

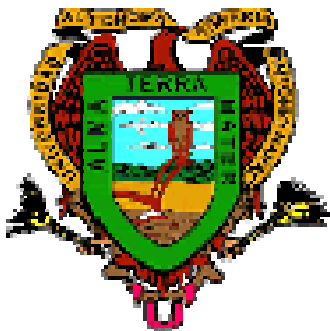
**TRATAMIENTO QUÍMICO DE SEMILLA DE *Pinus cembroides* Zucc y *Pinus pseudostrobus* Lind ALMACENADA BAJO TRES AMBIENTES DURANTE 150 DÍAS**

**YENY VALENCIA MARTÍNEZ**

**TESIS**

**Presentada como Requisito Parcial para  
Obtener el Grado de:**

**MAESTRO EN TECNOLOGÍA  
DE GRANOS Y SEMILLAS**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**“ANTONIO NARRO”**

**PROGRAMA DE GRADUADOS**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México  
Diciembre del 2007**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO**

**TRATAMIENTO QUÍMICO DE SEMILLA DE *Pinus cembroides* Zucc y *Pinus pseudostrobus* Lind ALMACENADA BAJO TRES AMBIENTES DURANTE 150 DÍAS.**

**T E S I S**

**Por**

**YENY VALENCIA MARTÍNEZ**

**Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS**

**Comité particular**

**Asesor principal:**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Mario E. Vázquez Badillo**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**M.C. Adriana Antonio Bautista**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**M.C. Federico Facio Parra**

**Asesor:**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Víctor M. Zamora Villa**

\_\_\_\_\_  
**Dr. Jerónimo Landeros Flores**  
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Diciembre del 2007

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios.** Por permitirme terminar este trabajo y por darme vida y salud.

**A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y al Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Granos y Semillas.** Por permitirme realizar y concluir mis estudios.

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).** Por el apoyo económico brindado durante los estudios de Maestría.

**A la Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales de Coahuila y al Banco de Germoplasma Vegetal “Coahuila”.** Por proporcionar la semilla y las instalaciones para realizar este trabajo.

**Al Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo.** Por la confianza depositada en mi, por sus consejos, y por la valiosa amistad que siempre me ha brindado.

**A la M.C. Adriana Antonio Bautista.** Por sus consejos y sugerencias para realizar esta investigación pero sobre todo por su amistad desinteresada.

**Al M.C. Federico Facio Parra.** Por sus sugerencias y comentarios para la elaboración de este trabajo.

**Al Dr. Víctor M. Zamora Villa.** Por su valiosa colaboración en la revisión de este trabajo.

**A mis Compañeros y Amigos:** Eloy, Ney, Juanita, Víctor Bautista, Julio, Víctor, Elena, Lupita, Sergio, Magda, Miguel, Gabriel, Toño, Zury, Felipe, José Luis, Edith, y Eduardo por los momentos agradables que convivimos

## DEDICATORIA

**A mis padres:**

**Lina y Luis**

Con respeto dedico este trabajo a quienes me han apoyado en todo momento, por la confianza y el amor que siempre me brindan.

**A mis hermanos:**

**Juanis, Reina, Luis y Samuel:** por su apoyo y consejos que siempre me dan cuando más los necesito.

**A mi cuñado Johnny:** por su amistad y consejo brindados.

**A Alejandro:** por el apoyo incondicional que me diste para concluir este trabajo, pero sobre todo por el amor, la confianza y el cariño que siempre me das.

**A mi hijo Jesús Alejandro:** por que eres el regalo más valioso y hermoso que Dios me ha dado, Te Quiero Mucho.

## COMPENDIO

### TRATAMIENTO QUÍMICO DE SEMILLA DE *Pinus cembroides* Zucc y *Pinus pseudostrobus* Lind ALMACENADA BAJO TRES AMBIENTES DURANTE 150 DÍAS.

POR

YENY VALENCIA MARTÍNEZ

MAESTRO EN TECNOLOGÍA  
DE GRANOS Y SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO, DICIEMBRE, 2007

Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo ---Asesor---

**Palabras clave:** *Pinus cembroides*, *Pinus pseudostrobus*, Captan, Thiram, Carbendazim, Almacenamiento, Hongos de Almacén.

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. En esta investigación

se evaluó el efecto de los fungicidas Captan a 1000 y 750 g i.a./t, Thiram a 600 y 400 g i.a./t, y Carbendazim a 800 y 600 g i.a./t, sobre la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas de *Pinus pseudostrobus* y *Pinus cembroides* almacenada con temperatura y humedad relativa de 4°C y 40-60%; 4°C y 70-100% y en condiciones naturales. Se muestreó a los 0, 30, 60, 90, 120 y 150 días evaluándose la germinación estándar, peso seco de plántulas, plántulas anormales, semillas muertas, semillas duras y la sanidad. El diseño experimental empleado fue completamente al azar, con cuatro repeticiones con arreglo en parcelas subdivididas, considerando los ambientes, muestreos y tratamientos como parcela grande, mediana y chica respectivamente, la comparación de medias se realizó con la prueba DMS. Los resultados muestran que la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla fue afectada por el fungicida, la dosis empleada y las condiciones del ambiente de almacenamiento de acuerdo a la especie que pertenecía dicha semilla. En el lote de semillas de *Pinus cembroides*, el mejor tratamiento fue Captan a 1000 g i.a./t, ya que tuvo el porcentaje de germinación más alto, además mostró un mejor control sobre los hongos de almacén. En el lote de semilla de *Pinus pseudostrobus*, el tratamiento con fungicida fue innecesario ya que no hubo incidencia de hongos y en germinación el testigo fue mejor. En *Pinus cembroides*, el ambiente uno con el fungicida Captan a 1000 gr.ia./t fue el más efectivo al presentar un porcentaje de germinación de 90% a los 150 días, y en la calidad sanitaria el mejor tratamiento fue el Captan sin verse afectado por el ambiente; mientras que para el lote de semillas de *Pinus pseudostrobus* el mejor ambiente para conservar la calidad de la semilla fue el uno.

## ABSTRACT

**CHEMICAL TREATMENT OF SEEDS OF *Pinus cembroides* Zucc AND  
*Pinus pseudostrobus* Lind STORED UNDER THREE ENVIRONMENTS  
DURING 150 DAYS.**

BY

YENY VALENCIA MARTINEZ

MASTER IN TECHNOLOGY  
SEEDS AND GRAINS

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO, DECEMBER, 2007

Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo ---Adviser---

**Key words:** *Pinus cembroides*, Captan, Thiram, Carbendazim, Storage, Stored  
Fungi.

The treatment with fungicides preserves the physiological and sanitary quality from the seeds, being necessary to know the effectiveness and dose made suitable to assure its efficacy during storage. In this investigation we evaluated the effect of the fungicides, Captan, Thiram and Carbendazim to two doses each one on the physiological and sanitary quality of seeds *Pinus pseudostrobus* and *Pinus cembroides* stored with temperature and relative humidity 4°C and 40-60 %; 4° C and 70-100 % and in natural conditions. We sampled at the 0, 30, 60, 90, 120 and 150 days the standard germination, dry weight of plants, abnormal plants, dead seeds, hard seeds and sanitary seed. The experimental design that we used was completely at random, with four replications with split plot array, taking into account environment, samplings and treatments as big plot, medium and small respectively, the media comparison was carried out with the DMS test. The results evidence that the physiological and sanitary quality of the seed was affected by the fungicide, the used dose and the conditions of the environment of storage according to the species that was belonging that seed. In the lot seeds *Pinus cembroides* the best treatment was Captan 1000 gr.ia/T. It got the higher percentage of germination, it also presented a better control on the storage fungi. For the lot of seeds in *Pinus pseudostrobus* the treatment with fungicide was unnecessary. There was not fungi incidence the control was the best treatment. In *Pinus cembroides* the environment one with the fungicide Captan 1000 gr.ia/t. the was the most effective it had 90 % percentage of germination presented the 150 days, and the quality sanitary the best treatment was Captan, the environment didn't have any effect however for *Pinus pseudostrobus* the best environment was one to preserve the seed quality.



## ÍNDICE DE CONTENIDO

|  |     |
|--|-----|
| ÍNDICE DE CUADROS.....   | xi  |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....   | xii |
| INTRODUCCIÓN.....  | 1   |
| Objetivo general .....   | 4   |
| Objetivos específicos .....  | 4   |
| Hipótesis.....   | 4   |
| REVISIÓN DE LITERATURA.....  | 5   |
| Generalidades de las coníferas.....  | 5   |
| <i>Pinus cembroides</i> Zucc.....  | 7   |
| <i>Pinus pseudostrobus</i> Lind.....                                       | 7   |
| Calidad de la Semilla.....   | 7   |
| Almacenamiento.....  | 8   |
| Factores que afectan el deterioro de la semilla en el almacenamiento ..... | 10  |
| Contenido de humedad de la semilla.....                                    | 12  |
| Hongos de almacén .....  | 13  |
| Tratamiento Químico de las Semillas.....                                   | 15  |
| Características de los Fungicidas .....                                    | 17  |
| Captan.....  | 17  |
| Thiram .....   | 17  |
| Carbendazim.....   | 18  |
| MATERIALES Y MÉTODOS.....  | 19  |
| Localización del Área de Trabajo .....                                     | 19  |
| Material Genético .....  | 19  |
| Tratamiento Químico.....   | 19  |
| Condiciones de Almacenamiento .....  | 20  |
| Parámetros Evaluados .....   | 21  |
| Contenido de Humedad.....  | 21  |
| Germinación Estándar .....   | 22  |

|  |    |
|--|----|
| Peso Seco de Plántulas.....                            | 22 |
| Prueba de Sanidad .....                                | 23 |
| Diseño Experimental .....                              | 23 |
| Análisis Estadístico.....                              | 23 |
| Modelo lineal .....                                    | 23 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....                           | 26 |
| Comportamiento de <i>Pinus cembroides</i> Zucc.....    | 26 |
| Ambientes.....   | 28 |
| Muestreos .....  | 29 |
| Interacción Ambiente por Muestreo .....                | 33 |
| Tratamientos.....                                      | 36 |
| Interacción Ambiente por Tratamiento.....              | 39 |
| Interacción Muestreo por Tratamiento .....             | 42 |
| Interacción Ambiente por Muestreo por Tratamiento..... | 43 |
| Sanidad.....   | 45 |
| Comportamiento de <i>Pinus pseudostrobus</i> Lind..... | 50 |
| Ambientes.....   | 51 |
| Muestreos .....  | 53 |
| Interacción Ambiente por Muestreo .....                | 56 |
| Tratamientos.....                                      | 60 |
| Interacción Ambiente por Tratamiento.....              | 61 |
| Interacción Muestreo por Tratamiento .....             | 65 |
| Interacción Ambiente por Muestreo por Tratamiento..... | 69 |
| CONCLUSIONES .....                                     | 77 |
| RECOMENDACIONES.....                                   | 78 |
| RESUMEN .....  | 79 |
| LITERATURA CITADA .....                                | 79 |
| APÉNDICE .....   | 82 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|   |    |
|---|----|
| Cuadro 3.1. Dosis de aplicación de los fungicidas utilizados en el tratamiento a las semillas de las especies <i>Pinus cembroides</i> y <i>Pinus pseudostrobus</i> . .....                                  | 20 |
| Cuadro 3.2. Condiciones de temperatura y humedad relativa en que fue almacenada la semilla de <i>Pinus cembroides</i> y <i>Pinus pseudostrobus</i> . .....  | 20 |
| Cuadro 4.1. Cuadrados medios y significancia de las variables evaluadas en la calidad fisiológica de semilla de <i>Pinus cembroides</i> Zucc almacenada bajo tres ambiente por un periodo de 150 días. .... | 27 |
| Cuadro 4.2. Comparación de medias de la variable germinación estándar, plántulas anormales y semillas muertas de <i>Pinus cembroides</i> almacenada bajo tres ambientes durante 150 días. ....              | 38 |
| Cuadro 4.3. Micoflora, germinación y contenido de humedad de la semilla de <i>Pinus cembroides</i> Zucc tratada con fungicidas y almacenada bajo tres ambientes por un periodo de 150 días. ....            | 48 |
| Cuadro 4.4. Cuadrados medios y significancia de las variables evaluadas en la calidad fisiológica de semilla de <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada bajo tres ambiente por un periodo de 150 días .....   | 50 |
| Cuadro 4.5. Comparación de medias de las variables germinación estándar, plántulas anormales y semillas duras de <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada bajo tres ambientes durante 150 días. ....           | 61 |
| Cuadro 4.6. Comparación de medias de la variable semillas muertas de <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada durante 150 días en la interacción muestreo por tratamiento. ....                                | 68 |
| Cuadro A.1 Contenido de humedad de la semilla de la especie <i>Pinus cembroides</i> almacenada durante 150 días bajo tres ambientes. ....   | 82 |
| Cuadro A.2 Contenido de humedad de la semilla de la especie <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada durante 150 días bajo tres ambientes. ....  | 82 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| Figura 4.1. Comportamiento de las variables germinación estándar y semillas muertas evaluadas en <i>Pinus cembroides</i> Zucc almacenada bajo tres ambientes durante 150 días. ....                                     | 29 |
| Figura 4.2. Efecto del periodo de almacenamiento en germinación estándar, plántulas anormales y semillas muertas de la semilla de <i>Pinus cembroides</i> Zucc. ....  | 31 |
| Figura 4.3. Efecto del periodo de almacenamiento en el peso seco de plántulas de la semilla de <i>Pinus cembroides</i> Zucc. ....   | 32 |
| Figura 4.4. Efecto del periodo de almacenamiento de las variables plántulas anormales y semillas muertas de <i>Pinus cembroides</i> Zucc almacenada bajo tres ambientes durante 150 días. ....                          | 35 |
| Figura 4.5. Efecto del periodo de almacenamiento en la variable peso seco de <i>Pinus cembroides</i> Zucc almacenada bajo tres ambientes durante 150 días. ....   | 36 |
| Figura 4.6. Efecto de los tratamientos químicos evaluados en la variable peso seco de plántulas de la semilla de <i>Pinus cembroides</i> Zucc. ....   | 39 |
| Figura 4.7. Efecto de la interacción ambiente por tratamientos químicos evaluados en la variable germinación estándar y semillas muertas de <i>Pinus cembroides</i> almacenada durante 150 días. ....                   | 41 |
| Figura 4.8. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable semillas muertas de <i>Pinus cembroides</i> almacenada durante 150 días. ....  | 42 |
| Figura 4.9. Comportamiento de las variable plántulas anormales de <i>Pinus cembroides</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....   | 44 |
| Figura 4.10. Comportamiento de las variable Semillas muertas de <i>Pinus cembroides</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....   | 44 |
| Figura 4.11. Comportamiento de las variables germinación estándar, plántulas anormales, semillas duras y semillas muertas evaluadas en <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada bajo tres ambientes durante 150 días. .... | 53 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 4.12. Efecto del periodo de almacenamiento en germinación estándar, plántulas anormales, semillas duras y semillas muertas de <i>Pinus pseudostrobus</i> . .....  | 55 |
| Figura 4.13. Efecto del periodo de almacenamiento en la variable peso seco de <i>Pinus pseudostrobus</i> . .....   | 56 |
| Figura 4.14. Efecto del periodo de almacenamiento en germinación estándar, plántulas anormales, semillas duras y semillas muertas de la especie <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada bajo tres ambientes durante 150 días. ....       | 59 |
| Figura 4.15. Efecto del periodo de almacenamiento en la variable peso seco de <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada bajo tres ambientes durante 150 días. ....   | 60 |
| Figura 4.16. Efecto de la interacción ambiente por los tratamientos químicos evaluados en germinación estándar, plántulas anormales, semillas duras y semillas muertas de <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada durante 150 días. .... | 63 |
| Figura 4.17. Efecto de la interacción ambiente por tratamiento en la variable peso seco de la semilla <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada durante 150 días. ....   | 64 |
| Figura 4.18. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable germinación estándar de <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada durante 150 días. ....   | 65 |
| Figura 4.19. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable plántulas anormales de <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada durante 150 días. ....  | 66 |
| Figura 4.20. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable semillas duras de <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada durante 150 días. ....   | 67 |
| Figura 4.21. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable peso seco de plántulas de <i>Pinus pseudostrobus</i> almacenada durante 150 días. ....   | 69 |
| Figura 4.22. Comportamiento de la variable germinación estándar de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....  | 70 |
| Figura 4.23. Comportamiento de la variable semillas muertas de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....  | 71 |
| Figura 4.24. Comportamiento de la variable peso seco de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....   | 72 |

|   |    |
|---|----|
| Figura A.1. Comportamiento de las variables Plántulas anormales de <i>Pinus cembroides</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....    | 83 |
| Figura A.2. Comportamiento de las variables semillas muertas de <i>Pinus cembroides</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....       | 83 |
| Figura A. 3. Comportamiento de las variables plántulas anormales de <i>Pinus cembroides</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....   | 84 |
| Figura A. 4. Comportamiento de las variables Semillas muertas de <i>Pinus cembroides</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....      | 84 |
| Figura A. 5 Comportamiento de las variable germinación estándar de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. .... | 85 |
| Figura A. 6. Comportamiento de las variable plántulas anormales de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. .... | 85 |
| Figura A. 7 Comportamiento de las variable semillas duras de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....       | 86 |
| Figura A. 8. Comportamiento de la variable peso seco de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....            | 86 |
| Figura A. 9. Comportamiento de la variable germinación estándar de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. .... | 87 |
| Figura A. 10. Comportamiento de la variable plántulas anormales de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento ....  | 87 |
| Figura A. 11. Comportamiento de la variable semillas duras de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento ....       | 88 |
| Figura A. 12. Comportamiento de la variable semillas muertas de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....    | 88 |
| Figura A. 13. Comportamiento de la variable plántulas anormales de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. .... | 89 |
| Figura A. 14. Comportamiento de la variable semillas duras de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....      | 89 |

|  |    |
|--|----|
| Figura A. 15. Comportamiento de la variable semillas muertas de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. .... | 90 |
| Figura A. 16. Comportamiento de la variable peso seco de <i>Pinus pseudostrobus</i> en la interacción ambiente*muestreo*tratamiento. ....        | 90 |

## **INTRODUCCIÓN**

En México, a pesar de las tendencias de transformación de los ecosistemas forestales en terrenos para usos agropecuarios y/o urbanos, el 69% de la superficie del país (135.1 millones de ha) está cubierta por vegetación natural. En el país existen 42.7 millones de ha de áreas arboladas, de las cuales 26.2 corresponden a bosques, 15.2 a selvas y 1.3 a otras asociaciones forestales como manglares y palmares. Desde la perspectiva de la biodiversidad, los ecosistemas forestales de México son un recurso biológico de enorme valor global, por ello es importante reconocer que existen casi el 50% de las 96 especies de pinos registradas en el mundo, 21 de las cuales son endémicas (Styles, 1993).

En los últimos 40 años, la deforestación y degradación de ecosistemas forestales ha sido uno de los problemas más graves de estas zonas, la tarea de evaluación y análisis del fenómeno de deforestación es compleja, ya que tiene orígenes y causas múltiples que responden a la gran variación de condiciones biofísicas y socioeconómicas del país, entre las que destaca la sobrepoblación, incendios, plagas, enfermedades y falta de semilla, sobre todo en la reforestación de este tipo de áreas mutiladas.



Las semillas forestales están consideradas como una de las fuentes más importantes de germoplasma primario y hasta el momento constituyen el material mayormente utilizado para la producción masiva de plantas, con fines de reforestación o establecimiento de plantaciones. Sin embargo dada su variación botánica, genética, ecológica, fisiológica, química, física y económica que presentan las semillas forestales, su utilización se ha visto limitada cuando se desconocen sus características fundamentales (Niembro, 1985).

Es importante mencionar que los programas de plantaciones forestales requieren del suministro anual de semillas, sin embargo, las masas arboladas de coníferas no mantienen una producción anual constante, además existen pocos Bancos de Germoplasma dedicados a la conservación de semillas de especies forestales, estos no aseguran la calidad de la semilla, debido al sistema que utilizan para su conservación. Por tal motivo es necesario contar con una reserva de estas simientes en la cantidad y calidad necesarias para aquellos años en que no se presenta su producción.

Los programas de reforestación requieren de semilla con las características básicas de calidad fisiológica, genética, física y sanitaria deseables para la producción de planta. Para lo cual se requiere en primer lugar, que las semillas puedan almacenarse hasta el momento de su utilización, sin que estas pierdan su capacidad germinativa, y en segundo lugar, se requiere un control continuo de los parámetros de calidad anteriormente mencionados.

El tratamiento químico de semillas ha jugado un papel significativo en la historia de la humanidad y en el establecimiento de cultivos sanos y con mayores rendimientos, da protección frente al ataque de insectos y enfermedades transmisibles por semilla, así como a aquellas que atacan en etapas tempranas y que provocan consecuencias devastadoras en la producción de los cultivos cuando no son controladas.

El tratamiento con fungicidas ayuda a proteger la germinación, el vigor y la sanidad de las semillas de la acción de los hongos que son acarreados dentro y sobre las semillas, así como de los que se encuentran en el suelo, por lo anterior es importante conocer los aspectos que determinan la efectividad del tratamiento químico, como las dosis adecuadas, estabilidad del ingrediente activo a diferentes ambientes, como también los efectos sobre los patógenos y semillas, a fin de asegurar la calidad fisiológica y sanitaria de la misma durante el almacenamiento.

En relación a lo anterior y debido a la importancia que tienen las semillas forestales como medio de propagación y conservación de los recursos genéticos, además de la poca información existente sobre el tratamiento químico de estas especies y el efecto en su calidad fisiológica, existe la necesidad de generar información confiable que permita conocer el comportamiento de estas, por tal motivo se plantearon los siguientes objetivos:

### **Objetivo general**

- Evaluar el efecto de tres fungicidas a dos dosis bajo tres ambientes: uno en condiciones no controladas de almacenamiento y dos ambientes con humedad relativa y temperatura controlados; en la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas de dos especies de semillas forestales.

### **Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto de tres productos y dos dosis en la calidad fisiológica y sanitaria de dos especies de semillas forestales.
- Determinar la efectividad del tratamiento químico en la conservación de la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla de dos especies forestales almacenada bajo tres ambientes de temperatura y humedad relativa.

### **Hipótesis**

- La semilla puede mantener su calidad fisiológica y sanitaria con tratamiento químico y almacenada bajo tres ambientes de temperatura y humedad relativa.
- Al menos un fungicida aplicado a la semilla de las dos especies forestales beneficiara la sanidad y calidad de las semillas.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Generalidades de las coníferas

Uno de los géneros más grandes e importantes dentro de las coníferas es el *Pinus*, este comprende cerca de 100 especies, numerosas variedades y formas, así como un gran número de híbridos naturales como artificiales (Krugmán y Jenkinson, 1974). En México, los pinos ocupan un lugar muy importante dentro de la flora forestal nacional, se encuentran ampliamente distribuidos en la mayoría de los estados, con excepción de Tabasco, Campeche y Yucatán (Eguiluz, 1978).

Los pinos mexicanos tienen un enorme potencial de variación y capacidad de adaptación, ya que se pueden encontrar en lugares cercanos al nivel del mar como *Pinus caribaea* hasta el límite de la vegetación arbórea, alrededor de los 4000 msnm de elevación como *P. hartwegii* (Little, 1967).

Algunas semillas de pinos, además de ser usadas como alimento por el hombre y la fauna silvestre, constituyen la materia prima de los programas de producción de plantas destinadas a labores de reforestación y forestación, así como para el establecimiento de plantaciones comerciales de alto rendimiento.

En los últimos años se han perdido más de la mitad de los bosques templados de coníferas, encinos y otras especies, debido a la deforestación y degradación de áreas forestales, siendo estos uno de los problemas más graves en México. El trabajo de evaluación y análisis del fenómeno de deforestación es compleja, ya que tiene orígenes y causas múltiples que responden a la gran variación de condiciones biofísicas y socioeconómicas del país, entre las que destaca la sobrepoblación, incendios, plagas, enfermedades y la falta de semilla de buena calidad.

La deforestación a causa del crecimiento demográfico es considerado elevado, los datos oficiales más recientes reportan tasas anuales de deforestación superiores a las 500 mil hectáreas, presentándose con mucha mayor incidencia en el sur y sureste de México.

El comportamiento de los incendios y la extensión de la superficie afectada por el fuego se han convertido en una preocupación nacional, ya que tan solo en el 2004 se registraron alrededor de 6300 incendios forestales, afectando así a 81,322 ha a nivel nacional (SEMARNAT, 2005). Esta disminución de los recursos forestales ha ocasionado la pérdida de la biodiversidad; para frenar este daño y recuperar la riqueza forestal es necesario el establecimiento de plantaciones forestales como alternativa para recuperar estas áreas y así aumentar su productividad.

### ***Pinus cembroides* Zucc**

Esta especie es utilizada principalmente para consumo humano y para la producción de plántulas en la repoblación de áreas. Dentro de las características de la semilla se encuentran las siguientes: esta mide entre 9 a 10 mm de longitud, presenta una forma subcilíndrica o triangular, tiene una cubierta dura y leñosa, es de color café oscuro y no presenta alas, por lo tanto, la forma de dispersión es por gravedad (Niembro, 1986). El tiempo promedio en germinar es de 14-21 días, con un porcentaje aproximado de 60 a 90%.

### ***Pinus pseudostrobus* Lind.**

Su principal uso es como madera, ya que es excelente para la construcción, además es de las especies más utilizadas para la reforestación. Las características de la semilla son: de forma triangular, de color café oscuro, mide aproximadamente de 5 a 6 mm de longitud y presenta un ala de tipo articulada de color castaño que mide de 20 a 23 mm de largo, esta semilla se dispersa por medio del viento (Niembro, 1986).

## **Calidad de la Semilla**

Para el caso específico de las coníferas, Willen (1991) menciona que el éxito para la obtención de semillas con alta calidad, radica en la buena manipulación y planificación del proceso que incluye desde una buena elección de la época de colecta para obtener semilla madura que posee mayor energía germinativa y longevidad para el almacenamiento, hasta el establecimiento de

los métodos para determinar con precisión la calidad de las muestras de semilla y su capacidad para producir plantas sanas, vigorosas y adecuadas para la plantación en el campo.

En las evaluaciones de reforestación y plantación realizadas a través del Programa Nacional de Reforestación, se han encontrado que existen serios problemas en sobrevivencia y desarrollo de las plantaciones, producto de diversos factores. Uno de los factores más importantes es controlar la calidad de la semilla de especies forestales, sin embargo no se cuenta con semilla de alta calidad, la cual es la materia prima para tener el éxito de estas áreas.

Para poder obtener la semilla de calidad es necesario almacenarla hasta el momento de su utilización, lo cual es uno de los problemas que se presentan actualmente, ya que no se cuentan con las condiciones adecuadas para la conservación y tenerla disponible al momento que los programas de reforestación la requieran.

### **Almacenamiento**

El objetivo principal del almacenamiento es mantener y conservar la calidad fisiológica, física y sanitaria de la semilla para reducir al mínimo el deterioro y minimizar las pérdidas durante su conservación. Para el caso de semillas de especies forestales, uno de los principales objetivos es poder conservar la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla recolectada en años de

gran producción con el propósito de tener suministros para aquellos años de escasa producción o que no se tenga producción alguna (Willen, 1991).

Harrington, (1973) menciona en uno de los preceptos del almacenamiento, que la calidad de la semilla no se mejora con el almacenamiento, solo se mantiene durante cierto tiempo.

La forma de conservación de las semillas de especies forestales a corto o a largo plazo va de acuerdo a su comportamiento durante el almacenamiento. Las semillas se clasifican en *ortodoxas* y *recalcitrantes*. Las semillas ortodoxas son capaces de mantener su viabilidad después de secarse a un contenido de humedad de 5-10% (también se les conoce como tolerantes a la desecación), siendo estas las que pueden almacenarse satisfactoriamente durante largos periodos a temperaturas bajas o inferiores a 0°C. Las semillas recalcitrantes generalmente pierden su viabilidad después de secarse por debajo de un valor crítico (12-30% de contenido de humedad), por lo que también se les conoce como intolerantes a la desecación, este tipo de semillas se almacenan solo por periodos cortos (Chin y Roberts, 1980).

Se menciona que en ensayos de almacenamiento del Banco Latinoamericano de Semillas Forestales, se ha determinado que la especie *Pinus pseudostrobus* puede ser almacenada por 6 años en recipientes herméticos y a baja temperatura (4 °C) y con un contenido de humedad de la semilla de 4.9% (Trujillo, 1994).



Por otra parte, Becerra (1977) encontró que la semilla de *Pinus patula* se puede almacenar en un cuarto seco utilizando recipientes herméticos y guardándolo a 4°C de temperatura, también menciona que es conveniente llevar la semilla a un contenido de humedad cercano al 6%. Así mismo, recomienda almacenar la semilla de *Pinus moctezuma* en un cuarto seco y con un contenido de humedad del 8%.

En el caso de *Eucalyptus*, Barner (1975) dice que la mayoría de las especies pueden estar almacenadas por un periodo de hasta 10 años en depósitos herméticos a temperaturas de 1 a 5°C, si el contenido de humedad se mantiene a 4 a 8%.

### **Factores que afectan el deterioro de la semilla en el almacenamiento**

El deterioro de la semilla se puede definir como un proceso inexorable, irreversible y que puede variar entre especies, así como entre lotes. Este proceso se puede acelerar si no se tiene un buen manejo durante la cosecha, el beneficio y el almacenamiento de las semillas, trayendo como consecuencia una disminución en la germinación y en el vigor. El deterioro es un proceso que no se puede evitar, ya que todos los seres vivos eventualmente se deterioran y mueren, sin embargo, si lo podemos retrasar por medio de un buen manejo durante su almacenamiento. Dentro de los factores más importantes que se deben cuidar durante el almacenamiento se encuentran el contenido de humedad de la semilla, la temperatura y la humedad relativa, para lograr mantener la calidad de las semillas.

El efecto de la humedad relativa, la influencia sobre la humedad de la semilla y la temperatura del ambiente del almacén son altamente interdependientes. La mayor parte de semillas pierden su viabilidad rápidamente en humedades relativas de 80% y a temperaturas de 25 a 30°C, pero pueden ser conservadas por diez años o más con humedades relativas del 50% o menos y a temperaturas de 5°C o menos (Toole, 1950).

Dentro de los principios básicos de conservación, Harrington (1973) menciona que la humedad relativa es más importante que la temperatura. Se ha sugerido que la humedad relativa no debe exceder más del 60% cuando la semilla se encuentre almacenada a una temperatura de 21°C, y cuando se encuentre a un 70% de humedad relativa, se debe almacenar entre 4 y 10°C. (Toole, 1957).

Harrington (1973), sugirió que por cada 5.5°C que se disminuya la temperatura del almacenamiento se duplica la longevidad de la semilla.

En estudios realizados en semillas de *Pinus radiata* se ha encontrado que puede ser almacenada en cuartos secos a una temperatura de 4°C, utilizando para ello recipientes herméticos (Becerra, 1977) por otra parte Farmer *et al.*, (1984) encontraron un 95% de germinación en la semilla de *Picea mariana* (Mill) que fue almacenada por un periodo de 12 días a temperaturas que van de 5 a 15°C.

### **Contenido de humedad de la semilla**

La interacción entre la temperatura y el contenido de humedad de la semilla es de gran importancia para su almacenamiento, siendo estos los dos factores que influyen en la longevidad de la semilla.

Dentro de un sistema de almacenamiento, el contenido de humedad de la semilla siempre estará en función de la humedad relativa y la temperatura. Harrington (1973) señala que por cada 1% que se disminuya el contenido de humedad en la semilla se duplica su longevidad (en un rango de 5-14% CH).

De acuerdo con las condiciones que se tengan durante el almacenamiento, la semilla puede perder o absorber humedad, un incremento de humedad en la semilla puede traer como consecuencia que se acelere la respiración, el calor y la invasión de hongos, destruyendo así la viabilidad de las semillas rápidamente.

Las semillas de *Pinus pinaster* se pueden almacenar a un contenido de humedad de 9-11% sin que esta se vea afectada en su viabilidad (Becerra, 1977)

Schonborn (1964) ha realizado estudios para demostrar las temperaturas más bajas que soportan las semillas de diferentes especies forestales a diferentes porcentajes de humedad, donde encontró que las semillas de *Abies*

*alba*, *Pseudotsuga* y *Pinus sylvestris* soportan temperaturas de hasta -20°C a un contenido de humedad de entre 8 y 10%.

Cuando una semilla que se almacena en condiciones relativamente húmedas y con temperaturas bajas, estas son atacadas con facilidad por hongos, lo cual trae como consecuencia una disminución en la calidad de la semilla.

### **Hongos de almacén**

Dentro de los microorganismos que atacan a la semillas ya sea durante su desarrollo en el campo o en el almacén, se encuentran los hongos, siendo estos los más abundantes y la principal causa de enfermedades, ocasionando pérdidas severas al reducir el potencial de producción de los cultivos que atacan (Moreno, 1988).

Los hongos de almacén son aquellos que pueden crecer bajo las condiciones en que normalmente almacenan los granos que se utilizan en la elaboración de alimentos para el hombre. Siendo principalmente especies de *Aspergillus* y *Penicillium*. Las condiciones ambientales que requieren estos hongos para poder crecer son humedades relativas de 65 a 90%, siendo este el factor limitante para que se desarrollen. Los principales daños que causan estos dos hongos en los granos y las semillas son una reducción del poder germinativo, reducción en el vigor, ennegrecimiento de los granos y la producción de micotoxinas (Christensen y Kaufmann, 1969; y Moreno, 1988).

La calidad de la semilla se ve fuertemente afectada por los hongos que se alojan en las semillas causando diferentes daños; si la infección es muy severa, el daño puede ocasionar la muerte del embrión. Como en el caso de las especies de *Fusarium* que causan pudriciones en la semilla. Con infecciones leves, las semillas no pierden su poder germinativo, sin embargo, si puede verse afectado su vigor (Moreno, 1993).

Según Bobadilla (2000), en el trabajo realizado en la identificación de patógenos en semillas forestales recolectadas en diferentes años, encontró que la semilla de *Pinus cembriodes* colectada en 1998 fue atacada por las bacterias *Erwinia* sp y *Xanthomonas* sp, y por un hongo *Penicillium expansum*, el cual tiene gran facilidad para desarrollarse con una humedad baja en la semilla, y es considerado como uno de los causantes de la pérdida de viabilidad de la mayoría de las semillas.

Por su parte, Monsalvo (2004) evaluó algunos patógenos presentes en tres especies de pinos, los cuales fueron; *Pinus greggii*, donde encontró *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Chaetomiun murorum* y *Dictyosporium* sp. afectando severamente la germinación, ya que obtuvo un 53%. Para la especie *Pinus pseudostrabus* se presentaron *A. flavus*, *A. níger*, *Alternaria solani*, *Colletotrichum cutatum* y *Dendrophoma* sp.,y presentándose un 68% en la germinación, y en *Pinus teocote*, los patógenos que se desarrollaron fueron; *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Alternaria tenuísima*, *Fusarium solani* y *Penicillium steckiiil*

obteniendo solo un 10% en la germinación, esto debido al deterioro de la semilla causada por los hongos ya mencionados.

Cervantes (2000) menciona que las semilla forestal *Abies vejari*, almacenada por tres años fue atacada por los hongos *Penicillium fuscum* y *Rhizoctonia stolonifes*, la especie *Picea engelmannii* var. Mexicana almacenada por 4 años fue atacada por el hongo *Aspergillus flavus*; y la semilla que fue recién colectada no presento incidencia de patógenos.

Muchos son los géneros y especies de hongos que son acarreados al almacén y que pueden encontrarse en las semillas, ya sea sobre la cubierta, en el embrión o en el endospermo, y que al momento en que se presentan las condiciones de humedad y temperatura, estos se activan y se incrementan, causando así una reducción en el vigor y la longevidad de la semilla.

Uno de los métodos para poder combatir a los hongos que atacan a las semillas durante el almacenamiento es por medio del control químico, haciendo un tratamiento con fungicidas para proteger la germinación y el vigor de las semillas.

### **Tratamiento Químico de las Semillas**

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, 1993).

Es importante conocer los aspectos que determinan la efectividad del tratamiento químico; como la dosis adecuada, estabilidad del ingrediente activo a diferentes ambientes y poder asegurar la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla durante el almacenamiento.

Cuadra (1999), al desarrollar una investigación en semilla de soya, almacenada bajo condiciones naturales durante 6 meses, y aplicando los fungicidas Tiabendazol, Carboxin, Metalaxil, Captan, Fungo Plex y Kodiak + Captan, después de las pruebas de germinación, vigor y sanidad encontró que el mejor fungicida en la semilla de soya fue el Captan presentando mayores porcentajes de germinación y vigor, además presentó un mayor control sobre los patógenos presentes en la semilla.

Por su parte, Ramírez (1999) en un estudio realizado en semillas de cacahuate, frijol y garbanzo aplicando el fungicida Vitavax 200 SA (17% Carboxin + 17% Tiram) para el control de *Rhizoctonia solani* Kuhn, encontró que en cacahuate a los 30 días de la siembra, el Vitavax 200 SA en sus dosis de 3.0 lt es efectivo para controlar *R. Solani*, además de incrementar el peso seco de raíz, sin embargo en la semilla de frijol y garbanzo a los 30 días de la siembra no presentó incremento en el peso seco de la raíz y no fue efectivo en el control de *R. solani*.

A si mismo, Rivera (1992) en un trabajo donde determinó el efecto del tratamiento químico sobre la calidad fisiológica de semillas de maíz almacenado

bajo dos ambientes, encontró que a condiciones de almacenamiento naturales por 135 días tratada con quintozeno-pirimifos afectó la germinación del maíz blanco después de 90 días de almacenamiento. Por su parte, la dosis normal de Captan-metoxicloro permitió una mejor expresión de la calidad fisiológica de la semilla en ambientes controlados después de 135 días, así como una mayor longitud de plúmula durante el almacenamiento para el híbrido AN-447.

### **Características de los Fungicidas**

#### **Captan**

El ingrediente activo es: N-(Triclorometil)-4-ciclohexan-1,2-dicarboximida, es un excelente fungicida, de amplio espectro, utilizado en 82 cultivos. No es tóxico para las plantas, de baja toxicidad para los mamíferos, es compatible con la mayoría de los fungicidas y no está sujeto a la resistencia por los patógenos. Suministra gran protección tanto a las plantas como a la semilla. Dentro de los fungicidas orgánicos no mercuriales, se encuentra el grupo de compuestos heterocíclicos y dentro de este encontramos al Captan, el cual tiene diferentes nombres según la casa comercial y el utilizado fue Inter Captan 50 PH. Este fungicida actúa por contacto y en forma preventiva (Jeffs, 1986).

#### **Thiram**

El ingrediente activo es: Quintozeno (pentacloronitrobenzeno), Thiram (Disulfuro de tetrametiltiuram), es un fungicida de contacto. Es efectivo en el tratamiento de la semilla, es compatible con los fungicidas Captan y Carboxin,



generalmente son usados en el tratamiento de las semillas. No es toxico para las plantas y es usado en 50 cultivos (Jeffer, 1986). Este fungicida tiene diferentes nombres según la casa comercial y el utilizado fue Interguzan 30-30.

### **Carbendazim**

El ingrediente activo es: 2(Metoxicarbonilamino) Benzimidazol, es un fungicida sistémico, es efectivo contra un amplio rango de ascomicetos, hifomicetos y algunos basidiomicetos que atacan a las semillas, se ha combinado con Maneb para tratar semillas que están almacenados por mas de tres meses antes de ser sembrados, especialmente bajo condiciones de alta humedad del grano(16%), alta humedad relativa (85%) y una temperatura alta (26-27°C) para preservar la viabilidad de la semillas (Jeffer, 1986). El nombre comercial es: Derosal 500 D.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Localización del Área de Trabajo**

El presente trabajo se realizó en el Banco de Germoplasma Vegetal “Coahuila”, perteneciente a la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAC), ubicado en el Km 2.5 de la carretera Saltillo-Zacatecas. En las coordenadas latitud norte 19° 97' y longitud oeste 25° 22', a una altitud de 1766 msnm. La prueba de sanidad de las semillas se realizó en el laboratorio del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de semillas de la UAAAN.

### **Material Genético**

Se utilizó semilla de dos especies forestales; 1) *Pinus cembroides* Zucc, colectada en el 2005 en la localidad de Santa Victoria del cañon la Playa, perteneciente al municipio de Saltillo. 2) *Pinus Pseudostrobus* Lind, cuya semilla fue colectada en la Sierra de Arteaga en el 2003 por personal del Banco de Germoplasma Vegetal.

### **Tratamiento Químico**

Los fungicidas y las dosis utilizadas (Cuadro 3.1) se basaron en las recomendadas por Moreno (1993). Esto debido a que los hongos de almacén que atacan a los granos básicos se presentan también en las semillas de

algunas especies de pinos. La semilla fue tratada en un frasco de vidrio, esta se hizo por separado para cada tratamiento.

Cuadro 3.1. Dosis de aplicación de los fungicidas utilizados en el tratamiento a las semillas de las especies *Pinus cembroides* y *Pinus pseudostrobus*.

| Fungicida   | Dosis (g i.a./ t) | Tratamiento |
|-------------|-------------------|-------------|
| Captan      | 1000              | 1           |
|             | 750               | 2           |
| Thiram      | 600               | 3           |
|             | 400               | 4           |
| Carbendazim | 800               | 5           |
|             | 600               | 6           |
| Testigo     | Sin tratamiento   | 7           |

### Condiciones de Almacenamiento

La semilla de las dos especies de pinos se almacenó por un periodo de 150 días bajo tres ambientes en las instalaciones del Banco de Germoplasma Vegetal "Coahuila"

Cuadro 3.2. Condiciones de temperatura y humedad relativa en que fue almacenada la semilla de *Pinus cembroides* y *Pinus pseudostrobus*.

| Ambientes                      | Humedad relativa (%) | Temperatura (°C) |
|--------------------------------|----------------------|------------------|
| Cuarto Frio "A" (1)            | 40-60                | 4°C              |
| Cuarto Frio "B" (2)            | 70-100               | 4°C              |
| Condiciones no controladas (3) | 58.7                 | 19.7°C           |

Se manejó un total de 504 unidades experimentales, 252 por especie, y 168 unidades por ambiente, cada una con 160 semillas para realizar las evaluaciones correspondientes. Estas fueron colocadas en vasos de plástico perforados previamente identificados, los cuales a la vez se distribuyeron al azar en los tres ambientes. Los muestreos se realizaron a los 0, 30, 60, 90, 120 y 150 días, en los cuales se realizaron las evaluaciones correspondientes.

## **Parámetros Evaluados**

### **Contenido de Humedad**

Esta variable se realizó en base a las reglas de la ISTA (1996), se determinó el contenido de humedad de la semilla para cada especie de la siguiente manera; se tomaron 3 repeticiones de 30 semillas por especie, estas se pusieron en cajas de aluminio con tapa previamente pesadas. Enseguida se pesaron las cajas con la semilla y estas fueron puestas en la estufa a 103°C por  $16 \pm 1$  hr. Transcurrido el tiempo de secado, las cajas se retiraron de la estufa, se pusieron en el desecador aproximadamente 15 minutos para que estas se enfriaran y no absorbiera humedad, por último las muestras se pesaron. Los resultados se calcularon mediante la siguiente fórmula:

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

Donde:

P1 = peso de la caja y su tapa.

P2 = peso de la caja, la tapa y la semilla húmeda.

P3 = peso de la caja, la tapa y la semilla después del periodo del secado.

### **Germinación Estándar**

Para cada especie se utilizaron 4 repeticiones de 25 semillas. Se usó el papel anchor previamente humedecido donde fueron colocadas las 25 semillas, después se colocó otra hoja de papel para tapar la semilla y así poder enrollarla en forma de "taco", posteriormente fueron identificadas y finalmente se metieron a la cámara de germinación a 20-25°C. por un tiempo de 28 días, al transcurrir este periodo se realizó un conteo del total de plántulas normales, plántulas anormales y semillas muertas, los resultados se reportaron en porcentaje (ISTA, 2004).

### **Peso Seco de Plántulas**

Para determinar esta variable, se tomaron las plántulas normales de la prueba de germinación de cada repetición, se eliminaron los restos de las semillas para obtener solo la plántula, estas fueron colocadas en bolsas de papel estraza perforados e identificados con anterioridad. Posteriormente se metieron a la estufa de secado a una temperatura de 65°C por un periodo de 24 horas. Al finalizar este tiempo, las muestras fueron puestas en el desecador para su enfriamiento, para luego pesarse en una balanza analítica. Por diferencia de peso se obtuvo el peso seco, este fue expresado en miligramos por plántula (mg/plántula).

## **Prueba de Sanidad**

Esta prueba se realizó mediante el uso del medio de cultivo MSA (Malta Sal Agar), el cual se preparó de la siguiente forma: para un litro de medio se utilizaron 20 g de Extracto de Malta, 20 g de Agar y 60 g de NaCl, los cuales se mezclaron en un matraz Erlenmeyer con agua destilada, se le puso un tapón con algodón y se introdujo a la autoclave (18 libras/pulg<sup>2</sup> y 120°C). Una vez alcanzada la temperatura y la presión se mantuvo por un tiempo de 15 minutos, posteriormente se dejó enfriar y enseguida se vació el medio a las cajas petri estériles. Se tomaron 3 repeticiones de 10 semillas, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2% por un minuto, posteriormente se sembraron en el medio y se incubaron a 24°C por 7 días. Después se evaluaron las semillas libres de patógenos y se hizo la identificación de hongos.

## **Diseño Experimental**

El diseño experimental que se utilizó en cada ambiente fue un completamente al azar, con cuatro repeticiones.

## **Análisis Estadístico**

Se utilizó el diseño completamente al azar en parcelas subdivididas para cada especie bajo el siguiente modelo lineal:

### **Modelo lineal**

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{(a)} + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{(b)} + \delta_k + \delta\alpha_{ki} + \delta\beta_{kj} + \alpha\beta\delta_{ijk} + \epsilon_{ijkl}$$

**Donde:**

$Y_{ijkl}$  = Valor observado

$\mu$  = Efecto de la media

$\alpha_i$  = Efecto del Ambiente

$\epsilon_{(a)}$  = Error de la parcela grande

$\beta_j$  = Efecto del Muestreo

$\alpha\beta_{ij}$  = Efecto de la interacción ambiente-muestreo

$\epsilon_{(b)}$  = Error de la parcela mediana

$\delta_k$  = Efecto del tratamiento

$\delta\alpha_{ki}$  = Efecto de la interacción ambiente-tratamiento

$\delta\beta_{kj}$  = Efecto de la interacción muestreo-tratamiento

$\alpha\beta\delta_{ijk}$  = Efecto de la interacción ambiente-muestreo-tratamiento

$\epsilon_{ijkl}$  = Error del experimento

La comparación de medias de las variables evaluadas se realizó con la prueba DMS como sigue:

$$= ( , ) \frac{\text{---}}{2 \text{---}}$$

Donde:

$t(\alpha, gle)$  = Se obtiene de las tablas t de Student con:

$\alpha$  = nivel de significancia

$gle$  = grados de libertad del error

$r$  = Número de repeticiones

$CME$  = Es el cuadrado medio del error

También se realizaron análisis de regresión lineal simple, para estimar el cambio en la variable dependiente asociada con valores específicos de la variable independiente; que se describe mediante el siguiente modelo:

$$= \alpha + ( ) +$$

Donde:

= Observación de la variable independiente

$\alpha$  = Intercepto

( ) = Coeficiente de regresión (pendiente de la línea)

$\mathcal{E}$  = Error aleatorio



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la información obtenida en el trabajo de investigación y acorde al análisis que se utilizó, se presentan los resultados por separado para cada una de las especies que se manejaron en el presente estudio.

### Comportamiento de *Pinus cembroides* Zucc

En el Cuadro 4.1, se reportan los cuadrados medios del análisis de varianza realizado para las variables: germinación estándar (GS), plántulas anormales (PA), semillas muertas (SM) y peso seco (PS) de la semilla tratada con tres fungicidas y almacenada bajo tres ambientes durante 150 días, en el cual se encontró una diferencia altamente significativa ( $P \leq 0.01$ ) para la fuente de variación ambientes para las variables GS y SM. Mientras que entre los muestreos se presentó una alta significancia en las cuatro variables evaluadas. En lo que respecta a la interacción ambiente\*muestreo se obtuvo una diferencia significativa (0.05 de probabilidad) para la variable SM y una alta significancia para PA y PS; en cuanto a los tratamientos aplicados a la semilla de la especie *Pinus cembroides* se reportaron diferencias altamente significativas para todas las variables, lo cual indica que al menos un tratamiento se comportó diferente.

Cuadro 4.1. Cuadrados medios y significancia de las variables evaluadas en la calidad fisiológica de semilla de *Pinus cembroides* Zucc almacenada bajo tres ambiente por un periodo de 150 días.

| <b>FV</b>                     | <b>GL</b> | <b>GS</b><br>(%) | <b>PA</b><br>(%) | <b>SM</b><br>(%) | <b>PS</b><br>(mg/plántula) |
|-------------------------------|-----------|------------------|------------------|------------------|----------------------------|
| Ambientes                     | 2         | 580.571 **       | 0.697            | 8.267 **         | 133.844                    |
| Error                         | 9         | 44.328           | 0.476            | 0.378            | 46.856                     |
| Muestreos                     | 5         | 281.338 **       | 3.437 **         | 1.616 **         | 372.203 **                 |
| Ambiente*Muestreo             | 10        | 35.738           | 0.963 **         | 0.876 *          | 195.954 **                 |
| Error                         | 45        | 34.530           | 0.373            | 0.369            | 55.687                     |
| Tratamientos                  | 6         | 6077.676 **      | 2.138 **         | 72.927 **        | 849.165 **                 |
| Ambiente*Tratamiento          | 12        | 111.567 **       | 0.479            | 1.025 **         | 93.172                     |
| Muestreo*Tratamiento          | 30        | 69.808           | 0.479            | 0.984 **         | 44.672                     |
| Ambiente*Muestreo*Tratamiento | 60        | 56.853           | 0.704 **         | 0.692 **         | 53.257                     |
| Error                         | 324       | 48.592           | 0.401            | 0.469            | 55.182                     |
| CV                            |           | 9.982            | 37.407           | 13.317           | 8.500                      |

\*, \*\* = Significativo al 5 y 1% respectivamente; GS= Germinación estándar; PA= Plántulas anormales; SM= Semillas muertas; PS= Peso seco.

Para el caso de la fuente de variación ambiente\*tratamiento resultaron con alta significancia solo dos variables GS y SM. En la interacción muestreo\*tratamiento se presentó una diferencia altamente significativa solo para la variable de SM, y para la triple interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento, los parámetros PA y SM también mostraron una diferencia altamente significativa.

Basado en los resultados que se obtuvieron del análisis de varianza para cada una de las variables evaluadas en el trabajo, se hizo una comparación de medias para poder determinar dentro de los tratamientos aplicados a la semilla cuales resultaron ser los mejores.

Los coeficientes de variación observados fueron de 9.9, 37.4, 13.3 y 8.5 para las variables GS, PA, SM y PS respectivamente, donde el valor más grande correspondió a la variable de semillas muertas debido a la variabilidad que se encuentran dentro del rango de variación espacial esperado (Blandón, 2004) en tal variable mientras que los demás valores se encuentran dentro del rango técnicamente aceptable.

### **Ambientes**

En la fuente ambientes se encontró diferencia estadística ( $P \leq 0.01$ ) en la variable GS, donde el ambiente dos presentó el menor porcentaje de germinación con 68.02%; debido a que la humedad del almacén fue muy alta y bajo esta condición la semilla tuvo mayor facilidad para perder su viabilidad (Toole, 1950). El ambiente tres obtuvo el valor más alto en la GS con 71.73%, siendo estadísticamente mejor que los otros dos a pesar de que la semilla fue almacenada a la intemperie, cabe mencionar que los meses en que se realizó este trabajo son los que presentan las humedades más bajas del año (Figura 4.1)

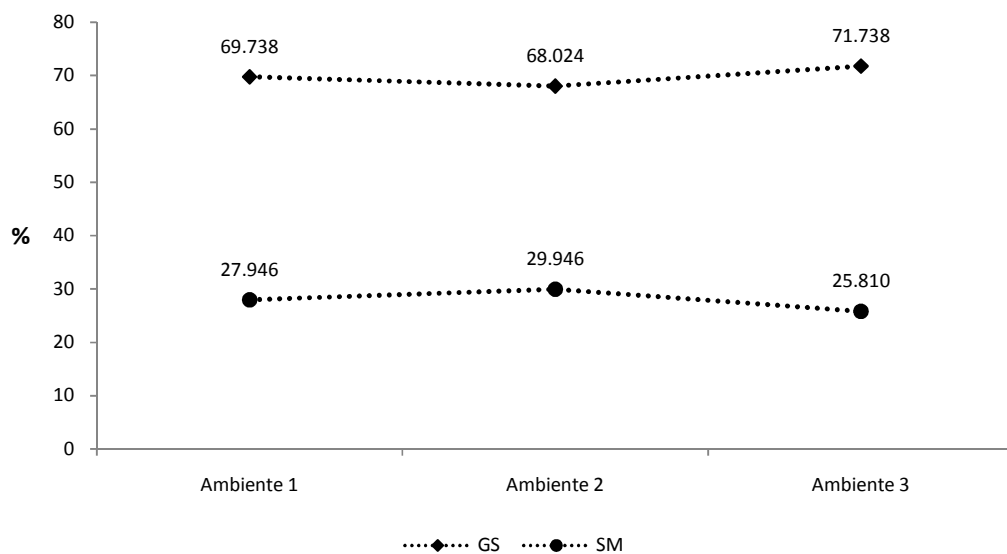


Figura 4.1. Comportamiento de las variables germinación estándar y semillas muertas evaluadas en *Pinus cembroides* Zucc almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.

Con relación a la variable SM, el porcentaje más bajo fue en el ambiente tres con 25.81 % (Figura 4.1), a causa de las condiciones de almacenaje favorables para mantener la calidad de la semilla, lo cual no sucedió con el ambiente dos que mostró un 29.9% de SM, como consecuencia del deterioro de la semilla. Harrington (1973) menciona que un excelente almacenamiento, donde la semilla no pierde su viabilidad, se puede lograr siempre y cuando la suma del porcentaje de humedad relativa y la temperatura en grados Fahrenheit sea menor o igual a las 100 unidades.

### **Muestreos**

A causa de la diferencia estadística detectada en la fuente muestreos para la variable GS, se realizó la comparación de medias, donde el valor más

alto se manifestó durante el primer muestreo con 72.07%, durante el transcurso de los muestreos se presentó una disminución de la germinación debido al deterioro fisiológico que sufre todo ser vivo sin que se pueda evitar. De tal manera que en el quinto muestreo se observó una baja en el poder germinativo de la semilla mostrando un valor de 66.92%. En la regresión realizada en esta variable podemos decir que por cada muestreo se pierde 0.77% de germinación ya que tiene signo negativo, confirmando así la pérdida de germinación a través de los ambientes de prueba. (Figura 4.2).

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con lo reportado por Blandón (2004), donde 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. Sin embargo se debe tomar en cuenta que la pérdida de viabilidad inicia por diferentes causas, las cuales pueden ser por algún daño al momento de la colecta de la semilla, durante su beneficio o en las condiciones en que se almacenan.

En la variable plántulas anormales (PA) se presentó el valor más bajo al inicio del almacenamiento, siendo este de 2.41%; como se observa en la semilla de *Pinus cembroides* el por ciento de plántulas anormales se incrementa a medida que aumentan los días de almacenamiento, como en el muestreo cinco donde se presentó el valor más alto de PA con 4.33% como consecuencia del deterioro de la semilla. En la ecuación de regresión que se obtuvo en

plántulas anormales observamos que a medida que aumentan los días de almacenamiento se incrementa en un 0.10% (Figura 4.2.).

El porcentaje de semillas muertas que se presentó durante las evaluaciones a través de los muestreos es indicativo del deterioro continuo de la semilla, este puede acelerarse de acuerdo a las condiciones en que se encuentra almacenada la semilla, en el primer muestreo se registró 26.4 % de SM y hubo un incremento considerable de estas a medida que pasa el tiempo, ya que observamos que a los 150 días se presentó un 29% de SM. En la regresión que se realizó en la variable semillas muertas se observa que esta se fue incrementando en un 0.68% a través de los muestreos.

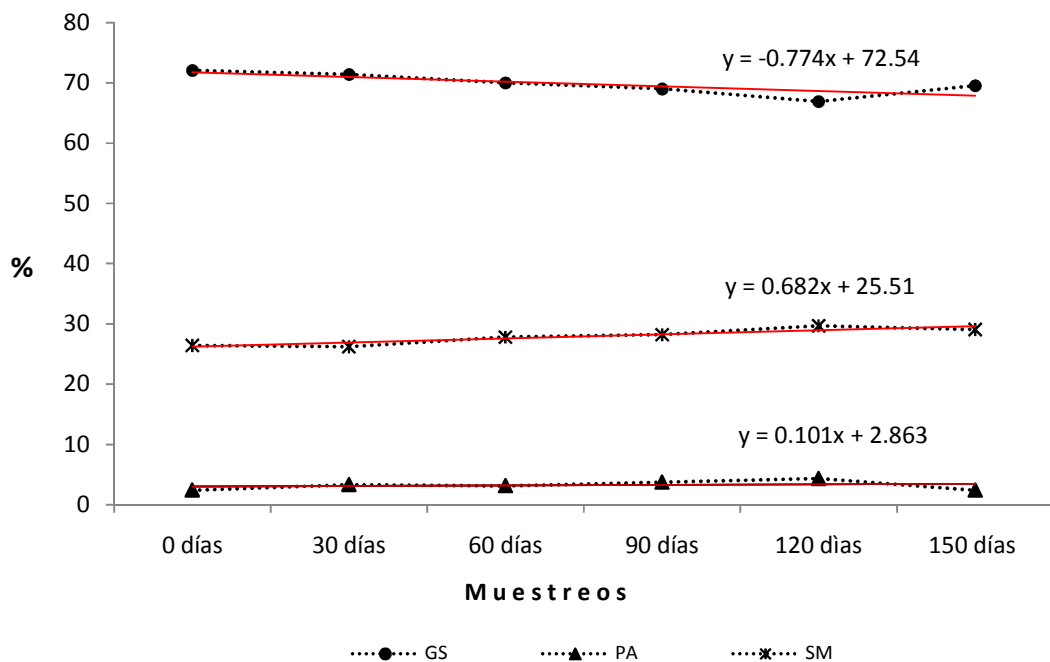


Figura 4.2. Efecto del periodo de almacenamiento en germinación estándar, plántulas anormales y semillas muertas de la semilla de *Pinus cembroides* Zucc.

La variable peso seco de plántulas dentro de los muestreos se comportó de la siguiente manera; el muestreo que resulto ser mejor estadísticamente fue a los 60 días de almacenamiento, ya que en este periodo se observó el valor más alto que fue de 90.19 mg/plta; ahora bien, el valor más bajo se encontró a los 30 días de almacenamiento, el cual fue de 84.49 mg/plta. Como se observa, los valores obtenidos del peso seco de plántulas de *Pinus cembroides* son muy variables, por lo que es importante mencionar que el tamaño de las plantas esta sumamente ligado a las características genéticas que presentan las semillas, ya que estas son colectadas de diferentes arboles (Figura 4.3.).

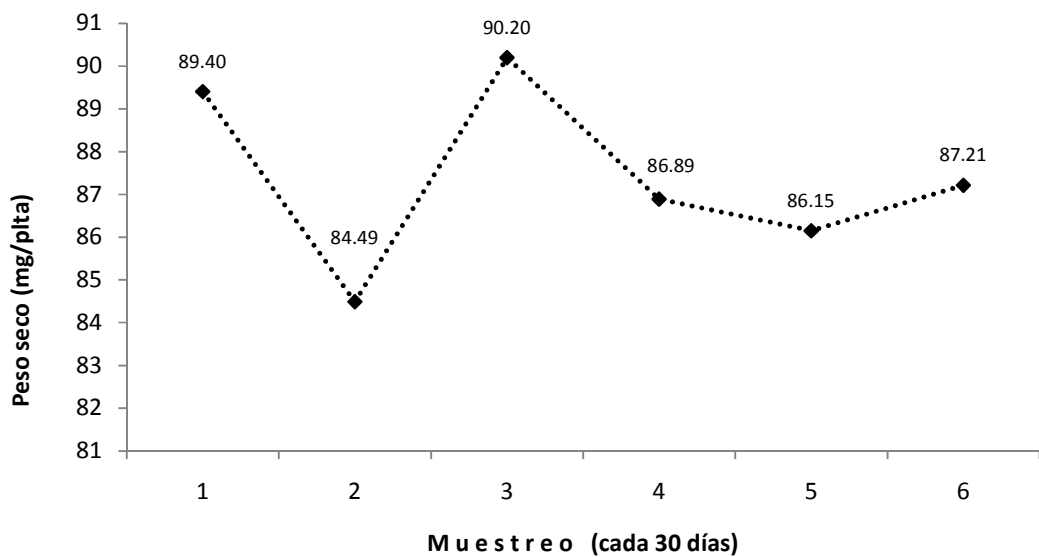


Figura 4.3. Efecto del periodo de almacenamiento en el peso seco de plántulas de la semilla de *Pinus cembroides* Zucc.

### **Interacción Ambiente por Muestreo**

La comparación de medias que se realizó dentro de la interacción que hay entre ambiente\*muestreo arrojó los siguientes datos; para la variable plántulas anormales se observa que en el muestreo uno dentro del ambiente uno se presentaron los valores más bajos de plántulas anormales, el cual fue 2.14% resultando ser el mejor estadísticamente; después de los 120 días de almacenamiento se encontró un incremento de las plántulas anormales confirmando que la semilla tiende a sufrir un deterioro fisiológico a través del tiempo, ya que en el muestreo cinco dentro del ambiente tres se observa el valor más alto de PA que fue de 5.17%.

Al realizar la regresión en la variable plántulas anormales podemos decir que el ambiente dos es mejor ya que el valor del coeficiente es menor en comparación de los otros dos ambientes además de presentar un valor bajo la pendiente de la línea de regresión (Figura 4.4.).

El envejecimiento de la semilla conduce a una pérdida de germinación, vigor y un incremento en las semillas muertas, y puede estar en función del genotipo y del ambiente. Dentro de la variable SM en la interacción ambiente\*muestreo se observó que el valor más bajo fue de 23.7% y se encontró durante el primer muestreo en el ambiente tres, quien fue el que presentó las mejores condiciones de temperatura y humedad para almacenar semilla de *Pinus Cembroides*, en cambio, el porcentaje más alto de semillas



muertas se observó en el quinto muestreo dentro del ambiente dos, hay que recordar que en este ambiente se tuvo una humedad relativa de 70-100% y 4°C, lo cual indica que la semilla no tuvo las condiciones adecuadas de almacenamiento y como consecuencia se aceleró el proceso de deterioro de la semilla (Figura 4.4).

Con los resultados obtenidos de la ecuación de regresión para la variable semillas muertas el ambiente que resultó ser mejor es el tres en donde el valor del intercepto fue de 23.75%, además el valor de la pendiente es similar con los ambientes uno y dos.

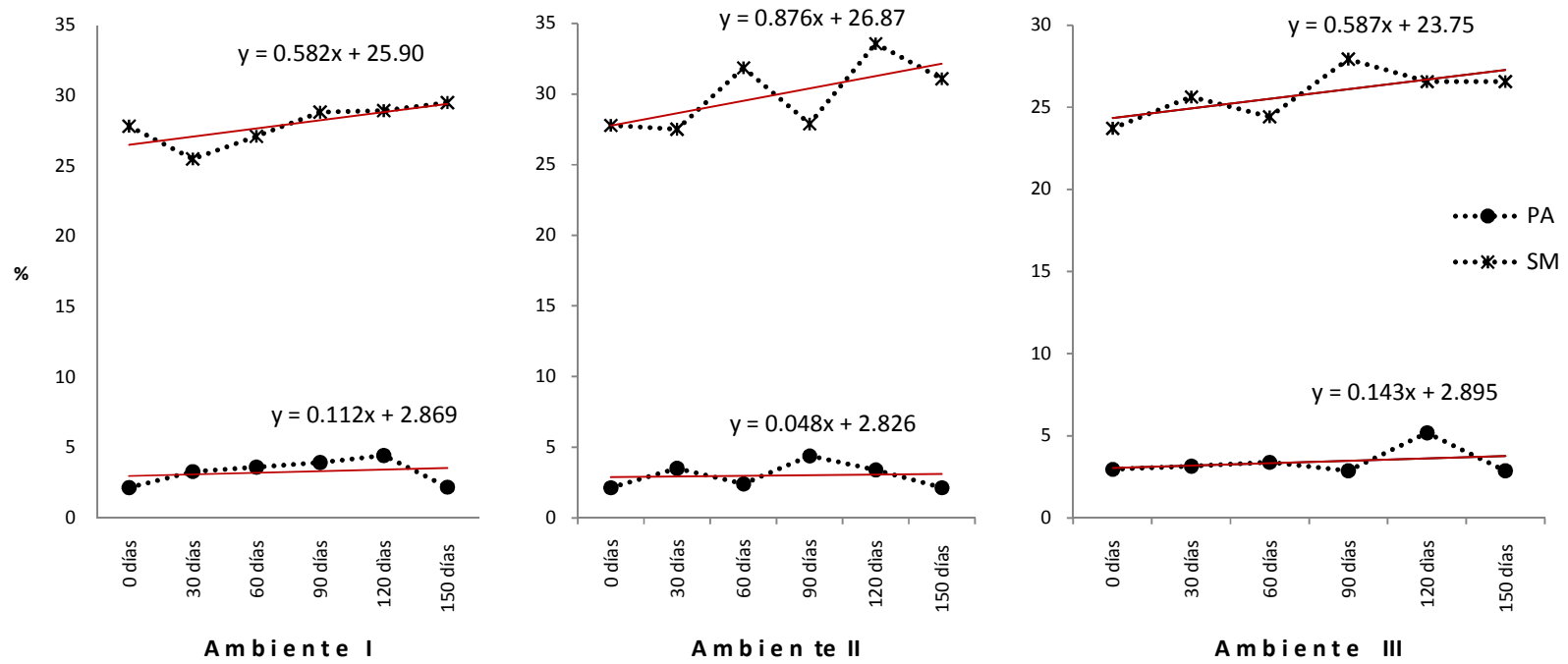


Figura 4.4. Efecto del periodo de almacenamiento de las variables plántulas anormales y semillas muertas de *Pinus cembroides* Zucc almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.

En la Figura 4.5., se presentan los resultados de la variable peso seco en la interacción ambiente\*muestreo, donde se encontró que el mayor peso seco se presentó en el muestreo tres dentro del ambiente tres, el cual fue de 91.84 mg/plta, siendo el mejor estadísticamente, en cambio el resultado más bajo fue de 81.545 mg/plta, el cual se encontró en el muestreo dos ambiente tres.

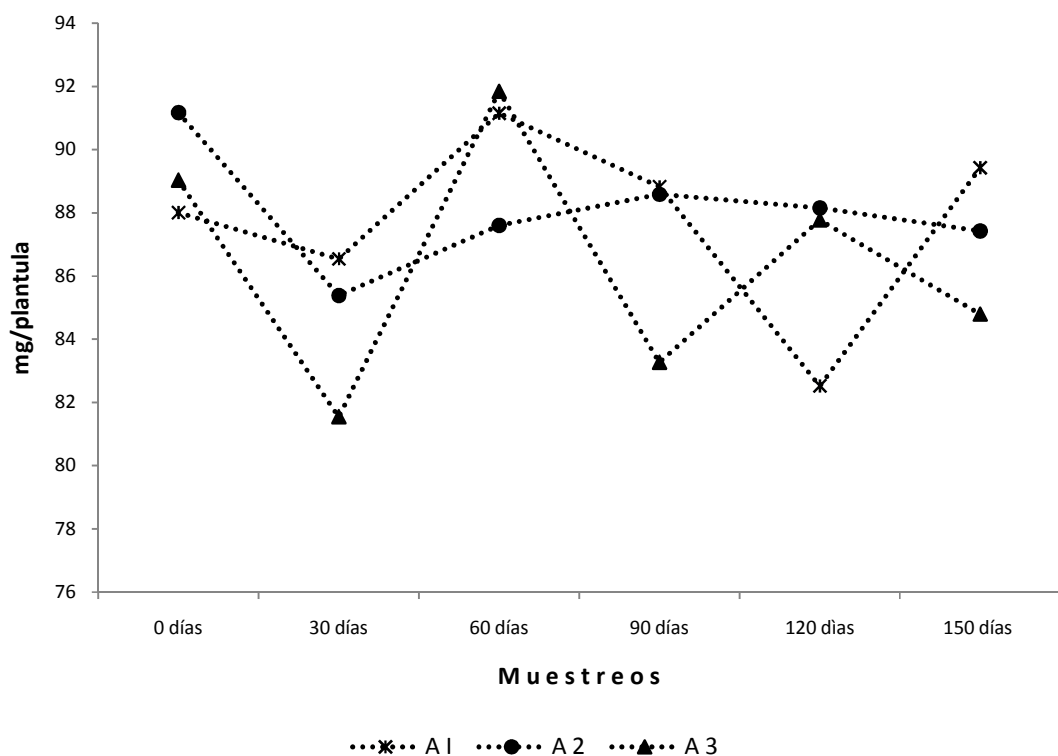


Figura 4.5. Efecto del periodo de almacenamiento en la variable peso seco de *Pinus cembroides* Zucc almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.

### Tratamientos

El comportamiento de los tratamientos dentro de la variable germinación estándar se presentan en el Cuadro 4.2., donde podemos notar que el

porcentaje de GS más sobresaliente fue de 86.22% y se presentó en la semilla tratada con Captan a una dosis de 1000 g i.a./t, siendo estadísticamente el mejor tratamiento, por el contrario el valor más bajo fue de 62.98%, el cual se observó en el tratamiento a base de Carbendazim en la dosis de 600 g i.a./t, por lo que se puede inferir que la utilización del tratamiento químico con fungicidas para la conservación de la semillas de *Pinus cembroides* tiene un efecto positivo en su calidad.

Cuadra (1999), reportó resultados similares al evaluar germinación y vigor en semillas de soya tratada con Tiabendazol, Carboxin, Metalaxil, Captan, Fungoplex y Kodiak+ Captan, almacenada a 90 y 180 días, donde el mejor fungicida fue el Captan.

La variable PA resultó significativa ( $P \leq 0.01$ ) debido al deterioro de la semilla causado por el periodo de almacenamiento transcurrido entre las evaluaciones y a la presencia de hongos que fue más evidente en el testigo, mostrando este el porcentaje más alto con 4.5%; por el contrario, el tratamiento con menor porcentaje de plántulas anormales fue el Captan con 2.72% (Cuadro 4.2.).

Cuadro 4.2. Comparación de medias de la variable germinación estándar, plántulas anormales y semillas muertas de *Pinus cembroides* almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.

| Tratamientos<br>(g i.a./t) | Germinación Estándar<br>(%) | Plántulas Anormales<br>(%) | Semillas Muertas<br>(%) |
|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|
| Captan 1000                | 86.22 A                     | 3.18 A                     | 11.58 A                 |
| Captan 750                 | 79.35 B                     | 2.72 A                     | 18.92 B                 |
| Thiram 600                 | 63.01 D                     | 3.08 A                     | 34.88 D                 |
| Thiram 400                 | 65.26 CD                    | 2.92 A                     | 32.76 D                 |
| Carbendazim 800            | 64.64 D                     | 2.88 A                     | 33.39 D                 |
| Carbendazim 600            | 62.99 D                     | 3.25 A                     | 34.65 D                 |
| Testigo                    | 67.36 C                     | 4.50 B                     | 29.13 C                 |

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes. DMS (0.05)

En el caso de semillas muertas, el tratamiento con mejor valor fue el Captan a 1000 g i.a./t con 11.58% seguido del Captan 750 g i.a./t con 18.91%, mientras que Thiram 600 g i.a./t presentó el mayor número de semillas muertas con 34.87%, esto pone de manifiesto la relación existente entre semillas muertas y la presencia de hongos, ya que precisamente los tratamientos que contienen el fungicida con mayor efectividad en el combate de los hongos de almacén presentaron menor porcentaje de semillas muertas (Cuadro 4.2.).

En la prueba de vigor en base al peso seco de las plántulas, mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos, por lo tanto se llevó a cabo la comparación de medias, donde nos indicó que el tratamiento que presentó mayor plántulas vigorosas fue el Captan 1000 g i.a./t con 93.28 mg/plta; por el contrario, el tratamiento que demostró tener menos vigor fue Thiram 400 g i.a./t con 82.75 mg/plta (Figura 4.6.).

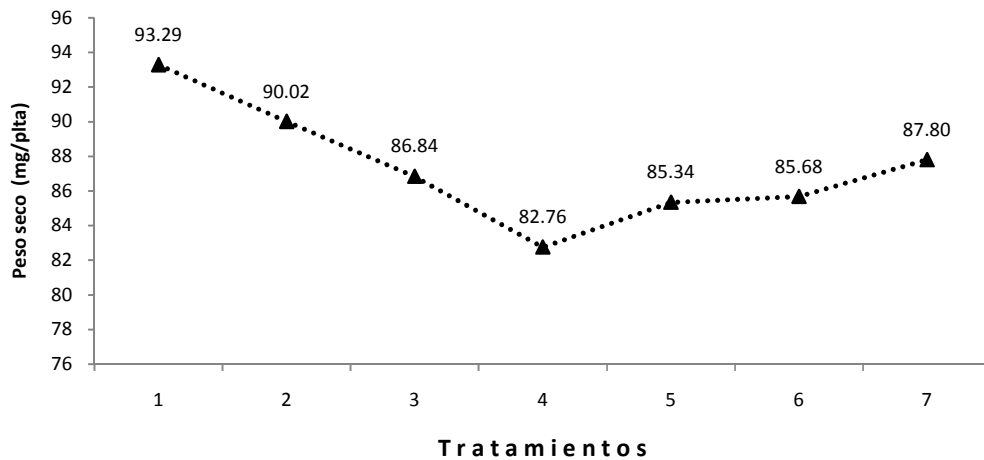


Figura 4.6. Efecto de los tratamientos químicos evaluados en la variable peso seco de plántulas de la semilla de *Pinus cembroides* Zucc.

### **Interacción Ambiente por Tratamiento**

Los resultados obtenidos de la comparación de medias de la variable germinación estándar con lo referente a la interacción ambiente\*tratamiento se muestran en la Figura 4.7. donde se observa que el porcentaje más alto de germinación se presentó en el tratamiento uno ambiente uno con un 88.41%, siendo el mejor estadísticamente, en cambio el porcentaje más bajo se observó en el ambiente dos tratamiento tres con un 60.16%.

Los resultados confirman que el Captan es el fungicida más efectivo para mantener la calidad de la semilla de *Pinus cembroides*, ya que dentro de los tres ambientes los porcentajes más altos de germinación se presentaron en el tratamiento uno y dos, es importante mencionar que las condiciones de almacenamiento también influyeron en los resultados pues en el ambiente dos

se presentaron los valores más bajos de GS de los tratamientos Captan 1000 g i.a/t y 750 g i.a/t.

Estos resultados concuerdan con los encontrados por Moreno *et al.*, (1998), donde evaluaron la germinación y el vigor en semilla de trigo tratada con los fungicidas: Clorotalonil, Thiram, Captan, Carboxin, Pentacloronitrobenceno y una mezcla de Captan+Carboxin almacenada por 120 días, donde el Captan fue uno de los fungicidas que preservó mejor la viabilidad de la semilla.

En relación a la variable semillas muertas (Figura 4.7.) en la fuente de variación ambiente\*muestreo, el valor más alto se mostró en el ambiente uno tratamiento seis con un 37.75%, y el valor más bajo de semillas muertas se presentó en el ambiente uno tratamiento uno con 9.2%, siendo el mejor estadísticamente, también se observó que el tratamiento a base de Captan presentó los porcentajes más bajos de SM en los tres ambientes, exhibiendo un efecto protector sobre la calidad de la semilla.

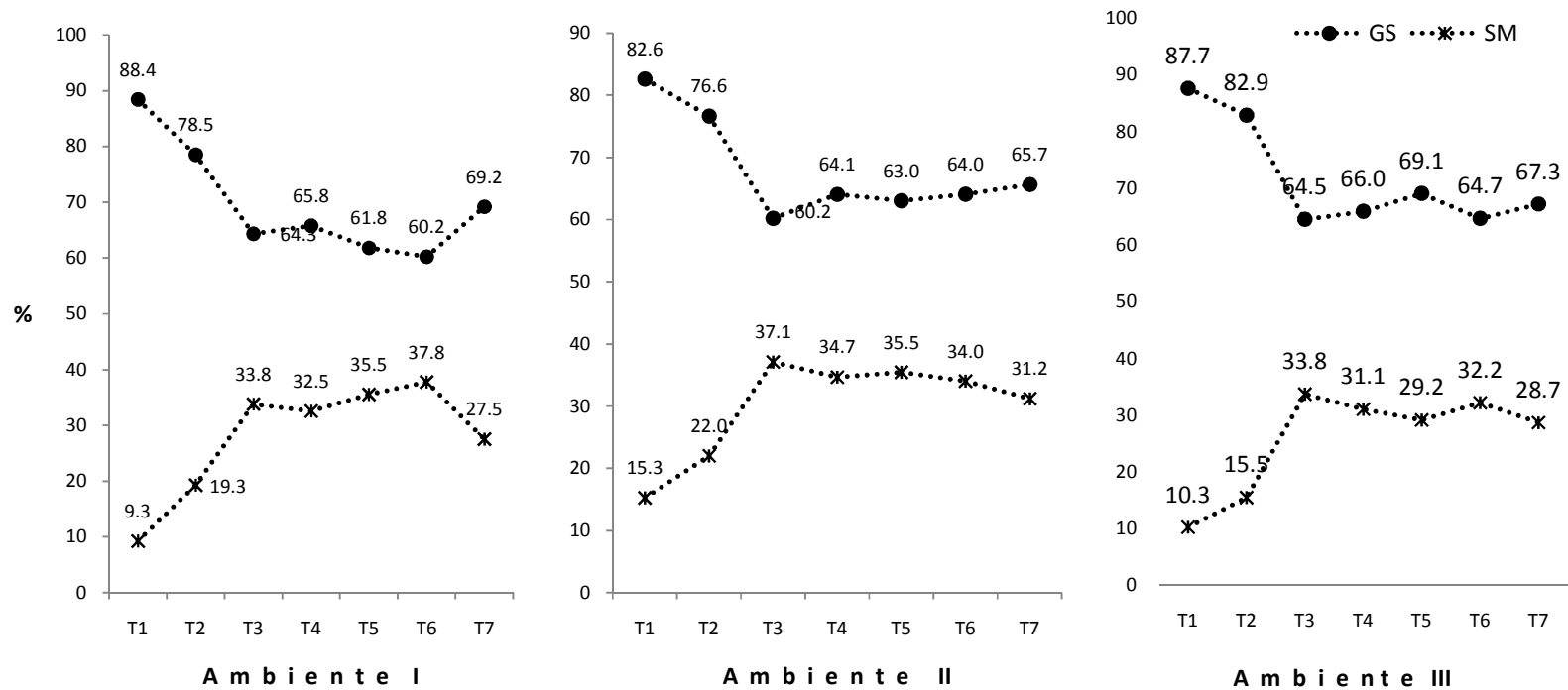


Figura 4.7. Efecto de la interacción ambiente por tratamientos químicos evaluados en la variable germinación estándar y semillas muertas de *Pinus cembroides* almacenada durante 150 días.



### Interacción Muestreo por Tratamiento

En la fuente de variación muestreo\*tratamiento se encontró una diferencia significativa ( $P \leq 0.01$ ) en la variable SM y al realizar la comparación de medias correspondiente se encontró que el muestreo uno tratamiento uno presentó el valor más bajo con 8%, por el contrario, el valor más alto se observó en el muestreo cinco tratamiento tres (38%), esto debido a que la semilla se deteriora a medida que aumentan los días de almacenamiento (Figura 4.8.).

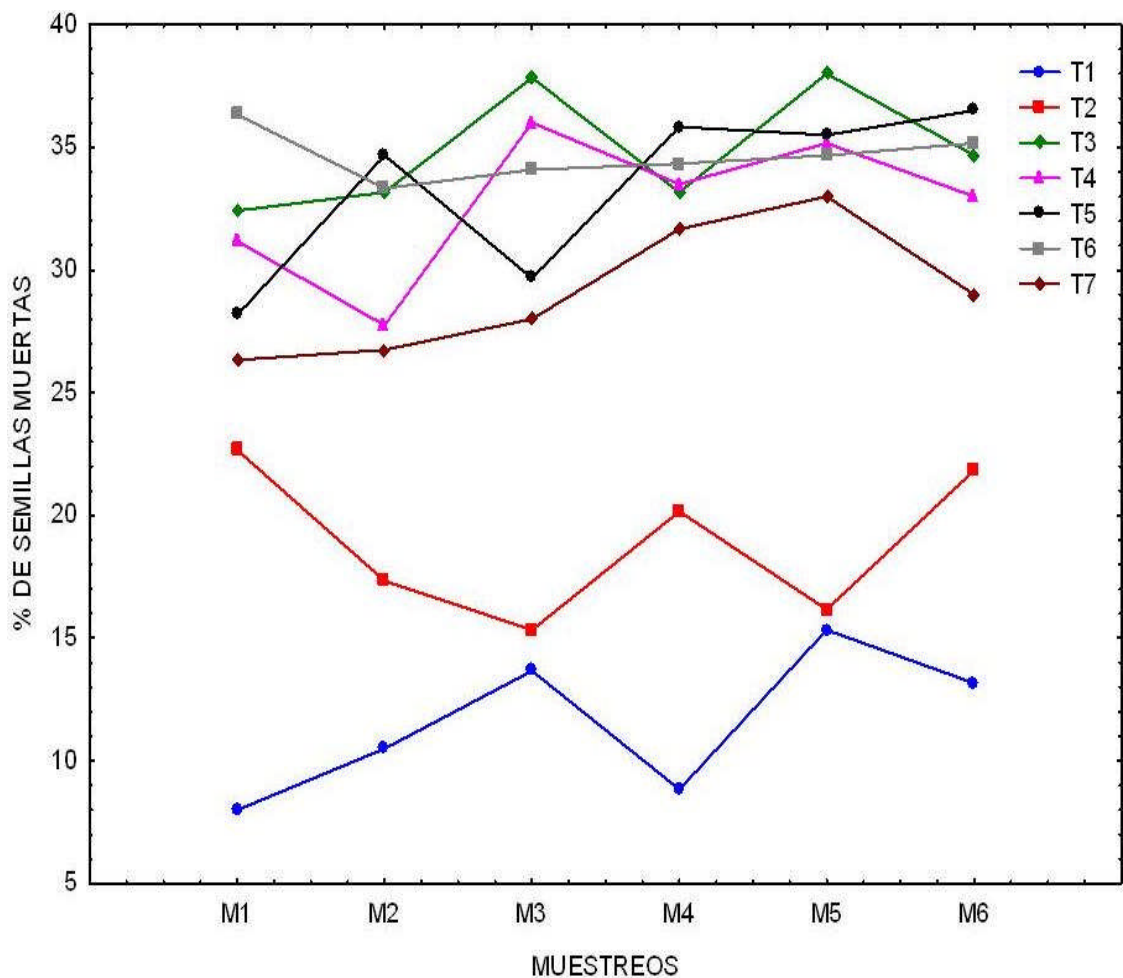


Figura 4.8. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable semillas muertas de *Pinus cembroides* almacenada durante 150 días.

### **Interacción Ambiente por Muestreo por Tratamiento**

Dentro de la triple interacción se presentó una diferencia altamente significativa para las variables PA y SM, por lo tanto se hizo la prueba de medias para determinar que combinación fue mejor. Para la variable plántulas anormales encontramos el valor más alto en la combinación muestreo cinco ambiente tres tratamiento seis con un 10.5% siendo este el valor más bajo; tanto numéricamente como estadísticamente, por el contrario el porcentaje más bajo fue de 1% presentándose en diferentes combinaciones entre los ambientes, muestreos y tratamientos (Figura 4.9.).

En el caso de las semillas muertas, el porcentaje más bajo se observó en el muestreo uno ambiente tres tratamiento uno con 3%, por otra parte el valor más alto se presentó en el muestreo cuatro ambiente uno tratamiento cinco y este fue de 43.2%, esto debido al deterioro de la semilla (Figura 4.10).

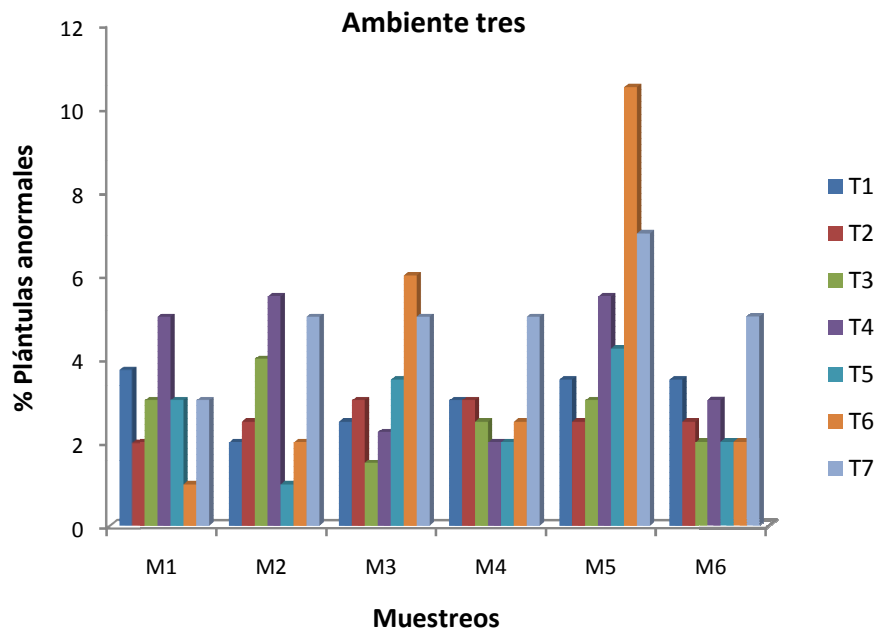


Figura 4.9. Comportamiento de las variable plántulas anormales de *Pinus cembroides* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

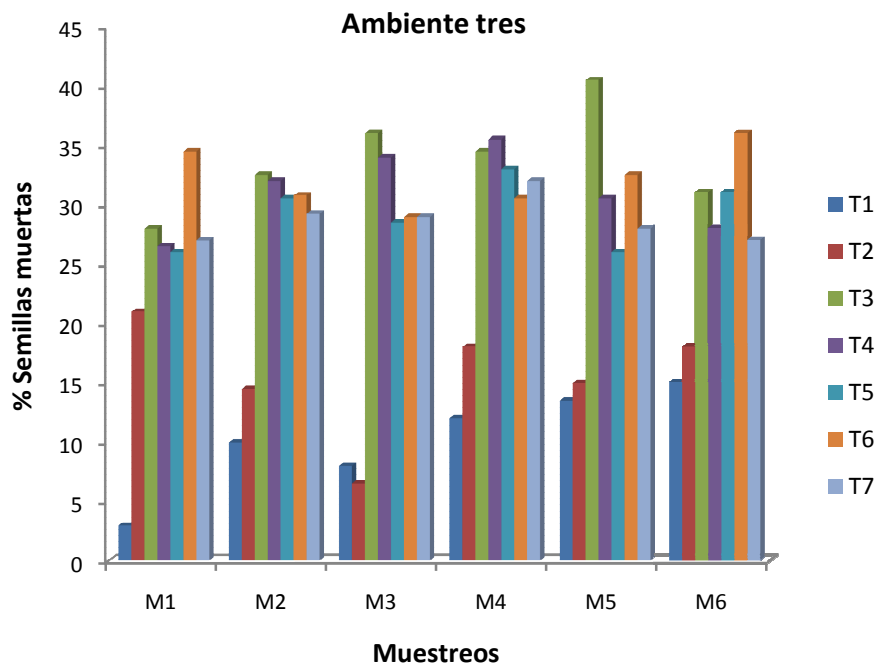


Figura 4.10. Comportamiento de las variable Semillas muertas de *Pinus cembroides* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

## **Sanidad**

La prueba de sanidad para detectar los hongos de almacén consistió en la observación directa de la muestra tomando semillas libres y semillas dañadas por hongos. Los resultados que se obtuvieron de este ensayo fueron los siguientes: en la evaluación a los cero días de almacenamiento se mostró alrededor del 20% de semillas libres, además se presentaron hongos del género *Penicillium* que fue de 70% en promedio, esto puede deberse a que el hongo se encuentra alojado en la testa de la semilla, así mismo Christensen y Sauer (1982) mencionan que este hongo se puede desarrollar en contenidos de humedad de la semilla de 8-10% en especies como Cártamo, cacahuete y girasol. Otros de los hongos que se presentaron fueron *Aspergillus niger* y *Alternaria*, estos en menor porcentaje que fue en promedio de 5% de incidencia.

El análisis de hongos realizado a los 30 días de almacenamiento dentro del ambiente uno (Cuadro 4.2.), mostró que la semilla tratada con Captan a una dosis de 1000 g i.a./t fue el que protegió mejor a la semilla ya que solo fue invadida por *Alternaria* con 5%, seguido del Captan 700 g i.a./t el cual mostró un 70% de semillas libres y fue invadida por *Penicillium* con 5% y *Alternaria* con 20% de incidencia. Resultados similares obtuvo Rivera (1991) al realizar un estudio sobre el combate de los hongos de almacén en semilla de trigo tratada con fungicidas y almacenada en condiciones de alta y baja humedad, donde observó que uno de los fungicidas que mejor protege a la semilla del ataque de

hongos es el Captan. Por otra parte, el Carbendazim 600 g i.a./t y el testigo son los que presentaron el menor porcentaje de semillas libres.

Dentro del ambiente dos y tres, el tratamiento que presentó mejores resultados fue el Captan 1000 y 750 g i.a./t, cabe mencionar que en estos dos tratamientos se reportó arriba del 80% de germinación en los tres ambientes, por otra parte, el testigo fue el más afectado por los hongos *Aspergillus niger*, *Alternaria* y en mayor porcentaje *Penicillium*.

La evaluación que se realizó en los tres ambientes a los 60 días de almacenamiento de la semilla de *Pinus cembroides* mostró que el género *Penicillium* fue el que se presentó en porcentajes más altos en los tratamientos a base de Thiram y en el testigo, en menor incidencia se presentó *Alternaria* y *Aspergillus niger*, la semilla tratada con Captan presentó los porcentajes más altos de semilla libre y solo fue atacado por *Alternaria* con un promedio del 5% (Cuadro 4.2.)

En un trabajo realizado en la identificación de patógenos en semillas forestales recolectadas en diferentes años, se encontró que la semilla *Pinus cembroides* colectada en 1998, fue atacada por las bacterias *Erwinia* sp y *Xanthomonas* sp, y por el hongo *Penicillium expansum*, el cual tiene gran facilidad para desarrollarse con una humedad baja en la semilla, y es considerado como uno de los principales causantes de la pérdida de viabilidad de las semillas (Bobadilla, 2000).

A los 90 días de almacenamiento los resultados que se obtuvieron son similares a los muestreos anteriores, ya que el Captan sobresale en los tres ambientes por presentar los niveles más altos de semillas libres, por otra parte el Thiram y el testigo resultan ser los tratamientos más afectados por los hongos de almacén dominando *Penicillium* seguido de *Alternaria* y en porcentajes menores *Aspergillus niger*, es importante mencionar que durante los ensayos de sanidad se presentaron diferentes tipos de hongos pero la incidencia fue mínima por eso no se reportaron (Cuadro 4.2.)

Dentro de los 120 y 150 días de almacenamiento (Cuadro 4.3.), básicamente los resultados fueron iguales a las evaluaciones anteriores, donde el fungicida que protege mejor a las semillas del ataque de los hongos es el Captan en las dos dosis utilizadas, esto se refleja también en los datos obtenidos de la germinación, pues estos dos tratamiento registraron los valores más altos de esta variable. Por otra parte, los tratamientos que se vieron más afectados por los hongos fueron el Thiram y el testigo. Los resultados obtenidos de esta prueba coinciden con lo reportado por Blandón (2004) donde menciona que la semilla de maíz tratada con Captan puede mantener su germinación en un 85% hasta 150 días de almacenamiento.

Cuadro 4.3. Micoflora, germinación y contenido de humedad de la semilla de *Pinus cembroides* Zucc tratada con fungicidas y almacenada bajo tres ambientes por un periodo de 150 días.

|              |    | Periodos de almacenamiento (días) |      |                   |                 |                    |      |      |                   |                 |                    |      |      |                   |                 |                    |
|--------------|----|-----------------------------------|------|-------------------|-----------------|--------------------|------|------|-------------------|-----------------|--------------------|------|------|-------------------|-----------------|--------------------|
|              |    | 30                                |      |                   |                 |                    | 60   |      |                   |                 |                    | 90   |      |                   |                 |                    |
|              |    | %                                 |      |                   |                 |                    | %    |      |                   |                 |                    | %    |      |                   |                 |                    |
| Tratamientos |    | CHS                               | GS   | <i>Alternaria</i> | <i>A. niger</i> | <i>Penicillium</i> | CHS  | GS   | <i>Alternaria</i> | <i>A. niger</i> | <i>Penicillium</i> | CHS  | GS   | <i>Alternaria</i> | <i>A. niger</i> | <i>Penicillium</i> |
| 1            | A1 |                                   | 86.0 | 5                 | 0               | 0                  |      | 86.5 | 5                 | 0               | 0                  |      | 92.0 | 0                 | 0               | 0                  |
| 2            |    | 8.6                               | 79.0 | 20                | 0               | 5                  | 8.7  | 86.0 | 15                | 0               | 0                  |      | 75.0 | 0                 | 0               | 0                  |
| 3            |    |                                   | 65.5 | 0                 | 0               | 60                 |      | 58.0 | 0                 | 5               | 45                 | 8.6  | 66.5 | 0                 | 0               | 65                 |
| 4            |    |                                   | 76.5 | 5                 | 5               | 45                 |      | 64.5 | 0                 | 15              | 50                 |      | 64.5 | 0                 | 0               | 70                 |
| 5            |    |                                   | 65.0 | 25                | 0               | 0                  |      | 66.0 | 40                | 0               | 15                 |      | 53.5 | 20                | 0               | 0                  |
| 6            |    |                                   | 62.0 | 0                 | 10              | 70                 |      | 58.5 | 10                | 0               | 25                 |      | 59.0 | 15                | 0               | 0                  |
| 7            |    |                                   | 71.0 | 8.1               | 6.4             | 58.2               |      | 72.0 | 4.2               | 15              | 50.8               |      | 67.0 | 12.8              | 4.6             | 50                 |
| 1            | A2 |                                   | 86.0 | 0                 | 0               | 0                  |      | 75.5 | 5                 | 0               | 0                  |      | 87.0 | 0                 | 0               | 0                  |
| 2            |    |                                   | 79.5 | 10                | 0               | 0                  |      | 72.0 | 5                 | 0               | 0                  | 13.4 | 77.3 | 0                 | 0               | 0                  |
| 3            |    | 11.8                              | 62.5 | 5                 | 0               | 70                 | 13.1 | 61.5 | 5                 | 0               | 20                 |      | 62.0 | 0                 | 0               | 30                 |
| 4            |    |                                   | 70.0 | 0                 | 5               | 70                 |      | 58.5 | 0                 | 5               | 25                 |      | 64.0 | 0                 | 0               | 25                 |
| 5            |    |                                   | 57.0 | 35                | 0               | 0                  |      | 65.5 | 20                | 0               | 0                  |      | 64.3 | 10                | 0               | 0                  |
| 6            |    |                                   | 64.0 | 25                | 0               | 0                  |      | 64.0 | 25                | 0               | 0                  |      | 62.8 | 35                | 0               | 0                  |
| 7            |    |                                   | 71.0 | 15.5              | 5.4             | 36.3               |      | 70.0 | 6                 | 5               | 36                 |      | 63.0 | 7                 | 5               | 42                 |
| 1            | A3 |                                   | 89.0 | 0                 | 0               | 0                  |      | 90.5 | 0                 | 0               | 0                  |      | 86.0 | 0                 | 0               | 0                  |
| 2            |    |                                   | 84.0 | 0                 | 0               | 0                  | 7.3  | 91.5 | 0                 | 0               | 0                  |      | 80.0 | 0                 | 0               | 0                  |
| 3            |    | 7.6                               | 64.5 | 15                | 0               | 50                 |      | 63.5 | 0                 | 0               | 65                 | 7.6  | 64.0 | 0                 | 40              | 20                 |
| 4            |    |                                   | 63.5 | 10                | 0               | 55                 |      | 64.5 | 0                 | 0               | 80                 |      | 63.5 | 0                 | 0               | 60                 |
| 5            |    |                                   | 69.3 | 20                | 0               | 0                  |      | 69.0 | 30                | 0               | 0                  |      | 66.0 | 0                 | 0               | 5                  |
| 6            |    |                                   | 68.0 | 35                | 0               | 5                  |      | 66.0 | 10                | 0               | 5                  |      | 68.0 | 25                | 0               | 0                  |
| 7            |    |                                   | 66.5 | 12.5              | 1.6             | 40                 |      | 67.0 | 10.8              | 0               | 57.5               |      | 64.0 | 6.6               | 0.833           | 49.166             |

Cuadro 4.3. Continuación...

|              |    | 120   |      |                   |                 |                    | 150   |      |                   |                 |                    |
|--------------|----|-------|------|-------------------|-----------------|--------------------|-------|------|-------------------|-----------------|--------------------|
|              |    | %     |      |                   |                 |                    | %     |      |                   |                 |                    |
| Tratamientos |    | CHS   | GS   | <i>Alternaria</i> | <i>A. niger</i> | <i>Penicillium</i> | CHS   | GS   | <i>Alternaria</i> | <i>A. niger</i> | <i>Penicillium</i> |
| 1            | A1 |       | 84.0 | 0                 | 0               | 0                  |       | 90.0 | 0                 | 0               | 0                  |
| 2            |    |       | 80.0 | 5                 | 0               | 0                  |       | 77.0 | 5                 | 0               | 25                 |
| 3            |    | 8.67  | 62.5 | 5                 | 0               | 85                 |       | 65.5 | 0                 | 10              | 80                 |
| 4            |    |       | 63.5 | 10                | 0               | 90                 | 8.86  | 64.5 | 0                 | 0               | 85                 |
| 5            |    |       | 59.3 | 60                | 0               | 0                  |       | 60.0 | 15                | 0               | 15                 |
| 6            |    |       | 59.0 | 55                | 0               | 5                  |       | 60.0 | 25                | 15              | 0                  |
| 7            |    |       | 65.0 | 6.7               | 6.6             | 65                 |       | 68.0 | 9.16              | 5               | 60                 |
| 1            | A2 |       | 78.5 | 15                | 0               | 20                 |       | 81.5 | 0                 | 0               | 0                  |
| 2            |    |       | 79.0 | 0                 | 0               | 0                  |       | 73.0 | 0                 | 0               | 0                  |
| 3            |    |       | 58.0 | 5                 | 0               | 25                 | 12.93 | 60.0 | 0                 | 0               | 55                 |
| 4            |    | 13.98 | 57.5 | 0                 | 0               | 55                 |       | 62.5 | 25                | 0               | 50                 |
| 5            |    |       | 56.5 | 30                | 0               | 0                  |       | 61.5 | 50                | 0               | 0                  |
| 6            |    |       | 64.5 | 60                | 0               | 5                  |       | 68.0 | 25                | 0               | 0                  |
| 7            |    |       | 54.0 | 20                | 1               | 50                 |       | 68.0 | 23.7              | 2.8             | 49                 |
| 1            | A3 |       | 84.0 | 0                 | 0               | 0                  |       | 82.5 | 0                 | 0               | 0                  |
| 2            |    |       | 83.5 | 0                 | 0               | 0                  | 8.87  | 80.5 | 0                 | 0               | 0                  |
| 3            |    | 8.33  | 57.3 | 10                | 0               | 50                 |       | 68.0 | 5                 | 0               | 50                 |
| 4            |    |       | 65.0 | 5                 | 0               | 55                 |       | 70.0 | 0                 | 5               | 60                 |
| 5            |    |       | 70.5 | 20                | 0               | 0                  |       | 68.0 | 0                 | 0               | 5                  |
| 6            |    |       | 58.0 | 20                | 0               | 0                  |       | 63.0 | 5                 | 0               | 0                  |
| 7            |    |       | 66.0 | 12.5              | 0.833           | 55                 |       | 69.0 | 4.166             | 0.833           | 65                 |



### Comportamiento de *Pinus pseudostrobus* Lind

La segunda parte de los resultados se refiere a la especie *Pinus pseudostrobus* cuyos resultados se presentan en el Cuadro 4.4., donde podemos observar los cuadrados medios del análisis de varianza de las variables evaluadas en esta especie.

Cuadro 4.4. Cuadrados medios y significancia de las variables evaluadas en la calidad fisiológica de semilla de *Pinus pseudostrobus* Lind almacenada bajo tres ambiente por un periodo de 150 días

| FV                           | GL  | GS (%)      | PA (%)   | SD (%)   | SM (%)    | PS (mg/plántula) |
|------------------------------|-----|-------------|----------|----------|-----------|------------------|
| Ambiente                     | 2   | 332.317 *   | 8.669 ** | 19.774** | 9.348 **  | 18.119 **        |
| Error                        | 9   | 75.937      | 0.501    | 0.357    | 0.463     | 0.484            |
| Muestreo                     | 5   | 2819.175 ** | 46.235   | 10.350** | 44.258 ** | 11.810 **        |
| Ambiente*Muestreo            | 10  | 723.784 **  | 1.479 ** | 4.171 ** | 4.776 **  | 15.043 **        |
| Error                        | 45  | 97.448      | 0.591    | 0.264    | 0.669     | 0.491            |
| Tratamiento                  | 6   | 489.831 **  | 4.635 ** | 2.620 ** | 1.284     | 1.232            |
| Ambiente*Tratamiento         | 12  | 287.577 **  | 1.383 ** | 0.835 ** | 2.075 **  | 2.301 **         |
| Muestreo*Tratamiento         | 30  | 302.567 **  | 1.158 ** | 0.819 ** | 2.186 **  | 2.082 **         |
| Ambiente*Muestreo*Tratamient | 60  | 184.066 **  | 1.357 ** | 0.849 ** | 1.240 **  | 1.935 **         |
| Error                        | 324 | 87.122      | 0.543    | 0.285    | 0.646     | 0.612            |
| CV                           |     | 19.667      | 23.185   | 35.016   | 12.908    | 29.266           |

\*, \*\* = Significativo al 5 y 1% respectivamente; GS= Germinación estándar; PA= Plántulas anormales; SD= Semillas duras; SM= Semillas muertas; PS= Peso seco.

Dentro de la fuente de variación ambiente encontramos que para la variable GS hubo una diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) y para PA, SD, SM y PS se presentó una diferencia altamente significativa ( $P \leq 0.01$ ).

En relación a las fuentes de variación: muestreo, ambiente\*muestreo, ambiente\*tratamiento, muestreo\*tratamiento y la triple interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento se encontró una diferencia altamente significativa para las variables GS, PA, SD, SM y PS.

Para la fuente de variación tratamiento se presentó una diferencia altamente significativa solo para las variables GS, PA y SD. Por el contrario para SM y PS no hubo diferencias entre los tratamientos.

En el Cuadro 4.4. También se presentan los coeficientes de variación de las variables GS, PA y SM los cuales se encuentran dentro del rango técnicamente aceptable mientras que el coeficiente de la variable semillas duras y peso seco no lo están. Al respecto Snedecor y Cochran (1967) señalan que el coeficiente de variación es informativo pero no si se usa sin un conocimiento previo de la media y varianza del error características.

### **Ambientes**

Se realizó la comparación de medias para determinar que ambiente resultó ser mejor para almacenar semilla de *Pinus pseudostrobus*. En la variable germinación estándar, el porcentaje más alto se observó en el ambiente uno que fue de 48.9%, seguido del ambiente tres con 47.38% y el ambiente dos fue el que mostró el valor más bajo de germinación con 46%, esto debido a las condiciones en que se encontraba almacenada la semilla pues en el ambiente dos había mayor humedad relativa (Figura 4.11.).

La humedad relativa juega un papel muy importante dentro del almacenamiento de semillas, ya que es uno de los factores que influyen en la

longevidad de la semilla, pues al tener humedades altas dentro del almacén la semilla absorbe humedad y así se acelera el proceso de deterioro.

Harrington (1973) señala en uno de los preceptos de almacenamiento que la humedad relativa es más importante que la temperatura para la conservación de semilla. Toole (1957) menciona que la semilla de maíz puede ser almacenada por diez años o más si se mantiene una temperatura de 5°C y humedades relativas de 45 a 50 % en el almacén.

Con lo referente a PA en el ambiente que se presentó el menor número de plántulas anormales fue en el tres con 10.16%, siendo este el mejor estadísticamente, seguido del ambiente uno con 11.21% y en el ambiente tres se presentó el porcentaje más alto con 12.64%.

En la variable semillas duras se mostró el porcentaje más alto en el ambiente uno con 4.65% y dentro de los ambientes dos y tres se presentaron un 2.07% y 2.26% respectivamente siendo estos estadísticamente iguales.

Para el parámetro SM en el ambiente uno se observó el valor más bajo con 37.2% resultando ser el mejor estadísticamente, no así para el ambiente dos y tres ya que presentaron un 41.1 % y 42.1% respectivamente estando dentro del mismo grupo estadístico (Figura 4.11.).

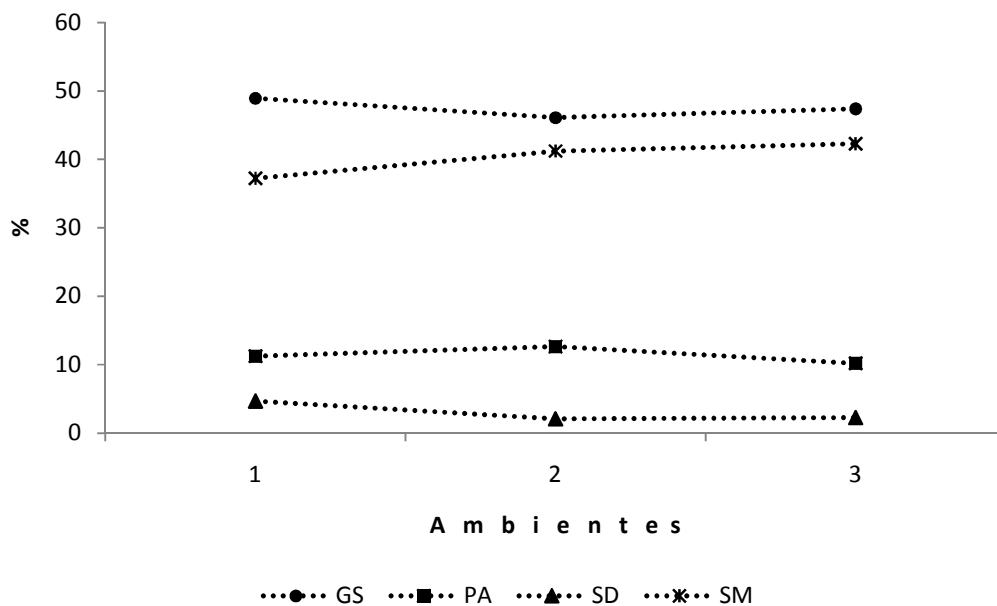


Figura 4.11. Comportamiento de las variables germinación estándar, plántulas anormales, semillas duras y semillas muertas evaluadas en *Pinus pseudostrobus* almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.

Debido a la significancia observada en la variable peso seco, se realizó la comparación de medias, donde el ambiente dos resultó ser el mejor estadísticamente con 12.5 mg/plántula mientras que los ambientes uno y tres presentaron valores de 6.7 y 6.3 mg/plántula respectivamente ambos pertenecientes al mismo grupo estadístico.

### Muestras

La significancia observada en las cinco variables para la fuente de variación muestras pone de manifiesto el efecto del tiempo de almacenamiento sobre la calidad de la semilla, por lo que fue necesario realizar una prueba de

medias para cada variable con el objeto de conocer el mejor muestreo en cada caso.

En la variable GS, el valor mas bajo se presentó en el primer muestreo tal situación puede ser atribuida a un efecto toxico del fungicida en la semilla ya que en el segundo muestreo aumenta el porcentaje de germinación disminuyendo paulatinamente hasta el último muestreo. En la ecuación de regresión en la variable GS se obtuvo un valor de intercepto de 46.8%, y pendiente positiva con 0.187 debido a que en el primer muestreo se presentó un efecto toxico del fungicida que inhibió la germinación, y al desaparecer tal efecto la germinación aumentó de ahí el signo y el valor del coeficiente (Figura 4.12.).

La variable de plántulas anormales mostró inconsistencia a través de los muestreos, siendo el mejor el número seis con solo tres casos mientras que en el muestreo cuatro se registró la más alta incidencia con 14% de plántulas anormales. El efecto toxico del fungicida provocó una mayor incidencia de PA en los primeros muestreos la cual declinó con forme disminuyó la residualidad de los fungicidas; esto se observa en la ecuación de regresión de la Figura 4.12. para esta variable.

En cuanto a semillas duras, el sexto muestreo fue el mejor con un valor promedio de uno, mientras que el muestreo tres presentó el valor mas alto con 4.57.

Para el caso de las semillas muertas, el mejor muestreo fue el número cinco y en segundo lugar el muestreo tres, junto con el dos ambos pertenecientes al mismo grupo DMS, el muestreo seis fue el que presentó el valor más alto de semillas muertas con una media de 54.9. La ecuación de regresión para esta variable nos muestra que el coeficiente de regresión va incrementando a través de los muestreos en un 1.02% (Figura 4.12.).

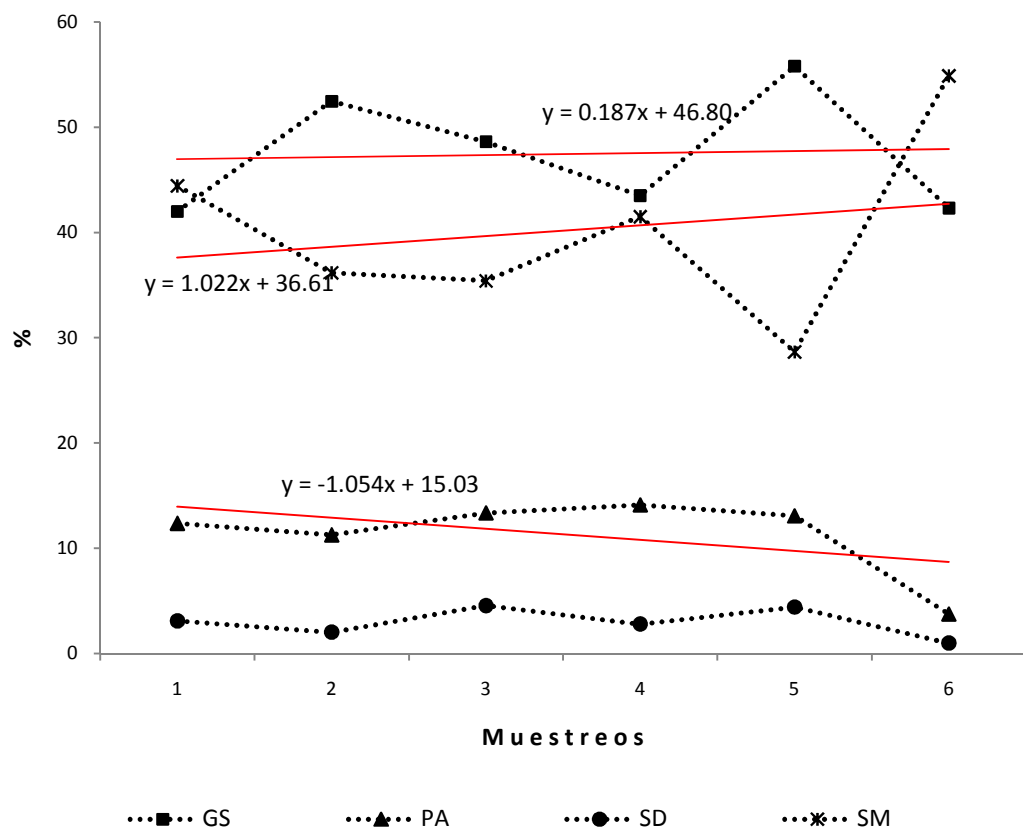


Figura 4.12. Efecto del periodo de almacenamiento en germinación estándar, plántulas anormales, semillas duras y semillas muertas de *Pinus pseudostrobus*.

En lo que concierne a la variable peso seco, el mejor muestreo fue el tercero con un valor de 17.41 (Figura 4.13.), mientras que el segundo mejor muestreo fue el sexto con 7.27 sin que existiera diferencia estadística entre este último y los cuatro restantes.

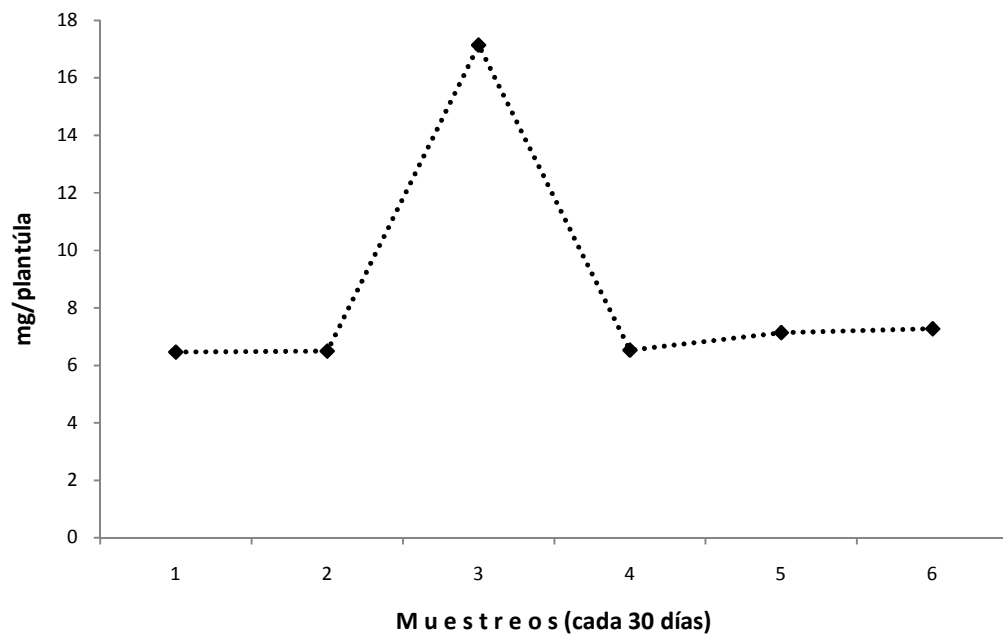


Figura 4.13. Efecto del periodo de almacenamiento en la variable peso seco de *Pinus pseudostrobus*.

### **Interacción Ambiente por Muestreo**

A causa de la alta significancia de la interacción entre ambientes y muestreos en las cinco variables se realizó la prueba de DMS para la separación de medias para cada una de las variables con el fin de determinar la mejor combinación de ambiente con muestreo.

En lo que se refiere a la variable GS, la mejor combinación fue el ambiente tres con el segundo muestreo, mostrando un valor promedio de 59.42%; por otro lado, la combinación que favoreció en menor grado a la germinación fue el ambiente dos con el muestreo cuatro, ya que solo obtuvo una germinación estándar de 38.57% en promedio. En la regresión que se realizó para los tres ambientes a través de los muestreos observamos en la Figura 4.14. que el ambiente uno y dos presentan una pendiente positiva, en tanto que el ambiente tres muestra un coeficiente de -1.17 esto puede ser debido a las condiciones de humedad y temperatura en que fue almacenada la semilla.

El porcentaje de plántulas anormales es una consecuencia directa del deterioro de la semilla, por lo que se puede decir que la combinación que contribuyó en mayor medida a este deterioro fue la del ambiente dos con el muestreo cuatro con un valor de 16.57%, caso contrario se muestra en la combinación del ambiente tres y muestreo seis, quien resultó ser el mejor con 1.11%. Respecto a la variable plántulas anormales se observa la ecuación de regresión donde podemos decir que el ambiente uno y tres tuvieron un comportamiento similar ya que el valor del intercepto fue de 15% y el coeficiente de regresión fue de 1%, observándose una disminución de la pendiente a través de los muestreos esto puede deberse al efecto tóxico en la semilla por los fungicidas aplicados.



En la variable de semillas duras, la mejor y peor combinación por su valor numérico fueron: el ambiente tres con el muestreo seis y el ambiente uno con el muestreo cinco, respectivamente.

Con la finalidad de determinar cual de las combinaciones posibles de muestro con ambiente fue superior una vez que se detectó significancia estadística en esta interacción, se realizó la prueba de medias que arrojó como la mejor combinación el ambiente uno con el muestreo cinco en la variable de semillas muertas. Para el caso de las semillas muertas al obtener la ecuación de regresión observamos en la Figura 4.14. que el ambiente dos y tres presenta un coeficiente de regresión positivo y en el ambiente uno se observa una declinación mínima de la pendiente.

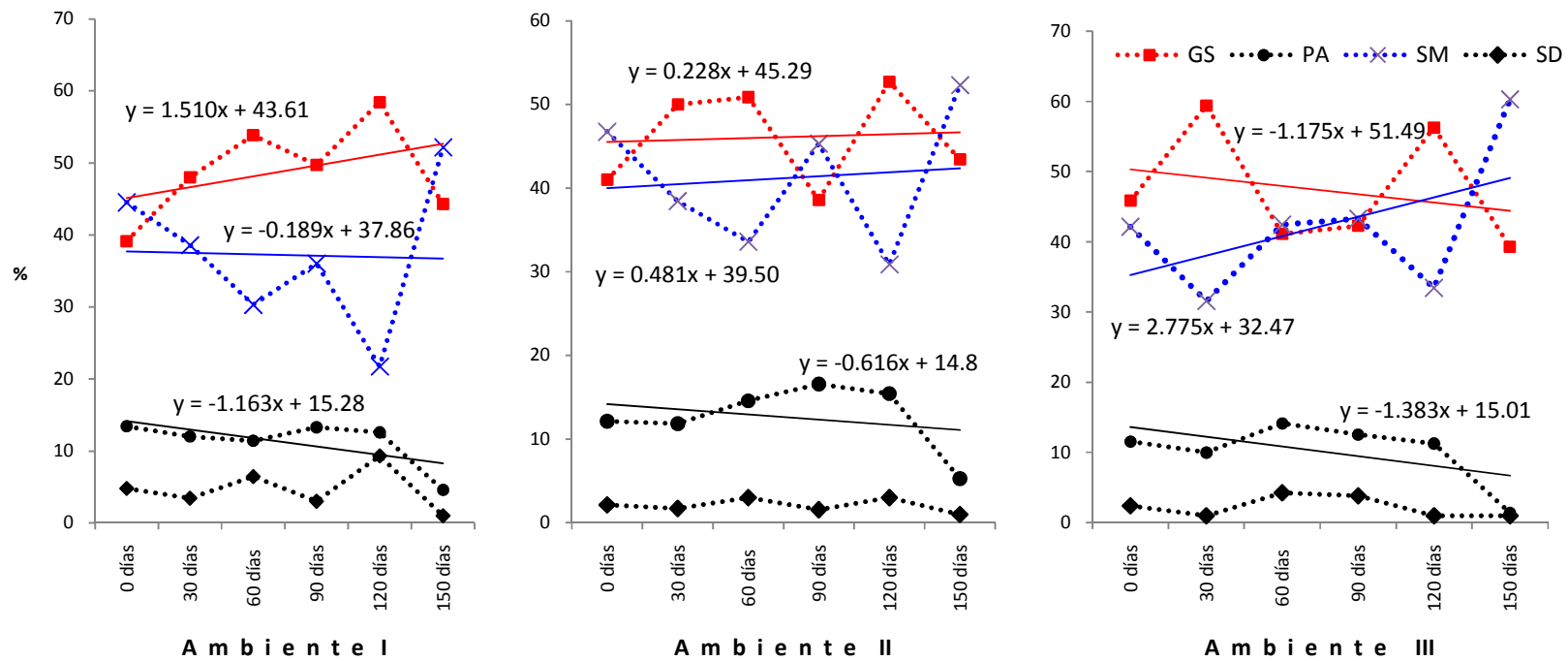


Figura 4.14. Efecto del periodo de almacenamiento en germinación estándar, plántulas anormales, semillas duras y semillas muertas de la especie *Pinus pseudostrobus* almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.

Debido a que el peso seco de plúmula es un buen predictor del vigor como lo mencionan Knitte y Burris (1976), se puede deducir que el ambiente dos con el muestreo tres (Figura 4.15.) es la combinación en donde la especie de pino *pseudostrobus* tiene mayor vigor porque fue donde se presentó el mayor peso (39.66 mg/plántula)

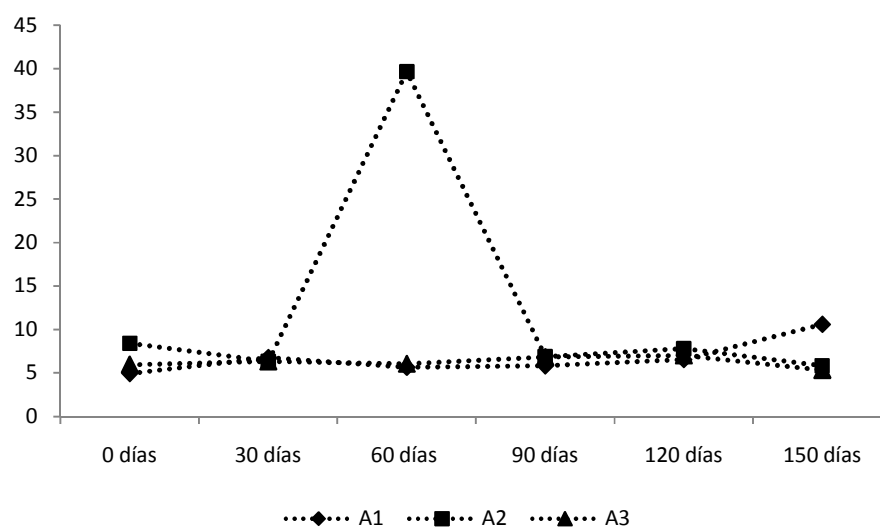


Figura 4.15. Efecto del periodo de almacenamiento en la variable peso seco de *Pinus pseudostrobus* almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.

### Tratamientos

Respecto a la fuente de tratamientos, la variable GS resultó altamente significativa (Cuadro 4.5.), por lo que el segundo paso fue detectar el mejor tratamiento mediante la prueba DMS, la cual muestra claramente que el tratamiento siete fue el mejor con un 52% de GS en promedio y que el peor tratamiento fue el uno.

Al explorar la variable plántulas anormales se observa como el mejor y peor tratamiento, coinciden con el mejor y peor de la variable GS, siendo estos el testigo y el Captan con las dosis mas altas respectivamente, por lo que se puede deducir que esta especie no necesita tratamiento alguno y que la aplicación incluso la perjudica (Cuadro 4.5.).

En lo que a semillas duras se refiere, el mejor tratamiento fue el testigo y el peor el Captan 1000 g i.a./t confirmando lo innecesario del tratamiento en esta especie (Cuadro 4.5.).

Cuadro 4.5. Comparación de medias de las variables germinación estándar, plántulas anormales y semillas duras de *Pinus pseudostrobus* almacenada bajo tres ambientes durante 150 días.

| Tratamientos<br>(g i.a./t) | Germinación Estándar<br>(%) | Plántulas Anormales<br>(%) | Semillas Duras<br>(%) |
|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Captan 1000                | 44.83 D                     | 13.11 E                    | 3.92 D                |
| Captan 750                 | 48.33 CD                    | 12.78 DE                   | 3.33 CD               |
| Thiram 600                 | 44.44 BCD                   | 11.94 BC                   | 3.00 C                |
| Thiram 400                 | 47.67 BC                    | 11.28 BC                   | 3.83 D                |
| Carbendazim 800            | 48.78 B                     | 9.78 AB                    | 2.11 AB               |
| Carbendazim 600            | 46.17 B                     | 12.06 CD                   | 2.67 BC               |
| Testigo                    | 52.00 A                     | 8.44 A                     | 2.11 A                |

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes. DMS (0.05)

### **Interacción Ambiente por Tratamiento**

Al detectar la alta significancia de la interacción ambientes por tratamientos (Figura 4.16.) en todas las variables evaluadas, se procedió a determinar mediante la separación de medias el comportamiento de cada combinación para cada variable.

Con la prueba DMS se pudo identificar la combinación que conserva mejor la germinación estándar (Figura 4.16.) el cual fue el ambiente uno con el tratamiento siete (58.5%); y aquellas combinaciones que perjudican mas esta variable como lo son el tratamiento tres con los ambientes dos (42.5%) y tres (47.0%).

Las mejores combinaciones en el caso de la variable PA, fueron el tratamiento siete con el ambiente tres, ya que obtuvo un valor promedio de 6.33% de plántulas anormales y la combinación del ambiente tres con el tratamiento cinco con igual número de plántulas anormales en promedio (Figura 4.16.).

En atención a la variable SD, fue posible identificar la combinación del ambiente dos con el tratamiento cinco como el de mejor valor numérico y el ambiente uno con el tratamiento dos con el peor desempeño reflejado con 6.67% de semillas duras que presento en promedio (Figura 4.16.). Con el fin de identificar cual o cuales de las 21 combinaciones posibles presentaron el menor número de semillas muertas se realizó la prueba DMS, seleccionando la

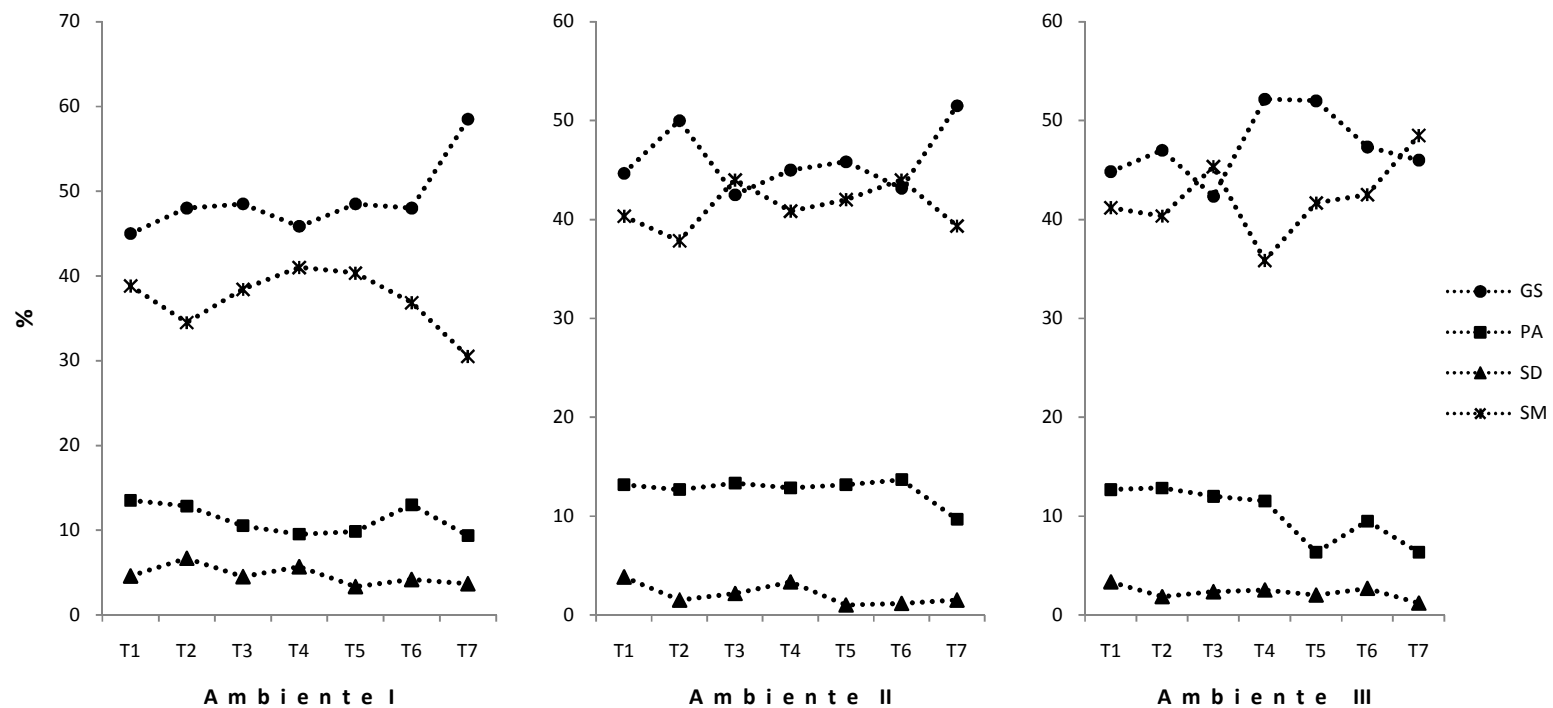


Figura 4.16. Efecto de la interacción ambiente por los tratamientos químicos evaluados en germinación estándar, plántulas anormales, semillas duras y semillas muertas de *Pinus pseudostrabus* almacenada durante 150 días.

combinación del ambiente uno con el tratamiento siete como el mejor, y el ambiente tres con el tratamiento siete como el mas bajo, revelando un efecto ambiental sobre el comportamiento del fungicida en esta variable (Figura 4.16.).

En cuanto a la variable de peso seco, se puede decir que el ambiente dos sin la aplicación de fungicida es el que muestra en promedio el valor más alto con 3.69 mg/plta, mientras que el mismo ambiente uno con la aplicación del tratamiento cuatro presentó el menor valor con 2.21mg/plta (Figura 4.17.).

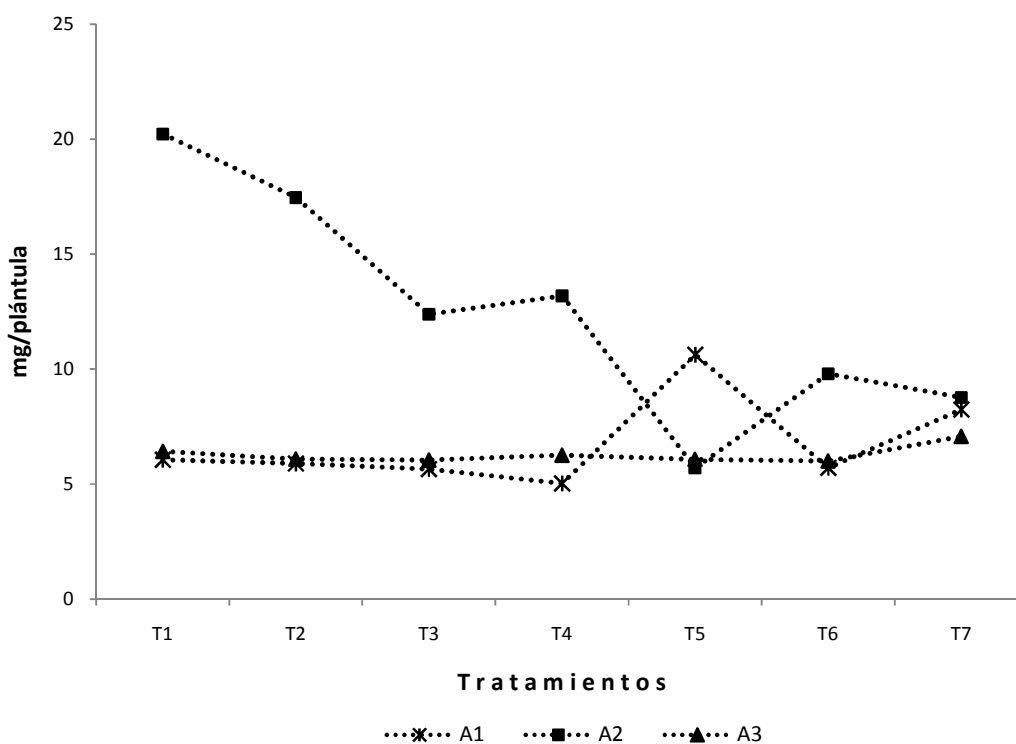


Figura 4.17. Efecto de la interacción ambiente por tratamiento en la variable peso seco de la semilla *Pinus pseudostrobus* almacenada durante 150 días.

### Interacción Muestreo por Tratamiento

Con respecto a la interacción muestreo por tratamiento se presentó una alta significancia dentro de las cinco variables evaluadas, por lo tanto se realizó la comparación de medias DMS para determinar cual fue mejor.

Para la variable GS, el porcentaje más alto se observó en la combinación del muestreo cinco con el tratamiento cuatro, quien tuvo 64%, por otra parte, el valor más bajo se presento en el muestreo seis tratamiento uno con 35.3% (Figura 4.18.).

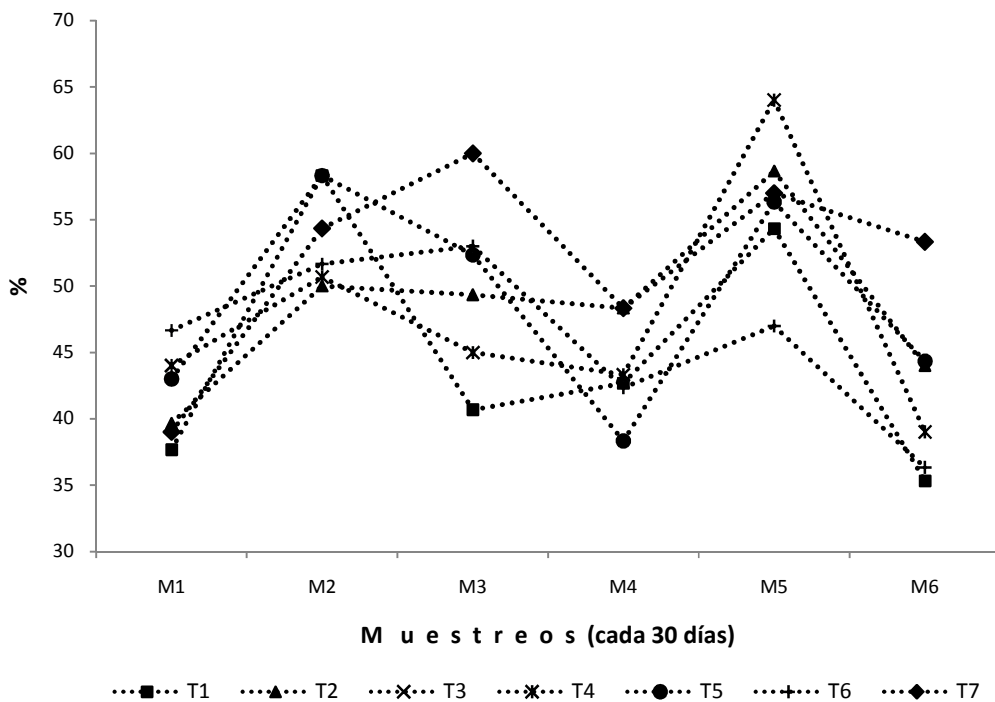


Figura 4.18. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable germinación estándar de *Pinus pseudostrobus* almacenada durante 150 días.



Con relación a las plántulas anormales (Figura 4.19.), los mejores valores se registraron en las combinaciones que incluían el muestreo seis, siendo la mejor el muestreo seis con tratamiento seis con un promedio de dos plántulas anormales.

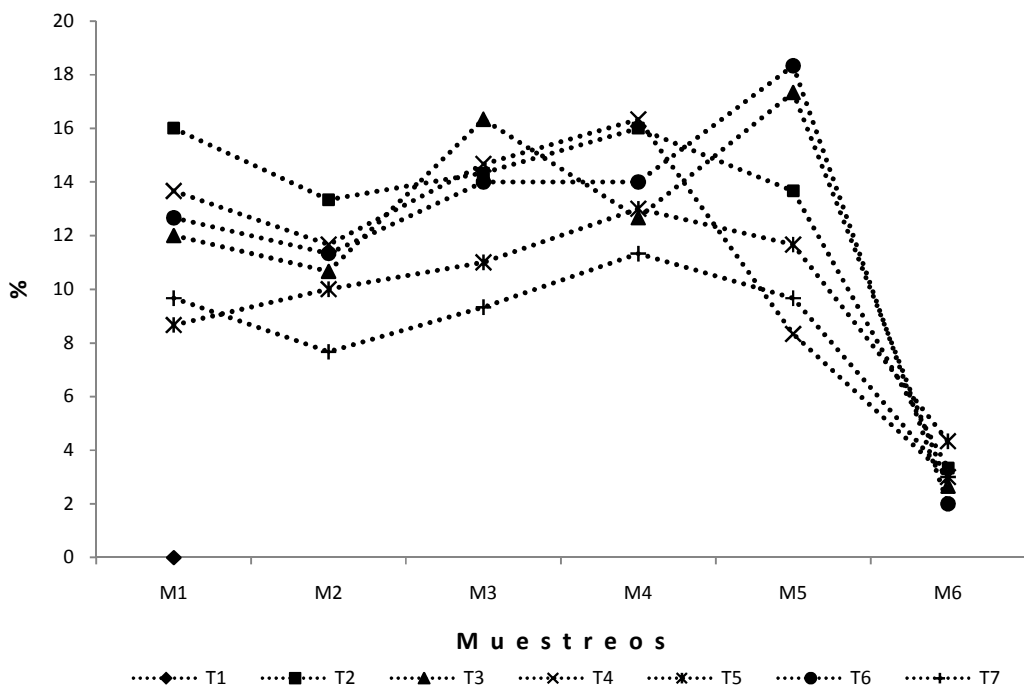


Figura 4.19. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable plántulas anormales de *Pinus pseudostrobus* almacenada durante 150 días.

En el caso de semillas duras sucedió algo similar en plántulas anormales, ya que los mejores valores nuevamente se registraron en aquellas combinaciones que conllevan el muestreo seis y las peores en las que se incluye el muestreo cinco (Figura 4.20.).

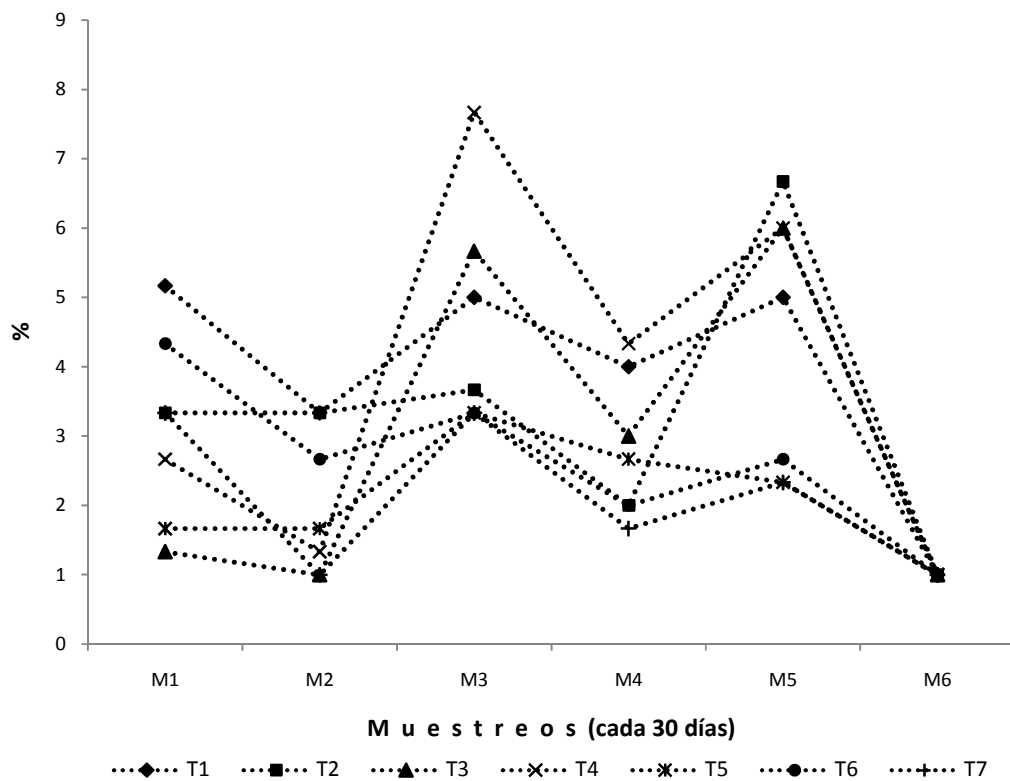


Figura 4.20. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable semillas duras de *Pinus pseudostrobus* almacenada durante 150 días.

En el caso de semillas muertas, las combinaciones que en promedio presentan el mejor valor son las que incluyen el tratamiento dos, mientras que para el caso de muestreos, el muestreo cinco en promedio es el mejor, de esta manera, la mejor combinación fue el muestreo cinco con el tratamiento dos con un valor promedio de 23% de incidencia (Cuadro 4.6.).

Cuadro 4.6. Comparación de medias de la variable semillas muertas de *Pinus pseudostrobus* almacenada durante 150 días en la interacción muestreo por tratamiento.

| <b>Tratamientos<br/>(g i.a./t)</b> | <b>0 días</b> | <b>30 días</b> | <b>60 días</b> | <b>90 días</b> | <b>120 días</b> | <b>150 días</b> |
|------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Captan 1000                        | 45 M/P        | 26 A/D         | 42.3 K/P       | 39.6 I/O       | 30 B/E          | 57.6 R/T        |
| Captan 750                         | 43 L/P        | 35.3 F/K       | 34.6 D/J       | 35.6 F/K       | 23 A            | 53.6 P/S        |
| Thiram 600                         | 44.5 L/P      | 46.3 M/Q       | 40 I/O         | 45 L/P         | 25.3 A/C        | 54.3 Q/T        |
| Thiram 400                         | 41.6 J/O      | 38.3 H/M       | 34.6 D/J       | 38 G/M         | 23.6 AB         | 59 ST           |
| Carbendazim 800                    | 48.6 N/Q      | 32 D/H         | 35.3 E/J       | 48 N/Q         | 31.6 C/G        | 52.3 P/R        |
| Carbendazim 600                    | 38.3 G/M      | 36.3 F/L       | 31.6 B/F       | 43.6 L/P       | 34 D/J          | 62.6 T          |
| Testigo                            | 50 OPQ        | 39 I/N         | 29.3 A/D       | 40.6 J/O       | 33 D/I          | 44.6 L/P        |

Medias seguidas por la misma letra no son significativamente diferentes. DMS (0.05)

En la variable de peso seco total, las combinaciones que comprenden el muestreo tres fueron las que en promedio presentaron el mejor valor, registrándose la combinación del muestreo tres con tratamiento uno como la mejor, con un valor de 33.087 gr. y la peor con el muestreo uno con el tratamiento dos con un valor de 4.914 gr. en promedio (Figura 4.21.).

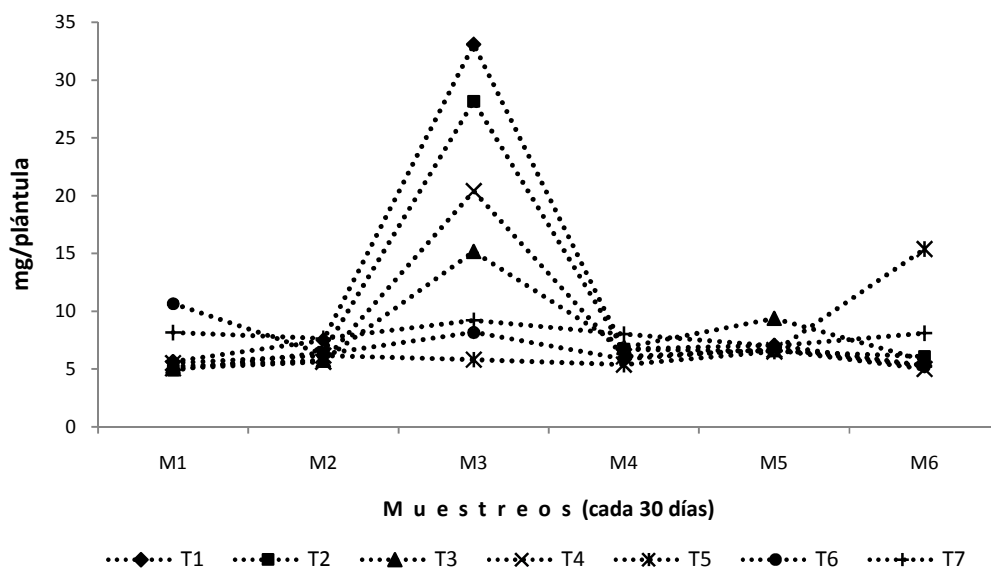


Figura 4.21. Comportamiento de la interacción muestreo por tratamiento en la variable peso seco de plántulas de *Pinus pseudostrobus* almacenada durante 150 días.

### **Interacción Ambiente por Muestreo por Tratamiento**

Dentro de la triple interacción se encontró alta significancia para las cinco variables evaluadas y para determinar que interacción fue mejor se realizó una prueba de medias (DMS).

En germinación estándar, el valor mas alto se mostró en la combinación muestreo cinco ambiente tres tratamiento cuatro con 71%, siendo mejor, tanto numéricamente como estadísticamente, por el contrario el porcentaje mas bajo que se presento fue de 30%, el cual se observo en el muestreo uno ambiente uno tratamiento uno (Figura 4.22.).

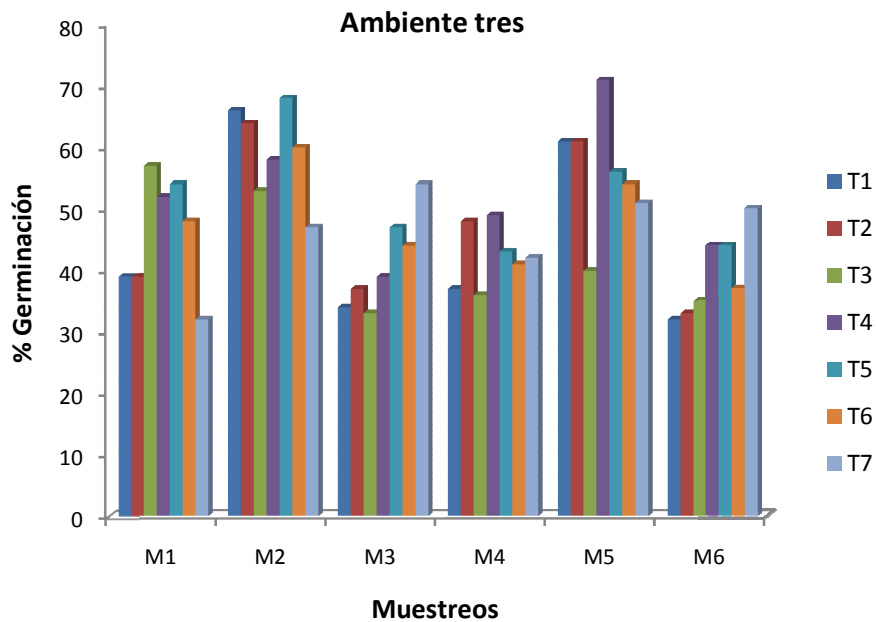


Figura 4.22. Comportamiento de la variable germinación estándar de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

En lo concerniente a las plántulas anormales, el porcentaje mas bajo que se observo fue de 1%, este se presentó en varias de las combinaciones de muestreo\*ambiente\*tratamiento, cabe señalar que fue en el muestreo seis donde se observaron. El valor más alto de PA se encontró en el muestreo cuatro ambiente dos tratamiento cuatro que fue de 24%.

Respecto a la variable de semillas duras, el valor mas bajo que se presentó fue de 1%, este porcentaje se observo en diferentes combinaciones entre ambiente\*muestreo\*tratamiento, por otra parte el número de semillas duras mas alto se mostro en el ambiente uno muestreo cinco tratamiento dos y fue de 18%.

En lo referente a las semillas muertas, el resultado mas bajo se observo en la interacción muestreo cinco-ambiente uno- tratamiento tres, el cual fue de 11%; por el contrario, los valores mas altos de SM se observaron en el muestreo seis y el porcentaje mas elevado se presento en la interacción muestreo seis ambiente tres tratamiento uno con 68% (Figura 4.23.)

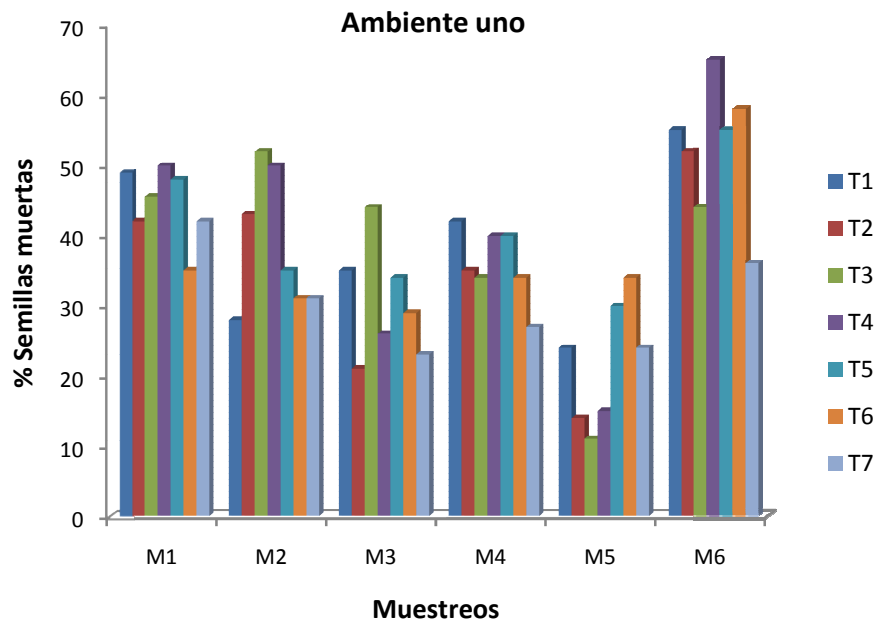


Figura 4.23. Comportamiento de la variable semillas muertas de *Pinus pseudostrabus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

El resultado mas alto que se observo en peso seco de plántula fue de 88.167mg/plántula, este se presento en la interacción muestreo tres ambiente dos tratamiento uno y el valor mas bajo se mostró en la combinación muestreo uno ambiente uno tratamiento dos, el cual fue de 3.885 mg/plántula (Figura 4.24.).

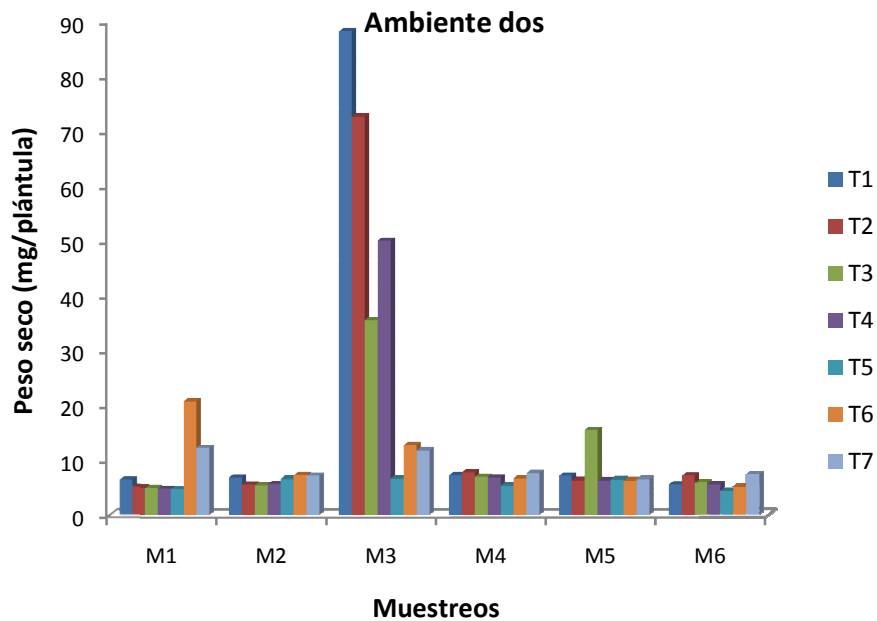


Figura 4.24. Comportamiento de la variable peso seco de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

El tratamiento con fungicidas ayuda a reducir el establecimiento de los hongos en las semillas, logrando mantener así su calidad fisiológica y sanitaria. Para tener éxito en la aplicación de algún fungicida es importante determinar su efectividad, la dosis adecuada así como el efecto protector durante el periodo de almacenamiento.

Basándose en los resultados que se observaron en la especie *Pinus cembroides*, el fungicida que resultó ser mejor para mantener la calidad de la semilla fue el tratamiento a base de Captan a 1000 g i.a./t , ya que durante todo el periodo de almacenamiento mantuvo el porcentaje de germinación por encima de los cinco tratamientos restantes, así como del testigo. Sin embargo para la especie *Pinus pseudostrobus* el tratamiento químico no favoreció a la

semilla, ya que el porcentaje de germinación más alto se presentó en el testigo, además de que el valor de la germinación no sobrepasó el 60% durante los 150 días de almacenamiento, lo cual puede deberse a que la semilla ya estaba deteriorada pues ésta fue colectada en el año 2003.

El incremento de las semillas muertas se observó a través de los muestreos, ya que a medida que aumentaban los días de almacenamiento la semilla sufría un deterioro fisiológico.

En la variable peso seco se presentaron valores muy cambiantes en las dos especies de pino, esto puede ser debido a que el tamaño de las plantas está ligado a las características genéticas que presentan las semillas, ya que estas son colectadas de diferentes árboles, por lo que no hay una homogeneidad de la semilla.

El mejor combate de los hongos, sería el de mantener las semillas bajo condiciones desfavorables para el desarrollo de los hongos, como lo es la baja humedad y baja temperatura. Sin embargo, por diversas razones, en algunas regiones es difícil mantener las semillas con bajos contenidos de humedad, debido a la carencia de equipo de secado y a las altas humedades del ambiente.

Dentro de los tres ambientes que se manejaron en *Pinus cembroides* el que resultó ser mejor fue el ambiente tres es de importancia señalar que el



periodo en que fue almacenada la semilla son los meses donde se presentan las humedades más bajas del año. Para *Pinus pseudostrobus*, el mejor ambiente numéricamente fue el A1, pero estadísticamente el A1 y el A3 fueron iguales.

En la prueba de sanidad para la especie *Pinus cembroides* los hongos que se presentaron con mayor incidencia y frecuencia fueron los del género *Penicillium*, *Alternaria* y *Aspergillus niger* (Cuadro 4.2 y 4.3) afectando la calidad de la semilla.

La dosis del fungicida que mejor protegió a la semilla del ataque de los hongos de almacén fue el Captan 1000 gr. i.a/t durante los 150 días de almacenamiento, seguido del Captan 750 gr. i.a /t, manteniendo el porcentaje de la germinación arriba del 70%.

En la especie *Pinus pseudostrobus* no se detectó la presencia de hongos, mostrando que el tratamiento con fungicidas es innecesario.

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados y los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación se concluye que:

La calidad fisiológica y sanitaria de la semilla se vió afectada por el fungicida y la dosis empleada, así como por las condiciones de humedad relativa y temperatura de almacenamiento dependiendo de la especie a la cual pertenecía dicha semilla

En el lote de semillas de *Pinus cembroides* el mejor tratamiento fue el Captan 1000 g i.a./t, ya que tuvo el porcentaje de germinación más alto, además de mostrar un mejor control en la presencia de hongos de almacén. Para el lote de semillas de *Pinus pseudostrobus* el tratamiento con fungicida se considera innecesario, ya que no hubo incidencia de hongos mientras que en germinación, el testigo fue el mejor.

El ambiente uno con el Captan 1000 g i.a./t en el lote de semillas de *Pinus cembroides* colectada en el año 2005 fue el más efectivo en la conservación de la calidad fisiológica de la semilla al presentar un porcentaje de germinación de 90% a los 150 días, y en la calidad sanitaria el mejor tratamiento fue el Captan sin que se viera afectado por el ambiente. Para el lote de semillas de *Pinus pseudostrobus* el mejor ambiente para conservar la semilla fue el uno.

## RECOMENDACIONES

La utilización de semillas forestales se ha visto limitada al desconocer sus características físicas, genéticas y fisiológicas, además de que existe poca información sobre tratamiento químico de semillas forestales, es por eso que al realizar este trabajo se presentaron algunos problemas, para trabajos posteriores se recomienda lo siguiente:

Al obtener el lote de semilla para trabajar se debe hacer un análisis de pureza para eliminar semillas vanas en el caso de *Pinus pseudostrobus*.

Debido a que se observó un efecto toxico de los fungicidas en las dosis altas en la semilla de la especie *Pinus pseudostrobus*, se recomienda probar dosis más bajas para determinar la adecuada para la semilla de esta especie.

Se recomienda colectar semilla en áreas semilleras seleccionadas con el fin de obtener semilla de mejor calidad genética, ya que entre lotes de semillas existe mucha variación.

## RESUMEN

El presente estudio se realizó en el Banco de Germoplasma Vegetal "Coahuila" con el propósito de evaluar el efecto de los fungicidas Captan, Thiram y Carbendazim a dos dosis cada uno en la calidad fisiológica y sanitaria de las semillas de las especies de pinos *Pinus pseudostrobus* y *Pinus cembroides* bajo dos condiciones de almacenamiento controladas de humedad relativa y temperatura por un periodo de 150 días, el ambiente uno con temperatura de 4°C y humedad relativa del 40-60% y el ambiente dos con temperatura de 4°C, y humedad relativa de 70-100% y el ambiente tres fue bajo condiciones de almacenamiento natural dentro de las instalaciones del Banco. Se realizaron muestreos a los 0, 30, 60, 90, 120 y 150 días, en los cuales se efectuaron las evaluaciones correspondientes de germinación estándar, peso seco de plántulas, plántulas anormales, semillas muertas y semillas duras, mientras que la prueba de sanidad se realizó en el laboratorio de tecnología de semillas de la UAAAN. El arreglo experimental que se utilizó fue un completamente al azar, con cuatro repeticiones y con un arreglo en parcelas subdivididas, considerando como la parcela grande los ambientes, la parcela mediana los muestreos y la parcela chica los tratamientos, la comparación de medias de las variables evaluadas se realizó con la prueba DMS. Los resultados obtenidos muestran que la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla se vio afectada por el fungicida y la dosis empleada, así como por las condiciones de humedad relativa y

temperatura de almacenamiento dependiendo de la especie a la cual pertenecía dicha semilla. En el lote de semillas de la especie *Pinus cembroides*, el mejor tratamiento fue el Captan 1000 g i.a./t, ya que tuvo el porcentaje de germinación más alto, además de mostrar un mejor control en la presencia de hongos de almacén. Para el lote de semillas de la especie de *Pinus pseudostrobus* el tratamiento con fungicida se considera innecesario ya que no hubo incidencia de hongos y en la germinación el testigo fue el mejor. El ambiente uno con el Captan 1000 g i.a./t en el lote de semillas de la especie *Pinus cembroides* fue el más efectivo en la conservación de la calidad fisiológica semilla al presentar un porcentaje de germinación de 90% a los 150 días, y en la calidad sanitaria el mejor tratamiento fue el Captan sin que se viera afectado por el ambiente. Para el lote de semillas de *Pinus pseudostrobus* el mejor ambiente para conservar la semilla fue el uno.

## LITERATURA CITADA

- Barner, H. 1975. The Storage of Tree Seed. FAO/DANIDA, Training Course on Forest Seed Collection and Handling, Chiang Mai, Thailand, FAO 1975.
- Becerra, J. E. 1977. Almacenamiento, Tratamiento y ensayos de germinación de semillas Forestales. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá, Colombia.
- 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.
- Bobadilla, M. M. 2000. Patógenos encontrados en 6 muestras de semillas forestales (*cembroides* Zuc, *Pinus greggi* Engelm y *Cupressus sempervorens* L). Tesis Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila México
- Cervantes, M.R. 2000. Detección de patógenos presentes en tres especies de semillas forestales (*Abies vejary* Martínez, *Pinus Culminicola* y *Picea engelmannii* (Perry) Engelm. Variedad mexicana Martínez). Tesis Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila México.
- Chin, H.F. and E.H. Roberts. 1980. Recalcitrant crop seeds. Tropical Press. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Christensen, C.M. y Kaufmann, H.H.1969. Grain Storage. The role of fungi in quality loss. University of Minnesota press. Minneapolis Minn. United States of America. 153p.
- Christensen, D. M y Sauer, D. B. 1982. Micoflora. In: *Storage of Cereal Grains and their Products*. 3 ed. Amer. Assoc. Cereal Chem. St. Paul, Minn. United States of America p.219-240.
- Cuadra, R.A. 1999. Tratamiento químico a la semilla de soya (*Glicine max*) para mantener su potencial fisiológico. Tesis Maestría. UAAAN. Saltillo, Coahuila México.
- Eguiluz, P. T. 1978. Ensayo de integración de los conocimientos sobre el genero *Pinus* en México. Tesis Profesional, U.A.CH., Chapingo México.

- Farmer, R. E., P. Charrette, I. E. Searle y D. P. Tarjan. 1984. Interaction of light, temperature, and chilling in the germination of black spruce. *Canadian Journal Forest research*. 14 (1): 131-133.
- Harrington, J. F. 1973. Problems of seed storage. In Heydecker. W. *Seed ecology*. Butterworth and Co. Ltd. England. Pp 251.263
- International Seed Testing Association (ISTA) 1996. *International Rules for Seed Testing*. *Seed Sci. and Technol.* 13 (2): 299-355. The Netherlands.
- International Seed Testing Association (ISTA) 2004. *International Rules for Seed Testing*. *Seed Sci. and Technol.*
- Jeffs, K. A. 1986. *Seed treatment*. Second ed. The British Crop Protection Council. England. 332 p.
- Knittle, K.H y J. S. Burris. 1976. Effect of Kernel maturation on subsequent seedling vigor in maize. *Crop Science*. 16:851-855.
- Krugman, S.L., and J.L. Jenkinson. 1974. *Pinus L.* In: *Seeds for woody plants in United States*, Handbook No. 450. USDA, Forest Service.
- Little, E.L., Jr. 1967. Variación y evolución en los pinos mexicanos. En: *Seminario y viaje d estudios de coníferas latinoamericanas*. INIF/FAO, México.
- Monsalvo, E. A. 2004. Patógenos presentes en tres especies de semillas de pino (*Pinus pseudostrobus* Lindl. *P. greggi* Engelm y *P. teocote* Schl & Cham) Tesis Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila México.
- Moreno, M. E. 1988. *Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados*. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 109 p.
- Moreno, M. E. 1993. *Tratamiento químico de las semillas para el combate de los hongos*. PUAL UNAM-INIFAP. México. 68 p
- Moreno, M. E., A. Rivera y M. Vázquez B. 1998. Effect of fungi and fungicides on the preservation of wheat seed stored with high and low moisture content. *Journal of Stored Products Research*. 34:231-236.
- Niembro R. A. 1985. La importancia del conocimiento y la necesidad de investigación en semillas forestales para el establecimiento de plantaciones en México. División de ciencias Forestales. Boletín Técnico No. 24. UACH. Chapingo, México.

- Niembro R. A. 1986. Mecanismos de reproducción sexual en pinos. Editorial LIMUSA, UACH, Chapingo México.
- Ramírez, R.E. 1999. Efectividad biológica del fungicida Vitavax 2000 SA (17% Carboxin + 17% Tirad) como tratamiento a semilla para el control de *Rhizoctonia Solani* Jun en los cultivos de cacahuate, Frijol y garbanzo bajo condiciones controladas. Tesis Licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila México.
- Rivera, P. F.J. 1992. Efecto del tratamiento químico sobre la calidad fisiológica de semilla de maíz (*Zea mays* L.) en dos ambientes de almacenamiento. Tesis Maestría. UAAAN. Saltillo, Coahuila México.
- Rivera, R. A. 1991. Estudio sobre la fitotoxicidad y combate de los hongos de almacén con fungicidas en semilla de trigo almacenada bajo condiciones de alta y baja humedad. Tesis profesional. Centro Básico Departamento de Biología. Universidad Autónoma de Aguascalientes. México. 108 p
- Schönborn, A Von. 1964. Die Aufbewahrung des saatgutes der Waldbaume. Bayrischer Landwirtschaftsverlang, Munchen W. Germany.
- SEMARNAT, 2005. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales.
- Snedecor, G.N., y W. G. Cochran. 1967. Statistical methods. 6<sup>th</sup>. Ed. Iowa State Univ. Press, Ames. IA.
- Styles, B.T. 1993. "Genus Pinus: a mexican purview." In: T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.). Biological diversity of México: origins and distribution. Oxford University Press, Nueva York. Pp. 394-320
- 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.
- Toole, E. H. 1957. Storage of vegetables seeds. U. S. Department of Agriculture Leaflet 220.
- Trujillo N. E. 1994. Resultados preliminares de almacenamiento de semillas de 52 especies forestales. Boletín de Semillas y Mejoramiento Genético Forestal. No. 7 PROSEFOR-CATIE. Turrialba, Costa Rica. 7-8 p.
- Willen, R.L. 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales; Centro de semillas forestales de DANIDA, FAO, Estudio FAO Montes Roma Italia. 522p.



## APÉNDICE

Cuadro A.1 Contenido de humedad de la semilla de la especie *Pinus cembroides* almacenada durante 150 días bajo tres ambientes.

| <b>Ambiente</b> | <b>0 días</b> | <b>30 días</b> | <b>60 días</b> | <b>90 días</b> | <b>120 días</b> | <b>150 días</b> |
|-----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| <b>1</b>        | 8.45 %        | 8.6 %          | 8.74 %         | 8.63 %         | 8.67 %          | 8.69 %          |
| <b>2</b>        | 8.45 %        | 11.77 %        | 13.06 %        | 13.44 %        | 13.98 %         | 12.93 %         |
| <b>3</b>        | 8.45 %        | 7.55 %         | 7.32 %         | 7.55 %         | 8.33 %          | 8.87 %          |

Cuadro A.2 Contenido de humedad de la semilla de la especie *Pinus pseudostrobus* almacenada durante 150 días bajo tres ambientes.

| <b>Ambiente</b> | <b>0 días</b> | <b>30 días</b> | <b>60 días</b> | <b>90 días</b> | <b>120 días</b> | <b>150 días</b> |
|-----------------|---------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| <b>1</b>        | 7.97 %        | 7.79 %         | 8.78 %         | 9.82 %         | 9.34 %          | 10.00 %         |
| <b>2</b>        | 7.97 %        | 7.37 %         | 13.34 %        | 14.91 %        | 15.56 %         | 15.64 %         |
| <b>3</b>        | 7.97 %        | 7.64 %         | 7.89 %         | 8.37 %         | 9.26 %          | 10.46 %         |

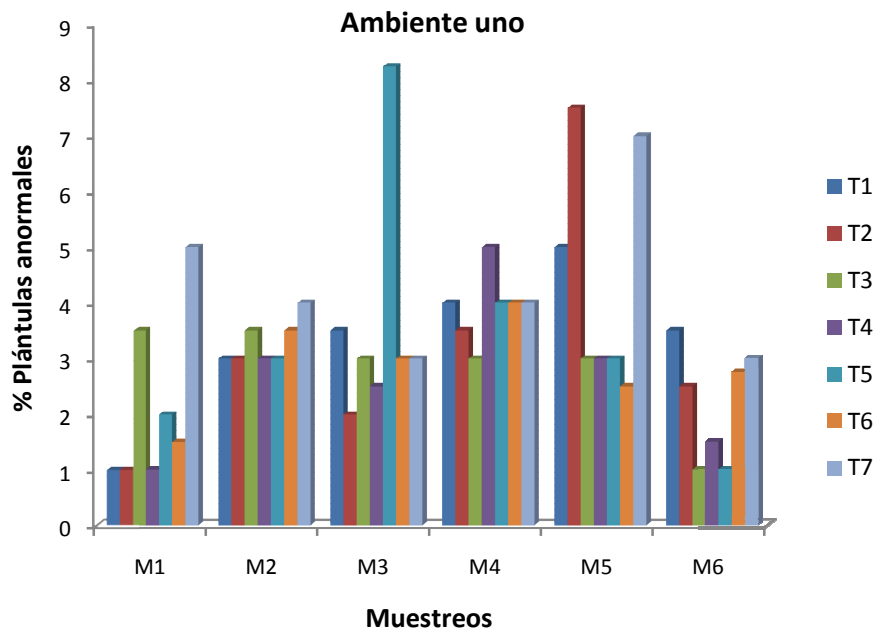


Figura A.1. Comportamiento de las variables Plántulas anormales de *Pinus cembroides* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

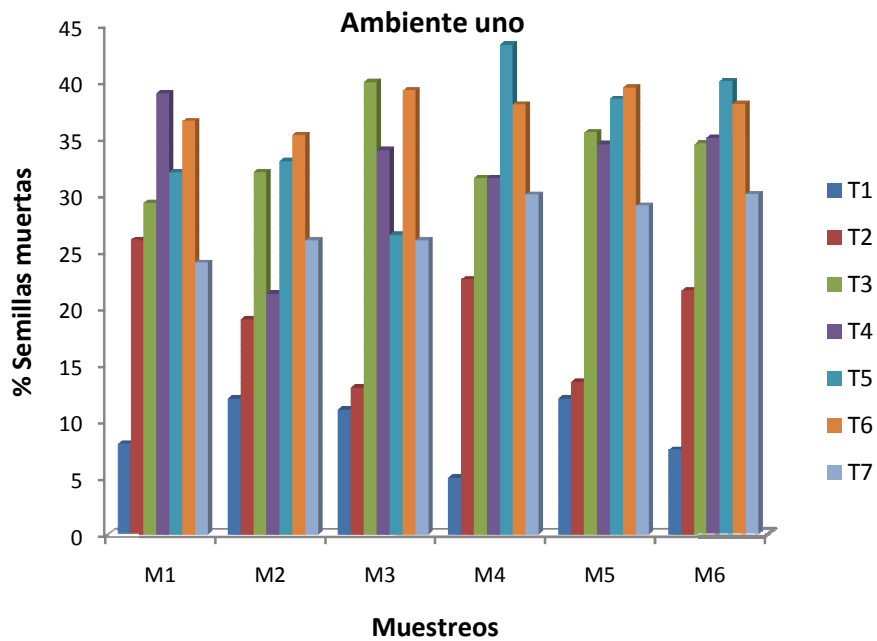


Figura A.2. Comportamiento de las variables semillas muertas de *Pinus cembroides* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

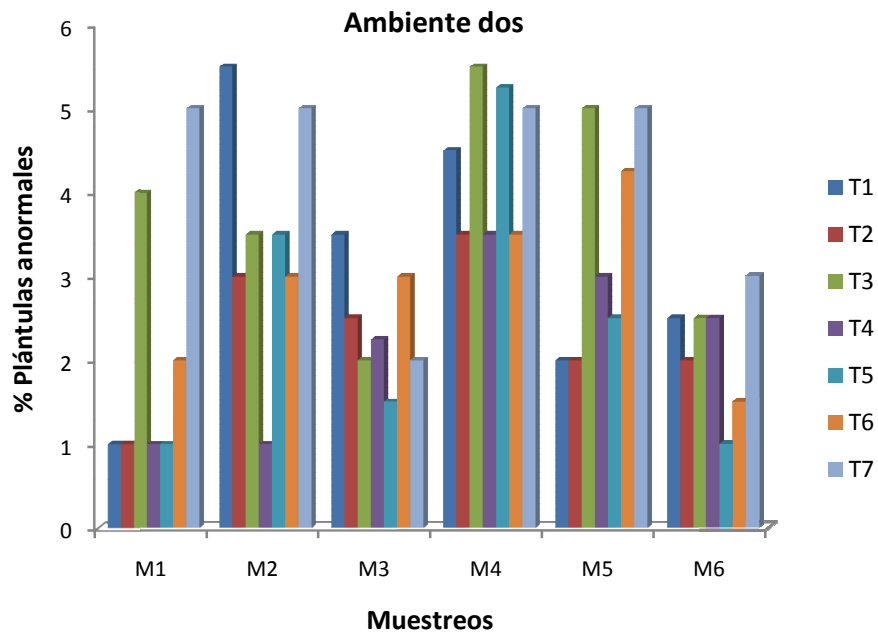


Figura A. 3. Comportamiento de las variables plántulas anormales de *Pinus cembroides* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

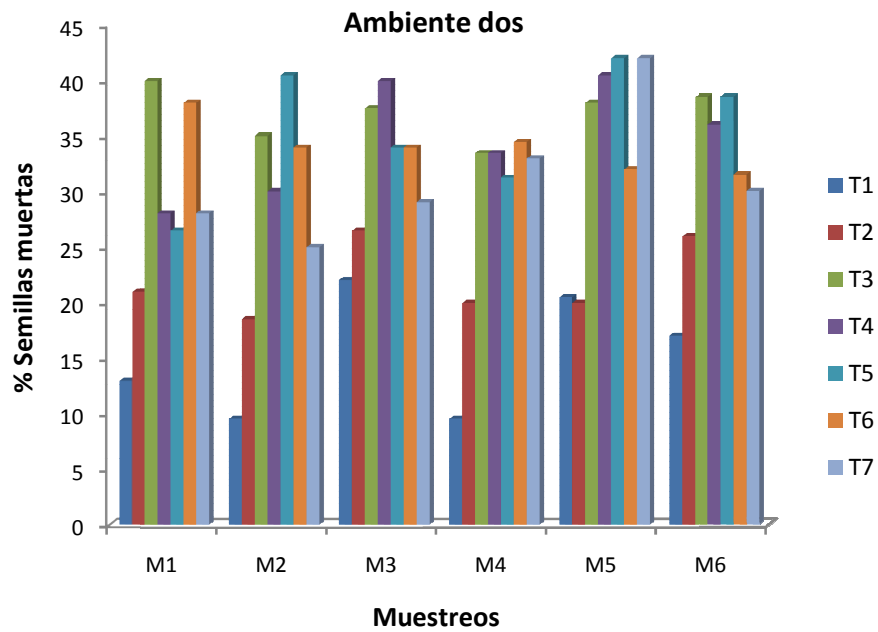


Figura A. 4. Comportamiento de las variables Semillas muertas de *Pinus cembroides* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

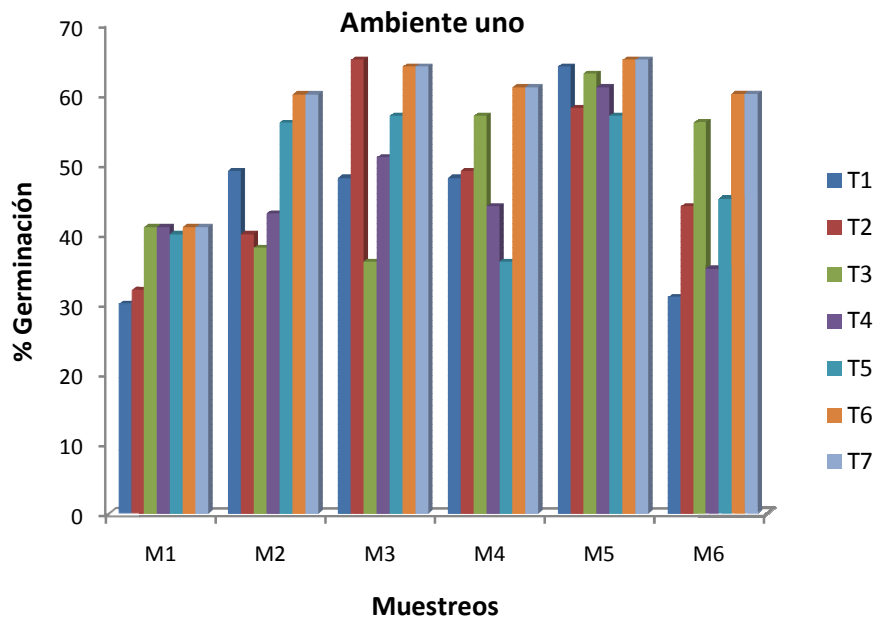


Figura A. 5 Comportamiento de las variable germinación estándar de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

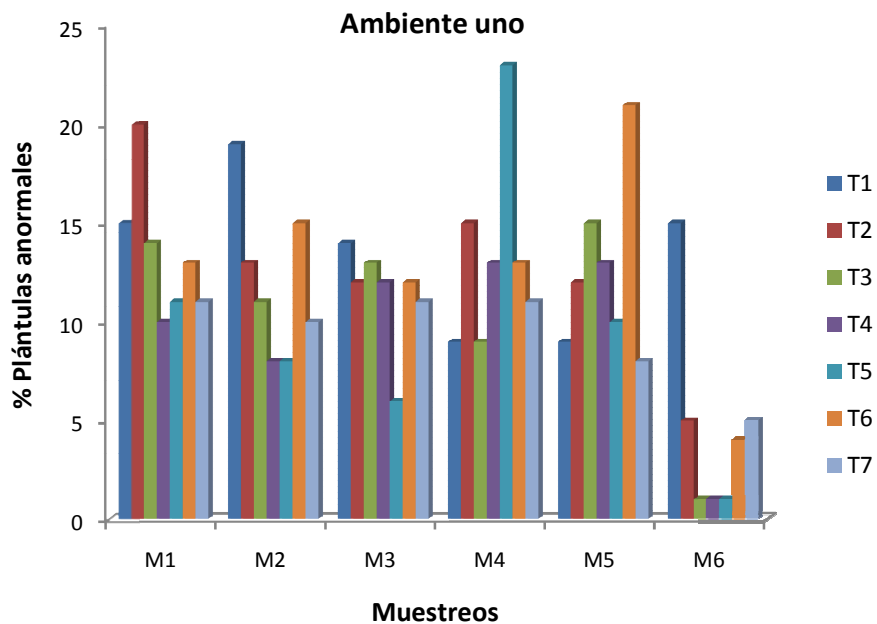


Figura A. 6. Comportamiento de las variable plántulas anormales de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

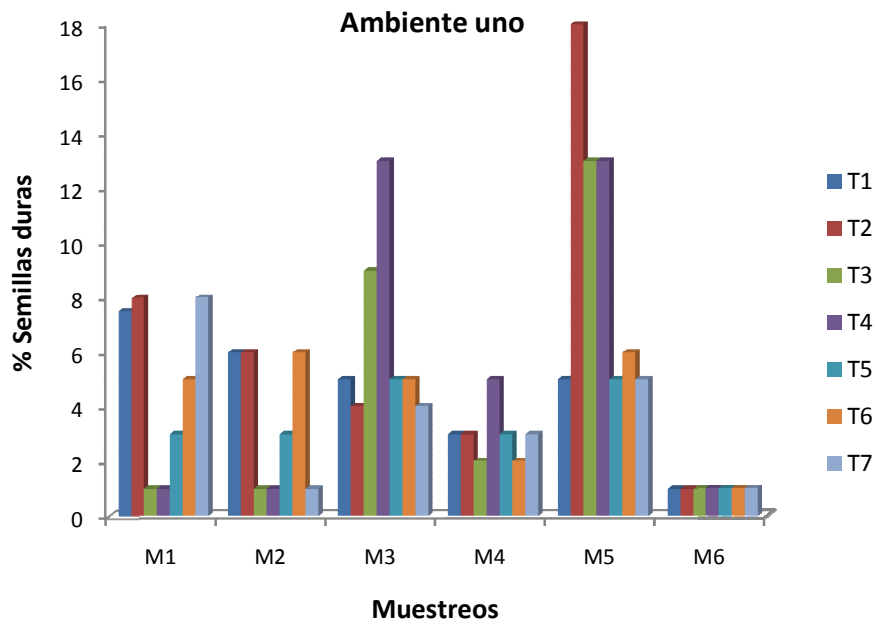


Figura A. 7 Comportamiento de la variable semillas duras de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

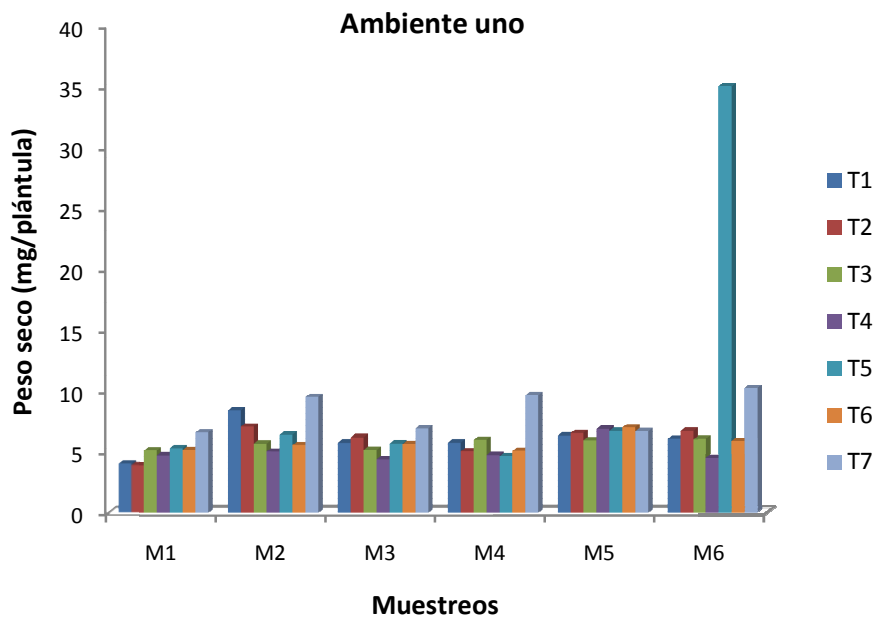


Figura A. 8. Comportamiento de la variable peso seco de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

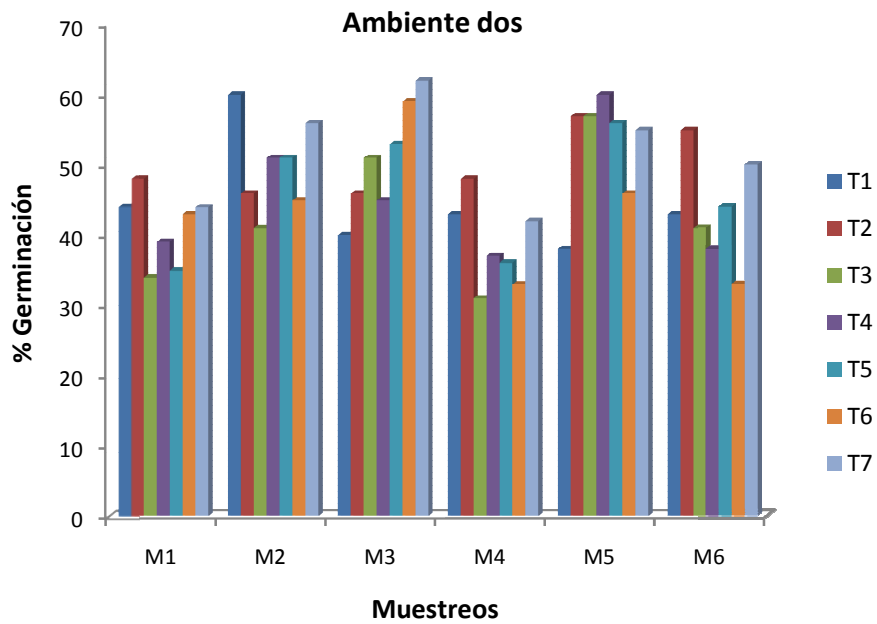


Figura A. 9. Comportamiento de la variable germinación estándar de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

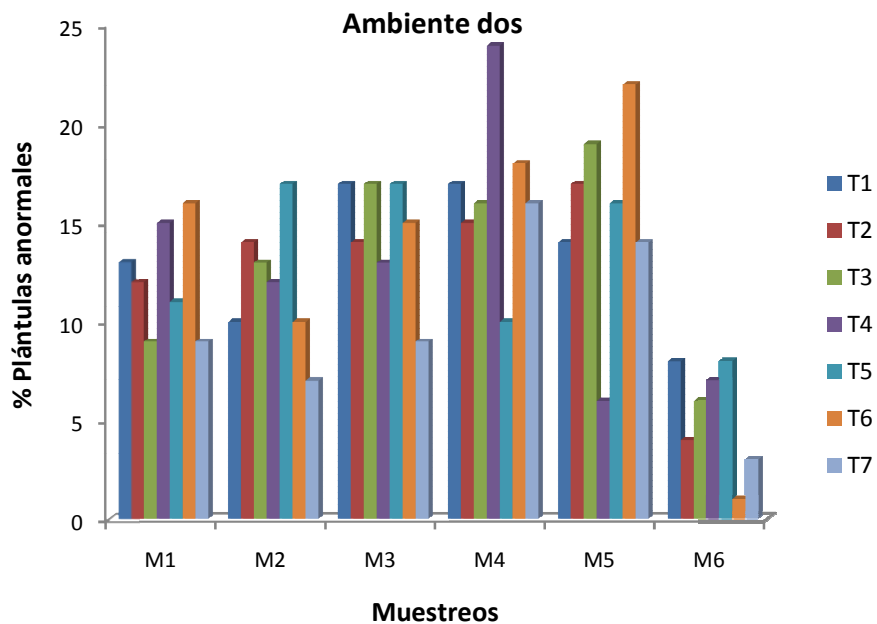


Figura A. 10. Comportamiento de la variable plántulas anormales de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento

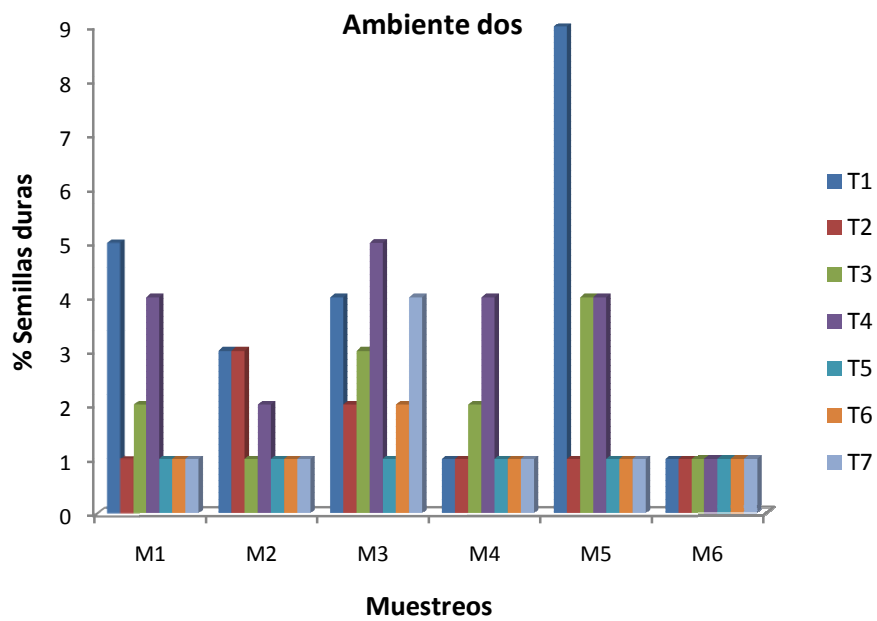


Figura A. 11. Comportamiento de la variable semillas duras de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento

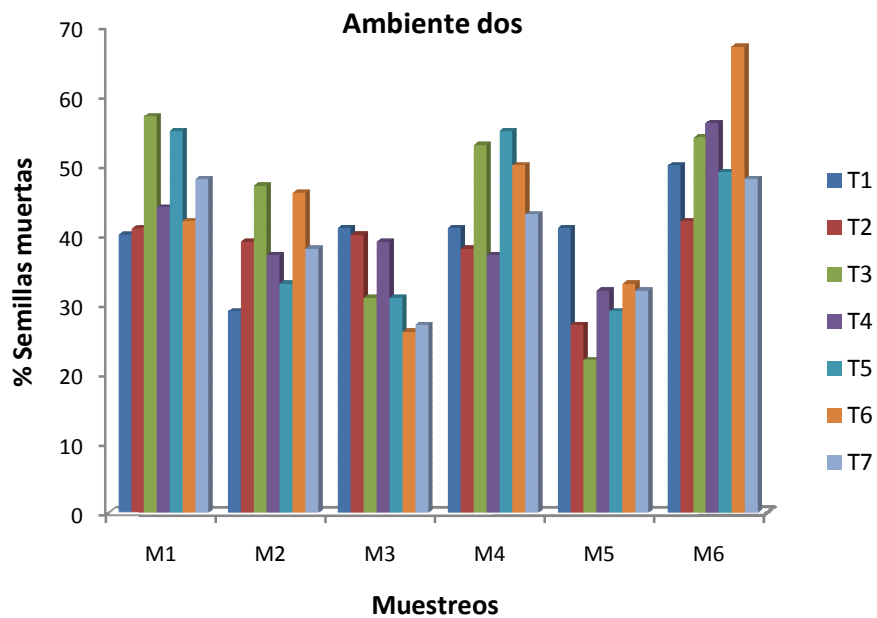


Figura A. 12. Comportamiento de la variable semillas muertas de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

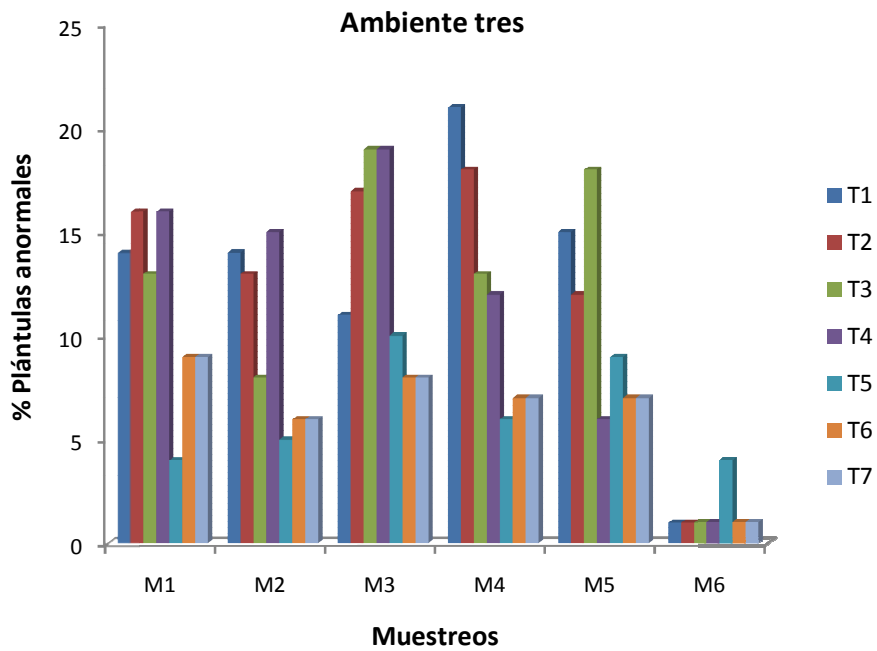


Figura A. 13. Comportamiento de la variable plántulas anormales de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

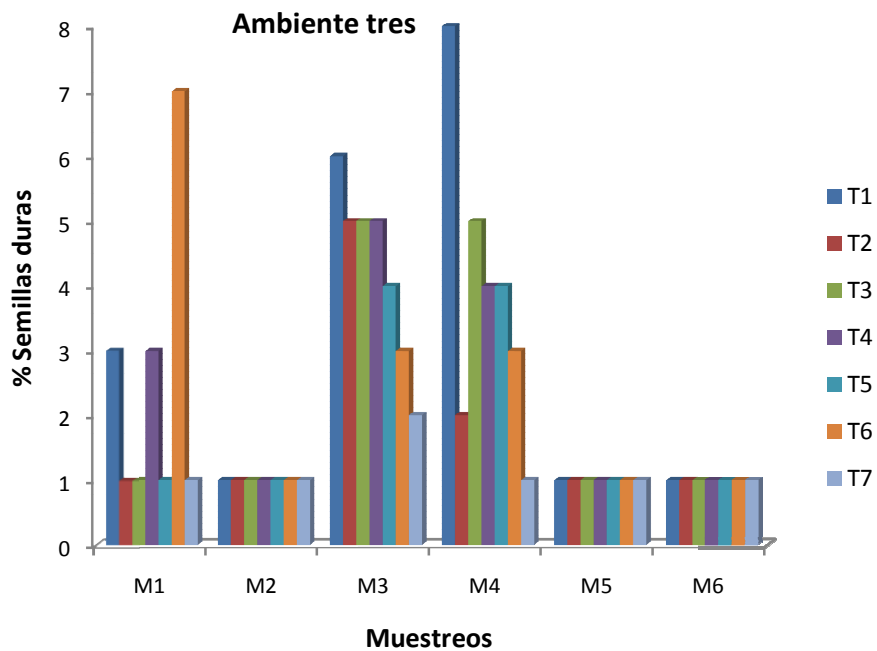


Figura A. 14. Comportamiento de la variable semillas duras de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.



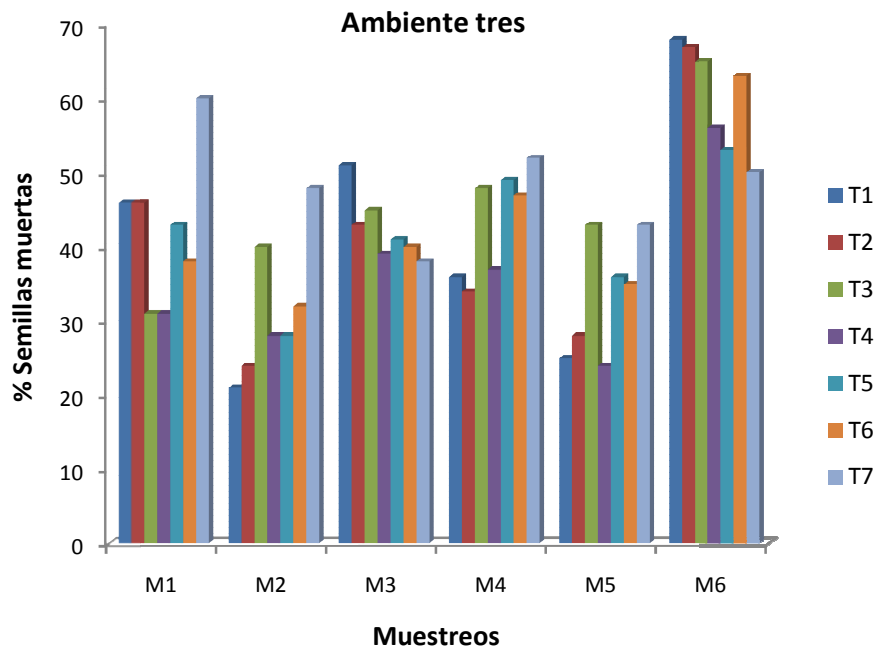


Figura A. 15. Comportamiento de la variable semillas muertas de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.

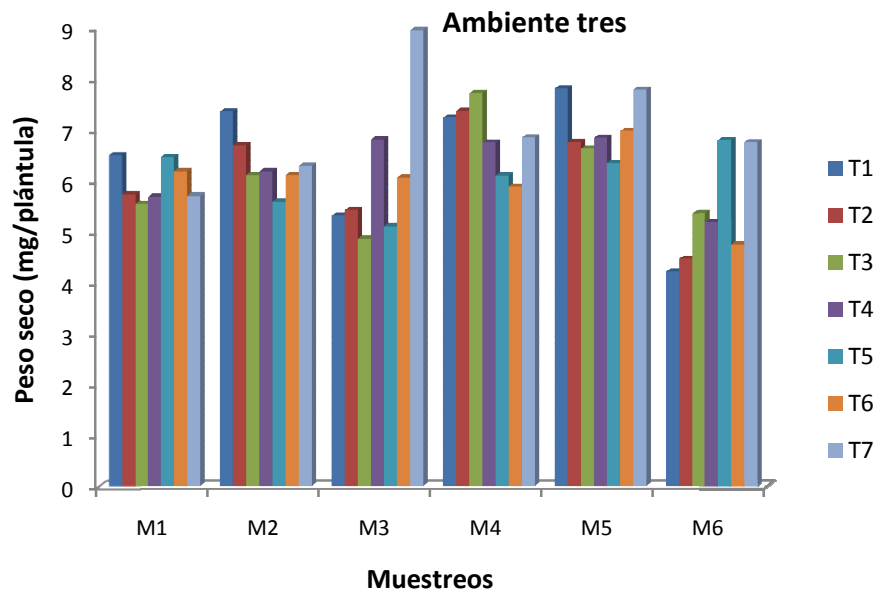


Figura A. 16. Comportamiento de la variable peso seco de *Pinus pseudostrobus* en la interacción ambiente\*muestreo\*tratamiento.