



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
Coordinación General de Estudios de Posgrado

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES



Programa de Maestría en Producción Agropecuaria (PMPA)

**ESTADO DE LAS POBLACIONES DE *Agave cupreata*, Y ANÁLISIS
COMPARATIVO CON *A. inaequidens* SOBRE EL EFECTO DE LA HUMEDAD Y
TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO Y EN LA GERMINACIÓN DE
SEMILLAS.**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARA
OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

MAESTRO EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

PRESENTA:

BIOL. LUIS ENRIQUE MARTINEZ CASTRO

Director de Tesis:
DR. ALEJANDRO MARTINEZ PALACIOS.

Morelia, Michoacán, agosto de 2014.

CONTENIDO

INDICE GENERAL	ii
INDICE DE CUADROS Y FIGURAS	iii
RESUMEN GENERAL	iv
GENERAL SUMMARY	v
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVOS	9
CAPITULO 1	10
ESTADO DE LAS PLANTAS SILVESTRES DE <i>Agave cupreata</i> EN EL ESTADO DE MICHOACÁN.	
CAPITULO 2	28
EFECTO DE LA TEMPERATURA EN ALMACENAMIENTO Y EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE <i>Agave cupreata</i> TRELL & BERGER Y <i>A. inaequidens</i> KOCH., ESPECIES DE IMPORTANCIA MEZCALERA DE MICHOACÁN.	
DISCUSION GENERAL	55
BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA	61
ANEXOS	62

INDICE DE CUADROS

CAP 1.

Cuadro 1. Sitios de distribución de *A. cupreata* georeferenciados, altitud y grado de perturbación en Municipios de Michoacán. 16

Cuadro 2. Densidad, tamaño poblacional y evaluación de reproductores en 11 sitios de distribución natural de *A. cupreata* en Michoacán, México. 20

CAP 2.

Cuadro 1. Fórmula para la Evaluación del contenido de humedad de las semillas. 34

Cuadro 2. Cuadro 2. ANOVA del efecto de la temperatura de almacenamiento (10, 25, 30, 35 y 45 °C) sobre la germinación de las semillas de *Agave cupreata* a partir del logaritmo 38

Cuadro 3. ANOVA del efecto de la temperatura de almacenamiento (10, 25, 30, 35 y 45 °C) en la germinación de las semillas de *Agave inaequidens* a partir del logaritmo del porcentaje de germinación en almacenamiento de 90 días y 5 % de porcentaje de humedad. 38

Cuadro 4. ANOVA del efecto de la humedad en las semillas de *A. cupreata*, a partir del logaritmo del porcentaje de germinación en 90 días de almacenamiento y 10 39
45 °C de almacenamiento.

Cuadro 5. Efecto de la humedad de las semillas de *Agave cupreata* sobre el 40
porcentajes de germinación en en semillas almacenadas por 90 días a 10 °C ($P < 0.05$).

Cuadro 6. ANOVA del efecto de la humedad sobre la germinación en semillas de 40
Agave inaequidens, a partir del logaritmo del porcentaje de germinación a los 90 días de almacenamiento y temperatura de almacenamiento de 10 °C.

Cuadro 7. Efecto de la humedad en las semillas de *Agave inaequidens* sobre los 40
porcentajes de germinación a 90 días de almacenamiento con 10 °C de temperatura de almacenamiento.

Cuadro 8. ANOVA del efecto del tiempo (15, 30, 45, 60, 75 y 90 días) en las semillas de *A. cupreata*, a partir del log del porcentaje de germinación al 5 % de contenido de humedad y 10 °C de temperatura de almacenamiento. 42

Cuadro 9. ANOVA del efecto del tiempo de almacenamiento (15, 30, 45, 60, 75 y 90 días) en las semillas de *A. inaequidens*, a partir del logaritmo del porcentaje de germinación 43

Cuadro 10. ANOVA del efecto de la temperatura de incubación en la germinación de semillas de *Agave cupreata* a los 16 días, datos transformados a logaritmo. 44

Cuadro 11. ANOVA del efecto de la temperatura de incubación en la germinación de semillas de *Agave inaequidens* a los 16 días, datos transformados a logaritmo. 45

Cuadro 12. Porcentajes de germinación en semillas a distintas temperaturas de incubación en *Agave cupreata*. Letras diferentes muestran medias significativamente diferentes con $P \leq 0.05$. 46

Cuadro 13. Porcentajes de germinación en semillas a distintas temperaturas de incubación en *Agave inaequidens*. Letras diferentes muestran medias significativamente diferentes con $P \leq 0.05$.. 47

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características morfológicas generales de *Agave cupreata* 5

CAP 1

Figura 1. Sitios muestreados con distribución de plantas silvestres de *A. cupreata* en el noreste de Michoacán 15

Fig. 2. Estructura poblacional en plantas silvestres de *Agave cupreata*, en el estado de Michoacán 21

CAP2.

Figura 1. Porcentaje de germinación a diferentes temperaturas de incubación de 37

semillas de *Agave cupreata* y *Agave inaequidens* con 90 días de almacenamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Figura 2. Viabilidad de semillas almacenadas (90 días) a 3, 5 y 8 % de humedad en *A. cupreata* y *A. inaequidens*. 41

Figura 3. Efecto de la viabilidad de semillas durante 90 días de almacenamiento en *A. cupreata* y *A. inaequidens*. 43

Figura 4. Germinación de semillas de *Agave cupreata* incubadas a diferentes temperaturas. 46

Figura 5. Geminación de semillas de *Agave inaequidens* incubadas a diferentes temperaturas. 48

RESUMEN GENERAL

Se evaluó el estado que guardan las poblaciones silvestres de *Agave cupreata* en diversos municipios en Michoacán. Se georreferenciaron los sitios, a través de cuadrantes se estableció la altura y diámetro de las plantas, lo cual, mostró la estructura de tamaños, el tamaño de la población, la densidad y el estado reproductivo de los sitios muestreados. En relación a la problemática existente a la pérdida de viabilidad de semillas por productores de plantaciones, se estableció a nivel de laboratorio, evaluaciones para dos especies, *A. cupreata* y *A. inaequidens*, los dos agaves más importantes en la elaboración de mezcal en la región centro-oriente del estado de Michoacán, estudios sobre el efecto de la temperatura de almacenamiento y la humedad de las semillas al ser almacenadas para registrar como influye en la viabilidad de éstas. La pérdida del poder germinativo en almácigos, permitió evaluar a nivel de laboratorio el efecto de la temperatura durante la incubación y germinación de las semillas. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el estado de las poblaciones silvestres de *Agave cupreata*, así como, registrar el comportamiento de la viabilidad de las semillas de las dos especies de agave mezcalero, con diferentes niveles de humedad y diferentes temperaturas durante su almacenamiento, además de analizar el comportamiento de la germinación de las semillas a diferentes temperaturas de incubación. Los resultados de campo sobre el estado de las poblaciones registraron a las poblaciones silvestres de *A. cupreata* muy deterioradas, efecto que continua, agudizada por el desabasto de plantas para la elaboración de mezcal. Debido a la problemática de deterioro continuo, se prevé la necesidad de concientizar a los dueños de predios a establecer sistemas de manejo que reduzcan o se detenga el deterioro para evitar la extinción, sobre todo en sitios muy reducidos.

En relación a la evaluación de la viabilidad de semillas, los resultados del presente trabajo registró la necesidad de almacenar las semillas después de su secado al sol por no más de tres días o secadas con sal desecante para alcanzar niveles de humedad dentro de las semillas entre 3-5%. Es importante que al llegar la humedad, la semilla se almacene en contenedores herméticos, debido a que las semillas pueden nuevamente incrementar su contenido de humedad al absorber la humedad del ambiente. También, es importante que el sitio de almacenamiento sea en un lugar fresco (20 °C) o de preferencia en refrigerador (4-

6° C), este último permitirá conservar la vida de las semillas por varios años. Sobre la temperatura durante la germinación, es necesario que los germinados se establezcan a la sombra, la incidencia de rayos de sol y semillas expuestas a este durante su germinación, puede elevarse la temperatura por arriba de los 35 °C en primavera-verano y puede ser inhibitorio o reducir los niveles de germinación. Las siembras en invierno, en donde se expongan a las semillas a temperaturas por debajo de 15 °C durante el proceso de germinación, también puede ser un factor de reducción en el porcentaje de germinación, pudiendo ser inhibitoria si reduce aún más la temperatura en el ambiente.

El trabajo realizado genera aportaciones para la conservación de poblaciones *Agave cupreata*, manejo y conservación de semillas de agaves mezcaleros en el estado.

GENERAL SUMMARY

The state who keep wild populations of *Agave cupreata* in several municipalities in Michoacán was evaluated. Georeferenced the sites through quadrants height and diameter of the plants was established, which showed the structure sizes, population size, density and reproductive status sampling site. In relation to the existing problem of the loss of viability of seeds by farmers plantations established at laboratory level, evaluations for two species, *A. Inaequidens* and *A. cupreata*, the two most important in developing agave mezcal in central-east of the state of Michoacán, studies on the effect of storage temperature and seed moisture to be stored to register as influence the viability of these. The loss of germination in nurseries, allowed the laboratory to evaluate the effect of temperature during incubation and seed germination. This study aimed to assess the status of wild populations of *Agave cupreata*, as well as record the behavior of the viability of the seeds of the two species of agave mezcal, with different levels of humidity and different temperatures during storage, as well to analyze the behavior of seed germination at different incubation temperatures.

Field results on the status of the populations recorded at very deteriorated wild populations of *A. cupreata* effect continues, exacerbated by the shortage of plants for the production of mezcal. Due to the problem of continuous deterioration is anticipated the need to raise awareness among land owners to establish management systems to reduce or stop the deterioration to avoid extinction, especially in tight places.

Regarding the assessment of the viability of seeds, the results of this study showed the need to store the seeds after drying in the sun for no more than three days or dried with desiccant salt to achieve levels of moisture within the seeds between 3-5%. It is important to get moisture, the seed is stored in airtight containers, because the seeds may again raise its moisture content to absorb moisture from the atmosphere. Also, it is important that the storage site is in a cool (20 ° C) or preferably in a refrigerator (4-6 ° C), the latter will preserve the life of the seeds for several years. On the temperature for germination is necessary that the sprouts are set in the shade, the incidence of sunshine and seeds exposed to this during germination, the temperature can rise above 35 ° C in spring-summer and may be inhibiting or reducing levels of germination. Winter planting, in which the seeds are exposed to temperatures below 15 ° C during the germination process, can also be a factor of reduction in germination percentage can be further reduced inhibitory if the ambient temperature .

The work generates contributions to the conservation of populations *Agave cupreata*, management and conservation of seeds agaves mezcaleros in the state.

INTRODUCCION GENERAL

México es uno de los cuatro países con mayor diversidad de especies, caracterizado por el alto endemismo en algunos grupos (Mittermeier, 1988; Rzedowski, 1993). La riqueza en flora fanerogámica en nuestro país registra 2410 géneros y 22000 especies, de las cuales el 10% en géneros y 52% en especies son endémicas (Rzedowski, 1993). La familia Agavaceae es un ejemplo notable: el 75% (198) de las especies se distribuyen en México, de las cuales el 55% son endémicas (García-Mendoza 1995). Sin embargo, esta gran diversidad ha estado sujeta al efecto de las diversas actividades humanas que perturban fuertemente a las poblaciones silvestres (Bye 1993).

Desde épocas prehispánicas las plantas han sido parte fundamentales en el desarrollo de comunidades indígenas de regiones con condiciones ambientales de extrema sequía, estableciéndose una simbiosis planta-hombre que ha prevalecido hasta nuestros días y que de no haber existido esta asociación, difícilmente se hubieran desarrollado asentamientos humanos, han sido fuente de fibra, de papel, medicina y alimento (Gentry 1982; Granados 1993). En algunos agaves su explotación ha llegado a escala industrial, tal es el caso de los agaves mezcaleros. La destilación para la producción de bebida alcohólica se estableció después de la conquista con la llegada de los españoles. Desde entonces los indígenas lo practican a lo largo de la costa del Pacífico, desde Sonora hasta Oaxaca. Un ejemplo clásico de este proceso lo representa el Tequila extraído del *Agave tequilana* Weber en el Estado de Jalisco, el cual se explota para consumo nacional y para exportación. El mezcal bacanora (*A. pacifica* y *A. palmeri*) de Sonora y el mezcal de Oaxaca (*A. americana*, *A. angustifolia*, *A. cantala*, *A. macroacantha*, *A. potatorum*, *A. marmorata*, *A. carwinski* entre otros) son después del Tequila, los mayores productores de mezcal, en los cuales se ha implementado el cultivo rústico y se ha iniciado la domesticación, estableciendo plantaciones para el uso industrial (Sánchez 1989; Granados 1993).

Características generales de la familia Agavaceae. La familia Agavaceae es endémica del continente Americano, se distribuye principalmente a zonas áridas y semiáridas del centro de México, por su mayor densidad y endemismo en nuestro país es considerado como el centro de origen y diversificación de la familia (García-Mendoza y Galván, 1995; Eguiarte *et al.*, 2000). Son plantas suculentas con hojas agrupadas en forma de roseta, sus

tonalidades son verdes, con matices ligeramente azulados y pueden presentar márgenes lisos o con dientes o espinas de diferentes tamaños. Sus flores son grandes, bisexuales y nacen de un escapo floral, sus frutos son triloculares con semillas planas de color negro (García-Mendoza y Galván, 1995).

La familia está representada por nueve géneros, todos se encuentran representados en México: el género *Agave* registra 125 especies, *Beschorneria* 7, *Furcraea* 11, *Hesperaloe* 5, *Manfreda* 27, *Polianthes* 13, *Prochnyanthes* 1, *Hesperoyucca* 1 y *Yucca* 29. Por lo anterior, se ha llegado a considerar que México es centro de origen, el de mayor riqueza y diversidad del grupo (Eguiarte *et al.*, 2000; García-Mendoza 2002; Eguiarte y Souza 2007). La gran diversidad de estos géneros presentan estrategias de ciclo de vida contrastantes, algunas especies son iteróparas, es decir que se pueden reproducir varias veces durante su ciclo de vida, mientras que otras sólo se pueden reproducir una sola vez en su vida para después morir, a estas especies se les conoce como semélparas (Gentry, 1986).

Los géneros que conforman a esta familia presenta una notable diversidad de morfologías florales y de polinizadores, entre los cuales se pueden encontrar murciélagos, abejas, colibríes y polillas (Eguiarte *et al.*, 2000).

El género *Agave*. El género *Agave* es el de mayor diversidad del grupo, con alrededor de 125 especies y 47 categorías infra específicas, para un total de 247 taxa, de los cuales 150 especies se encuentran presentes en nuestro país (García-Mendoza, 2002). La complejidad taxonómica que presenta este género lo ha hecho objeto de varios estudios, entre ellos los realizados por Berger en 1915, donde se reconocen 256 especies; el estudio de Trelease en 1920, que reconoce 170 especies y el de Gentry en 1982, donde se reconocen 136 especies. Gentry (1982) divide a este género en dos subgéneros: el subgénero *Littaea* y el subgénero *Agave* con 103 especies, éste ocupa un área mayor en la república mexicana, y sus taxones tienen áreas de distribución más amplias, sin embargo la zona con mayor riqueza se ubica en el Valle de Tehuacán.

El uso que se le da a los agaves es muy diverso y data desde la época prehispánica. Desde entonces se obtenían afiladas puntas, papel, cuerdas e hilos con los que se hacían prendas de vestir, calzado y bebida fermentada o pulque. En la actualidad algunas especies se utilizan para elaborar destilados alcohólicos como bacanora, sotol, comiteco, mezcal y tequila; así mismo es utilizado para la elaboración de cercas vivas, otras especies tienen

propiedades curativas y son utilizadas como medicamento, los botones florales son comestibles (Gentry 1982; García-Mendoza, 2002).

Tiene una amplia distribución en nuestro país, desde el nivel del mar hasta los 3400 m de altitud, sin embargo, la mayor distribución la encontramos entre los 1000 a los 2000 m de altitud. Los agaves son comunes en cañadas y márgenes de ríos escarpadas expuestas a la luz del sol, las zonas con mayor diversidad de especies son las cuencas en donde crecen de manera abundante en sus laderas. Los principales ambientes en los que se distribuyen son el desierto o chaparral, el bosque de pino-encino y el bosque tropical deciduo. Los tipos de suelo donde crecen los agaves van desde los formados por rocas ígneas ácidas, hasta los básicamente calcáreos de origen marino (García-Mendoza, 2002). La riqueza en especies endémicas de este género en nuestro país puede deberse a la gran heterogeneidad de los hábitats, los cuales difieren en clima, geología, altitud, topografía, suelos, etcétera, así como a las propiedades intrínsecas de cada taxón, como puede ser la tolerancia ecológica, la plasticidad genética, capacidad de dispersión, la germinación de sus semillas y a la variedad de interacciones que presenta con otros organismos, principalmente con sus polinizadores (García-Mendoza, 2002).

Características generales del *Agave cupreata*. *Agave cupreata* es conocido en Michoacán como maguey chino, en Guerrero como papalometl (maguey mariposa), es una planta semélpara utilizada para la elaboración de mezcal de forma artesanal. *A. cupreata*, cuyo nombre responde al color cobre de sus espinas, se distingue por sus hojas anchas verde claro muy dentadas y con impresiones de espinas muy marcadas en los brotes (Gentry 1982; Martínez-Palacios *et al.*, 2011).

La planta de tipo roseta que varía en tamaño de acuerdo al sitio donde crece y a la alta variación genética que registra, pero generalmente crece hasta 1.80 metros, con una panícula que puede medir de 4 hasta 7 metros de alto (Gentry, 1982; Martínez-Palacios *et al.*, 2011). Estudios de su biología reproductiva en una población describen que tienen flores perfectas, protándricas y dicogámicas con 380 óvulos en promedio en las que la dehiscencia de las anteras se presenta al cuarto día de la apertura de la flor y el estigma es receptivo al quinto día (García-Meneses 2004; Illsey 2007 *et al.*).

La floración del escapo dura aproximadamente 6 semanas en las cuales las flores van madurando de abajo hacia arriba en espiral, cada escapo en promedio presenta 13 a 17

umbelas con 80 a 120 flores cada uno. Las semillas dispersadas por viento tienen un potencial de germinación de 90% (García-Meneses, 2004).

Esta especie se distribuye de manera silvestre en bosques de pino, pino/encino y palmares, principalmente en pendientes de montaña entre 1220 y 1850 msnm, se encuentra en poblaciones aisladas; en Michoacán en los municipios de Tzitzio, Madero, Morelia, Jungapeo, Turicato y Charo, y en Guerrero en Xochipala, Tixtla, Atlixac y Chilapa de Álvarez, (Gentry 1982; Martínez-Palacios *et al.*, 2011). Es muy importante desde el punto de vista ecológico debido a que provee alimento y morada a múltiples organismos, sobre todo durante la época seca en que florece (de enero a marzo) y produce gran cantidad de néctar, de especial interés para insectos y aves. No existe reportes de reproducción asexual (Gentry, 1982), por décadas se ha sobre explotado para la elaboración artesanal de mezcal en los estados de Michoacán y Guerrero (Martínez-Palacios *et al.*, 2011). La falta de cultivos y la colecta exhaustiva de plantas silvestres justo antes de la floración, interrumpe la reproducción sexual y aporte de semillas o establecimiento de nuevas plantas a las poblaciones silvestres, lo anterior ocasiona que las poblaciones silvestres en Michoacán estén reducidas a unos cuantos individuos y que otras poblaciones se hayan extinguido (Franco, 1991; Gómez-Sierra, 2005). Estudios genéticos muestran a la especie con alta variación genética dentro de la población ($H_e = 0.467$), motivo por el cual se registra una alta diversidad de morfos y da expectativas de conservar su alta variación genética en poblaciones con acciones de conservación (Martínez-Palacios *et al.*, 2011).

Posición taxonómica de *Agave cupreata* Trell & Berger (Gentry, 1982; Dahlgren *et al.*, 1985).

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida (Monocotiledonea)

Subclase: Liliidae

Orden: Liliales

Familia: Agavaceae

Grupo: Crenatae

Género: *Agave*

Subgénero: *Agave*

Especie: *Agave cupreata*

Nombre común: Maguey chino, papalote, maguey mariposa.

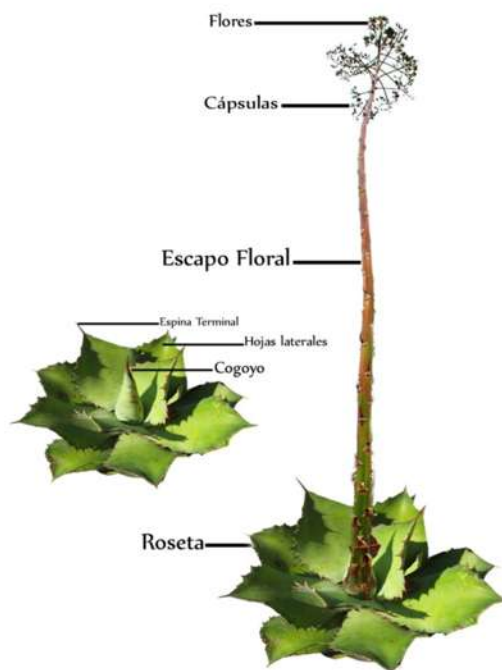


Figura 1. Características morfológicas generales de *Agave cupreata*

Las poblaciones silvestres de *A. cupreata* en Michoacán. En Michoacán se elabora mezcal, una bebida de alto grado de alcohol (45 a 55 %) cuyas características de sabor, olor y consistencia está teniendo una proyección importante a nivel nacional, esta bebida utiliza como materia prima el maguey chino que generalmente se colecta de poblaciones silvestres ubicadas en varios municipios y en predios de origen ejidal o comunal, los productores de agave presentan rezagos en los métodos sistemáticos de cultivo por lo que este recurso está representando una disminución considerable en sus poblaciones silvestres (Martínez-Palacios *et al.*, 2011).

En la actualidad, la producción de mezcal constituye una importante derrama de empleos considerando el ingreso principal y secundario para un promedio de 4,500 familias en el estado de Michoacán, impactando en la economía de 58,000 personas que directa e indirectamente están relacionados con esta agroindustria, al no contar con información básica sobre el establecimiento, densidad y cantidad de poblaciones silvestres, es necesario generar información básica sobre estos aspectos (Cofupro, 2012).

En el estado de Michoacán las poblaciones silvestres de los agaves cobran gran importancia en la actualidad debido a la sobre explotación de plantas para la elaboración de mezcal artesanal, se estima que el 90% de éste proviene de las poblaciones silvestres, lo que ha ocasionado escasez de materia prima (Martínez-Palacios *et al.*, 2009, 2011).

La falta de un registro de explotación de plantas silvestres para la elaboración de mezcal y la reducción de individuos por población, crea la necesidad de conocer el estado actual del uso y conservación de dicho recurso, con el propósito de diseñar sistemas de manejo y conservación, no obstante las medidas de extracción incluyen en algunos casos el dejar individuos de gran tamaño, estas acciones son básicas para recuperar las poblaciones silvestres que en un pasado inmediato estuvieron establecidas y han sido minimizadas por la extracción incontrolada.

En Municipios como Madero, Tzitzio y Morelia presentan una legendaria vocación para la producción de bebidas derivadas del agave desde hace más de 300 años, se han estado explotando las poblaciones silvestres, en las tres últimas décadas se llegó a la sobre-explotación, llevando a la mayoría de las poblaciones silvestres a punto de la extinción. Lo anterior, ha ocasionado que en la región se implementaran a inicios de la década pasada, sistemas de cultivo intensivos a través de semillas colectadas en campo, sin embargo, la falta de un conocimiento adecuado de cultivo del agave silvestre y la adopción de los métodos de cultivo implementados para otros agaves en otras regiones, ha ocasionado pérdidas considerables por manifestaciones de plagas y enfermedades. Por lo cual se muestra la necesidad de conocer la problemática real Ya que en algunos casos, los productores han expresado la pérdida de hasta un 80% de sus plantaciones, ocasionando que muchos productores desistan en invertir en estos cultivos. Hecho que de no remediarse, se continuará con la sobre colecta de plantas silvestres y con el deterioro de las poblaciones silvestres (Martínez-Palacios, 2012).

En general las poblaciones de *A. cupreata* para el caso de Michoacán están mucho más separadas unas de otras, habiendo desaparecido de las cercanías de las comunidades por explotación intensiva, actualmente se encuentra en los sitios alejados de comunidades que realizan dicha actividad o donde no existen productores de mezcal locales.

Con la incorporación de 29 municipios del estado de Michoacán al corredor geográfico del mezcal publicado en el Diario oficial de la Federación el 22 de Noviembre de 2012, donde se integran a la protección de la denominación de origen del mezcal, la necesidad de obtener agaves de zonas silvestres, aunado a la mínima incorporación de plantaciones, repercutirá de manera significativa en la disminución de las poblaciones silvestres de la especie, acción que requerirá esquemas de protección, manejo y conservación.

Manejo y Conservación de semillas en el *Agave*. Algunas investigaciones señalan que las semillas del *Agave* son viables y carecen de latencia (Freeman *et al.*, 1977; Pritchard y Miller, 1995; Peña-Valdivia *et al.*, 2006). Sin embargo, en el caso del genero *Agave*, en la gran mayoría de las especies se desconocen las condiciones ambientales óptimas y los intervalos de temperatura y humedad para su almacenamiento y germinación. Algunos aspectos fisiológicos, como la germinación de semillas y el crecimiento de las plantas, además de bioquímicos como el contenido de prolina parecen modificarse de acuerdo con la capacidad de tolerancia a las características ambientales donde se distribuye cada especie. Por ejemplo, la germinación de especies adaptadas a climas secos y de cultivares seleccionados por su tolerancia a la sequía sucede aun en condiciones de humedad baja (Allen *et al.*, 2000; Sadeghian y Yavari, 2004), incluso condiciones de humedad elevada, en algunos casos, la inhiben (Tsoukrianis *et al.*, 2009). Se ha observado también que la inhibición del crecimiento es más intensa en las plántulas de especies adaptadas a ambientes húmedos que en las adaptadas a ambientes áridos, y que el crecimiento del vástago generalmente es más sensible que el crecimiento radical a potenciales de agua restrictivos (Evans y Etherington, 1991).

La modificación de la proporción de biomasa entre órganos, comúnmente una mayor asignación de recursos a la raíz, ha sido considerada una reacción de las plantas a la restricción de humedad en el suelo (Taiz y Zeiger, 2006). De manera similar, se ha documentado que el contenido de prolina es un indicador de algún tipo de estrés experimentado por la planta, en particular el estrés por déficit de agua (Szabados y Savoure, 2009). Así, el aumento de la razón raíz/vástago y del contenido de prolina en las especies de *Agave* parecerían atributos comunes, que son expresados al caer la disponibilidad de

humedad en el suelo, en las condiciones ambientales donde prevalecen esas plantas (Peña-Valdivia, 2009).

Es posible sugerir que dada la riqueza de especies en el género *Agave* y la diversidad de ambientes donde se distribuyen, la germinación y el crecimiento de las plantas de cada especie pueden ser óptimos en condiciones ambientales similares a las que prevalecen en su región de origen. Por lo que, para entender los procesos que modulan el crecimiento de las plantas que crecen en ambientes áridos y semiáridos, como las de *Agave*, resulta necesario conocer si las modificaciones de la distribución de biomasa son o no propias de su adaptación a la aridez, y si los niveles de prolina pueden considerarse indicadores de una condición de estrés en este tipo de plantas (Sánchez-Urdaneta, 2009).

La Conservación y germinación de semillas en *Agave cupreata*. Ante la utilización desmedida de plantas silvestres de *Agave cupreata* para la elaboración de Mezcal artesanal en Michoacán y no establecer mecanismos para minimizar el saqueo, la implementación reciente de las semillas para realizar plantaciones, arrastra consigo el desconocimiento del manejo y conservación de semillas a corto plazo, ocasionando pérdidas considerables de la viabilidad de semillas por plagas y por desconocimiento de sistemas de manejo y conservación que permitan prolongar la viabilidad de las semillas bajo condiciones rústicas de almacenamiento y germinación, ocasiona dependencia continua de semillas de las poblaciones altamente deterioradas. Trabajos previos sobre conservación de semillas de *A. victoriae-reginae* Moore, soportan la desecación a niveles de 3% y a temperaturas cercanas a la de congelamiento del agua, han permanecido viables por más de 15 años registrando porcentajes entre intervalo de 90 a 98% de germinación (Golubov *et al.*, 2009; Martínez-Palacios y Eguiarte 2011) El desarrollar sistemas de manejo y conservación de semillas a nivel de investigación y transferirla a nivel rústico de los productores, repercutirá en incrementar la sobrevivencia de semillas por más de dos años y plantas en vivero, y esto a la vez, favorecerá el disminuir el continuo saqueo de semillas por pérdidas por malos manejos.

V. OBJETIVOS.

Objetivo General.

Evaluar el estado de poblaciones silvestres (distribución, tamaño, estructura de tamaños y estado reproductivo) y evaluar la viabilidad comparativa sobre el manejo y conservación de semillas de *Agave cupreata* y *A. inaequidens* en el estado de Michoacán.

Objetivos Particulares.

1. Ubicar geográficamente los sitios de distribución natural y tamaño de las poblaciones de *Agave cupreata* en Michoacán.
2. Evaluar la estructura de tamaños (altura y diámetro) y el estado reproductivo que guardan las poblaciones silvestres de *A. cupreata* en el estado de Michoacán.
3. Evaluar la viabilidad de semillas de dos especies *A. cupreata* y *A. inaequidens* en tres niveles de humedad de las semillas (3, 5, y 8%), diferentes temperaturas de almacenamiento (10, 25, 30, 35 y 45 °C) y conservadas en diferentes tiempos (15, 30, 45, 60, 75, y 90 días).
4. Evaluar la germinación de las semillas de *A. cupreata* y *A. inaequidens* sujetas a diferentes temperaturas de incubación (6, 12, 25, 35 y 45 °C y condiciones de laboratorio 23-27 °C, sin y con exposición a luz solar de 9:00 a 12:00 horas)

CAPITULO 1

ESTADO DE LAS PLANTAS SILVESTRES DE *Agave cupreata* EN EL ESTADO DE MICHOACÁN.

Luis Enrique Martínez Castro¹, A. Martínez-Palacios¹, N. Sánchez Vargas¹, P. Lobitte¹, L. López Pérez¹, José G. Martínez Avalos².

¹Laboratorio de Biotecnología y Genética, IIAF-UMSNH, Km 9.5 carr. Morelia-Zinapécuaro, C.P. 58880, Tarímbaro Michoacán México; ² Instituto de Ecología Aplicada, UAT, Matamoros 8 y 9 Centro, C.P. 87000, CD. Victoria Tamaulipas México.

Resumen. *Agave cupreata* endémica de la depresión del balsas, entre los 1220 y los 1890 en los estados de Guerrero y Michoacán. En este último, la sobre explotación para la elaboración de mezcal artesanal se remonta a 400 años, en la actualidad la población se encuentra en grave riesgo de extinción. Para conocer el estado de la población, se determinaron los sitios de distribución de plantas silvestres de a través de visita al lugar, se geo-referenciaron, se determinó la altitud, tipo y estado de la vegetación nativa. En relación a las plantas se establecieron 3-6 cuadrantes de 20x50 metros en cada sitio; por cuadrante se determinó la estructura de tamaños a través del diámetro y altura de las plantas, se estimó la densidad de individuos por superficie tanto los no reproductivos como los que maduraron; con el largo y ancho del sitio de distribución se determinó la superficie de distribución, ésta relacionada con la densidad por metro cuadrado determinó el tamaño de la población. Los sitios de distribución son pequeños, ubicados en los predios de uno o varios productores, lo anterior muestra una población muy fragmentada, sobre explotada, que continua con presiones de sobre colecta, la estructura de tamaños muestra presencia de diversas tallas, favorecida por que aun usan semillas para plantaciones, hecho que permite de manera involuntaria la liberación de un considerable número de semillas. En Michoacán, de continuar con la presión de sobre colecta, se corre el riesgo de una extinción silenciosa o pérdida de la variación genética e incluso de la especie en su ambiente natural.

Palabras clave: Disminución, Agavaceae, estructura de tamaños, viabilidad, conservación.

ABSTRACT.

Agave cupreata endemic depression ponds, between 1220 and 1890 in the states of Guerrero and Michoacan. In the latter, the exploitation for the production of artesanal mezcal goes back 400 years, today the population is at serious risk of extinction. To check the status of the population, the distribution sites of wild plants through site visit were determined, is geo-referenced, altitude, type and condition of native vegetation was determined. In relation to plants 20x50 meters 3-6 quadrants were established at each site; per quadrant size structure was determined by the diameter and height of the plants, the density per surface both nonbreeding as they matured was estimated; with the length and width of the surface site distribution distribution was determined, it related to the density per square meter determined the size of the population. Distribution sites are small, located on the grounds of one or more producers, this shows a very fragmented population, exploited, which continues pressures on collection, size structure shows the presence of different sizes, which still favored by used for planting seeds made inadvertently allowing the release of a large number of seeds. In Michoacan, continuing pressure on the collection, you run the risk of a silent extinction or loss of genetic variation and even the species in its natural environment.

Introducción. *Agave cupreata* Trel. & Berger es una Monocotiledónea perteneciente a la Familia Agavaceae, del grupo Crenatea, género y subgénero *Agave*, es endémica de la depresión del Balsas, ubicada entre los 1220 y 1890 m de altitud en los estados de Guerrero y Michoacán, México (Gentry, 1982). Planta perenne semélpara, tarda entre 7 a 15 años en llegar a la madurez, las flores son hercogámicas, dicogámicas y protándricas, lo que favorece una polinización cruzada (Illsley *et al.*, 2007).

En Michoacán comunidades con alto grado de marginación económica que por décadas han sobre-explotado el recurso natural para la elaboración de mezcal artesanal, el uso del tallo de plantas silvestres adultas antes de la reproducción suspende el desarrollo de la floración y por lo tanto la formación de semillas, siendo éste el único evento reproductivo de su vida (Illsley *et al.*, 2007; Martínez-Palacios *et al.*, 2007). El saqueo desmedido de plantas adultas está llegando a considerarla en grave riesgo de extinción (Eguiarte, 1982).

La producción de mezcal en la entidad representa una actividad económica importante, particularmente en comunidades marginadas, sin embargo, con el reconocimiento del área de distribución dentro de la denominación de origen del mezcal en Michoacán, y a pesar de generar sistemas de plantaciones a partir de semillas desde inicio de la década pasada, existe aún desabasto de materia prima (tallos de plantas adultas) de dicha especie, se incrementa la recolección de plantas y se agudiza la supervivencia de poblaciones silvestres (Martínez-Palacios *et al.*, 2009, 2011).

Especies en similares circunstancias (*Agave angustifolia* y *A. palmeri*) en el estado de Sonora, ha registrado sobre explotación de poblaciones silvestres con la extracción desmedida de plantas para la elaboración de Bacanora (tipo de mezcal regional) (Burwell, 1995).

El evaluar el estado que guardan las poblaciones silvestres a través de la estructura de tamaños, la densidad, el tamaño de la población, los reproductores por área, genética de poblaciones y cualquier otro dato que contribuya a conocer el estado de perturbación o estabilidad de una población es de fundamental importancia, lo cual sienta las bases para generar algunas alternativas de manejo y conservación (Martínez-Palacios, 1998; Martínez-Palacios *et al.*, 1999, 2011; Martínez-Palacios y Eguiarte, 2011).

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar la distribución, tamaño total de individuos por sitios, la estructura de tamaños, densidad de individuos no adultos y adultos de las poblaciones de *A. cupreata* en el estado de Michoacán.

Materiales y Método.

Zona de Estudio. El presente estudio se realizó en los municipios de Morelia, Charo, Madero, Tzitzio y Jungapeo y Turicato del estado de Michoacán, se determinó la existencia y se georreferenciaron los sitios donde se establecieron poblaciones silvestres de *Agave cupreata*, debido al estado de deterioro en el que se encontraron sitios con mínima presencia, solo en los 3 últimos se realizaron mediciones de plantas en las poblaciones en estado silvestre.

Ubicación geográfica. Para establecer la distribución geográfica de los sitios silvestres y tamaño de las poblaciones se visitaron localidades citadas en la literatura (Gentry 1982; Gómez-Sierra, 2005; Martínez-Palacios *et al.*, 2011) y se realizaron recorridos en campo con el apoyo de productores que conocen sitios con presencia de población silvestre en los municipios de la región. Cada sitio donde se observó la presencia de planta silvestre, se georeferenció con ayuda de un Geopocisionador, (GPS) marca Garmin Modelo 550.

Los puntos georeferenciados con presencia de plantas en zonas silvestres se registraron en una base de datos, esta información se integró para la elaboración de un mapa del estado con los puntos de distribución.

Estructura de tamaños y densidad. En los municipios donde se evaluaron las poblaciones de *A. cupreata*, se establecieron 3-6 cuadrantes de 20 x 50 m. Se utilizó el método de cuadrantes debido a que es la forma más común de muestreo de vegetación, más homogéneo y tiene menos impacto de borde en comparación con los transectos (Matteucci y Colma, 1982), así como su utilización previa en el estudio de la densidad de plantas silvestres en *Agave victoriae-reginae* Moore, especie en peligro de extinción del desierto Chihuahuense (Martínez Palacios y Eguiarte, 2011).

Se realizaron registros del diámetro y la altura de cada planta contenida dentro de cada cuadrante. Con el total de individuos dentro de la superficie muestreada se estimó la densidad de individuos y de reproductivos por metro cuadrado.

Superficie de distribución, individuos totales e individuos reproductivos totales por sitio. El tamaño o superficie de distribución se estimó multiplicando el largo por el ancho del sitio.

El total de individuos por población o por hectárea se obtuvo a través del valor promedio de la densidad por metro cuadrado, extrapolando el valor a la superficie del área de distribución estimada.

Se realizaron observaciones sobre los individuos reproductores y se estableció un conteo de individuos en estados reproductivos obtenidos de los cuadrantes en campo, se determinó sobre el posible fin de la planta reproductora, la cual podría ser, colecta de tallo para mezcal (destrucción de toda la planta), colecta de semilla para generar plantaciones comerciales (corte del qurote y colecta de frutos) y desarrollo natural de maduración (planta de la temporada aun con el qurote unido a ella) con fines de incorporación al medio natural.

Análisis estadísticos. Los datos registrados se evaluaron a través de un análisis de varianza, una prueba de Tukey para diferenciar las medias en las variables altura y diámetro con el paquete estadístico (SAS, 2011). Para ver el comportamiento de estructuras de tamaños, la altura y diámetro se graficaron en histograma, usando escala de barra cada 10 cm para altura y de 20 cm para diámetro, con el fin de observar comportamientos similares entre ambas medidas. Los datos se analizaron a través del software R Development Core Team (2008).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ubicación geográfica. Con las georreferencias y el nombre de los sitios, se ubicaron geográficamente los lugares muestreados o sitios de distribución de *Agave cupreata* (Figura 1). Su distribución está dentro de la depresión del Balsas en los estados de Guerrero y Michoacán (Gentry, 1986; Martínez-Palacios *et al.*, 2011).

La altitud de la distribución registró un intervalo de 1470 metros (Las Nueces, Tzitzio) a 1863 metros (Las Escobas, Jungapeo) (Cuadro 1). El intervalo de distribución en altitud está dentro de los intervalos de distribución reportado para la especie en trabajos previos (Gentry 1986; Gómez-Sierra 2005; Martínez-Palacios *et al.*, 2011).

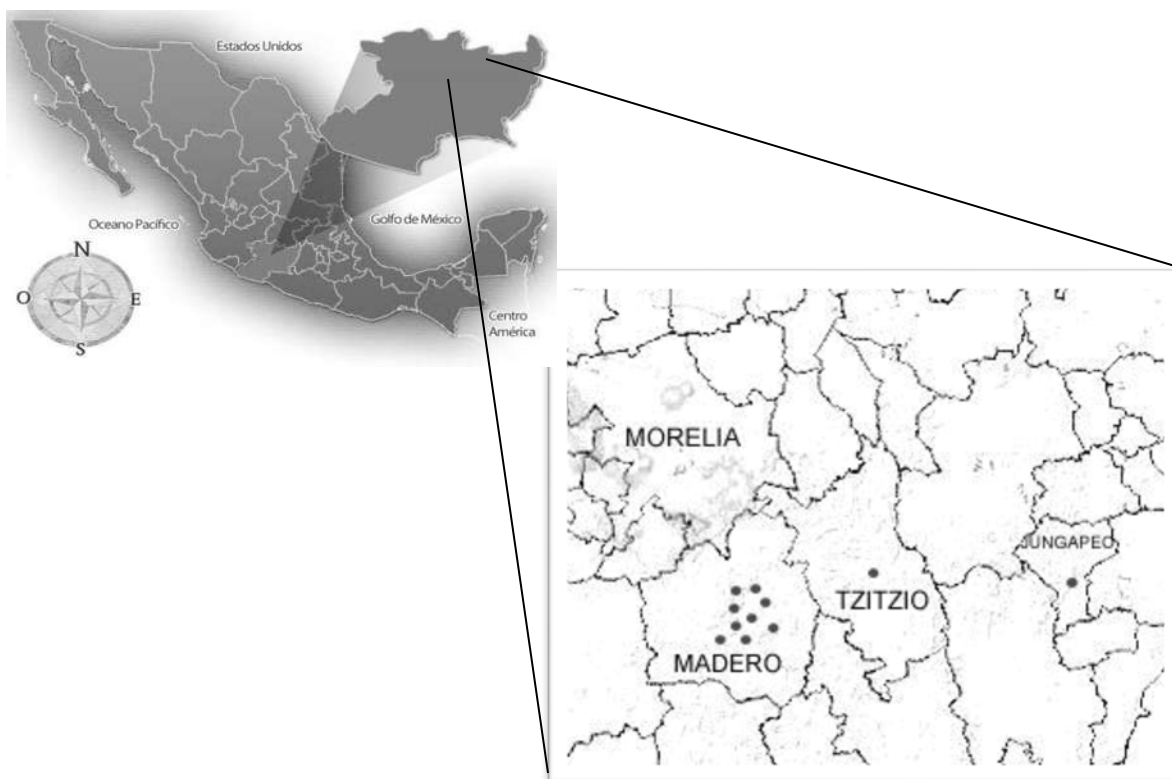


Figura 1. Sitios muestreados con distribución de plantas silvestres de *A. cupreata* en el noreste de Michoacán

Sitio	Municipio	Coordenadas Geográficas		Altitud (msnm)	Grado de perturbación
		Norte	Oeste		
El Zangarro	Madero	19°22'23.82"	101°12'33.72"	1705	Baja
El Molinito	Madero	19°27'09.00"	101°10'46.74"	1708	Baja
El Reparo	Madero	19°27'13.44"	101° 9'56.88"	1749	Baja
La Media Luna	Madero	19°26'54.54"	101°10'40.32"	1620	Baja
Rancho Rojas	Madero	19°23'16.14"	101°13'29.04"	1756	Media
Rancho Mesa de Azucenas	Madero	19°23'46.62"	101°12'43.92"	1718	Media
El Jahúical	Madero	19°25'51.69"	101°11'59.92"	1767	Baja
La Saidita	Madero	19°26'18.43"	101°12'17.95"	1758	Baja
Loma de Guayabitos	Madero	19°23'58.85"	101° 6'55.91"	1514	Alta
Las Escobas	Jungapeo	19°28'02.10"	100°31'43.56"	1863	Baja
Las Nueces	Tzitzio	19°33'55.32"	100°55'38.82"	1470	Baja
Promedio				1686	

Cuadro 1. Sitios de distribución de *A. cupreata* georeferenciados, altitud y grado de perturbación en Municipios de Michoacán.

El grado de perturbación registrado tipo media y alta, son ocasionados por el continuo pastoreo, cambio en el uso del suelo (agricultura temporal) y en el peor de los casos se ha sustituido la mayor parte de la vegetación nativa (cuadro 1). En relación a los sitios de baja perturbación, se observó baja actividad de pastoreo y destrucción de la vegetación nativa (Cuadro 1), sin embargo, en todos los casos el tamaño de la distribución es pequeño, registrando un intervalo de 2.5 a 9 hectáreas entre el sitio pequeño y el de mayor tamaño (Cuadro 2), la distribución natural de *A. cupreata* ha quedado restringida a predios de pequeños propietarios, ejidos o comunidades, lo anterior muestra una población muy fragmentada, no concuerda con la distribución continua sobre cerros y a lo largo de las sierras de las diversas regiones que en el pasado se distribuía el maguey chino tal y como lo comentan los explotadores del maguey y habitantes de la tercera edad de las diversas regiones muestreadas (Alejandro Martínez, comunicación personal). Las diversas actividades antropogénicas son los factores que mayor influyen en riesgo de extinción a la mayoría de las especies (Bye 1993). El caso del sitio las Escobas, municipio de Jungapeo, es el único que se sale de los lugares en posición de perturbación por sobre colecta, ya que tiene alrededor de 80 años que se abandonó la sobre explotación y la vinata por no ser

costeable, debido principalmente a la falta de planta disponible, sin embargo con el correr de los años y la no extracción de plantas, el sitio se recuperó (Alejandro Martínez Palacios Comunicación personal). Las 2.7 hectáreas ubicadas (Cuadro 2), únicamente corresponden al sitio muestreado, por falta de accesibilidad no se pudo recorrer toda la sierra donde los lugareños indican que se extiende su distribución. Siendo este el único sitio que podría considerarse de distribución amplia y estable, debido a la presencia de individuos de diversos tamaños, es ejidal, situación que ha prohibido la colecta por beneficiar a unos cuantos y por el precio bajo que tiene la planta en estado reproductivo (Alejandro Martínez-Palacios, comunicación personal).

En relación a los reproductores en campo, es común que los colectores de plantas para la destilación alcohólica dejen las más pequeñas, con el pretexto de que no sirven o no rinden para la elaboración de mezcal (Martínez-Palacios *et al.*, 2009). Hecho que podría repercutir en las nuevas generaciones de plantas y en las poblaciones silvestres. Es necesario establecer alternativas de conservación a través de plantaciones comerciales y/o establecer sistemas de manejo que permitan recuperación de las poblaciones o sitios, sobre todo cuando la especie aun muestra elevada variación genética ($He = 0.467$) (Martínez-Palacios *et al.*, 2011), reclutamientos anuales (datos aquí mostrados) y alta viabilidad de semillas (Golubov *et al.*, 2007; Martínez-Palacios 2012; Martínez-Vargas 2014).

Estructura de tamaños y tamaño total de plantas por sitio (“población”). La distribución de *Agave cupreata* en Michoacán, en todos los sitios, se encontró fragmentada y reducida a áreas pequeñas, en algunas asociadas a bosque de pino-encino con baja perturbación, en otros casos sitios con intermedia a alta intervención de diversas actividades humanas, con influencia de labor agrícola, y de pastoreo por los mismos productores de mezcal (Cuadro 2). Por lo anterior, la continua extracción de planta de modo silvestre ha sido una actividad que disminuye la cantidad y distribución de la especie y en el caso de Michoacán siendo reducida a lotes aislados y que ponen en peligro a la especie (Eguiarte 1988, Eguiarte *et al.*, 2006).

La densidad registró un promedio de 0.051 individuos por metro cuadrado (inds m^{-2}), la mayor densidad de 0.071 (inds m^{-2}) se registró en los sitios el Jagüital y la Saidita, Municipio de Madero; la menor densidad fue de 0.037 (inds m^{-2}) para el Zangarro, en el

mismo Municipio (Cuadro 2). El promedio está por debajo de los reportados para *Agave victoriae-reginae* Moore (0.47 inds m^{-2}), especie endémica y en peligro de extinción del desierto Chihuahuense mexicano (Martínez-Palacios 1998; Martínez-Palacios *et al.*, 1999; Martínez-Palacios y Eguiarte 2011). Situación que puede ser debido a las características de ambiente de pared donde se distribuye *A. victoriae-reginae*, pared de carbonato de calcio, además, ésta especie tiende a clonar por rizoma y por yemas axilares (Martínez-Palacios y Eguiarte 2011), caso contrario lo registra *A. cupreata*, la cual no registra la clonación por ninguna vía y crece en laderas y lomas con pendientes, y mayor separación entre plantas (Gómez-Sierra 2005; Martínez Palacios *et al.*, 2011). La densidad está también por debajo de la registrada para *Agave salmiana* ssp. *crassispina*, explotada para la elaboración de mezcal en la región, crecen en praderas de pastizales con nopaleras y matorral micrófilo en el sureste de Zacatecas (Martínez-Salvador *et al.*, 2005; Martínez-Salvador, 2013).

La alteración observada en los diferentes sitios está relacionada con el cambio de uso de suelo, en sitios como Loma de Guayabitos en Madero, está asociada a modificación para pastoreo de ganado y el establecimiento de cultivos de maíz. Sin embargo, en la mayoría de los sitios se observaron estructuras de tamaños en estados juveniles, lo cual muestra que existe liberación de semilla de forma natural y reclutamiento de plantas. Las plantas que se decide o se le deja llegar a espigar y fructificar, debido a la espiga tan grande de la inflorescencia y a la madurez de frutos y liberación de semillas heterogénea en tiempo, permite tirar más de un 20 % de semillas, al cortar el qurote durante el aprovechamiento de la semilla, factor que favorece al reclutamiento natural, fenómeno que se refleja en la estructura de tamaños menores de los sitios muestreados (Figura 2).

La distribución de tamaños puede observarse que varía entre un sitio y otro (Cuadro 2; Figura 2), puede deberse a diversos factores, entre los cuales podemos mencionar los relacionados a temporadas que no realizan colecta de semillas, liberación natural, relacionada con periodos de lluvias aceptables, no perturbación de los sitios por pastoreo y quemas (Figura 2). El reclutamiento a través de la estructura de 20 cm en las variables de altura y diámetro nos indica ser continuo y representar reclutamientos en un periodo estimado de dos años, que en su conjunto estaría relacionado con los 10 años en promedio que toma a la planta en alcanzar el estado de madurez (Illsley *et al.*, 2009).

La estructura de tamaño altura se graficó en un intervalo de 1 a 120 cm, que es la mitad de lo graficado para la estructura de tamaño diámetro, lo anterior se estimó la relación de crecimiento entre la altura y el diámetro de las plantas, debido a que existe una diferencia de crecimiento entre las dos variables permitiéndonos poder analizar las dos variables de manera integral. La estructura de tamaños se logró observar marcas de caídas tanto en altura como en su respectivo diámetro. Fenómeno que puede estar relacionado a una sequía marcada en el 2006 en el centro norte de la república mexicana (Figura 2: barra con flecha indicadora) (CONAGUA, 2014). Lo anterior se logró calcular con el seguimiento en altura y diámetro de plantas de una plantación de cuatro de establecida (Chávez-Mendoza, 2009), usando el crecimiento por año, que para el caso del diámetro, fue estimado en un promedio de 20 cm/año y para altura de 10-12 cm/año, con lo cual se logró transpolar estos datos a la caída registrada en la estructura de tamaños de cada población, relacionándola con el fenómeno de sequía del 2006 reportada por CONAGUA (2014), los histogramas generados de diámetro y altura nos podrían determinar que existe una relación directa en los muestreos realizados y que indican que en esas fechas los reclutamientos en plantas silvestres disminuyen, estos datos indican la ausencia de reclutamiento continuo en los sitios estudiados, sin embargo debemos considerar otros factores que deben influir directamente en las poblaciones silvestres de la especie como son aspectos del cambio de uso de suelo, pérdida de bosques, implementación de cultivos, minimización en la cantidad de polinizadores entre otros.

Reproductores por hectárea y Destino La densidad de individuos en estado reproductivo en *Agave cupreata* fue de 16.8 individuos reproductores por hectárea, en densidades promedio de individuos (510 individuos/ha.) (Cuadro 1), este dato es alto en comparación a lo reportado para *Agave victoriae reginae* donde se reportan 13.1 reproductores por hectárea, en densidades por planta superiores (4,700 plantas/ha.) (Martínez-Palacios *et al.*, 1999; Martínez-Palacios y Eguiarte, 2011), sin embargo, estos altos niveles de reproductores se ven afectados por la colecta de tallos de plantas adultas y de semilla.

ESTADO DE LAS POBLACIONES DE *Agave cupreata*, Y ANALISIS COMPARATIVO CON *A. inaequidens* SOBRE EL EFECTO DE LA HUMEDAD Y TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO Y EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS.

Sitio	Municipio	Inds. muestreados	Área muestreada (m ²)	Ind./m ²	Intervalo Altura (cm)	Media Altura (cm)	Intervalo Diámetro	Media Diám. (cm)	Estimación de Inds/Sitio	Área distribución (Ha.)	Reps./ Ha
El Zangarro	Madero	97	2000	0.037	11-110	59.48 b	18-165	70.38 c	1295	3.5	10
El Molinito	Madero	85	3000	0.043	12-165	72.36 a	37-176	100.17 a	3655	8.5	35
El Reparo	Madero	114	3000	0.038	5-105	49.89 bc	2-245	71.92 c	2660	7.0	14
La Media Luna	Madero	153	3000	0.051	4-122	47.67 bcd	15-189	88.23 ab	4080	8.0	26
Rancho Rojas	Madero	156	3000	0.052	2-118	56.17 bc	2-189	58.28 cd	1300	2.5	13
Mesa de Azucenas	Madero	156	3000	0.052	1-156	30.45 ef	1.5-233	45.24 ef	4680	9.0	12
El Jahuical	Madero	211	3000	0.071	1-135	42.59 cd	6-174	77.08 bc	3195	4.5	21
La Saidita	Madero	213	3000	0.071	2-128	38.64 de	7-197	70.58 c	4615	6.5	14
Loma de Guayabitos	Madero	160	3000	0.052	1-112	30.92 f	1-144	38.35 f	2600	5.0	10
Las Escobas*	Jungapeo	261	6000	0.045	1-122	30.50 f	1-166	55.17 de	1215	2.7	20
Las Nueces	Tzitzio	326	6000	0.054	2-165	42.77 cd	16-168	76.50 bc	2160	4.0	10
Promedio		176	2909	0.051		45.58		68.35	2859	5.6	17

Cuadro 2. Densidad, tamaño poblacional y evaluación de reproductores en 11 sitios de distribución natural de *A. cupreata* en Michoacán, México. * El área corresponde a la superficie muestreada, sin embargo existen áreas aledañas con plantas silvestres.

ESTADO DE LAS POBLACIONES DE *Agave cupreata*, Y ANALISIS COMPARATIVO CON *A. inaequidens* SOBRE EL EFECTO DE LA HUMEDAD Y TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO Y EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS.

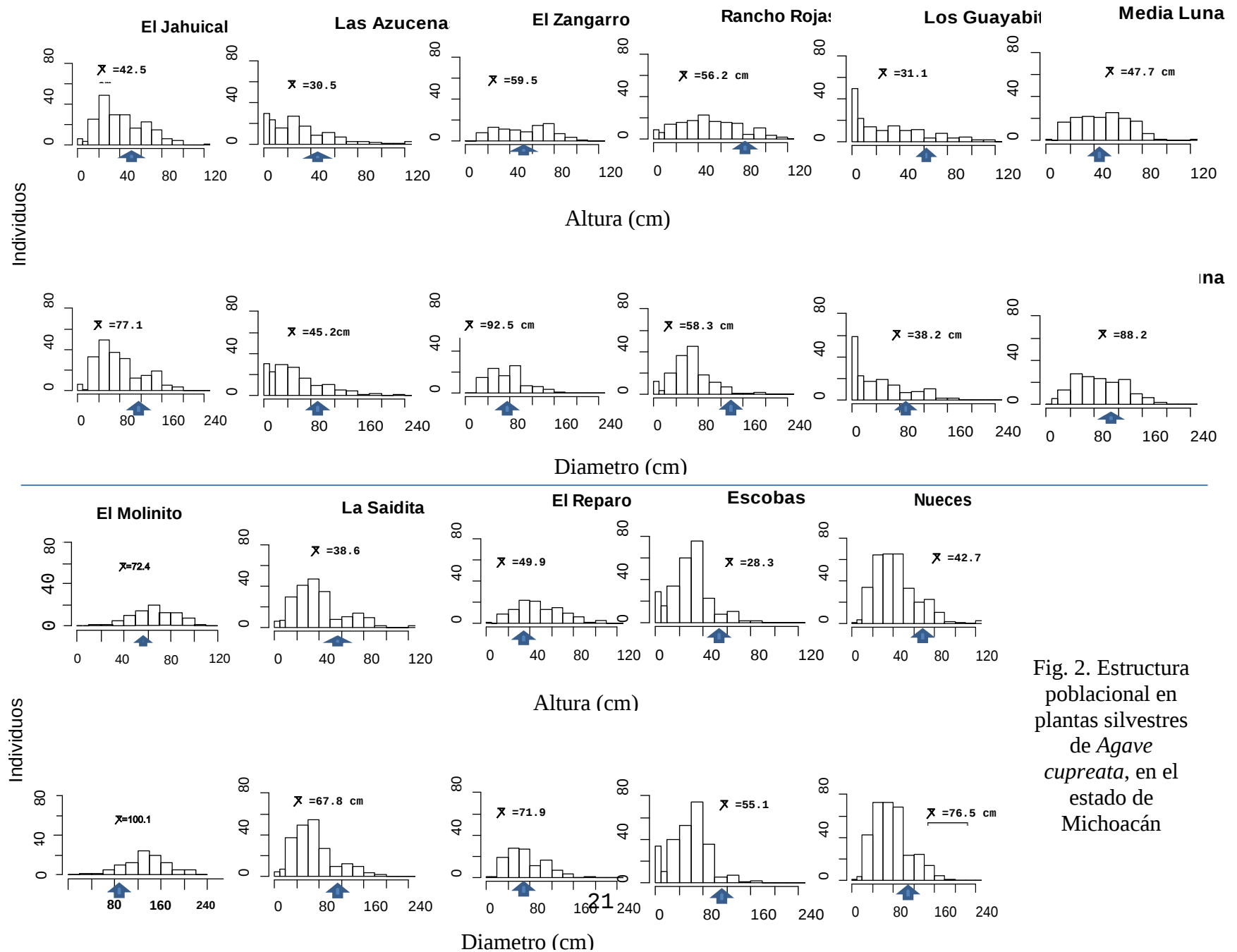


Fig. 2. Estructura poblacional en plantas silvestres de *Agave cupreata*, en el estado de Michoacán

Análisis Estadísticos. Los análisis de varianza del diámetro y altura de las plantas en ambos casos el factor sitio y cuadrante fueron altamente significativos ($P < 0.001$) en ambos casos (Cuadro 3 y 4). De acuerdo a los datos analizados mediante una comparación de medias utilizando la prueba de Tukey (0.05 nivel de error), se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 11 sitios analizados en los tres diferentes municipios, con respecto a la variable altura y diámetro (Cuadros 3 y 4). Lo anterior puede estar relacionadas a varios factores, los naturales registrados son la variación genética alta en la especie en estudio, al hábitat heterogéneo donde se distribuye (Martínez-Palacios *et al.*, 2011), y los antropogénicos, relacionados con la perturbación continua por el cambio de uso de suelo, la colecta de plantas e interrupción de la liberación de semillas que es variada entre un sitio y otro. Un comportamiento similar se registró en *A. victoriae-reginae* donde las variantes de perturbación y ambientales son similares (Martínez-Palacios, 1998; Martínez-Palacios y Eguiarte, 2011).

La heterogeneidad de sitios con respecto a la demografía poblacional está determinada por diversos factores, la densidad de agave disminuye gradualmente con la edad (Illsley, 2007; Martínez-Palacios y Eguiarte, 2011) por lo que el número de agaves maduros fue mucho más bajo que la de los juveniles. Este patrón se observó en la mayoría de los sitios y parece razonable sugerir que este efecto se debe a diferentes perturbaciones tales como las sequías frecuentes o el pastoreo excesivo que es una práctica común en la región de estudio (CONAGUA, 2014). La utilización de plantas de agave para propósitos comerciales es menor, para el caso de la producción de mezcal contribuye en mayor medida a la disminución en el número de individuos silvestres, que con el tiempo llegarán a la madurez, acción que afecta la densidad y estructura poblacional de las poblaciones naturales (Chávez-Mendoza, 2009).

Conclusiones.

- Los sitios muestreados de *Agave cupreata* se encuentran segregados, reducidas en tamaño y con reducción progresivo del tamaño del área de distribución, lo cual pone en riesgo a las poblaciones silvestres en Michoacán.
- Existe reclutamiento en la mayoría de las poblaciones silvestres o sitios muestreados, lo cual muestra el poder recuperación de la especie, siempre y cuando sea del mismo interés de los dueños de los predios donde se distribuyen.
- Poblaciones muestran posibilidades de recuperar, si se implementa el manejo sustentable de colecta de plantas y de semillas.
- Se determinaron factores que ponen en riesgo las poblaciones como son:
 - sobre colecta de plantas adultas,
 - colecta de semillas,
 - reducción de las poblaciones por el cambio del uso del suelo.
- Existen diferencias significativas entre sitios muestreados, influenciado por diferencia entre ambientes y por acciones antropogénicas agudas.

Literatura citada

Anonimo, 2013, Incrementarán superficie de cultivo de agave mezcalero en Michoacán., (Accesada el 25 Abril 2012).

<http://archivo.lajornadamichoacan.com.mx/2009/08/04/index.php?section=cultura&article=016n1cul>

Burwell T. 1995. **Bootlegging on a desert mountain; the political ecology of Agave (Agave spp.) demographic change in the Sonora river valley, Sonora México.** Hum. Ecol. 23, 407-432.

Bye R. 1993. **The role of humans in the diversification of plants in Mexico.** Páginas 707-731, en: T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, y J.Fa (eds.), Biological diversity of Mexico: origins and distribution. Oxford Univ. Press, New York.

CONAGUA. <http://www.smn.cna.gob.mx> (Accesada en Febrero 2013)

Chávez-Mendoza S.A. 2009. **Dinámica de plantas de *Agave cupreata* Trel. & Berger, a 4 años de reintroducidas en un ambiente históricamente natural.** Tesis de licenciatura en Biología, Facultad de Biología. U.M.S.N.H, Morelia.

Diario Oficial de la federación. (Accesada en Mayo de 2014)

http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5278677&fecha=22/11/2012

Eguiarte L.E., Souza V., Silva-Montellano A., 2000. **Evolución de la Familia Agavaceae: Filogenia, Biología Reproductiva y Genética de poblaciones,** *Bol. Soc. Bot. México* 66:131-150.

García-Mendoza A., 1992. **Con Sabor a Maguey,** Guía de la colección Nacional de Agavaceas y Nolinaceas del Jardín Botánico, Instituto de Biología UNAM, Jardín Botánico, IB-UNAM, México. 47pp.

García-Mendoza A., 2002. **Distribution of Agave (Agavaceae) in Mexico.** *Cactus and Succulent Journal* 74:177-187.

García-Meneses P. M., 2004. **Reproducción y germinación de *Agave cupreata* Trel. & Berger (Agavácea) en la localidad de Ayahualco, Guerrero**, Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM, México. 78pp. García Mendoza A., Artículo: Los agaves de México, Ciencias de la Unam No.87., (Accesada el 14 Noviembre 2013). http://www.revistaciencias.unam.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=285%3Alos-agaves-de-mexico&catid=48&Itemid=48

Gentry, S. H. 1982. **Agaves of Continental North América**. Univ. Arizona Press, Tucson.

Golubov J., M.C. Mandujano, S. Arizaga, A. Martínez-Palacios y P. Koleff. 2007. **Inventarios y conservación de Agavaceae y Nolinaceae**. Páginas: 133-152, en: P. Colunga Garcia-Marin, A. Laarque Saavedra, L. E. Eguiarte, D. Zizumbo-Virrareal (Eds.), En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. CICY-CONACYT-CONABIO-SEMARNAT-INE. México. ISBN 9789686532180.

Gómez-Sierra, J. 2005. **Organogénesis y Embriogénesis Somática de *Agave mezcadero* (*Agave cupreata* TREL. & BERGER, AGAVACEAE) con potencial industrial**. Tesis profesional. Facultad de Biología. UMSNH. México.

Granados, S. D. 1993. **Los Agaves en México**. Universidad Autónoma de Chapingo 252pp.

Gentry H, 1982, **Agaves of continental north America**, the university of Arizona press 335-351

Illsley C., E. Veg, I. Pisanty, A.Tlacotempa, P. García, P. Morales, G. Rivera, J. García, V. Jiménez, F. Castro y M. Calsada. 2007. **Maguey papalote: hacia el manejo campesino de un recurso colectivo en el trópico seco de Guerrero, México**. Páginas: 85-106, en: P. Colunga Garcia-Marin, A. Laarque Saavedra, L. E. Eguiarte, D. Zizumbo-Virrareal (eds.), En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. CICY-CONACYT-CONABIO-SEMARNAT-INE. México. ISBN 9789686532180.

Martínez-Palacios A. 1998. **Evaluación Genética y demográfica de *Agave victoriae-reginae* T. MOORE y aplicación del cultivo de tejidos para su conservación.** Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias, UNAM. 80 pp.

Martínez-Palacios A. 2012. **Manejo y conservación de semillas de agaves en Michoacán.** Pags 9-20, En: A. Martínez-Palacios (ed.), Aspectos sobre manejo y conservación de *Agave* mezcalero en Michoacán. COFUPRO-UMSNH.COECYT, ISBN: 978-607-424-306-2 México.

Martínez-Palacios A., L. E. Eguiarte and G. R. Furnier. 1999. **Genetic diversity of endangered endemic *Agave victoriae-reginae* (Agavaceae) in Chihuahua desert.** *American Journal of Botany* 86: 1093-1098.

Martínez-Palacios A., S. Chávez Mendoza, G. Quiroz Toledo, M. Gómez Sierra. 2007. **Transferencia de tecnología para el Cultivo del Maguey Mezcalero (*A. cupreata*) en Comunidades de Alta Marginación en el Estado de Michoacán.** Memorias del 3er Congreso estatal de ciencia y tecnología. 04 de octubre del 2007, Morelia, Michoacán.

Martínez-Palacios A., S. Chávez Mendoza, M. Gómez Sierra, Ma. Sierra Yxta and R. Cárdenas Navarro. 2009. **Management and Conservation of *Agave cupreata* (Agavaceae).** *First International Conference on Sustainable Cities*. 26 al 29 de Octubre de 2009, Morelia Michoacán, México. Pp. 1-6.

Martínez-Palacios A. y L.E. Eguiarte. 2011. ***Agave victoriae-reginae* T. Moore (Agavaceae): die Wildpopulationen und deren genetische Differenzierung.** *Avonia* 29(4): 139-145.

Martínez-Palacios A., J.M. Gómez-Sierra, C. Sáenz-Romero, N. Pérez-Nasser y N. Sánchez-Vargas. 2011. **Genetic diversity of *Agave cupreata* Trel. & Berger. Considerations for its conservation.** *Rev. Fitotec. Mex.* 34 (3):159–165.

Martínez-Salvador M., R. Valdez-Cepeda, H.R. Arias, L.F. Beltrán-Morales, B. Murillo-Amador, E. Troyo-Diéguez, A. Ortega-Rubio. 2005. **Distribution and density of maguey plants in the arid Zacatecas Plateau, Mexico.** Journal of Arid Environments 61:525–534.

Martínez-Salvador M. 2013 **Ecología y usos de especies forestales de interés comercial de las zonas áridas de México.** INIFAP. Libro técnico No. 5, Barrio de Santa Catarina Delegación Coyoacán, México D.F.

Martínez-Vargas E.J. 2014. **Efecto de la temperatura y la humedad en la viabilidad de semillas de *Agave cupreata* (Trel. & Berger) y *Agave inaequidens* (Koch).** Tesis de Licenciatura, Facultad de Biología, UMSNH. 51 pp.

Matteucci D.S. y A. Colma. 1982. **Metodología para el estudio de la vegetación.** Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Washington D.C. 168 pag.

Nobel P.S. 1985. **Environmental Responses of Agaves a case study with *Agave deserti*.** Páginas 55-66, en: C. Cruz, L. Del Castillo, M. Robert y R.N. Ondarza (eds.), Biología y Aprovechamiento integral del Henequén y otros Agaves. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Nobel, P.S. 1992. **Annual variations in flowering percentage, seedling establishment and ramet production flora desert perennial.** Int. J. Plant Sci. 153:102-107.

Patricia Colunga-GarcíaMarín, Alfonso Larque Saavedra, Luis E. Eguiarte, Daniel Zizumbo Villareal, 2007. **El futuro de lo ancestral.** Páginas: 395-412, en: P. Colunga García-Marín, A. Laarque Saavedra, L. E. Eguiarte, D. Zizumbo-Villareal (Eds.), En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. CICY-CONACYT-CONABIO-SEMARNAT-INE. México.

CAPITULO 2

EFFECTO DE LA TEMPERATURA EN ALMACENAMIENTO Y EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Agave cupreata* TRELL & BERGER Y *A. inaequidens* KOCH., ESPECIES DE IMPORTANCIA MEZCALERA DE MICHOACÁN.

Luis Enrique Martínez Castro ¹, Alejandro Martínez-Palacios¹, Nahúm M. Sánchez Vargas¹, Phillipe Lobite¹, Luis López Pérez¹. José G. Martínez Avalos².

¹Laboratorio de Biotecnología y Genética, IIAF-UMSNH, Km 9.5 carr. Morelia-Zinapécuaro, C.P. 58880, Tarímbaro Michoacán México; ²Instituto de Ecología Aplicada, UAT 2 Instituto de Ecología Aplicada, UAT, Matamoros 8 y 9 Centro, C.P. 87000, CD. Victoria Tamaulipas México.

RESUMEN.

Se utilizaron semillas de plantas de *A. cupreata* con 68% de germinación y *A. inaequidens* con 92% de germinación, las cuales fueron donadas por productores de plantaciones de agave del estado. Para evaluar la viabilidad de las semillas, en ambas especies se generaron lotes de semillas, se deshidrataron a 3, 5 y 8% de humedad y se almacenaron a 10, 25, 30, 35 y 45 °C, se realizaron evaluaciones periódicas durante 90 días (15, 30, 45, 60, 75 y 90 días), se sembraron 50 semillas por caja de Petri, 6 repeticiones, se incubaron a 25 °C. Para el caso de evaluar el efecto de la temperatura en la germinación de semillas, se aplicó solo para *A. cupreata*, se tomaron las semillas a 8% de humedad, las cajas de Petri se incubaron a 6, 12, 25, 35 y 45 °C. En ambos casos se incubaron a 16 hrs-luz, 2000 lux en cámara de incubación, además en condición del laboratorio sin y con exposición a la luz solar por 2 horas (10 a 12 hrs. am). El almacenamiento a elevadas temperaturas, mayores a 30 °C muestra un descenso en la viabilidad de las semillas. Los porcentajes de humedad de las semillas muestran que es necesario reducir a niveles de 8% o menores para aumentar la viabilidad al almacenamiento. En relación al tiempo de almacenamiento, se observa que

conforme se incrementa el tiempo de almacenamiento la viabilidad decrece, para el caso de *A. cupreata* existen diferencias a los 75 días de almacenamiento, para el caso de *A. inaequidens* se reporta a los 90 días. Para el caso de la germinación de la especie *A. cupreata* incubada a diferentes temperaturas, la mejor respuesta se observó en 25 °C en condiciones de incubación (cámara controlada), y en condiciones de laboratorio entre 23-27 °C., en esta última condición con dos horas de exposición al sol durante la germinación afectó la viabilidad de las semillas.

Palabras clave: Viabilidad, humedad, manejo, conservación.

Abstract.

Plant seeds of *A. cupreata* with 68% germination and *A. inaequidens* with 92% germination, which were donated by producers state agave plantations were used. To assess the viability of the seeds in both species seed lots were generated, dehydrated to 3, 5 and 8% moisture and stored at 10, 25, 30, 35 and 45 ° C, periodic evaluations were conducted for 90 days (15, 30, 45, 60, 75 and 90 days), 50 seeds were sown in Petri dishes, 6 reps, incubated at 25 ° C. In the case of evaluating the effect of temperature on seed germination was applied only to *A. cupreata*, seeds at 8% moisture were taken, the Petri dishes were incubated for 6, 12, 25, 35 and 45 C. In both cases were incubated at 16 hrs-light, 2000 lux in incubation chamber, also in laboratory condition with and without exposure to sunlight for 2 hours (10-12 hrs. Am). Storage at elevated temperatures, above 30 ° C shows a decrease in seed viability. The percentages of seed moisture show that it is necessary to reduce levels of 8% or less to increase the viability storage. In relation to the storage time, it is observed that as the time of storage the viability decreases, in the case of *A. cupreata* differences at 75 days of storage, in case it is reported *A. inaequidens* increases after 90 days . In the case of germination of *A. cupreata* incubated at different temperatures, the best response was observed at 25 ° C in incubation conditions (controlled chamber), and in laboratory conditions between 23-27 ° C., In the latter condition two hours of sun exposure during germination affected the viability of the seeds.

INTRODUCCIÓN.

Agave cupreata se distribuye principalmente en bosque de pino-encino, en la depresión del Balsas, entre los 1220 y 1890 m de altitud, en los estados de Guerrero y Michoacán. Tiene forma de roseta simple, caulescente, de tamaño medio, verde brillante, con hojas lanceoladas de 40-80 cm de largo y 18 a 20 cm de ancho, con el margen crenado. Las flores son amarillas, tubulares de 55 a 60 mm de largo y están dispuestas en inflorescencias coloquialmente llamadas escapos o quíotes (Gentry, 1982). Para *A. cupreata* no se ha reportado clonación en poblaciones silvestres (Aguirre-Dugua, 2004; Eguiarte, com. pers. 2004). Lo anterior, puede ser factor de la alta diversidad genética que registra la especie (Silvertown, 1993; Bazzaz, 1996; Martínez-Palacios *et al.*, 2011). La especie ha sido ampliamente sobre explotada para la elaboración de mezcal artesanal, en las últimas dos décadas las poblaciones en Michoacán están en grave riesgo de extinción, por éste uso y por el cambio en el uso del suelo.

Agave inaequidens se distribuye ampliamente en los bosques de pino-encino en los estados de México, Distrito Federal, Morelos, Michoacán, Colima y Jalisco, entre 1,850 y 2,480 m. de altitud (Gentry, 1982). A falta de materia prima como el caso de *A. cupreata*, en la última década las poblaciones de ésta especie están siendo sobre explotadas, de seguir con esta práctica sus poblaciones correrán el mismo riesgo. Es una roseta de gran tamaño llega a alcanzar los 200 cm de diámetro y una altura de 250 cm. De color verde claro a amarillento, de hojas anchas lanceoladas 75 a 150 cm. de largo y 11 a 21 cm. de ancho. Registra un bajo índice de clonación, ya que son escasos los organismos en los que se observa, cuando se presenta se da a través de yemas axilares en tallos vegetativos y en tallos florales cuando hay interrupción o corte de la punta del escapo floral, no registra propagación por rizoma, tampoco por generación de propágulos en estructuras florales (Gentry, 1982). La sobre explotación de mezcal artesanal, registra un desabasto de materia prima, que no cubren las plantaciones ni las poblaciones silvestres, de continuar con estas acciones, las poblaciones silvestres estarán en serios problemas de extinción (Martínez-Palacios *et al.*, 2011).

La necesidad de establecer plantaciones ha ocasionado que los productores colecten semillas y las mantenga en ocasiones por más de un año, sin embargo, se han enfrentado a la pérdida de viabilidad cuando no es utilizada dentro de los primeros 6 meses después de su colecta, incluso recién colectadas algunos productores reportan baja viabilidad durante la germinación en el almacigo. El tipo de almacén es rustico, secado al sol por varios días

Después de la colecta y almacenado en bolsas en áreas expuestas a corrientes de aire y a los cambios de temperatura y humedad ambiental. Los propios productores han expresado la necesidad de establecer mejores condiciones para mantener la viabilidad de sus semillas (Martínez-Palacios, 2012).

También se ha registrado bajos porcentajes de germinación en el almacigo aun cuando la semilla ha sido recién colectada. La baja germinación puede deberse a las necesidades de las semillas en el suelo, una vez que se inicia la imbibición, no debe interrumpirse el suministro de agua, la falta de este recurso puede interrumpir la germinación. Tampoco se les debe sujetar a cambios de temperatura, ya que las semillas germinan en un intervalo óptimo de temperatura, por arriba o por debajo de esta, muchas de sus enzimas que participan en la germinación pueden desnaturalizarse e interrumpirse la germinación (Bewley y Black, 1982), las semillas no deben estar sujetas a altas o bajas temperaturas, (Hartmann y Kester 1988) y a los cambios de humedad del suelo durante el proceso de imbibición de las semillas en los primeros pasos de la germinación, el cual puede interrumpirse si el abastecimiento de agua no es constante o se ve interrumpida, y a variantes de temperatura al ser expuestas sobre la superficie del suelo durante el proceso de germinación (Ramírez, 2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Genética vegetal del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Unidad San Juanito Itzicuaru en Morelia Michoacán México.

Material Biológico. Se utilizaron semillas de varias plantas de *Agave cupreata* y *A. inaequidens* las cuales fueron colectadas en campo y proporcionadas por productores de plantaciones de agave del estado. Para su utilización las semillas se limpiaron por separado, posteriormente se separaron en lotes y se etiquetaron para proceder a las evaluaciones de viabilidad de diferentes niveles de humedad, temperatura y procesos de almacenamiento.

Prueba del Contenido de Humedad. Se utilizó el método de ISTA (International Seed Testing Association) (ISTA, 1993) para conocer el contenido de humedad inicial de las semillas en ambas especies llamado Método de secado al horno a temperatura constante. Se tomaron tres muestras de entre 4 a 10 gramos de semillas de *A. inaequidens* y *A. cupreata* en contenedores de papel aluminio. Las semillas se dejaron durante 17 ± 1 horas en el horno a 103 ± 1 °C (ISTA, 1993). Las envolturas con las semillas se llevaron inmediatamente después de ser sacados del horno a un desecador donde se les dejó enfriar durante 30 minutos. Las muestras, junto con los recipientes, se pesaron en una balanza analítica con aproximación de 0.001 gramos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Fórmula para la Evaluación del contenido de humedad de las semillas.

$$(M_2 - M_3) \times \frac{100}{(M_2 - M_1)}$$

M_1 = peso del recipiente en gramos.
 M_2 = peso del recipiente y su contenido en gramos antes del secado
 M_3 = peso del recipiente y su contenido en gramos después del secado

Evaluación de la viabilidad. Esta prueba se realizó para establecer un número máximo de semillas que puedan germinar bajo condiciones óptimas de luz, humedad y temperatura. Se tomaron 300 semillas por especie de agave y se realizaron 6 lotes de 50 semillas por caja de Petri, en cada caja de Petri se colocó un sustrato húmedo (papel filtro de poro grueso) y se extendieron uniformemente sobre el sustrato donde además se rociaron las semillas con Captan (fungicida).

Reducción de contenido de Humedad. Para obtener el contenido de humedad requerido para realizar las pruebas en el experimento se pusieron a deshidratar aproximadamente medio litro de semillas de ambas especies de agaves para obtener aproximadamente 5 y 3 % de humedad en las semillas, se depositaron en un desecador con sílica gel por 45 días y se les realizó la prueba de contenido de humedad por medio del método ISTA anteriormente mencionado, evaluando cada 15 días hasta que alcanzó el porcentaje de humedad deseado.

Prueba de Viabilidad en el Almacenaje. La viabilidad se analizó a través de la germinación de semillas que fueron almacenadas, se tomaron 1800 semillas de cada porcentaje de humedad (8, 5 y 3%) por especie y se almacenaron a distintas temperaturas (12, 25, 3, 35 y 45°C) durante 90 días. Durante ese lapso de tiempo cada 15 días se tomaron muestras de 300 semillas de cada porcentaje de humedad así como de las distintas temperaturas y se hicieron pruebas de germinación, las semillas se colocaron en cajas de Petri (50 semillas por caja) y se realizaron conteos del número de semillas germinadas regulares cada tercer día, durante 20 días.

Prueba de Germinación. La prueba se realizó en forma de germinación simple, que consiste en hacer conteos del número de semillas germinadas durante el tiempo que transcurre desde que se ponen a germinar las semillas hasta que concluye el tiempo de observación establecido que va aproximadamente de 2 hasta 15 días. Se realizaron 7 lotes de 300 semillas (50 x caja de Petri) para ambas especies de agaves, cada lote fue puesto a germinar a distintas temperaturas y condiciones (6, 12, 25, 35, 45 °C, y condiciones del laboratorio (23-27 °C) con y sin exposición al sol). Diariamente se hicieron conteos de las semillas germinadas por día durante 15 días.

Prueba de secado al sol. Se utilizó una muestra de 300 semillas. Las semillas se colocaron en una bandeja donde se extendieron uniformemente y en donde el flujo de aire fuera homogéneo alrededor de la semilla, esta bandeja se colocó directamente bajo los rayos del sol durante las horas con mayor irradiación y en la noche se resguardaron; durante 7 días consecutivos, en cada ocasión se mezclaban para homogenizar el proceso. Posteriormente

se realizó una prueba de germinación a las semillas para observar los efectos del secado al sol y a la sombra por acción del desecador.

Análisis estadístico. Para el análisis estadístico se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía además de un análisis de Tukey, que determinó la diferencia entre medias a través de la desviación estándar para establecer si existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos seleccionados para cada lote experimental, en el programa estadístico JMP (2009). Para el análisis estadístico del efecto de la temperatura durante la germinación se utilizó el software SAS con el procedimiento GLIM (Generalized Linear Modelling) que es un programa estadístico para el montaje de modelos lineales generalizados (GLM) que proporcionó, mediante el análisis de los datos obtenidos, el efecto de la temperatura sobre la tasa de germinación de las semillas (porcentaje de germinación por día) para ambas especies de agave. El efecto del secado al sol y a la sombra se analizó a través de una prueba de t con los porcentajes transformados a Logaritmo en base *e*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Viabilidad inicial de las semillas. Al llegar al laboratorio las semillas registraron porcentajes de germinación de 68% para *A. cupreata* y 92 % para *A. inaequidens*. El porcentaje de germinación para *A. cupreata* fue bajo, debido al almacenamiento rústico al que fueron sometidas las semillas un año después de su colecta. El sujetar a las semillas a variaciones altas de humedad y de temperatura, se corre el riesgo de pérdida de vigor y de viabilidad de las semillas (Roberts, 1973; Hartmann y Kester, 1982). El caso de las semillas de *A. inaequidens* fueron colectadas el mismo año de su evaluación por lo que su porcentaje de germinación no se observó afectación. *Agave cupreata* es una especie que se le ha reportado 92-96 % de viabilidad en colectas recientes y almacenadas bajo condiciones adecuadas de humedad y temperatura (Illsey *et al.*, 2007; Martínez-Palacios, 2012).

Efecto de la temperatura de almacenamiento en la viabilidad de semillas de *A. cupreata* y *A. inaequidens*. El análisis integral sobre el efecto de la temperatura (12, 25, 30, 35 y 45 °C) en el almacenamiento por 90 días de las semillas, muestra un descenso significativo de la viabilidad de las semillas de *A. cupreata* a los 45 °C, descendiendo a 18.38 % en relación al 59.66 % de germinación registrado en la temperatura inmediata evaluada (35 °C), mientras que su porcentaje más alto de germinación (68.72 %) se obtuvo a los 12 °C de temperatura (Figura 1). En *A. inaequidens*, se mantuvo un alto porcentaje de germinación (PG) ($85.71 \leq PG \leq 87.75$) entre los 12 y los 30 °C de temperatura, pero se registró un descenso de aproximadamente 10 % al aumentar la temperatura de 30 a 35 °C, y de 15 % al llegar a los 45 °C (Figura 1). El descenso de la temperatura de almacenamiento es un factor ambiental importante para prolongar la viabilidad de las semillas (Hartmann y Kester, 1988; Sastry *et al.*, 2007). Tanto para *Agave cupreata* así como para *Agave inaequidens* el análisis de varianza del porcentaje de germinación de semillas después de haber sido sometidas a diferentes grados de temperatura 12, 25, 30, 35 y 45 °C, mostró diferencias significativas entre la temperatura de almacenamiento ($P < 0.05$; Cuadro 2 y 3).

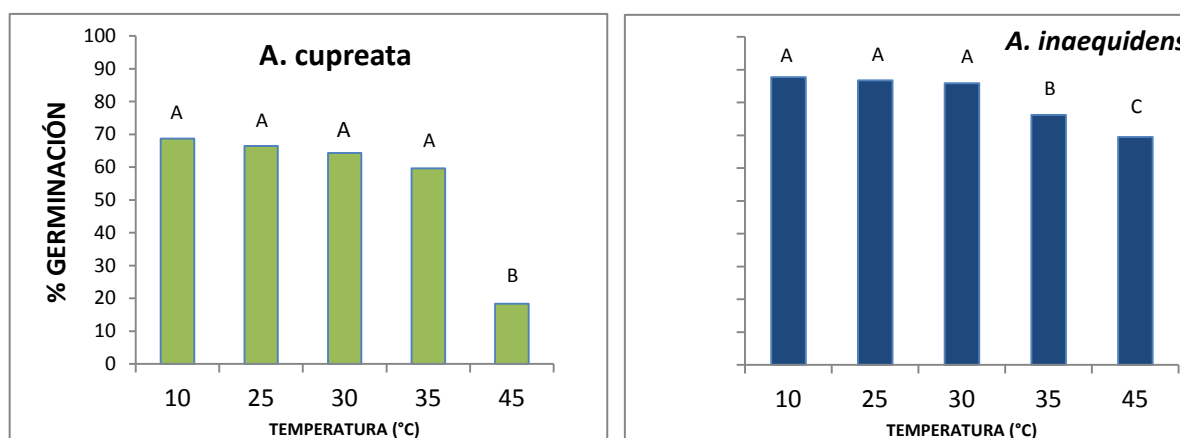


Figura 1. Porcentaje de germinación a diferentes temperaturas de incubación de semillas de *Agave cupreata* y *Agave inaequidens* con 90 días de almacenamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Cuadro 2. Cuadro 2. ANOVA del efecto de la temperatura de almacenamiento (10, 25, 30, 35 y 45 °C) sobre la germinación de las semillas de *Agave cupreata* a partir del logaritmo del porcentaje de germinación en almacenamiento a 90 días y 5 % de humedad

Fuente	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F Ratio	Prob > F
Temp (°C)	4	55.65	13.91	220.26	<0.0001
Error	535	33.79	0.06		
Total	539	89.45			

Cuadro 3. ANOVA del efecto de la temperatura de almacenamiento (10, 25, 30, 35 y 45 °C) en la germinación de las semillas de *Agave inaequidens* a partir del logaritmo del porcentaje de germinación en almacenamiento de 90 días y 5 % de porcentaje de humedad.

Fuente	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F Ratio	Prob > F
Temp °C	4	1.55	0.39	23.66	<0.0001
Error	535	8.77	0.02		
Total	539	10.32			

Efecto del contenido de humedad de las semillas de *A. cupreata* y *A. inaequidens* durante su almacenamiento. Bajo el efecto de los tres contenidos de humedad probados durante el periodo de almacenamiento de 90 días, *Agave cupreata*, registró una tendencia a mantener una mejor respuesta de viabilidad durante el almacenamiento de sus semillas a 3 y 5 % de contenido de humedad, ya que su porcentaje de germinación se mantuvo estable entre el 58 y 57 %, respectivamente, mientras que al 8 % de humedad, la germinación disminuyó significativamente a 51 % (Cuadro 5).

Las semillas de *A. inaequidens* mostraron su germinación óptima (93 %) a 5 % de contenido de humedad, con una humedad inferior (3 %) presentaron un descenso en la germinación de aproximadamente 30 %, y a una humedad superior (8 %), un descenso de aproximadamente 5 % (Cuadro 7). Ambas especies ensayadas, registraron una tendencia de mantener una mejor respuesta de la viabilidad bajo contenidos de humedad de 5% durante el almacenamiento de 90 días (Figura 6). *Agave victoriae-reginae*, especie del centro del desierto chihuahuense mexicano, registró niveles superiores al 90 % de viabilidad después de su almacenamiento de 15 años a 3 % de humedad de las semillas (Golubov *et al.*, 2007; Bejarano *et al.*, 2010). El descenso de la humedad de las semillas mantiene considerablemente la viabilidad de éstas durante su almacenamiento (Harrington 1972; Hartmann y Kester, 1988; Sastry *et al.*, 2007).

El análisis de varianza indicó que tanto para *Agave cupreata*, como para *Agave inaequidens* el porcentaje de germinación de semillas, después de haber sido sometidas a diferentes contenidos de humedad (3, 5 y 8 %) en el almacenamiento, mostró diferencias significativas entre los contenidos de humedad ($P < 0.0001$; Cuadro 4 y 6).

Cuadro 4. ANOVA del efecto de la humedad en las semillas de *A. cupreata*, a partir del logaritmo del porcentaje de germinación en 90 días de almacenamiento y 10 45 °C de almacenamiento

Fuente	G.L	Suma cuadrados	de Cuadrados medios	F Radio	Prob > F
HUMEDAD %	2	3.60	1.80	11.25	<0.0001
Error	537	85.85	0.16		
Total	539	89.45			

Cuadro 5. Efecto de la humedad de las semillas de *Agave cupreata* sobre el porcentajes de germinación en en semillas almacenadas por 90 días a 10 °C (P <.0.05).

% Humedad	Media del germinación	% Desviación Estándar	Tukey
3	58.1	15.7	A
5	57.1	23.2	A
8	51.3	25.8	B

Cuadro 6. ANOVA del efecto de la humedad sobre la germinación en semillas de *Agave inaequidens*, a partir del logaritmo del porcentaje de germinación a los 90 días de almacenamiento y temperatura de almacenamiento de 10 °C.

Fuente	G.L	Suma de Cuadrados	de Cuadrados medios	F Ratio	Prob > F
HUMEDAD %	2	3.25	1.63	123.42	<0.0001
Error	537	7.073	0.01		
Total	539	10.32			

Cuadro 7. Efecto de la humedad en las semillas de *Agave inaequidens* sobre los porcentajes de germinación a 90 días de almacenamiento con 10 °C de temperatura de almacenamiento.

% Humedad	Media del germinación	% Desviación Estándar	Tukey
3	62.5	12.7	C
5	93.5	8.4	A
8	87.3	18.2	B

El análisis de varianza indicó que tanto para *Agave cupreata* así como para *Agave inaequidens* el porcentaje de germinación de semillas después de haber sido sometidas a diferentes contenidos de humedad (3, 5 y 8 %) en el almacenamiento, mostró diferencia significativa entre los contenidos de humedad ($P < 0.0001$; Cuadro 4 y 6).

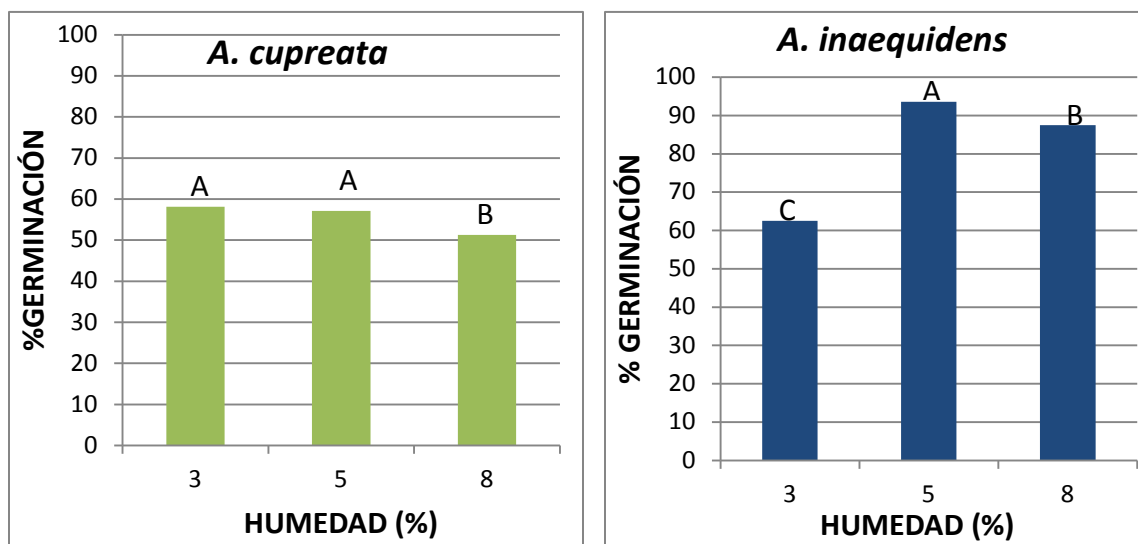


Figura 2. Viabilidad de semillas almacenadas (90 días) a 3, 5 y 8 % de humedad en *A. cupreata* y *A. inaequidens*. Letras diferentes indican diferencia significativa ($P < 0.0001$).

Efecto del tiempo en el almacenamiento en semillas de *A. cupreata* y *A. inaequidens*.

El análisis de la pérdida de viabilidad de semillas en relación al tiempo de almacenamiento, sin diferenciar las condiciones de humedad y temperatura, muestra que conforme el tiempo transcurre, la viabilidad desciende. En *Agave cupreata* registró un descenso significativo (Figura 3) a los 90 días de 48.86 % en relación al tiempo inmediato a este (75 días) con 52.57 % de germinación. En el caso de *A. inaequidens*, el descenso significativo del porcentaje de germinación se registró desde los 75 días, con 77.33 % de germinación en relación al registro de los 15 días de evaluación que registró 86.64 % de germinación, descendiendo aún más en el de 90 días a 72.95 %, en relación al de 60 días con 81.31 % de germinación (Figura 3).

El embrión durante su latencia o almacenamiento, registra gasto de energía. Diferentes causas han sido indicadas para justificar el progresivo deterioro de las semillas: disminución de reservas, alteraciones del material genético y acumulación de metabolitos tóxicos (Hartmann y Kester, 1988). La semilla son entes vivientes que respiran oxígeno del ambiente y producen como resultado bióxido de carbono, agua y energía que se traduce en calor; consecuentemente, en la medida en que se acelere el proceso de la respiración, lo hará también el deterioro de la semilla (Ramírez, 1988). De igual forma, la temperatura de almacenamiento y la humedad de las semillas son dos de los factores más importantes que influirán notablemente en el tiempo de almacenamiento de las semillas (Hartmann y Kester, 1988).

El análisis de varianza indicó que tanto *A. cupreata* así como *A. inaequidens* mostraron diferencias significativas ($P=0.0024$) sobre el tiempo de almacenamiento en la germinación de semillas después de haber sido almacenadas a diferentes grados de temperatura 12, 25, 30, 35 y 45 °C (Cuadro 8 y 9).

Cuadro 8. ANOVA del efecto del tiempo (15, 30, 45, 60, 75 y 90 días) en las semillas de *A. cupreata*, a partir del log del porcentaje de germinación al 5 % de contenido de humedad y 10 °C de temperatura de almacenamiento.

Fuente	G.L	Suma cuadrados	de Cuadrados medios	F Ratio	Prob > F
Tiempo Almacenamiento (días)	5	3.04	0.61	3.76	0.0024
Error	534	86.41	0.16		
Total	539	89.45			

Cuadro 9. ANOVA del efecto del tiempo de almacenamiento (15, 30, 45, 60, 75 y 90 días) en las semillas de *A. inaequidens*, a partir del logaritmo del porcentaje de germinación

Fuente	G.L	Suma cuadrados	de Cuadrados medios	F Ratio	Prob > F
Tiempo Almacenamiento (días)	5	0.76	0.15	8.54	<0.0001
Error	534	9.56	0.018		
Total	539	10.32			

en semillas con 5 % de contenido de humedad temperatura de almacenamiento de 10 °C.

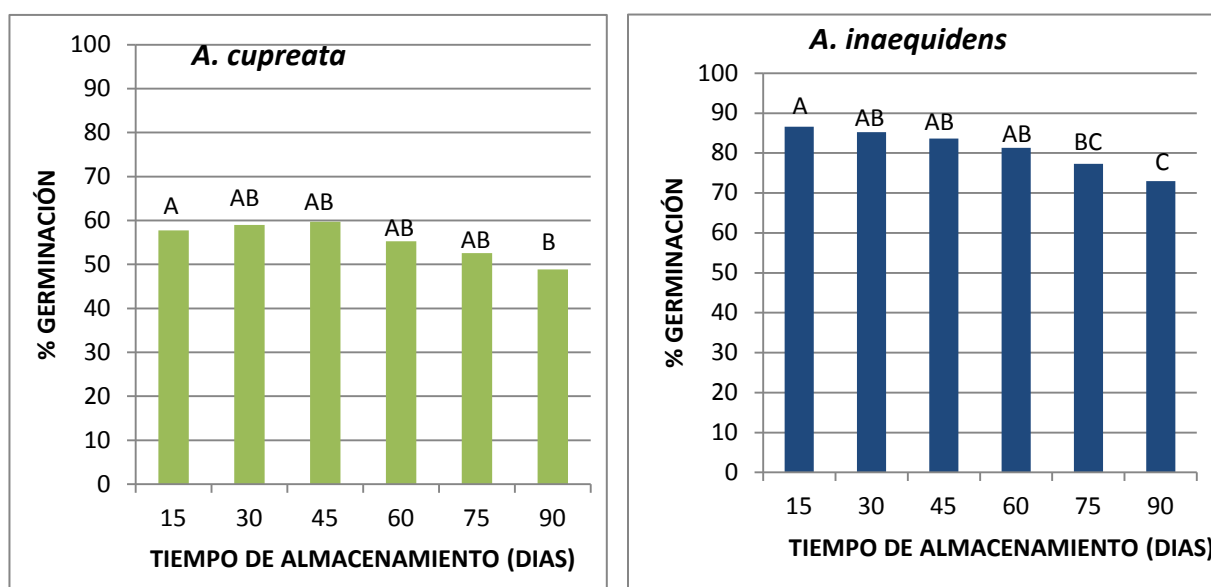


Figura 3. Efecto de la viabilidad de semillas durante 90 días de almacenamiento en *A. cupreata* y *A. inaequidens*. Letras diferentes indican diferencia significativa ($P=0.0024$) y ($P<0.0001$) respectivamente.

Efecto de la temperatura durante la germinación de semillas de *A. cupreata* y *A. inaequidens*.

El efecto de la temperatura mostró diferencias significativas en la germinación de semillas de *A. cupreata* y *A. inaequidens* ($p < 0.0001$) (Cuadros 10 y 11). En *A. cupreata* el análisis de medias de Tukey no mostró diferencias entre la temperatura de incubación de 25 °C y las de condiciones de laboratorio de 23-27 °C con y sin sol, registrando los valores promedios más altos, de 55, 43 y 55 % de germinación, respectivamente (Cuadro 12), así como los mayores valores totales acumulativos de 74, 54 y 73 % a 16 días de evaluación (Figura 8). Así mismo, en *A. inaequidens* las temperaturas que no mostraron diferencias fueron a 25 °C y 23-27 °C con y sin sol, con los valores promedios más altos de 65, 70 y 67 %, respectivamente (Cuadro 13), y los totales acumulativos a los 16 días de evaluación más altos de 90, 97 y 96 %, respectivamente (Figura 5). En ambas especies el porcentaje de germinación se redujo notablemente o se inhibió a las temperaturas de 6, 12, 35 y 45 °C de incubación (Figuras 4 y 5). Las semillas incubadas a 25 °C y en un intervalo de 23-27 °C sin y con exposición al sol (10 a 12 horas) no registraron diferencia significativa ($P > 0.05$). En *Agave americana* se reporta que a temperaturas inferiores o iguales de 11 °C o superiores o iguales a 36 °C la germinación se inhibe (Pritchard y Miller, 1995), los datos muestran una mayor sensibilidad en ambas especies al intervalo de temperatura reportada en *A. americana*, lo cual muestra explorar una mayor reducción al intervalo de temperatura establecidos para registrar el intervalo real donde no se afecta la germinación de semillas de esta especie. La temperatura es un factor decisivo en el proceso de la germinación, ya que influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla después de la rehidratación. La actividad de cada enzima tiene lugar entre un máximo y un mínimo de temperatura, existiendo un óptimo intermedio, este intervalo es diferente entre las especies (Bewley y Black, 1982; Hartmann y Kester, 1988).

Cuadro 10. ANOVA del efecto de la temperatura de incubación en la germinación de semillas de *Agave cupreata* a los 16 días, datos transformados a logaritmo.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F Ratio	Prob > F
Temperatura de Incubación	6	59.58	9.93	56.61	<0.0001
Error	105	18.42	0.18		
Total	111	78.00			

Cuadro 11. ANOVA del efecto de la temperatura de incubación en la germinación de semillas de *Agave inaequidens* a los 16 días, datos transformados a logaritmo.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F Ratio	Prob > F
Temperatura de Incubación	6	56.05	9.34	39.19	<0.0001
Error	105	25.03	0.24		
Total	111	81.08			

Cuadro 12. Porcentajes de germinación en semillas a distintas temperaturas de incubación en *Agave cupreata*. Letras diferentes muestran medias significativamente diferentes con $P \leq 0.05$.

Temperatura °C	Número semillas	Media	Desviación estándar	Tukey
12	300	1.3	1.1	B
25	300	55.0	28.6	A
35	300	0.0	0.0	B
45	300	0.0	0.0	B
6	300	0.0	0.0	B
Con Sol	300	43.4	19.1	A
Sin Sol	300	54.5	28.3	A

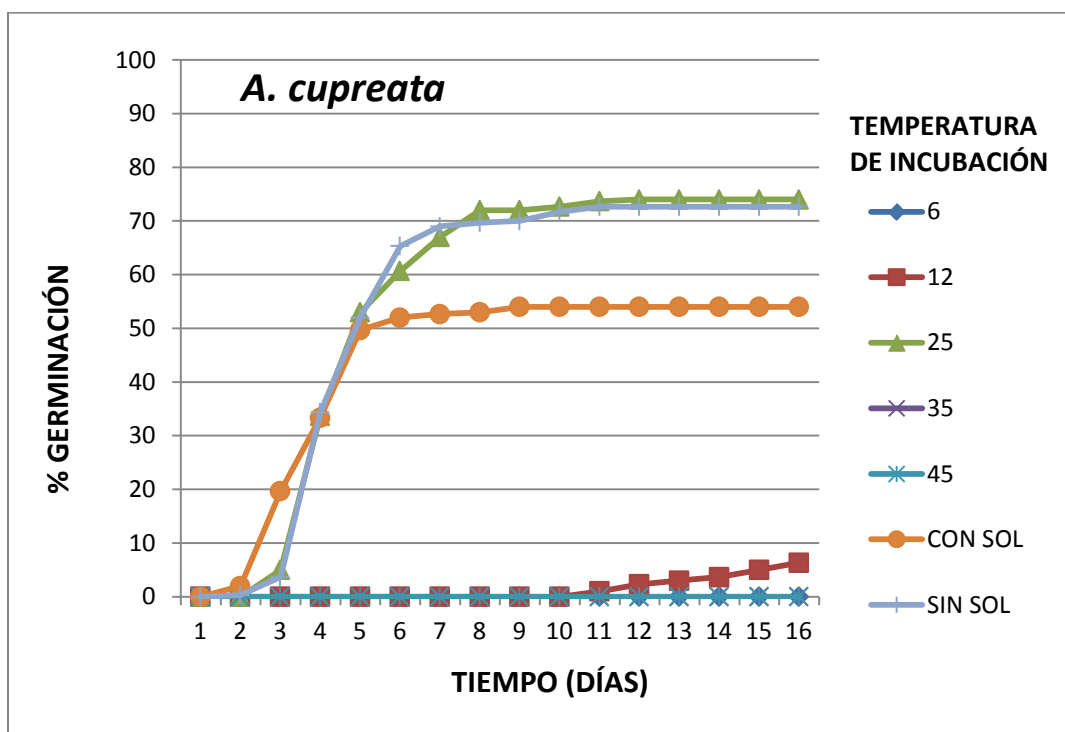


Figura 4. Germinación de semillas de *Agave cupreata* incubadas a diferentes temperaturas.

Cuadro 13. Porcentajes de germinación en semillas a distintas temperaturas de incubación en *Agave inaequidens*. Letras diferentes muestran medias significativamente diferentes con $P \leq 0.05$..

Temperatura °C	Número semillas	Media	Desviación estándar	Tukey
12	300	8.7	4.8	B
25	300	65.1	35.8	A
35	300	0.6	0.2	BC
45	300	0.0	0.0	C
6	300	0.0	0.0	C
Con Sol	300	70.0	37.9	A
Sin Sol	38.9	66.5	38.9	A

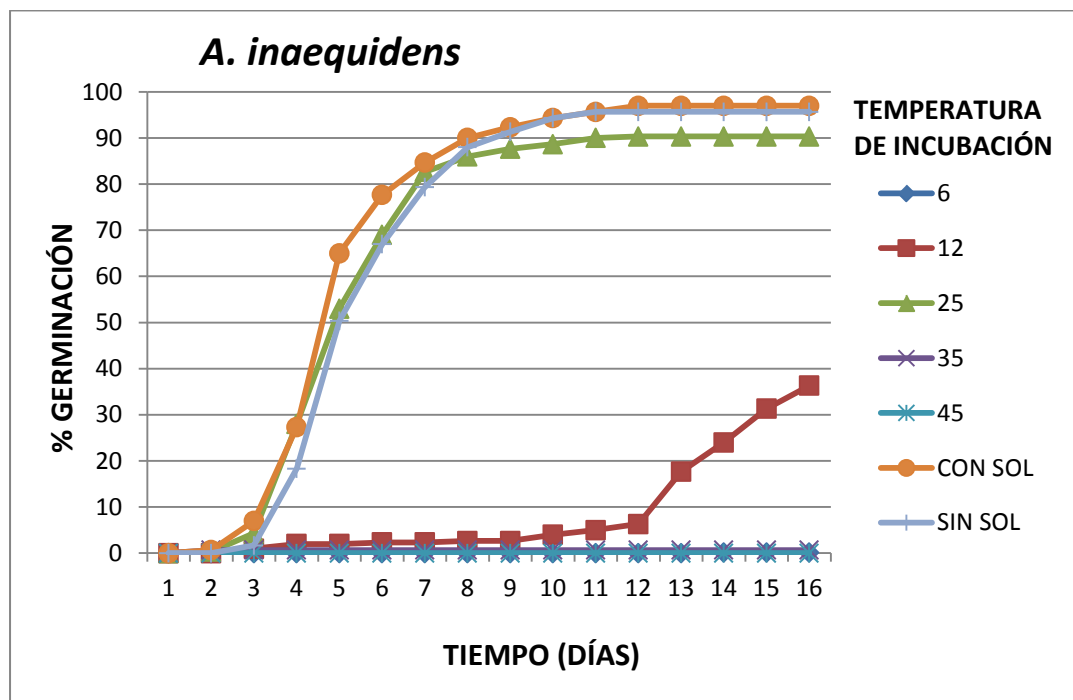


Figura 5. Geminación de semillas de *Agave inaequidens* incubadas a diferentes temperaturas.

Efecto de la germinación en semillas de *Agave inaequidens* deshidratadas al sol para su desecación.

El análisis del porcentaje de germinación de semillas que se secaron o deshidrataron por 7 días a la luz directa del sol, en relación a las deshidratadas a condiciones del desecado a la sombra en el desecador con sílica gel, no registró diferencia significativa ($t=0.1640$), sin embargo, el porcentaje bajo de germinación (85 %) muestra una tendencia a la pérdida de viabilidad, si el tiempo de exposición al sol se prolonga por más días, en relación al 93 % de germinación registrado en el deshidratado bajo condiciones de laboratorio.

No sólo el contenido de humedad de las semillas, sino también el tipo de la desecación se ha demostrado que afecta significativamente la viabilidad de las semillas recalcitrantes así como de semillas ortodoxas (Arentz, 1980; Ramos *et al.*, 1988).

CONCLUSIONES.

- La respuesta de germinación de las semillas de *Agave cupreata* y *Agave inaequidens* mostraron ser dependientes a la temperatura, humedad y a la calidad de la semilla, así como a las condiciones de almacenamiento.
- En ambas especies encontramos una tendencia a la pérdida de viabilidad de las semillas cuando se incrementa la temperatura y el tiempo de almacenamiento.
- Ambas especies soportan bajos contenidos de humedad durante su almacenamiento, registrando ambas una mejor respuesta de viabilidad con 5% de humedad en las semillas.
- Las semillas de *A. cupreata* al igual que otras especies registró falta de germinación en temperaturas de incubación extremas, que puede afectar la germinación.
- Ambas especies mostraron mejor repuesta de germinación en temperatura ambiente 25 °C o bajo intervalos por debajo de 30 °C o por arriba de 12 °C.
- La luz directa en el mes de mayo alcanzó niveles de 35 °C a las 12 horas del día sobre las semillas o la superficie superior del papel filtro y ocasionó una disminución significativa en *A. cupreata*, si los almácigos se exponen a cielo abierto con las semillas expuestas al sol, la temperatura se puede incrementar entre las 12 a 17 horas del día, pudiendo ser la causante de la inhibición de la germinación en los almácigos de los productores.
- Se definió el porcentaje de humedad (5 %) y la temperatura (< 25 °C) de almacenamiento para conservar la viabilidad las semillas para ambas especies de *Agave* mezcalero.

- Se comprobó el efecto de la desecación al sol en las semillas de *Agave cupreata* disminuye la viabilidad de las semillas a mayor tiempo de exposición a los rayos del sol durante más de 7 días.
- La viabilidad de las semillas en ambas especies pueden ser manipulada usando técnicas de envejecimiento acelerado en el que las temperaturas de semillas y el contenido de humedad se pueden controlar cuidadosamente.
- El desecador mostró ser otra manera confiable de disminuir el porcentaje de humedad en las semillas de *Agave* siendo un método eficaz en la viabilidad de estas. Sin embargo, si se carece de sales desecantes, las semillas se pueden exponer dos días al sol y almacenar las semillas en contenedores herméticos en la tarde (18-19 horas) del segundo día.

Literatura citada

Aguirre-Dugua X. 2004. **Genética de poblaciones de *Agave cupreata* y *Agave potatorum*: aportaciones para el manejo y la conservación de dos especies mezcaleras.** Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México. P.45-76

Anónimo. 2013. **Germinación de semillas.** Universidad Politécnica de Valencia.

Extraído el 20 de junio 2013.

http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema_17.htm#Temperatura

Berajano L.V., A. Martínez-Palacios y C. Sáenz Romero. 2010. **Preservación de semillas de *Agave victoriae-reginae* (agavaceae) y *Glandulicactus uncinatus* (Cactaceae).** 3er Encuentro Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación en México durante la última década y 6to Congreso estatal de ciencia y Tecnología. Morelia Mich.: p. 1-6.

Besnier-Romero F. 1989. **Semillas. Biología y tecnología.** Mundi-prensa. Madrid. P. 176.

Bewley J.D. y M. Black. 1982. **Physiology and biochemistry of seeds in relation of germination. V. 2. Viability, dormancy and environmental control.** Berlin, Springer-Verlag. 375 p.

Calderón G. y J. Rzedowski. 2005. **Flora fanerogámica del Valle de México.** Instituto de Ecología, A. C., Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán. México.pp: 1244.

Christense, C.M., B.R. Miller y J.A. Johnson. 1992. **Moisture and its measurement. In: Storage of Cereal Grains and Their Products.** 4th ed. Sauer, D. B. (ed.). Am. Assoc. Cereal Chem. St. Paul, Minnesota. pp: 39-54.

Colunga-Garcia Marin P, D Zizumbo-Villarreal. 2007. **El tequila y otros mezcales del centro-occidente de Mexico: domesticacion, diversidad y conservacion de germoplasma. In: En lo Ancestral hay Futuro: del Tequila, los Mezcales y otros**

Agaves. P Colunga-GarcíaMarín, L Eguiarte, A Larque, D Zizumbo-Villarreal (eds). CICY-CONACYT-CONABIO-SEMARNAT-INE. Mexico D.F.pp:113-131.

Côme D. 1970. **Les obstacles á la germination.** Masson, Paris. **International Seed Testing Association (ISTA), 1976.** Reglas Internacionales para Ensayos de Semillas. Ministerio de Agricultura. España.pp: 184.

Flores-Berrios E.P.,2013.**Estudio genético de especies silvestres del género agave distribuidas en el volcán de Tequila, Jalisco, Tesis de Licenciatura.** CUCBA. Universidad de Guadalajara. México.P. 67.

Falk D. 1989. **The Theory of Integrated Conservation Strategies for Biological Diversity En: Proceedings of the Natural Areas Association.** Syracuse, NY. 6-9 June 1988. Nat. Areas Assoc., Rockford, Illinois.pp: 5-10.

FAO. 1991. **El estado mundial de la agricultura y la alimentación.** Case studies in forest-based small-scale enterprises in Asia: Rattan, matchmaking and handicrafts. Rome.

FAO.1996.**Servicio de Recursos Fitogenéticos y Semillas:** <http://www.fao.org/ag/agp/agps>. Revisado mayo 2013.

García Meneses P. M., 2004. **Reproducción y germinación de *Agave cupreata* Trel. & Berger (Agavácea) en la localidad de Ayahualco, Guerrero,** Tesis Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM, México. 78pp.

García-Mendoza A., 2002. **Distribution of *Agave* (Agavaceae) in Mexico.** *Cactus and Succulent Journal*74:177-187.

Gentry, H. S. 1982. **Agaves of continental North America.** University of Arizona. Tucson. 670 pp.

Golubov J., M.C. Mandujano, S. Arizaga, A. Martínez-Palacios y P. Koleff. 2007. **Inventarios y conservación de Agavaceae y Nolinaceae. Páginas 133-152, en: P.**

Colunga Garcia-Marin, A. Laarque Saavedra, L. E. Eguiarte, D. Zizumbo-Virrareal (eds.), En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves. CICY-CONACYT-CONABIO-SEMARNAT-INE. México.

Gómez-Sierra, J. 2005. **Organogénesis y Embriogénesis Somática de Agave mezcalero (*Agave cupreata* TREL. & BERGER, AGAVACEAE) con potencial industrial.** Tesis profesional. Facultad de Biología. UMSNH. México. P. 65.

Gómez-Pompa A. 1963. El género *Agave*, Cactáceas y Suculentas Mexicanas, 8(1): 3-28.

Granados, S. D. 1993. **Los Agaves en México.** Universidad Autónoma de Chapingo 252pp.

Harrington J.F. 1972. **Seed storage and longevity.** En: **Seed Biology. Vol 3** (T.T. Kozlowsky, ed). Academic Press, Reino Unido. 65 pp.

Hartmann H. y D. Kester. 1988. **Propagación de plantas, principios y prácticas.** CECSA. México.

Harein P.K. y R. Davis. 1992. **Control of stored-grain insects.** 1992. In: Storage of Cereal Grains and Their Products. 4th ed. Sauer, D. B. (ed.). Am. Assoc. Cereal Chem. St. Paul, Minnesota. USA. pp: 491-534.

ISTA. 1995. **Seed Vigor Testing.** International Seed Testing Association, Zürich, 97 pp.

ISTA. 1996. **International Rules for Seed Testing.** Rules 1996. International Seed Testing Association, Zürich, 335 pp.

Martínez-Palacios A., L. E. Eguiarte and G. R. Furnier. 1999. **Genetic diversity of endangered endemic *Agave victoriae-reginae* (Agavaceae) in Chihuahua desert.** *American Journal of Botany* 86: 1093-1098.

Martínez-Palacios, A. J. M. Gómez-Sierra, C. Sáenz-Romero, N. Pérez-Nasser y N. Sánchez-Vargas. 2011. **Genetic diversity of *Agave cupreata* Trel. & Berger. Considerations for its conservation.** Rev. Fitotec. Mex. Vol. 34 (3): 159 – 165.

Martínez-Palacios A. 2012. Manejo y conservación de semillas de agaves en Michoacán. Pags 9-20, En: A. Martínez-Palacios (ed.), **Aspectos sobre manejo y conservación de *Agave mezcalero* en Michoacán.** COFUPRO – COECyT MICH. – UMSNH. ISBN: 978-607-424-306-2 México.

Orea-Lara G., Cifuentes-Diaz de León A, Gómez Ortiz S., Hernández Vargas V., 2006. **Germinación de semillas de *Agave Mezcalero* (*A. duranguensis*) a diferentes temperaturas y efecto de la fertilización en el desarrollo de las plántulas.**Congreso Nacional de Ing. Bioquímica.

Pritchard H.W, 2008. **Cryopreservation of Orthodox (Desiccation Tolerant) Seeds.** Pp 485-501 In: Barbara M. Reed (Ed.), **Plant Cryopreservation, A Practical Guide,** Springer USA.

Ramírez THM. 2010. **Características bioquímico-fisiológicas de la germinación y desarrollo de plantas jóvenes de maguey (*Agave*) y su relación con la especie, temperatura y potencial de agua del sustrato.** Tesis Doctoral, Colegio de Posgraduados. México.

Ramírez G., M. 1988. **Almacenamiento y conservación de granos y semillas.** CECSA, México D.F. 300 p.

Roberts E.H. and Ellis, R.H. 1989. **Water and seed survival.** *Annals of Botany* 63: 39–52.

Rubluo A., V. Chávez, A. Martínez and O. Martínez-Vázquez. 1993. **Strategies for the recovery of endangered orchids and cacti through in vitro culture.** *Biological Conservation* 63: 163-169.

Sastry DVSSR, HD Upadhyaya and CLL Gowda. 2007. **Survival of groundnut seeds under different storage conditions**. SAT ejournal/ejournal.icrisat.org, 5(1):1-3. Cereal Chem. St. Paul, Minnesota. USA. pp: 313-340.

SEMARNAT. (Secretaria de Medio Ambiente Recursos naturales y pesca) 2002, <http://www.semarnat.gob.mx> (Accesada en agosto 2011).

Stubsgaard F. 1990. Humedad de semillas y principios de secado. Danida Forest Seed Centre. Lecture Note C-5. CATIE. Serie técnica. Manual Técnico 24. pp: 1-37.

Thompson P.A. 1975. The collection, maintenance and environmental importance of the genetic resources of wild plants. Environ. Conserv. 2: 223-228.

Thompson K and J.P. Grime. 1983. A comparative study of germination responses to diurnally- fluctuating temperatures. J. Appl. Ecol. 20: 141-156.

DISCUSIÓN GENERAL

Agave cupreata Trel y Berger, maguey mezcalero de la depresión del Balsas, particularmente hacia el oriente del estado de Michoacán, su uso se remonta a más de 300 años, la sobreexplotación, la falta de clonación y de establecimiento de plantaciones, en la actualidad tiene en riesgo de extinción a la mayoría de zonas de distribución, agudizándose por el desabasto de plantas y la necesidad de producción al asignársele al estado la denominación de origen del mezcal. Se visitaron los sitios de distribución, actualmente están representados por algunas decenas o cientos de individuos, lo cual ha llegado a considerar a éstas poblaciones en grave riesgo de extinción (Eguiarte, 2003; Martínez-Palacios comunicación personal). La mayoría de estas plantas silvestres se les puede observar dentro terrenos usados para el pastoreo de ganado y en pequeñas islas de vegetación natural, en la mayoría de los casos los mezcaleros están a la espera de que alcancen las plantas el estado adulto para su colecta y procesamiento de mezcal. Es común el comentario entre los mezcaleros que las plantas son cada vez más escasas y se deben recorrer mayores distancias para colectarlas, que en el pasado se distribuían de forma abundante en los lomeríos (Martínez-Palacios comunicación personal).

Con excepción de las distribuidas en el municipio de Jungapeo, la mayoría de las poblaciones silvestres o sitios de distribución visitados presentan alta perturbación, no solo por su fragmentación y reducción del tamaño de los sitios, sino por las diversas actividades antropogénicas que en ellas se desarrollan, pastoreo de ganado vacuno, agricultura de temporal, deforestación, quemas periódicas, y entre otros introducción de vegetación no nativa. A pesar de lo anterior, las diversas estructuras de tamaños en cada sitio muestra el potencial de la especie a recuperarse, que de acuerdo a pirámides de distribución de edades en una población existe una tendencia a considerarse “Estacionaria” o “población madura” (Chapman y Reiss, 1992), lo cual sería una realidad si se dejara de explotar la planta, caso que fue evidenciado en el sitio “Las Escobas” en el municipio de Jungapeo, donde décadas a tras reducen la población por sobre-explotación, y el desabasto de tallos a la destiladora ocasionó un abandono de dicha actividad, tuvieron que pasar muchas décadas para lograr recuperarse la población, siendo ésta la distribución más grande de una población de *A.*

cupreata en el estado de Michoacán. Solo El Zangarro y El Reparo muestran densidades menores de 0.04 individuos/m², el resto de los sitios registran valores similares o superiores al sitio de recuperación de las Escobas (0.045 inds/m²), lo cual se podría usar de comparación, por el tamaño de la población y que por 70 años o más fue abandonada su explotación, ocasionando esto la recuperación de la población.

La presencia de individuos menores o etapas de reclutamiento en los sitios muestreados, además de presencia de reproductores, es un indicativo de que las poblaciones de *Agave cupreata* pueden recuperarse, siempre que se establezcan normas de manejo y conservación. La reducción de individuos en tallas mayores, son características de comportamiento natural dentro de las poblaciones silvestres estables o en crecimiento (Chapman y Reiss, 1992; Martínez-Palacios y Eguiarte, 2011). La colecta de plantas en estado de floración no es un factor que influya notablemente en el número de adultos, ya que estos agaves mezcaleros, carentes de clonación, son plantas semélparas, no permanece el genotipo después de la floración o fructificación.

Agave cupreata y *A. inaequidens*, especies que únicamente registran reproducción sexual, para el caso de *A. cupreata* esto es un fenómeno estricto. *A. inaequidens*, manifiesta a muy baja incidencia la presencia de propagación asexual por yemas axilares, para usos prácticos de cultivo esto no es significativo su uso. Lo anterior muestra la necesidad de utilizar la semilla para ser utilizada en el establecimiento de plantaciones comerciales. La germinación de semillas en ambas especies es alta (> 90% germinación) cuando han sido recién colectadas en campo y pueden permanecer esta viabilidad por varios años si las condiciones de almacenamiento fueron adecuadas (Sierra-Yxta, 2009; Martínez-Palacios, 2012). Las semillas de *A. cupreata* en esta investigación provinieron de donación de un productor que las había colectado y por más de dos años las mantuvo sin control de humedad ni de temperatura, registrando al llegar al laboratorio un promedio de 68%, para el caso de *A. inaequidens*, semillas recién colectadas (< 1 año), al llegar al laboratorio registraron 92% de germinación. En ambos casos se deshidrataron y se almacenaron para su uso. Las semillas de ambas especies registraron su punto máximo de germinación a los 5

días de incubación en condiciones controladas de laboratorio (25 °C) y condiciones de laboratorio (23-27 °C), registrando inhibición de germinación en las temperaturas por arriba de 30 °C y debajo de 20 °C. Las semillas de ambas especies no requirieron de tratamientos pre-germinativos, lo cual es un indicativo de que las semillas son viables y no presentan latencia, solo necesitan tener la humedad y temperatura adecuada durante su incubación-germinación (Pena-Valdivia et al., 2006).

La viabilidad de semillas de ambas especies durante su conservación, se vio afectada por los niveles de humedad (8% o más), de temperatura (> 30°C) y el prolongar el tiempo de almacenamiento en los niveles de humedad y temperatura que afectan. La humedad y la temperatura son los factores más importantes a controlar durante el almacenamiento de las semillas para prolongar la vida de éstas (Hartmann y Kester, 1988; Sastry *et al.*, 2007). En el caso de los productores de plantaciones de agave, se recomienda que las semillas las sequen 3 días al sol, el último día de sol las deben de almacenar de forma inmediata después de levantarlas del área de secado, y depositarlas en contenedores herméticos, si a este se le anexa la malla con sal desecante, favorecerá el terminado de secado. Una vez secadas las semillas no se deben exponer al ambiente, debido que las semillas son entes higroscópicos que absorben y liberan humedad de acuerdo a los cambios de humedad en el ambiente. Es recomendable que los frascos herméticos con semillas deshidratadas se deban almacenar por debajo de 25 °C, si desean permanecerlas viables por varios años (> 10 años) es recomendable almacenarlas a temperatura de un refrigerador doméstico (4-6 °C).

Para el caso del manejo y almacenamiento de las semillas, los productores de plantaciones manifestaron en su momento disminución y pérdida de la viabilidad de sus semillas después de un año de almacenamiento sin control de humedad y temperatura. De igual forma, manifestaban la no germinación de semillas en los almácigos, aun cuando las semillas presentaban menos de un año de ser colectadas. Las observaciones en los almácigos, evidenciaban semillas casi expuestas al ambiente y a cielo abierto, la desecación y las altas temperaturas que registran los rayos del sol de las 12:00 a las 17:00 horas del día, las semillas están expuestas a temperaturas que superan los 30 °C, ambos factores,

temperaturas altas y deshidratación, pueden ser los causantes de que las semillas no germinen. Además, las semillas que se siembran en invierno, las temperaturas pueden descender por debajo de 15 °C, el cual puede ser otra razón de la no germinación o disminución considerable de la germinación.

A pesar de la presiones antropogénicas existente en los diversos sitios, particularmente la colecta de plantas en el inicio de la madurez, el hecho que los obliga a usar la semilla para nuevas plantaciones, permite que algunas plantas lleguen a la fructificación. La colecta de estas semillas nunca es total, debido a la heterogeneidad de maduración de los frutos, hecho que ocasiona que se logre aportan un bajo porcentaje de semillas en el ambiente, tal y como se observa en la estructura de tamaños de los histogramas.

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran el estado actual de las poblaciones silvestres de *A. cupreata*, es necesario implementar programas de manejo sustentable y conservación de las poblaciones, donde se evite la colecta de plantas para mezcal en aquellas con bajos niveles de fructificación (< 10 reproductores) y se de manejo sustentable en sitios donde exista un mayor número de organismos adultos, esto permitirá que las poblaciones evolucionen, manteniendo su alto nivel de variación genética registrada en estudios previos (Gómez-Sierra 2005; Martínez-Palacios *et al.*, 2011). Particularmente, la implementación de plantaciones en los diferentes municipios de producción de mezcal en Michoacán ayudará a conservar las poblaciones silvestres, siempre y cuando se reduzca la sobredemanda existente de plantas para la elaboración de mezcal. Actualmente existen plantaciones en diversos municipios del estado de Michoacán, Tzitzio, Morelia, Villa Madero, Queréndaro, Charo entre otros en el estado de Michoacán. Programas de colecta y almacenaje adecuado de semillas de forma rústica por el productor, permitirá evitar la pérdida de viabilidad de semillas a un año de su colecta por malos manejos que se venía presentando, lo anterior reducirá las colectas de semillas en campo y podría ocasionar un incremento en el aporte de semillas liberadas (Martínez-Palacios *et al.*, 2009).

Los resultados aquí mostrados son un aporte de información que pueden servir para establecer sistemas de manejo y conservación de poblaciones silvestres de *Agave cupreata*,

también, para la conservación *ex situ* de semillas y formación de bancos de germoplasma (semillas) con fines de conservación y mejoramiento genético de plantaciones.

BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTARIA

Allen P.S.;S.E.Meyer; M.A. Khan.2000. **Hydrothermal time as a tool in comparative germination studies**.In: M.Black: Bradford K.J.; J. Vazquez-Ramos (eds). Seed biology: Advances and applications. CAB International, Wallingford, UK. pp: 401–410.

Chapman J.L. y Reiss M.J. 1992. **Ecology. Principles and applications**. Cambridge University Press.

Evans, C.E.; J.R. Etherington. 1991. **The effect of soil water potential on seedling growth of some British plants**. New Phytologist. 118: 571-579.

García-Mendoza A. y V.R. Galván. 1995. **Riqueza de las familias Agavaceas y Nolináceas en México**. Soc. México. 56: 7-24.

Garcia-Mendoza A., 2002. **Distribution of Agave (Agavaceae) in Mexico**. Cactus and Succulent Journal 74:177-187.

Golubov J., M.C. Mandujano, S. Arizaga, A. Martínez-Palacios y P. Koleff. 2007.**Inventarios y conservación de Agavaceae y Nolinaceae**. en: P. Colunga.pp: 133-152.

Granados, S. D. 1993. **Los Agaves en México**. Universidad Autónoma de Chapingo 252pp.

Illsley C., E. Veg, I. Pinanty, A.Tlacotempa, P.García, P. Morales, G. Rivera, J. García, V. Jiménez, F. Castro y M.Calsada. 2007. **Magüey papalote: hacia el manejo campesino de un recurso colectivo en el trópico seco de Guerrero, México**.En: Colunga-GarcíaMarín, P., L. Eguiarte, A.Larque´s S. y D.

Mittermeier, R. y C. Goettsch. 1992. **La importancia de la diversidad biológica de México**. En: Sarukhán, J. y R. Dirzo (comps.). *México ante los retos de la biodiversidad*. Conabio. México.

Peña-Valdivia, C.B.; A.B. Sánchez-Urdaneta; J.R. Aguirre R.; C. Trejo; E. Cárdenas; A. Villegas M. 2006. **Temperature and mechanical scarification on seed germination of maguey** (Agave salmiana Otto ex Salm-Dyck). Seed Science & Technology. 34: 47-56.

Rzedowski, J. 1998. **Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México**. En T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.) Diversidad biológica de México: orígenes y su distribución. IBUNAM, México, 129-145pp.

Rzedowski, J. y T. Reyna-Trujillo. 1990. **Vegetación potencial. Map IV.8.2 of the Atlas Nacional de México**, Instituto de Geografía, UNAM, México.

Sadeghian, S.Y.; N. Yavari. 2004. **Effect of water-deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet**. J. Agronomy & Crop Science. 190: 138-144

Sánchez-Urdaneta, A.B.; C.B. Peña-Valdivia; C. Trejo; J.R. Aguirre R.; E. Cárdenas; A. Galicia. 2003. **Permeabilidad de las membranas radicales de plántulas de** Szabados, L.; A. Savoure. 2009. **Proline: a multifunctional amino acid**. Trends in Plant Science. 15: 89-97.

Taiz, L.; E. Zeiger. 2006. **Plant Physiology**. 4ª edición. Sinauer Associates. Sunderland, EU. 764 p.

Tsougkrianis, N.; C. B. Peña-Valdivia; C. Trejo L.; J. D. Molina G. 2009. **El potencial del sustrato en la germinación de maíces con tolerancia y sensibilidad a la sequía**. Agricultura Técnica en México. 35: 363-369.

ANEXOS



Sitio Las escobas, Jungapeo, Michoacán. Bosque de Pino encino, Con baja perturbación.



Sitio mesa de azucenas , Madero Michoacán. Bosque de Pino-encino, con media perturbación



Sitio Loma de Guayabitos, Madero Michoacán, sitio de selva baja con alta perturbación y cambio de uso de suelo con fines agrícolas



Sitio rancho rojas, Madero Michoacán. Sitio de pino Con mediana perturbación, con uso de pastoreo de Ganado vacuno.