

Capítulo 2. Metodología

2.1 Muestreo de poblaciones

Las muestras utilizadas para los experimentos fueron tomadas de tres sitios descritos a continuación:

- **San Baltazar Atlimeyaya.** Ubicado en el estado de Puebla, tiene una elevación de 2190 m.s.n.m y se encuentra entre las coordenadas 18°97'587" latitud Norte y 98°48'107" longitud Oeste. Las muestras fueron tomadas el 12 de enero del 2006 y 26 de febrero del 2007. El tipo de vegetación en esta localidad es bosque de pinos; su clima es templado sub-húmedo con lluvias en Verano. La temperatura media anual oscila entre 16.1 y 21.8 ° C, así como una precipitación media anual que varía entre los 719.8 y los 1, 061 mm. (Mora, 2007)
- **Tecalli de Herrera.** En el estado de Puebla, a una elevación de 2215 ms.n.m. Sus coordenadas son 18°59'333" latitud Norte, 98°28'908" longitud Oeste. La vegetación característica de esta zona es el matorral xerófilo; el clima es templado con lluvia escasa en verano, con temperatura media anual entre los 12 y los 18° C, así como una precipitación media anual que varía entre los 600 y los 800 mm (Secretaría de Gobernación del Estado de Puebla). Las muestras fueron tomadas el 28 de enero del 2006 y el 27 de febrero del 2007.
- **La Mancha.** Situada en el estado de Veracruz, donde se tomaron muestras entre 1 y 10 ms.n.m. Las colectas se hicieron el 22 de enero del 2006 y el 17 de febrero del 2007. Esta localidad se encuentra en las coordenadas 19°35'392" latitud Norte y 96°22'441" longitud Oeste. La vegetación es representativa de dunas costeras, es decir clima calido húmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual va de 20 a 26 °C, así como una precipitación media anual de 1200 a 1500 mm (García-Franco, 1996).

En cada sitio se colectaron de 5 a 10 frutos provenientes de cinco árboles y fueron almacenados en bolsas de papel y mantenido en el laboratorio. Se tomaron

también dos muestras de suelo a diez centímetros de profundidad para medir su salinidad por localidad.

2.2 Salinidad del suelo

Las muestras de suelo se secaron al aire durante dos días. Posteriormente se tamizaron y se hizo una mezcla 2:1 de agua desionizada y suelo. Se dejaron reposar por 4 horas para después ser filtradas. Utilizando un matraz quitasato, un filtro de porcelana, filtros del número 4 marca Whatman, y una bomba de vacío. Las mezclas obtenidas se dejaron precipitar por 12 horas.

Para conocer la cantidad de iones disueltos en el suelo se realizó una medición con un conductímetro 712 marca Metrohm, el cual se calibró con una solución de KCl 0.01M a 24°C y agua destilada. Posteriormente se midió la conductividad de las mezclas de los suelos (Rhoades, 1982). La conductividad eléctrica se mide con las unidades deciSiemens sobre centímetro. Un Siemens es el inverso del ohm, el cual es la medida de la resistencia eléctrica. El término de distancia que se utiliza (centímetros) viene a causa de la forma como se mide la conductividad. Normalmente esto se hace con dos electrodos de platino, de los que se conoce la medida entre ellos (Walker, 2004).

La unidad común para la concentración de sales, se llama total de sales disueltas (TSD) y se da en miligramos por litro. Esta es una medida de la cantidad de sal que se encuentra diluida en la solución, por el peso obtenido por evaporación. Esto es diferente a la conductividad, la cual nos dice cuánta electricidad va a conducir una solución como resultado de las sales presentes en ella (Walker, 2004) Para convertir los resultados obtenidos en deciSiemens por centímetro (dS/cm) a miligramos por litros (mg/L) lo que se hace es multiplicar por un factor de 600.

2.3 Experimentos de germinación

Las semillas muestra de cada población fueron mezcladas para evitar que los resultados obtenidos fueran reflejo solo de un árbol. Estas fueron desinfectadas sumergiéndolas en hipoclorito de sodio al 1% por un tiempo de tres minutos y posteriormente enjuagadas tres veces con agua destilada (Larson y Kiemnec, 2005, McElroy, J et al, 2004).

Los experimentos consideraron dos factores:

- Las poblaciones (Atlimeyaya, Tecalli y La Mancha).
- La salinidad con cuatro niveles: agua destilada (control) y 100, 200, 300 y 400mM de NaCl, los cuales equivalen a 2.3×10^4 , 1.7×10^4 , 1.1×10^4 y 5.8×10^3 mg/L respectivamente.

Se usaron 50 semillas para cada combinación de factores, colocadas en grupos de 10 semillas en cajas de Petri de plástico de 9 cm de diámetro con papel filtro del numero 4 Whatman, y 5ml de agua destilada o solución de NaCl (DiTommaso, 2004). Las cajas Petri fueron selladas con parafilm para evitar la evaporación y fueron colocadas en una cámara de crecimiento, con un fotoperiodo de 12 horas, la temperatura se mantuvo constante a 23°C.

El número de semillas que germinaron en cada caja de Petri fue registrado dos veces al día por un periodo de quince días. Se asumió que la semilla había germinado cuando la radícula era por lo menos de 2mm de longitud (DiTommaso, 2004).

Se hizo un primer experimento en junio del 2006, con las semillas colectadas ese año; un segundo experimento se realizó en marzo del 2007 con semillas de ese año.

2.4 Análisis de datos

Se hizo la suma del total de semillas germinadas cada 48 horas, hasta 192 horas de experimento. Para cada uno de éstos intervalos se hicieron tablas de contingencia y una prueba de χ^2 utilizando el paquete estadístico Minitab 15, para probar la hipótesis nula

que el número de semillas germinadas es independiente de las poblaciones y los tratamientos.

Posteriormente estos datos germinación fueron utilizados para obtener un índice de la tasa de germinación con la siguiente formula:

$$G = \frac{\sum_{i=1}^T n_i (1 + T - i)}{NT} \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Donde G es la tasa de germinación, n_i es el número de semillas germinadas en i intervalos, N es el número de semillas por unidad experimental y T es el número total de intervalo. Este índice mide la velocidad con que las semillas germinan, dándoles un valor mayor a las semillas germinadas en los primeros intervalos.