

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



CONSERVACIÓN DE SEMILLAS DE *Pinus greggii* Engelm Y *Pinus montezumae* Lamb CON TRATAMIENTOS QUÍMICOS BAJO DOS AMBIENTES DURANTE 180 DÍAS

Tesis

Que presenta MERARI SUJEY VÁZQUEZ LÓPEZ
como requisito parcial para obtener el grado de
MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2019

CONSERVACIÓN DE SEMILLAS DE *Pinus greggii* Engelm Y *Pinus montezumae* Lamb CON TRATAMIENTOS QUÍMICOS BAJO DOS AMBIENTES DURANTE 180 DÍAS

Tesis

Elaborada por MERARI SUJEY VÁZQUEZ LÓPEZ como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Tecnología de Granos y Semillas con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo
Asesor principal



M.P. Adriana Antonio Bautista
Asesor



Dr. Arturo Mancera Rico
Asesor



Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente
Subdirector de Postgrado
UAAAN

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2019

Agradecimientos

A la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** por darme la oportunidad de cumplir una meta más en la vida, un segundo escalón en mi formación académica, mi **ALMA MATER** gracias por todo, es mi más grande orgullo ser Buitre... un Buitre de la **Antonio Narro**.

Al Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (**CCDTS**) de la UAAAN por las instalaciones para la realización de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**) por el sustento económico recibido durante mis estudios.

A la Comisión Nacional Forestal (**CONAFOR**) por la aportación de semilla de las especies estudiadas y por realizar parte de mi estancia en sus instalaciones.

Al **Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo** por permitirme el honor de dirigir este trabajo por su apoyo moral y profesional, por compartir sus conocimientos y experiencias, también por el tiempo dedicado y por su comprensión.

A la **M.P. Adriana Antonio Bautista** por sus consejos, su valiosa asesoría y enseñanza, por formar parte de mi formación profesional y por el tiempo que le dedico a este proyecto.

Al **Dr. Arturo Mancera Rico** por formar parte de mi formación académica, por sus valiosas observaciones y orientaciones que enriquecieron este trabajo.

A todos mis compañeros semilleros de la Maestría: Omar y Abraham Cordero, Rubén Lecona, Isaí López y Felicito Díaz con los que compartí agradables momentos.

Dedicatorias

Porque nadie más sabe lo que cuestan las metas, solo el que se enfrenta a todo para conseguirlas.

Mis padres

La **Sra. María de Jesús López Silva** por darme la libertad para realizarme profesionalmente, siempre creer en mí y brindarme su plena confianza, cada logro también lo hago pensando en lo feliz que te hace mamá.

Al **Sr. Saúl Vázquez Antonio** (†) en estos momentos en los que sabemos que las cosas pasan por algo, te agradezco la vida papá.

Mis hermanos

Delmi y **Marce** mis hermanas que son todo un ejemplo, ahora son otros tiempos en los cuales agradezco mucho su cariño, su apoyo, sus consejos, gracias por ser mis amigas, cómplices y por su comprensión.

Saúl mi hermanito por estar ahí en todo momento, por cuidarme y por compartir momentos inolvidables durante nuestra infancia y a lo largo de la vida.

Violetita y **Samuelito** mis chiquillos tremendos, ustedes que dan cariño incondicional los quiero bebés.

Muchas gracias por todo familia... los quiero y admiro mucho.

A **Yobani Jiménez** gracias por todo tu apoyo, confianza y cariño, porque somos el mejor equipo y lo seremos siempre.

Índice General

LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xiv
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	2
Objetivos específicos	2
HIPÓTESIS	2
REVISION DE LITERATURA.....	3
Ecosistemas forestales.....	3
Familia Pinaceae.....	4
Clasificación taxonómica de <i>Pinus greggii</i> Engelm.....	5
Clasificación taxonómica de <i>Pinus montezumae</i> Lamb.....	5
Factores que inducen pérdida de diversidad genética en especies forestales	6
Rescate de diversidad genética de la vegetación forestal	7
Degradación genética del género <i>Pinus</i>	8
Métodos de conservación de semillas	10
Bancos de germoplasma.....	10
Almacenamiento de semillas.....	12
Calidad Sanitaria	13
Hongos de almacén.....	13
Medidas de control de hongos.....	14
Tratamientos físicos	14
Tratamientos biológicos	14
Tratamientos bioquímicos	15
Tratamiento químico de las semillas.....	15
Aplicación de fungicidas en semillas	15

Métodos aplicados para el control de hongos en semillas.....	16
Características de los fungicidas.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
Generalidades del experimento.....	20
Tratamiento químico.....	20
Condiciones de almacenamiento	23
Variables evaluadas	24
Calidad sanitaria.....	26
Diseño experimental.....	27
Análisis estadístico	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
ANOVA de <i>Pinus greggii</i> y <i>Pinus montezumae</i> para las variables evaluadas.....	29
Comparación de medias de las variables evaluadas por especie	32
Humedad relativa.....	32
Tiempo de almacenamiento.....	33
Fungicida	35
Comportamiento de <i>Pinus greggii</i> Engelm y <i>Pinus montezumae</i> Lamb para las variables de calidad sanitaria.....	36
Semillas libres de hongos	36
Genero de hongos	37
Comparación de medias por fuente de variación para SLH e incidencia de GH	37
Humedad relativa.....	37
Tiempo de almacenamiento.....	39
Fungicida	42
Dosis.....	42
CONCLUSIONES	49
REFERENCIAS	50

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Principales especies prioritarias características de los bosques de coníferas, su importancia y habitad de desarrollo.....	9
Cuadro 2. Información técnica de fungicidas comerciales utilizados en la investigación para el tratamiento de semillas.....	18
Cuadro 3. Tratamientos y dosis por ingrediente activo y cantidad de producto aplicados a las semillas de <i>P. montezuma</i> y <i>P. greggii</i> conservadas a 60 y 80 % de humedad relativa durante 180 días.	21
Cuadro 4. Cantidad de sales y agua colocadas dentro de los recipientes por humedad relativa (60 y 80%) donde se almacenaron semillas de <i>P. montezumae</i> y <i>P. greggii</i> tratadas con fungicidas durante 180 días.	23
Cuadro 5. ANOVA de las variables evaluadas en semillas <i>Pinus montezumae</i> tratadas con fungicidas y almacenada bajo dos ambientes de humedad relativa durante 180 días.	30
Cuadro 6. ANOVA de las variables evaluadas en semillas de <i>Pinus greggii</i> tratadas con fungicidas y almacenada bajo dos ambientes de humedad relativa durante 180 días.	31
Cuadro 7. Análisis de significancia de la variable semillas libres de hongos (SLH) evaluadas en calidad sanitaria en semillas de <i>P. greggii</i> y <i>Pinus montezumae</i> tratadas con fungicidas y almacenadas bajo dos ambientes de humedad relativa durante 180 días.	36

Lista de Figuras

- Figura 1. Red de bancos de germoplasma forestal en México CONAFOR, 2018..... 11
- Figura 2. a) Tratamientos de tres fungicidas por dosis aplicados a semillas de *P. montezumae* y *P. greggii*; b) Semillas de *P. montezumae* tratadas con fungicidas las cuales se almacenaron dos humedades relativas durante 180 días..... 22
- Figura 3. Semillas de *P. montezumae* y *P. greggii* tratadas con fungicidas y suspendidas dentro de recipientes con sales para alcanzar el 60 y 80% de humedad relativa durante 180 días de almacenamiento..... 24
- Figura 4. Comparación de medias por especie de las variables con diferencias significativas para la fuente de variación HR evaluadas en semillas de *Pinus montezumae* y *P. greggii* tratadas con fungicidas y almacenada bajo dos ambientes de humedad relativa durante 180 días. Medias con diferente letra son significativamente diferentes (Tukey $P < 0.05$); 1CG= primer conteo de germinación; HS= humedad de la semilla; PN= plántulas normales; PA= plántulas anormales; SD= semillas duras; SM= semillas muertas; LMH= longitud media de hipocotilo; LMR= longitud media de radícula; PS= peso seco. 32
- Figura 5. Efecto del tiempo de almacenamiento por especie en las variables evaluadas en semillas de *Pinus montezumae* y *P. greggii* tratadas con fungicida y almacenadas bajo dos HR por 180 días; 1CG=Primer conteo germinación; HS= Humedad de la semilla; PN=Plántulas normales; PA= Plántulas anormales; SM= Semillas muertas; SD=Semillas duras; LMH=Longitud

	media de hipocótilo; LMR=Longitud media de radícula; PS= Peso seco; cm= centímetros; mg/p=miligramos por plántula.....	34
Figura 6.	Comparación de medias por especie de las variables que presentaron diferencias significativas para la fuente de Fungicidas evaluadas en semillas de <i>P. montezumae</i> y <i>P. greggii</i> almacenadas a 60 y 80% de HR durante 180 días. Medias con diferente letra son significativamente diferentes. (Tukey $P < 0.05$); 1CG= primer conteo de germinación; HS= humedad de la semilla; PN= plántulas normales; SM= semillas muertas; LMR= longitud media de radícula; PS= peso seco; cm=centímetro; mg/p= miligramos por plántula.	35
Figura 7.	Comparación de medias para <i>P. greggii</i> y <i>P. montezumae</i> en la variable de calidad sanitaria semillas libres de hongos (SLH), para la fuente de variación humedad relativa. Medias con diferente letra son significativamente diferentes. (Tukey $P < 0.05$).....	38
Figura 8.	Incidencia de géneros de hongos en semillas de <i>P. montezumae</i> y <i>P. greggii</i> tratadas con fungicidas y almacenadas a 180 días para la fuente de variación humedad relativa.	39
Figura 9.	Efecto del tiempo de almacenamiento en las variables semillas libres de hongos (SLH) y género de hongos (GH) para semillas de <i>P. greggii</i> y <i>P. montezumae</i> tratadas con fungicidas y almacenadas por 180 días a dos humedades relativas. Medias con diferente letra son significativamente diferentes (Tukey $P < 0.05$).....	41
Figura 10.	Comparación de medias para la variable semilla libre de hongos (SLH) e incidencia de género de hongos (GH) por especie (<i>P. greggii</i> y <i>P. montezumae</i>) para la fuente de	

variación fungicidas. Medias con diferente letra son significativamente diferentes (Tukey $P < 0.05$). 43

Figura 11. Comparación de medias por especie (*P. montezumae* y *P. greggii*) para la variable de calidad sanitaria semilla libre de hongos (SLH) e incidencia de género de hongos (GH) en la fuente de variación dosis. Medias con diferente letra son significativamente diferentes (Tukey $P < 0.05$). 44

RESUMEN

CONSERVACIÓN DE SEMILLAS DE *Pinus greggii* Engelm. Y *Pinus montezumae* Lamb. CON TRATAMIENTOS QUÍMICOS BAJO DOS AMBIENTES DURANTE 180 DÍAS

Por

MERARI SUJEY VÁZQUEZ LÓPEZ

MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. MARIO ERNESTO VAZQUEZ BADILLO-ASESOR

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2019

El tratamiento con fungicidas protege la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas, siendo necesario conocer la efectividad y dosis adecuadas para asegurar su eficacia durante el almacenamiento, se evaluó el efecto de tres fungicidas comerciales en semillas de *Pinus greggii* Engelm. y *Pinus montezumae* Lamb. Almacenadas a dos humedades relativas (HR) y temperatura de 5°C durante 180 días. La investigación se realizó en el CCDTS de la UAAAN; Las semillas fueron proporcionadas por la CONAFOR, los tratamientos aplicados constaron de tres fungicidas Captan y Manzate a tres dosis 0.75, 1.0 y 1.25 g i.a./ kg, Zio con 0.8, 2.0 y 4.25 g i.a./kg más un testigo, para cada especie se prepararon cuatro repeticiones de aproximadamente 50 semillas por humedad relativa (60 y 80%) para cada monitoreo realizado a los 0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 días. Las variables evaluadas para calidad fisiológica fueron: primer conteo de germinación (1CG), humedad de la semilla (HS), plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas muertas (SM), semillas duras (SD), longitud media de hipocótilo (LMH) y radícula (LMR), peso seco (PS), para calidad sanitaria se evaluó: Semillas libres de hongos (SLH) y géneros de hongos (GH). Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial por especie, la comparación de medias fue según Tukey ($P < 0.05$) en el programa estadístico R studio. Los resultados mostraron que la calidad fisiológica de las semillas de cada especie fue afectada por el tiempo, la HR y el fungicida. La HS incremento en una media de 10.29% para *P. greggii* en PN alcanzó el 22.17%, para *P. montezumae* la HS fue de 13.20% y PN de 42.48%; Al 60% de HR se presentó la mayor cantidad en 1CG, PN, PA, LMR, LMH y PS; al 80% hubo más HS y SM; al transcurso del tiempo 1CG, PN, LMH, LMH y PS disminuyeron, observándose mayor afectación en *P. greggii*, incrementando las SM, PA y HS; los fungicidas formaron un mismo grupo estadístico, el testigo fue quien generó la mayor cantidad en 1CG, PN, PA, LMR, LMH y PS, siendo menor en HS y SM, este comportamiento fue para ambas especies; para dosis no hubo diferencias

significativas; en SLH *P. greggii* obtuvo 91.5% y *P. montezumae* 87.89%; para GH la mayor incidencia fue de *Penicillium* spp., seguido de *Fusarium* spp., *Alternaria* Spp., *Rizhopus* spp. y *Aspergillus* spp., la presencia de *Fusarium* spp. fue igual para ambas especies; en *Penicillium* spp. y *Alternaria* spp. con el 6.48% y 2.63% *P. montezumae* fue superior a *P. greggii* (3.29% y 1.24%), en cambio para *Aspergillus* spp. y *Rizhopus* spp. *P. greggii* fue quien generó los mayores valores con 0.38 y 1.06% respectivamente. A pesar de reducir la incidencia de hongos en las semillas, las condiciones de almacenamiento no causaron efectos favorables ya que la generación de plántulas normales disminuyó al transcurso del tiempo de almacén.

Palabras clave: Semillas, Almacenamiento, *Pinus*, Fungicidas, Humedad relativa.

ABSTRACT

CONSERVATION OF SEEDS OF *Pinus greggii* Engelm. and *Pinus montezumae* Lamb. WITH CHEMICAL TREATMENTS UNDER TWO ENVIRONMENTS FOR 180 DAYS

BY

MERARI SUJEY VÁZQUEZ LÓPEZ

MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. MARIO ERNESTO VAZQUEZ BADILLO-ADVISER

Saltillo, Coahuila

December 2019

The treatment with fungicides protects the physiological and sanitary quality of the seeds, being necessary to know the effectiveness and appropriate doses to ensure their effectiveness during storage, the effect of three commercial fungicides on seeds of *Pinus greggii* Engelm and *Pinus montezumae* Lamb. stored at two relative humidity (RH) and temperature of 5 ° C for 180 days. The research was conducted in the CCDTS of the UAAAN; The seeds were provided by CONAFOR, the treatments applied consisted of three Captan and Manzate fungicides at three doses 0.75, 1.0 and 1.25 g ia / kg, Zio with 0.8, 2.0 and 4.25 g ia / kg plus one control, for each species they prepared four repetitions of approximately 50 seeds for relative humidity (60 and 80%) for each monitoring performed at 0, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days. The variables evaluated for physiological quality were: first germination count (1CG), seed moisture (HS), normal seedlings (PN), abnormal seedlings (PA), dead seeds (SM), hard seeds (SD), average length of hypocotyl (LMH) and radicle (MRL), dry weight (PS), for sanitary quality the following were evaluated: Fungus-free seeds (SLH) and fungal genera (GH). A completely randomized experimental design with factorial arrangement by species was applied, the comparison of means was according to Tukey ($P < 0.05$) in the R studio statistical program.

The results showed that the physiological quality of the seeds of each species was affected by time, RH and fungicide. The HS increased by an average of 10.29% for *P. greggii* in PN reached 22.17%, for *P. montezumae* the HS was 13.20% and PN 42.48%; At 60% RH, the highest amount was presented in 1CG, PN, PA, LMR, LMH and PS; at 80% there were more HS and SM; after 1CG, PN, LMH, LMH and PS decreased, showing greater involvement in *P. greggii*, increasing the SM, PA and HS; the fungicides formed the same statistical group, the witness was the one who generated the greatest amount in 1CG, PN, PA, LMR, LMH and PS, being lower in HS and SM, this behavior was for both species; for doses there were no significant differences; in SLH *P.*

greggii obtained 91.5% and *P. montezumae* 87.89%; for GH, the highest incidence was *Penicillium* spp., followed by *Fusarium* spp., *Alternaria* Spp., *Rizhopus* spp. and *Aspergillus* spp., the presence of *Fusarium* spp. It was the same for both species; in *Penicillium* spp. and *Alternaria* spp. with 6.48% and 2.63% *P. montezumae* was higher than *P. greggii* (3.29% and 1.24%), however for *Aspergillus* spp. and *Rizhopus* spp. *P. greggii* was the one who generated the highest values with 0.38 and 1.06% respectively. In spite of reducing the incidence of fungi in the seeds, the storage conditions did not cause favorable effects since the generation of normal seedlings decreased after the storage time.

Key words: Seeds, Storage, Pinus, Fungicides, Relative humidity.

INTRODUCCIÓN

La vegetación forestal representa el 30.6 % de la superficie mundial con alrededor de 3,999 millones de hectáreas (FAO, 2015). México cuenta con 138 millones de ha con este tipo de vegetación (PNF 2014-2018), equivalentes al 70% del territorio nacional, ubicándose en el lugar número 12 en superficie forestal a nivel mundial (CONABIO, 2016).

El germoplasma de las especies forestales es un recurso valioso y limitado que incluye polen, semillas, partes vegetativas y el cultivo de tejidos, siendo la semilla el principal medio de propagación y conservación de estas especies. Entre los aspectos más importantes para garantizar el éxito de las plantaciones forestales se encuentra la calidad de las semillas. Durante el almacenamiento factores como la humedad, la temperatura y la sanidad influyen directamente en el deterioro de estas estructuras reproductivas, disminuyendo la germinación de las semillas y transmitiendo enfermedades que repercuten en el posterior establecimiento de las plántulas.

Uno de los grandes desafíos para México es preservar su diversidad, en la actualidad se cuenta con Bancos de Germoplasma donde se busca conservar las semillas de una gran cantidad de especies, sin embargo no se cuenta con información suficiente y específica sobre los tratamientos requeridos para mantener la viabilidad de las semillas, por lo cual es importante implementar técnicas de almacenamiento y establecer métodos de conservación para preservar la calidad de la semilla, mejorar su adaptación y la calidad de la planta. Preservar la calidad de las semillas, se ha convertido en uno de los aspectos más importantes durante el almacenamiento. Por lo cual el objetivo de la presente investigación fue identificar alternativas para la conservación de los recursos genéticos forestales, evaluando la aplicación de tratamiento químico y su efecto sobre la calidad fisiológica y sanitaria en semillas de *P. greggii* y *P. montezumae* almacenadas bajo dos humedades relativas durante 180 días.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de fungicidas en la calidad fisiológica y fitosanitaria en semillas de dos especies forestales almacenadas bajo dos ambientes.

Objetivos específicos

Evaluar el comportamiento fisiológico y la longevidad de semillas de dos especies forestales tratadas con fungicidas y almacenadas bajo dos condiciones de humedad relativa durante 180 días.

Evaluar la calidad fitosanitaria y determinar el mejor tratamiento de fungicidas aplicados a dos especies de semillas forestales almacenadas bajo dos condiciones de humedad relativa durante 180 días.

Correlacionar la calidad fisiológica y sanitaria de dos especies de semillas forestales tratadas y almacenadas bajo los dos ambientes durante el tiempo de su almacenamiento.

HIPÓTESIS

El tratamiento químico incrementará la longevidad de la semilla a través de los ambientes y tiempo de almacenamiento preservando su calidad fisiología y minimizando el desarrollo de hongos.

El tratamiento químico no incrementará la longevidad de la semilla a través de los ambientes y tiempo de almacenamiento y no preservará su calidad fisiológica.

REVISION DE LITERATURA

Ecosistemas forestales

La vegetación y el clima están vinculados en ambas direcciones: cuando el clima cambia, también lo hará la vegetación y viceversa, siendo estos enlaces de gran importancia y complejidad, los bosques desempeñan un papel importante, en el para el futuro, estos deben ser protegidos, gestionados y plantados, al menos, por su papel en el mantenimiento del agua atmosférica y todo lo que depende de ello (Sheil, 2018).

Los bosques del mundo proporcionan una protección fundamental de los recursos del suelo y el agua, así como múltiples servicios de los ecosistemas y valores culturales (Miura *et al.*, 2015), y sus recursos genéticos son la base de la silvicultura en la mayor parte del mundo (Vargas *et al.*, 2004).

En México un 35% del territorio nacional está cubierto por bosques, selvas y otros tipos de vegetación de amplia cobertura y se ha clasificado como centro de diversificación para el género *Pinus*, siendo el hábitat de más de la mitad de estas especies en el mundo, este hábitat se encuentra representado por 54 especies nativas, estableciéndose con frecuencia en los bosques de coníferas (Perry, 1991). Entre las especies más comunes en estos bosque se encuentran *Pinus montezumae*, *Pinus pseudostrobus*, *Pinus durangensis*, *Pinus douglasiana*, *Pinus devoniana*, *Pinus patula*, *Pinus maximinoi*, *Pinus ayacahuite*, entre otras. También existen otros géneros que crecen en este tipo de bosque como son *Abies*, *Pseudotsuga*, *Picea*, *Cupressus* y *Juniperus*, los cuales están representados por algunas de las especies como: *Abies religiosa*, *Abies guatemalensis*, *Abies durangensis*, *Abies mexicana*, *Abies vejarii*, *Abies concolor*, *Pseudotsuga menziesii*, *Picea chihuahuana*, *Picea engelmannii* y *Picea martinezii*, *Cupressus lusitanica*, *Cupressus guadalupensis*, *Juniperus deppeana*, *Juniperus flaccida*, *Juniperus californica*, *Juniperus monosperma*, *Juniperus comitana* y *Juniperus gamboana* (Rzewdoski, 1978).

Familia Pinaceae

Las Pináceas, son un registro fósil que se remonta al Cretácico, constituyen un taxón natural claramente definido, a esta familia pertenecen árboles y algunos arbustos monoicos, que tienen ramificaciones opuestas verticiladas, hojas dispuestas en espirales, aciculares en fascículos o lineares y solitarias; conos masculinos pequeños y herbáceos, cada escama papirácea tiene de dos a seis esporangios; los conos femeninos tienen escamas numerosas, en espirales leñosas o endurecidas y con dos óvulos en la base interna de la escama; semillas con o sin ala y embrión que contiene de dos a 15 cotiledones.

La familia comprende 10 géneros y aproximadamente 250 especies de amplia distribución, especialmente en regiones templadas o montañosas del hemisferio norte que se distinguen por sus conos femeninos con escamas numerosas y aplanadas. Se localiza principalmente en el hemisferio norte y se extiende hacia el sur de las Indias Occidentales, América Central, Japón, China, Indonesia, el Himalaya y el norte de África (Villareal, 2009).

Las especies de la familia Pinaceae son de gran importancia económica como productores de la mayoría de las maderas en el mundo. Además, son fuentes de madera para pulpa, resinas, barnices, ornamentales, algunas por sus semillas comestibles, aceites esenciales y otros productos forestales.

Toda la flora presente, especialmente los pinos, son de importancia para la alimentación y la cobertura, la mayoría de las especies y géneros se cultivan como plantas ornamentales, árboles de refugio y para la revegetación, algunos géneros son: *Abies*, *Cedrus*, *Larix*, *Picea*, *Pseudotsuga*, *Tsuga* y *Pinus*.

Entre las especies prioritarias nativas de esta familia se encuentran *Pinus montezumae* Lamb. y *Pinus greggii* Englem., especies de bosques de coníferas de importancia económica, ecológica y social; además *Pinus greggii* Englem. considerada una especie endémica de Norte América reportada en estatus de vulnerabilidad según la *International Union for the Conservation of Nature* (CONABIO, 2018; CONABIO, 2011; CONAFOR, 2011).

Clasificación taxonómica de *Pinus greggii* Engelm.

Pinus greggii Engelm es una especie endémica de México con gran importancia ecológica y económica. Este pino se distribuye en poblaciones aisladas a lo largo de la Sierra Madre Oriental, en zonas semiáridas y a veces semitropicales (Ramírez-Herrera *et al.*, 2005)

Taxonomía

- Reino Plantae
 - Filo Tracheophyta
 - Clase Pinopsida
 - Orden Pinales
 - Familia Pinaceae
 - Género *Pinus*
 - Subgénero Pinus
 - Sección Trifoliae
 - Especie Pino Prieto *Pinus greggii*

Nombre común: Pino prieto

Características: 3 Acículas; de 7 a 14 cm, color verde claro brillante; 2 a 6 canales resiníferos medios; conos duros, sésiles y serotinos, color ocre, lustrosos, oblongo cónicos, algo curvados, de 8 a 12 cm de longitud, forman agrupamientos de 3 a 6 o hasta 8 conos en el tronco; escamas duras, con apófisis desigualmente elevada, de cúspide deprimida. Semilla de forma oval, de color obscura de 6 a 7 mm, con ala de 20 mm de largo, por 7 mm de ancho, engrosada en la base (CONABIO, 2015).

Clasificación taxonómica de *Pinus montezumae* Lamb.

Pinus montezumae Lamb es una especie nativa de México, característica de los bosques de coníferas de gran importancia ecológica, económica y social. Presenta una amplia distribución, extendiéndose sobre la Sierra Madre Oriental, Sierra Madre del Sur y Sierra Madre de Chiapas.

Taxonomía

- Reino Plantae
 - Filo Tracheophyta
 - Clase Pinopsida
 - Orden Pinales
 - Familia Pinaceae
 - Género *Pinus*
 - Especie Pino Chamaite *Pinus montezumae*

Nombre común: Chamaite blanco

Características: 5 Acículas, ocasionalmente 4 ó 6, de 15 a 25 (hasta 30) cm de longitud, medianamente gruesas y fuertes o delgadas y algo colgantes, 2 a 6 canales resiníferos medios; conos de 9 a 15 cm, mayormente ovoides a largamente ovoides, ligeramente curvos, color café claro opaco con frecuencia lustrosos sobre pedúnculos de 10 a 15 mm, nacen en grupos de 2 a 3 y son deciduos; escamas gruesas, duras, rígidas; apófisis poco elevada a subpiramidal con quilla fuerte; cúspide ligeramente saliente con espina corta pronto caediza. Semilla alada, más o menos triangular, parda o negra, de 3 a 6 mm de largo, el ala de 18 a 30 mm de largo (CONABIO, 2015).

Factores que inducen pérdida de diversidad genética en especies forestales

En los últimos años el área de bosques ha disminuido a nivel mundial drásticamente, perjudicando principalmente a la biodiversidad forestal (Keenan *et al.*, 2015). Las tasas de pérdida de bosques son más altas en los países de bajos ingresos, sin embargo se estima que el área forestal se expandió en regiones como Europa, América del Norte, el Caribe, Asia oriental y Asia central y occidental, pero disminuyó en América Central, América del Sur, Asia meridional y sudoriental y las tres regiones de África (FAO, 2015).

Para México la disminución de terrenos forestales es grave, se estima que de la superficie original forestal al menos el 50% ha desaparecido o se ha deteriorado

de tal manera que ha perdido su papel ecológico original (Velázquez *et al.*, 2002), entre los principales factores de deterioro en los ecosistemas forestales se encuentran el sobrepastoreo, los incendios forestales, la tala clandestina, las plagas y enfermedades y los cambios de uso del suelo (SEMARNAT, 2009).

Rescate de diversidad genética de la vegetación forestal

En la actualidad en diversos países se desarrollan métodos de conservación de semillas de especies forestales para mejorar su adaptación, crecimiento y calidad sin disminuir la diversidad genética (Skrøppa and Bakkebo, 2017).

La restauración de bosques degradados y tierras agrícolas se ha convertido en una prioridad de conservación global (Christin *et al.*, 2016). Los bosques deberán adaptarse no solo a los cambios en las variables climáticas medias, sino también a una mayor variabilidad con mayor riesgo de eventos climáticos extremos, como sequías prolongadas, tormentas e inundaciones (Lindner *et al.*, 2010). En la actualidad existe un renovado interés en el uso de especies de árboles nativos en la restauración de ecosistemas por sus beneficios para la biodiversidad, el cultivo de árboles nativos en los sistemas de producción pueden garantizar la funcionalidad del paisaje, otra factor importante que mencionan Bozzano *et al.*, (2014) los cuales señalan que es elemental comprender el alcance y la naturaleza del flujo de genes a través de agroecosistemas fragmentados para la restauración exitosa de los ecosistemas.

En los Andes se ha planeado restaurar la cubierta forestal en tierras degradadas para mejorar la provisión de múltiples servicios ecosistémicos, por ejemplo, el suministro de agua, la regulación hídrica y la mitigación de la erosión (Bonnesoeur *et al.*, 2019), en otras regiones como Nueva Inglaterra se han investigado las relaciones entre la biodiversidad forestal y los atributos estructurales o funcionales de los bosques, y explorado los posibles impactos del cambio climático en la distribución de especies arbóreas, esto para comprender el futuro de los bosques, evaluar su estabilidad funcional y resistencia al cambio

climático y a los cambiantes regímenes de perturbación, los cuales alteran las estructuras, la función y la composición de las especies de árboles (Pan *et al.*, 2018), de igual forma se han realizado estudios de sustentabilidad como en la bioregión del sudeste de Queensland donde se realizó la estimación de la biomasa aprovechable en árboles vivos de bosques nativos dentro de la bioregión con la finalidad de localizar la ubicación de los bosques aprovechables y brindar protección a la productividad del suelo, la calidad del agua y los valores de biodiversidad a nivel del sitio (Ngugi *et al.*, 2018).

Sin embargo para la restauración de los ecosistemas en general requiere conocimientos sobre las características de dispersión de las semillas, de las especies de árboles y un entendimiento de las limitaciones para el establecimiento y la supervivencia de las plántulas.

Degradación genética del género *Pinus*

El desarrollo actual y otras actividades antropogénicas han conducido a la degradación de las tierras forestales, y en última instancia, se traduce en la pérdida de biodiversidad y aumenta la concentración de gases contaminantes como CO₂ en la atmósfera (Salunkhe *et al.*, 2018).

Para México se estima que cerca de 200 especies leñosas de interés, están en la lista de especies amenazadas o en peligro de extinción y que 17% de las especies forestales nativas son vulnerables o se encuentran en niveles importantes de riesgo y degradación genética (SEMARNAT, 2009).

Existen especies como el *Pinus chiapensis* que desde hace varios años se encuentra bajo una fuerte presión por la conversión de bosques a la agricultura y el corte de leña, por lo que se busca implementar métodos para la conservación y el uso racional del recurso genético (Wright *et al.*, 1996).

Según la FAO (2011) En México es importante enfocar esfuerzos en un número menor de especies para su conservación, considerando que sean de amplia distribución, representativas de los diferentes ecosistemas, y con un alto valor

económico, social y ecológico, principalmente especies amenazadas o que puedan estar en un proceso de deterioro genético. Para el bosque de coníferas las especies prioritarias se presentan en el siguiente cuadro donde se observan especies como *Pinus greggii*, *Pinus montezumae* y *Pinus patula*.

Cuadro 1. Principales especies prioritarias características de los bosques de coníferas, su importancia y hábitat de desarrollo.

Especie prioritaria	Razones de priorización (Importancia)	Vegetación
<i>Abies religiosa</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus ayacahuite</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus cembroides</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus chiapensis</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino, mesófilo de montaña
<i>Pinus devoniana</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus douglasiana</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus durangensis</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus engelmannii</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus greggii</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus maximinoi</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus montezumae</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus oaxacana</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus oocarpa</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus patula</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus pseudostrobus</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pinus teocote</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	Ecológica, Económica y Social	Coníferas, encino

Fuente: CONAFOR-FAO, 2011

Las especies forestales como los pinos se propagan principalmente por semilla, sin embargo la época de maduración de ésta varía entre las especies, existiendo años con buena fructificación y otros con escasa o nula. Por lo cual la producción, la dispersión de semillas, la germinación y el establecimiento de plántulas son fases críticas de la vida en estas especies, por consiguiente la comprensión clara de estos problemas es crucial para reconocer los patrones de colonización y extinción (Stanturf *et al.*, 2014).

Métodos de conservación de semillas

Los jardines botánicos han ofrecido un servicio de conservación a través de programas específicos de recolección de semillas y otros tejidos de especies amenazadas, como medio para proporcionar refugio seguro al germoplasma y para complementar los esfuerzos de conservación *in situ* (BGCI, 2014). Existen otras formas de conservación de germoplasma como son los bancos de semillas del suelo, sin embargo tienen poco potencial como fuente de regeneración de árboles debido a la falta de semillas disponibles, la erosión del suelo o la incapacidad de formar bancos de semillas persistentes en suelo; Haffey *et al.*, (2018) analizaron limitaciones en la capacidad de los bosques de pino ponderosa para regenerarse, encontrando que desde una fuente de semilla se tiene menos probabilidades de tener regeneración.

Entre otras alternativas para poder resguardar los recursos genéticos se encuentran: los bancos de germoplasma, archivos genéticos en campo y almacenamiento de tejidos en instalaciones especiales, siendo una importante reserva *ex situ* de biodiversidad.

El almacenamiento *ex situ* de semillas es ampliamente aceptado y adoptado como una estrategia efectiva de conservación a largo plazo, ya que las semillas de árboles pueden almacenarse por largos períodos de tiempo (Pritchard *et al.*, 2014) estableciéndose como el conducto más común para este tipo de conservación. Especies como los pinos tienen semilla que puede almacenarse y conservan la viabilidad por periodos largos de tiempo (Vargas, 2004).

Bancos de germoplasma

La producción de semillas, su dispersión y el establecimiento de plántulas son fases relevantes de la vida de las plantas (Abiyu *et al.*, 2016).

Los bancos de germoplasma son depósitos especializados que a través de técnicas apropiadas, garantizan el aprovechamiento y la provisión de semillas forestales a mediano y largo plazo. Son sitios donde se realizan procesos de

limpieza y almacenamiento de germoplasma forestal, bajo condiciones controladas de temperatura y humedad, así como el análisis de sus características para conservar su potencial germinativo.

El objetivo principal de los bancos de germoplasma forestal es mantener la calidad genética y fisiológica de las semillas (CONAFOR, 2018). En México se registran 37 bancos de germoplasma para almacenamiento de mediano plazo (Figura 1), y 18 centros de almacenamiento temporal de germoplasma forestal, principalmente de coníferas y especies de zonas áridas (FAO, 2012).



Figura 1. Red de bancos de germoplasma forestal en México CONAFOR, 2018.

Los análisis de calidad de las semillas que se realizan en los bancos de germoplasma de especies forestales son: Pruebas físicas: Porcentaje de pureza, peso de 100 y 1,000 semillas y número de semillas por kilogramo, contenido de humedad y Rayos X. Pruebas fisiológicas: Viabilidad por tetrazolium y germinación.

La importancia de realizar análisis de calidad radica en determinar el potencial máximo de germinación de un lote de semilla, lo que permite estimar su capacidad para generar plantas satisfactorias en condiciones favorables.

Almacenamiento de semillas

El almacenamiento *ex situ* del germoplasma puede ser considerado como una medida viable para la conservación de los recursos, la longevidad de las semillas forestales almacenadas, es influida principalmente por la calidad genética y fisiológica, las condiciones de almacenamiento y los métodos de conservación.

Wang y Beardmore (2004) establecen que el objetivo del almacenamiento es mantener en la semilla la calidad genética, fisiológica y física original hasta que sean usadas o puedan ser regeneradas, de igual forma el deterioro de la semilla está influido por su calidad inicial, la humedad relativa, el contenido de humedad y la temperatura a la que se almacenan, considerando éstos factores importantes durante su conservación, entre otros determinantes se encuentra la calidad fitosanitaria dada por los daños a causa de una gran cantidad de organismos vivos (Arguedas, 1997), como: hongos, bacterias, virus, nematodos y artrópodos.

Contenido de humedad de la semilla

El contenido de humedad es el factor más importante para la calidad inicial de la semilla, con fines de conservación de recursos genéticos de especies agrícolas ortodoxas a largo plazo, se recomienda durante el almacenamiento una temperatura de -18°C y un contenido de humedad del $5 \pm 1\%$, éstas condiciones son igualmente apropiadas para las semillas ortodoxas de árboles forestales que han de almacenarse con fines de conservación (IBPGR, 1976).

Temperatura y humedad relativa

La temperatura de almacenamiento es otro factor importante que afecta la longevidad de las semillas almacenadas. Las temperaturas óptimas para el

almacenamiento varían de acuerdo con la fisiología de los diferentes grupos de especies. La temperatura presenta una correlación negativa con la longevidad de la semilla; cuanto más baja es la temperatura, tanto menor es la tasa de respiración, y por ello tanto más prolongada la vida de la semilla almacenada.

La humedad relativa y la temperatura son los dos factores ambientales de mayor importancia en la conservación, si estos son altos el deterioro se manifestará rápidamente, sin embargo, si estos son bajos, se prolonga la calidad del grano. El contenido de humedad de la semilla está en función directa de la humedad relativa y temperatura ambiental, esto es debido a la capacidad higroscópica del grano, al tener la capacidad de ceder o ganar humedad de acuerdo a las condiciones ambientales que se presenten (Delouche, 1972).

Calidad Sanitaria

La sanidad de la semilla se refiere a la presencia o ausencia de organismos causantes de enfermedades, tales como: hongos, bacteria, virus y plagas de animales (Moreno, 1988). El desarrollo de estos organismos dependerá de las condiciones climáticas, el manejo y presencia del inóculo, entre otras. Para determinar la presencia de patógenos en las semillas se utilizan: exámenes directos, examen de embriones, pruebas de papel filtro, agar, crecimiento, pruebas serológicas, entre otras (INTAGRI, 2017). De los organismos que causan afectaciones al desarrollo y establecimiento de la plántula los hongos son el grupo de patógenos de mayor transmisión en la semilla (ISTA, 2014).

Hongos de almacén

Los hongos son organismos que carecen de clorofila, provistos de talo, generalmente filamentosos y ramificados, mediante el cual absorben los principios orgánicos nutritivos del medio, de tamaño variado y reproducción asexual (por esporas); viven como parásitos o sobre materias orgánicas en descomposición o parásitos de vegetales o animales (SAGARPA, 2016).

Los hongos se clasifican en hongos de campo, hongos de almacén y hongos de deterioro avanzado, los hongos de almacén son aquellos que pueden desarrollarse con contenidos de humedad en equilibrio a humedades relativas entre 65 y 90%, generalmente son de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. La presencia de *Aspergillus glaucus* es indicativo del inicio del deterioro de los granos, a medida que este deterioro se incrementa, el contenido de humedad se eleva o si se tienen humedades relativas altas pueden aparecer otras especies de hongos de estos géneros, llegando incluso a presentarse las especies de *Aspergillus flavus* y *Penicillium*, más otras especies. Los hongos de almacén pueden producir daños irreversibles, como es la reducción del poder germinativo y el ennegrecimiento total o parcial de la superficie parasitada (Moreno, 1988).

Medidas de control de hongos

La transmisión de patógenos por semilla es el método más efectivo de distribución del inóculo primario a diferentes especies. Entre los métodos para prevenir o disminuir la transmisión de patógenos por semilla están los tratamientos, que se clasifican en físicos, químicos, biológicos y bioquímicos (Mude, 1985).

Tratamientos físicos

Pertenecen a este grupo los tratamientos donde la destrucción de los organismos patógenos se hace mediante la acción de un agente físico como calor o radiaciones.

Tratamientos biológicos

Los tratamientos biológicos están basados en el antagonismo que los microorganismos puedan presentar entre sí; el principal objetivo del tratamiento de semillas con agentes biológicos es proteger las semillas sanas contra los agentes patogénicos existentes en el suelo. La aplicación práctica de los

controles biológicos en lotes de semillas ya infectadas con patógenos es difícil, especialmente en los casos donde el patógeno está localizado internamente en las semillas (Pacheco, 1988).

Tratamientos bioquímicos

Están basados en la fermentación anaeróbica, con producción de ácidos que inactivan o inhiben el desarrollo del patógeno, un ejemplo de este tratamiento es la extracción ácida de semillas de tomate para el control de bacteriosis transmitidas por semilla (Vergara *et al.*, 1969).

Tratamiento químico de las semillas

La aplicación de productos químicos para el control de patógenos transmitidos por semilla es el método más barato y efectivo. La ventaja principal de los tratamientos químicos de semillas es que cuando se logra fijar el producto con exactitud, uniformidad y seguridad, su acción es eficaz. El ingrediente activo se aplica en dosis menores que en un cultivo en crecimiento. Es importante conocer los aspectos que determinan la efectividad del tratamiento, como la dosis adecuada, estabilidad del ingrediente activo a diferentes ambientes y el efecto sobre la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla durante el almacenamiento (Agarwal *et al.*, 1987). El tratamiento con fungicidas protege la germinación, el vigor y la sanidad de las semillas, así como el establecimiento de las plántulas y de la acción de los hongos que son acarreados dentro y sobre las semillas (Moreno, 1988).

Aplicación de fungicidas en semillas

Los tratamientos químicos de semilla son directamente afectados por el tipo de tratamiento, el producto usado y su dosificación. Su mecanismo está determinado por la forma física del agente y el proceso de la mezcla en el tratamiento. Cuando la semilla se remoja en una solución diluida hay una

distribución completa y uniforme del desinfectante y se obtiene un completo cubrimiento de la semilla, debido a la necesidad de un subsecuente secado, se introdujo la aplicación de productos en polvo. La efectividad del tratamiento también está relacionada con la buena adhesión del producto y esta depende de la textura del polvo, tipo y condición de la semilla y método de aplicación. Para tener máxima efectividad, el método usado debe permitir la aplicación uniforme del producto sobre la superficie de la semilla y que este forme una cubierta bien adherida a la misma, a fin de evitar que el material se desprenda antes de la siembra (Pacheco, 1988).

Métodos aplicados para el control de hongos en semillas

Para conservar la diversidad genética de especies forestales se busca implementar métodos de almacenamiento que permitan mantener la viabilidad de las semillas por largos periodos de tiempo, se han realizado investigaciones al respecto Bergadal *et al.*, (2015) quienes evaluaron diferentes tratamientos de fungicidas en semillas de *Pinus radiata* para controlar la presencia de *Fusarium* spp. mediante la germinación y la incidencia de la enfermedades, otros autores como Godefroid *et al.*, (2017) determinaron la efectividad de la técnica de calor seco a semillas silvestres como tratamiento de esterilización para su posterior conservación *ex situ*; así también se busca implementar nuevos materiales como Aleksandrowicz-Trzcinska *et al.*, (2015) quienes evaluaron el efecto del quitosan como tratamiento de semillas para el control de enfermedades y crecimiento de *Pinus sylvestris* L. Dias, *et al.*, (2016) analizaron los efectos de los fungicidas como tratamiento en semillas sobre la supresión de hongos transmitidos y los efectos en la fisiología de la semillas de un árbol nativo de los trópicos (*Inga vera*) encontrando que el deterioro de las semillas se asoció a la alta incidencia de hongos y el tratamiento fungicida redujo su incidencia y extendió la vida útil de los embriones de 90 a 120 días, por su parte Huang *et al.*, (2017) realizaron tratamientos con fungicidas en semillas almacenadas de *Tripsacum*

dactyloides L. encontrando que el tratamiento de la semilla a base de la combinación de Piraclostrobina y Fluxapyroxad tuvo el mejor control de los contaminantes fúngicos en las semillas y el mayor porcentaje final de germinación en las pruebas de laboratorio.

Características de los fungicidas

La información técnica y el modo de protección y acción de los fungicidas utilizados para tratamiento de semillas en la presente investigación se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Información técnica de fungicidas comerciales utilizados en la investigación para el tratamiento de semillas.

Nombre comercial	Grupo químico	Ingrediente activo	Modo de protección	Modo de Acción
Captán	Ftalimidas	N-(triclorometiltio)ciclohex-4-eno-1,2-dicarboximida	Contacto	Múltiples sitios de acción ¹ . Fungicida de amplio espectro y bajo riesgo de resistencia. Inhibe la respiración así como la síntesis de ADN ² y proteínas mediante la interacción electrofílica con los tioles de las enzimas fúngicas, inhibe la germinación de las esporas y dificulta el crecimiento y desarrollo micelial ³ . Se transloca a los tejidos tanto por tratamiento de semillas como al suelo o foliar. Recomendado en el control de numerosas micosis, entre las que se cuentan: antracnosis, chancro y mildiu ⁴ .
Zio	Benzimidazoles	Tiabendazol: 2-(4-tiazolil)-1H-benzimidazol	Sistémico	Fungicida con alto riesgo de resistencia. Actúa sobre las proteínas motrices y del citoesqueleto, específicamente

¹ FRAC Code List 2019

² Captan NPIC 2002

³ Captan Science Direct 2010

⁴ Terralia Información Agrícola 2017

Nombre comercial	Grupo químico	Ingrediente activo	Modo de protección	Modo de Acción
				<p>sobre la β-tubulina durante la mitosis¹. Recomendado en el control de <i>Rhizoctonia</i>, <i>Colletotrichium</i>, <i>Phytium</i>, <i>Fusarium</i>, <i>Penicillium</i>, <i>Botrytis</i>, <i>Deightonella</i>, <i>Diaporthe</i>, <i>Sclerotinia</i> y <i>Cercospora</i>, entre otros⁵.</p> <p>Múltiples sitios de acción¹. Fungicida de amplio espectro y bajo riesgo de resistencia. Pertenece al grupo de los ditiocarbamatos que inhiben enzimas e interfieren con la producción de energía dentro de la célula. Efectivos para <i>Phytophthora infestans</i>, <i>Botrytis cinerea</i>, <i>Alternaria spp.</i>, <i>Septoria spp.</i>, etc. Posee cierta acción preventiva contra royas⁴.</p>
Manzate	Carbamatos	Mancozeb: Complejo (polimérico) de manganesoetilenbis (ditiocarbamato) con sal de zinc	Contacto	

⁵ Tecto 60. Ficha técnica 2017

MATERIALES Y MÉTODOS

Generalidades del experimento

La presente investigación se realizó en el laboratorio de “Producción de semillas” perteneciente al Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas en la UAAAN Saltillo, Coahuila. El material genético que se utilizó fueron semillas de Pino prieto (*Pinus greggii* Engelm) y Pino real (*Pinus montezumae* Lamb) recolectados en los municipios de Metepec y Calimaya, Estado de México respectivamente, proporcionadas por la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR).

Tratamiento químico

Se utilizaron tres fungicidas comerciales con presentación en polvo humectable, se establecieron tres dosis (alta, media y baja) por cada fungicida basándose en las recomendaciones de fichas técnicas establecidas para semillas agrícolas de tamaño similar (Syngenta, 2009; Adama, 2016). Se emplearon los mismos productos comerciales y dosis para las dos especies.

La aplicación de los tratamientos se realizó en base al peso de la muestra a utilizar y la humedad de la semilla de cada especie, se aplicó la cantidad de solución elevando la humedad de las semillas solo en 1% más de la humedad inicial.

Se determinó el peso de mil semillas, para la cual se contaron 8 repeticiones de 100 semillas, posteriormente se pesó cada repetición en una balanza analítica marca OHAUS modelo AV264, se obtuvo el promedio de los pesos y este se multiplicó por 10, el peso se expresó en gramos.

Se determinó el contenido de humedad inicial de la semilla conforme a la metodología establecida por la International Seed Testing Association (ISTA, 2004). Los resultados obtenidos fueron para *P. greggii* 7.58% y para *P. montezumae* de 8.72%.

La cantidad de producto se calculó tomando en cuenta la cantidad de ingrediente activo que contenían cada fungicida y la cantidad de semilla a tratar. La cantidad de semilla para cada tratamiento fue de 100 g para *P. montezuma* y para *P. greggii* fueron 50 g. Los gramos de polvo se calcularon para 50 ml de solución para poder tomar la cantidad necesaria por dosis para cada especie; los tratamientos se pesaron en una balanza analítica marca OHAUS modelo AV264, se realizaron las disoluciones por dosis colocando el producto en vasos de precipitado previamente marcados y se agregaron los 50 ml de agua destilada, realizándose para cada dosis de cada producto (Figura 2). En el Cuadro 3 se presentan los tratamientos aplicados para cada especie por dosis de ingrediente activo, junto con el testigo al cual no se le aplicó ningún tipo de tratamiento.

Cuadro 3. Tratamientos y dosis por ingrediente activo y cantidad de producto aplicados a las semillas de *P. montezuma* y *P. greggii* conservadas a 60 y 80 % de humedad relativa durante 180 días.

Fungicida	Semillas por ambas especies (g)	Dosis utilizada	IA por kg (g) del producto	Fungicida (g) por Dosis para 150 (g) de semilla	Fungicida (g) para 50 ml agua
	150	0.75	500	0.112	1.806
Captan	150	1.00	500	0.150	2.419
	150	1.25	500	0.187	3.016
	150	0.80	600	0.120	1.612
Zio	150	2.00	600	0.300	4.032
	150	4.25	600	0.637	8.556
	150	0.75	750	0.112	1.201
Manzate	150	1.00	750	0.150	1.612
	150	1.25	750	0.187	2.008
Testigo	--	--	--	--	--

IA= Ingrediente activo/por kilogramo

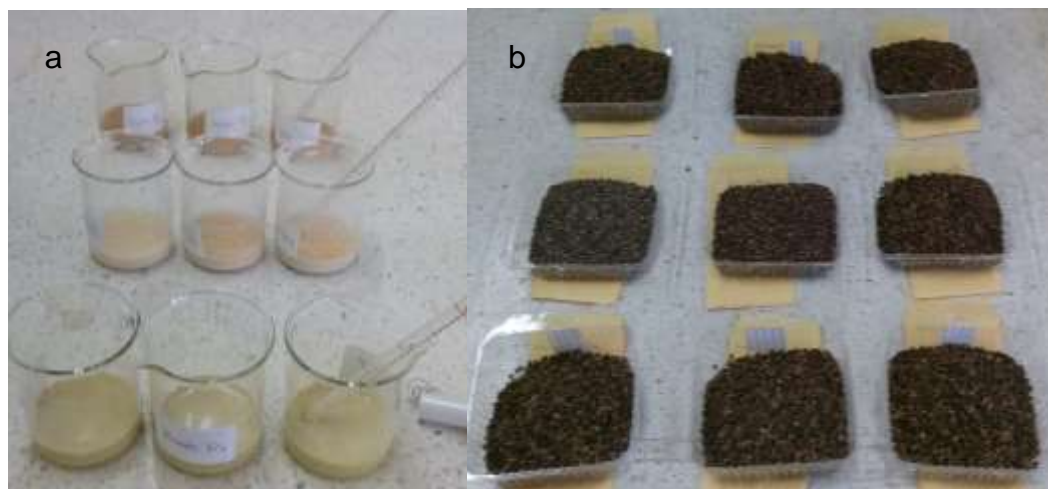


Figura 2. a) Tratamientos de tres fungicidas por dosis aplicados a semillas de *P. montezumae* y *P. greggii*; b) Semillas de *P. montezumae* tratadas con fungicidas las cuales se almacenaron dos humedades relativas durante 180 días.

Para obtener los mililitros de solución a agregar a la semilla por tratamiento se aplicó la siguiente fórmula:

$$ml \text{ de agua} = \left(\frac{100 - CH1}{100 - CH2} \right) - 1 * PS$$

Donde:

CH1= Contenido de humedad inicial

CH2= Contenido de humedad que se pretende obtener

PS= Peso de la semilla a tratar

Los mililitros a aplicar de cada dosis por especie fueron:

$$P. \text{ greggii: } 2.5 \text{ ml} \qquad P. \text{ montezumae: } 3.7 \text{ ml}$$

Para realizar el tratamiento, las semillas se colocaron en frascos de vidrio, diferentes para cada producto, posteriormente con una pipeta se incorporaban los mililitros de solución correspondientes de cada dosis, se prosiguió a agitar

hasta que el producto aplicado estuviera adherido de manera homogénea a la semilla esto se realizó para cada especie.

Condiciones de almacenamiento

Las semillas fueron almacenadas por un periodo de 180 días bajo condiciones de humedad relativa de 60 y 80 %, dentro de una cámara de enfriamiento marca TORREY modelo CV-32 a temperatura constante de 5°C.

Las semillas fueron llevadas a bolsas de malla y se suspendieron sobre una tarima dentro de recipientes de plástico, las humedades relativas se obtuvieron mediante sales (Winston & Bates, 1960), se comprobaron mediante un higrómetro marca LOCKDOWN modelo B004RQWLAA. En total se utilizaron 12 recipientes, 6 por cada ambiente de humedad relativa, donde se suspendieron las semillas tratadas de las dos especies, y los testigos (Figura 3). Las cantidades de agua y tipo de sales que se colocaron por monitoreo dentro de cada recipiente se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Cantidad de sales y agua colocadas dentro de los recipientes por humedad relativa (60 y 80%) donde se almacenaron semillas de *P. montezumae* y *P. greggii* tratadas con fungicidas durante 180 días.

Humedad Relativa (%)	Monitoreo (Días)	Sal	Kg de sal	Agua (L)
	0	-	-	-
60	30/60	Sal de grano	1.50	0
	90/120/150/180	Sal de grano	2.00	0
80	30/60	Sulfato de amonio	0.55	1
	90/120/150/180	Sulfato de amonio	1.10	2

Kg= kilogramos; L= litros.

Los monitoreos se realizaron a partir de la adquisición de la semilla el cual se definió como monitoreo 1 (0 días), después de establecer el experimento se realizaron a los 30, 60, 90, 120, 150 y 180 días.

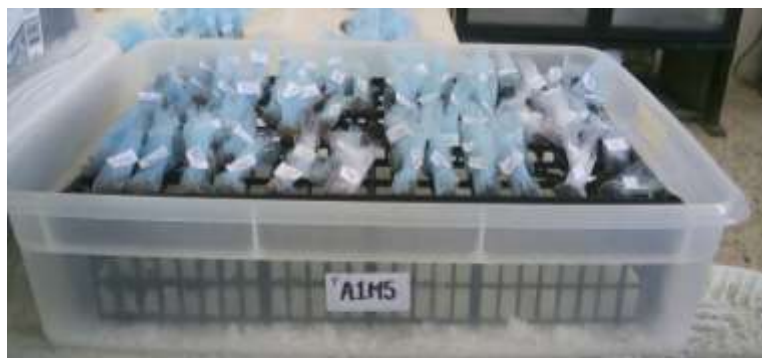


Figura 3. Semillas de *P. montezumae* y *P. greggii* tratadas con fungicidas y suspendidas dentro de recipientes con sales para alcanzar el 60 y 80% de humedad relativa durante 180 días de almacenamiento.

Se utilizaron dos especies, a dos humedades relativas con cuatro tratamientos, tres dosis y cuatro repeticiones, se realizaron siete monitoreos, con lo que se obtuvo un total de 1,344 unidades experimentales de 50 semillas cada una para realizar las evaluaciones correspondientes.

Variables evaluadas

Contenido de humedad de la semilla (HS): esta variable se determinó para cada especie, en base a las reglas ISTA (2004) como se describe enseguida del monitoreo que se extrajo de la cámara de enfriamiento se tomaron 4 repeticiones de 15 semillas en promedio, se dispusieron en cajas de aluminio con tapa previamente pesadas, enseguida se pesaron las cajas con la semilla húmeda y fueron colocadas abiertas dentro de una estufa de secado SHEL-LAB modelo FX14-2, a 103 °C por 16 \pm 1 horas, transcurrido en tiempo se taparon dentro la estufa y se retiraron de la misma, se esperó a que disminuyera la temperatura de la cajas, luego se colocaron dentro de un desecador para que no absorbieran

humedad y por último se pesaron las cajas. Las humedades se calcularon por diferencia de peso en porcentajes mediante la siguiente fórmula:

$$CH = \frac{P2 - P3}{P2 - P1} * 100$$

Donde:

P1: Peso en gramos de la caja de aluminio más su tapa.

P2: Peso en gramos de la caja, la tapa y la semilla húmeda.

P3: Peso en gramos de la caja, la tapa y las semillas después del periodo de secado.

Primer conteo de germinación (1CG): para cada especie se colocaron 4 repeticiones de 25 semillas por tratamiento dentro de cajas Petri sobre papel filtro previamente esterilizado y humedecido con agua destilada, se situaron en una cámara de germinación marca LAB-LINE a 20 - 25 °C e iluminación por 12 horas y 12 horas oscuridad, esta variable se determinó a los 7 días posteriores a la siembra, en la cual se contabilizaba todas las semillas que iniciaron el proceso de germinación, los resultados se presentaron en porcentaje.

Germinación estándar: a los 14 días se realizó el conteo de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas muertas (SM) y semillas duras (SD).

Longitud media de hipocótilo (LMH) y radícula (LMR): se utilizaron las plántulas normales de la prueba de germinación de cada repetición, con ayuda de una regla graduada en centímetros se tomaron las medidas de cada estructura de la plántula.

Peso seco (PS): se ocuparon las plántulas normales desarrolladas durante la germinación, obteniendo el peso seco por repetición, las plántulas se colocaron dentro de bolsas de papel perforadas e identificadas. Posteriormente se acomodaron dentro de una estufa de secado marca SHEL-LAB modelo FX14-2 a una temperatura de 65 °C por un periodo de 24 horas. Al finalizar el tiempo de secado las muestras fueron puestas dentro de un desecador, para luego pesarse en una balanza analítica marca OHAUS modelo AV264, por último con los datos

obtenidos se calculó el peso seco por repetición en miligramos por plántula (mg/plántula).

Calidad sanitaria

Para evaluar la presencia de hongos la técnica con incubación en placas de Malta Sal Agar (MSA) (Moreno, 1988). Para preparar un litro se utilizó agua destilada, 20 g de Extracto de Malta, 20 g de Agar bacteriológico y 60 g de Sodio Cloruro (NaCl), todos los elementos se colocaron en un matraz Erlenmeyer y se mezclaron hasta disolver los reactivos. Se colocaron en una autoclave marca AESA modelo CV250 hasta alcanzar una temperatura de 120 °C y 15 libras de presión durante 15 minutos, para su esterilización, se vació en cajas Petri estériles dentro de una campana de flujo laminar marca ALDER, aplicando los métodos de asepsia y se dejó reposar para solidificación.

Para la siembra en las placas de agar, se utilizaron 10 semillas con 3 repeticiones por tratamiento, la solución para desinfectar las semillas fue hipoclorito de sodio (NaClO) a diferentes concentraciones, dependiendo de las especies para *P. greggi* se utilizó al 0.5% por lo que se agregaba 1,100 ml de agua destilada y 100 ml de cloro comercial (Cloralex) y para *P. monezumae* al 1.0%, se agregaba 1,000 ml de agua destilada y 200 ml de cloro. La desinfección de la semilla se realizaba colocando las semillas dentro de un frasco de vidrio, se agregaba una porción de solución de hipoclorito se tapaba y se agitaba por 1 minuto, este tiempo se utilizó para todos los tratamientos en las dos especies, transcurrido el tiempo se drenaba la solución con un cedazo, las semillas se situaban sobre papel secante previamente esterilizado dentro de la campana de flujo laminar marca ALDER, con pinzas desinfectadas se tomaba las semillas y se acomodaban dentro de cada caja Petri. Las cajas con las semillas fueron colocadas en una cámara de incubación marca SHEL-LAB modelo FX14-2 a 28-30°C de temperatura por 7 días en promedio.

Para las semillas libres de hongos (SLH) se cuantificaron las semillas que no desarrollaron ningún tipo de micelio, los datos se reportaron en porcentaje. Los géneros de hongos (GH) se identificaron por la morfología de las colonias con ayuda de claves taxonómicas (Moreno, 1988), y la observación de las estructuras somáticas y reproductivas con el estereoscopio y microscopio compuesto. Los datos obtenidos se reportaron en porcentaje de géneros identificados aplicando la siguiente fórmula (Abdullah & Aa-Mosawi, 2010):

$$I \% = \frac{\text{Cantidad de semillas en las que apareció el hongo}}{\text{Número total de semillas}} * 100$$

Diseño experimental

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones.

Análisis estadístico

Se utilizó el diseño al azar con arreglo factorial (AxBxCxD) para cada especie, con el siguiente modelo lineal:

Los factores de variación que se contrastaron en el modelo lineal fueron:

A= HR (60 y 80%)

B= Tiempo (0, 30, 60, 90, 120,150 y 180 días)

C= 4 Tratamientos (3 fungicidas + 1 testigo)

D= 3 Dosis (Alta, media y baja)

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + \theta_l + \alpha\beta_{ij} + \alpha\delta_{ik} + \beta\delta_{jk} + \alpha\theta_{il} + \beta\theta_{jl} + \delta\theta_{kl} + \alpha\beta\delta_{ijk} + \alpha\beta\theta_{ijl} + \alpha\delta\theta_{ikl} + \beta\delta\theta_{jkl} + \alpha\beta\delta\theta_{ijkl} + \epsilon$$

Donde:

Y_{ijkl} = Valor observado

μ = Efecto de la media

α_i = Efecto de la HR (A)

β_j = Efecto del Tiempo (B)

δ_k = Efecto del Fungicida (C)

θ_i = Efecto de la Dosis (D)

$\alpha\beta_{ij}$ = Efecto de la interacción HR-Tiempo (AxB)

$\alpha\delta_{ik}$ = Efecto de la interacción HR-Fungicida (AxC)

$\beta\delta_{jk}$ = Efecto de la interacción Tiempo-Fungicida (BxC)

$\alpha\theta_{il}$ = Efecto de la interacción HR-Dosis (AxD)

$\beta\theta_{jl}$ = Efecto de la interacción Tiempo-Dosis (BxD)

$\delta\theta_{kl}$ = Efecto de la interacción Fungicida-Dosis (CxD)

$\alpha\beta\delta_{ijk}$ = Efecto de la interacción HR-Tiempo-Fungicida (AxBxC)

$\alpha\beta\theta_{ijkl}$ = Efecto de la interacción HR-Tiempo-Dosis (AxBxD)

$\alpha\delta\theta_{ikl}$ = Efecto de la interacción HR-Fungicida-Dosis (AxCxD)

$\beta\delta\theta_{jkl}$ = Efecto de la interacción Tiempo-Fungicida-Dosis (BxCxD)

$\alpha\beta\delta\theta_{ijkl}$ = Efecto de la interacción HR-Tiempo-Fungicida-Dosis (AxBxCxD).

ϵ = Error experimental

La comparación de medias de las variables evaluadas se realizó mediante la prueba según Tukey (W):

$$W = q_{(t, glee, \alpha)} \times \sqrt{\frac{CMee}{r}}$$

Donde:

q = Amplitud total estudentizada. Valor encontrado en las tablas que está en función de:

α = Nivel de significancia

t = Número de tratamientos

$glee$ = Grados de libertad del error experimental

$CMee$ = Cuadrado medio del error experimental

r = Número de repeticiones de las medias de los tratamientos a ser comparadas.

Todos los análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias se realizaron en el software estadístico R studio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANOVA de *Pinus greggii* y *Pinus montezumae* para las variables evaluadas

En el siguiente apartado se muestran los resultados de los análisis de varianza (ANOVA) para cada especie: Para *P. montezumae* en la fuente HR las diferencias altamente significativas se presentaron en las variables 1CG, HS, PN y SM y significativa en SD; en Tiempo todas fueron altamente significativas a excepción de SD, para Fungicida solo las HS y PN fueron altamente significativas, y en Dosis no existieron diferencias en ninguna variable (Cuadro 5). En la interacción HR*Tiempo las variables altamente significativas fueron 1CG, HS, PA y SM; en HR*Fungicida solo HS y LMH fueron altamente significativas, así como las variables 1CG, PN, PA y LMR en la interacción Tiempo*Fungicida siendo significativas SH y LMH, en HR*Dosis solo PS fue significativo, para Tiempo*Dosis y Fungicida*Dosis no hubo diferencias; en la interacción HR*Tiempo*Fungicida las diferencias altas fueron en: 1CG, PN, PA, SM, LMH y PS; a partir de esta interacción ya no existieron diferencias significativas posteriores (AxBxD, AxCxD, BxCxD, AxBxCxD).

El en Cuadro 6 se presentan los resultados para *P. greggii* en HR las diferencias altas se presentaron en todas las variables, excepto en SD, los factores Tiempo y Fungicidas resultaron altamente significativos en todas la variables; sin embargo el efecto de la Dosis no generó diferencia alguna. En referencia a las interacciones; para la HR* Tiempo se presentaron diferencias altamente significativas en todas las variables a excepción de PS; en HR*Fungicida SM, LMR y PS fueron altamente significativas, las significativas fueron 1CG y LMR; para Tiempo*Fungicida las variables altas fueron 1CG, PA, LMR y PS y significativas SM y LMH; en HR*Dosis y Tiempo*Dosis no hubo diferencias; para Fungicidas*Dosis solo fueron significativas 1CG y PS; HR*Tiempo* Fungicida fue alta en 1CG, LMH, LMR y PS y significativa para PN y SM, las interacciones posteriores no presentaron diferencias (AxBxD, AxCxD, BxCxD, AxBxCxD).

Cuadro 5. ANOVA de las variables evaluadas en semillas *Pinus montezumae* tratadas con fungicidas y almacenada bajo dos ambientes de humedad relativa durante 180 días.

FV	GL	1CG (%)	HS (%)	PN (%)	PA (%)	SD (%)	SM (%)	LMH (cm)	LMR (cm)	PS (mg/p)
HR (A)	1	2280.5 **	2685.6 **	1235.8 **	106.5 NS	50.5 *	8787.6 **	0.20 NS	0.40 NS	0.65 NS
Tiempo (B)	6	1360.4 **	92.4 **	7045.4 **	4702.8 **	18.8 NS	3292.0 **	15.0 **	4.43 **	30.3 **
Fungicida (C)	3	113.1 NS	10.6 **	1732.9 **	347.1 NS	14.3 NS	727.7 *	0.4 NS	0.44 NS	0.58 NS
Dosis (D)	2	103.3 NS	0.01 NS	384.9 NS	170.0 NS	1.4 NS	152.4 NS	0.09 NS	0.11 NS	2.6 NS
A x B	6	2735.6 **	22.0 **	532.6 NS	702.4 **	13.8 NS	1471.4 **	0.68 NS	0.31 NS	4.4 NS
A x C	3	688.0 *	6.35 **	350.5 NS	166.2 NS	2.1 NS	286.2 NS	1.90 **	0.22 NS	4.0 NS
B x C	15	774.3 **	0.48 *	1538.9 **	1134.5 **	8.1 NS	354.5 NS	0.64 *	0.63 **	4.9 NS
A x D	2	63.8 NS	0.01 NS	221.0 NS	22.4 NS	5.3 NS	171.3 NS	0.95 NS	0.21 NS	11.5 *
B x D	12	179.2 NS	0.21 NS	166.8 NS	97.4 NS	13.1 NS	325.1 NS	0.40 NS	0.36 NS	1.9 NS
C x D	6	151.9 NS	0.08 NS	663.7 NS	441.7 NS	4.9 NS	78.7 NS	0.59 NS	0.17 NS	3.2 NS
A x B x C	15	644.4 **	0.23 NS	1190.8 **	556.0 **	10.1 NS	638.6 **	0.99 **	0.46 *	7.8 **
Error		217.3	0.24	404.4	216.7	9.62	220.2	0.38	0.25	2.96
CV		34.95	18.45	54.86	54.16	241.53	69.71	36.32	35.13	31.37
Media		59.4	13.20	42.48	31.34	1.27	24.89	2.05	1.59	5.81

Significancia ** al 0.01 y * al 0.05 de probabilidad, NS= No significativo; FV= Factor de variación; GL=Grados de libertad; HR=Humedad relativa; 1CG=Primer conteo germinación; HS= Humedad de la semilla; PN=Plántulas normales; PA= Plántulas anormales; SM= Semillas muertas; SD=Semillas duras; LMH=Longitud media de hipocótilo; LMR=Longitud media de radícula; PS= Peso seco; cm= centímetros; mg/p= miligramos por planta.

Cuadro 6. ANOVA de las variables evaluadas en semillas de *Pinus greggii* tratadas con fungicidas y almacenada bajo dos ambientes de humedad relativa durante 180 días.

FV	GL	1CG (%)	HS (%)	PN (%)	PA (%)	SD (%)	SM (%)	LMH (cm)	LMR (cm)	PS (mg/p)
HR (A)	1	3025.1 **	1882.7 **	1627.3 **	1372.2 **	0.78 NS	5945 **	39.1 **	27.4 **	170.5 **
Tiempo (B)	6	1187.6 **	50.7 **	1521.5 **	2051.4 **	52.54 **	1317 **	103.8 **	34.8 **	311.4 **
Fungicida (C)	3	375.4 **	15.6 **	3991.9 **	1098.9 **	10.6 **	8638 **	5.49 **	6.6 **	20.6 **
Dosis (D)	2	46.6 NS	0.26 NS	217.9 NS	3.7 NS	2.3 NS	183 NS	1.0 NS	0.45 NS	2.7 NS
A x B	6	112.4 **	15.6 **	520.6 **	1310.2 **	15.3 **	1362 **	6.17 **	3.94 **	6.8 NS
A x C	3	84.0 *	0.16 NS	306.0 NS	222.2 NS	0.13 NS	1006 **	4.0 *	4.32 **	29.8 **
B x C	15	67.1 **	0.32 NS	211.4 NS	318.2 **	3.9 NS	270 *	2.0 *	1.6 **	10.2 **
A x D	2	18.4 NS	0.09 NS	30.2 NS	60.2 NS	0.28 NS	18 NS	0.77 NS	0.33 NS	3.8 NS
B x D	12	30.6 NS	0.05 NS	141.8 NS	59.2 NS	3.5 NS	120 NS	0.59 NS	0.48 NS	2.0 NS
C x D	6	48.9 *	0.13 NS	237.0 NS	19.9 NS	3.2 NS	288 NS	1.1 NS	1.26 NS	8.6 *
A x B x C	15	91.1 **	0.39 NS	234.4 *	148.5 NS	2.8 NS	290 *	5.1 **	2.95 **	12.34 **
Error		22.4	0.25	130	109.2	2.77	153	1.15	0.62	3.78
CV		109.07	19.67	82.21	50.8	239.7	40.99	60.81	53.73	49.03
Media		11.32	10.29	22.17	25.54	0.77	51.51	2.55	2.01	5.63

Significancia ** al 0.01 y * al 0.05 de probabilidad, NS= No significativo; FV= Factor de variación; GL=Grados de libertad; HR=Humedad relativa; 1CG=Primer conteo germinación; HS= Humedad de la semilla; PN=Plántulas normales; PA= Plántulas anormales; SM= Semillas muertas; SD=Semillas duras; LMH=Longitud media de hipocótilo; LMR=Longitud media de radícula; PS= Peso seco; cm= centímetros; mg/p= miligramos por planta.

Comparación de medias de las variables evaluadas por especie

Basado en los resultados que se obtuvieron del ANOVA de cada especie, se presentan las comparaciones de medias de las variables que presentaron diferencias significativas por fuente de variación:

Humedad relativa

En la Figura 4 se muestra la comparación de medias por HR de las variables evaluadas donde se observaron diferencias, en *P. montezumae* se obtuvieron los mayores valores para 1CG y PN al 60% de HR, al 80% se presentó una mayor cantidad en SD y SM; para ambas especies al 80% de HR la HS fue mayor, así como las SM. Para *P. greggii* al 60 % de HR se obtuvieron los más altos valores en 1CG, PN, PA, LMH, LMR y PS.

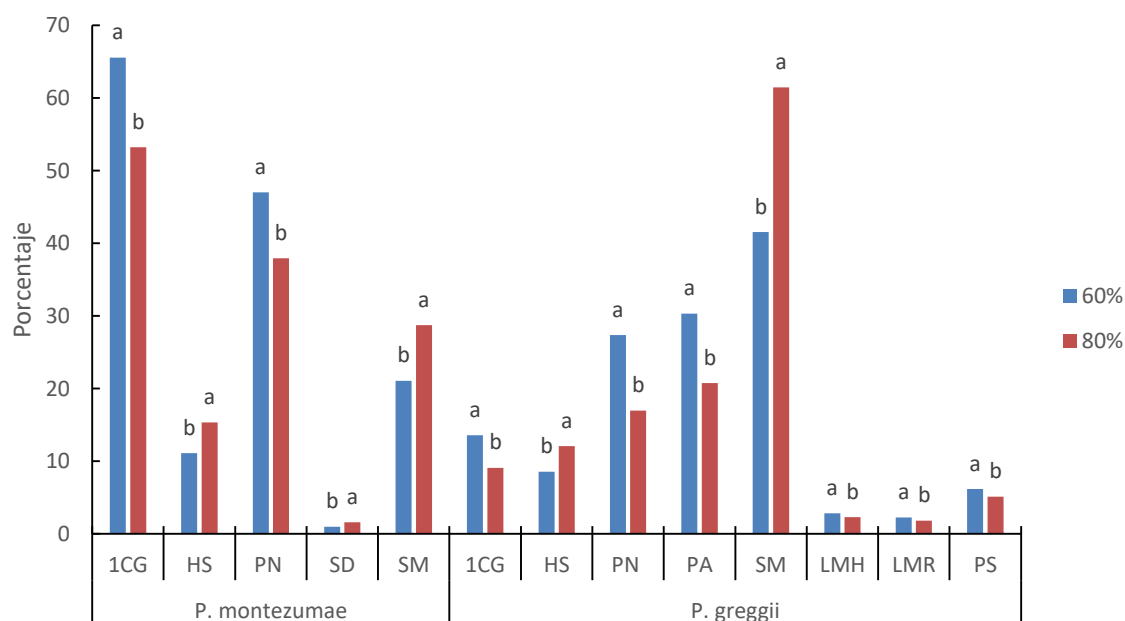


Figura 4. Comparación de medias por especie de las variables con diferencias significativas para la fuente de variación HR evaluadas en semillas de *Pinus montezumae* y *P. greggii* tratadas con fungicidas y almacenada bajo dos ambientes de humedad relativa durante 180 días. Medias con diferente letra son

significativamente diferentes (Tukey $P < 0.05$); 1CG= primer conteo de germinación; HS= humedad de la semilla; PN= plántulas normales; PA= plántulas anormales; SD= semillas duras; SM= semillas muertas; LMH= longitud media de hipocotilo; LMR= longitud media de radícula; PS= peso seco.

De ambas especies *P. greggii* se vio más afectada al presentar mayor variabilidad en los parámetros observados, como los que denotan el tamaño de sus plántulas (LMH y LMR), ya que al 80% de HR fueron de menor tamaño, por ende la generación de biomasa presentada a esta HR también fue menor (PS).

Tiempo de almacenamiento

Durante el tiempo de almacenamiento las dos especies presentaron diferencias significativas en todas las variables, lo que indica los cambios que sufrieron las semillas durante los días de almacén, como se observa en la Figura 5, donde también se muestra el deterioro acelerado de *P. greggii*, ya que variables como 1CG, PN y PS, descendieron en menor tiempo en comparación con la otra especie; la presencia de SM incrementó gradualmente al transcurso de los días, PA se mantuvieron en un rango intermedio y el comportamiento de LMH y LMR fue similar en ambas especies, aminorando al transcurso del tiempo el tamaño de las plántulas.

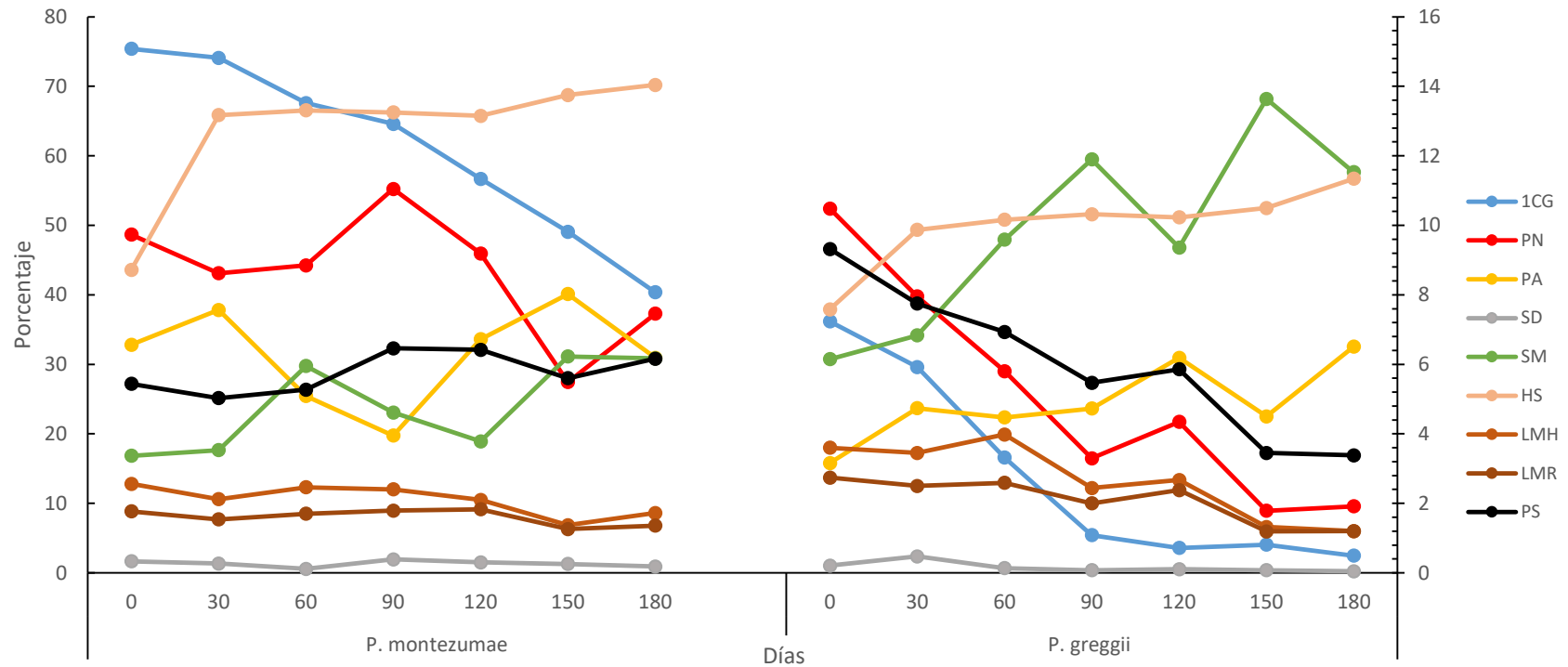


Figura 5. Efecto del tiempo de almacenamiento por especie en las variables evaluadas en semillas de *Pinus montezumae* y *P. greggii* tratadas con fungicida y almacenadas bajo dos HR por 180 días; 1CG=Primer conteo germinación; HS= Humedad de la semilla; PN=Plántulas normales; PA= Plántulas anormales; SM= Semillas muertas; SD=Semillas duras; LMH=Longitud media de hipocótilo; LMR=Longitud media de radícula; PS= Peso seco; cm= centímetros; mg/p=miligramos por plántula.

Fungicida

Las variables que presentaron diferencias significativas para *P. montezumae* fueron HS, PN y SM (Figura 6), para HS y SM se observa que entre los fungicidas formaron un mismo grupo estadístico en comparación al testigo el cual fue inferior en relación a estos parámetros, en PN el testigo fue quien generó la mayor cantidad; la especie *P. greggii* se comportó igual que la anterior en las variables HS, PN y SM, para 1CG, PA, LMH, LMR y PS las diferencias fueron entre los tratamientos y el testigo, ya que este superó a los fungicidas en todas las variables.

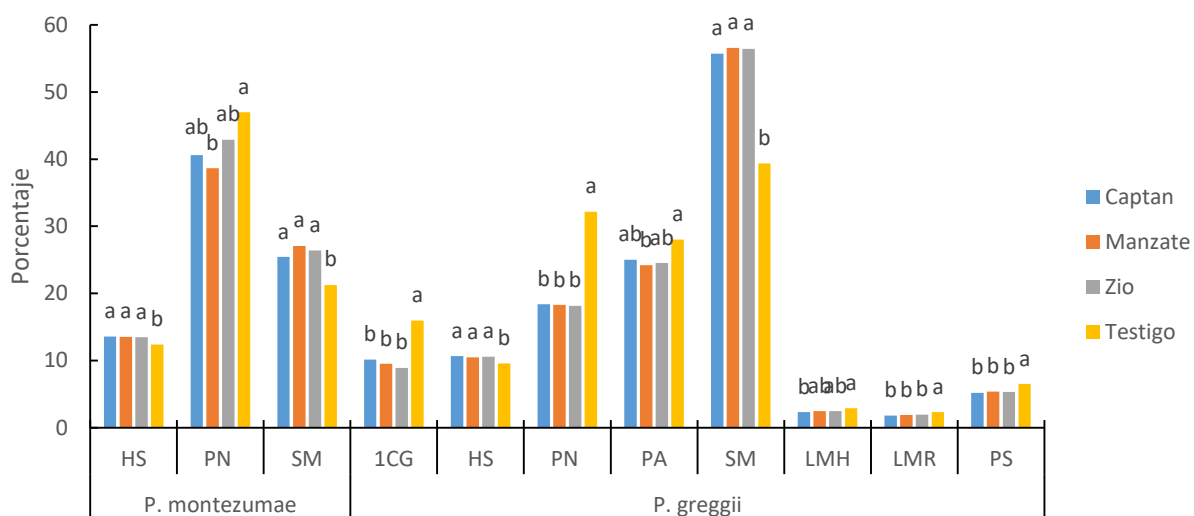


Figura 6. Comparación de medias por especie de las variables que presentaron diferencias significativas para la fuente de Fungicidas evaluadas en semillas de *P. montezumae* y *P. greggii* almacenadas a 60 y 80% de HR durante 180 días. Medias con diferente letra son significativamente diferentes. (Tukey $P < 0.05$); 1CG= primer conteo de germinación; HS= humedad de la semilla; PN= plántulas normales; SM= semillas muertas; LMR= longitud media de radícula; PS= peso seco; cm=centímetro; mg/p= miligramos por plántula.

Comportamiento de *Pinus greggii* Engelm y *Pinus montezumae* Lamb para las variables de calidad sanitaria

Semillas libres de hongos

Los análisis por especie para esta variables se muestran en el Cuadro 7, para la especie *P. montezumae* las diferencias fueron altamente significativas para todas la fuentes de variación; para *P. greggii* en los factores de variación HR y Dosis no existieron diferencias denotando que la semilla presento el mismo comportamiento en ambas humedades y con las diferentes dosis.

En las interacciones se observa que HR* Tiempo fue altamente significativa para ambas especies, HR*Fungicida solo para *P. montezumae*, en Tiempo*Fungicida fue altamente para *P. greggii* y significativa para *P. montezumae*; HR*Dosis, Tiempo*Dosis y Fungicida*Dosis no existieron diferencias significativas, para HR*Tiempo*Fungicida fue alta en *P. greggii* y significativa para *P. montezumae*.

Cuadro 7. Análisis de significancia de la variable semillas libres de hongos (SLH) evaluadas en calidad sanitaria en semillas de *P. greggii* y *Pinus montezumae* tratadas con fungicidas y almacenadas bajo dos ambientes de humedad relativa durante 180 días.

SLH (%)			
FV	GL	<i>P. montezumae</i>	<i>P. greggii</i>
HR (A)	1	672.2 **	162.0 NS
Tiempo (B)	6	1867.6 **	1565.5 **
Fungicida (C)	3	1915.2 **	1420.2 **
Dosis (D)	2	560.7 **	130.9 NS
A x B	6	329.9 **	412.6 **
A x C	3	1083.6 **	43.4 NS
B x C	15	169.9 *	191.5 **
A x D	2	24.2 NS	48.7 NS

SLH (%)			
FV	GL	<i>P. montezumae</i>	<i>P. greggii</i>
B x D	12	43.8 NS	43.5 NS
C x D	6	110.0 NS	27.1 NS
A x B x C	15	175.8 *	387.0 **
Error		88.2	51.1
CV		10.92	8.53
Media		87.89	91.5

Significancia ** al 0.01 y * al 0.05 de probabilidad; FV= Factor de variación; HR= Humedad relativa; GL=Grados de libertad; SLH= Semillas libres de hongos.

Genero de hongos

Los géneros de hongos identificados durante el tiempo de almacenamiento de las semillas de *P. greggii* y *P. montezumae* fueron: *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Alternaria* spp. y *Rizhopus* spp.

Comparación de medias por fuente de variación para SLH e incidencia de GH **Humedad relativa**

P. montezumae al 60% HR presentó una media de 86.01% de SLH como se muestra en la Figura 7, al 80% HR fue de 89.78%, en la comparación entre especies *P. greggii* fue quien generó la mayor cantidad de semillas libres en ambos ambientes con 90.92% y 92.07% al 60 y 80% de HR respectivamente, sin embargo la mayor cantidad de SLH fue al 80% de HR tanto en *P. greggii* como en *P. montezumae*.

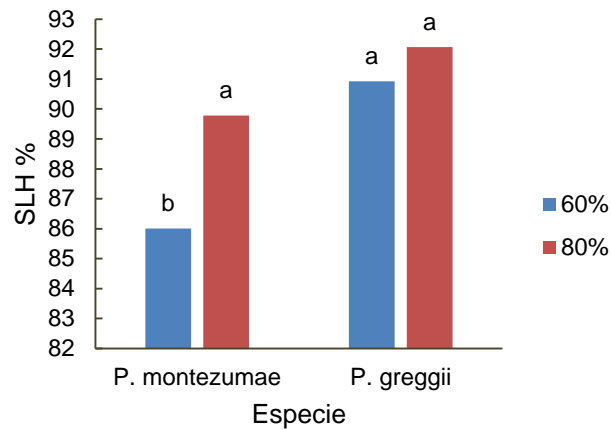


Figura 7. Comparación de medias para *P. greggii* y *P. montezumae* en la variable de calidad sanitaria semillas libres de hongos (SLH), para la fuente de variación humedad relativa. Medias con diferente letra son significativamente diferentes. (Tukey $P < 0.05$).

Para GH por especie las incidencias fueron similares para los géneros *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. y *Alternaria* spp. en ambas especie, donde *Fusarium* spp. se desarrolló igual en ambas humedades; *Penicillium* spp. se presentó mayormente en la HR del 80% y *Alternaria* spp. fue al 60% al igual que *Rizhopus* spp. en *P. greggii* (Figura 8).

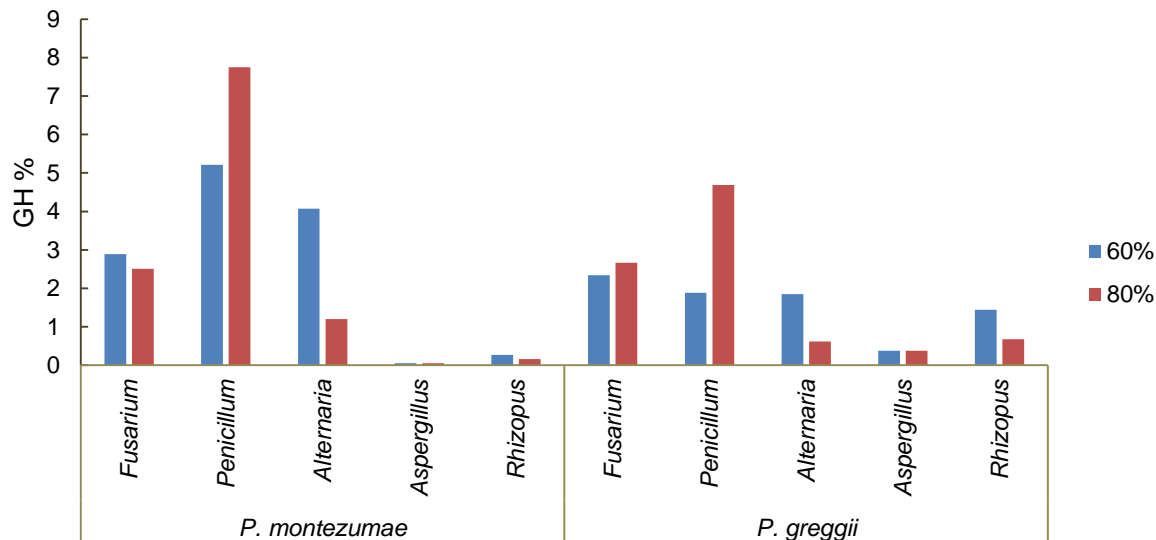


Figura 8. Incidencia de géneros de hongos en semillas de *P. montezumae* y *P. greggii* tratadas con fungicidas y almacenadas a 180 días para la fuente de variación humedad relativa.

Tiempo de almacenamiento

La aplicación de fungicidas en las semillas suprimió el desarrollo de los hongos para ambas especies, la cantidad se redujo después de los 30 días, por ende la cantidad de SLH aumentó, alcanzando promedios entre 86 a 93.83%, cuando al inicio del almacenamiento (día 0) la media fue entre 60 y 66% (Figura 9).

En *P. montezumae* la presencia de *Fusarium* spp. y *Penicillium* spp. fue similar oscilando entre 1.66-3.66% y 4.33-10% respectivamente durante los 180 días de almacenamiento; *Aspergillus* spp. se presentó hasta los 120 y 150 días con el 0.16%; para *Alternaria* spp. la incidencia disminuyó de 26.66% a los 0 días a 1.50% a los 180 días; la presencia de *Rizhopus* spp. fue en descenso mostrándose al inicio con 3.33% y a los 80 días con el 0.66%.

P. greggii mostro una incidencia para *Fusarium* spp. entre 1.33-4.66%; la presencia de *Penicillium* spp. disminuyó de manera gradual de 16.66 a los 0 días hasta 1.08 en el penúltimo monitoreo, *Alternaria* spp. mostró un comportamiento

similar en un rango menor que fue de 3.33 a 0.066%; *Apergillus* spp. fue de un 10% de incidencia hasta el 0% a los 180 días al igual que *Rizhopus* spp. en un porcentaje de 3.33 a 0.16%.

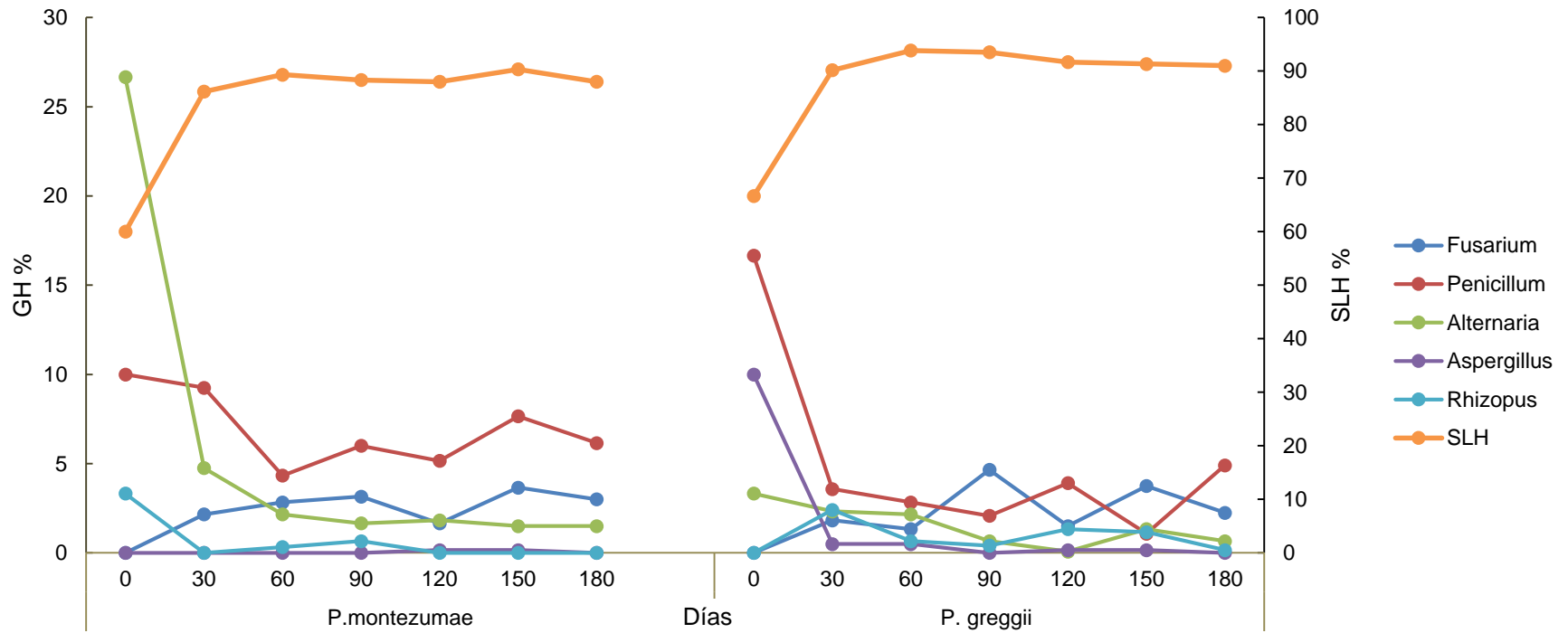


Figura 9. Efecto del tiempo de almacenamiento en las variables semillas libres de hongos (SLH) y género de hongos (GH) para semillas de *P. greggii* y *P. montezumae* tratadas con fungicidas y almacenadas por 180 días a dos humedades relativas. Medias con diferente letra son significativamente diferentes (Tukey $P < 0.05$).

Fungicida

Para SLH en *P. montezumae* los valores más altos se obtuvieron en los fungicidas Captan (94.72%) y Manzate (91.94%), seguido de Zio (86.11%), siendo el testigo el que obtuvo los valores más bajos con 64.52% (Figura 10), en *P. greggii* los tres fungicidas (Captan, Manzate y Zio) formaron un mismo grupo estadístico con valores entre 92.5 y 95% presentando más SLH comparativamente al testigo quien indujo la menor cantidad (70%).

En GH la aplicación de los fungicidas disminuyó la incidencia de todos los géneros, la Figura 10 muestra que para ambas especies los géneros *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. y *Alternaria* spp. mostraron valores menores en comparación con el testigo quien presentó los valores más altos en la incidencia de géneros; *Aspergillus* spp en *P. greggii* tuvo el mismo comportamiento, sin embargo para *Rizhopus* spp. la presencia fue igual entre los tratamientos y el testigo en las dos especies.

Dosis

En *P. montezumae* las SLH indujeron más variación disminuyendo de manera gradual de dosis alta, media y baja a testigo, con cantidades de 93.61, 90.92, 88.24 y 64.52% respectivamente; para *P. greggii* entre las dosis no hubo diferencias entre las medias las cuales se mantuvieron en un rango de 92.87-95.46%; en esta fuente de variación al igual que en fungicidas se presentó la mayor cantidad de incidencia de géneros en el testigo.

Para la incidencia de GH el comportamiento fue similar a la aplicación de los tratamientos con fungicidas ya que las dosis (alta, media y baja) aminoraron la incidencia de hongos y el testigo en ambas especies fue el que presentó los mayores porcentajes; donde el género que se desarrolló en mayor cantidad para ambas especies fue: *Penicillium* spp. con rangos de 16.42-18.6 %, seguido de *Fusarium* spp. 6.66-7.61%, *Alternaria* spp. 2.73-8.45%, *Rizhopus* spp. 0.49-1.54 y *Aspergillus* spp. con 0.23-1.9% (Figura 11).

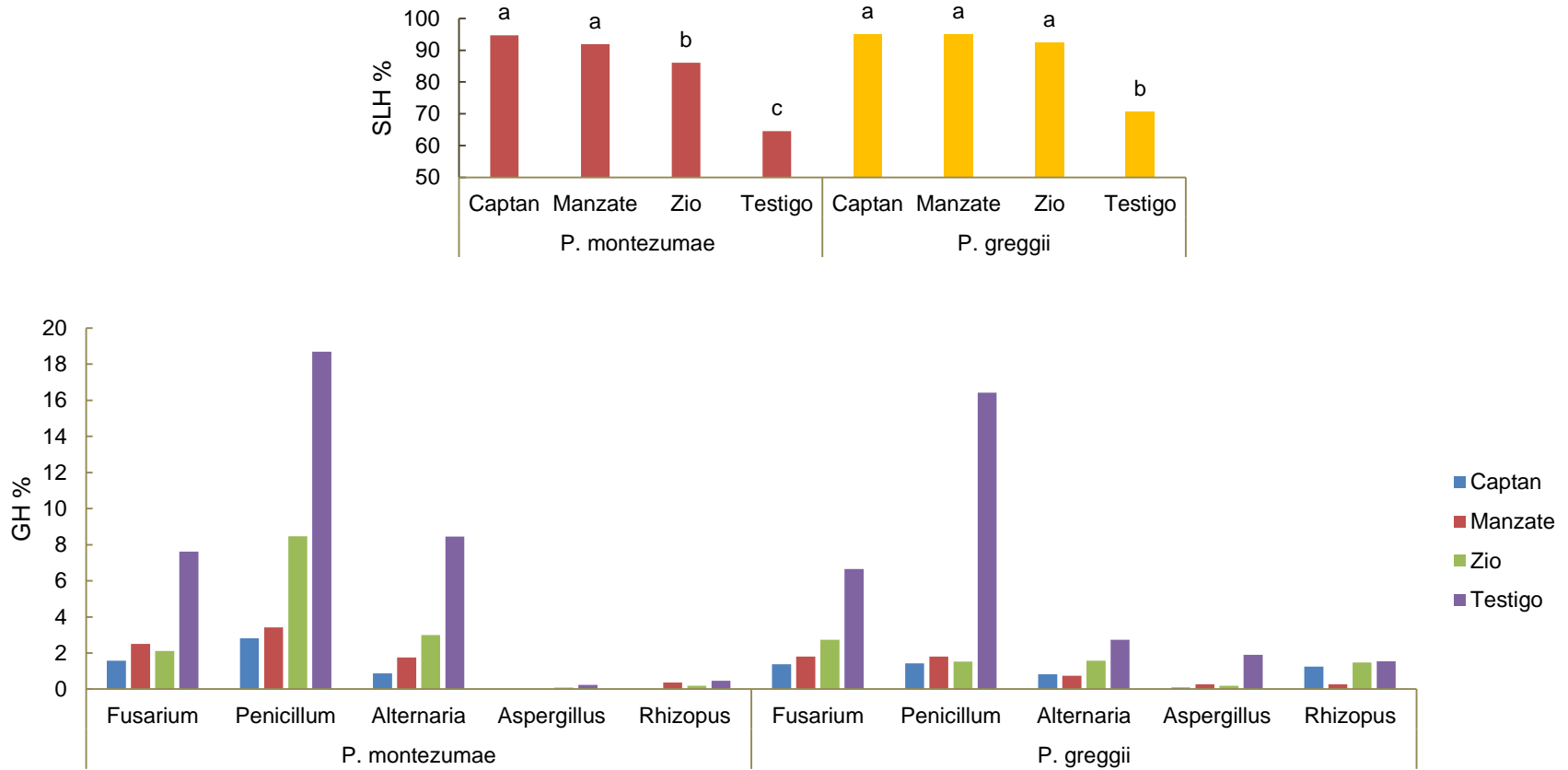


Figura 10. Comparación de medias para la variable semilla libre de hongos (SLH) e incidencia de género de hongos (GH) por especie (*P. greggii* y *P. montezumae*) para la fuente de variación fungicidas. Medias con diferente letra son significativamente diferentes (Tukey $P < 0.05$).

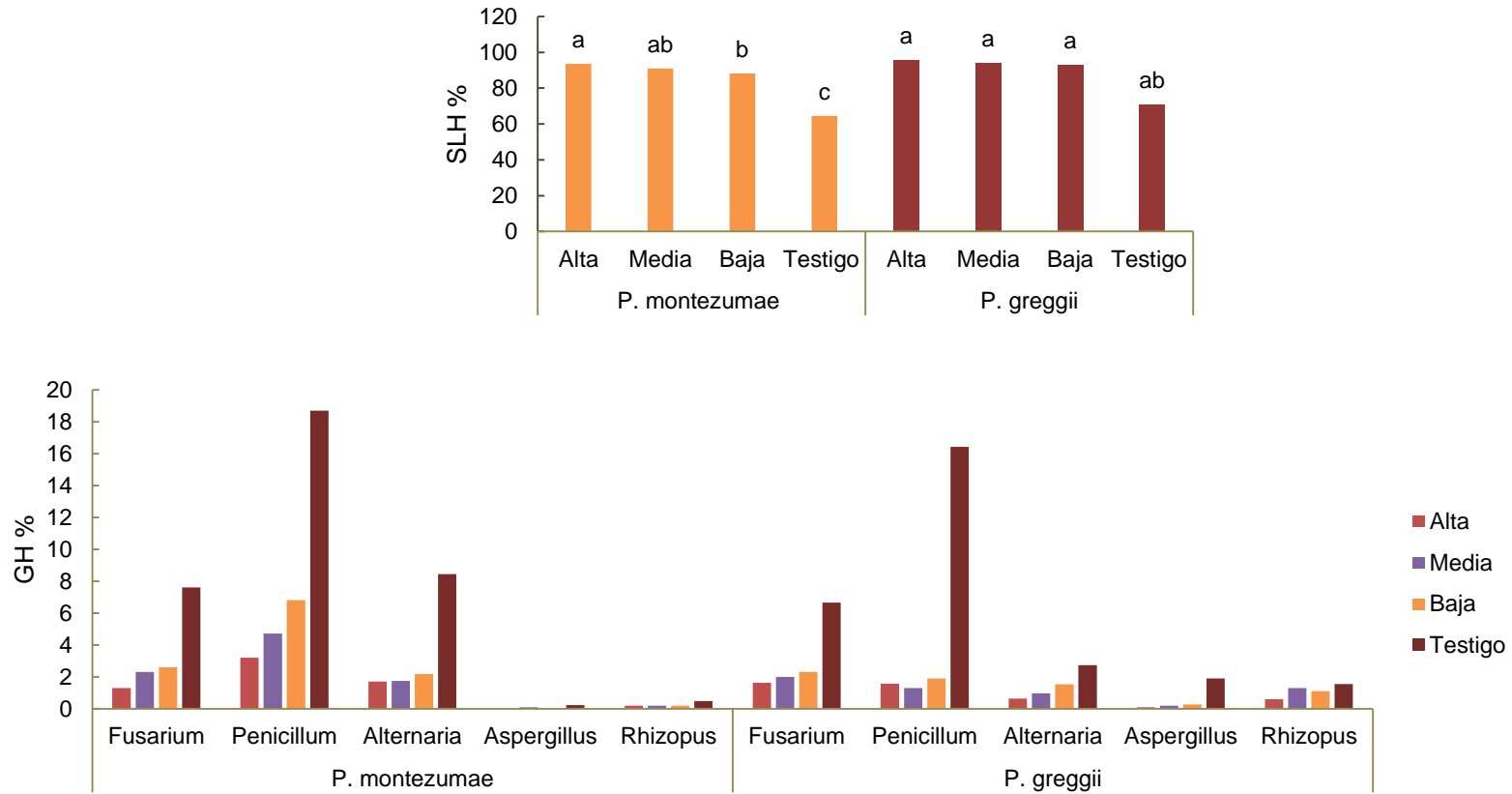


Figura 11. Comparación de medias por especie (*P. montezumae* y *P. greggii*) para la variable de calidad sanitaria semilla libre de hongos (SLH) e incidencia de género de hongos (GH) en la fuente de variación dosis. Medias con diferente letra son significativamente diferentes (Tukey $P < 0.05$).

Entre especies *P. montezuma* alcanzo los mayores valores en las variables 1CG, HS, PN, PA, SD y PS en comparación con *P. greggii* quien fue superior en SM, LMH y LMR. El comportamiento entre las dos especies fue diferente, mientras que *P. montezuma* germinó más rápido y obtuvo la mayor cantidad de PN en *P. greggii* se observó un efecto de los tratamientos y el ambiente al generar una mayor cantidad de SM y menos PN aunque de mayor tamaño, sin embargo en biomasa las plántulas de *P. montezuma* fueron superiores.

La humedad de la semilla en *P. greggii* fue de 10.29% y 22.17% de PN, en *P. montezumae* la media fue de 13.20% y 42.48% de PN, las condiciones a las que fueron sometidas las semillas (60 y 80% de HR, temperatura de 5 °C y tratamiento químico) disminuyeron los parámetros de importancia como la generación de plántulas normales.

Al 60% de HR se obtuvieron los valores más altos en 1CG y PN, mayor tamaño y biomasa de las plántulas (LMH, LMR y PS).

La HS está en función directa de la humedad relativa y temperatura ambiental, al tener la capacidad de ceder o ganar humedad de acuerdo a las condiciones ambientales (Delouche,1972), este parámetro influye en el desarrollo de organismos que afectan la calidad de la semilla, al 80% de HR se alcanzó la mayor una media de 15.31 y 12.06% para *P. montezumae* y *P. greggii* respectivamente, además en este ambiente también se contabilizaron más SM, debido a la alta humedad del almacenamiento la semilla tuvo la facilidad de perder su viabilidad (Toole, 1950).

Los resultados para la fuente de variación tiempo ponen de manifiesto el efecto que causa sobre la calidad de las semillas, ya que en ambas especies la HS fue aumentado con promedios de 8.72% a los 0 días hasta 14.04% a los 180 días y de 7.58 a 11.34% para *P. montezumae* y *P. greggii* repectivamente; a los 0 días hubo más cantidad de PN que disminuyeron al trascurso de los días de 48.67% a 37.38 para *P. montezumae* y en *P. greggii* fue de 52.40 a 9.58% a los 180 día; las PA se mantuvieron con medias en *P. montezumae* de 31.34% y 25.54% en *P.*

greggii: las SM aumentaron al paso del tiempo de 16.84% a los 0 días hasta 30.86% a los 180 días en *P. greggii* el incremento fue de 30.75 a 57.65%; en los primeros muestreos (0, 30 y 60 días) se presentó la mayor LMH y LMR; la presencia de SD fue constante entre 0.22 a 2.37% en ambas especies y el PS disminuyó en forma gradual en *P. greggii* de 9.32 a 3.38 mg/p, para *P. montezumae* la variación fue menor con un rango entre 5.03 y 6.46 mg/p. Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con lo reportado por Blandón (2004), quién menciona que la pérdida de la viabilidad de la semilla es dada por los periodos de almacenamiento y las condiciones de humedad relativa y temperatura presentes en el almacén, así también se han realizado investigaciones en semillas de *Pinus* almacenadas las cuales se vieron afectadas durante el almacenamiento a largo plazo, perdiendo vitalidad por el aumento de daños fisiológicos (Hilli *et al.*, 2003; Du Hyun *et al.*, 2018).

Respecto al factor fungicida, para las dos especies *P. greggii* y *P. montezumae*, se observó que HS con la aplicación de los tratamientos aumentó en un promedio de 10.56% y de 13.52%, por el contrario el testigo fue quien mantuvo la menor humedad con una media de 9.59% y 12.37% respectivamente, en la variable PN resultó el que obtuvo los mayores valores fue el testigo con un promedio de 47.00% en *P. montezumae* y en *P. greggii* con 32.18%, cuando las semillas fueron tratadas químicamente no existieron diferencias formando un mismo grupo estadístico, éstos resultados difieren a lo observado por Huang *et al.*, (2017) quienes realizaron tratamientos con fungicidas en semillas almacenadas de *Tripsacum dactyloides* L. encontrando que el tratamiento de la semilla a base de la combinación de Piraclostrobina y Fluxapyroxad tuvo el mejor control de los contaminantes fúngicos en las semillas y el mayor porcentaje final de germinación (PN) en las pruebas de laboratorio. En SM la mayor cantidad se observó en las semillas con tratamiento en un rango de 21.27 a 27.07% en *P. montezumae*, para *P. greggii* con tratamientos la media fue de 56.24, en cambio para el testigo fue 39.34%; en LMH, LMR y PS no hubo diferencias entre los

tratamientos y el testigo en *P. montezumae*, sin embargo en *P. greggii* los mayores valores de LMH, MLR y PS los generó el testigo, éstos resultados coinciden con Valencia (2007) quien realizó un estudio de fungicidas sobre semillas de *Pinus pseudostrobus* considerando que el tratamiento con fungicida fue innecesario, ya que el testigo no tuvo incidencia de hongos y en germinación fue mejor; para las dos especies entre dosis no hubo diferencias, todas las dosis (Alta, Media y Baja) se comportaron igual.

Los géneros de hongos identificados (*Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Alternaria* spp. y *Rizhopus* spp.) en las semillas de *P. greggii* y *P. montezumae* repercuten en la calidad fitosanitaria ya que han sido reportados como causantes de pudriciones, muerte de plántulas y reducción de crecimiento (Borges y Urdaneta, 2010; Lee, 2011; Arguedas, 2011).

La especie con la mayor cantidad de semillas libres de hongos (SLH) con el 91.5% fue *P. montezumae* en *P.greggii* la media fue de 87.89%; para la variable géneros de hongos (GH), la incidencia de *Fusarium* spp. fue igual para ambas especies, *Penicillium* spp. y *Alternaria* spp. se presentaron con mayor frecuencia en *P. montezumae* y para *Aspergillus* Spp. y *Rizhopus* Spp. *P. greggii* fue quien mostró valores más altos. Los géneros identificados en ambas especies en los ambientes de 60 y 80% de HR durante los 180 días coinciden con la información de varios autores (Guerra et al., 2004; Campo-Aranda et al., 2014) sobre la micobiota en semillas de especies forestales.

Las SLH por HR se presentaron en mayor cantidad para la HR del 80% con 89.78 al 60% fue de 86.01% en *P. montezumae*, en *P. greggii* no hubo diferencias entre las medias (90.92-92.07%); para los géneros *Fusarium* spp. y *Aspergillus* spp. la HR no fue un factor que diferenciara su desarrollo, en cambio para *Penicillium* spp. su mayor incidencia se dio al 80% de HR, al 60% de HR los generos que se desarrollaron en mayor cantidad fueron: *Alternaria* Spp. y *Rizhopus*. En referencia a la HR, Catón et al. (2011) establecen que la actividad biológica de diversas cepas de hongos incrementa cuando están en un rango de

81-92%. En *Brassica* spp. (Suma *et al.*, 2013) encontraron que la viabilidad de las semillas y los parámetros de vigor de las plántulas se redujeron cuando fueron sometidas a una HR alta (75%), estos resultados coinciden con encontrado en este estudio, respecto al género *Penicillium* spp. donde se observó que al 80% de HR la incidencia de hongos de éste género fue mayor con respecto a 60% de HR en ambas especies estudiadas; *Alternaria* spp. ploriferó más a humedades relativas de 60%.

Durante el tiempo de almacenamiento en el primer muestreo se presentó para *P. montezumae* el 60.00% de SLH, en *P. greggii* fue de 66.66%; a partir de los 30 días el porcentaje se mantuvo entre el 88.16 a 93.83% en ambas especies. En GH *Fusarium* spp. no presentó en el primer monitoreo, sin embargo a partir de los 30 días su incidencia incremento en un rango de 1.33 a 4.66%, para *P. montezumae* *Penicillium* spp. (10-6.16%), *Alternaria* spp. (26.66-1.5%) y *Rizhopus* spp. (3.33-0.66%) se redujeron gradualmente, *Aspergillus* solo se presentó a los 120 y 150 días con el 0.16%; en *P. greggii* el comportamiento de los hongos fue similar *Penicillium* spp. se aminoró de 16.66 a 4.91%, *Aspergillus* spp. de 10.0 a 0.0%, *Alternaria* spp. y *Rizhopus* spp. de 3.33 a 0.66% y 3.33 a 0.16% respectivamente; *Fusarium* spp., un hongo clasificado como de campo de campo estuvo presente durante el almacenamiento en ambas especies este género de hongos presentes en la semilla almacenada ocasiona que la calidad de la planta disminuya, ya que daña al embrión antes de germinar y ocasiona necrosis de hipocótilo y cotiledones (Peterson, 2008; Solano y Brenes, 2012).

Aunque existieron diferencias significativas para fungicidas y dosis el comportamiento en SLH y GH fue similar, en SLH los fungicidas y las dosis formaron un mismo grupo estadístico entre el cual no existieron diferencias siendo solo con el testigo; la incidencia de hongos se redujo con la aplicación de tratamiento químico; con respecto a GH los fungicidas disminuyeron la presencia de géneros, siendo *Penicillium* spp el que más se expresó en las semillas sin tratamiento para las dos especies y humedades relativas.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos referentes a las variables evaluadas se concluye que:

Para ambos lotes de semillas el testigo generó mejores resultados respecto a la variable más importante plántulas normales, la especie que generó mayor cantidad fue *P. montezumae* y las condiciones para ambas especies fueron; humedad relativa al 60%, en tiempo fue en el primer muestreo (0 días), y para fungicidas el mejor fue el testigo con la mayor cantidad de plántulas normales.

Durante el tiempo de almacenamiento en *P. greggii* y *P. montezumae* la cantidad de plántulas normales, las dimensiones de las plántulas y el peso seco se redujeron al transcurso de los días, la aplicación de fungicidas a las semillas de éstas dos especies no causaron efectos en su conservación.

En longevidad *P. greggii* presentó una pérdida gradual de calidad desde los 30 días, en *P. montezumae* fue mayor al presentar estabilidad al transcurso del tiempo sin embargo a los 90 días la curva de plantas normales empezó a decaer. Los géneros de hongos identificados durante el almacenamiento de las semillas de estas especies fueron: *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp. y *Rizhopus* spp., aunque a partir del segundo monitoreo la incidencia de estos géneros disminuyó también se redujo la cantidad de plántulas normales.

Para las semillas de las especies utilizadas en esta investigación las condiciones de almacenamiento y el tratamiento con fungicida no causaron efectos positivos sobre las variables evaluadas ya que la mayor cantidad de plántulas normales se obtuvieron en los testigos al transcurso del tiempo de almacén.

REFERENCIAS

- Abdullah, S.K. and Al-Mosawi. 2010. Fungi associated with seeds of sunflower (*Helianthus annuus*) cultivars grown in Iraq. *Phytopathologia*. 57:11-20.
- Abiyu, A., D. Teketay, G. Glatzel and G. Gratzner. 2016. Seed production, seed dispersal and seedling establishment of two afro-montane tree species in and around a church forest: implications for forest restoration. *Forest Ecosystems*. 3:16.
- Adama 2016. Ficha técnica fungicidas Captan WG. 3p. Disponible en: https://www.adama.com/documents/369693/370573/CAPTAN+80+WG+FT+2014_tcm58-25911.pdf
- Agarwal, V. K. y J.B Sinclair. 1987. Principles of seed pathology. Vol. I y II. CRC Press. Inc. Boca Ratón, Florida, USA.
- Aleksandrowicz-Trzcinska, M., A. Boqusiewicz y M. Szkop. 2015. Efecto del quitosan en el control de enfermedades del pino silvestre (*Pinus sylvestris* L.) en un vivero forestal. *ProQuest SciTech*. 6(12): 3165:3176.
- Arguedas, M. 1997. Plagas de semillas forestales en America Central y el Caribe. Turriiba. CATIE. 120p.
- Arguedas, M. 2011. Problemas fitosanitarios en teca (*Tectona grandis* L.F.) en América Central. Pp: 147-160. In: Protección fitosanitaria forestal. Chavarriaga, D.M. (ed.). ICA, Colombia. 386p.
- Arriagada, V. 1989. Semillas: Inspección, análisis, tratamiento y legislación. Disponible en: <http://repiica.iica.int/docs/BV/AGRIN/B/F03/XL2000600205.PDF>
- Berbegal, M., E. Landeras, D. Sánchez, P. Abad-Campos, A. Perez-Sierra and J. Armengol. 2015. Evaluation of *Pinus radiata* seed treatments to control *Fusarium circinatum*: effects on seed emergence and disease incidence. *Forest Pathology*. 45 (6):525-533.
- BGCI, 2014. Plantas para el planeta - Plan quinquenal 2013-2018. Botanic Gardens Conservation International. <http://www.bgci.org>
- Blandón, H. H.B. 2004. Tratamiento químico para la preservación de semilla de maíz almacenada bajo condiciones de deterioro. Tesis Maestría. UAAAN. Saltillo, Coahuila México.

- Bonnesoeur, V., B. Locatelli, M. Guariguata, B. Ochoa-Tocachi, V. Vanacker, Z. Mao, A. Stokes and S. Mathez-Stiefel. 2019. Impacts of forests and forestation on hydrological services in the Andes: A systematic review. *Forest Ecology and Management*. 433:569-584.
- Borges, J. y J. Urdaneta. 2010. Efecto de *Fusarium* spp. en la germinación, fenología y supervivencia de plántulas de *Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit. *Agronomía Tropical*. 60:155-160.
- Bozzano, M., R. Jalonen, E. Thomas, D. Boshier, L. Gallo, S. Cavers, S. Bordács, P. Smith and J. Loo. 2014. Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *State of the World's Forest Genetic Resources – Thematic Study*. FAO/Biodiversity International 281 p.
- Campo-Aranda, R.O., N. Urango-Esquivel y M.M. Espitia-Camacho. 2014. Hongos asociados a la semilla de seis forestales nativos, cultivados en el departamento de Córdoba. *Fitopatología Colombiana*. 38:27-30.
- Captán Technical Fact Sheet. 2002. National Pesticide Information Center (NPIC). Disponible en: <http://npic.orst.edu/factsheets/archive/captantech.pdf>
- Captán. 2010. The Regulatory Evaluation of the Skin Effects of Pesticides. ScienceDirect. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/nursing-and-health-professions/captan>
- Catón, O., R. Alatorre, R. Valdivia, A. Catón, R. Torres y G. Santiago 2011. Efecto de la temperatura y humedad relativa sobre el desarrollo de los hongos entomopatógenos. *BioCiencias*. 1(2):42-53.
- Chirstin, Z. L., K. Bagstad and M. Verdone. 2016. A decision framework for identifying models to estimate forest ecosystem services gains from restoration. *Forest Ecosystems*. 3:3.
- CONABIO. 2011. Índice de especies. Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/indice_especies.html.
- CONABIO. 2015. Claves taxonómicas para la identificación de los pinos del noreste de México. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfH038Clave%20taxonomica.pdf>

- CONABIO. 2016. La diversidad biológica forestal en México. Disponible en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/planeta/internacional/cbd.html>.
- CONABIO. Comisión Nacional de Biodiversidad. 2018. *Pinus prieto (Pinus greggii)* Naturalista. Disponible en: <https://www.naturalista.mx/taxa/135782-Pinus-greggii>
- CONAFOR - FAO. 2011. Situación de los recursos genéticos forestales en México. Informe final de proyecto. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-be793s.pdf>
- CONAFOR. 2011. Comisión Nacional Forestal. Elementos para el diseño de la Estrategia Nacional para Reducción de Emisiones por Deforestación y Degradación forestal adicionando el Manejo Forestal Sustentable.
- CONAFOR. 2018. Bancos de germoplasma de la CONAFOR, reservorios de vida. Reforestación, perspectiva forestal. Disponible en: https://www.conafor.gob.mx/innovacion_forestal/?p=997
- CONAFOR. Comisión Nacional Forestal. 2017. Paquete tecnológico *Pinus greggii* Englem. y *Pinus montezumae* Lamb.. Disponible en: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/961Pinus%20greggii.pdf> y <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/961Pinus%20greggii.pdf>
- Delouche, J.C. 1972 Harvesting, handling and storage of soybean seed. En 1972 Proc. Short Course for Seedsmen, p. 97-122. Mississippi State, MS, Estados Unidos, Mississippi State University.
- Dias, P.J.J., J.D. Biagi, P. F. Medina and C.J. Barbedo. 2016. Fungicide and drying effects on the viability of recalcitrant seeds of *Inga vera* subsp. affinis. Tropical Plant Pathology V41:177-182
- Du Hyun, K. and H. Sim Hee. 2018. Seed coat and aging conditions affect germination and physiological changes of aging Korean pine seeds. Journal of Forest Research. 23: 372-379.
- FAO. 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Situación de los recursos genéticos forestales en México, México.
- FAO. 2015. Evaluación de los recursos forestales mundiales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Segunda edición. Roma 54p.

- Fungal control agents sorted by cross resistance pattern and mode of action. 2019. Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). Disponible en: https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2019.pdf?sfvrsn=98ff4b9a_2
- Godefroid, S., A. Van De Vyver, P. Stoffelen and T. Vanderborcht. 2017. Effectiveness of dry heat as a seed sterilisation technique: Implications for ex situ conservation. *Plant Biosystems*. 151 (6):1054-1061.
- Guerra, C., H. Cruz, I. Vila, A. Duarte y O.M. López. 2004. Principales hongos que afectan a *Pinus tropicalis* Morelet en Cuba. *Fitosanidad*. 8: 9-12.
- Haffey, C., T. Sisk, C. Allen, A. Thode and E. Margolis. 2018. Limits to Ponderosa Pine Regeneration following Large High-Severity Forest Fires in the United States Southwest. *Fire Ecology*. 14:143.
- Hilli, A., E. Tillman-Sutela and A. Kauppi. 2003. Germination of pretreated Scots pine seeds after long-term storage. *Canadian Journal of Forest Research*. 33(1): 47-53.
- Huang, W., H.S. Mayton, M. Amirkhani, D. Wang and A.G. Taylor. 2017. Seed dormancy, germination and fungal infestation of eastern gamagrass seed. *Industrial Crops and Products* 99:109-116
- IBPGR. 1976. International Board for Plant Genetic Resources. Annual Report. Consultive Group on Agricultural Research. Roma, Italia. 31p. Disponible en: https://www.biodiversityinternational.org/fileadmin/user_upload/online_library/publications/pdfs/IBPGR_AnnualReport_1976.pdf
- INTAGRI. 2017. La calidad de las semillas en cultivos hortícolas. Disponible en: <https://www.intagri.com/articulos/horticultura-prottegida/la-calidad-de-la-semilla-en-cultivos-horticolos>
- International Seed Testing Association (ISTA). 2004. Rules for Seed Testing. *Seed Sc. And Tech*. 24 (Supplement).
- International Seed Testing Association. 1996. Rules for Seed Testing. *Seed Sc. And Tech*. 24 (Supplement).
- ISTA, 2014. International Seed Testing Association. *Seed Sc. And Tech*. Switzerland, 272p. www.seedtest.org

- Keenan, R., G. Reams, F. Achard, J. V de Freitas, A. Grainger and E. Lindquist. 2015. Dynamics of global forest area: Results from the FAO Global Forest Resources Assessment 2015. *Forest Ecology and Management*. 352:9-20.
- Lee, S.S. 2011. Diseases of acacias in South-Eas Asia. In: *Protección fitosanitaria forestal*. Chavarriaga, D.M. (ed.). ICA, Colombia. 69-76p.
- Lindner, M., M. Maroschek, S. Netherer, A. Kremer, A. Barbati, J. Garcia-Gonzalo, R. Seidl, S. Delzon, P. Corona, M. Kolstrom, M. Lexer and M. Marchetti. 2010. Climate change impacts, adaptive capacity, and vulnerability of European forest ecosystems. *Forest Ecology and Management*. 259 (4):698-709.
- Maude, R.B. 1985. Erradicative seed treatment. *Seed Sci.& Technol.* 11, 907-920.
- Miura, S., M. Amacher, T. Hofer, J. San-Miguel-Ayaz and R. Thackway. 2015. Protective functions and ecosystem services of global forests in the past quarter-century. *Forest Ecology and Management*. 352:35-46.
- Moreno, M. E. 1988. *Manual para la identificación de los hongos en granos y sus derivados*. Segunda edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Ngugi, M., V. Neldner, S. Ryan, T. Lewis, J. Li, P. Norman and M. Mogilski. 2018. Estimating potential harvestable biomass for bioenergy from sustainably managed private native forests in Southeast Queensland, Australia. *Forest Ecosystems*. 5:6.
- Pacheco, C. 1988. Importancia de la patología de semillas para los programas de semillas. IX Congreso de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines. ASCOEFI. Pasto Nariño, Colombia.
- Pan, Y., K, McCullough and D. Hollinger. 2018. Forest biodiversity, relationships to structural and functional attributes, and stability in New England forests. *Forest Ecosystems*. 5:14.
- Perry, J. P., Jr. 1991. *The Pines of Mexico and Central America*. Timber Press, Oregon, United States of America. 231 p.
- Peterson, M. 2008. *Fusarium spp.*, a British Columbia perspective in forest seedling production. In: Dumroese, R. K., Riley, L. E. *National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations 2007*. Fort Collins: USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. 57: 109-125.

- Pritchard, H., J. Moat, J. Ferraz, T. Marks, J.L. Camargo, J. Nadaranjan and I. Ferraz. 2014. Innovative approaches to the preservation of forest trees. *Forest Ecology and Management*. 333:88-98.
- Programa Nacional Forestal. 2014-2018. Plan Nacional de Desarrollo. SEMARNAT. CONAFOR. México Gobierno de la Republica 148p.
- Ramírez-Herrera, C., J. Vargas-Hernández y Lopez-Upton. 2005. Distribución y conservación de las poblaciones naturales *Pinus greggii*. *Acta Botánica Mexicana*. 72:1-16.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Editorial LIMUSA. México, D.F. México 432 p.
- SAGARPA. 2016. Almacenamiento en México. Claridades agropecuarias. No. 271. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/185452/revista_271.pdf
- Salunkhe, O., P.K. Khare, R. Kumari and M.L. Khan. 2018. A systematic review on the aboveground biomass and carbon stocks of Indian forest ecosystems. *Ecological Processes*. 7: 17.
- SEMARNAT. 2009. Restauración de ecosistemas forestales. Guía básica para comunicadores. Primera edición. CONAFOR. México Gobierno Federal. Zapopan, Jalisco, México 68p.
- Sheil, D. 2018. Forests, atmospheric water and an uncertain future: the new biology of the global water cycle. *Forest Ecosystems*. 5:19.
- Sistema Nacional Inspección y Certificación de Semillas (Snics). 2018. ¿El contenido de humedad afecta la calidad de las semillas? Gobierno de México. Disponible en: <https://www.gob.mx/snics/articulos/el-contenido-de-humedad-afecta-la-calidad-de-la-semilla?idiom=es>
- Skrøppa T. and K.B. Fjellstad. 2017. Conservation of Forest Genetic Resources in Norway in a Climate Change Perspective. In: Ahuja M., Jain S. (eds) *Biodiversity and Conservation of Woody Plants. Sustainable Development and Biodiversity*, V 17 129-153
- Solano, B. M. y C. D. Brenes. 2012. Evaluación de métodos de curación de sustratos para la prevención del mal de talluelo. *Revista Forestal Mesoamericana*. Kurú 9: 63-65.

- Stanturf, J.A., B.J. Palik, R.K. Dumroese. 2014. Restauración de bosques contemporáneos: una revisión que enfatiza la función. *Forest Ecology and Management*. 331: 292–323
- Suma, A., K. Sreenivasan, K. Singh and J. Radhamani. 2013. Role of Relative Humidity in Processing and Storage of Seeds and Assessment of Variability in Storage. *The Scientific World Journal*. 2013: 1-9.
- Syngenta Agro SA de CV. 2009. Aplicación del producto Tecto 60 PH y recomendaciones de uso. Ficha técnica 4 p.
- Tecto 60. 2017. Ficha técnica. Syngenta Agro, S.A. de C.V. Disponible en: https://www.syngenta.com.mx/sites/g/files/zhg501/f/media/2019/09/09/tecto_60.p
- Terralia, Fungicidas. 2017. Información Agrícola. Ediciones Agrotécnicas SL. Disponible en: https://www.terralia.com/agroquimicos_de_mexico/view_trademark?trademark_id=10136
- Toole, E. H. 1950. Relation of seed processing and of conditions during storage on seed germination. *Proceedings of association of the international seed testing association*. 16:214-227.
- Valencia, M. Y. 2007. Tratamiento químico de semillas de *Pinus cembroides* Zucc y *Pinus pseudostrobus* Lind. almacenadas bajo tres ambientes durante 150 días. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila 88 p.
- Vargas, H., J. Jesús, Basilio Bermejo V.y F. Thomas Ledig (eds.). 2004. Manejo de Recursos Genéticos Forestales, Segunda Edición. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México, y Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jalisco.
- Velázquez, A., J.F. Mas, R. Mayorga Saucedo, J.R. Díaz, C. Alcántara, R. Castro, T. Fernández, J.L. Palacio, G. Bocco, G. Gómez Rodríguez, L. Luna González, I. Trejo, J. López García, M. Palma, A. Peralta, J. Prado Molina y F. González Medrano. 2002. Estado actual y dinámica de los recursos forestales de México. *CONABIO. Biodiversitas* 41:8-15
- Vergara, A., J. Obrador y F. Arancibia. 1969. Tratamiento de semillas. INIA, Estación Experimental La Platina. Santiago, Chile.
- Villarreal, J.A. 2009. Introducción a la botánica forestal. Tercera edición. Editorial Trillas. México, D.F. 151p.

- Wang, B S.P y T. Beardmore. 2004. Almacenamiento y manejo de germoplasma. In: Vargas H., J. Jesus, B. Bermejo y F. Thomas Ledig (eds.). Manejo de Recursos Genéticos Forestales. Segunda edición. Colegio de Posgraduados, Montecillo, México y Comisión Nacional Forestal, Zapopan, Jalisco.
- Winston, P.W. y D.H. Bates. 1960. Soluciones saturadas para el control de la humedad en la investigación biológica. *Ecología Society of America* (41): 232-237.
- Wright, J.A., A.M. Marin and W.S. Dvorak. 1996. Conservation and use of the *Pinus chiapensis* genetic resource in Colombia. 88 (8): 283-288.