

Contribución al conocimiento del árbol leche María (*Calophyllum brasiliense* Cambess, Clusiaceae): morfometría, viabilidad y germinación de semillas

Contribution to the knowledge of the leche María tree (*Calophyllum brasiliense* Cambess, Clusiaceae): morphometry, viability, and seed germination

Mayra Margarita Gómez-Hernández¹ , Carolina Orantes-García^{1*} ,
Alma Gabriela Verdugo-Valdez¹ , Dulce María Pozo-Gómez¹ ,
Rubén Antonio Moreno-Moreno² , María Silvia Sánchez-Cortes¹ 

¹Banco de Germoplasma Vegetal, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Libramiento Norte Poniente Número 1155, Colonia Lajas Maciel, 29039, Chiapas, México. ²Facultad de Ciencias Humanas y Sociales, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, 29039, Chiapas, México.

*Autor de correspondencia: carolina.orantes@unicach.mx

Fecha de recepción:

7 de septiembre de 2020

Fecha de aceptación:

11 de mayo de 2021

Disponible en línea:

4 de octubre de 2022

Este es un artículo en acceso abierto que se distribuye de acuerdo a los términos de la licencia Creative Commons.



Reconocimiento-

NoComercia-

CompartirIgual 4.0

Internacional

RESUMEN

Calophyllum brasiliense Cambess (Clusiaceae) es un árbol nativo de México, cuyas poblaciones silvestres han sido afectadas drásticamente. Con el objetivo de contribuir al conocimiento de la especie, se determinó el tamaño y peso de las semillas, se evaluó la pérdida de viabilidad en periodo de almacenamiento y se analizó el proceso germinativo mediante la aplicación de tratamientos pregerminativos. El tamaño de las semillas fue de 22 mm de longitud y 17 mm de grosor, con 3.6 g de peso. En semillas recién recolectadas, la viabilidad fue de 100 por ciento, para disminuir hasta 0 por ciento después de 3 meses de almacenamiento. La imbibición en agua durante 24 h a temperatura ambiente fue el mejor tratamiento pregerminativo (99% germinación final). El almacenamiento reduce la capacidad de vida de las semillas y la inmersión en agua puede acelerar el tiempo de emergencia. Esta información puede contribuir a la generación de estrategias de propagación y conservación de la especie.

PALABRAS CLAVE

Calophyllaceae, almacenamiento de semillas, tratamientos pregerminativos.

ABSTRACT

Calophyllum Brasiliense Cambess (Clusiaceae) is a native tree of Mexico, whose wild populations have been drastically affected. In order to contribute to the knowledge of the species, we determined the size and weight of the seeds, we evaluated the loss of viability in the storage period, and we analyzed the germination process by applying pregerminative treatments. The size of the seeds was 22 mm length, 17 mm thick, and 3.6 g weight. In newly collected seeds the viability was 100%, decreasing to 0% after 3 months of storage. Imbibition in water for 24 h at room temperature was the best pregerminative treatment (99% final germination). Storage reduces the life capacity of the seeds and immersion in water can speed up the time to emerge. This information can contribute to the generation of propagation and conservation strategies for the species.

KEYWORDS

Calophyllaceae, seed storage, pregerminative treatments.

INTRODUCCIÓN

Calophyllum brasiliense Cambess es un árbol tropical perennifolio de hasta 45 m, perteneciente a la familia Clusiaceae (con anterioridad a la familia Calophyllaceae), el cual se distribuye desde el sur de México hasta el norte de América del Sur (Rodríguez et al. 2009; García-Zebadúa et al. 2014). En las comunidades locales de México, esta especie se conoce con diversos nombres comunes: leche María, barí, leche amarilla, palo María, barillo, cedro cimarrón (Pennington y Sarukhán 2005). Actualmente es una de las especies forestales de mayor interés, debido a la gama de usos que se puede dar a la madera, aspecto que la ubica entre las especies más versátiles. Su madera se emplea para fabricar muebles finos, construcción de viviendas, cercos vivos, postes y mangos de herramienta (Flores 2002); también es utilizada en la medicina tradicional para parches antiinflamatorios, enfermedades gastrointestinales, diabetes y enfermedades cutáneas (García-Zebadúa et al. 2014).

En México, el uso de la flora local es muy importante para las comunidades campesinas; sin embargo, en muchas ocasiones, las plantas se obtienen directamente de los bosques, selvas y vegetación secundaria, sin que exista un manejo o cultivo de las especies (Ríos-García et al. 2018). Aunado a lo anterior, el avance de la agricultura y ganadería ha provocado la pérdida de hábitat natural, lo que ha traído como consecuencia que actualmente un número grande de especies nativas sean consideradas en riesgo; éste es el caso de *C. brasiliense*, registrada como amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT 2010).

También es notoria la escasa investigación referente a aspectos de germinación, viabilidad y características sobre la morfología de especies forestales tropicales nativas. Desde el punto de vista agronómico, los estudios morfométricos de frutos y semillas son parte de investigaciones que permiten caracterizar poblaciones y disponer de material genético para su mejoramiento o conservación (Iglesias et al. 2006). Cabe señalar que los estudios de viabilidad y germinación de las semillas son de suma importancia para poder desarrollar protocolos de propagación que permitan establecer programas de conservación y manejo (Abud et al. 2010; Miransari y Smith 2014). El almacenamiento puede afectar la viabilidad y

la capacidad de germinación de la semilla, lo que provocaría reducción en el potencial de producción de cultivos; asimismo, la pérdida de calidad debido al envejecimiento de la semilla puede causar un retraso en el establecimiento en campo, anomalías en las plántulas o incluso la falla de la emergencia (Kandari et al. 2012; Sharma y Sharma 2017). Al respecto, se mencionan estudios con *Sideroxylon capiri* (A.DC.) Pittier (Lazos-Monterrosa et al. 2014), *Cochlospermum vitifolium* (Willd.) Spreng. y *Quararibea funebris* (La Llave) Vischer (Ríos-García et al. 2018) y *Croton guatemalensis* Lottsy (Pozo-Gómez et al. 2019), los cuales son especies de árboles nativos de la selva tropical. Sin embargo, para *C. brasiliense* los estudios reportados son escasos (Herrera et al. 2006; Sorol et al. 2015; Da Silva et al. 2019).

Para la conservación y aprovechamiento forestal del árbol *C. brasiliense* es relevante conocer las etapas fundamentales para su supervivencia. Debido a la importancia ecológica y económica, así como a la escasez de conocimiento existente sobre *C. brasiliense*, se llevó a cabo el presente trabajo de investigación con el objetivo de determinar las características morfométricas de la semilla, el efecto del almacenamiento en la viabilidad, así como la evaluación de tratamientos pregerminativos en el proceso germinativo de las semillas, con la finalidad de aportar información básica sobre la especie, lo cual permita, en un futuro, desarrollar programas o proyectos locales de propagación y conservación, para disminuir el impacto sobre las poblaciones silvestres.

MATERIALES Y MÉTODOS

Identificación de la especie *C. brasiliense*

Entre los periodos de diciembre de 2016 a mayo de 2017, se ubicó un área de 5 ha dentro de la Reserva de la Biosfera Selva el Ocote (REBISO), Chiapas, México, la cual presenta un clima cálido subhúmedo con lluvias abundantes en verano (Aw1), precipitación anual de 1,500 a 2,500 mm y temperatura media anual de 20 °C; por considerarse una especie amenazada se omiten detalles específicos de colecta, para la cual se seleccionaron de forma dirigida sitios de fácil acceso para la recolecta de material vegetal y la posterior co-

robocación de la especie. Su identificación taxonómica se realizó mediante la revisión de bibliografía (Rodríguez et al. 2009; Pennington y Sarukhán 2005) y a través de cotejos con las colecciones de herbarios: el Herbario Nacional de México (MEXU), el Herbario de la Secretaría de Medio Ambiente e Historia Natural de Chiapas (CHIP) y el Herbario Eizi Matuda (HEM) de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

Recolecta de frutos y semillas

Se recolectaron 2,000 frutos de cinco individuos silvestres de *C. brasiliense* con características fenotípicas homogéneas. Los frutos recolectados fueron los que presentaron color verde claro-amarillento, debido a que esa coloración es un criterio para considerarlos maduros (Sorol et al. 2015); se cuidó que no estuvieran rotos, vanos, manchados y sin rastros de ataque de insectos (orificios y larvas); posteriormente, se guardaron en bolsas de papel etiquetadas para ser trasladadas al Laboratorio del Banco de Germoplasma Vegetal del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH). De los frutos se extrajeron las semillas de forma manual, que posteriormente fueron almacenadas en bolsas de papel de estraza, en una alacena de madera libre de humedad y con una temperatura ambiente promedio de 25 ± 1 °C, las cuales fueron utilizadas para efectuar los análisis de morfometría, viabilidad y germinación.

Morfometría de semillas

De acuerdo con la International Seed Testing Association (ISTA 2005), de forma aleatoria y del total de semillas recolectadas, se tomaron 100 para el análisis morfométrico. De manera individual, se determinó el grosor (considerado como el diámetro perpendicular) y la longitud de la semilla (diámetro paralelo con respecto al eje del micrópilo) en cm, para lo cual se utilizó un calibrador digital con precisión de 0.1 mm. Por otro lado, el peso por semilla se midió en g con una balanza analítica (Ohaus®, Estados Unidos), con un grado de precisión de 0.0001 g. Mediante un microscopio estereoscópico (Carl Zeiss® microscopy, Alemania) se describieron las características morfológicas externa e interna de las semillas.

Prueba de viabilidad

Esta prueba tuvo como propósito comparar la viabilidad de las semillas después de 0, 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento. Para realizar la prueba se formaron cinco grupos de 100 semillas tomadas al azar, uno por cada periodo de almacenamiento. Cada grupo fue tratado como se describe a continuación: las 100 semillas se dividieron en lotes de 25 con cuatro repeticiones (25×4); las semillas se sumergieron en agua a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) durante 24 h; posteriormente, con la ayuda de un bisturí, se dividieron por los cotiledones y se les agregaron tres gotas de 2, 3, 5-trifenil cloruro de tetrazolio diluido (1 % p/v). Las semillas fueron colocadas en cajas Petri y se envolvieron con papel aluminio para limitar su exposición a la luz; la incubación se llevó a cabo en un ambiente libre de humedad y luz, a temperatura ambiente (25 ± 1 °C), por 24 h (ISTA 2005); enseguida, se observaron con un microscopio estereoscópico (Carl Zeiss® microscopy, Alemania), para contar el número de semillas totalmente teñidas. El porcentaje de viabilidad se determinó de acuerdo con la fórmula de Hartmann et al. (2011), la cual considera el color rojo como indicador de semillas totalmente viables, mientras que las libres de coloración son consideradas como no viables.

$$\% \text{Viabilidad} = \text{Semillas teñidas} / \text{Semillas totales} \times 100$$

Prueba de germinación

Cinco días después de la recolecta, las semillas se sometieron a dos tratamientos pregerminativos para su valoración; a su vez, fue considerado un grupo testigo sin tratamiento para su germinación:

- Imbibición (inmersión en agua). Las semillas se colocaron en un vaso de precipitado con 300 ml de agua a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) durante un periodo de 24 h.
- Escarificación química. Las semillas se sumergieron en disolución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a 3 por ciento de concentración durante 4 h; después se enjuagaron con agua para eliminar el exceso de H_2O_2 . El peróxido de hidrógeno utilizado fue a 30 por ciento Perhydrol, Merck®.

Se empleó un diseño completamente aleatorio; para ello, fue considerado un total de 360 semillas, distribuidas en cuatro repeticiones de 30 por tratamiento pregerminativo, incluyendo el testigo (30 x 4 x 3). Después de la aplicación de los tratamientos, las semillas fueron sembradas a una profundidad de 4 cm, en charolas de unicel para especies forestales tipo Koper block® (60 cm x 35 cm x 12 cm), con sustrato vermiculita + agrolita (2:1). Las charolas fueron colocadas en un vivero con malla de 70 por ciento de sombra, temperatura promedio de 26 °C ± 1 °C y humedad de 78 por ciento. Este experimento tuvo duración de 60 días; los datos y aplicación de riego a capacidad de campo fueron realizados cada 3 días. Se consideraron germinadas las semillas cuando presentaron emergencia del epicótilo sobre el sustrato (>5 mm) (Hartmann et al. 2011). Se evaluó el porcentaje de germinación final (% GF) para determinar el efecto de los tratamientos en la capacidad germinativa (proporción de semillas capaces de germinar en condiciones óptimas o en una condición determinada) (Hartmann et al. 2011). También fue calculado el tiempo promedio de germinación, el cual se refiere al tiempo que las semillas necesitan para germinar y la germinación acumulada (GA), que muestra la forma en la que se incrementa la germinación y el tiempo (días) de inicio de ésta (ISTA 2005).

$$\% \text{ GF} = n_i / N \times 100$$

Donde: %GF = porcentaje de germinación final, n_i = número de semillas germinadas, N = número total de semillas

$$\text{GA} = (\%n_1 + \%n_2 + \%n_3 + \%n_x) / n_x$$

Donde: % n_1 = porcentaje de semillas germinadas en el tiempo 1, % n_2 = porcentaje de semillas germinadas en el tiempo 2, % n_3 = porcentaje de semillas germinadas en el tiempo 3 y n_x = tiempo en que se presentó la germinación.

Análisis estadístico

Se comprobó que los datos obtenidos de las variables tuvieran una distribución normal (mesocúrtica) con valores de curtosis y sesgo estandarizados dentro del

rango -2 a +2, de acuerdo con la prueba de normalidad (Prueba de Shapiro). Al no tener una distribución normal, se llevaron a cabo la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y la prueba U de Mann-Whitney. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software R 3.24 (R Core Team 2018).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La semilla de forma esférica se encontró dentro de un fruto tipo drupa de color verde claro-amarillento; ésta presentó una testa de color crema-café, suave, esponjosa de 1 mm de grosor, con cotiledones de color blanco-amarillento, endospermo escaso, los cuales ocupaban toda la cavidad de la semilla (Figura 1). El tamaño de las semillas fue en promedio de 22 ± 0.40 mm de longitud y 17 ± 0.3 mm de grosor, con un peso de 3.6 ± 0.67 g (Cuadro 1). Martínez y Castillo-Campos (2015) —quienes describen algunas características morfológicas de las especies de la familia Calophyllaceae— mencionan que el tamaño de las semillas de esta especie oscila entre 11-12 mm de longitud y 8-11 mm de ancho. Las diferencias morfométricas que se presentan en las semillas de una especie se encuentran íntimamente ligadas a las condiciones ambientales prevalecientes en el ciclo de vida de las mismas, de modo que la estrecha relación planta-ambiente hace énfasis en la importancia de poseer la suficiente flexibilidad en el proceso de desarrollo o de contar con mecanismos de resistencia para prevalecer en condiciones donde éstas se

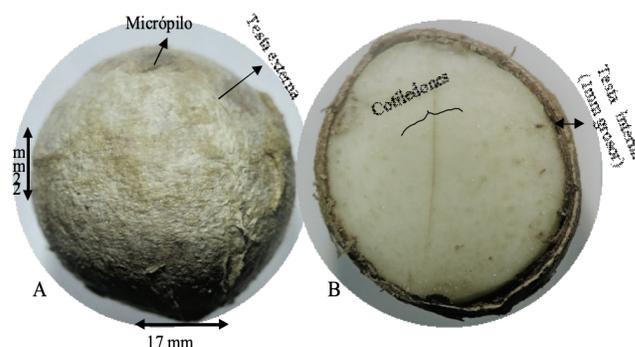


Figura 1. Morfología de frutos de *Calophyllum brasiliense* Cambess (Clusiaceae) de Chiapas, México; A) características externas; B) características internas.

Cuadro 1. Estadísticas descriptivas de las características morfométricas de semillas de *Calophyllum brasiliense*, colectado en Chiapas, México.

Morfometría	N	Mínimo	Máximo	Media±DS*	Varianza	CV
Longitud (mm)	100	20	26	22 ± 0.14	0.02	6.14
Grosor (mm)	100	13	20	17 ± 0.13	0.02	6.64
Peso (g)	100	2.1	7.0	3.6 ± 0.67	0.45	23.64

*DS: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

encuentran ubicadas (Ramírez y Orozco 2010; Santiago et al. 2017). Las características de la semilla también pueden ser adaptables a las condiciones ambientales (Moles et al. 2004; Iglesias et al. 2006).

Sin almacenamiento, la viabilidad de las semillas fue de 100 por ciento. Se encontraron diferencias significativas ($K = 19.00$; $p < 0.007$) entre los tiempos de almacenamiento, lo cual confirmó que el periodo de almacenamiento provocó una disminución en la capacidad de vida de las semillas, con un 0 por ciento de viabilidad al final del periodo de tres meses (Figura 2). Según Herrera et al. (2006) y Sorol et al. (2015), el envejecimiento de las semillas de esta especie es muy rápido debido a que son recalcitrantes, y las semillas de este tipo deben mantener un contenido de humedad relativamente alto para prolongar su viabilidad (Magnitskiy y Plaza 2007). La pérdida de viabilidad en semillas bajo condiciones de almacenamiento ha sido reportada para otras especies de árboles tropicales y se ha sugerido que la desecación de la semilla es la causa de dicha pérdida (Rodríguez et al. 2000; Lazos-Monterrosa et al. 2014; Ríos-García et al. 2018). Hartmann et al. (2011) mencionan que el envejecimiento es un factor que generalmente disminuye la viabilidad en las semillas y es de suma importancia conocerlo para determinar el periodo de tiempo en el que conservan su capacidad para germinar y así lograr una propagación exitosa. Es necesario tomar en cuenta este aspecto al momento de recolectar las semillas, junto con las condiciones ambientales y de manejo en la localidad de estudio.

De acuerdo con los resultados de la prueba de germinación, existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos ($K = 22.32$; $p < 0.006$). Con el tratamiento de inmersión en agua se obtuvo el mayor porcentaje de germinación final ($99.2\% \pm 4.30$), mientras que el

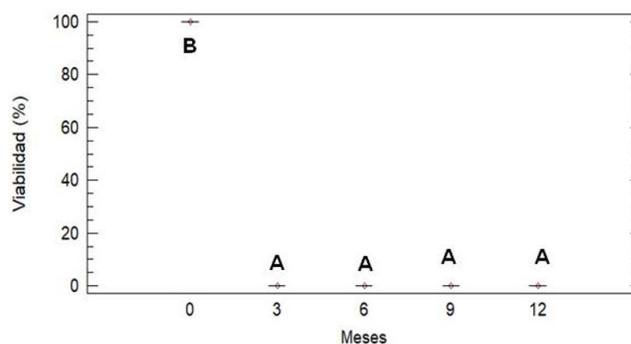


Figura 2. Porcentaje de viabilidad de las semillas de *Calophyllum brasiliense*, durante periodos de almacenamiento a temperatura ambiente (25 °C). Los puntos indican valor de media ($n = 100$), letras distintas indican diferencias significativas (U de Mann-Whitney $P < 0.05$).

valor menor se presentó en peróxido de hidrógeno ($85.3 \pm 8.01\%$) (Cuadro 2). En cuanto a la germinación acumulada, el proceso germinativo de las semillas de *C. brasiliense* inició a los 9 y 15 días de la siembra. El mayor número de semillas germinadas se alcanzó entre los 38 y 50 días. Se observó que la inmersión de las semillas en agua acelera el proceso germinativo (Figura 3). Otras especies forestales también han tenidos resultados favorables con la inmersión de las semillas en agua (Sánchez et al. 2001; Lazos-Monterrosa et al. 2014). Hartmann et al. (2011) mencionan que la imbibición es la primera etapa para activar la síntesis metabólica en las semillas, lo cual puede facilitar el proceso germinativo. El porcentaje final de germinación en semillas sin tratamiento previo fue de 89 por ciento, algo muy similar a los estudios realizados por Nery et al. (2007), quienes señalan que las semillas maduras de *C. brasiliense* tienen aproximadamente un porcentaje de germinación de 93 por ciento. Vásquez et al. (2005) informaron sobre un porcentaje de germinación entre 60 y 90 por ciento en semillas sin almacenamiento. El tratamiento de inmersión de las semillas en H_2O_2 a 3 por ciento redujo el porcentaje de germinación (85%).

Cuadro 2. Comparación de medias y desviaciones estándar de germinación en semillas de *Calophyllum brasiliense* en tratamientos pregerminativos.

Tratamientos	N*	% G	T
Testigo	120	89.00 ± 4.30 ab	48.21 ± 4.64 ab
Inmersión en agua 24 h	120	99.20 ± 2.72 b	38.30 ± 2.93 b
H2O2	120	85.30 ± 8.01 a	50.25 ± 5.67 a

*Número de semillas (N), porcentaje de germinación final (% G), tiempo promedio de germinación (T). Letras distintas indican diferencias significativas (U de Mann-Whitney $P < 0.05$).

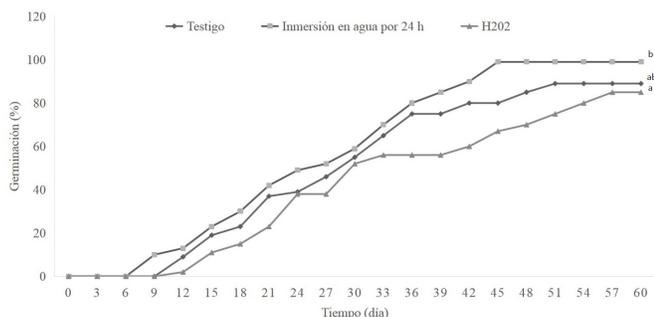


Figura 3. Germinación acumulada de semillas de *Calophyllum brasiliense* según distintos tratamientos pregerminativos. Letras distintas indican diferencias significativas (U de Mann-Whitney $p < 0.05$).

En otras especies de plantas la aplicación de H_2O_2 ha aumentado la germinación, debido a que ablanda la cubierta, permitiendo que el agua y el oxígeno entren con mayor facilidad, lo que puede inhibir la dormición de las semillas (Bahin et al. 2011; Lazos-Monterrosa et al. 2014). Los estudios de viabilidad y germinación permiten obtener información que puede ser útil para mejorar la producción en vivero, tener plantas de buena calidad y asegurar su éxito de establecimiento en campo, lo que permite la conservación y manejo sustentable de especies de plantas (Hartmann et al. 2011).

CONCLUSIONES

Se concluye que las semillas de *C. brasiliense* reducen significativamente su viabilidad en el periodo de tres meses de almacenamiento en condiciones ambientales, por lo que éstas deben ser sembradas inmediatamente después de la recolecta. Para obtener una propagación más eficiente es necesario hidratar las semillas en agua durante 24 h a temperatura ambiente (25 °C); esto

provoca que el proceso germinativo se acelere y se obtenga un mayor porcentaje de germinación final.

Es importante señalar que la realización de estudios básicos que permiten obtener información sobre la propagación de especies amenazadas como *C. brasiliense* representa una etapa fundamental que contribuye al conocimiento de especies nativas, lo que permitirá definir estrategias apropiadas para la reforestación de áreas en las que las poblaciones han disminuido o desaparecido, y en donde también se tomen en cuenta las condiciones ambientales y de manejo locales. También es necesario impulsar y consolidar el desarrollo y la gestión de técnicas y estrategias que permitan el uso sostenible del recurso vegetal.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a José Gálvez Cruz por su apoyo en la recolecta del germoplasma y a los habitantes de la Comunidad General Lázaro Cárdenas, municipio de Cintalapa, Chiapas, por permitirnos el acceso y por todo el apoyo otorgado.

LITERATURA CITADA

- Abud H, Reis RdeGE, Innecco R, Bezzerra AME. 2010. Emergence and development of seedlings of safflower depending on seed size. *Revista Ciência Agronômica* 41: 95-99. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20100013>
- Bahin E, Christophe B, Sotta B, Kranner I, Corbineau F, Leymarie J. 2011. Crosstalk between reactive oxygen species and hormonal signalling pathways regulates grain dormancy in barley. *Plant Cell and Environment* 34: 980-993. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02298.x>
- Da Silva RC, Belniaki AC, Vieira ESN, Cuquel FL, Panobianco M. 2019. Subsidies for propagation of native species in Brazil with medicinal potential: *Calophyllum brasiliense* Cambess. *Journal of Seed Science* 41: 318-327. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n3214007>
- Flores E. 2002. *Calophyllum brasiliense*. Árboles y Semillas de Neotrópicos 3: 347-350.
- García-Zebadúa JC, Reyes-Chilpa R, Huerta-Reyes M, Castillo-Arellano JI, Santillán-Hernández S, Vázquez-Astudillo B, Mendoza-Espinoza JA. 2014. El árbol tropical *Calophyllum brasiliense*: una revisión botánica, química y farmacológica. *Vitae* 21: 126-145.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies FT, Geneve RL. 2011. *Plant Propagation: Principles and Practice*. Pearson. Nueva Jersey, Estados Unidos.
- Herrera J, Lines K, Vásquez W. 2006. Estudio de la germinación y la conservación de semillas de cedro maría (*Calophyllum brasiliense*). *Tecnología en Marcha* 19: 61-72.
- Iglesias LG, Mora I, Casas JL. 2006. Morfometría, viabilidad y variabilidad de las semillas de la población de *Pinus hartwegii* del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Cuadernos de Biodiversidad* 19: 14-18. <https://doi.org/10.14198/cdbio.2006.19.03>
- [ISTA]. International Seed Testing Association. 2005. *International Rules for Seed Testing*. ISTA. Bassersdorf, Suiza.
- Kandari LS, Rao KS, Payal KC, Maikhuri RK, Chandra A, Van Staden J. 2012. Conservation of aromatic medicinal plant *Rheum emodi* through improved seed germination. *Seed Science and Technology* 40: 95-101. <https://doi.org/10.15258/sst.2012.40.1.10>
- Lazos-Monterrosa FA, Orantes-García C, Farrera-Sarmiento O, Verdugo-Valdez AG, Sánchez-Cortés MS, Ruíz-Meza LE. 2014. Evaluación de la viabilidad y germinación de tempisque [*Sideroxylon capiri* (A.DC.) Pittier Sapotaceae]. *PHYTON* 84: 138-143.
- Magnitskiy SV, Plaza GA. 2007. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles. *Agronomía Colombiana* 25: 96-103.
- Martínez JL, Castillo-Campos G. 2015. *Calophyllaceae*, flora de Veracruz. Folleto Técnico 166. Instituto de Ecología. Veracruz, México.
- Miransari M, Smith DL. 2014. Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 99: 110-121. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005>
- Moles AT, Falster DS, Leishman MR, Westoby M. 2004. Small-seeded species produce more seeds per square metre of canopy per year, but not per individual per lifetime. *Journal of Ecology* 92: 384-396. <https://doi.org/10.1111/j.0022-0477.2004.00880.x>
- Nery FC, De Alvarenga AA, Justo CF, De Castro EM, Stein VC. 2007. Caracterização morfológica e química de sementes de *Calophyllum brasiliense* Cambess. *Revista Brasileira de Biologia* 5: 144-146.
- Pennington TD, Sarukhán J. 2005. Árboles tropicales de México: manual para la identificación de las principales especies. Fondo de Cultura Económica. Distrito Federal, México.
- Pozo-Gómez DM, Orantes-García C, Rioja-Paradela TM, Moreno-Moreno RA, Farrera-Sarmiento O. 2019. Diferencias en morfometría y germinación de semillas de *Croton guatemalensis* (Euphorbiaceae), procedentes de poblaciones silvestres de la Selva Zoque, Chiapas, México. *Acta Botánica Mexicana* 126: e1384. <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1384>
- Ramírez SV, Orozco AF. 2010. Maduración del fruto y morfometría de semillas de *Genipa americana* L. en el departamento del Quindío. *Revista de Investigación de la Universidad de Quindío* 21: 73-81. <https://doi.org/10.33975/riuuq.vol21n1.683>
- R Core Team. [internet]. 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. [cited 2019 Feb 20]. Disponible en: <https://www.R-project.org/>
- Ríos-García CA, Orantes-García C, Moreno-Moreno RA, Farrera-Sarmiento O. 2018. Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y germinación de dos especies arbóreas tropicales. *Revista Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 5: 103-109. <https://doi.org/10.19136/era.a5n13.1161>
- Rodríguez ME, Cardozo AE, Krauczuk ER, Fontana JL, Iriart D. 2009. *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae): nuevo registro para la flora de la Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 44: 361-366.

- Rodríguez MdelC, Orozco-Segovia A, Sánchez-Coronado ME, Vázquez-Yanes C. 2000. Seed germination of six mature neotropical rain forest species in response to dehydration. *Tree Physiology* 20: 693-699. <https://doi.org/10.1093/treephys/20.10.693>
- Sánchez JA, Orta R, Muñoz BC. 2001. Tratamientos pre-germinativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agronomía Costarricense* 25: 67-92.
- Santiago A, Herranz JMa, Copete MÁ, Herranz R, Ferrandis P. 2017. Influencia de las condiciones de temperatura e iluminación en la rotura de latencia y germinación de los endemismos mediterráneos *Scilla pauti* y *Scilla ramburei* (Liliaceae). *Bosque* 38: 271-283. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002017000200005>
- [SEMARNAT] Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. [internet]. 2010. Nom-059-Semarnat-2010, protección ambiental, especies nativas de México de flora y fauna silvestres, categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio, lista de especies en riesgo. [citado 2020 enero 3]. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5578808
- Sharma RK, Sharma S. 2017. Seed longevity, germination and seedling vigour of *Rheum australe* D. Don: A step towards conservation and cultivation. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 5: 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2016.10.004>
- Sorol CB, Carvajal S, Calonga V, González NL, Eckers F. 2015. Bases para la conservación de las semillas de *Calophyllum brasiliense* (Calophyllaceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 50: 93-106. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v50.n1.11021>
- Vásquez W, Thomsen KA, Joker D. 2005. Desiccation and storage of seeds of *Astronium graveolens* and *Calophyllum brasiliense*, two native species of Costa Rica. En: Sacandé M, Joker D, Dulloo ME, Thomsen KA, editores. *Comparative Storage: Biology of Tropical Tree Seeds*. Roma, International Plant Genetic Resources Institute. P. 285-294.