

**FECUNDIDAD, VIABILIDAD DE SEMILLAS Y GERMINACIÓN *in situ* y *ex situ*
DE *Zamia manicata* Linden ex Regel (ZAMIACEAE)**

VANESSA MARÍA MONTOYA URIBE

Trabajo de grado para optar al título de Bióloga

Asesor

ÁLVARO IDÁRRAGA PIEDRAHITA, Biólogo, Cand. Ms.c

Co-asesora

CRISTINA LÓPEZ GALLEGU, Ph.D.

**UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
MEDELLÍN
2013**

*“Aprender es descubrir lo que ya sabes. Hacer es demostrar que lo sabes.
Enseñar es recordar a otros que lo saben tanto como tú. Todos somos
aprendices, hacedores, maestros”*

Richard Bach.

DEDICATORIA

A mi madre y hermanos por apoyarme y ser partícipes del sueño de convertirme en Bióloga. A mis asesores, Cristina López y Álvaro Idárraga, quienes compartieron su conocimiento y me brindaron su ayuda incondicional durante la realización de mi proyecto de grado. Finalmente a todas las personas del Herbario de la Universidad de Antioquia —HUA— y a mis compañeros y amigos que influyeron con su presencia en el cumplimiento de mis metas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, y al Instituto de Biología por darme la oportunidad de formarme profesionalmente.

Al Comité para el Desarrollo de la Investigación —CODI— por su apoyo económico.

Al Grupo de investigación en Ecología de la Conservación —EECCO— por su acompañamiento antes, durante y después de la ejecución de mi proyecto de grado.

Al Herbario de la Universidad de Antioquia —HUA— por ser parte activa y testigo de mi proceso de crecimiento hacia la vida profesional.

CONTENIDO

	pág.
LISTA DE TABLAS.....	7
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE ANEXOS	9
RESUMEN	10
1. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. Alteración del hábitat y viabilidad de poblaciones de Cícadas.....	11
1.2. Fecundidad en poblaciones naturales de Cícadas.....	12
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
2.1. Área de estudio.....	16
2.1.1. Fragmento de bosque conservado	17
2.1.2. Fragmento de bosque perturbado	17
2.2. Fecundidad en poblaciones naturales de <i>Z. manicata</i>	17
2.2.1. Proporción de individuos produciendo estróbilos femeninos en las subpoblaciones.....	17
2.2.2. Número promedio de semillas en las subpoblaciones	18
2.2.3. Número de óvulos fecundados por estróbilo.....	18
2.3. Viabilidad de las semillas por estróbilo.....	19
2.4. Germinación de las semillas <i>in situ</i>	21
2.5. Germinación de las semillas sembradas en dos sustratos <i>ex situ</i>	21
2.6. Análisis de datos	23
3. RESULTADOS	23
3.1. Fecundidad en poblaciones naturales de <i>Z. manicata</i>	23

3.1.1. Proporción de individuos produciendo estróbilos femeninos en las subpoblaciones.....	23
3.1.2. Número promedio de semillas en las subpoblaciones.....	25
3.2 Viabilidad de las semillas por estróbilo.....	26
3.3 Germinación de las semillas <i>in situ</i>	27
3.4 Germinación de las semillas sembradas en dos sustratos <i>ex situ</i>	28
4. DISCUSIÓN.....	31
5. RECOMENDACIONES.....	37
6. BIBLIOGRAFÍA.....	38
ANEXOS	42

LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla 1. Número promedio de semillas usadas para cada una de las pruebas correspondientes al 25% del total de semillas extraídas de los 11 estróbilos analizados19

Tabla 2. Matriz de coeficientes de correlación de Pearson y valores P de las variables viabilidad, germinación *in situ* y germinación en dos sustratos *ex situ*.....30

LISTA DE FIGURAS

pág.

Figura 1. Densidad promedio de adultos por parcela en las subpoblaciones.....	24
Figura 2. Proporción de individuos adultos produciendo estróbilos femeninos (parámetro de fecundidad) en las subpoblaciones	25
Figura 3. Número promedio de semillas producidas por individuo como estimación de la fecundidad en las subpoblaciones	26
Figura 4. Proporción de semillas viables y no viables para 10 de los 11 estróbilos analizados para la población de <i>Zamia manicata</i>	27
Figura 5. Proporción de la germinación de las semillas por cada uno de los 11 estróbilos analizados en condiciones <i>in situ</i>	28
Figura 6. Proporción de semillas germinadas por estróbilo en cada uno de los sustratos evaluados <i>ex situ</i>	29
Figura 7. Porcentaje de germinación de las semillas sembradas en dos sustratos <i>ex situ</i> en función del tiempo transcurrido desde el inicio de la siembra hasta la germinación de la última semilla	30

LISTA DE ANEXOS**pág.**

Anexo 1. Proporción de individuos adultos femeninos y sus densidades por parcela en las subpoblaciones	42
Anexo 2. Proporciones de viabilidad, germinación <i>in situ</i> y germinación <i>ex situ</i> (sustratos: Arena-aserrín, Compostaje de hojarasca) para 10 de los 11 estróbilos evaluados	43
Anexo 3. Registro fotográfico.....	44

RESUMEN

Zamia manicata es una especie que se encuentra en riesgo de extinción en Colombia. Su crecimiento poblacional y distribución están limitados por el grado de fragmentación y degradación de su hábitat. Dicha fragmentación va en aumento en bosques del Urabá antioqueño y chocoano, zonas donde persisten las poblaciones de esta especie. En este estudio se evaluaron aspectos de la biología reproductiva en dos subpoblaciones de la especie ubicadas en fragmentos de bosque perturbado y bosque conservado. Densidad de individuos adultos, proporción de individuos femeninos reproductivos y número promedio de semillas producido por individuo fueron determinadas en parcelas en los fragmentos de bosque. Además, variables de viabilidad y germinación de semillas fueron estimadas para una subpoblación en pruebas *in situ* y *ex situ*. Los resultados mostraron una similar proporción de individuos adultos produciendo conos femeninos así como un número promedio de semillas comparable en ambas subpoblaciones. Por otro lado, la viabilidad de semillas y la germinación en hábitat varió ampliamente entre individuos y las tasas de viabilidad y germinación no estuvieron relacionadas entre sí. En el experimento de germinación *ex situ* el sustrato Arena-aserrín se mostró como el más indicado para la germinación de las semillas de la especie. Este estudio exploró importantes factores de fecundidad, viabilidad y germinación para las poblaciones de *Zamia manicata* los cuales aportan al conocimiento de la dinámica de las poblaciones que es fundamental en estudios futuros con fines de conservación para la especie.

Palabras clave: riesgo de extinción, fragmentación, Urabá antioqueño y chocoano, *Zamia manicata*.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Alteración del hábitat y viabilidad de poblaciones de Cícadas

La fragmentación como categoría de impacto humano negativo provoca disminución y aislamiento de grandes áreas de bosque natural (Forero y Finegan 2001). La mayor parte de esta interrupción de hábitat es debida a la expansión de terrenos para cultivos, pastizales para ganadería y demás estrategias de aprovechamiento forestal (Murcia 1995). Como resultado de esto, la dinámica de la mayor parte de las comunidades vegetales se ve alterada sustancialmente provocando extinciones locales de especies autóctonas de cada región (Murcia 1995, Rodríguez-Cabal et al. 2007).

Países tropicales como Colombia afrontan tales impactos debidos especialmente al sector productivo, el cual se registra como una de las principales causas de pérdida de flora en el país (García et al. 2010). Zonas como las del Urabá antioqueño y chocoano experimentan la excesiva explotación maderera y agrícola de sus tierras afectando a especies nativas que crecen abundantemente en sus bosques. Entre las especies afectadas se puede encontrar muchas angiospermas y especies de Cicadáceas como *Zamia manicata* y *Zamia obliqua* (Espinal 2011, López e Idárraga 2001). Atendiendo a esta situación, es pertinente realizar estudios de impacto a las especies encontradas allí y en especial aquellas que presentan riesgos altos de extinción como *Zamia manicata* (Galeano et al. 2005).

Colombia es uno de los países con mayor riqueza de Cícadas de la región neotropical (López e Idárraga 2001) albergando diversidad de especies nativas del género *Zamia*, las cuales han sido clasificadas como 19 en total (Calonje 2009, Galeano et al. 2005, Lindstrom 2009, Stevenson 2001). A pesar de su abundancia en esta zona del país, *Zamia manicata* es una especie de distribución geográfica restringida que actualmente se encuentra catalogada en Colombia,

según los criterios de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, IUCN (2011) y el Centro de Monitoreo de la Conservación Mundial, CITES (1996), como una especie En Peligro [EN B1ab (iii)] (Galeano et al. 2005) y por lo tanto en riesgo de extinción. Lo anterior es debido a diversos factores tales como la reducción del tamaño poblacional, el área de distribución geográfica restringida, el alto grado de fragmentación de su hábitat y factores biológicos inherentes (Galeano et al. 2005). Actualmente, *Zamia manicata* sólo se reporta en zonas bajas de la región nor-occidental del Darién panameño y colombiano (Bernal y Restrepo 1991, Stevenson 2001) y se tiene muy poco conocimiento con respecto a su dinámica poblacional en estas zonas del país.

La mayor parte de la biología reproductiva de *Zamia manicata* ha sido muy poco estudiada y necesita ser investigada. Parámetros de fecundidad poblacional, viabilidad de semillas para germinación y establecimiento de individuos juveniles son poco conocidos para este tipo de especies (Pérez-Farrera et al. 2006). De igual forma, parámetros de densidad poblacional para *Zamia manicata* deberían ser estudiados y monitoreados constantemente debido a la inminente disminución de sus individuos en condiciones naturales.

1.2 Fecundidad en poblaciones naturales de Cícadas

Los parámetros de densidad y fecundidad de las poblaciones son dos de los criterios más importantes que se deben tener en cuenta al momento de estimar la abundancia y potencial reproductivo de una población (Rockwood 2006). La fecundidad y supervivencia de las poblaciones naturales operan en función de variables como edad de los individuos, sexo, rango social y fenómenos de estocasticidad (Coulson et al. 2004, Rockwood 2006). En poblaciones vegetales, la fecundidad de una población se entiende como el número promedio de semillas producidas por individuos en edad reproductiva y en intervalos de tiempo definidos (Begon et al. 2006, Rockwood 2006).

La tasa de fecundidad en una población permite a largo plazo que los individuos reproductivos se replacen a sí mismos y a sus ascendientes (Rockwood 2006). Como consecuencia, la población crece con cada cohorte de nacimiento que albergue un número mayor de individuos que la nacida previamente, formando así un modelo de pirámide triangular en el tiempo (Cohen 2003). Las tasas de mortalidad en las poblaciones se generan según los grupos de edad que la conformen, siendo considerados los estadios iniciales en el ciclo de vida de los individuos como los de mayor riesgo de mortalidad (Begon et al. 2006, Harper 1977). Sin embargo, la mortalidad en otras clases de edad tiene lugar pero opera según la especie, las fluctuaciones en las tasas de crecimiento, la capacidad de supervivencia y los fenómenos de estocasticidad que rodeen a la población (Begon et al. 2006, Cohen 2003, Rockwood 2006). Es importante conocer la capacidad y estrategias reproductivas de las poblaciones naturales en su hábitat forestal y en condiciones *ex situ* con el fin de plantear estrategias de conservación y restauración ecológica en los bosques que sufren degradación por intervención humana. Tales estrategias deben buscar restablecer la dinámica y viabilidad poblacional de las especies amenazadas como en García et al. (2010).

La supervivencia de las Zamíáceas en condiciones *in situ*, y en general del orden Cicadales, está determinada en gran medida por características únicas que las hacen vulnerables (Galeano et al. 2005). Entre estas características se tiene el hecho de ser dioicas, poseer polinizadores específicos para la fertilización debido a que el polen no es diseminado por el viento, y que el crecimiento, fertilización y maduración de las semillas sea lento (Galeano et al. 2005, Terry et al. 2004). La necesidad de suelos bien drenados y la presencia de tallos sensibles a enfermedades fúngicas por el alto contenido de almidón (Royal Botanic Gardens Sydney 2004) son características que las vulneran aún más. Sumado a esto se encuentra la limitación en la dispersión de las semillas bien sea por la ausencia de dispersores o por contener un alto porcentaje de neurotoxinas (cicasinas,

macrozaminas, ácido propiónico b-N-metilamina-alanina) que les imprimen un desagradable sabor (Pérez-Farrera et al. 2006).

Las semillas de la familia Zamiaceae, según Dehgan (1983) presentan latencia fisiológica por inmadurez del embrión siendo incapaces de germinar cuando enfrentan condiciones ambientales desfavorables (Pérez-Farrera y Vovides 1997). No obstante, su propagación en viveros no es difícil ya que si las semillas se almacenan en condiciones de humedad adecuadas el embrión sigue desarrollándose lentamente hasta alcanzar la madurez (Lázaro-Zermeño et al. 2011, Pérez-Farrera y Vovides 1997). La capacidad de una semilla para germinar luego de ser sembrada en condiciones óptimas refleja directamente la viabilidad del embrión (Pérez-García y Pita-Villamil 2001). Se ha reportado que la mayor parte de la mortalidad de los individuos de las especies de la familia Zamiaceae se presenta en las semillas y plántulas recién germinadas (Octavio-Aguilar et al. 2008). Lo anterior es debido principalmente a la deshidratación que sufre el embrión cuando las semillas afrontan períodos secos de larga duración (Vovides et al. 2010).

Aunque su crecimiento se limita a zonas geográficas específicas y la pérdida de hábitat es constante, las poblaciones de *Zamia manicata* y de las Cícadas en general toleran una gran variedad de suelos mientras éstos les faciliten buen drenaje y humedad para el normal desarrollo de las plántulas (Royal Botanic Gardens Sydney 2004). Por lo tanto y para técnicas de propagación *ex situ*, el sustrato en el que germinen las semillas de *Zamia manicata* debe contar con una buena aireación para que la reducción del oxígeno en él no afecte negativamente a la germinación y las semillas sean capaces de utilizar el nitrógeno disponible (Pérez-Farrera y Vovides 1997). Sin embargo, son escasas aún las publicaciones con información adecuada para propagar las especies de la familia Zamiaceae bajo condiciones ambientales óptimas tales como humedad, niveles de luz-sombra, requerimientos minerales y factores edáficos necesarios para su crecimiento en viveros (Dehgan et al. 2004).

Es por tanto que los resultados obtenidos del presente estudio contribuyen al entendimiento y valoración de los procesos biológicos y reproductivos de la especie *Zamia manicata*. De igual forma, generan conocimiento acerca de las estrategias reproductivas empleadas por la especie para establecerse y mantenerse en el tiempo aun cuando se encuentra creciendo en zonas de alta fragmentación. Finalmente, aporta al establecimiento de efectivas y adecuadas estrategias de manejo para la especie ya que al obtenerse información sobre parámetros de fecundidad, procesos de reproducción y germinación, y viabilidad de sus semillas, podría ser utilizada para programas efectivos de conservación.

Por lo anterior, el presente estudio evaluó el efecto de dos sustratos (tratamientos) sobre la germinación de las semillas de *Zamia manicata* y estimó parámetros de fecundidad en dos subpoblaciones naturales de la especie. Dos preguntas de investigación fueron evaluadas en ambas subpoblaciones para describir sus tasas de fecundidad: ¿Cuál es la proporción de individuos adultos que están produciendo estróbilos femeninos en las dos subpoblaciones?, y ¿Cuál es el número promedio de semillas por individuo que se están produciendo en cada una de ellas? Se evaluaron además las siguientes preguntas en cuanto a la viabilidad y germinación de las semillas de *Zamia manicata*: ¿Cuál es la tasa de germinación y el porcentaje de viabilidad de las semillas en condiciones naturales? ¿Existen diferencias significativas entre la tasa de germinación de las semillas de *Zamia manicata* sembradas en dos sustratos *ex situ*? ¿Se encuentran relacionadas entre sí las variables viabilidad, germinación *in situ* y germinación *ex situ*?

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

Para este proyecto se realizó un muestreo de dos subpoblaciones de *Zamia manicata* ubicadas en dos fragmentos de bosque localizados en la Vereda Juradó del municipio de Chigorodó. La zona de vida predominante en ambos sitios es de bosque muy húmedo tropical (bmh-T) (Holdridge 1967) y son lugares donde naturalmente se distribuye la población de *Zamia manicata*. Los fragmentos de bosque analizados corresponden a los predios de La Finca La Mejía con coordenadas 07°31'06" N y 76°35'39" W y una elevación de aproximadamente 78 msnm.

La zona de vida de bmh-T en Antioquia se extiende por la vertiente occidental de la Cordillera Occidental desde el municipio de Dabeiba hasta comienzos del municipio de Chigorodó cruzando las estribaciones de la serranía de Abibe (Espinal 2011). El promedio anual de precipitación de esta zona oscila entre 4.000 y 8.000 mm y la temperatura promedio anual es superior a 24°C (Espinal 2011).

La primera subpoblación de *Zamia manicata* analizada se muestreó en un fragmento de cientos de hectáreas (bosque continuo) situado río arriba de La Finca La Mejía y caracterizado por encontrarse en buen estado de conservación. La segunda subpoblación fue muestreada en un fragmento más pequeño ubicado al frente de la Finca La Mejía tras cruzar la carretera. Las subpoblaciones se denominaron como: subpoblación 1, fragmento de bosque conservado y subpoblación 2, fragmento de bosque perturbado. Una descripción más detallada de los sitios de estudio se presenta a continuación.

2.1.1. Fragmento de bosque conservado: caracterizado por presentar pequeñas colinas con algunas zonas planas y presencia de caños y quebradas que forman una topografía irregular a pequeña escala. El dosel del bosque posee en su mayoría una alta cobertura que puede alcanzar hasta los 25 metros de altura. Este fragmento alberga gran cantidad de especies de sotobosque y una notable capa de hojarasca tapiza la mayor parte del suelo del interior del bosque.

2.1.2. Fragmento de bosque perturbado: es un sitio muy intervenido por la producción ganadera debido a que se ubica dentro de una matriz de potreros. Dicha potrerización permite la formación de senderos y provoca compactación de los suelos. Esta situación da paso a inundaciones ya que la fisionomía del terreno en su mayor parte es plana. Cuenta con presencia de gran cantidad de especies de palma, entre ellas la palma pangana (*Raphia taedigera*) y especies del género *Dieffenbachia*. Es un fragmento de dosel muy abierto, con abundantes claros y presencia de pequeños caños y quebradas.

2.2 Fecundidad en poblaciones naturales de *Z. manicata*

2.2.1. Proporción de individuos produciendo estróbilos femeninos en las subpoblaciones. En cada fragmento escogido se trazaron 10 parcelas cuadradas de muestreo de 400 m² (20 x 20m) cada una donde se realizó el conteo de los individuos adultos de *Zamia manicata*. Las parcelas se ubicaron de manera aleatoria tratando de obtener un muestreo representativo de los microambientes en donde las subpoblaciones están distribuidas. El conteo para la subpoblación de bosque conservado se llevó a cabo entre los días 11 al 15 de Noviembre de 2011, mientras que los individuos de la subpoblación del bosque perturbado fueron muestreados entre los días 9 y el 15 de Junio de 2012. Se obtuvo el número de individuos adultos encontrados en las 10 parcelas de cada subpoblación y se estimó la densidad promedio de cada subpoblación expresada como el número de individuos adultos hallados por m². El criterio para identificar y

categorizar a los individuos adultos de *Zamia manicata* fue observar un número mayor o igual a ocho folíolos en la hoja más larga de cada individuo ya que en los estudios realizados a las poblaciones de *Zamia manicata* no han sido encontrados aún individuos reproductivos con menos de ocho folíolos en sus hojas (*com. pers.* López 2012). De igual manera, se realizó el conteo de los estróbilos femeninos que estuvieran presentes por cada individuo adulto y se estimaron las respectivas proporciones con respecto al número de adultos hallado anteriormente.

2.2.2. Número promedio de semillas en las subpoblaciones. A cada estróbilo femenino encontrado se le registró el número de esporófilos que contenía para calcular así el número de semillas que producirá cuando llegue a su madurez ya que cada esporófilo alberga 2 semillas en su interior. Habiendo obtenido este número, se estimó el promedio de semillas por individuo producido en las subpoblaciones.

2.2.3. Número de óvulos fecundados por estróbilo. Se procedió a coleccionar 11 estróbilos al azar por fuera de las parcelas del bosque conservado para usar sus semillas en los ensayos siguientes de viabilidad y germinación. Se efectuó la extracción manual de los óvulos fecundados de cada uno de los esporófilos por estróbilo y los óvulos no fecundados fueron descartados. Los óvulos no fecundados se reconocen fácilmente a simple vista pues no alcanzan un gran tamaño y su color es blanco comparado con el de una semilla viable la cual se torna de color rosado o rojo al madurar. Se estimó así el número total de óvulos fecundados por estróbilo en cada subpoblación.

Este lote de semillas viables (óvulos fecundados) fue envuelto en periódico y guardado hermético y debidamente rotulado por estróbilo para transportarlas hacia el laboratorio de Botánica de la Universidad de Antioquia. Allí fueron almacenadas en el refrigerador durante un período corto de 13 días al final del cual fueron sacadas y preparadas para someterlas a las pruebas.

2.3 Viabilidad de las semillas por estróbilo

El promedio de semillas usadas para cada prueba fue de 139.5 correspondientes al 25% del total de las semillas. La repartición de semillas por prueba fue así:

Tabla 1. Número promedio de semillas usadas para cada una de las pruebas correspondientes al 25% del total de semillas extraídas de los 11 estróbilos analizados.

Prueba	Número de semillas (25%)
Viabilidad	143
Prueba de Germinación <i>in situ</i>	148
Prueba de Germinación <i>ex situ</i>: Sustrato 1	134
Prueba de Germinación <i>ex situ</i>: Sustrato 2	133
TOTAL	558

Entre el 28 y 29 de Noviembre de 2011 se separó un 25% de las semillas de sólo 10 de los 11 estróbilos colectados. Las semillas permanecieron 13 días en el refrigerador antes de estar listas para ser sometidas a la prueba de viabilidad siguiendo metodologías aplicadas por la Asociación Internacional de Pruebas de semillas, ISTA (1996). A través del almacenamiento en frío, los embriones inmaduros van desarrollándose lentamente y existe menos probabilidad de que pierdan su viabilidad como sucedería al almacenarlos en ambientes cálidos (Pérez-Farrera y Vovides 1997).

Inicialmente se cubrieron las semillas con agua de grifo durante 17 horas para hidratarlas. Seguidamente se preparó la solución de la sal de tinción con 2g de Cloruro de 2,3, 5 trifenil-tetrazolio (sal de tetrazolio al 1% en una solución tampón: 2 partes de difosfato de potasio y 3 partes de monofosfato sódico) disueltos en 200 ml de agua destilada. Previo retiro de la sarcotesta las semillas fueron cortadas longitudinalmente observándose al embrión ocupando la mitad o $\frac{3}{4}$

partes de la longitud del esporofito lo que indicó que las semillas contenían embriones desarrollados. En algunas semillas el embrión no ocupó esta proporción pero esto no indicó necesariamente que ésta semilla no hubiera sido fertilizada, simplemente se observó un pro-embrión en proceso de desarrollo el cual puede ser viable o no. Asimismo, fueron encontradas algunas semillas sin embrión.

Las semillas se lavaron con agua destilada y fueron ubicadas por estróbilo en 10 cajas de Petri donde se les cubrió con 20ml de la solución preparada y se les almacenó durante una fase de 24 horas a temperatura ambiente (20-25°C) y en un lugar oscuro del laboratorio donde se favoreciera la reacción. Los iones hidrógeno presentes en el proceso de respiración de los tejidos de las semillas viables reaccionan reduciendo las moléculas (incoloras) del cloruro de trifeníltetrazolio hasta convertirlas en trifenílformazán, pigmento caracterizado por su color rojo e insoluble en agua (Gilbert y Mejía 2002, Pérez-García y Pita-Villamil 2001). Las semillas inviables o sin tejidos respirantes no se tiñeron, sin embargo algunas regiones enfermas de varias semillas se tornaron de un rojo más oscuro y no uniforme indicando presencia de tejido moribundo (Gilbert y Mejía 2002). En base a lo anterior, la viabilidad de los tejidos respirantes de las semillas se indicó con el cambio a rojo del color blanco característico del embrión.

Finalmente, se contabilizaron las semillas viables y las no viables de acuerdo con lo planteado por Sánchez-Velásquez y Vásquez-Morales (2011) registrándolas con base a su tinción así: semillas viables: a) embrión totalmente teñido (100%), b) embrión tres cuartas partes teñido (75%), y c) embrión medianamente teñido (50%). Semillas no viables: a) embrión sin teñir, b) embrión putrefacto y c) sin embrión. Luego de contar y registrar el número de semillas viables se calculó el porcentaje de viabilidad para cada estróbilo.

2.4 Germinación de las semillas *in situ*

El experimento se inició el 14 de Noviembre de 2011 dentro de uno de los sitios de bosque escogidos el cual contaba con suelo bien drenado y dosel medianamente cerrado. El 25% de las semillas de cada uno de los 11 estróbilos fueron sembradas en tres pequeñas parcelas ubicadas aleatoriamente y separadas por una distancia de 20 cm. Las pequeñas parcelas se monitorearon durante un período de siete meses con dos visitas al sitio de muestreo. En la primera visita realizada el 23 de Febrero de 2012 se tabularon los datos de las semillas germinadas hasta esa fecha. Los datos de la germinación de las semillas faltantes se registraron en la segunda visita realizada el 9 de Junio de 2012. Finalmente, se estimaron los parámetros porcentaje y velocidad de germinación, explicados en la siguiente sección.

2.5 Germinación de las semillas sembradas en dos sustratos *ex situ*

El 50% de las semillas de los 11 estróbilos colectados fue sometido al efecto de los dos sustratos *ex situ* asignando el 25% de ellas a cada sustrato. El primer sustrato fue una mezcla de arena de río más aserrín en una proporción 3:1 (Arena-aserrín) y el segundo sustrato utilizado fue compostaje de hojarasca (Compostaje). Para evitar la proliferación de hongos se procedió a esterilizar los sustratos agregándoles agua caliente. Las semillas de cada estróbilo femenino se sembraron distribuidas al azar en bandejas de plástico perforadas en la base y con dimensiones de 30 x 30cm. Se sembraron un total de cuatro bandejas por sustrato las cuales fueron chequeadas semanalmente durante un período de cinco meses para registrar la germinación de las semillas y regarlas con agua hasta su capacidad de campo. Se consideró la germinación de las semillas cuando presentaron una radícula de al menos 1 cm de longitud. Estos ensayos de germinación *ex situ* se llevaron a cabo en La Micro-Estación del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia.

Las variables de respuesta evaluadas fueron el porcentaje final de germinación, el tiempo medio o velocidad de germinación citado por Nakagawa (1999) y el período de energía para el lote de semillas. La velocidad de germinación es expresada como el número promedio de días empleados por el lote de semillas para germinar de acuerdo al sustrato en el que se siembre (Pece et al. 2010). Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$VG = \frac{N1G1 + N2G2 + \dots + NnGn}{Gn} = \frac{\sum_{i=1}^n NiGi}{\sum_{i=1}^n Gi}$$

Donde,

$G1, G2, \dots, Gn$ = número de semillas que germinaron en cada intervalo de tiempo (i-ésimo día).

$N1, N2, \dots, Nn$ = días transcurridos entre el inicio de la prueba y el fin de cada intervalo.

Gn = número total de semillas germinadas al final de la prueba.

El período de energía es expresado como el número de días requeridos para alcanzar la Energía Germinativa (EG), es decir, el momento en que el lote de semillas sembradas alcanza la tasa máxima de germinación (González et al. 2008). Este período se estimó al momento de observar un primer lote de semillas alcanzar 1cm en la longitud de la radícula. Este parámetro no fue estimado para el experimento de germinación *in situ* debido a que el tiempo de tabulación de los datos de la germinación no correspondió al de la emergencia de las radículas.

2.6 Análisis de datos

Mediante un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis se comparó la proporción de individuos con estróbilo femenino del total de adultos encontrado entre ambas subpoblaciones. De la misma manera, el número promedio de semillas por individuo se contrastó entre las subpoblaciones por medio de una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Para determinar el efecto de los dos tipos de sustrato en la germinación de las semillas se realizó una ANOVA de una vía. La variable dependiente corresponde al porcentaje de germinación por estróbilo en cada sustrato analizado. Por otro lado, la evaluación de la correspondencia entre las proporciones de las variables dependientes viabilidad, geminación *ex situ* y germinación *in situ* se obtuvo mediante una matriz de correlaciones de Pearson. Todos los análisis de datos se ejecutaron en los programas estadísticos SPSS 17.0 y Minitab 16.0. considerándose un nivel de significancia del cinco por ciento (5%).

3. RESULTADOS

3.1 Fecundidad en poblaciones naturales de *Z. manicata*

3.1.1. Proporción de individuos produciendo estróbilos femeninos en las subpoblaciones. El promedio de individuos adultos encontrado por parcela fue de 341,3 individuos para la subpoblación del fragmento conservado con una densidad promedio calculada equivalente a 0,85 individuos/m² (d.e. 0,37; e.e. 0,11). De la misma forma, el cálculo de la densidad promedio para la subpoblación del fragmento perturbado fue de 0,73 individuos/m² (d.e. 0,36; e.e. 0,11) con un promedio de individuos adultos de 292 por parcela (Figura 1).

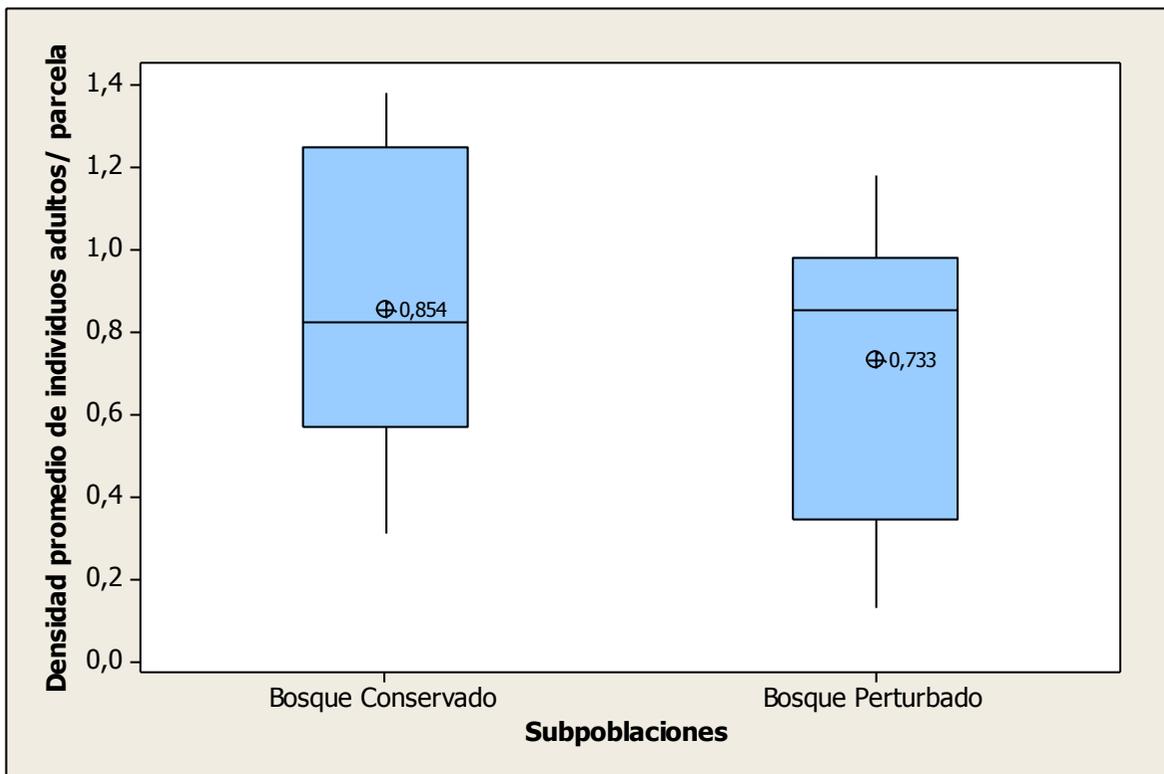


Figura 1. Densidad promedio de adultos por parcela en las subpoblaciones.

De los 3.413 individuos adultos encontrados en el área muestreada para el bosque conservado, 37 de ellos estaban produciendo estróbilos femeninos los cuales pertenecían al 1,08% del total de individuos de la subpoblación. Por su parte, para la subpoblación de bosque perturbado con 2.926 individuos adultos se calculó un porcentaje del 1,06% correspondiente a 31 individuos femeninos reproductivos encontrados. Cada individuo femenino producía en promedio 1,10 estróbilos en ambas subpoblaciones. Se encontró que no existen diferencias significativas entre la proporción de individuos con estróbilos femeninos hallados en las subpoblaciones (Kruskal-Wallis; $H=6,96$; g.l.=7; $P=0,433$; Figura 2).

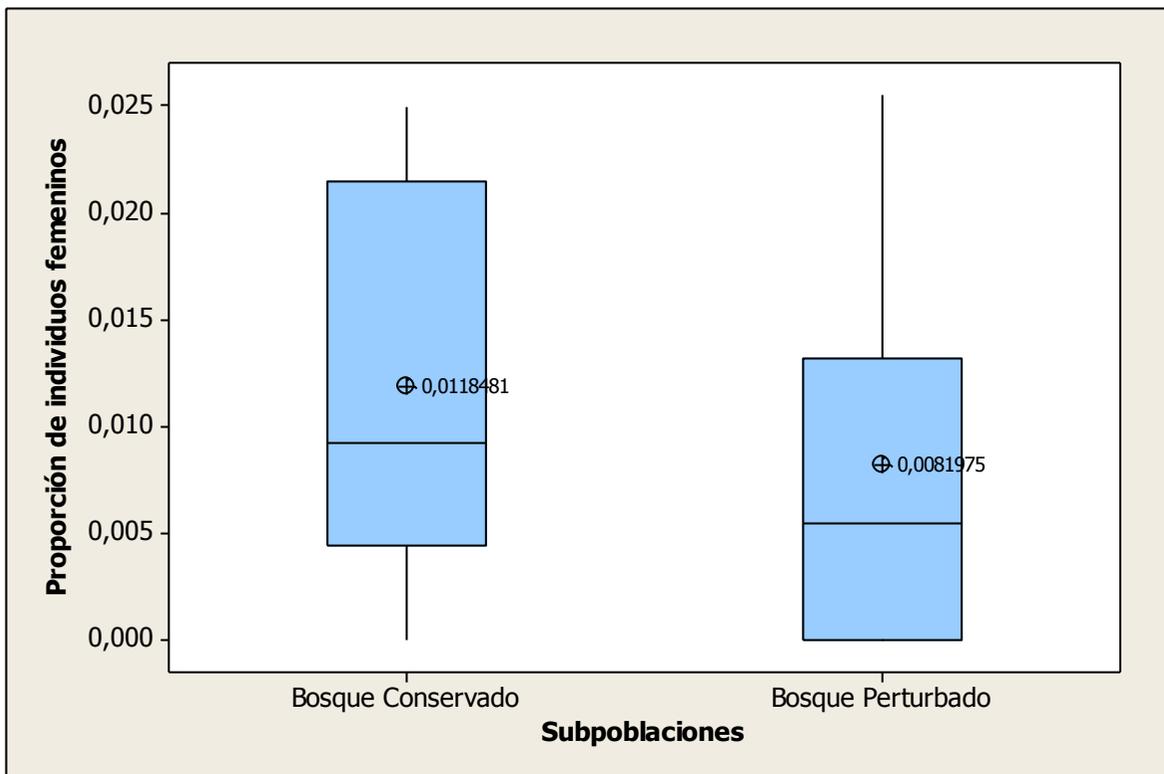


Figura 2. Proporción de individuos adultos produciendo estróbilos femeninos (parámetro de fecundidad) en las subpoblaciones.

3.1.2. Número promedio de semillas en las subpoblaciones. No existe diferencia significativa entre el número de semillas producido por individuo en las subpoblaciones (Kruskal-Wallis; $H=20,5$; g.l.=18; $P=0,305$). Se registró un número promedio de 98 ± 26 semillas por individuo ($n=41$) para la subpoblación de bosque conservado y $130 \pm 53,6$ semillas por individuo ($n=37$) para la subpoblación de bosque perturbado.

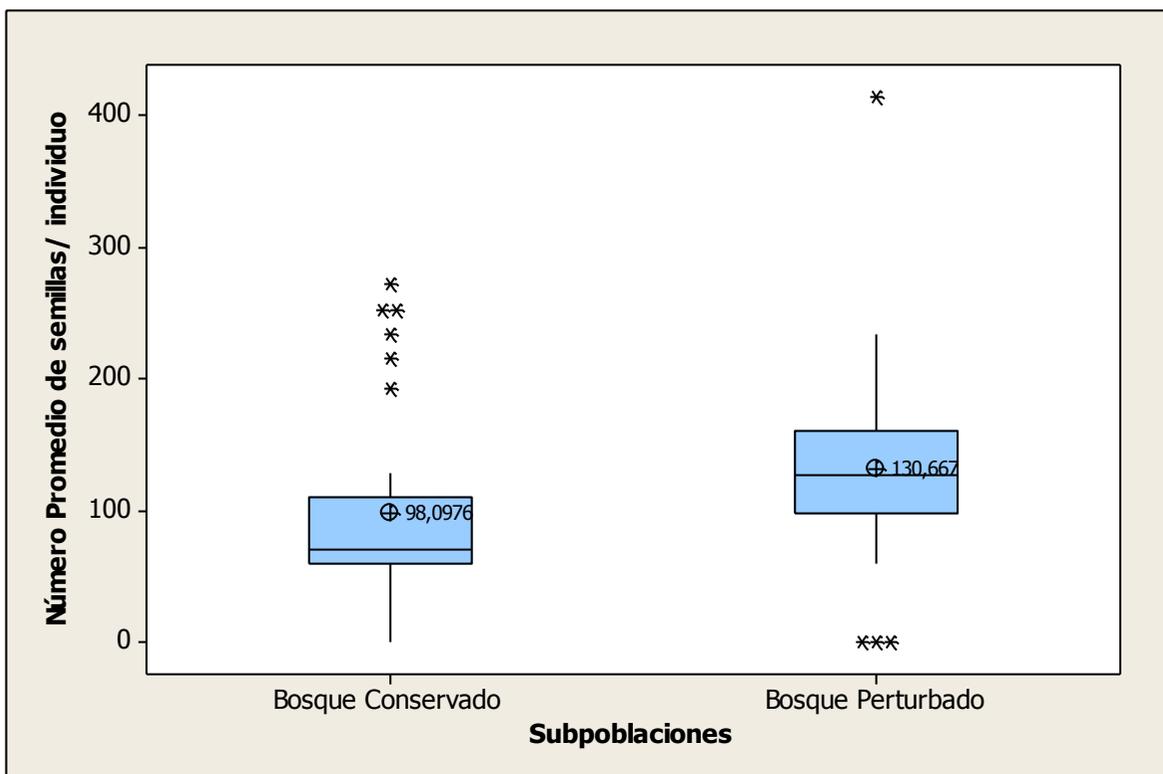


Figura 3. Número promedio de semillas producidas por individuo como estimación de la fecundidad en las subpoblaciones.

3.2 Viabilidad de las semillas por estróbilo

La prueba arrojó porcentajes de viabilidad superiores al 60% para la mayoría de los estróbilos (90%). La proporción de semillas viables y no viables se comparan por estróbilo en la Figura 4.

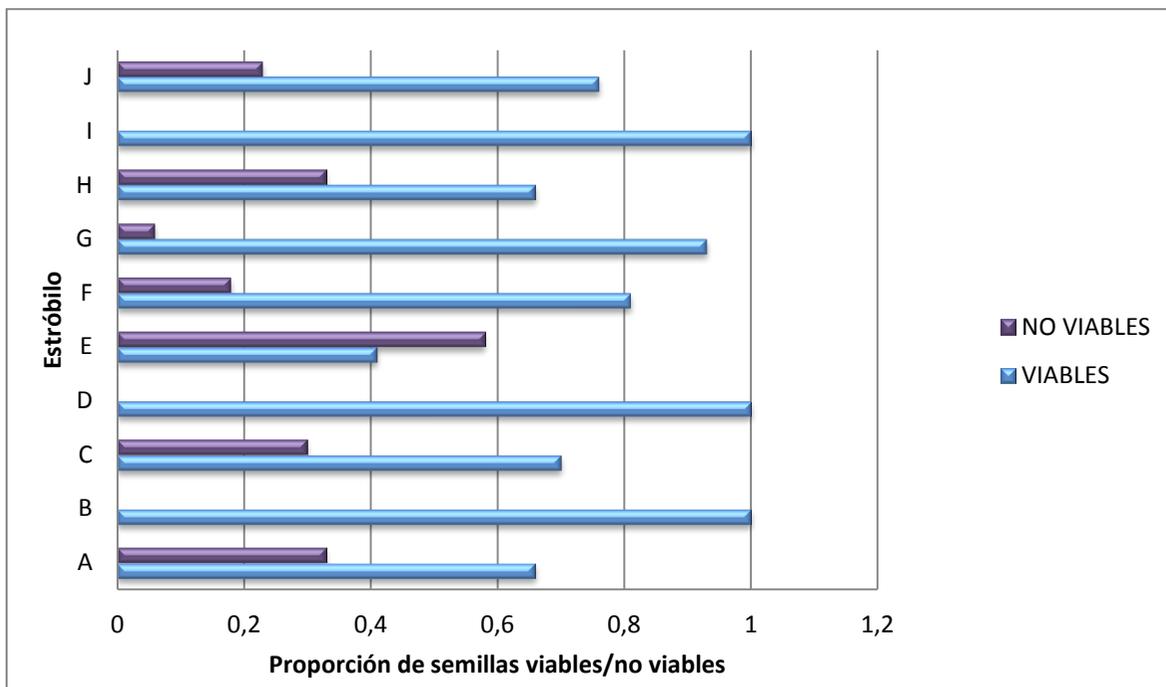


Figura 4. Proporción de semillas viables y no viables para 10 de los 11 estróbilos analizados para la población de *Zamia manicata*.

3.3 Germinación de las semillas *in situ*.

Una tasa de germinación *in situ* del 62,8% fue reportada con un promedio de días empleados en la germinación de 107 días (d.e. 25,05; e.e. 17,71) empleados en la germinación. La mayoría de los estróbilos analizados (73%) mostraron porcentajes de germinación superiores al 50% (Figura 5).

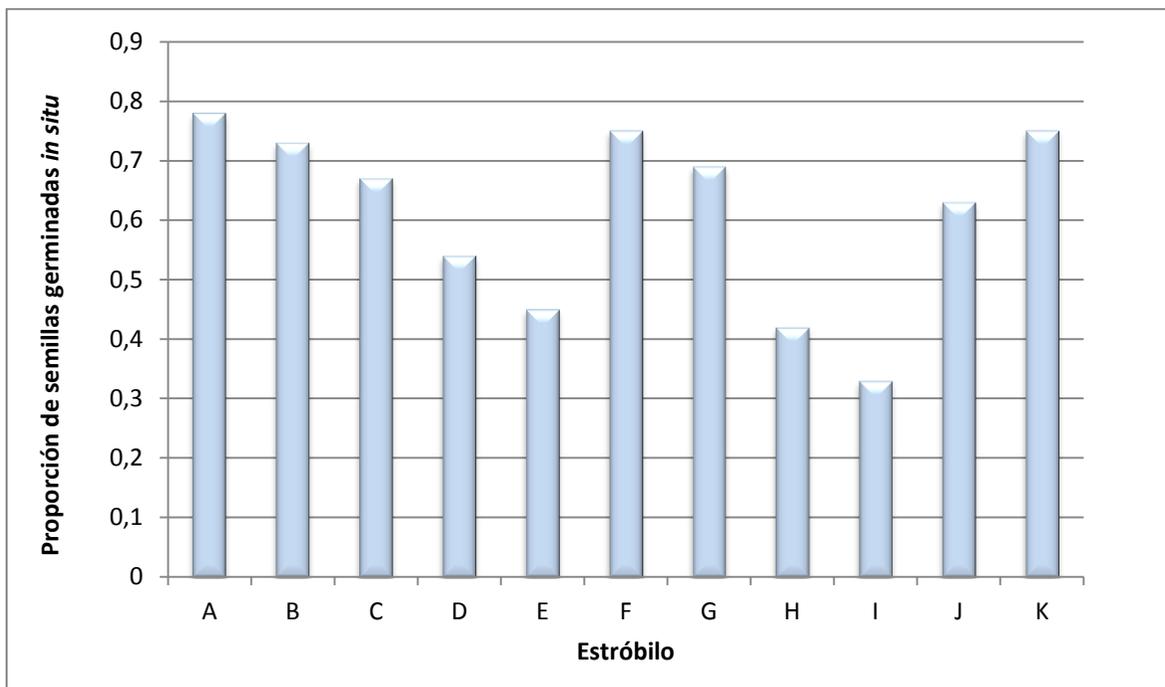


Figura 5. Proporción de la germinación de las semillas por cada uno de los 11 estróbilos analizados en condiciones *in situ*.

3.4. Germinación de las semillas sembradas en dos sustratos *ex situ*.

Se encontraron diferencias significativas en la respuesta de las semillas a ambos tipos sustratos ($F=5,75$; $g.l=1$; $P=0,028$). En el sustrato Arena-aserrín germinó un porcentaje de las semillas del 53% (71 semillas) y el número promedio de días empleados en la germinación fue de 75,6 días (d.e. 19,29; e.e. 9,64). Por el contrario, la germinación en el sustrato Compostaje de hojarasca fue del 23% (30 semillas) con una velocidad de germinación de 78,1 días (d.e. 18,23; e.e. 9,11). Por lo anterior, el porcentaje de germinación de las semillas fue mayor en el sustrato Arena-Aserrín con un promedio de días de germinación menor que en el Compostaje de hojarasca con una diferencia de 2,5 días. La proporción de las semillas germinadas por estróbilo en cada sustrato evaluado *ex situ* se muestra en la Figura 6 y los porcentajes de la germinación de las semillas en cada sustrato con respecto al tiempo transcurrido desde la siembra aparecen en la Figura 7.

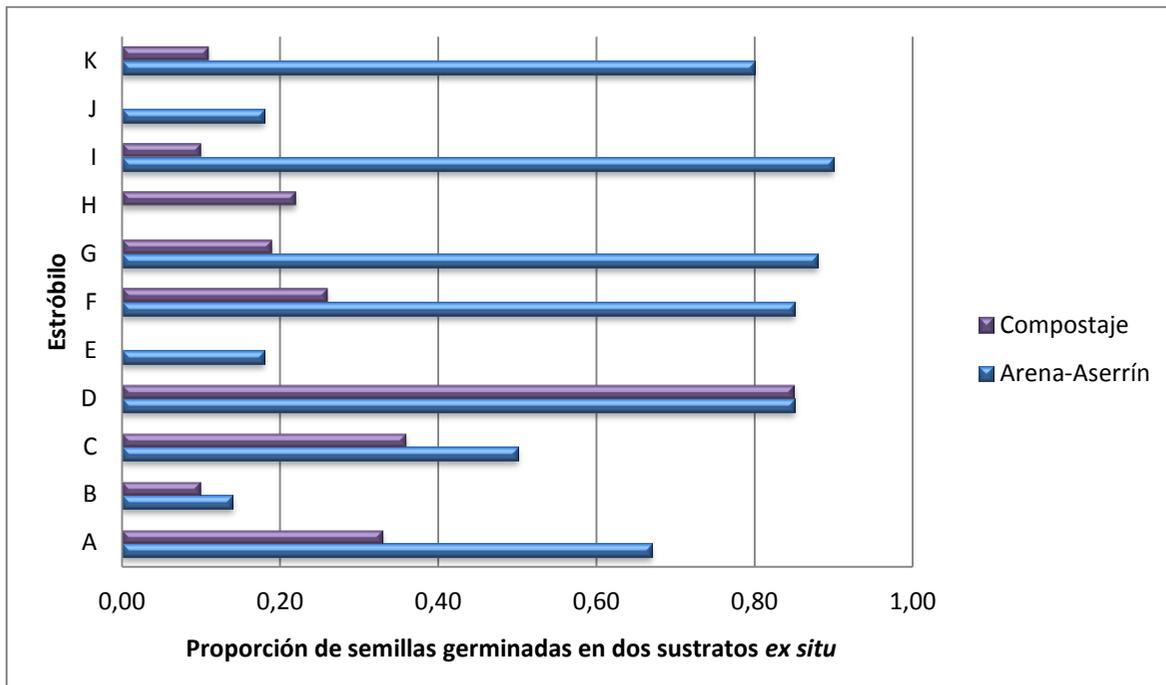


Figura 6. Proporción de semillas germinadas por estróbilo en cada uno de los sustratos evaluados *ex situ*.

El período máximo de energía para la germinación de las semillas en ambos sustratos fue de 57 días (aproximadamente a Enero 15), tiempo de monitoreo durante el cual las radículas alcanzaron 1cm de longitud. Sólo hasta este período habían germinado el 77,5% (55 semillas del total de 71 que germinaron al final del monitoreo) y 74,2% (23 semillas del total de 30 que germinaron al final del monitoreo) para los sustratos Arena-aserrín y Compostaje de hojarasca respectivamente. Este resultado se observa en la Figura 7 para Enero 15.

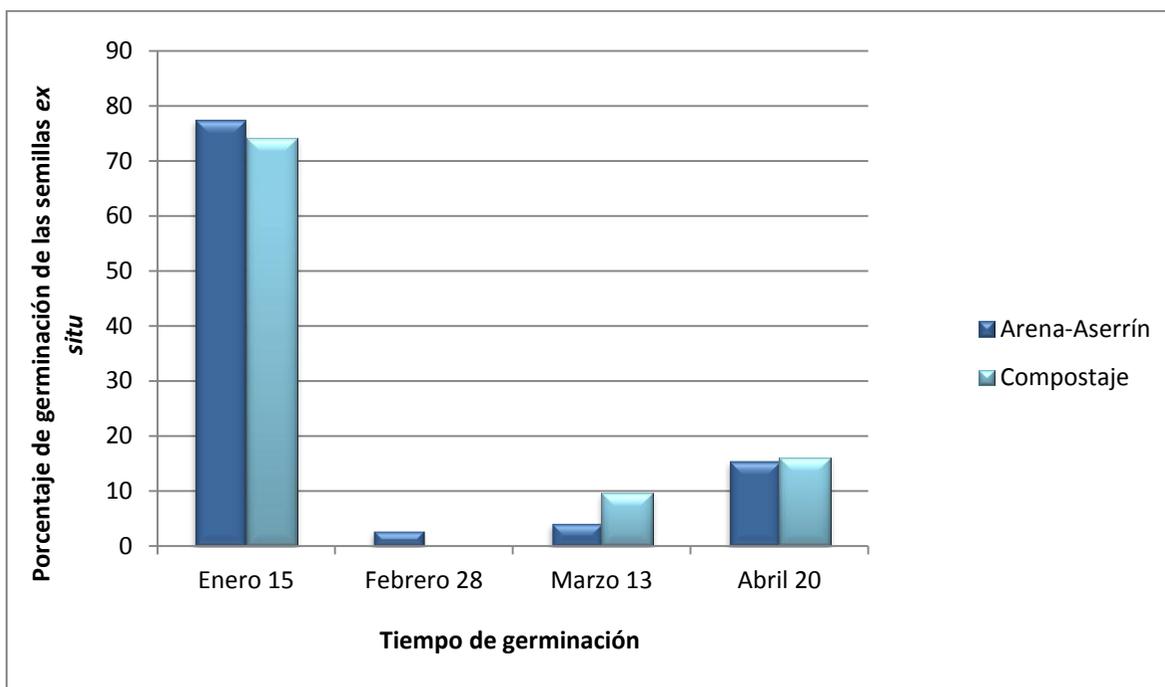


Figura 7. Porcentaje de germinación de las semillas sembradas en dos sustratos *ex situ* en función del tiempo transcurrido desde el inicio de la siembra hasta la germinación de la última semilla.

Las proporciones de las variables viabilidad, germinación *in situ* y germinación en dos sustratos *ex situ* no presentan correlaciones entre ellas ($P > 0,1$ para todas las correlaciones; Tabla 2).

Tabla 2. Matriz de coeficientes de correlación de Pearson y valores P de las variables viabilidad, germinación *in situ* y germinación en dos sustratos *ex situ*.

Correlación		Viabilidad	Germinación <i>in situ</i>	Arena-Aserrín
		Germinación <i>in situ</i>	0,086 0,813	
Arena-aserrín		0,506 0,135	0,177 0,625	
Compostaje		0,326 0,358	0,111 0,760	0,351 0,320

4. DISCUSIÓN

Es evidente que las subpoblaciones de *Zamia manicata* evaluadas en este estudio se encuentran en constante regeneración por medio del aporte y persistencia de numerosos individuos adultos a pesar de la constante fragmentación de su hábitat forestal, como lo señalaban López e Idárraga (2001) para las poblaciones de la especie reportadas en los bosques del Darién panameño y colombiano. Sin embargo los individuos de *Zamia manicata* parecen invertir recursos de manera moderada a parámetros de fecundidad y reproducción en las subpoblaciones. Tales criterios podrían estar fluctuando a largo plazo en próximas generaciones de individuos, a menos que la perturbación del hábitat no genere mayores impactos que puedan afectar negativamente a la demografía de la especie en estos bosques.

Densidades promedio obtenidas para los individuos en ambas subpoblaciones fueron similares con valores relativamente altos comparados con estudios a especies de Zamáceas. Por ejemplo poblaciones de Cícadas que crecen en bosques degradados de México tales densidades fueron consideradas altas: *Dioon edule* con 0,44 individuos/m² (Octavio-Aguilar et al. 2008) y *Ceratozamia matudai* con 0,33 individuos/m² (Pérez-Farrera y Vovides 2004). La evidencia de similitud de densidades para ambas subpoblaciones indica que podrían estar compartiendo los mismos factores limitantes en su hábitat forestal tales como luz, humedad, PH del suelo y disponibilidad de nutrientes incluso presentándose diferencias topográficas entre los fragmentos y diferentes grados de intervención humana en cada uno.

De manera general, los resultados sugieren que los criterios de fecundidad considerados para las subpoblaciones de *Zamia manicata* en este estudio son independientes de las condiciones de perturbación ambiental en las que se encuentre creciendo la especie. Ambas subpoblaciones mostraron proporciones

similares de individuos femeninos reproductivos creciendo en cada fragmento así como una producción semillera de iguales proporciones para las subpoblaciones. Cada subpoblación de adultos está produciendo en promedio una cantidad muy baja de adultos femeninos reproductivos la cual no es ni el 2% del total de adultos encontrado para cada una de ellas. Estos valores se conciben como bajos comparados con lo obtenido por Octavio-Aguilar et al. (2008) en estudios realizados para *Dioon edule* donde los individuos reproductivos en un área similar a la del presente estudio (4.800 m²) obtuvieron un total de 0,15 individuos reproductivos con respecto al total de adultos hallado.

En los sitios de estudio el más alto promedio de producción de semillas por individuo femenino de *Zamia manicata* fue relativamente bajo (130 semillas) en comparación con otras especies de Zamíáceas. Por ejemplo, las especies de Zamíáceas estudiadas en México, *Dioon edule* tienen un promedio de 203±74 semillas por individuo (Octavio-Aguilar et al. 2008) y *Dioon spinulosum* tienen medias de más de 250 semillas por individuo (Salomé-Castañeda 2009). Sin embargo, este promedio fue similar al de *Encephalartos cycadifolius*, una Cícada de África, con un promedio de 166 semillas (Raimondo y Donaldson 2003). Cabe resaltar que no todas estas semillas son viables ni llegarán a alcanzar la madurez y/o germinar en condiciones o no favorables, pero son la prueba de que las subpoblaciones, a medianas escalas, se están reproduciendo.

Se indica para este estudio que el perfil de las subpoblaciones de *Zamia manicata* está representado por una alta presencia de los estadios adultos. Sin embargo la mayoría de estos individuos son no-reproductivos posiblemente compartiendo un patrón estudiado por Silvertown et al. (1993) donde las especies invierten sus recursos en permanecer y subsistir en un estado longevo comportándose como árboles de larga-vida en lugar de invertirlos en el aumento de la cantidad de individuos nuevos reproductivos así como de semillas y/o plántulas viables. Lo mismo encontraron Raimondo y Donaldson (2003) en las especies *Encephalartos*

cycadifolius y *E. villosus*, y Octavio-Aguilar et al. (2008) en *Dioon edule*. Es un comportamiento que presentan algunas poblaciones de Cícadas en respuesta a diversos factores de perturbación externa que podrían estar influyendo en tal patrón. El mayor componente externo se encuentra representado por la intervención antrópica en los bosques nativos de estas especies el cual expone a las poblaciones al impacto de fenómenos estocásticos que principalmente afectan a los individuos adultos. Las interacciones con otras especies creciendo en estos bosques fragmentados podría ser también un factor de respuesta a la hora de elucidar este comportamiento en la especie. Aun así, las subpoblaciones de *Zamia manicata* se encuentran en un estado de estabilidad condicional que fluctuará dependiendo de las variaciones que sufran en cuanto a las tasas de fecundidad y mortalidad de sus individuos a largo plazo. Se necesitarían entonces la construcción de matrices de fecundidad y elasticidad a lo largo de los años para poder determinar claramente este patrón en *Zamia manicata*.

Las semillas de *Zamia manicata* en condiciones naturales exhiben proporciones de germinación altas comparadas con las proporciones mostradas en condiciones de vivero. Por su parte, la germinación *ex situ* para cada uno de los estróbilos evaluados obtuvo mayores proporciones para las semillas que germinaron en el sustrato Arena- aserrín. No obstante, la germinación en cada uno de los tres ensayos realizados para *Zamia manicata* no alcanzó tasas altas en comparación con algunas especies de Cícadas. En Chiapas, México una alta tasa de germinación *in situ* fue reportada para *Dioon merolae* (Lázaro-Zermeño et al. 2011), en donde solo el 4% de 149 semillas permanecieron sin germinar luego de 50 días de haber sido sembradas. De igual manera, Vovides (1990) reporta una tasa de germinación para *Dioon edule* del 98% en condiciones naturales. En el presente estudio, la germinación en condiciones naturales fue relativamente más baja para *Zamia manicata* con el 37,2% de 148 semillas sembradas sin germinar después de un periodo de 107 días para alcanzar la totalidad de la germinación del lote. Sin embargo, esta disminución en la germinación ha sido observada para

otras especies de Cícadas de los géneros *Cycas* y *Encephalartos* (Dehgan 1983, Raimondo y Donaldson 2003) y corresponde, entre otros factores, a la mortalidad de las semillas por deshidratación al permanecer en el suelo sin germinar por un periodo de tiempo prolongado después de su siembra. Esta disminución en la germinación se mostró aún más baja para el sustrato *ex situ* Compostaje de hojarasca.

La mayoría de las semillas de *Zamia manicata* sembradas tanto *in situ* como *ex situ* permanecieron en el suelo sin abrirse y germinar durante un largo periodo de tiempo (aproximadamente 55 días) pese a contar con las condiciones favorables para hacerlo. Como consecuencia de esto, las semillas quedaron expuestas a daño mecánico lo que posteriormente les provocó la muerte. Este periodo de no-germinación de las semillas responde a una latencia fisiológica (Dehgan 1983) de los embriones los cuales incluso estando completamente desarrollados no alcanzan una actividad enzimática suficiente para lograr germinar. Lo anterior se asevera a pesar de que la prueba de tinción con trifeníl-tetrazolio mostrara lo contrario ya que la abscisión de las semillas en *Zamia manicata* fue rápida pero al parecer no existían embriones maduros, es decir, fisiológicamente activos para germinar, por lo que las semillas sufrieron desecación y putrefacción luego de ser expuestas al ambiente, resultando en la disminución de la posibilidad de germinar. Se tiene entonces que las semillas de *Zamia manicata* pierden rápidamente su viabilidad por desecación lo que podría estar indicando una posible condición recalcitrante de sus semillas como se presenta en la mayoría de las Cícadas (Pérez-Farrera y Vovides 1997, Vovides et al. 2010) para las cuales el porcentaje de humedad no debe estar por debajo de 12% ni sobrepasar el 30%. De otro lado, daños no visibles en el embrión pudieron ser causa probable de pérdida de viabilidad en las semillas; aunque, según estudios realizados por Arcos (2010) y Gallo et al. (2012) las semillas pueden incluso germinar y generar una plántula sana si el daño no es grande y el embrión muestra la capacidad de regenerarse.

De acuerdo a lo anteriormente descrito para *Zamia manicata*, y contrario a lo referido por Pérez-García y Pita-Villamil (2001) y Vadillo et al. (2004), no existe una directa proporcionalidad entre la viabilidad y la germinación para un lote de semillas de *Zamia manicata*. En otras palabras, la viabilidad no refleja con un 100% de confiabilidad que las semillas de un estróbilo dado de *Zamia manicata* germinen en su totalidad de acuerdo a las proporciones obtenidas para este parámetro a través de pruebas de tinción. Como lo indican los estudios de Gilbert y Mejía (2002), los lotes de semillas que no germinan son a menudo una cantidad 100 veces mayor que el número de semillas que mostraron viabilidad inicialmente. Por lo tanto, la estimación de la viabilidad para un lote de semillas de *Zamia manicata* por la técnica de tinción con trifenil-tetrazolio se señala como un método no totalmente confiable además de que no considera, entre otros factores, los niveles de humedad en el embrión, necesarios para definir un estado de actividad fisiológica y una potencial respuesta de las semillas a la germinación.

Son muchos más todavía los factores que pudieron haber influido en la disminución de la germinación del lote de semillas de *Zamia manicata* como lo son las características físicas del suelo y los sustratos donde fueron sembradas tanto *in situ* como *ex situ*. Para los ensayos *ex situ* se observó que el sustrato Compostaje de hojarasca no retenía la humedad en su suelo a pesar de ser regado a capacidad de campo. Por el contrario, éste tendía a compactarse y agrietarse. Este escenario de condiciones sub-óptimas (Gilbert y Mejía 2002) manifestadas en el sustrato Compostaje de hojarasca probablemente contribuyó a que se presentaran bajas proporciones de germinación (77% de las 133 semillas sembradas no germinaron) luego de un promedio de 78,1 días después de la siembra. Estos requerimientos de humedad y buen drenaje en el suelo han sido determinantes en la propagación de gran parte de Cícadas como lo reportan Dehgan (1983) y Pérez-Farrera y Vovides (1997) para las especies: *Zamia floridana*, *Z. fischeri*, *Z. furfurácea*, *Z. loddegesii*, *Dioon edule*, *D. merolae* y *Ceratozamia norstogii*. Asimismo, los mejores porcentajes de emergencia de

radículas y germinación para Cícadas se han reportado para suelos con las características logradas para el tratamiento Arena-aserrín, sustrato compuesto por gravas finas que le otorgaron buena retención de humedad y al mismo tiempo capacidad de drenaje del agua y aireación a las semillas. Aunque las porciones de suelo de no más de 20 cm de profundidad en cada tratamiento fueron las ideales como requerimiento por la mayor parte de Cícadas (Pérez-Farrera et al. 2006, Pérez-Farrera y Vovides 2004, Vovides 1990), sólo se obtuvieron resultados deseables para el sustrato Arena-aserrín como era de esperarse. Las condiciones de vivero son ideales al disponer de condiciones de riego constante, manejo de luz y sombra, escape a daños mecánicos y manejo integrado de enfermedades y parásitos (Dehgan et al. 2004); sin embargo, para las semillas de *Zamia manicata* en este estudio, el mayor factor limitante es el suelo en el que se establezcan, el cual debe presentar características favorables y aprovechables para que se facilite la germinación.

En conclusión, las subpoblaciones de *Zamia manicata* estudiadas muestran una densidad de individuos adultos similar para los dos fragmentos de bosque escogidos incluso observándose marcadas diferencias topográficas y de degradación entre ellos. A pesar de que los criterios de fecundidad evaluados en este estudio para *Zamia manicata* parecen no estar asociados con el grado de perturbación del hábitat donde estén establecidas las subpoblaciones, se evidencia una baja producción de individuos femeninos y un promedio de semillas por individuo femenino ligeramente bajo. Por otra parte, la mayor parte de las semillas que están produciendo las subpoblaciones muestran viabilidad para emerger pero su germinación no alcanza altos porcentajes tanto en condiciones *in situ* como *ex situ*. Sin embargo, cuando se comparan otras variables que influyen en la germinación, las semillas de *Zamia manicata* emergen con mayor facilidad en sustratos arenosos no profundos que cuenten con buen drenaje y aireación así como buena retención de la humedad la cual es uno de los factores limitantes en la emergencia y crecimiento de las Cícadas.

5. RECOMENDACIONES

Los resultados de este estudio sugieren para *Zamia manicata* las siguientes recomendaciones con fines de conservación:

Realizar estudios a mediano y corto plazo donde se incluyan otro tipo de variables para una mejor estimación de los parámetros de fecundidad en las poblaciones naturales, criterios tales como: tallas de individuos reproductivos y número de individuos juveniles alrededor de la planta madre, entre otros.

Evaluar la existencia de interacciones intraespecíficas e interespecíficas y factores de degradación ambiental que puedan estar influyendo a corto, mediano y largo plazo en las densidades y comportamiento reproductivo de los individuos de las poblaciones naturales de la especie.

Estimar variables de viabilidad de semillas por métodos que incluyan diferentes factores tales como porcentajes de humedad y estado orgánico y fisiológico de los embriones así como variables de germinación donde se incluya una mayor cantidad de semillas a sembrar para obtener una mejor estimación de estos parámetros tanto *in situ* como *ex situ*.

Almacenar el lote de semillas colectadas por alrededor de un periodo de 30 días a temperatura constante antes de ser puestas a germinar para que los embriones alcancen la madurez fisiológica y las radículas puedan emerger al tiempo de sembrarlas.

Utilizar una mezcla de sustratos arenosos con la suficiente capacidad de retención de humedad y filtración de agua así como la utilización de porciones de suelo somero que otorguen a las semillas las mejores condiciones para su emergencia.

6. BIBLIOGRAFÍA

Arcos A. 2010. Obtención y aislamiento de protoplastos de trigo (*Triticum aestivum*), variedad Cojitambo, mediante el establecimiento de hojas y callos in vitro provenientes de semillas. Escuela Politécnica del Ejército. Departamento de Ciencias de la Vida. Ingeniería en Biotecnología. Sangolquí. 18–27.

Bass L, Bilderback, TE, Powell, MA. 1999. Composting. A Guide to Managing Organic Yard Wastes. North Carolina State University, North Carolina A&T State University, College of agriculture and life sciences. 2–3.

Begon M, Townsend CR, Harper JL. 2006. Ecology. From individuals to Ecosystems. Cuarta edición. Blackwell Publishing Ltd. 759p.

Bernal R, Restrepo D. 1991. Las Cicadáceas, fósiles vivientes: peligran dinosaurios vegetales. Revista Ecológica. 8 (7):10-15.

Calderón F, Cevallos F. 2003. Los sustratos. Memorias del Primer curso de Hidroponía para la Floricultura. Publicaciones Dr. Calderón Laboratorios Ltda. Bogotá, Colombia.

Calonje M. 2009. A new cliff-dwelling species of *Zamia* (Zamiaceae) from Belize. Journal of the Botanical Research Institute of Texas 3(1): 23-29.

Cohen JE. 2003. Human Population: The Next Half Century. Published by the American Association for the Advancement of Science, 1200 New York Avenue NW, Washington, DC. Science (302): 1172-1175.

Coulson T, Rohani P, Pascual M. 2004. Skeletons, noise and population growth: the end of an old debate? Elsevier Ltd. All rights reserved. Trends in Ecology and Evolution 19 (7): 359-364.

Dehgan B. 1983. Propagation and growth of cycads. A conservation strategy. Proceedings of the Florida State Horticultural Society. 96:137-139.

Dehgan B, Almira FC, Dudeck AE, Schutzman B. 2004. Effects of Varying Shade and Fertilizer on the Growth of *Zamia floridana* A. DC. The Botanical Review 70(1): 79-85.

Espinal LS. 2011. Generalidades del departamento de Antioquia. En: R. Callejas & A. Idárraga (eds.). Flora de Antioquia: catálogo de las plantas vasculares. Vol. I. Programa Expedición Antioquia-2013. Series Biodiversidad y Recursos Naturales. Universidad de Antioquia, Missouri Botanical Garden & Oficina de planeación departamental de la gobernación de Antioquia. Editorial D`Vinni, Bogotá, Colombia. 258-261.

Forero A, Finegan B. 2001. Efectos de borde en la vegetación de remanentes de bosque muy húmedo tropical en el norte de Costa Rica, y sus implicaciones para el manejo y la conservación. Comunicación técnica, Revista Forestal Centroamericana. 39p.

Galeano G, Bernal R, Calderón E, García N, Cogollo A, Idárraga A. 2005. *Zamias*. En: Calderón E, Galeano G, García N (eds.). Libro Rojo de Plantas de Colombia. Vol. 2. Palmas, Frailejones y *Zamias*. Serie Libros Rojos de Plantas Amenazadas de Colombia. Bogotá. Instituto Alexander Von Humboldt-Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia-Ministerio de Medio Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. 387-436.

Gallo C, Enrico JM, Craviotto R, Arango M. 2012. Variabilidad de la viabilidad y vigor de lotes de semillas de soja con presencia de simientes verdes pertenecientes a cultivares de distintos grupos de maduración producidos en dos fechas de siembra. RIA / Trabajos en prensa. Oliveros, Argentina.

García H, Moreno LA, Londoño C, Sofrony C. 2010. Estrategia Nacional para la Conservación de Plantas: actualización de los antecedentes normativos y políticos, y revisión de avances. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt y Red Nacional de Jardines Botánicos. Bogotá, D.C. 160p.

Gilbert GS, Mejía M. 2002. Manual para las investigaciones de biología de campo. Segunda edición. Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales. Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Universidad de Panamá. 125-127.

González M, Quiroz I, García E, Gutiérrez B. 2008. "Escarificación química con ácido sulfúrico como tratamiento pregerminativo para semillas de toromiro (*Sophora toromiro* Skottsb.)". Ciencia e investigación forestal. 14(1): 111-118.

Harper JL. 1977. Population Biology of Plants. Academic Press, New York. 681p.

Holdridge LR. 1967. Life zone ecology. Tropical science Center. San José, Costa Rica. Holmgren, PK., NH. Holmgren y LC. Barnett. 1990. Index herbariorum. New York Botanical Garden, New York.

Horn W. 1996. Zierpflanzenbau. Blackwell, Berlín. En Lucena-Cavalcante IH, Fonseca da Rocha L, Barbosa da Silva-Júnior G, Falcão-Neto R, Salustriano da Silva RR. 2011. Seedling production of gurguéia nut (*Dypterix lacunifera* Ducke) I: Seed germination and suitable substrates for seedlings. International Journal of Plant Production 5 (4):319-322.

ISTA. International Seed Testing Association. 1996. International Rules for Seed Testing, Rules. Zurich. Seed Science and Technology 21(Suppl.): 1B288.335 p.

Red List of Threatened Species. IUCN. 2011. 2011-09-19. Disponible en: <<http://www.iucnredlist.org/>>.

Lázaro-Zermeño JM, González-Espinosa M, Mendoza A, Martínez-Ramos M, Quintana-Ascencio PF. 2011. Individual growth, reproduction and population dynamics of *Dioon merolae* (Zamiaceae) under different leaf harvest histories in Central Chiapas, Mexico. Forest Ecology and Management 261:427-439.

Lindstrom AJ. 2009. Typification of some species names in *Zamia* L. (Zamiaceae), with an assessment of the status of *Chigua* D. Stev. International Association for Plant Taxonomy. 58 (1):256-270.

López MC, Idárraga A. 2001. Estado de conservación de las especies de Zamiaceae del departamento de Antioquia (Colombia). *Actualidades Biológicas* 23(75): 23-31.

Lucena-Cavalcante IH, Fonseca da Rocha L, Barbosa da Silva-Júnior G, Falcão-Neto R, Salustriano da Silva RR. 2011. Seedling production of gurguéia nut (*Dypterix lacunifera* Ducke) I: Seed germination and suitable substrates for seedlings. *International Journal of Plant Production* 5 (4):319-322.

Murcia C. 1995. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. *Elsevier science, TREE*. 2 (10). 58-59.

Nakagawa, 1999. Teste de vigor baseados no desempenho das plântulas. Cap.2 de Vigor de sementes: conceitos e testes. Editorial ABRATES. Londrina, PR Brasil. En: Pece MG, Gaillard de Benítez C, Acosta M, Bruno C, Saavedra S, Buvenas O. 2010. Germinación de Tipuana tipu (Benth.) O. Kuntze (tipa blanca) en condiciones de laboratorio. *Revista de Ciencias Forestales Quebracho* 1,2 (18):5-15.

Octavio-Aguilar P, González-Astorga J, Vovides P. 2008. Population dynamics of the Mexican cycad *Dioon edule* Lindl. (Zamiaceae): life history stages and management impact. *Botanical Journal of the Linnean Society* (157):381–391.

Pece MG, Gaillard de Benítez C, Acosta M, Bruno C, Saavedra S, Buvenas O. 2010. Germinación de Tipuana tipu (Benth.) O. Kuntze (tipa blanca) en condiciones de laboratorio. *Revista de Ciencias Forestales Quebracho* 1,2 (18):5-15.

Pérez-Farrera MA, Vovides AP. 1997. Manual para el cultivo y propagación de Cycadas. 1ª edición. Instituto Nacional de Ecología, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Instituto de Historia Natural e Instituto de Ecología. 33p.

Pérez-Farrera MA, Vovides AP. 2004. Spatial Distribution, Population Structure, and Fecundity of *Ceratozamia matudai* Lundell (Zamiaceae) in El Triunfo Biosphere Reserve, Chiapas, Mexico. *The New York Botanical Garden. The Botanical Review*, 70(2):299-311.

Pérez-Farrera MA, Vovides AP, Octavio-Aguilar P, González-Astorga J, De la Cruz-Rodríguez J, Hernández-Jonapá R, Villalobos-Méndez SM. 2006. Demography of the cycad *Ceratozamia mirandae* (Zamiaceae) under disturbed and undisturbed conditions in a biosphere reserve of Mexico. *Plant Ecology* 187:97–108.

Pérez-García F, Pita-Villamil J. 2001. Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas. Departamento de Biología Vegetal, E.U.I. Técnica agrícola. Universidad Politécnica de Madrid. Hojas divulgadoras. Núm. 2112.

Raimondo DC, Donaldson JS. 2003. Responses of cycads with different life histories to the impact of plant collecting: simulation models to determine important life history stages and population recovery times. *Biological Conservation* (111): 345-358.

Rockwood L. 2006. *Introduction to Population Ecology*. Blackwell Publishing Ltd. 353p.

Rodríguez-Cabal M, Aizen M, Novaro A. 2007. Habitat fragmentation disrupts a plant-disperser mutualism in the temperate forest of South America. *Biological Conservation* (139): 195-196.

Rossetto CAV, Novembre AD, Marcos Filho J, Da Silva WR, Nakagawa J. 1997. Comportamento das sementes de Soja durante a fase inicial do processo de germinação. *Scientia agrícola*. Piracicaba.1,2 (54):105-106.

The Cycad Pages. Royal Botanic Gardens Sydney .2004. 2011-09-19. Disponible en :< <http://www.plantnet.rbgsyd.nsw.gov.au/PlantNet/cycad/>>.

Sánchez-Velásquez LR, Vásquez-Morales SG. 2011. Seed ecology and pre-germinative treatments in *Magnolia schiedeana* Schlecht, an endangered species from Mexico. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 9 (1): 604-608.

Salomé-Castañeda E. 2009. Parámetros demográficos de *Dioon spinulosum* Dyer & Eichler (Zamiaceae), en San Miguel Soyaltepec, Oaxaca. M.Sc. Thesis. Instituto de Ecología A.C., Xalapa, México. 129 p.

Silverstow J, Franco M. Pisanty I, Mendoza A. 1993. Comparative plant demography-realitive importance of life-cycle components to the finite rate of increase in woody, herbaceous perennials. *Journal of Ecology*, 81: 465-476.

Stevenson DW. 2001. Cycadales. Flora de Colombia, Monografía N° 21. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 1-91.

Terry I, Moore CJ, Walter GH, Forster PI, Roemer RB, Donaldson JD, Machin PJ. 2004. Association of cone thermogenesis and volatiles with pollinator specificity in *Macrozamia* cycads. *Plant Systematics and Evolution* 243: 233–247.

Tilden RL, West SH. 1985. Reversal of the effects of ageing in soybean seeds. *Plant Physiology*.(77):584-586.

Vadillo G. Suni M, Cano A. 2004. Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). Facultad de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. *Rev. Perú. Biol.* 11(1): 71- 78.

Vovides AP. 1990. Spatial distribution, survival, and fecundity of *Dioon edule* (Zamiaceae) in a tropical deciduous forest in Veracruz, Mexico, with notes on its habitat. *American Journal of Botany*, 77: 1532-1543.

Vovides AP, Pérez-Farrera MA, Iglesias CG. 2010. Cycad propagation by rural nurseries in Mexico as an alternative conservation strategy: 20 years on. *Kew bulletin* 65:603-611.

World conservation Monitoring Centre. 1996. Checklist of CITES species: CITES Secretariat and World conservation Monitoring Centre, Geneva, Switzerland and Cambridge. U.K. 400p.

ANEXOS

ANEXO 1. Proporción de individuos adultos femeninos y sus densidades por parcela en las subpoblaciones.

	Parcelas	Proporción de individuos femeninos	Densidades
Subpoblación Bosque Conservado	1	0,023	1,30
	2	0,000	1,23
	3	0,016	0,31
	4	0,008	0,63
	5	0,005	0,48
	6	0,025	0,70
	7	0,011	0,95
	8	0,002	1,38
	9	0,021	0,60
	10	0,008	0,96
Subpoblación Bosque Perturbado	1	0,009	1,18
	2	0,026	0,98
	3	0,025	0,88
	4	0,009	0,83
	5	0,008	0,99
	6	0,003	0,98
	7	0,003	0,77
	8	0,000	0,40
	9	0,000	0,13
	10	0,000	0,19

ANEXO 2. Proporciones de viabilidad, germinación *in situ* y germinación *ex situ* (sustratos: Arena-aserrín, Compostaje de hojarasca) para 10 de los 11 estróbilos evaluados.

Estróbilo	Viabilidad	Germinación <i>in situ</i>	Arena-aserrín	Compostaje
1	0,66	0,78	0,67	0,33
2	1	0,73	0,14	0,1
3	0,7	0,67	0,5	0,36
4	1	0,54	0,85	0,85
5	0,41	0,45	0,18	0
6	0,81	0,75	0,85	0,26
7	0,93	0,69	0,88	0,19
8	0,66	0,42	0	0,22
9	1	0,33	0,9	0,1
10	0,76	0,63	0,63	0

ANEXO 3. Registro fotográfico.



Hoja de individuo adulto de *Zamia manicata*. Trazado de parcelas en el sitio de estudio.



Estróbilo femenino abierto.



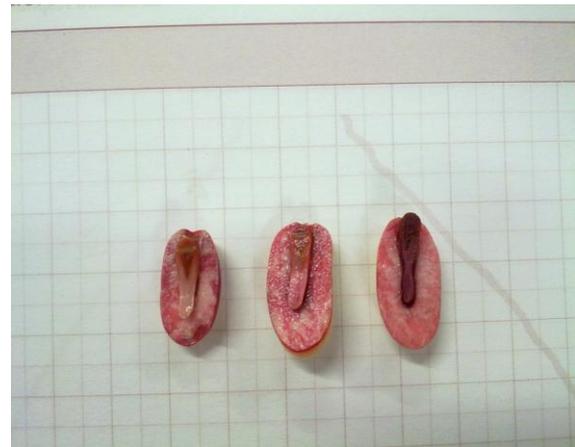
Estróbilo femenino cerrado.



Esporófilos.



Corte longitudinal a la semilla.



Semillas con embriones teñidos.



Semilla germinando.



Tratamiento de germinación *in situ*.



Tratamiento de germinación en sustrato Arena-Aserrín.



Tratamiento de germinación en sustrato Compostaje de hojarasca.