

**Protocolo para la obtención de germoplasma en la
Reserva Ecológica El Edén A. C.**



**Proyecto: Restauración Ecológica de Selvas perturbadas
por huracanes y fuego en el norte de Quintana Roo**

CONACYT-CONAFOR 2002-C01-5488

Responsables:

Dr. José María Ramos Prado

Dra. Luciana Porter Bolland

Elaboración y diseño:

Angélica Hernández Ramírez

Universidad Veracruzana (UV)

Centro de Investigaciones Tropicales (CITRO)

Instituto de Ecología A.C. (INECOL)

Reserva Ecológica El Edén A. C.

Consejo Nacional para la Ciencia y la Tecnología (CONACYT)

Comisión Nacional Forestal (CONAFOR)



Protocolo para la obtención de germoplasma en la Reserva Ecológica El Edén A. C.

Índice

Introducción	2
Almacenamiento	3
Selección del árbol madre	3
Acceso al árbol y sus frutos	4
Manejo de semillas forestales. Transporte y almacenamiento	5
Beneficiado de la semilla	8
Almacenamiento	10
Certificación de la calidad de las semillas	12
Bibliografía	14

Protocolo para la obtención de germoplasma en la Reserva Ecológica El Edén A. C.

Como parte fundamental de los trabajos de investigación científica y monitoreo ambiental, manejo de los recursos naturales, aprovechamiento de los recursos naturales de uso potencial, restauración ecológica, inventario y distribución de los recursos naturales, estudios ecológicos básicos, sistemas de información geográfica, ordenamiento territorial y ecológico en la Reserva Ecológica El Edén A. C; es necesario contar con protocolos claros de colecta de fuentes de germoplasma de las especies de la vegetación secundaria potenciales de manejo. Para ello, el presente manual plantea las principales estrategias a seguir para establecer los protocolos de colecta de germoplasma de las especies forestales nativas presentes en selvas tropicales.

En este sentido, este manual tiene como finalidad familiarizar a los campesinos, técnicos y estudiantes en la tarea de realizar la colecta de semillas de calidad.

Introducción

Las semillas es el resultado de la reproducción de la gran mayoría de las plantas terrestres y acuáticas y desempeñan una función fundamental para regenerar los selvas y contribuir en la sucesión ecológica. Para obtener buenas semillas, debe considerarse la gran importancia de seleccionar los árboles madre, de los cuales se obtiene el material biológico para realizar la propagación. Esta selección ayuda a evitar en lo posible, que la producción se vea disminuida, o resulte de baja calidad. El objetivo de la selección de árboles para la colecta de semillas, consiste en obtener las mejores características de los árboles.

Dentro de los lineamientos que deben tomarse en cuenta para la selección de árboles madre, se encuentra: la edad de los árboles, el estado del fruto, y el almacenamiento que se le dio, entre los más importantes. A continuación se da mayor información sobre estas características.

La edad de los árboles: un parámetro que puede indicar la edad de los árboles es el tamaño y características de las hojas que no presenten enfermedades (vigor). En este tipo de árboles se recomienda hacer la colecta de semillas, ya que se considera que poseen una buena carga genética

*Los frutos :*son las estructuras de las plantas con flores originadas tras la fecundación por desarrollo del ovario, de los carpelos o pistilos y que contienen las semillas. Su principal función consiste en la protección y dispersión de dichas semillas. Se puede

decir que en una flor madura, un ejemplar típico está básicamente compuesto de 4 tipos de hojas modificadas: sépalos, pétalos, estambres (órganos reproductores masculinos de la flor) y carpelos (órganos reproductores femeninos de la flor) todos unidos al extremo del tallo o receptáculo. Una vez colectadas las semillas, una parte muy importante para su buena conservación es su almacenamiento.

Almacenamiento

Para el almacenamiento de semillas es necesario considerar los diferentes tipos de semillas. Además de tomar en cuenta cuatro factores principales para el almacenamiento:

- La supervivencia de las semillas: tomando en cuenta la viabilidad y la habilidad para permanecer vivas
- El ambiente de almacenamiento
- La duración del almacenamiento
- La especie que se va a almacenar

Selección del árbol madre

Cuando se selecciona un árbol para obtener frutos, deben preferirse aquellos árboles con mejores características fenotípicas. El fenotipo de un árbol, es el "árbol que se ve", cuyas características lo hacen diferente de los demás.

En el caso del árbol, lo que se observa a simple vista es su altura, su diámetro, la rectitud del fuste y el tamaño de la copa, (entre otros), que son las características genéticas expresadas en el ambiente en el que están establecidas las plantas (Alba, 1989).

Al coleccionar las semillas para propagar, deben marcarse y seleccionarse los fenotipos sobresalientes, ya sea en plantaciones, vegetación secundaria o en la selva, para tratar de asegurar la buena calidad de las mismas.

Para los árboles maderables, se recomienda seleccionar árboles con fuste recto y cilíndrico sin bifurcaciones, de ramas delgadas en promedio con los demás árboles, sano, vigoroso y con un diámetro y altura aceptables.

Para realizar la medición del diámetro se emplea la técnica conocida como DAP (diámetro a la altura del pecho). Para ello, se utiliza una cinta métrica (especial para árboles) y uno se coloca de frente al árbol, rodeándolo con la cinta a la altura del pecho. La altura y el DAP de los árboles son datos importantes que expresan

indicadores de la tasa de crecimiento de los árboles; los cuales se califican por su forma, de la siguiente manera:

Árboles excelentes: dominantes o codominantes, rectos sin bifurcaciones, con ramas delgadas y horizontales, sin plagas ni enfermedades.

Árboles buenos: dominantes o codominantes, sin bifurcaciones, con sinuosidades leves en el fuste o malas características de ramificación.

Árboles inaceptables: suprimidos, enfermos y/o plagados, con defectos importantes en el fuste y/o las copas.

Acceso al árbol y sus frutos

La mejor forma de recolección de los frutos es obteniéndolos directamente del árbol. Generalmente los frutos caídos presentan algunas enfermedades o pueden tener semillas improductivas al haber sido depredadas por algunos insectos (Alba, 1989). Ahora bien, dadas las características y las dificultades para escalar los árboles, es de esperar que existan diversas herramientas para acceder a la copa de los árboles y obtener los frutos deseados. La recolección de los frutos se define como el proceso de obtener los frutos del árbol y ponerlos en recipientes para transportarse hacia su procesamiento. La recolección implica tres pasos:

- Acceso al árbol y sus frutos.
- Cosecha de los frutos.
- Colecta de los frutos.

Los métodos utilizados para realizar las acciones anteriores, dependen de las características del árbol en relación al tronco, tipo de corteza, forma de la copa, tamaño y ángulo de sus ramas así como su resistencia, densidad del follaje y altura de la copa. Por otro lado, las características del fruto se refieren al tamaño, cantidad, posición, forma, etc.

El acceso a los árboles depende de varios factores y existen diferentes técnicas para colectar los frutos y son las siguientes :

Acceso desde el piso: en algunas ocasiones no es posible ascender al árbol. Es posible ayudarse con ganchos o herramientas de largo alcance para obtener los frutos desde

el piso. No siempre se asegura la mejor calidad de las semillas, pues debido a la posición, no se logra una polinización adecuada, a diferencia de los que se encuentran en la copa superior

Acceso usando una red encima de la copa: este método se utiliza para árboles con copas densas y de gran cantidad de frutos. Consiste en lanzar una red por medio de una resortera, arco o alguna otra herramienta y sujetarla a lo ancho de toda la copa para cubrirla. Una vez extendida, se sube por alguna de las líneas tirantes, se desplaza por la red sobre la copa del árbol y se retiran los frutos. La desventaja de este sistema radica en la dificultad para colocar la red en la posición deseada.

Acceso desde el interior de la copa: esto se realiza cuando las ramas y la copa están de tal manera ubicada, que permitan al colector trepar el tronco y llegar a los frutos, para escalar el tronco se utilizan las siguientes herramientas:

Espolones: en caso de corteza blanda, firme y el tronco no muy ancho; además de los espolones se ayudan con un cinturón de seguridad y dos espolones para ayudar al escalador a sostenerse. Este sistema puede resultar dañino para el árbol pues con los espolones se puede dañar el tejido de la corteza, ocasionando enfermedades posteriores. Si se piensa subir a ese árbol en años posteriores, esto ocasiona daños inaceptables

Escalera: son hechas de materiales livianos como el aluminio. Dependiendo del árbol, se debe utilizar el más apto, son desmontables y se van acomodando a medida que el colector escala el árbol. La desventaja es el tiempo que se tarda en montarla y desmontarla. Además son muy voluminosas, lo que hace difícil cargarlas dentro del bosque. Existe una escalera enrollable fabricada con dos cuerdas laterales y entrepaños de madera o aluminio amarrados a las cuerdas. Esta escalera es tan larga como sea necesario y para colocarla se tira con la ayuda de una resortera o una cuerda hasta la rama principal del árbol que permita jalar la escalera hasta pasar la rama y sujetarla del árbol. Una vez amarrada se atiranta para lograr la tensión necesaria para trepar el árbol sin problemas. Se utiliza generalmente para los árboles de hoja ancha el método resulta fácil y rápido.

Manejo de semillas forestales. Transporte y almacenamiento

La colecta de los frutos y de las semillas, se realizan siguiendo el formato de colecta y registro de plantas madre (Figura 1 y 2) y se guardan por separado debidamente etiquetados con el número de registro del árbol. Dicho registro debe incluir diámetro, altura y diámetro de copa así como su localización, fecha y lugar de colecta, para transportarlos al lugar donde se van a procesar o almacenar.

Reserva Ecológica El Edén A. C.

No. de etiqueta /1/----- Fam./2/-----
Nombre científico /3/-----
Nombre común /4/-----
País /5/----- Estado /6/-----Mpio /7/-----
Localidad /8/-----

Lat /9/ ----- Long /10/----- Alt /11/-----
Tipo Veg. /12/----- Prim () Sec ()/13/
Inf. Ambiental /14/-----
Suelo /15/----- Pedregosidad (%) /16/ -----
Asociada /17/-----
Abundancia /18/ ----- Forma de vida /19/ -----
Tamaño /20/ -----cobertura /21/-----
Anual () Perenne ()/22/----- datos relevantes /23/-----
Fruto/24/ ----- color /25/ ----- aroma /26/-----
Flor/27/ ----- color /28/ ----- aroma /29/-----
Nom. Loc /30/----- usos /31/-----
Fecha Colecta /32/----- No. colecta /33/-----
Otros datos /34/-----
Her /35/ ----- Dupl /36/-----

Figura 1. Ficha de colecta. Los datos de ésta deben coincidir con la libreta de campo.

Otro tipo de formato a utilizar es el siguiente:

Ficha de colecta de frutos y semillas de la Reserva Ecológica El Edén A. C.			
Nombre colector:			
Número de colecta:		Fecha de colecta	
1. Generales			
Nombre científico		Fuente de germoplasma	Frutos ()
Nombre común			Semillas ()
Calve del ejemplar			Otro ()
2. Localización			
Entidad		Municipio	
Comunidad		Predio (m ²)	
Propietario		Altitud	
		UTM	
3. Suelo			
Grado de erosión		Cresta del cerro	
Profundidad		Pendiente	Fuerte ()
Textura			Moderada ()
Exposición (N, S, E, O)		Drenaje	Si ()
Pedregosidad (%)			No ()
4. Vegetación natural			
Monte alto (selva)		Vegetación asociada	Potrero ()
Monte medio (acahual viejo)			Milpa ()
Monte bajo (acahual joven)			Solar ()
5. Datos del árbol			
Altura total		Cantidad frutos	
Altura al fuste		Peso frutos	
DAP		Peso Semillas	
Cobertura			
Fotografía no:			

Figura 2. Ficha de colecta. Los datos de ésta deben coincidir con la libreta de campo.

Se deben de guardar las semillas en una bolsa de papel para evitar que éstas inicien su proceso de fermentación y pérdida de material biológico. En caso de que sea un fruto carnoso, es necesario extraer las semillas del fruto y limpiarlas completamente, colocándolas posteriormente en una bolsa de papel.

Los frutos pueden trasladarse al lugar de procesamiento o almacenamiento en sacos (de preferencia de yute). En los casos en los cuales los frutos se encuentran completamente secos, éstos deben permanecer sobre estantes y extendidos de tal manera que pueda existir una ventilación adecuada, manteniéndose la temperatura constante y la menor humedad posible. Otra medida consiste en vaciar un poco los sacos para permitir que los frutos abran con facilidad y las semillas puedan salir, sin tener que romperlos por el aumento de volumen (Alba, 1989).

Siempre debe tenerse cuidado de no perder las etiquetas de cada saco. Este pequeño descuido, puede echar a perder todo el trabajo de colecta y por consiguiente el trabajo planeado.

Beneficiado de la semilla

Una vez que se tienen los frutos, se procede al beneficio de las semillas. Este consiste en el secado de los frutos y la extracción de las semillas. Este proceso se hace de diversas formas, dependiendo de las características de los frutos. Los cuales para el secado se colocan en lonas o sobre piso pavimentado extendiéndolos en capas delgadas.

Debe procurarse que el lugar en donde se colocan no tenga corrientes de agua cerca que puedan mojar los frutos. Las lonas deben tener buen drenaje y en caso de que sea piso de tierra, puede cubrirse con grava y además hacer zanjas alrededor de la lona para facilitar el drenaje. Este procedimiento sólo es posible cuando al momento de secar los frutos, existe suficiente sol y se dispone de un área grande donde tender los frutos. De esta manera, terminan su proceso de maduración y empiezan a desprenderse las semillas.

En caso de lluvia, los frutos deben colocarse en el centro de la lona, cubrirlos con las orillas y cuando pase la lluvia extender nuevamente la lona y dispersarlos sobre toda la superficie. No se recomienda utilizar plástico transparente por ser muy frágil y porque se rompe con facilidad. Esto trae como consecuencia la penetración del agua.

Otra opción es construir cajas de madera con fondo de malla, poco profundo y largo, en donde se colocan los frutos para exponerlos al sol. Es necesario colocarse una manta debajo de ésta, para colectar las semillas que van cayendo. Para que sean funcionales las cajas, deben colocarse sobre postes para permitir el flujo de aire. En épocas de lluvia, las cajas de madera se cubren con un techo especial de lona o plástico. Para ahorrar trabajo se construye un techo permanente, que puede ser movable de plástico transparente para permitir el paso de los rayos del sol y evitar la lluvia. Sin olvidar que es necesaria una buena aireación (Figura 1).

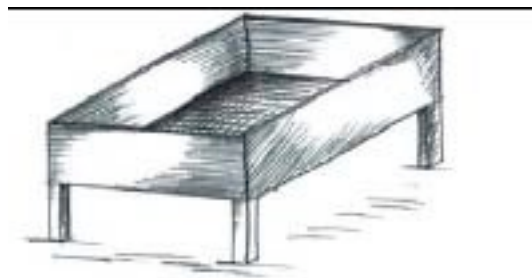


Figura 1. Bastidor típico para secado de frutos.

En el caso de frutos carnosos, no se lleva a cabo el proceso de secado, sino que al coleccionar los frutos éstos deben limpiarse inmediatamente pues su contenido de humedad es muy alto.

Después de secar y lavar los frutos (según el tipo), se procede a la extracción de las semillas. Generalmente esta operación se realiza golpeando los frutos secos con una vara o sobre una superficie dura. Posteriormente, se separan los restos del fruto y basura de las semillas por medio de una criba o colador. Finalmente se limpian y seleccionan. Si los frutos son secos pero indehiscentes es necesario abrirlos con tijeras o pinzas.

Si se utilizan para el secado de los frutos cajas de malla, las semillas se obtienen cada vez que se esparcen o mueven los frutos para lograr un mejor secado. Posteriormente, con pequeños golpes a los frutos, se obtienen las demás semillas (Figura 2).



Figura 2. Obtención de semillas en bastidores típicos.

El método de extracción para frutos carnosos, consiste en sumergirlos en agua durante algunas horas para ablandarlos. Luego se limpian con las manos o rozando los frutos contra una tela metálica. En este caso, se debe tener cuidado de no macerar los frutos demasiado, para prevenir la fermentación. Una vez obtenidas las semillas, deben limpiarse perfectamente para evitar posteriores plagas y/o enfermedades.

Incluso a algunas semillas deben desprendérseles las alas (estructuras de dispersión) que ayudan a su propagación, antes de colocarlas a germinar.

Almacenamiento

El almacenamiento de las semillas persigue como meta preservarlas bajo condiciones que les permitan conservar mejor la capacidad de germinación y protegerlas del daño causado por roedores, pájaros e insectos. Los almacenamientos prolongados son sólo posibles con semillas totalmente maduras y libres de cualquier daño. Antes de almacenar las semillas, es necesario revisarlas cuidadosamente para observar la presencia de plagas o enfermedades. Si existen semillas dañadas es necesario desecharlas para evitar una contaminación posterior en el resto de las semillas sanas y evitar la pérdida de las semillas y su viabilidad.

Las semillas de especies forestales varían en su habilidad para permanecer viables bajo condiciones naturales. Aquellas que tienen testa dura mantienen su viabilidad por mayor tiempo en casi cualquier tipo de condiciones, debido a que la cubierta las mantiene secas y libres de insectos. En cambio, las semillas de cubiertas delgadas están más expuestas al ambiente y a factores biológicos que reducen su viabilidad.

Hay que considerar que las semillas están expuestas a los cambios de humedad y temperatura, lo que propicia la aparición de hongos, y en caso de almacenarse es de vital importancia dichos factores estén controlados para incrementar las probabilidades de supervivencia de las especies.

Para las especies forestales el contenido de humedad debe variar entre 6 y 8%, y la temperatura de 1 a 5°C; aunque las condiciones de almacenaje dependen del tipo de semilla. La viabilidad de las semillas de diferentes especies silvestres y cultivadas se ha estudiado bajo las siguientes condiciones de almacenamiento:

- 1) almacenamiento bajo condiciones artificiales ya sean subóptimas u óptimas,
- 2) almacenamiento bajo condiciones seminaturales (en el suelo) y
- 3) almacenamiento natural en el banco de semillas del suelo.

El almacenamiento en condiciones artificiales o controladas subóptimas es fuente de numerosas investigaciones sobre la longevidad de semillas. Las condiciones de almacenamiento más frecuentemente conocidas son: ejemplares de herbarios, botellas o cajas en gavetas de laboratorio, almacenes de semillas bajo condiciones ambientales no reguladas.

En los trópicos, por lo general la longevidad de las semillas es corta, por ejemplo se ha reportado casos en donde las semillas caen al suelo ya verdes, desprovistas de su cubierta, cargadas de humedad y prácticamente germinando. Si estas semillas no encuentran un medio propicio para germinar pronto, mueren. Estas semillas "tropicales" con alto contenido de humedad y rápidas tasas metabólicas, se comportan como recalcitrantes cuando se pretende almacenarlas.

Por otra parte, dentro del almacenamiento natural y en un banco de semillas del suelo de "Los Tuxtlas", Veracruz se realizó un estudio de viabilidad bajo condiciones de almacenamiento natural y artificial, llegando a la conclusión de que el almacenamiento en seco (artificial) es menos favorable que las condiciones de almacenamiento en húmedo (natural) sobre la viabilidad de 10 especies. Lo anterior sugiere que las semillas se mantienen viables en el suelo, en condiciones naturales y durante períodos más o menos largos. En otro estudio realizado, se observó que las semillas de *Brosimum alicastrum* Swartz, tras 30 días de almacenamiento a temperatura ambiente de 5-7°C, rinden un porcentaje de germinación muy bajo y la pérdida de su viabilidad es muy rápida. Posiblemente, el bajo contenido inicial de humedad, propicia la disminución de la viabilidad, ya que estas mismas semillas sin almacenamiento, presentan un alto porcentaje de germinación.

Las condiciones de almacenamiento son muy importantes y las mejores condiciones de preservación son las que se localizan en climas muy secos, en ambientes congelados o carentes de oxígeno. Estas condiciones permiten que fisiológicamente las semillas se conserven en buen estado y sean capaces de germinar cuando se les coloca en condiciones adecuadas. Aunque son pocos los datos comprobables acerca de la edad de las semillas y su viabilidad, estos revelan la gran capacidad de algunas especies para permanecer vivas.

Hay que recordar que las condiciones de almacenamiento difieren significativamente entre las semillas ortodoxas y recalcitrantes.

Hasta ahora, hay poca esperanza de encontrar tratamientos que prolonguen significativamente la longevidad de las semillas más recalcitrantes bajo almacenamiento, especialmente si se toman en cuenta las escasas investigaciones científicas al respecto. Sin embargo, algunos laboratorios de Inglaterra, Francia, Estados Unidos y Sudáfrica continúan trabajando para encontrar tratamientos para incrementar la longevidad de las semillas como estrategia de manejo y conservación de germoplasma natural y silvestre. Es posible hacer presunciones acerca del comportamiento de una especie de semilla en almacenamiento basándose en su tamaño, apariencia, historia de vida y filogenia. Sin embargo, es necesario realizar pruebas en laboratorio y campo para conocer con precisión el comportamiento de cada especie. Una prueba requiere dividir el lote de semillas en dos partes iguales; se prueba la

viabilidad de una de las fracciones de semillas frescas y la otra mitad se somete a una desecación gradual y cuidadosa antes de probar su viabilidad. Para completar, se realiza una prueba adicional antes y después de someter las semillas a congelación, la cual indica si las semillas que toleran la desecación, si son ortodoxas, verdaderas o intermedias

Certificación de la calidad de las semillas

La certificación consiste en verificar e inspeccionar las semillas para siembra, desde su origen, durante su proceso de producción en campo, su beneficiado, el acondicionamiento, el almacenamiento y comercialización. Todo conforme a estrictas normas de calidad establecidas (SNICS; 2006). Sólo aquellas semillas que cubren los requisitos de alta calidad genética, fisiológica, física y fitosanitaria son certificadas por el SNICS (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas).

El establecimiento de los controles o normas de calidad, se rige por acuerdos nacionales e internacionales. En su mayoría, se garantizan a través de reglamentaciones específicas. Las normas de certificación más difundidas son las de la Asociación de Agencias Oficiales Certificadoras de Semilla (AOSCA), que comprenden una serie de estándares mínimos. Estos estándares son modificados y adoptados por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) y se les ha designado como "Esquema de Certificación de la OCDE". Proporcionan un sistema uniforme para la identificación y control de la identidad genética de los materiales reproductivos forestales. Es importante señalar que la eficiencia de dicha legislación radica en los mecanismos o reglamentos, disponibles para verificar su cumplimiento pero sobre todo residen en la voluntad para manejar las semillas y las plantaciones con apego a las recomendaciones técnicas y científicas. (INIFAP, 1994).

Un factor inicial, importante en cualquier esquema de certificación de semillas, es la zonificación. Esta permite controlar el uso de semillas y sirve de base para establecer programas de mejoramiento genético. Otros factores importantes de la certificación son los análisis de la calidad fisiológica, que se realizan también en base a reglas o normas establecidas por acuerdos comunes. Garantizan un germoplasma con las propiedades fisiológicas indicadas en el certificado correspondiente (INIFAP, 1994). Las reglas para el análisis de semillas más usuales son establecidas por la Asociación Internacional de Pruebas de Semillas (ISTA), la cual otorga tres certificados, que son:

- Certificado amarillo: se obtiene cuando las muestras son tomadas de un sitio bajo certificación y las pruebas de laboratorio las realiza un laboratorio certificado.
- Certificado verde: se logra cuando las muestras provienen de un sitio certificado y las pruebas son realizadas por un laboratorio certificado en otro país.
- Certificado azul: solo se refiere a las muestras a probar y cuando el sitio de muestreo no esta bajo la responsabilidad de ningún laboratorio certificado.

Los certificados que acompañan a los lotes de semillas, incluyen siempre los distintos procedimientos que deben aplicarse para un manejo y obtención de resultados apropiados.

La importancia de la certificación, radica en un proceso que permite verificarlas e inspeccionarlas para una mejor siembra. Abarcan desde su origen, desarrollo de producción en campo, beneficio y acondicionamiento hasta su almacenamiento y comercialización.

Entre los procedimientos se encuentran las pruebas de germinación, que se realizan mediante rayos X. Esta prueba es útil solo para verificar la cantidad de semillas dañadas o parasitadas de una muestra.

Dentro de la certificación, es recomendable realizar una prueba de germinación de semillas al momento que llegan al laboratorio. En caso de que la germinación sea difícil, se recomienda aplicar una serie de tratamientos para inducirlos. Después de almacenar las semillas debe probarse su germinación de cada cierto tiempo y compararla con los resultados iniciales (INIFAP, 1994).

Las pruebas de germinación deben hacerse con semillas puras (ISTA, 2003). Estas semillas no deben recibir pre tratamientos, solo en casos que así se requiera. En caso de realizar pruebas posteriores con otros pre tratamientos, los resultados y pre tratamientos deben reportarse como "otras determinaciones" para cubrir los requerimientos de la certificación ISTA.

En relación al medio de soporte o sustrato, el ISTA (2003) recomienda usar papel o arena. El suelo o compostas no son recomendables y sólo están permitidos para algunas especies con requerimientos especiales. El papel debe ser de algodón, lana o celulosa; debe ser poroso y con alta capacidad de retención de agua. La arena debe ser uniforme, libre de hongos, bacterias y demás sustancias tóxicas, con buena retención de humedad y aireación.

La composta debe ser de buena calidad, contener materia orgánica y un 10% de arena. También puede agregarse perlita o vermiculita y la humedad debe revisarse con frecuencia.

Las temperaturas y la duración de las pruebas, deben apegarse a las recomendaciones del ISTA. Al realizar la evaluación de pruebas realizadas en papel, sin poder definirse, conviene realizar otra prueba sobre arena o suelo de buena calidad, a temperaturas permitidas y bajo en condiciones favorables de humedad y luz.

En caso de que las pruebas de germinación insatisfactorias, el ISTA permite realizar otra prueba bajo las mismas condiciones o con métodos alternativos, bajo las siguientes circunstancias:

- En caso de sospechar latencia o letargo.
- Cuando los resultados no son confiables a causa de daños fitotóxicos, hongos o bacterias.
- Cuando se presentan dificultades para decidir la correcta evaluación por el número de semillas empleado.
- Cuando hay evidencia de errores ocurridos durante la prueba, evaluación o conteo.

Bibliografía

LAGURENNE, Alicia. 1972. Como hacer un herbario. Consejo nacional para la Enseñanza de la Biología. Serie de Divulgación - Folletos de trabajo. CECOSA. México. 32 pp.

LOT A. & CHIANG F. 1986. Manual de herbario: Administración y manejo de colecciones, técnicas y preparación de ejemplares botánicos. Consejo nacional de flora de México A. C. México. 342 pp.

PATTISON, Graham. 1984. Código de conducta para la colecta de plantas. Cuaderno de divulgación 21. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. México. 13 pp.

SALVADOR-FLORES, José. 1974. El herbario de la universidad de El Salvador. Universidad de El Salvador Facultad de Ciencias y Humanidades. Instituto de Ciencias Naturales y Matemáticas Departamento de Biología. El Salvador. 57 pp.

DEL AMO-RODRIGUEZ, Silvia. 2006 (?). Guía para la colecta de buenas semillas. Centro de Investigaciones Tropicales. Programa de Acción Forestal. México. Sin publicación.