumergieron en una solución de AG3 por 24 horas, al finalizar el tiempo de inmersión, las semillas se enjuagaron y fueron sembradas en charolas tipo Flex de 72 cavidades individuales, en sustrato hecho a base de agrolita y Peat moss (turba) en proporciones de 1:1, a una profundidad de 1 cm. Se utilizaron 100 semillas por tratamiento con un total de 900 semillas. Las semillas fueron colocadas en invernadero. El riego se realizó cada tercer día buscando mantener una humedad constante y/o a capacidad de campo. Los registros de germinación se realizaron cada tercer día durante 12 semanas, tomando como semilla germinada la emergencia de la plántula sobre el sustrato.

### **Análisis estadísticos.**

Cumpliendo con los supuestos de normalidad de los datos (prueba de Shapiro-Wilk W). En los tapetes de suelo se realizó la comparación de la densidad de semillas y la emergencia de plántulas mediante un análisis de varianza. En la prueba de viabilidad, los porcentajes de semillas viables se transformaron al arcoseno para cumplir con los supuestos de andeva y se realizó un análisis de varianza utilizando un  $\alpha$  de 0.05 de significancia. Se utilizó un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución binomial, para evaluar diferencias en la germinación entre los tratamientos, y el peso individual por semilla como covariable. Adicionalmente, se calculó la velocidad de germinación (VG) (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996) y se realizó un análisis de supervivencia (Kaplan-Meier) adaptado para evaluar si existen diferencias entre las curvas de germinación de los tratamientos. Los análisis se realizaron con el software JMP Versión 8.0 (SAS Institute).

El modelo de riesgos proporcionales (Modelo de Cox) permite evaluar el efecto de covariables en el tiempo de vida hasta la ocurrencia del evento de interés (Bonfil y Soberón, 1999; Corpas-Nogales y Lara-Porras, 2009). En nuestro caso, este modelo fue adaptado para evaluar el efecto del peso y el tratamiento germinativo en la germinación de semillas de *Carpinus caroliniana*. Cuando el valor del exponente del coeficiente (coef) es mayor a 1 se considera que la covariable tiene un mayor riesgo asociado con la ocurrencia del evento. En nuestro estudio la condición anterior significa un efecto positivo en la

germinación. El análisis se realizó con el paquete “*survival*” del programa *R* Versión 3.5.1 (Therneau 2015).

Para evaluar el efecto del peso de la semilla en la germinación, esta variable se dividió en cuatro categorías: bajo (6 a 8 mg), medio (8 a 10 mg), alto (10 a 12 mg) y muy alto (12-17 mg). En cada uno de los tratamientos pregerminativos se contabilizó el número de semillas germinadas por categoría y se obtuvo el porcentaje de germinación. La categoría de peso alto fue la que presentó el mayor porcentaje de germinación en todos los tratamientos y por tal motivo se utilizó como grupo de referencia. Adicionalmente, este modelo también fue aplicado para evaluar la probabilidad de germinación de los tratamientos pregerminativos de las semillas respecto al tratamiento control.

Finalmente, se realizó la comparación del porcentaje de germinación de semillas en diferentes concentraciones de AG3 y el tiempo de almacenamiento.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Efecto de la distancia en la densidad de semillas de *Carpinus caroliniana*.

En los tapetes tamizados se encontró en promedio 7 (e. e = 2.84) semillas de *Carpinus caroliniana* bajo la copa (2m) y 6 (e. e = 1.67) semillas al borde del árbol (4m). La emergencia de plántulas en los tapetes de suelo comenzó a partir de la segunda semana, dentro de estos tapetes, se registró un promedio de 2 (e. e = 0.79) plántulas emergidas bajo la copa (2m) y 1 (e. e = 0.28) plántula al borde de la copa del árbol (4m). Después de seis meses de evaluación se dejó de observar emergencia de plántulas en los tapetes de suelo. La densidad de semillas y emergencia de plántulas no presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre las distancias (Figura 1.4).

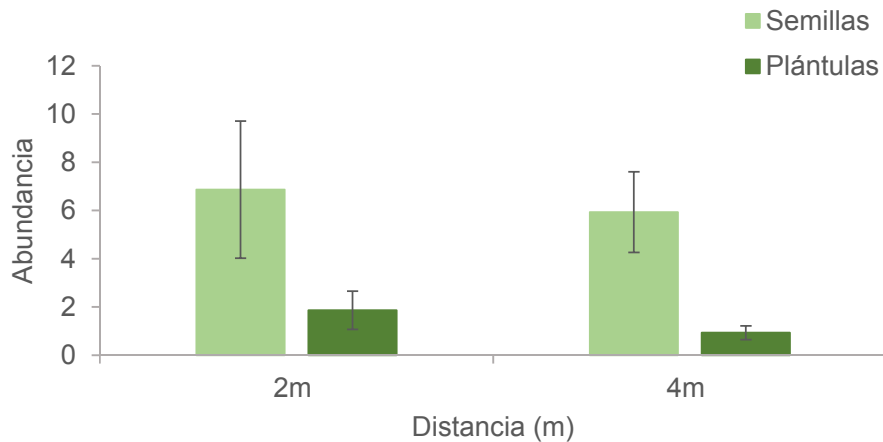


Figura 1.4 Abundancia promedio de semillas y plántulas en tapetes de suelo tamizados y germinados, extraídos a dos distancias de la copa del árbol. Las líneas indican error estándar.

### 7.2 Prueba de Viabilidad con Tetrazolio en semillas de *Carpinus caroliniana*.

La especie *Carpinus caroliniana* mostró bajo porcentaje de semillas viables. El lote del año 2016 presentó el porcentaje más alto de viabilidad, con 18.6%, mientras que los lotes de los años 2015 y 2017 solo presentaron 2% y 5.6%, respectivamente. Sin embargo, el análisis de varianza mostró que las diferencias

los porcentajes de viabilidad entre los lotes de semillas no fueron significativos ( $P > 0.05$ ,  $F = 4.86$ ,  $DF = 2$ ). Durante la evaluación de este experimento, las semillas que no presentaron tinción fueron semillas vanas, las cuales estuvieron representadas por más de 70% en todos los años de colecta.

### 7.3 Germinación de *Carpinus caroliniana* bajo diferentes tratamientos pregerminativos.

Los tratamientos pregerminativos y el peso de la semilla afectaron significativamente ( $P < 0.0001$ ) la germinación ( $\chi^2 106.34$ ,  $DF 3$ , Link-log;  $\chi^2 617.38$ ,  $DF 3$ , Link-log). El efecto del peso de la semilla se analizó posteriormente con un modelo de riesgos proporcionales (ver más adelante). El tratamiento que presentó significativamente ( $P < 0.0001$ ) el porcentaje más alto de germinación respecto al control (28.5%) fue AG3 (41%). También el tratamiento remojo (33.5%) incrementó la germinación sobre el control (28.5%), sin embargo, no mostró diferencias significativas ( $P > 0.0971$ ). Por otro lado, el AIB (15.21%) disminuyó significativamente ( $P < 0.0001$ ) el porcentaje de germinación respecto al control (Fig. 1.5).

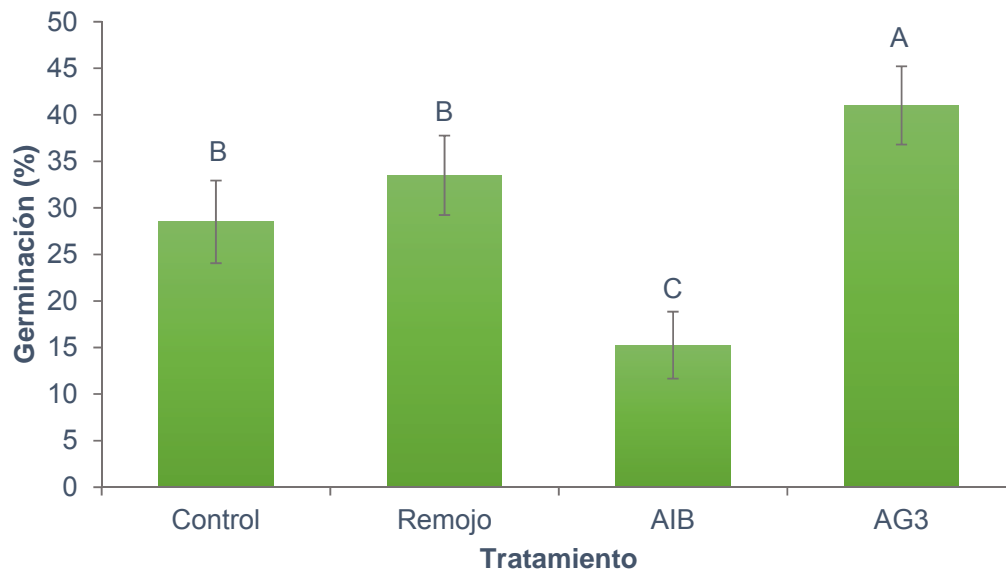


Figura 1.5 Porcentaje de germinación de *Carpinus caroliniana* bajo los tratamientos pregerminativos remojo, AIB (Ácido Indolbutírico), AG3 (Ácido Giberélico) y control (sin remojo y son fitohormonas). Las líneas indican el error estándar y letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.0001$ ).

Aunque el tratamiento remojo fue el primero en iniciar la germinación, el AG3 presentó mayor velocidad y porcentaje de germinación, respecto a los otros tratamientos. Además, se observó que las semillas tratadas con AG3 presentaron una germinación homogénea. El análisis de supervivencia aplicado a las curvas de germinación indicó que los tratamientos pregerminativos afectaron significativamente la velocidad y tiempo de germinación en las semillas de *Carpinus caroliniana* ( $P < 0.0001$ , Wilcoxon,  $\chi^2 = 108.23$ , DF: 3) (Fig. 1.6). El tratamiento control presentó una velocidad de germinación de 2.1 plántulas por día, el remojo 2.52, el AIB 0.91 y el AG3 3.2 respectivamente. El tiempo promedio de germinación de las semillas de *C. caroliniana* fue 29.63 días en el control, 19.87 días en remojo, 47.36 días en AIB y 18.18 días en AG3.

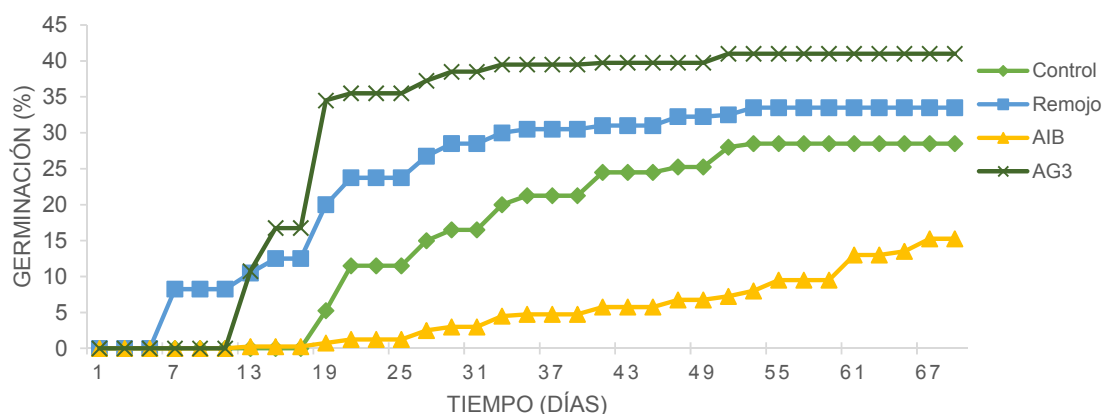


Figura 1.6. Velocidad de germinación de *Carpinus caroliniana* bajo tratamientos germinativos: Control, Remojo, AIB (Ácido Indolbutírico) y AG3 (Ácido giberélico).

#### 7.4 Influencia del peso de las semillas en la germinación.

Aunque las semillas de peso muy alto estuvieron representadas en menor cantidad en el experimento, fue la categoría que presentó mayor éxito de germinación en comparación con los otros tratamientos (Fig. 1.7).

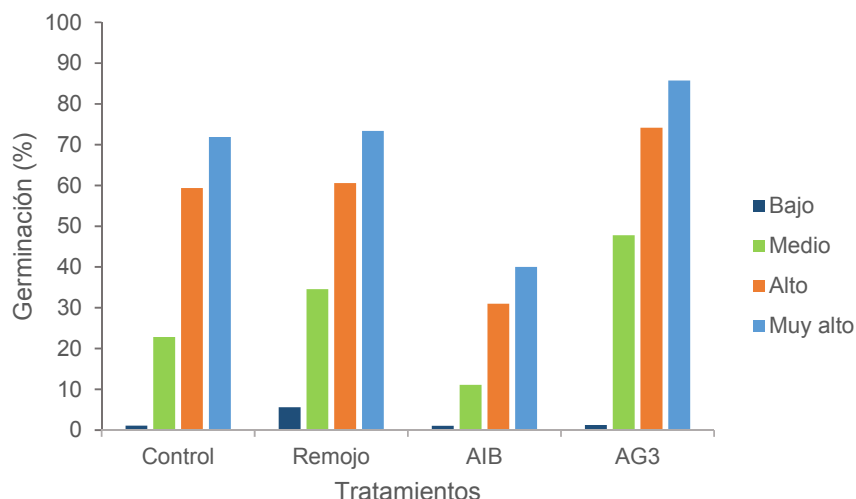


Figura 1.7 Porcentaje de germinación de semillas de acuerdo con su categoría de peso en los tratamientos germinativos control, remojo, AIB (Ácido Indolbutírico) y AG3 (Ácido Giberélico). Peso bajo: 6 a 8 mg, peso medio: 8 a 10 mg, peso alto: 10 a 12 mg y peso muy alto: 12 a 17 mg.

Mediante el análisis de Cox se comprobó que el peso influyó significativamente en la germinación de las semillas. Las categorías de peso bajo y medio presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.0001$ ) respecto a la categoría de peso alto, presentando un efecto negativo en la germinación. La categoría de peso alto presentó una diferencia en la probabilidad de germinación del 97% y 55.45% respecto a las categorías de peso bajo y medio. En contraste, la categoría muy alto incrementó la probabilidad de germinación un 15% sobre la categoría de referencia, no siendo significativo ( $P = 0.2266$ ) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Análisis de riesgos proporcionales del efecto del peso de la semilla en la germinación de *Carpinus caroliniana*.

Categoría	coef	exp (coef)	se(coef)	z	Pr(> z )	
alto		1				
bajo	-3.62276	0.02671	0.25659	-14.119	< 0.0001	***
medio	-0.80874	0.44542	0.13323	-6.07	<0.0001	***
muy alto	0.14162	1.15214	0.12731	1.112	0.227	
<b>significancia</b>	<b>0 ***</b>	<b>0.0001 **</b>	<b>0.01 *</b>	<b>0.05 ". "</b>	<b>0.1</b>	<b>1</b>



En el análisis de Cox se observó que los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas en la probabilidad de germinación respecto al tratamiento control ( $P < 0.0001$ ) (Cuadro 2). Las semillas tratadas con AIB presentaron una diferencia del 50.98% en la germinación respecto al tratamiento Control, siendo un efecto negativo ( $P < 0.0251$ ). En cambio, los tratamientos remojo y AG3 incrementaron la probabilidad de germinación en un 33% y 79% respecto al tratamiento de referencia, siendo una diferencia altamente significativa ( $P = 0.0001$ ).

Cuadro 2. Análisis de riesgos proporcionales sobre el tratamiento en la germinación de semillas de *Carpinus caroliniana*.

Tratamiento	coef	exp (coef)	se(coef)	z	Pr(>  z )	
Control		1				
Remojo	0.2855	1.3304	0.1274	2.24	0.0251	*
AIB	-0.7129	0.4902	0.1587	-4.492	0.0001	***
AG3	0.5839	1.7931	0.122	4.785	0.0001	***
<b>significancia</b>	<b>0 ***, 0.001 **, 0.01 *, 0.05 ".", 0.1, 1</b>					
Likelihood ratio test statistic = 91.99, d.f. 3, $P = < 0.0001$						

### 7.5 Ácido giberélico (AG3) en la germinación de semillas de *Carpinus caroliniana*.

En la germinación mediante la aplicación de diferentes concentraciones de Ácido giberélico, solo se presentó germinación en el lote de semillas del año 2017 con un porcentaje de 3% en T1, 1% en T2 y 4% en el control (Cuadro 3). Entre los factores que pudieron afectar la germinación de semillas en los años 2015 y 2016, fue el tiempo de almacenamiento y la inmadurez de la semilla. Las semillas germinadas del año 2017 presentaron un peso promedio de 11.06 mg.

Cuadro 3. Porcentaje de germinación en semillas de *Carpinus caroliniana* en lotes de semillas bajo diferentes concentraciones de Ácido giberélico.

Tratamiento/ Año	2015	2016	2017
T1: Ácido giberélico (AG3) a 1000 ppm	-	-	3%
T2: Ácido giberélico (AG3) a 2000 ppm	-	-	1%
T3: Control	-	-	4%

## 8. DISCUSIÓN

El banco de semillas determina el potencial de regeneración de una especie (Díaz-Villa, Marañón y Arroyo, 2002). Según Marañón (2001), cuando las semillas permanecen viables en el suelo por un largo tiempo, se incrementa la probabilidad de recuperación de una población, incluso después de un disturbio. En este estudio, mediante la evaluación de tapetes de suelo se observó que esta especie tiende a presentar mayor densidad de semillas y emergencia de plántulas bajo el árbol, en comparación con el borde de la copa. En tanto que, la germinación y emergencia de plántulas en tapetes de suelo se observó durante los primeros tres meses, después de estar sometidos a condiciones semicontroladas en invernadero con riego a capacidad de campo.

No se encontraron reportes previos sobre la prueba de viabilidad mediante la utilización de tetrazolio en *Carpinus caroliniana*. En este estudio, la prueba de viabilidad demostró ser altamente confiable, al observarse teñido la totalidad del embrión. Mediante la prueba de tetrazolio se determinó que el porcentaje de semillas viables de *Carpinus caroliniana* es muy bajo (entre 2 y 18%) y no dependió del año de colecta de la semilla, aunque las semillas con menor tiempo de colecta mostraron tendencia a mostrar mayor germinación.

Así mismo, mediante esta prueba se ha podido cuantificar la pérdida de viabilidad a través del tiempo de almacenamiento. Enríquez-Peña y Malda-Barrera (2002), en su estudio reportan que la viabilidad de *Taxodium mucronatum* disminuyó después de 21 meses de almacenamiento. Por otra parte, González-Salvatierra *et al.*, (2013), encontró que las bellotas de *Quercus polymorpha* presentan un 61% de viabilidad después de un año de almacenamiento. Aunque nuestros resultados concuerdan con lo reportado por estos autores, ya que el lote de semillas de *C. caroliniana* con mayor tiempo de almacenamiento (3 años) presentó el porcentaje más bajo de viabilidad, las diferencias con lotes de 2 y 1 año no fueron significativas.

En estudios previos se ha demostrado que el AG3 incrementó el porcentaje y velocidad de germinación en semillas latentes (Taiz y Zeiger 2006; Ludeña-Velásquez 2012), especialmente en especies de bosque templado (Pipinis *et al.*, 2014). Mediante la aplicación de AG3, se ha logrado incrementar el porcentaje

de germinación en especies de *Carpinus*, evidenciando que la semilla presenta latencia impuesta por el endospermo (Susuki 2000; Czapracki y Holubowicz 2010b). Incluso la aplicación de AG3 ha podido reemplazar el periodo de estratificación de la temperatura invernal en especies de *Carpinus* (Pipinis *et al.*, 2012). En este estudio, se encontró una alta efectividad de las giberelinas en la germinación de *Carpinus caroliniana* en la cual, la velocidad y porcentaje de germinación fue más alto mediante la aplicación de AG3 (41%). Cabe mencionar que en las semillas donde se aplicó el AG3, la germinación y crecimiento de las plántulas fue más homogéneo. Sin embargo, las giberelinas no promovieron la germinación en semillas con diferentes años de colecta.

## 9. CONCLUSIONES

- Las semillas de *Carpinus caroliniana* presentan tendencia a una corta dispersión, donde el mayor número se concentra debajo de la copa del árbol. Registrando mayor efectividad de germinación en un radio de dos metros a partir de la base del árbol.
- En general, la especie presentó bajos porcentajes de viabilidad. El lote que presentó mayor porcentaje de viabilidad fue el año 2016 (18%).
- El ácido giberélico presentó un efecto positivo en la velocidad y germinación de la especie.
- El peso de la semilla influye positivamente en la germinación, en mayor proporción en semillas con un peso a partir de 10 mg.
- Semillas del año de colecta reciente tiene mayor viabilidad y capacidad germinativa que las de colecta anteriores, es decir pierde viabilidad con el paso del tiempo.

## Capítulo II

**Emergencia y supervivencia de plántulas de *Carpinus caroliniana in situ*.**

## RESUMEN

Las especies arbóreas de bosque mesófilo de montaña son altamente vulnerables durante las fases iniciales de su ciclo de vida (semilla-plántula), debido al conjunto de factores bióticos y abióticos que dificultan el reclutamiento de nuevos individuos, y que pueden poner en riesgo la persistencia de sus poblaciones. En este trabajo se evaluó la supervivencia de plántulas *in situ* de la especie arbórea *Carpinus caroliniana* bajo tres condiciones de apertura de dosel: sombra, intermedio y expuesto al sol. Se establecieron seis parcelas en cada condición de dosel, en las cuales, se evaluó por cohorte la densidad de plántulas emergidas y su supervivencia durante la época de lluvias y la época seca. Como trabajo complementario, al siguiente año se realizó la evaluación de la remoción de hojarasca en la emergencia, establecimiento y supervivencia en plántulas de *Carpinus caroliniana*. En este estudio se encontró que la mayor densidad y emergencia de plántulas de esta especie se da en el mes de julio. La alta humedad en el suelo en los primeros meses favoreció la emergencia de plántulas *in situ*. El tratamiento sombra e intermedio registraron la mayor densidad de plántulas. La supervivencia de plántulas fue baja en todas las cohortes evaluadas, donde más del 50% mueren dentro del primer mes y la mortalidad total se registró a los siete meses. En la remoción de hojarasca, la mayor densidad de plántulas se encontró en la remoción parcial y el control, y la menor densidad en remoción total. Nuevamente la cohorte de julio registró la mayor densidad de plántulas. En general la supervivencia por cohorte fue menor al 5%. La cohorte de julio presentó un porcentaje de supervivencia de 1.5% en la remoción total, mientras que la cohorte de agosto presentó su porcentaje de supervivencia más alto en control 3.3%. Las cohortes de octubre y septiembre registraron la mortalidad de sus plántulas al segundo mes de evaluación. La humedad y temperatura del suelo no fueron diferentes entre los tratamientos, sin embargo, si presentaron diferencias a lo largo del periodo de evaluación. El bajo porcentaje de establecimiento de plántulas presente tanto en la apertura de dosel como en la remoción de hojarasca, confirma el requerimiento de un hábitat con condiciones muy específicas para su establecimiento, mostrando la dificultad para el establecimiento y supervivencia de la especie al no haber reclutamiento natural.

## Abstract

Tree species of tropical mountain cloud forest are highly vulnerable during the initial phases of their life cycle (seed-seedling), due to the combination of biotic and abiotic factors that hinder the recruitment of new individuals, and that can put persistence at risk of their populations. In this study, survival of in situ seedlings of the *Carpinus caroliniana* tree species was evaluated under three canopy opening conditions: shade, intermediate and exposed to the sun. Six plots were established in each canopy condition, in which the density of emerged seedlings and their survival during the rainy season and the dry season were evaluated by cohort. As a complementary work was carried out the evaluation of litter removal in the emergence, establishment and survival in *Carpinus caroliniana* seedlings. In this study it was found that the highest density and emergence of seedlings of this species occurs in the month of July. The high humidity in the soil in the first months favored the emergence of seedlings in situ. Shade and intermediate treatments recorded the highest density of seedlings. Seedling survival was low in all the evaluated cohorts, where more than 50% died within the first month and total mortality was recorded at seven months. In leaf litter removal, the highest density of seedlings was found in the partial removal and control, and the lowest density in the control. The July cohort recorded the highest density of seedlings. In general, survival by cohort was less than 5%. The July cohort presented a survival rate of 1.5% in the total removal, while the August cohort presented its highest survival percentage in control 3.3%. The cohorts of October and September recorded the mortality of their seedlings at the second month of evaluation. The humidity and temperature of the soil were not different between the treatments; however, they did present differences throughout the evaluation period. The low percentage of establishment of seedlings present both in the opening of canopy and in the removal of litter, confirms the requirement of a habitat with very specific conditions for its establishment, showing the difficulty for the establishment and survival of the species as there is no recruitment natural.

## 1. INTRODUCCIÓN

El establecimiento de árboles y arbustos requiere de una serie de procesos enlazados en los cuales intervienen la producción de frutos, la dispersión de semillas, su germinación y el establecimiento de plántulas (Pearson *et al.*, 2002; Villar *et al.*, 2004). En la regeneración natural de los bosques, la fase plántula es considerada como la etapa más crítica, que define en gran parte la dinámica de las poblaciones vegetales (Bazzaz y George 1999; Villar *et al.*, 2004; Padilla Ruíz 2008).

En los bosques mesófilos de montaña la estructura del dosel es más cerrada que otros tipos de vegetación, con poca disponibilidad de luz y baja variación en la temperatura (Escobar Escobar y Torres G. 2013). Dentro de este tipo de vegetación, las plántulas compiten por espacio, recursos hídricos y radiación solar para sobrevivir (Sánchez-Gómez, Zavala, y Valladares 2006). Además, durante los primeros estadios de vida, las plántulas tienen una alta susceptibilidad a los cambios drásticos en el régimen de precipitación, que repercute directamente en la dinámica de regeneración natural de los bosques (Urbieto *et al.*, 2008). La presencia de una alta humedad permite una pronta germinación de las semillas, y su crecimiento dependerá de su habilidad para crecer y ocupar nuevos espacios como la apertura de claros (Escobar Escobar y Torres G. 2013).

El establecimiento de las plántulas requiere de un banco de semillas presente en el suelo, semillas que luchan por encontrar un sitio adecuado para germinar y establecerse. Aunado a esto, las semillas cuentan con diferentes estrategias para colonizar ambientes adecuados como el tamaño de la semilla, en el cual, las especies pioneras que producen semillas grandes con alto contenido de reservas energéticas presentan poca capacidad de dispersión, mientras que, las semillas pequeñas pueden cubrir una mayor área de distribución (Pearson *et al.*, 2002).

Uno de los problemas que enfrentan las semillas dentro del sotobosque es su permanencia, algunas se pierden y otras tienen limitantes para emerger del sustrato. Las semillas pequeñas se producen en mayor cantidad, sin embargo,



debido a su tamaño contienen menor cantidad de reservas energéticas y presentan bajo porcentaje de viabilidad (Harms *et al.*, 2000). Así mismo, de las semillas que son dispersadas, solo una pequeña proporción que cae al suelo es capaz de germinar y transitar a las etapas siguientes (Harms *et al.*, 2000; Pearson *et al.*, 2002; Rivera-Fernández *et al.*, 2012).

El establecimiento de las plántulas depende principalmente de las condiciones microclimáticas que imperan en el sitio, mientras que la humedad del suelo favorece la germinación de las semillas, el exceso de este recurso puede provocar la mortalidad de las plántulas. Se ha observado que las lluvias en los periodos húmedos, forman un cuello de botella crítico en las etapas más tempranas del reclutamiento, tanto en la germinación como la emergencia y establecimiento de las plántulas, efectos que son poco conocidos y estudiados en los bosques mesófilos de montaña (Pérez-Ramos 2007).

Otro de los factores que afecta el reclutamiento y establecimiento de las plántulas es la fragmentación de los bosques. Así como la caída de un árbol permite la entrada de luz y abre un espacio para el crecimiento de las plántulas, la apertura de claros intencionales provoca una alteración de las condiciones a nivel de micrositio. Dentro del sotobosque, la disponibilidad de luz es limitada (Romo Reategui 2005), donde la humedad y la temperatura pueden cambiar en áreas muy pequeñas, incluso en menos de un metro de distancia (Riley y Jones 2003).

Así mismo, se ha reportado que la mayor mortalidad de plántulas es durante la sequía estival, por lo que su supervivencia depende principalmente, de su habilidad para hacer frente al estrés hídrico y la capacidad de acceder a los nutrientes del suelo (Padilla Ruíz 2008). Otros factores que se encuentran limitando el establecimiento de las plántulas e incrementan su mortalidad son la lenta descomposición de hojarasca, incapacidad de anclaje de la raíz al suelo, herbivoría y daños mecánicos por animales (Portela y Dos Santos 2009; Abellanas 2014), aspectos que han sido poco estudiados en los bosques mesófilos de montaña (Urbieta *et al.*, 2008).

Debido a la problemática que enfrenta este tipo de vegetación, es necesario incrementar los estudios sobre los factores que influyen en la regeneración natural de las especies nativas (Abellanas 2014), que limitan su establecimiento

y supervivencia. En especial, de aquellas que forman parte importante en la estructura arbórea, y que pueden servir de referencia para ser utilizadas en programas de restauración ambiental, como lo es *Carpinus caroliniana* que se encuentra en categoría de amenazada (NOM-059-SEMARNAT-2010). Actualmente, se llevan a cabo numerosas reforestaciones con diferentes especies, que implica mayor inversión de recursos y creación de masas forestales homogéneas con un escaso porcentaje de establecimiento (Ramírez-Marcial *et al.*, 2006).

## 2. ANTECEDENTES

La fragmentación es una de las principales amenazas para los bosques mesófilos de montaña, aumentando su vulnerabilidad que repercute directamente en su mantenimiento y conservación. Con la extinción local de especies se pierden interacciones en el ecosistema vegetal, principalmente, en especies intermedias o tardías que requieren de la presencia de un estrato forestal continuo para su establecimiento (Rocha-Laredo y Ramírez-Marcial 2009).

Una de las etapas más vulnerables dentro del ciclo de una planta es el estadio de plántula (Castillo-Argüero, Martínez-Orea, y Barajas-Guzmán 2014). Para que una plántula se pueda establecer requiere de condiciones específicas que incrementen sus probabilidades de colonización, uno de los más importantes es la calidad del hábitat, que en las plantas se encuentra fuertemente determinado por la cantidad y tipo de hojarasca (Rocha-Laredo y Ramírez-Marcial 2009). Actualmente, son pocos estudios que evalúan la producción y descomposición de la hojarasca (Williams-Linera, Manson, y Isunza Vera 2002; Vargas-Parra y Varela 2007; Rocha-Laredo y Ramírez-Marcial 2009) en los bosques mesófilos, así como los determinantes de la acumulación y descomposición (Gaspar Santos 2013).

La producción y descomposición de hojarasca son procesos naturales que permite la integración de nutrientes que contribuyen al enriquecimiento y fertilidad del suelo. Su velocidad de descomposición se encuentra influenciada por el clima, el tipo de hojarasca y la presencia de organismos degradadores que realizan esta acción (Rocha-Laredo y Ramírez-Marcial 2009). Estos procesos son diferentes entre los bosques de acuerdo al tipo de vegetación y al estado sucesional que presentan (Gaspar-Santos *et al.*, 2015).

Entre los servicios ambientales que provee la capa de hojarasca son la retención de la humedad y la escorrentía del agua e incrementa la infiltración en el suelo (Gaspar-Santos *et al.*, 2015). Se ha reportado que las hojas representan aproximadamente el 72% de la producción total de materia orgánica en los bosques mesófilos (Gaspar-Santos *et al.*, 2015). Así mismo, Portela y Santos (2009) determinaron que el mayor daño mecánico en plántulas es causado en

un 68% por la hojarasca, lo cual es considerado como el principal factor en la supervivencia y regeneración natural de las plántulas. Gaspar-Santos (2013) en su estudio, encontró que el ciclado de nutrientes en el bosque mesófilo de montaña es relativamente lento, con baja actividad microbiana en los procesos de descomposición y acumulación de hojarasca, por lo que presenta una gran acumulación de materia orgánica. Madrigal, Hernando, y Guijarro, (2011), menciona que la capa de hojarasca brinda protección a la semilla después de ser dispersada y favorece la germinación, tanto de especies pioneras como herbáceas y arbustivas, sin embargo, se crea una fuerte competencia entre las plántulas por el espacio reduciendo las probabilidades de supervivencia.

Actualmente, se conoce muy poco sobre la productividad primaria y la dinámica de poblaciones y comunidades en los bosques mesófilos (Vargas-Parra y Varela 2007), por lo que es importante realizar estudios sobre el efecto de la hojarasca en el establecimiento y supervivencia de plántulas.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo general

- Explorar los factores que influyen en el establecimiento y supervivencia de plántulas de la especie arbórea *Carpinus caroliniana* del bosque mesófilo de montaña en condiciones de campo.

#### 3.2 Objetivos particulares

- Evaluar la densidad y supervivencia de plántulas *in situ* bajo tres condiciones de apertura de dosel (sombra, intermedio y expuesto).
- Evaluar el efecto de remoción de hojarasca en el establecimiento y supervivencia de *Carpinus caroliniana in situ*.

## 4. HIPÓTESIS

Dado que el tipo de vegetación donde se desarrolla la especie de estudio, produce una alta acumulación de hojarasca que le confiere un sustrato propicio para la germinación de la semilla, éste podría al mismo tiempo estar afectando el reclutamiento de plántulas en los siguientes estadíos.

- La densidad de plántulas puede variar dependiendo de las condiciones de apertura de dosel. En condiciones intermedias de luz *in situ*, se encontrará una mayor densidad de plántulas que en condiciones de ausencia o extrema insolación.
- En cuanto a la remoción de hojarasca en parcelas *in situ*, se espera encontrar mayor reclutamiento de plántulas en tratamientos con remoción de hojarasca a diferencia de las que no presenten remoción.

## 5. ÁREA DE ESTUDIO

### 5.1 Sitio de Estudio.

La Estación Biológica Vasco de Quiroga (EBVQ) se localiza en el predio La Alberca, municipio de Uruapan Michoacán, entre las coordenadas 19°25'33.108" y 19°29'28.91" norte y 102°0'16.52" y 102° 0' 18.43" oeste aproximadamente (Fig. 2.1). Su clima corresponde a semicálido húmedo con abundantes lluvias en verano. Dentro de la estación biológica se ubica el remanente del BMM, que representa el 20% de la superficie del predio, distribuido entre 2010 y 2090 msnm. Presenta una topografía accidentada, como resultado de la formación de diversos volcanes en la entidad, con cañadas de suaves a escarpadas y pendientes de entre 7° a 37°. Los suelos que conforman el bosque son andosol en las partes bajas y roca extrusiva. Este tipo de bosque se encuentra dominado por la especie *Carpinus caroliniana* principalmente. Otras especies que comparten esta vegetación son *Quercus obtusata*, *Q. candicans*, *Pinus pseudostrobus*, *Cornus disciflora*, *Styrax argenteus* (Fuentes-Chávez y Reyes-Martínez 2016).



Figura 2.1 Localización del área de estudio del Bosque Mesófilo de Montaña en la Estación Biológica Vasco de Quiroga UMSNH. Municipio de Uruapan, Michoacán, México.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 Evaluación de la emergencia y supervivencia de plántulas *in situ* de *Carpinus caroliniana* Walt. bajo distintas aperturas de dosel.

Se evaluó la supervivencia *in situ* de plántulas de *Carpinus caroliniana* en tres tratamientos de aperturas de dosel (sombra, intermedio y expuesto), en un rodal de Bosque Mesófilo de Montaña. En cada tratamiento se delimitaron seis parcelas de 3 x 3 m (Fig. 2.2a), y se cuantificó la apertura de dosel con imágenes hemisféricas analizadas con WinScanopy™ Versión 2014. En cada parcela se marcaron mensualmente las plántulas emergidas (Fig. 2.2b) y se registró la supervivencia de cada cohorte de julio a diciembre de 2017 (época de lluvias) y enero a junio de 2018 (época seca). En cada registro de emergencia se midió la humedad y temperatura del suelo con el equipo Soil moisture kit 150 ΔT.



Figura 2.2. a) Delimitación de parcelas *in situ* y b) marcaje de plántulas para la evaluación del establecimiento y supervivencia de plántulas de *Carpinus caroliniana* bajo tres condiciones de apertura del dosel.

### 6.2 Efecto de la remoción de hojarasca en el establecimiento y supervivencia *in situ* de *Carpinus caroliniana*.

Con la finalidad de evaluar el efecto de la cantidad de hojarasca en el establecimiento y supervivencia de plántulas de *Carpinus caroliniana*, previo a la época lluviosa de 2018 se establecieron 63 cuadrantes de 1 m<sup>2</sup> dentro del área del Bosque Mesófilo de forma aleatoria bajo árboles semilleros. Los cuadrantes se dividieron en dos tratamientos de remoción de hojarasca: remoción parcial de



hojarasca (dejando un 50%), remoción total y control (Sin remoción de hojarasca). El establecimiento de las parcelas se realizó en el mes de mayo previo a la dispersión de semilla. La remoción de hojarasca se realizó manualmente teniendo especial cuidado para no remover la semilla. Las evaluaciones se realizaron de forma mensual de junio a diciembre de 2018, en cada visita se marcó y registró la emergencia y supervivencia de las plántulas. Las plántulas registradas por mes fueron tomadas como eventos independientes de germinación denominadas cohortes. Se midió la humedad y temperatura del suelo, así como el grosor de la hojarasca en cada uno de los cuadrantes.

### **Análisis estadísticos**

Se probó la normalidad de los datos (Prueba de Shapiro-Wilk  $W$ ) y se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para evaluar si existen diferencias en el número de plántulas emergidas entre los tratamientos de apertura de dosel (sombra, intermedio y expuesto) y remoción de hojarasca (remoción parcial, remoción total y control sin remoción). Se realizó un análisis de supervivencia (Estimador Kaplan Mier) para conocer si el tiempo de supervivencia de las plántulas fue diferente entre los tratamientos de apertura de dosel y remoción de hojarasca. Los análisis estadísticos se realizaron con el Software JMP Versión 8.0 (SAS Institute).

El efecto de la cobertura de dosel, humedad y temperatura del suelo en la supervivencia de las plántulas se evaluó con un análisis de riesgos proporcionales (modelo de Cox). Esta prueba semiparamétrica mide el efecto de un conjunto de variables en el tiempo que ocurre un evento (Bonfil y Soberon, 1999), en nuestro caso la muerte de una plántula. Su interpretación se basa utilizando la relación de riesgo (HR), en donde un valor igual a 1 indica que la variable no ejerce ningún efecto y un valor mayor a 1 indica que la variable modifica la incidencia de mortalidad de las plántulas (García 2012; George *et al.*, 2014). El análisis se realizó con el paquete “*survival*” del programa *R* Versión 3.5.1 (Therneau 2018).

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Evaluación *in situ* en la emergencia y supervivencia de plántulas de *Carpinus caroliniana* bajo condiciones distintas de apertura de dosel.

#### Apertura del dosel.

La apertura promedio del dosel fue estadísticamente distinta ( $P < 0.0001$ ) entre los tratamientos: sombra 5.52% (e.e. = 0.30), intermedio 6.39% (e.e. = 0.05) y expuesto 7.16% (e.e. = 0.15). La prueba de comparación medias de Tukey mostro que los tratamientos difirieron estadisticamente entre si ( $P < 0.0001$ ) (Fig. 2.3).

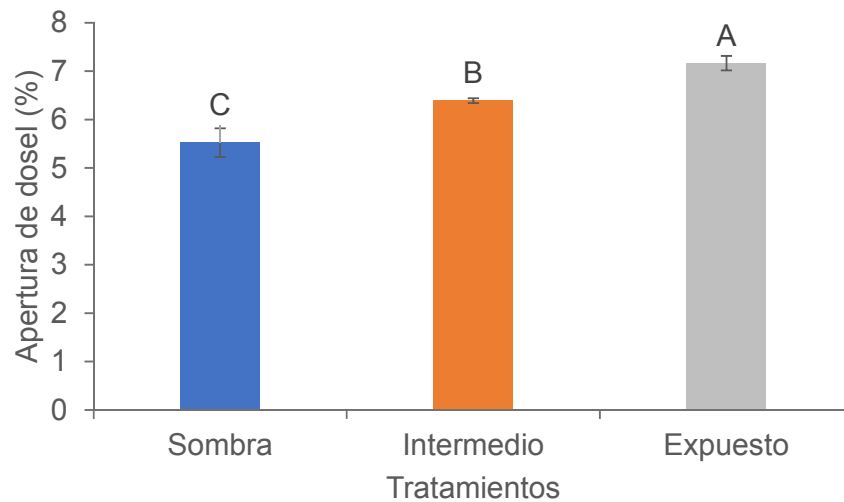


Figura 2.3. Porcentaje de apertura de dosel en plántulas de *Carpinus caroliniana* bajo distintos tratamientos de dosel *in situ*. Promedio y error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas  $P < 0.0001$ .

### Número de plántulas vs apertura de dosel.

Se registró un total de 962 plántulas durante el periodo de evaluación. El mayor número de plántulas (391) se presentó en el tratamiento intermedio de apertura de dosel, seguido de 353 plántulas en y 218 plántulas en el tratamiento (Fig. 2.4).

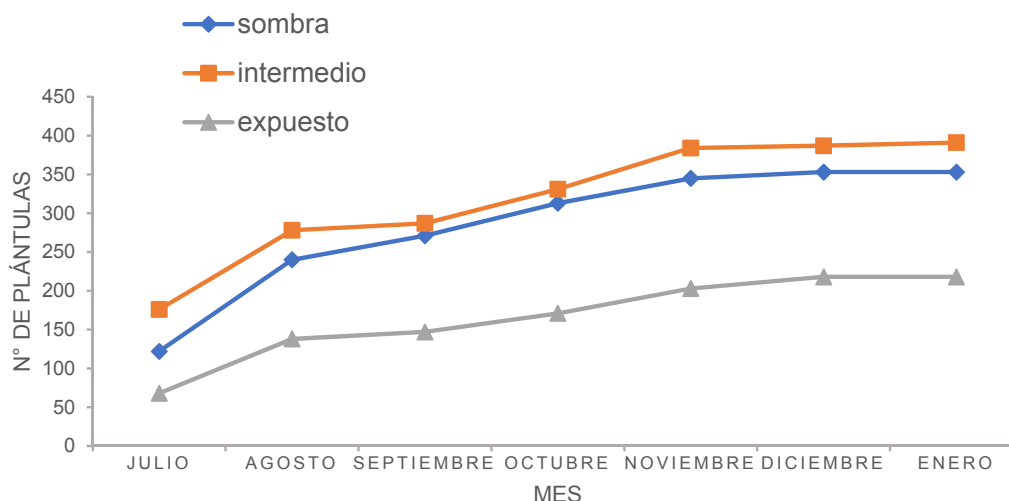


Figura 2.4. Número acumulado de plántulas registradas bajo los tratamientos de apertura de dosel en parcelas *in situ* de *Carpinus caroliniana*.

Sin embargo, el análisis de varianza no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $P=0.62$ ), en el número promedio de plántulas emergidas debido a la apertura de dosel. La apertura intermedia de dosel tuvo 56 plántulas en promedio, seguido del tratamiento sombra con 50 plántulas y el expuesto registró un promedio de 31 plántulas.

### Supervivencia por cohorte.

La densidad de plántulas fue muy variable y no se observó un patrón claro sobre la preferencia en la apertura para emerger. La cohorte que reportó el mayor número de plántulas fue la del mes de julio (366 plántulas) y la cohorte con el número más bajo de plántulas fue la de diciembre (26 plántulas) (Fig. 2.5). Así mismo, al comparar el número de plántulas entre cada apertura de dosel por cohorte no se encontraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ).

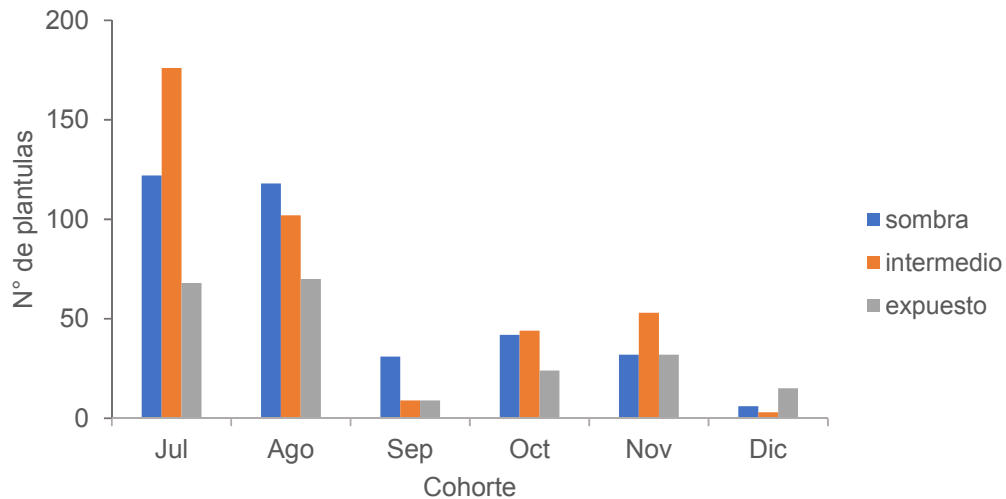


Figura 2.5. Número de plántulas registradas por cohorte en parcelas *in situ* de *Carpinus caroliniana* bajo tratamientos de apertura de dosel.

La supervivencia de las plántulas en general fue muy baja para todas las cohortes evaluadas, ya que más del 50% de plántulas murió durante el primer mes. La cohorte que presentó el mayor tiempo de supervivencia fue la de agosto con 210 días, seguido por la del mes de octubre con 150 días y la cohorte con la menor supervivencia fue la de septiembre con 30 días (Fig. 6). En todas las cohortes se observó el mismo patrón: alta emergencia de plántulas y alto porcentaje de mortalidad, independientemente de la apertura de dosel. Por ejemplo, en la cohorte de julio el porcentaje de plántulas que sobrevivió al segundo mes fue menor a 5%, registrándose la mortalidad total de las plántulas al cuarto mes (Fig. 7).

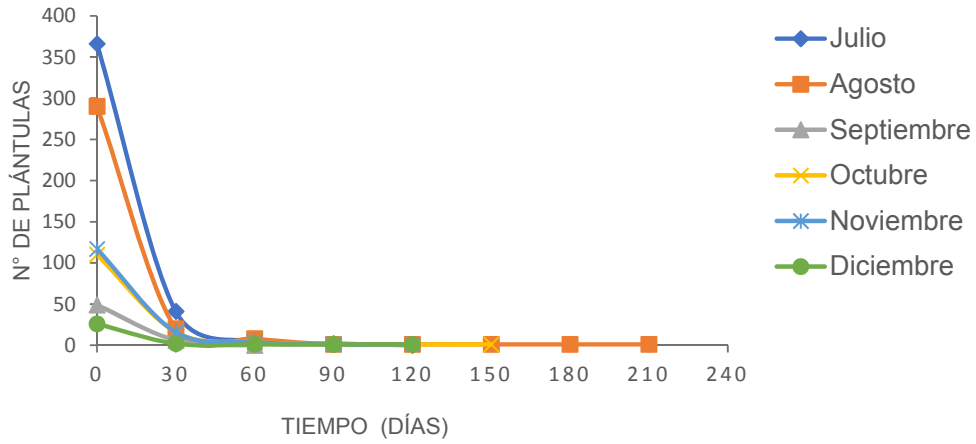


Figura 2.6 Supervivencia general por cohorte en plántulas *in situ* de *Carpinus caroliniana* bajo diferentes tratamientos de apertura de dosel.

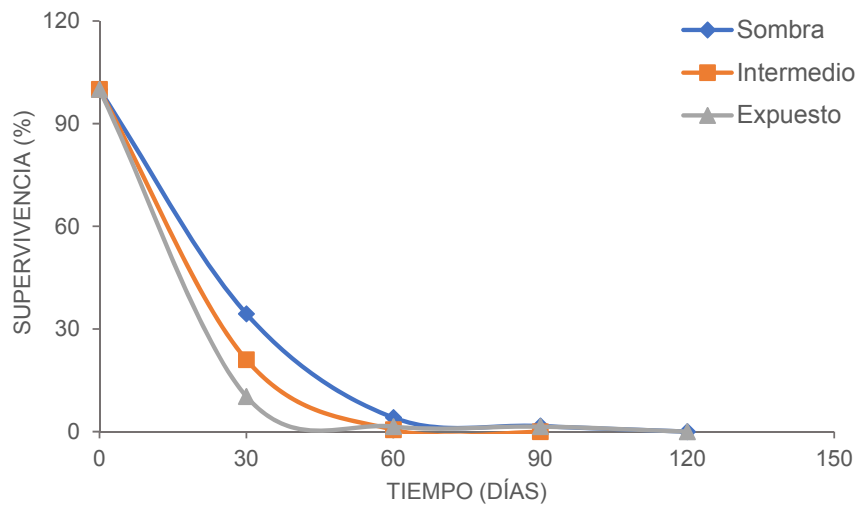


Figura 2.7 Porcentaje de supervivencia de plántulas *in situ* de *Carpinus caroliniana* en la cohorte de Julio bajo tratamientos de apertura de dosel.

### Humedad y temperatura del suelo vs apertura de dosel.

Aunque el porcentaje más alto de humedad de suelo, con una media de 18.61%, se observó en el tratamiento expuesto con mayor apertura del dosel, seguido del tratamiento de apertura intermedia, con 16.14% y el tratamiento sombra con menor apertura presentó el menor porcentaje de humedad del suelo, con 14.63%, el análisis de varianza (ANOVA) mostró que las diferencias en la humedad del suelo por la apertura del dosel no fueron significativas ( $P=0.0844$ ). La temperatura del suelo tampoco fue significativamente diferente entre los tratamientos con diferente apertura del dosel. Por otro lado, se encontró una diferencia significativamente alta ( $P < 0.0001$ ) en la humedad del suelo entre los meses evaluados (julio a mayo). El valor más alto se registró en el mes de septiembre, con un promedio de 29.25% en el tratamiento con mayor apertura del dosel y el valor más bajo se registró en abril en el tratamiento con menor apertura del dosel e intermedio, con un valor de 3.36% de humedad (Fig. 2.8).

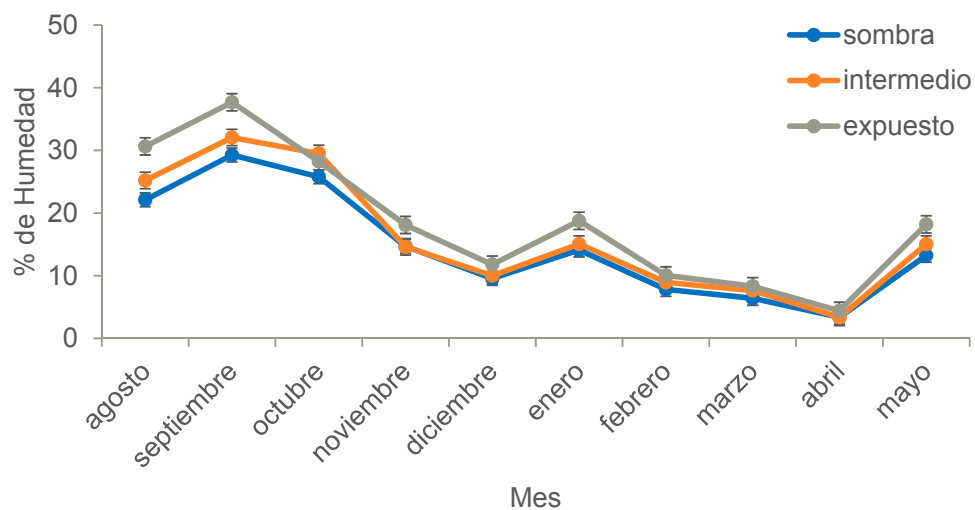


Figura 2.8 Promedio de humedad por mes bajo tratamientos de apertura de dosel, las barras indican el error estándar.

El análisis de riesgos proporcionales mostró que los parámetros analizados generaron un efecto en la probabilidad de supervivencia de plántulas. Dentro de la cohorte del mes de agosto, la apertura de dosel fue la variable que ejerció

mayor efecto ( $P > 0.0001$ ), mientras que la variable humedad presentó mayor efecto en las cohortes de octubre ( $P > 0.00062$ ) y noviembre ( $P > 0.00042$ ).

En las cohortes de los meses de julio y agosto se encontró mayor supervivencia en el tratamiento con menor apertura del dosel, el cual presentó el porcentaje de humedad menor respecto a los otros tratamientos. En la cohorte de septiembre, la supervivencia de las plántulas declinó abruptamente en los tres tratamientos de apertura del dosel e independiente de la humedad. Por el contrario, en la cohorte de octubre se presentó la mayor supervivencia de plántulas dentro del tratamiento con menor apertura del dosel, bajo condiciones intermedias de humedad del suelo, mientras que, en la cohorte de noviembre se encontró mayor supervivencia bajo el tratamiento con mayor apertura del dosel, que presentó el mayor porcentaje de humedad.

## **7.2 Emergencia y supervivencia de plántulas *in situ* de *Carpinus caroliniana* bajo tratamientos de remoción de hojarasca.**

Se registró un total de 3,769 plántulas emergidas, de las cuales 1,575 se encontraron bajo el tratamiento de remoción parcial de hojarasca, 1,402 plántulas bajo el control o sin remoción de hojarasca y 792 plántulas en el tratamiento de remoción total (Fig. 2.9). El modelo lineal generalizado GLM-Poisson mostró que las diferencias en el número de plántulas emergidas entre los tratamientos de remoción de hojarasca fueron estadísticamente significativas ( $P < 0.0001$ ;  $\chi^2 = 288.8434$ ,  $Df=2$ ). En general, el tratamiento remoción parcial registró la mayor densidad de plántulas, mientras que la remoción total registró el menor número de plántulas.

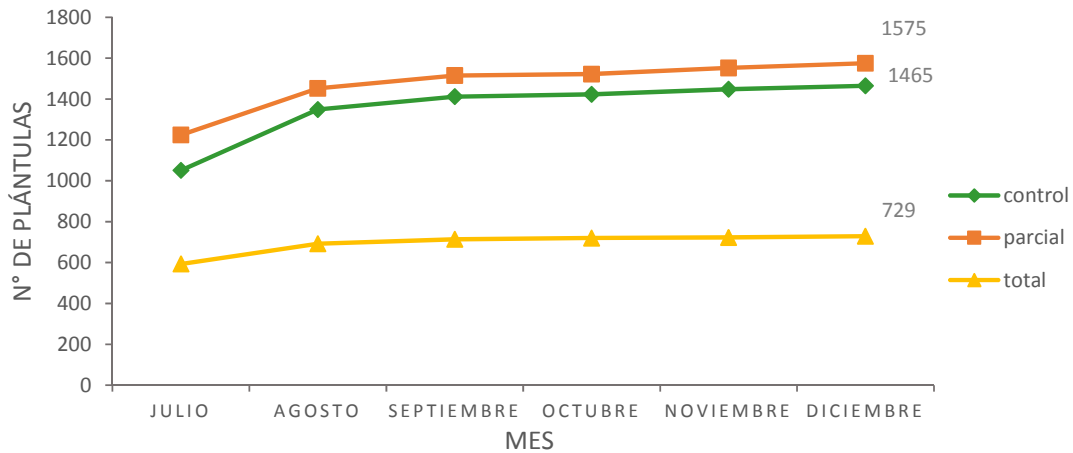


Figura 2.9 Curva de acumulación de plántulas registradas bajo los tratamientos de remoción de hojarasca *in situ* durante el tiempo de evaluación.

### Evaluación por cohorte.

La evaluación de los tratamientos con remoción de hojarasca se llevó a cabo de mayo a diciembre. Durante los dos primeros meses de evaluación (mayo y junio) no se observaron plántulas emergidas y la mayor densidad de plántulas se registró dentro de la cohorte del mes julio (Fig. 2.10).

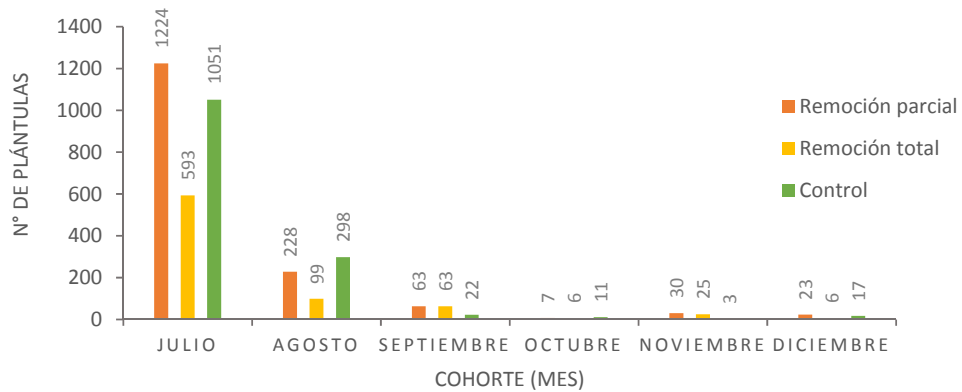


Figura 2.10 Densidad de plántulas registradas dentro de los tratamientos de remoción de hojarasca por cohorte.



La densidad de plántulas emergidas en los tratamientos de remoción de hojarasca fue muy variable en todas las cohortes. En términos generales en la cohorte del mes de julio, el tratamiento de remoción parcial presentó la mayor densidad de plántulas (1224) y la remoción total la densidad más baja (593), no siendo significativos. En cambio, en la cohorte del mes de agosto, el tratamiento control presentó la mayor densidad de plántulas (298), mientras que la remoción parcial registró la menor densidad (99). La cohorte del mes de septiembre, presentó su mayor densidad de plántulas bajo los tratamientos de remoción parcial y total (63), y su menor densidad dentro del tratamiento control (22). La cohorte del mes de octubre presentó la mayor densidad dentro del tratamiento control (11). En tanto que, la cohorte del mes de noviembre presentó la mayor densidad dentro del tratamiento de remoción parcial (30) y la menor densidad en remoción total (3).

Las cohortes de julio, agosto y octubre presentaron diferencias estadísticamente significativas en las curvas de supervivencia ( $P < 0.05$ ). En la cohorte de julio, a los 150 días de evaluación el tratamiento de remoción total presentó 1.5 % de supervivencia (Fig. 2.11); y la cohorte de agosto, obtuvo a los 130 días un 3.3% de supervivencia dentro del tratamiento control. Mientras que, las cohortes de octubre y septiembre registraron la mortalidad total de plántulas al segundo mes de evaluación. En general el porcentaje de supervivencia fue menor al 5%.

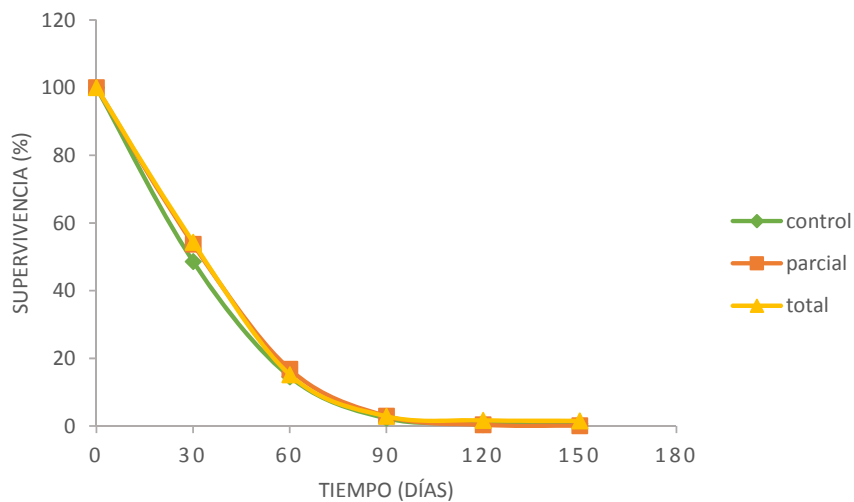


Figura 2.11 Porcentaje de supervivencia en plántulas de *Carpinus caroliniana* en la cohorte de julio, bajo tratamientos de remoción de hojarasca (control, remoción parcial y remoción total) en parcelas *in situ*.

## Humedad y temperatura

El análisis de varianza en las variables de humedad y temperatura del suelo no presentó diferencias significativas entre los tratamientos de remoción de hojarasca. La temperatura registrada durante el periodo de evaluación (julio a diciembre) mostró diferencias estadísticamente significativas  $P < 0.0001$  ( $F = 112.475$ ,  $Df = 4$ ). La temperatura más alta se registró en el mes de octubre con un promedio de  $19.50^{\circ}\text{C}$  y la temperatura más baja correspondió al mes de noviembre con  $16.11^{\circ}\text{C}$ .

Al comparar por medio de un análisis de varianza el porcentaje de humedad registrado en los meses evaluados (julio a noviembre), se encontraron diferencias altamente significativas ( $P < 0.0001$ ,  $F = 40.82$ ,  $Df = 4$ ). Se realizó la comparación de las medias mediante una prueba de Tukey-Kramer HSD, en el cual, el promedio de humedad más alto se registró en el mes de septiembre con un  $27.45\%$  y la humedad más baja correspondió al mes de julio con un  $18.9\%$  (Fig. 2.12).

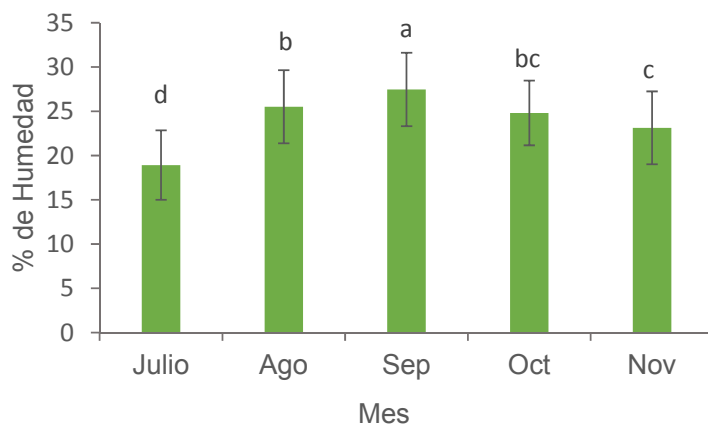


Figura 2.12. Porcentaje de humedad del suelo registrado en los meses evaluados. Las barras indican la desviación estándar, letras diferentes muestran diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

### Cohorte Julio

De acuerdo al análisis de riesgos proporcionales, tomando en cuenta las diferentes variables evaluadas, en la cohorte del mes de julio la temperatura presentó un efecto positivo en la supervivencia de plántulas. La temperatura del mes de agosto favoreció la supervivencia en un 24% ( $P < 0.0001$ ), en septiembre un 20% ( $P < 0.0001$ ) y la humedad de octubre incrementó la supervivencia un 1.8% ( $P < 0.0013$ ). En contraste, las variables que presentaron un efecto negativo en la supervivencia de plántulas fueron la humedad en septiembre, al incrementar la mortalidad plántulas en un 2% ( $P < 0.0001$ ) y la temperatura del mes de octubre al incrementar la mortalidad en un 12.3% ( $P < 0.0001$ ). En cuanto al efecto de los tratamientos en la supervivencia de las plántulas, se observó que el tratamiento de remoción parcial incrementó la mortalidad de plántulas en un 11.9%, respecto al tratamiento control, mostrando una diferencia significativa ( $P = 0.0329$ ). La remoción total presentó una mortalidad del 1% respecto al control, sin embargo, no fue estadísticamente diferente ( $P = 0.0752$ ).

### Cohorte Agosto

En la cohorte del mes de agosto, la variable de temperatura favoreció la supervivencia en un 28.66%, la temperatura de septiembre incrementó la supervivencia en un 20.51% y la humedad de octubre un 5.27%. Las variables que presentaron un efecto negativo en la supervivencia de plántulas fueron la temperatura de octubre y la humedad de noviembre. La temperatura de octubre incrementó la mortalidad en un 22.47% ( $P = 0.00155$ ), y la humedad de noviembre un 4.3% ( $P = 0.00528$ ), siendo estadísticamente significativo. En cuanto a la remoción de hojarasca se observó que la remoción parcial presentó una supervivencia del 10% respecto al control, mientras que el tratamiento de remoción total obtuvo una diferencia significativa ( $p = 0.00617$ ) del 30% respecto al control. En la cohorte del mes de septiembre el tratamiento de remoción total incrementó la mortalidad en un 20% respecto al control, sin embargo, no fue estadísticamente significativo ( $p = 0.0550$ ). Finalmente, en las cohortes de octubre y noviembre ninguna de las variables presentó un efecto significativo en la supervivencia de plántulas.

## 8. DISCUSIÓN

La regeneración temprana de una especie se ve influenciada por diversos factores, conocerlos es de vital importancia en su manejo y conservación (Romo-Reátegui 2005).

Durante la evaluación de la emergencia de plántulas en *Carpinus caroliniana*, se observó una densidad importante de plántulas, sin embargo, presentó un alto porcentaje de mortalidad durante el primer mes de establecimiento. De acuerdo con Harms *et al.*, (2000), las estrategias compensativas (*trade off*) utilizadas por las plantas, les permite incrementar sus probabilidades de supervivencia durante la transición de semilla a plántula. Se ha descrito que las semillas de tamaño grande presentan mayor contenido de nutrientes y reservas energéticas, por lo tanto, presentan mayor probabilidad de sobrevivir a diferencia de una semilla de tamaño pequeño (Huerta-Paniagua y Rodríguez-Trejo 2011). Esta relación se ha observado en semillas de *Quercus deserticola*, la cual, al presentar semillas grandes registraron mayor capacidad germinativa (Tenorio-Galindo *et al.*, 2016). De esta manera, las especies que presentan semillas pequeñas, producen una alta densidad con un bajo porcentaje de reclutamiento natural. La especie en estudio, presenta una semilla muy pequeña (6 a 12 mg), por lo que la probabilidad de establecimiento y supervivencia es relativamente baja, al presentar menor cantidad de reservas energéticas.

La alta mortalidad en las fases iniciales del establecimiento de una planta, repercute directamente en la estructura de las poblaciones (Bazzaz y George 1999; Villar *et al.*, 2004; Padilla-Ruiz 2008). La etapa más crítica para esta especie se observó durante la fase de plántula, aun cuando la especie presenta un importante banco de semillas, el porcentaje de supervivencia es menor del 60% durante el primer mes, y más del 90% muere antes del tercer mes. El mayor tiempo registrado de supervivencia fue de siete meses *in situ*.

Entre los principales factores que regulan las etapas iniciales de reclutamiento, son la humedad del suelo y la apertura de dosel. Así mismo, la intensidad de lluvias durante las primeras etapas de establecimiento de plántulas, forma una barrera en las etapas posteriores al reclutamiento (Gómez-Aparicio 2005). En

cuanto a la apertura de dosel, en las áreas abiertas se ha reportado un efecto negativo en la probabilidad de germinación, siendo más bajo (Urbieta *et al.*, 2008). En este estudio se encontró que el tratamiento con mayor apertura de dosel registró la menor densidad de plántulas. Por lo que la exposición directa de la semilla a mayor incidencia de luz limita la germinación.

En el presente estudio, el porcentaje más alto de mortalidad de plántulas se observó durante el primer mes, coincidiendo con la estación húmeda. Al ser una semilla muy pequeña, sus plántulas presentan una arquitectura muy débil, por lo que el alto porcentaje de mortalidad se atribuye a la intensidad de las lluvias (podrición de la plántula), estos resultados coinciden con lo reportado por López-Barrera *et al.*, (2006) y Urbieta *et al.*, (2008), siendo el exceso de humedad el factor crítico que ha limitado el establecimiento de las plántulas de esta especie, y consecuentemente al daño causado por la caída de la hojarasca, que a su vez puede representar la mortalidad por quiebre en el tallo de la plántula.

De acuerdo con Rocha-Laredo y Ramírez-Marcial (2009), el establecimiento de una planta, está determinado por la cantidad y tipo de hojarasca. En nuestro estudio, la remoción intermedia de hojarasca y el control favorecieron la emergencia de plántulas, al brindar protección a la semilla, promover la retención de humedad y favorecer la germinación (Madrigal, Hernando, y Guijarro 2011; Gaspar-Santos *et al.*, 2015). Sin embargo, al acentuarse la sequía estival, el porcentaje de supervivencia disminuyó drásticamente. Padilla (2008) en su estudio, encontró que la mayor mortalidad de plántulas se da durante la sequía estival, debido a que la supervivencia de las plántulas dependen únicamente de su habilidad para hacer frente al estrés hídrico, y la capacidad de acceder a los nutrientes del suelo. En este tipo de bosque, la acumulación de hojarasca favoreció la germinación y emergencia, pero dificultó su establecimiento.

El microclima generado por la apertura de dosel creado por herbáceas robustas y árboles de la vegetación secundaria han favorecido las condiciones en el desarrollo de las plántulas de pino en los bosques (López-Barrera *et al.*, 2006). La apertura de dosel es un factor que influye directamente en el establecimiento de las plántulas. Sin embargo, el BMM presenta un terreno muy accidentado derivado de cenizas volcánicas, debido a esto, la humedad del suelo se comporta de una forma muy irregular, cambiando drásticamente dentro del mismo

cuadrante. Por lo que este factor podría estar interactuando con otros factores adicionales del suelo e influyendo indirectamente con el establecimiento de las plántulas.

El bajo porcentaje de establecimiento de plántulas presente tanto en la apertura de dosel como en la remoción de hojarasca, confirma el requerimiento de un hábitat con condiciones muy específicas para su establecimiento, mostrando la dificultad para el establecimiento de la especie al no haber reclutamiento natural.

## 9. CONCLUSIONES

- Aun cuando no se presentaron diferencias en la densidad de plántulas en la apertura de dosel, la emergencia de plántulas final fue mayor en condiciones intermedias.
- En la cohorte del mes de julio se presentó la mayor emergencia de plántulas, la supervivencia y establecimiento después de siete meses fue nula. El patrón en todas las cohortes mensuales fue alta emergencia de plántulas y alta mortalidad, independientemente de la apertura de dosel.
- Los tratamientos de remoción intermedia de hojarasca y sin remoción de hojarasca favorecieron la emergencia de plántulas en comparación con la remoción total de la hojarasca. La cohorte de julio registró la mayor emergencia de plántulas correspondiendo con el inicio del periodo de lluvias.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES

Los estudios realizados en *Carpinus caroliniana* describen a esta especie como altamente susceptible al disturbio, aunque presenta alta densidad de semillas (Pedraza-Pérez y Williams-Linera, 2005), presenta un porcentaje bajo de germinación (Pedraza-Pérez y Williams-Linera, 2005; Rodríguez 2016). Estos aspectos se encuentran estrechamente relacionados con la biología de reproducción de la especie. La especie de estudio, produce una gran cantidad de semillas, sin embargo, menos del 50% germina, este aspecto se encuentra relacionado con su biología reproductiva, como se ha reportado en diversos estudios donde el tamaño y la cantidad de reservas influye fuertemente en la viabilidad de una semilla (Harms *et al.*, 2000). Aunado a esto, la viabilidad y capacidad germinativa puede verse afectada por la falta de sincronía en su desarrollo (Abellanas, 2014). En este estudio, durante la maduración de la semilla se presentaron fuertes granizadas (eventos climáticos estocásticos), que provocaron la caída de la semilla antes de estar completamente madura. Es por esto que, el bajo porcentaje de viabilidad fue atribuido a la presencia de una gran cantidad de semillas vanas. Se observó que las semillas viables presentaron la totalidad de sus embriones teñidos de rojo en tinción con la sal de tetrazolio, aun cuando fue un número de semillas representado por un porcentaje bajo. Mediante la aplicación de los tratamientos pregerminativos con remojo por una semana y AG3 por 24 horas se logró incrementar el porcentaje de germinación de esta especie respecto al control. En condiciones de invernadero, se logró la supervivencia de un 80% de las plántulas germinadas.

En cuanto a la apertura de dosel, la humedad del suelo permitió la emergencia de plántulas iniciando en el mes de julio, que corresponde con el inicio del periodo de lluvias. Se mostró tendencia a registrar mayor densidad en la emergencia de plántulas en los tratamientos de sombra e intermedio de dosel, sin embargo, la supervivencia fue muy variable en cada una de las cohortes. La supervivencia de plántulas para esta especie durante la evaluación de la apertura de dosel fue nula. En nuestro estudio, la capa de hojarasca mostró tendencia a favorecer la germinación y emergencia de plántulas, sin embargo, su establecimiento y supervivencia fue un porcentaje bajo. Esta especie al producir una semilla muy pequeña (8 a 12mg), presenta una plántula con una arquitectura



tanto aérea como radical muy frágil. Además del daño mecánico causado por la caída de hojarasca, la inestabilidad impide el anclaje y establecimiento de sus raíces al suelo antes de la sequía estival dificultando el reclutamiento natural de la especie.

## **RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS GENERALES**

El bajo porcentaje de supervivencia *in situ* infiere que esta especie debe ser germinada y propagada en condiciones de invernadero. Para llevar a cabo la germinación de la especie *Carpinus caroliniana*, se recomienda coleccionar la semilla del mes de junio y germinarla el mismo año, puesto que presenta un tipo de semilla recalcitrante. El ácido giberélico homogeniza la velocidad de germinación, por lo que se podría potencialmente obtener un crecimiento sincrónico de las plantas durante su propagación; sin embargo, representa un costo económicamente alto. Por otro lado, el remojo en agua durante siete días puede incrementar el número de semillas germinadas. Se recomienda que la germinación de la semilla se realice directamente en sustrato, mantener la humedad a capacidad de campo y seleccionar semillas con un peso mayor a 10 mg. En una segunda etapa, es importante evaluar el crecimiento y supervivencia en campo, así como registrar las principales causas de mortalidad (herbivoría, sequía, daño mecánico, entre otras), y el porcentaje de supervivencia final. Evaluar si la interacción con hongos micorrízicos en plántulas bajo condiciones controladas e *in situ*, promueve el establecimiento, crecimiento y supervivencia de la plántula.

## LITERATURA CITADA

- Abellanas, B. 2014. "Bases Ecológicas de La Regeneración Natural." *Cuadernos de La Sociedad Española de Ciencias Forestales* 40: 1–18. <http://secforestales.org/publicaciones/index.php/cuadernossecf/index>.
- Álvarez-Aquino, Claudia, Guadalupe Williams-linera, and Rosa Amelia Pedraza. 2008. "Experiencias Sobre Restauración Ecológica En La Región Del Bosque De Niebla Del Centro De Veracruz."
- Álvarez Aquino, Claudia. 2006. "Simulación Experimental Del Impacto de La Tala Selectiva En La Viabilidad de La Polación de Dos Especies Nativas de Bosque Mesófilo de Montaña." *Foresta Veracruzana* 8 (1405–7247): 39–47.
- Araya, Emanuel, Luis Gómez, Nancy Hidalgo, and Roberto Valverde. 2000. "Efecto de La Luz y Del Ácido Giberelico Sobre La Germinación in Vitro de Jaul ( *Alnus Acuminata*)." *Agronomía Castarricense* 24 (1): 75–80.
- Baños, Heyker L, J Alemán, María Martínez, Jennifer Ravelo, and H. Surís, Moraima, Miranda, Ileana & Rodríguez. 2009. "EFECTO DE BIOESTIMULANTES SOBRE LA GERMINACIÓN Y EL CRECIMIENTO DE *Murraya Paniculata* L." *Cultivos Tropicales* 30 (0258-5936).
- Baskin, C. C., and J. M. Baskin. 2001. "Seeds, Ecology, Biogeography, Amd Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press, San Diego." *Nord. J. Bot.* 11 (6): 666.
- Bazzaz, F. A., and Lisa O. George. 1999. "The Fern Understory as an Ecological Filter: Growth and Survival of Canopy-Tree Seedlings." *Ecology* 80 (3): 833–45.
- Bonfil, C., and J. Soberón. 1999. "Quercus Rugosa Seedling Dynamics in Relation to Its Re-Introduction in a Disturbed Mexican Landscape." *Applied Vegetation Science* 2 (2): 189–200. <https://doi.org/10.2307/1478982>.
- Carranza González, Eleazar, and Xavier Madrigal Sánchez. 1995. "Betulaceae." *Flora Del Bajío y de Regiones Adyacentes*, 22. <http://www1.ecologia.edu.mx/publicaciones/resumenes/FLOBA/Flora78.pdf>.
- Castillo-Argüero, Silvia, Yuriana Martínez-Orea, and Guadalupe Barajas-Guzmán. 2014. "Establecimiento de Tres Especies Arbóreas En La Cuenca Del Río Magdalena, México." *Botanical Sciences* 92 (2): 309–17.
- Castrillón, Juan Carlos, Edwin Carvajal, Gustavo Ligarreto, and Stanislav Magnitskiy. 2008. "El Efecto de Auxinas Sobre El Enraizamiento de Las Estacas de Agraz ( *Vaccinium Meridionale* Swartz ) En Diferentes Sustratos" 26 (1): 16–22.
- CONABIO. 2010. *El Bosque Mesófilo de Montaña En México: Amenazas y Oportunidades Para Su Conservacion y Manejo Sostenible*. <http://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/bMesofilo.html>.

- Corpas-Nogales, E, and Ana María Lara-Porras. 2009. "Aplicación Del Modelo de Riesgos Proporcionales de Cox a Pacientes Con Sida En España." *Investigación Operacional* 30 (3): 214–22.
- Czapracki, Mirosław, and Roman Holubowicz. 2010a. "Some Factors Influencing the Germination of the Common Hornbeam ( *Carpinus Betulus* L .) Seeds" 67 (1): 422–29.
- . 2010b. "Some Factors Influencing the Germination of the Common Hornbeam ( *Carpinus Betulus* L .) Seeds." *Bulletin UASVM Horticulture* 67 (1): 422–29.
- Díaz-Villa, M D, T Marañón, and J Arroyo. 2002. "Regeneración Del Bosque Mediterráneo: Bancos de Semillas En El Suelo y Emergencia de Plántulas." *Almoraima*.
- Doria, J. 2010. "Generalidades Sobre Las Semillas: Su Producción , Conservación y Almacenamiento." *Cultivos Tropicales* 31 (1): 74–85. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(98\)00035-X](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(98)00035-X).
- Enríquez-Peña, Esther G, and Humberto Suzán-Azpiri Guadalupe Malda-Barrera. 2002. "Seed Viability and Germination of *Taxodium Mucronatum* ( Ten .)." *Agrociencia* 38 (3): 375–81.
- Escobar Escobar, Diego Fernando, and Alba Marina Torres G. 2013. "Morphology, Ecophysiology and Germination of Seeds of the Neotropical Tree *Alibertia Patinoi* (Rubiaceae)." *Revista de Biología Tropical* 61 (2): 547–56.
- Fuentes-Chávez, R. I., and N. P. Reyes-Martínez. 2016. "Bosque Mesófilo de Montaña. Estación Biológica 'Vasco de Quiroga' In Gómez-Peralta, M y V. M. Gómez-Reyes. Guía de Macromicetos y Liqueños..Docx." In *Guía de Macromicetos y Liqueños*.
- García, I. 2007. "Evaluación de Dos Sustratos y Seis Concentraciones de Ácido Indolbutrítico Para El Enraizamiento de Acodos Aéreos En *Dracaena* (*Dracaena Marginata* Lam.: Agavaceae)." *Tesis Ingeniero Agronomo*. Facultad de Agronomía, Guatemala, Guatemala.
- Gaspar-Santos, Saraí Elsa, Mario González-Espinosa, Neptalí Ramírez-Marcial, and José David Álvarez-Solís. 2015. "Acumulación y Descomposición de Hojarasca En Bosques Secundarios Del Sur de La Sierra Madre de Chiapas , México." *Bosque* 36 (3): 467–80.
- Gaspar Santos, Elsa Sarai. 2013. "Determinantes de La Acumulación y Descomposición de La Hojarasca En Bosques de La Cuenca Alta Del Grijalva, Chiapas, México." *El Colegio de La Frontera Sur. TESIS Presentada Como Requisito Parcial Para Obtener El Grado de "Maestra En Ciencias En Recursos Naturales y Desarrollo Rural,"* 65. <https://doi.org/10.1167/iov.09-5050>.
- González-Espinosa, M, J. A Meave, N. Ramírez-Marcial, T. Toledo-Aceves, F. G. Lorea-Hernández, and G. Ibarra-Manríquez. 2012. "Los Bosques de Niebla de México: Conservación y Restauración de Su Componente Arbóreo." *Ecosistemas* 21 (1–2): 36–52. <https://doi.org/10.7818/re.2014.21->

1-2.00.

- González-Salvatierra, Claudia, Ernesto I. Badano, Joel Flores, and Juan P. Rodas. 2013. "Germinación, Infestación y Viabilidad En Bellotas de *Quercus Polymorpha*\_(Schltl. & Cham.) Tras Un Año de Almacenamiento." *Rev.Chapingo Ser.Cie.* 19 (3): 351–62. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2012.07.044>.
- Gual-Díaz, M. y Rendón-Correa, a. (Comps.). 2014. "Bosques Mesófilos de Montaña de México Diversidad , Ecología y Manejo." *Comisión Nacional Para El Conocimiento y Uso de La Biodiversidad. México*, 352.
- Güney, Deniz, Fahrettin Atar, E Atar, Ibrahim Turna, and S Kulac. 2015a. "The Effect of Pre-Treatments and Seed Collection Time on the Germination Characteristics of Common Hornbeam ..." *Seed Science and Technology* 43 (October 2016): 1–9. <https://doi.org/10.15258/sst.2015.43.1.01>.
- Güney, Deniz, Fahrettin Atar, E Atar, Ibrahim Turna, and S Kulac. 2015b. "The Effect of Pre-Treatments and Seed Collection Time on the Germination Characteristics of Common Hornbeam (*Carpinus Betulus*) Seeds in the Eastern Black Sea Region, Turkey." *Seed Science and Technology* 43 (1): 1–9.
- Harms, Kyle E., S. Joseph Wright, Osvaldo Calderón, Andrés Hernández, and Edward Allen Herre. 2000. "Pervasive Density-Dependent Recruitment Enhances Seedling Diversity in a Tropical Forest." *Nature* 404 (6777): 493–95. <https://doi.org/10.1038/35006630>.
- Henrique, Andréia, Eduardo Nogueira Campinhos, Elizabeth Orika Ono, and Sheila Zambello De Pinho. 2006. "Effect of Plant Growth Regulators in the Rooting of *Pinus* Cuttings." *Brazilian Archives of Biology and Technology Km C. P. Horto Mogi Guaçu; Rodovia SP Km 49* (13): 189–96. <http://www.scielo.br/pdf/babt/v49n2/28583.pdf>.
- Huerta-Paniagua, Rubén, and Dante Arturo Rodríguez-Trejo. 2011. "EFECTO DEL TAMAÑO DE SEMILLA Y LA TEMPERATURA EN LA GERMINACIÓN DE *Quercus Rugosa* Née." *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales Y Del Ambiente XVII* (2): 179–187,. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2010.08.053>.
- Jarvis, Andy, Annie Lane, and Robert J. Hijmans. 2008. "The Effect of Climate Change on Crop Wild Relatives." *Agriculture, Ecosystems and Environment* 126 (1–2): 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2008.01.013>.
- Kingdom, United, and Seed Determination. 2014. "Seed Testing International." *ISTA News Bulletin 147* 147 (147): 56.
- López-Pérez, Yolanda, J. Daniel Tejero-Díez, Alin N. Torres-Díaz, and Isolda Luna-Vega. 2011. "Flora Del Bosque Mesófilo de Montaña y Vegetación Adyacente En Avándaro, Valle de Bravo, Estado de México, México." *Taxonomía y Florística. Bol. Soc. Bot. Méx.* 88: 35–53.
- Ludeña-Velásquez, Juan Carlos. 2012. "Efecto de Dos Tratamientos Pregerminativos En Semillas de Aliso (*Alnus Acuminata*) y Pino (*Pinus Patula*), Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo."

- Madrigal, Javier, Carmen Hernando, and Mercedes Guijarro. 2011. "El Papel de La Regeneración Natural En La Restauración Tras Grandes Incendios Forestales : El Caso Del Pino Negral," no. December 2017.
- Marañón, Teodoro. 2001. "Ecología Del Banco de Semillas y Dinámica de Comunidades Mediterráneas." *Banco de Semillas*.
- Martínez Orea, Yuriana, Silvia Castillo-argüero, Javier Álvarez-Sánchez, Margarita Collazo-Ortega, and Alejandro Zavala-Hurtado. 2013. "Lluvia y Banco de Semillas Como Facilitadores de La Regeneración Natural En Un Bosque Templado de La Ciudad de México." *INTERCIENCIA* 38: 400–409.
- Martínez, Yolotzin, Manuel E. Mendoza, Gerardo E. Santana, Vicente Salinas, and Erna López. 2016. "Dinámica Espacio-Temporal Del Bosque Nublado y Su Estado Sucesional En El Estado de Michoacán, México." *Geografía y Sistemas de Información Geográfica* 8: 233–47.
- Mazariegos, L. 2011. "Efecto de Cuatro Concentraciones de Ácido Indolbutírico (IBA) y Tres Niveles de Consistencia de Estacas En La Propagación Asexual de Papaya (Annona Diversifolia Saff; Anonaceae) Pajapita, San Marcos." Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas.
- Merou, T, I Takos, G Varsamis, and P Xofis. 2012. "Effect of Stratification and Scarification Treatments on the Germination of Oriental Hornbeam ( *Carpinus Orientalis* ) Seeds." *Seed Sci. & Technol* 40: 265–70.
- Metzger, F.T. 1990. "Carpinus Caroliniana Walt. In Burns R. M. Honkala B. H. Tech Coord. Silvics of North America. Volume 2 : Hardwoods Agriculture." In *Agriculture Handbook*, 2:368–77. Washington, D.C.
- Mobli, Mostafa, and Bahram Baninasab. 2009. "EFFECT OF INDOLEBUTYRIC ACID ON ROOT REGENERATION AND SEEDLING SURVIVAL AFTER TRANSPLANTING OF THREE Pistacia SPECIES." *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 17 (1): 5–13.
- Monterroso-rivas, Alejandro Ismael, Adán Guillermo Ramírez-garcía, Jesús David Gómez-díaz, and Yolanda Velázquez-juárez Roberto Rendón-medel. 2016. "Cambio En La Disponibilidad Hídrica Futura En Un Bosque Mesófilo de Montaña de México." *INTERCIENCIA* 41 (April): 266–72.
- Moreno-Álvarez, M T, L Benito-Matías, N Herrero-Sierra, S Domínguez-Lerena, and J Peñuelas-Rubira. 2001. "Estudio de Nuevos Métodos de Determinación de La Viabilidad de Las Semillas Forestales: Test de Electroconductividad e Índigo Carmín. Comparación Con El Test Del Tetrazolio y Su Aplicación a Pinus Pinaster y Pinus Halepensis." *III Congreso Forestal Español "Sierra Nevada 2001"* 3 (1988): 653–58.
- Muñoz, Johana. 2017. "Regeneración Natural : Una Revisión de Los Aspectos Ecológicos En El Bosque Tropical de Montaña Del Sur Del Ecuador Natural Regeneration : A Review of the Ecological Aspects in the Tropical Mountain Forest of Southern Ecuador." *Bosques de Latitud CEro* 7 (2): 130–43.
- Nakashizuka, Tohru, and Mitsue Shibata. 1995. "Seed and Seedling Demography of Four Co-Occurring *Carpinus* Species in a Temperate

- Deciduous Forest.” *Ecology* 76 (4): 1099–1108.
- Orantes-García, Carolina, Miguel Ángel Pérez-Farrera, Tamara Mila Riojaparadela, and Eduardo Raymundo Garrido-Ramírez. 2013. “Viabilidad y Germinación de Semillas de Tres Especies Arbóreas Nativas de La Selva Tropical, Chiapas, México.” *Polibotánica* 36: 117–27.
- Padilla Ruíz, F. M. 2008. “Factores Limitantes y Estrategias de Establecimiento de Plantas Leñosas En Ambientes Semiáridos . Implicaciones Para La Restauración.” *Ecosistemas* 17 (1): 155–59.  
<https://doi.org/10.17645/si.v5i4.1079>.
- Pearson, T. R. H., D. F. R. P. Burslem, C. E. Mullins, and James W. Dalling. 2002. “Germination Ecology of Neotropical Pioneers : Interacting Effects of Environmental Conditions and Seed Size.” *Ecology* 83 (10): 2798–2807.
- Pedraza Pérez, Rosa A., and Guadalupe Williams Linera. 2005. “Microhabitat Conditions for Germination and Establishment of Two Tree Species in the Mexican Montane Cloud Forest.” *Agrociencia* 39 (4): 457–64.  
<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1216442&info=resumen&idoma=SPA>.
- Pérez-Ramos, I. M. 2007. “Factores Que Condicionan La Regeneración Natural de Especies Leñosas En Un Bosque Mediterráneo Del Sur de La Península Ibérica.” *Ecosistemas* 16 (2): 131–36.  
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- Pipinis, E, E Milios, N Kiamos, O Mavrokordopoulou, and P Smiris. 2012. “Effects of Stratification and Pre-Treatment with Gibberellic Acid on Seed Germination of Two Carpinus Species.” *Seed Science and Technology* 40: 21–31.
- Pipinis, Elias, Elias Milios, Olga Mavrokordopoulou, Panagiotis Lozos, and Pavlos Smiris. 2014. “Dormancy-Breaking Requirements and Germination for Seeds of *Ostrya Carpinifolia*.” *Notulae Botanicae Agrobotanici Cluj-Napoca*, no. June 2014. <https://doi.org/10.15835/nbha4219292>.
- Portela, R. C Q, and F. A M Dos Santos. 2009. “Mortality and Mechanical Damage of Seedlings in Different Size Fragments of the Brazilian Atlantic Forest.” *Tropical Ecology* 50 (2): 267–75.
- Pujut, Paula M. 2008. “The Woody Plant Seed Manual The.” In *The Woody Plant Seed Manual. Forest Service. United States Department of Agriculture*, 328–31.
- Ramírez-Marcial, N, A Camacho-Cruz, M González-Espinosa, and F López-Barrera. 2006. “Establishment, Survival and Growth of Tree Seedlings under Successional Montane Oak Forests in Chiapas, Mexico.” *Ecological and Conservation of Neotropical Montane Oak Forests* 185 (Turner 2001): 177–89. [https://doi.org/10.1007/3-540-28909-7\\_14](https://doi.org/10.1007/3-540-28909-7_14).
- Ramos Amaya, Jorge E. 2012. “Avances de La Micropropagación in Vitro de Plantas Leñosas.” *DED Goya SCJ - Micropropagación Vegetal*, 71.  
<http://repository.unad.edu.co/bitstream/10596/2515/1/17127974.pdf>.

- Riley, Joseph M., and Robert H. Jones. 2003. "Factors Limiting Regeneration of *Quercus Alba* and *Cornus Florida* in Formerly Cultivated Coastal Plain Sites, South Carolina." *Forest Ecology and Management* 177 (1–3): 571–86. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(02\)00449-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(02)00449-8).
- Rivera-Fernández, Andrés, Pablo Octavio-Aguilar, Nadia G. Sánchez-Coello, Lázaro R. Sánchez-Velásquez, Santiago M. Vázquez-Torres, and Lourdes G. Iglesias-Andreu. 2012. "Estructura Poblacional y Distribución Espacial de *Ceratozamia Mexicana* Brongn. (ZAMIACEAE) En Un Ambiente Conservado y En Uno Perturbado." *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 15.
- Rivera-Rodríguez, Moisés O, J. Jesús Vargas-Hernández, and Marcos Villegas-Monter Angel Jiménez-Casas. 2016. "ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS DE *Pinus Patula*." *Rev. Fitotec. Mex.* 39 (4): 385–92.
- Rocha-Laredo, Ana Guadalupe, and Neptalí Ramírez-Marcial. 2009. "Producción y Descomposición de Hojarasca En Diferentes Condiciones Sucesionales Del Bosque de Pino-Encino En Chiapas, México." *Boletín de La Sociedad Botánica de México. Ecología* 12: 1–12.
- Rodríguez Nieto, Erika. 2016. "Germinación de Cuatro Especies Arbóreas Del Bosque Mesófilo de Montaña Con Potencial de Restauración Ecológica." *Facultad de Biología Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Tesis de Licenciatura*.
- Romo Reategui, Mónica. 2005. "Efecto de La Luz En El Crecimiento de Plántulas de *Dipteryx Micrantha* Harms. 'Shihuahuaco' Transplantadas a Sotobosque, Claros y Plantaciones." *Ecología Aplicada* 4: 1–8.
- Ruiz García, Rafael, J. Jesús Vargas Hernández, and Víctor Manuel Cetina Alcalá. 2005. "Efecto Del Ácido Indolbutírico (AIB) y Tipo de Estaca En El Enraizado de *Gmelina Arborea* Roxb." *Rev. Fitotecnia Mexicana* 28 (4): 319–26. <http://revistafitotecniamexicana.org/documentos/28-4/3a.pdf>.
- Rzedowski, Jerzy. 1996. "Análisis Preliminar De La Flora Vasculare De Los Bosques Mesófilos De Montaña De México." *Acta Botánica Mexicana* 35 (35): 25–44.
- . 2006. *Vegetación de México. Comisión Nacional Para El Uso de La Biodiversidad*. 1ra Edición. [http://www.academia.edu/download/35429785/VEGETACION\\_DE\\_MEXICO\\_-\\_Jerzy\\_Rzedowski.pdf](http://www.academia.edu/download/35429785/VEGETACION_DE_MEXICO_-_Jerzy_Rzedowski.pdf).
- Sabattini, Rafael, Silvia Ledesma, Silvana Sione, Julián Sabattini, and L.G. Rosenberg. 2015. "Banco de Semillas Del Suelo En Relación a Dos Estados Sucesionales Del Bosque Nativo En Entre Ríos." *Quebracho-Revista de Ciencias Forestales* 23 (1–2): 62–76.
- Salazar Mercado, Sier Antonio, and Javier Darío Gélvez Manrique. 2015. "Determining the Viability of Orchid Seeds Using the Tetrazolio and Carmín Índigo Tests Determinación de La Viabilidad de Semillas de Orquídeas Utilizando La Prueba de Tetrazolio e Índigo Carmín." *Rev. Ciencias Uvalle* 19 (2): 59–69.

- Sánchez-Gómez, David, Miguel A. Zavala, and Fernando Valladares. 2006. "Seedling Survival Responses to Irradiance Are Differentially Influenced by Low-Water Availability in Four Tree Species of the Iberian Cool Temperate-Mediterranean Ecotone." *Acta Oecologica* 30 (3): 322–32. <https://doi.org/10.1177/004057366302000106>.
- Santana, Gerardo, Manuel Mendoza, Vicente Salinas, Diego Pérez-Salicrup, Yolotzin Martínez, and Isela Aburto. 2014. "Análisis Preliminar de La Diversidad y Estructura Arbórea-Arbustiva Del Bosque Mesófilo En El Sistema Volcánico Transversal de Michoacán, México." *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85 (4): 1104–16. <https://doi.org/10.7550/rmb.41519>.
- Shao, Guofan, and Patrick N. Halpin. 1995. "Climatic Controls of Eastern North American Coastal Tree and Shrub Distribution." *Journal of Biogeography* 22 (6): 1083–89.
- Synes, Nicholas W., and Patrick E. Osborne. 2011. "Choice of Predictor Variables as a Source of Uncertainty in Continental-Scale Species Distribution Modelling under Climate Change." *Global Ecology and Biogeography* 20 (6): 904–14. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00635.x>.
- Taiz, Lincoln, and Eduardo Zeiger. 2006. [2006 Taiz y Zeiger] *Fisiología Vegetal Volumen II. Pdf*.
- Toledo, Tarin. 2009. "El Bosque de Niebla." *Biodiversitas* 83: 1–16.
- Tsitsoni, Thekla, Marianthi Tsakalimi, and Cristi Tsouri. 2013. "Seed Treatments to Break Dormancy and Stimulate Germination in *Cercis Siliquastrum* L . Seed Treatments to Break Dormancy and Stimulate Germination in *Cercis Siliquastrum* L . and *Carpinus Orientalis* Mill ." *African Journal of Agriculture* 8 (35) (May 2014): 4501–5. <https://doi.org/10.5897/AJAR12.1070>.
- Urbietta, Itziar R., Ignacio M. Pérez-Ramos, Miguel A. Zavala, Teodoro Marañón, and Richard K. Kobe. 2008. "Soil Water Content and Emergence Time Control Seedling Establishment in Three Co-Occurring Mediterranean Oak Species." *Canadian Journal of Forest Research* 38 (9): 2382–93. <https://doi.org/10.1139/X08-089>.
- Uribe, Matilde E., José Ulloa, Catherine Delaveau, Katia Sáez, Fernando Muñoz, and Pricila Cartes. 2012. "Influencia de Las Auxinas Sobre El Enraizamiento in Vitro de Microtallos de *Nothofagus Glauca* ( Phil .) Krasser." *Gayana Bot.* 69 (1): 105–12.
- Vaca, Raúl A., and Duncan J. Golicher. 2016. "Integración Del Balance Hídrico En La Modelación de La Distribución de Especies de Árboles Mexicanos." *Botanical Sciences* 94 (1): 25–42. <https://doi.org/10.17129/botsci.241>.
- Valencia-Díaz, Susana, and Carlos Montaña. 2003. "Effects of Seed Age , Germinatiun Substrate, Gibberelic Acid, Light, and Temperature on Seed Germination in *Flourensia Cernua* ( ASTERACEAE ), a Chihuahua Desert Shrub." *The Southwestern Naturalist* 48 (1): 1–13.
- Vargas-Parra, L, and A Varela. 2007. "Producción de Hojarasca de Un Bosque



- de Niebla En La Reserva Natural La Planada (Nariño, Colombia).” *Universitas Scientiarum, Revista de La Facultad de Ciencias* 12: 35–50.
- Vázquez Yanes, C, and Alma Orozco Segovia. 1993. “Patterns of Seed Longevity and Germination in the Tropical Rainforest.” *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24: 69–87.
- Villar, R, J Ruiz-Robledo, J L Quero, Hendrik Poorter, F Valladares, and T Marañón. 2004. *Tasas de Crecimiento En Especies Leñosas: Aspectos Funcionales e Implicaciones Ecológicas. Ecología Del Bosque Mediterráneo En Un Mundo Cambiante.*
- Williams-Linera, Guadalupe. 2012. *El Bosque de Niebla Del Centro de Veracruz: Ecología, Historia y Destino En Tiempos de Fragmentacion y Cambio Climatico.* CONABIO. Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Veracruz, México: CONABIO.  
<http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>.
- Williams-Linera, Guadalupe, Martha Bonilla-Moheno, and Fabiola López-Barrera. 2016. “Tropical Cloud Forest Recovery: The Role of Seed Banks in Pastures Dominated by an Exotic Grass.” *New Forests* 47 (3): 481–96.  
<https://doi.org/10.1007/s11056-016-9526-8>.
- Williams-Linera, Guadalupe, Robert H. Manson, and Eduardo Isunza Vera. 2002. “La Fragmentación Del Bosque Mesófilo de Montaña y Patrones de Uso Del Suelo En La Región Oeste de Xalapa, Veracruz, México.” *Madera y Bosques* 8 (1): 73. <https://doi.org/10.21829/myb.2002.811307>.