

Storage alternatives for *Quercus durifolia* Seemen acorns

Alternativas de almacenamiento de bellotas de *Quercus durifolia* Seemen

Rosa E. Madrid-Aispuro¹; José Á. Prieto-Ruíz^{2*}; Arnulfo Aldrete¹;
Silvia Salcido-Ruíz²; José Á. Sigala-Rodríguez³

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Posgrado en Ciencias Forestales. Carretera México-Texcoco km 36.5. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

²Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Río Papaloapan y bulevar Durango s/n, col. Valle del Sur. C. P. 34120. Durango, Durango, México.

³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle del Guadiana. Carretera Durango-Mezquital km 4.5. C. P. 34170. Durango, Durango, México.

*Corresponding author: jprieto@ujed.mx; tel.: +52 618 136 1952.

Abstract

Introduction. Understanding the optimal conditions for acorn storage is essential for their subsequent use in nursery plant production.

Objectives. To evaluate the effect of storage media on germination of *Quercus durifolia* acorns.

Materials and Methods. The following storage media were evaluated for acorns: 1) fresh pine sawdust, 2) perlite, 3) peat moss, 4) vermiculite, and 5) control (without substrate). Transparent 250 mL plastic containers were used as storage containers. The acorns were placed in containers mixed with the storage medium and stored at 5 °C for six months. The variables analyzed were cumulative germination percentage and germination speed index.

Results and discussion. From the first month, the fresh sawdust treatment had the lowest percentage of rotten seeds (30 %) and the highest germination rate (76 %), which decreased to 58 % by the end of the storage period. In contrast, acorns stored in perlite, vermiculite, and without substrate showed no germination after six months. For peat moss, germination values ranged from 31 to 20.3 %; seeds stored in this medium, along with those in the control showed a drastic reduction in the germination speed index (8.6 and 13.0, respectively).

Conclusions. Acorns stored in fresh sawdust at 5 °C had the highest germination rate. This study provides a cost-effective alternative to prolong acorn viability for nursery plant production, reforestation, and restoration with this species.

Keywords: sawdust; oak; germination; peat moss; viability.

Resumen

Introducción. El conocimiento de las condiciones óptimas de conservación de bellotas es necesario para su uso posterior en la producción de planta en vivero.

Objetivos. Evaluar el efecto de medios de almacenamiento sobre la germinación de bellotas de *Quercus durifolia*.

Materiales y métodos. Se evaluaron los siguientes medios de almacenamiento de las bellotas: 1) aserrín fresco de pino, 2) perlita, 3) turba de musgo, 4) vermiculita y 5) testigo (sin sustrato). Como recipientes se usaron frascos de plástico transparente de 250 mL. Las bellotas se colocaron en los depósitos mezcladas con el medio y se almacenaron durante seis meses a 5 °C. Las variables evaluadas fueron porcentaje de germinación acumulada e índice de velocidad de germinación.

Resultados y discusión. Desde el primer mes, el tratamiento con aserrín fresco mostró el menor porcentaje de semillas podridas (30 %) y el valor máximo de germinación (76 %), el cual disminuyó a 58 % al final del periodo. Por el contrario, las bellotas conservadas en perlita, vermiculita y sin sustrato no manifestaron germinación al sexto mes. En el caso de la turba se registraron valores de 31 a 20.3 %; las semillas de este sustrato, junto con las del testigo, presentaron reducción drástica en el índice de velocidad de germinación (8.6 y 13.0, respectivamente).

Conclusiones. Las bellotas almacenadas en aserrín fresco a 5 °C tuvieron la mayor tasa de germinación. Este estudio proporciona una alternativa económica para prolongar la viabilidad de las bellotas con fines de producción de plantas en vivero, reforestación y restauración con la especie.

Palabras clave: aserrín; encino; germinación; turba; viabilidad.

Introduction

The *Quercus* genus is highly significant because of its great diversity as well as its ecological and economic importance (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). Mexico is home to about 170 species of *Quercus* (De Jesús Albino et al., 2021), with 109 of them being endemic (Ramírez-Roacho et al., 2021). These species inhabit the country's temperate and semi-humid ecosystems, as well as some tropical and subtropical regions (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). Unfortunately, abundance and distribution of oak populations have declined due to land use changes, expansion of agriculture, livestock farming, and urbanization (Rodríguez-Acosta & Coombes, 2020), coupled with the effects of climate change such as temperature increase and precipitation reduction.

In some cases, the natural regeneration rate of oaks is low due to various factors. On one hand, the seeds are recalcitrant, sensitive to dehydration and causing them to lose viability quickly after dispersal. To maintain viability, the seeds must germinate under conditions with moisture levels above 30 %; however, this condition usually is not consistent with seed dispersal events, leading to dehydration and eventual loss of viability in less than three months (González-Salvatierra et al., 2013). Furthermore, dehydration is accelerated when acorns fall onto bare soil without leaf litter, exposing them to adverse environmental conditions such as direct sunlight and wind, which rapidly reduces their viability (Zavala-Chávez, 2004). Moreover, acorns are subject to predation, as they are an important food source for wildlife during the fall and winter (Aguilar-Peralta et al., 2016); they are also damaged in the pre-dispersal stage by pests such as weevils, moths, and borers (Díaz-Guzmán & Bonfil, 2020), which affect their germination capacity (Clark-Tapia et al., 2018). As a result of these adverse factors, percentage of acorns available and viable for regeneration is low, sometimes as little as 1 % (Barragán-Zúñiga et al., 2020).

Extending the viability of acorns represents a significant challenge in the management of oak germplasm for reproduction in nurseries. In Mexico, studies on acorn storage are limited; some of these include those conducted by Zavala-Chávez (2008) on *Quercus rugosa* Née and *Quercus glabrescens* Benth., Díaz-Pontones and Reyes-Jaramillo (2009) on *Quercus hintonii* Warburg, and González-Salvatierra et al. (2013) on *Quercus polymorpha* (Schltdl. & Cham.).

In Mexico, reforestation programs that use oaks rely on plants produced in nurseries from acorns collected in the field, ensuring their reproduction (González-Salvatierra et al., 2013). However, the conservation of acorns with viability for more than

Introducción

El género *Quercus* es de gran interés debido a su alta diversidad e importancia ecológica y económica (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). Tan solo en México se reportan alrededor de 170 especies (De Jesús Albino et al., 2021), de las cuales 109 son endémicas (Ramírez-Roacho et al., 2021). Estas habitan en ecosistemas templados y semihúmedos del país, así como en algunas regiones tropicales y subtropicales (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). Desafortunadamente, la abundancia y distribución de las poblaciones de encino han disminuido, debido a los cambios en el uso del suelo, la expansión de la agricultura y ganadería, así como la urbanización (Rodríguez-Acosta & Coombes, 2020), aunados a los efectos del cambio climático como el aumento de temperatura y la reducción de precipitación.

En algunos casos, la tasa de regeneración natural de los encinos es baja debido a diversas causas. Por un lado, las semillas son recalcitrantes, lo que las hace sensibles a la deshidratación y que pierdan viabilidad rápidamente después de su diseminación. Para que la viabilidad se mantenga, se requiere que las semillas germinen en condiciones de humedad superior al 30 %; sin embargo, dicha condición, usualmente, no coincide con los eventos de dispersión de las semillas, lo que provoca la deshidratación y, eventualmente, la pérdida de viabilidad en lapsos menores de tres meses (González-Salvatierra et al., 2013). Además, la deshidratación se acelera cuando las bellotas caen en suelos desnudos y sin hojarasca, pues quedan expuestas a condiciones ambientales adversas como la luz solar directa y el viento, lo que reduce la viabilidad rápidamente (Zavala-Chávez, 2004). Por otra parte, las bellotas son objeto de depredación, ya que son una fuente importante de alimento para la fauna silvestre durante el otoño e invierno (Aguilar-Peralta et al., 2016); asimismo, son dañadas en la etapa de predispersión por plagas como gorgojos, palomillas y barrenadores (Díaz-Guzmán & Bonfil, 2020) que afectan su capacidad de germinación (Clark-Tapia et al., 2018). Como resultado de estos factores adversos, el porcentaje de bellotas disponibles y viables para la regeneración es bajo, a veces solo del 1 % (Barragán-Zúñiga et al., 2020).

La prolongación de la viabilidad de las bellotas representa un desafío significativo en el manejo del germoplasma de encinos para su reproducción en viveros. En México, los estudios sobre el almacenamiento de bellotas son escasos; algunos de ellos son los realizados por Zavala-Chávez (2008) en *Quercus rugosa* Née y *Quercus glabrescens* Benth., Díaz-Pontones y Reyes-Jaramillo (2009) en *Quercus hintonii* Warburg, y el de González-Salvatierra et al. (2013) en *Quercus polymorpha* (Schltdl. & Cham.).

three months requires moisture levels of 30 to 50 % of the seed's fresh weight and the control of essential factors such as relative humidity, temperature, and aeration (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). Low temperatures (1 to 7 °C) and control of gas exchange promote viability (Bonner, 2003); however, when temperatures are too low or the absence of gas exchange is total, it can lead to embryo death (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). To promote aeration, the use of open containers or those with openings that allow air circulation is recommended (Aguilera-Rodríguez et al., 2023). Based on this, the medium in which acorns are stored is crucial, because it fulfills two functions: 1) maintaining a constant high moisture content in the seed, and 2) allowing enough oxygen diffusion to the moist seeds (Hong & Ellis, 2010).

Quercus durifolia Seemen is important in the pine-oak forests of the Sierra Madre Occidental, as the species is found in areas that are part of the transition between grasslands and pine-oak forests (González-Elizondo et al., 2012). Moreover, the wood is highly recommended for the manufacture of furniture and visible parts (moldings) of high-quality upholstered furniture, as well as to produce charcoal (García Molina, 2008). Oaks have been widely studied in relation to their ecology, conservation, and use, but little is known about acorn storage, reproduction, and reforestation aspects (Rosaliano-Evaristo et al., 2024).

In this context, information on the conservation of oak acorns remains limited; therefore, it is necessary to understand the optimal environmental conditions for storage to maintain viable seeds and produce vigorous plants with good morphological quality, in accordance with nursery quality indicators and establishment in the field for reforestation and restoration purposes. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of storage media, including fresh pine sawdust, perlite, peat moss, and vermiculite, on the germination capacity of *Q. durifolia* acorns.

Materials and Methods

Seed collection

Seeds were collected from a natural stand with predominant pine-oak vegetation, located in the ejidos of Estación Otinapa and San Carlos, Durango municipality, Durango, Mexico, at coordinates 24° 03' 27" N and 105° 00' 54" W, at an altitude of 2 397 m. The collection took place between October 25 and 30, 2022, from three mature trees with an average height of 12 to 15 m, spaced 150 m apart. This distance was maintained because species of the *Quercus* genus are prone to hybridization due to their high genetic diversity, allowing them to cross with nearby species with similar genetic traits (González-Rodríguez et al., 2004).

En México, los programas de reforestación que utilizan encinos dependen de las plantas producidas en vivero, a partir de bellotas recolectadas en campo, lo que garantiza su reproducción (González-Salvatierra et al., 2013). No obstante, la conservación de bellotas por períodos mayores de tres meses, con viabilidad, requiere humedad del 30 a 50 % del peso húmedo de la semilla y el control de factores esenciales de humedad relativa, temperatura y aireación (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). Las temperaturas bajas (1 a 7 °C) y el control del intercambio gaseoso favorecen la viabilidad (Bonner, 2003); sin embargo, cuando son demasiado bajas o la ausencia de intercambio gaseoso es total pueden provocar la muerte del embrión (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). Para favorecer la aireación se recomienda el uso de recipientes abiertos o con aperturas que permitan la circulación del aire (Aguilera-Rodríguez et al., 2023). Con base en lo anterior, el medio donde se guardan las bellotas es importante, ya que cumple dos funciones: 1) mantener constante el contenido alto de humedad de la semilla y 2) permitir la difusión de oxígeno suficiente a las semillas húmedas (Hong & Ellis, 2010).

Quercus durifolia Seemen es importante en los bosques de pino-encino de la Sierra Madre Occidental, ya que la especie se encuentra en zonas que forman parte de la transición entre el zacatal y el bosque de pino-encino (González-Elizondo et al., 2012); además, la madera es altamente recomendable para la fabricación de muebles y partes visibles (molduras) de muebles tapizados de alta calidad, así como para la elaboración de carbón vegetal (García Molina, 2008). Los encinos han sido más estudiados con relación a su ecología, conservación y uso, pero poco se conoce sobre los aspectos de almacenamiento de bellotas, reproducción y reforestación (Rosaliano-Evaristo et al., 2024).

En tal contexto, la información sobre la conservación de bellotas de encinos es todavía insuficiente; por tanto, se requiere conocer las condiciones medioambientales óptimas de almacenamiento, para mantener semillas viables y obtener plantas vigorosas de buena calidad morfológica, acorde con los indicadores de calidad en vivero y su establecimiento en campo con fines de reforestación y restauración. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de medios de almacenamiento a base de aserrín fresco de pino, perlita, turba de musgo y vermiculita sobre la capacidad germinativa de bellotas de *Q. durifolia*.

Materiales y métodos

Recolección de la semilla

La semilla se recolectó en un rodal natural con vegetación predominante de pino-encino, ubicado en el ejido Estación Otinapa y San Carlos, municipio de Durango, Durango, México, en las coordenadas 24° 03'

Collected acorns (sample of 40 acorns) had an average polar and equatorial diameter of 1.26 ± 0.2 cm and 0.81 ± 0.1 cm, respectively, measured with a Truper® digital caliper. A total of 1 492 acorns·kg⁻¹ were obtained, corresponding to 0.670 kg per 1 000 seeds. Moisture content (MC) on a dry weight basis was 31.2 %, calculated using the equation proposed by Liegel and Venator (1987): $MC \% = [(FSW - DM)/FSW] * 100$; where, FSW and DM are the fresh weight and dry weight (g) of the sample, respectively. The acorns were dried in four 10 g seed samples in an oven (Ecoshel® model 9024A) at 103 °C for 17 hours; averages were estimated using the obtained values.

Treatments evaluated and storage process

This study was carried out in the multipurpose laboratory of the Faculty of Forest and Environmental Sciences at the Universidad Juárez del Estado de Durango (24° 00' 47" N, 104° 40' 57" W, at an altitude of 1809 m). The following storage media for acorns were evaluated: 1) fresh pine sawdust, 2) expanded perlite (Multiperl®, Grupo Perlita, Mexico), 3) peat moss (Premier®, Premier Horticulture Inc., Canada), 4) vermiculite (Hydro Environment®, Mexico), and 5) control (no substrate). The seeds collected were subjected to a flotation test in water, with those that floated being discarded (Bonner, 2003), and it was visually confirmed that they were healthy, without insect damage (such as small perforations in the pericarp).

Before storage, the seed coats and plastic containers (250 mL) were disinfected with a 10 % commercial sodium hypochlorite solution and purified water to prevent fungal damage. The seeds were immersed in the solution for 10 minutes, then rinsed with drinking water to remove any chlorine residue. Fresh pine sawdust was disinfected using the same solution, then placed in a drying oven (Ecoshel® model 9024A) at 60 °C for 24 hours. Prior to placing the seeds in the storage media, the materials were humidified with purified water, to which 1 g·L⁻¹ of the fungicide Thiabendazole (Tecto 60®, Syngenta, Mexico) was added to prevent fungal damage. The water was applied using a 1 L sprayer. Additionally, the amount of water retained in each substrate was measured (sawdust: 65.0 mL, perlite: 101.2 mL, peat moss: 114.4 mL, and vermiculite: 68.0 mL). Moisture was considered adequate when the particles of each material were moist but not compacted.

The storage media were placed in plastic containers; a layer of substrate was first added, followed by a layer of seeds, and so on (Figure 1). In each treatment, 600 seeds were placed, distributed in four containers (replicates) with 150 seeds each. Subsequently,

27° N y 105° 00' 54" O, a una altitud de 2 397 m. La recolección se hizo entre el 25 y 30 de octubre de 2022 de tres árboles superiores con altura de 12 a 15 m en promedio y separados a 150 m de distancia, ya que las especies del género *Quercus* llegan a hibridar debido a que tienen alta diversidad genética, lo que les permite cruzarse con especies cercanas de características genéticas afines (González-Rodríguez et al., 2004).

Las bellotas recolectadas (muestra de 40 bellotas) tuvieron en promedio 1.26 ± 0.2 y 0.81 ± 0.1 cm de diámetro polar y ecuatorial, respectivamente, medido con un vernier digital Truper®. Se obtuvieron 1 492 bellotas·kg⁻¹, lo que corresponde a 0.670 kg por cada 1 000 semillas. El contenido de humedad (CH) base anhidra fue 31.2 %, obtenido con la ecuación propuesta por Liegel y Venator (1987): $CH \% = [(PHM - PSM)/PHM] * 100$; donde, PHM y PSM son el peso húmedo y peso seco (g) de la muestra, respectivamente. El secado de las bellotas se hizo en cuatro muestras de 10 g de semilla en un horno (marca Ecoshel® modelo 9024A) a 103 °C durante 17 horas; con los valores obtenidos se estimaron los promedios.

Tratamientos evaluados y proceso de almacenamiento

El estudio se desarrolló en el laboratorio de usos múltiples de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad Juárez del Estado de Durango (24° 00' 47" N, 104° 40' 57" O y 1 809 m de altitud). Se evaluaron los siguientes medios de almacenamiento de las bellotas: 1) aserrín fresco de pino, 2) perlita mineral expandida (Multiperl®, Grupo Perlita, México), 3) turba de musgo *Peat moss* (Premier®, Premier Horticulture Inc., Canadá), 4) vermiculita (Hydro Environment®, México) y 5) testigo (sin sustrato). Las semillas recolectadas se sometieron a una prueba de flotación en agua, se descartaron las que flataron (Bonner, 2003) y se verificó visualmente que estuvieran sanas, sin daño por insectos (perforación pequeña en el pericarpio).

Previo al almacenamiento, la testa de la semilla y recipientes de plástico (250 mL) se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio comercial al 10 % y agua purificada para prevenir daños causados por hongos; las semillas se sumergieron en la solución durante 10 minutos y luego se enjuagaron con agua potable para eliminar los residuos de cloro. El aserrín fresco de pino se desinfectó con la misma solución, posteriormente se puso en un horno de secado (marca Ecoshel® modelo 9024A) a 60 °C durante 24 h. Antes de colocar las semillas en los medios de almacenamiento, estos se humedecieron con agua purificada, a la cual se añadió 1 g·L⁻¹ de fungicida Tiabendazol (Tecto 60®, Syngenta, México) para evitar daños por hongos. El agua se aplicó con un recipiente rociador de 1 L;

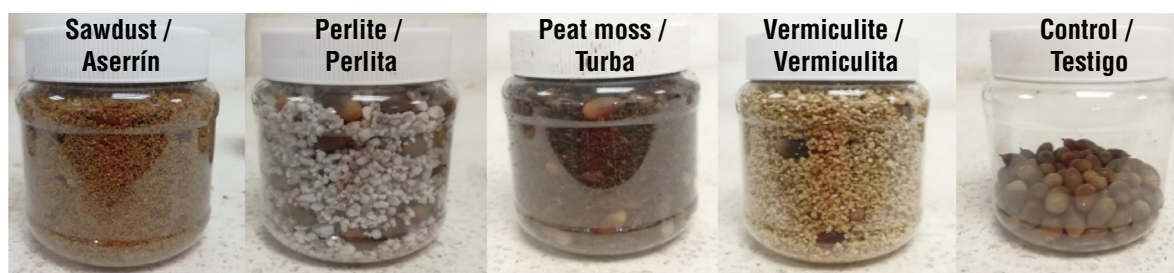


Figure 1. Media evaluated for the storage of *Quercus durifolia* acorns at 5 °C

Figura 1. Medios evaluados para el almacenamiento de bellotas de *Quercus durifolia* a 5 °C.

following the methodology proposed by Díaz-Pontones and Reyes-Jaramillo (2009), the sealed containers were stored at 5 °C.

Germination test

To assess the effectiveness of the treatments, germination tests were conducted monthly over six months. In each test, 25 seeds were randomly selected from each replicate of the treatments (100 seeds per treatment). These seeds were placed on a sheet of absorbent paper and then placed in plastic bags inside a controlled environment chamber (ECOSHEL® cultivation oven, Model 9052) at 28 °C (Figure 2), following the International Rules for Seed Testing (International Seed Testing Association [ISTA], 2016). To prevent fungal attack, a fungicide solution composed of N-tricloromethylthio-4-cyclohexene-1,2-dicarboximide (Captan 50®, ADAMA, Israel) at a rate of g·L⁻¹ of water was applied using a 1 L sprayer. During the test, humidity was kept constant by spraying this solution.

From the start, germination was recorded every two days for a period of 14 days, subsequently, there was no more seedling emergence. A seed was considered germinated when the radicle reached a length of at least 1 cm (ISTA, 2016), and an acorn was considered rotten when the pericarp turned black and, when split in half, the cotyledons also showed a dark brown to black color.

Response variables

The cumulative germination percentage (CGP), average of the six evaluations, was calculated using the following equation: $CGP = (\text{Number of germinated seeds} / \text{Total number of seeds}) * 100$. Germination speed index (GSI) was determined using the following equation: $GSI = \sum(n_i/t_i)$; where, n_i is the number of seeds that germinated from the first to the last day, and t_i is the time in days (from the day the seeds were placed to germinate until the last evaluation day) (Maguire, 1962). Moreover, the cumulative percentage of rotten seeds was recorded over the six-month evaluation period.

asimismo, se midió la cantidad de agua retenida en cada sustrato (aserrín: 65.0 mL, perlita: 101.2 mL, turba: 114.4 mL y vermiculita: 68.0 mL). La humedad se consideró adecuada cuando las partículas de cada material estuvieron húmedas, pero sin compactarse.

Los medios de almacenamiento se pusieron en los recipientes de plástico; primero se puso una capa del sustrato, enseguida una de semillas, y así sucesivamente (Figura 1). En cada tratamiento se colocaron 600 semillas, distribuidas en cuatro frascos (repeticiones) con 150 semillas. Posteriormente, con base en la metodología propuesta por Díaz-Pontones y Reyes-Jaramillo (2009), los recipientes cerrados herméticamente se almacenaron a 5 °C.

Pruebas de germinación

Para evaluar la efectividad de los tratamientos, se hicieron pruebas de germinación mensualmente durante seis meses. En cada prueba se extrajeron aleatoriamente 25 semillas de cada repetición de los tratamientos (100 semillas por tratamiento). Estas se colocaron sobre un pliego de papel absorbente y se introdujeron en bolsas de plástico dentro de una cámara de ambiente controlado (estufa de cultivo ECOSHEL®, Modelo 9052) a 28 °C (Figura 2), conforme a las Reglas Internacionales para el Análisis de Semillas (International Seed Testing Association [ISTA], 2016). Para prevenir ataque por hongos se aplicó una solución fungicida compuesta por N-triclorometiltio-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida (Captán 50®, ADAMA, Israel) a razón de 1 g·L⁻¹ de agua con un recipiente rociador de 1 L. Durante la prueba se mantuvo la humedad constante mediante pulverizaciones con esta solución.

A partir de su inicio, la germinación se registró cada dos días durante un periodo de 14 días; posteriormente, ya no hubo emergencia de plántulas. Se consideró una semilla germinada cuando la radícula de la semilla alcanzó longitud de al menos 1 cm (ISTA, 2016) y se asumió que una bellota estaba podrida cuando la testa se puso de color negro y, al ser dividida por la mitad, los cotiledones tenían también un color pardo oscuro a negro.

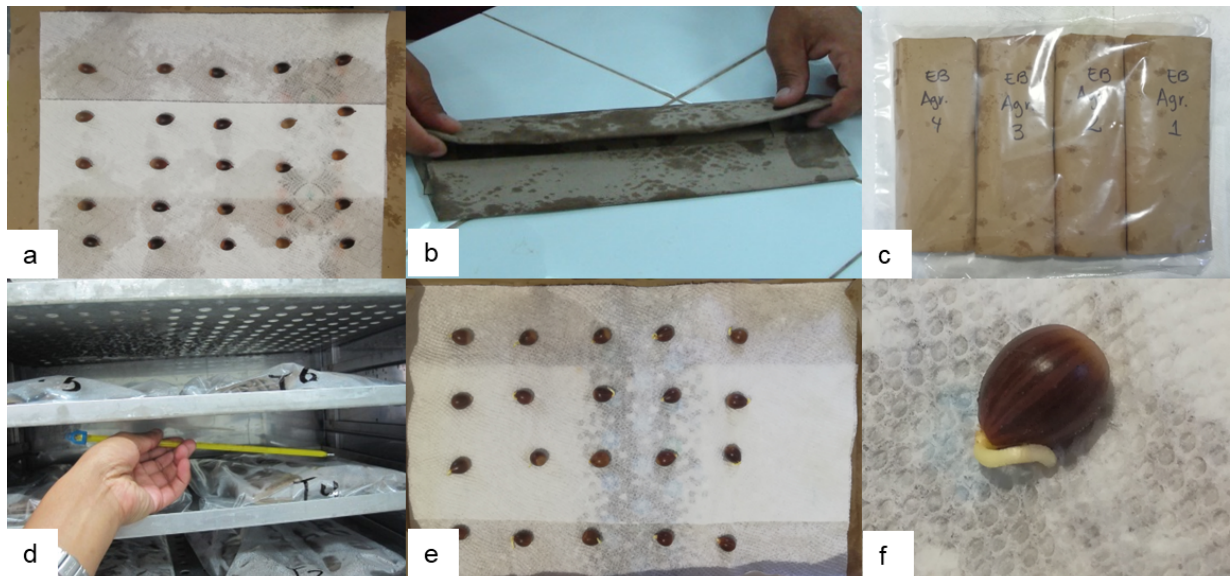


Figure 2. Germination process of *Quercus durifolia* acorns. a) Placing seeds on absorbent paper, b) preparing paper wrappings with moistened seeds, c) arranging wrapped seeds in plastic bags to retain moisture, d) positioning a thermometer to monitor the temperature in the germination chamber, e) counting germinated seeds, f) germinated acorn.

Figura 2. Proceso de germinación de bellotas de *Quercus durifolia*. a) Colocación de semillas en papel absorbente, b) preparación de envoltorios del papel con las semillas humedecidas, c) acomodo de las semillas enrolladas en bolsas de plástico para que conserven la humedad, d) colocación de termómetro para registrar la temperatura en la cámara de germinación, e) conteo de semillas germinadas, f) bellota germinada.

Experimental design and statistical analysis

The experimental design was completely randomized with four replications (150 seeds) per treatment (600 seeds in total). Results were subjected to a non-parametric analysis of variance (Kruskal-Wallis test) due to the violation of normality and homogeneity of variance assumptions ($p \leq 0.05$) assessed using the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively. For variables showing statistical differences, Dunn's median comparison test was performed, which follows a chi-square (X^2) distribution. The analyses were conducted using the InfoStat software (InfoStat, 2020).

Results and Discussion

Temporal variation in germination

Germination of *Q. durifolia* acorns was statistically different ($p \leq 0.05$; $gl = 4$; $X^2 = 10.3$) among treatments during the monthly evaluations (Table 1). From the first month, the treatment with fresh sawdust had the highest germination rate (69 %), which decreased by only 10 % after six months of storage. In contrast, acorns stored in perlite, vermiculite, and without a substrate showed no signs of seedling emergence after sixth months. For the peat treatment, germination values ranged from 31 to 20.3 % at the end of the evaluation period.

Variables respuesta

El porcentaje de germinación acumulada (PG), promedio de las seis evaluaciones, se calculó mediante la ecuación siguiente: $PG = (\text{Número de semillas germinadas} / \text{Número total de semillas}) * 100$. El índice de velocidad de germinación (IVG) se determinó con la ecuación siguiente: $IVG = \sum(n_i/t_i)$; donde, n_i es el número de semillas germinadas desde el primer al último día y t_i es el tiempo en días (desde el día que fueron puestas a germinar hasta el último día de evaluación) (Maguire, 1962). Además, se obtuvo el porcentaje acumulado de semillas podridas, durante los seis meses de evaluación.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones (150 semillas) por tratamiento (600 semillas). Los resultados se sometieron a un análisis de varianza no paramétrico (prueba de Kruskal-Wallis) por el incumplimiento de los supuestos de normalidad y de homogeneidad de varianzas ($p \leq 0.05$) mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. En las variables con diferencias estadísticas se hizo una prueba de comparación de medianas de Dunn, la cual sigue una distribución de tipo X^2 . Los análisis se realizaron con el programa InfoStat (InfoStat, 2020).

Table 1. Germination of *Quercus durifolia* acorns (%) in five storage media evaluated during six months.**Cuadro 1. Germinación de bellotas de *Quercus durifolia* (%) en cinco medios de almacenamiento durante seis meses de evaluación.**

Treatment/ Tratamiento	Months of storage/ Meses de almacenamiento					
	1	2	3	4	5	6
Control/ Testigo	32.0 ± 12.5 ab	26.0 ± 15.1 b	25.0 ± 13.7 b	20.0 ± 11.2 c	4.0 ± 2.3 b	0.0 ± 0.0 c
Sawdust/ Aserrín	69.0 ± 2.5 a	76.0 ± 4.3 a	69.0 ± 4.4 a	72.0 ± 7.7 a	72.0 ± 6.5 a	58.0 ± 3.5 a
Perlite/ Perlita	37.0 ± 8.1 ab	42.0 ± 6.2 ab	48.0 ± 14.0 ab	55.0 ± 11.4 abc	43.0 ± 16.0 ab	0.0 ± 0.0 c
Peat moss/ Turba	27.0 ± 5.0 b	31.0 ± 9.7 ab	25.0 ± 1.0 b	29.0 ± 3.4 bc	26.0 ± 7.4 ab	20.3 ± 7.0 b
Vermiculite/ Vermiculita	55.0 ± 10.5 ab	36.0 ± 15.6 ab	45.0 ± 10.0 ab	63.0 ± 11.7 ab	38.3 ± 18.2 ab	0.0 ± 0.0 c
P value/ Valor p	0.0175	0.0456	0.0375	0.0067	0.0140	0.0001

Means (± standard error) with different letters indicate statistically significant differences among treatments according to Dunn's median test ($p \leq 0.05$).

Medias (± error estándar) con letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos según la prueba de medianas de Dunn ($p \leq 0.05$).

Reduction in acorn germination capacity can be attributed to their recalcitrant nature, which, during storage, leads to a depletion of reserve tissues to the point where essential processes for germination decrease or cease (Jaganathan et al., 2024). For this reason, achieving high germination rates beyond one year of storage is challenging. Zavala-Chávez (2004) reported that *Q. rugosa* acorns maintained over 80 % viability for up to four months when stored at 5 to 7 °C in sealed plastic bags, but this rate dropped to around 30 % after just under one year of storage. Similarly, Pasquini et al. (2011) stored *Quercus ilex* L. acorns in peat moss for one year and observed low vigor and germination rates, as well as high electrolyte leakage and moisture content. These results are consistent with those of the present study, likely because peat moss retains high moisture content (Landis et al., 2022), which caused the acorns to deteriorate due to oxidative damage during their metabolism.

In this regard, a key aspect to consider when storing acorns is moisture control, which is influenced by the type of material used. In the case of peat moss, a higher amount of water was added (114.4 mL), and since particles are very fine, they adhered to the acorns, potentially causing oxidation and resulting in low seedling emergence after sixth months. Conversely, 101.2 mL of water was added to the perlite, but germination was null by the end of the evaluation, possibly because water tends to adhere to the surface of the particles, absorbing little moisture (Landis et al., 2022). This suggests that acorns likely lost their physiological germination capacity due to water loss and embryo dehydration (Kang et al., 2023). On the other hand, although vermiculite retains large amounts of water (Monsalve Camacho et al., 2021), a smaller amount was added (68 mL), which resulted

Resultados y discusión

Variación temporal de la germinación

La germinación de los frutos de *Q. durifolia* fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$; $gl = 4$; $X^2 = 10.3$) entre tratamientos durante las evaluaciones mensuales (Cuadro 1). Desde el primer mes, el tratamiento con aserrín fresco mostró el valor máximo de germinación (69 %), el cual disminuyó solo 10 % después de seis meses de almacenamiento. Por el contrario, las bellotas puestas en perlita, vermiculita y sin sustrato no manifestaron indicios de generación de plántulas al sexto mes. En el caso de la turba, se registraron valores de 31 a 20.3 % al final del período de evaluación.

La reducción de la capacidad germinativa de las bellotas se puede entender por su característica recalcitrante que, en almacenamiento, propicia la reducción de los tejidos de reserva hasta el punto en que los procesos esenciales para la germinación disminuyen o dejan de ocurrir (Jaganathan et al., 2024). Por esta razón, es difícil conseguir porcentajes altos de germinación más allá de un año de almacenamiento. Por ejemplo, Zavala-Chávez (2004) señala que las bellotas de *Q. rugosa* pueden durar cuatro meses con más de 80 % de viabilidad a temperaturas de 5 a 7 °C en bolsas de plástico selladas, pero se reduce a cerca de 30 % en poco menos de un año de almacenamiento. Asimismo, Pasquini et al. (2011) almacenaron bellotas de *Quercus ilex* L. en turba durante un año y determinaron que las semillas tuvieron vigor y porcentaje germinativo bajos, así como fuga de electrolitos y humedad altos. Estos resultados son similares a los de la presente investigación, probablemente porque la turba tiene retención de humedad alta (Landis et al., 2022) que provocó que las bellotas se deterioren por daño oxidativo durante su metabolismo.

in a significant decrease in germination percentage between the fifth and the sixth month. In contrast, fresh sawdust maintained acorn viability above 50 % for at least six months, despite receiving the lowest amount of water (65.0 mL).

Cumulative germination

Cumulative germination of *Quercus durifolia* acorns after six months of storage showed statistically significant differences among treatments ($p \leq 0.05$; $gl = 4$; $X^2 = 17.0$) in all six evaluations (Figure 3). Germination began after two days, except for the control, which started after four days, and the maximum cumulative emergence occurred after 14 days. In seeds stored in vermiculite and perlite, cumulative germination was similar between them from the beginning of the test until day 14. Seeds stored in fresh sawdust showed over 50 % germination after six days and reached the highest cumulative percentage at 72.5 %, while this value was 29 % in both the control and peat moss treatments.

Few studies have examined seed storage in substrates. One of these studies is that of Pasquini et al. (2012), who stored *Q. ilex* acorns in containers mixed with peat moss and in polyethylene bags without substrate. Storing the seeds in polyethylene bags preserved optimal quality by limiting gas exchange and maintaining low metabolic activity in acorns. In contrast, acorns stored in peat moss showed lower germination rates and higher proportion of damaged seeds. Pasquini et al. (2012) concluded that excessive moisture likely

En este sentido, un aspecto clave para considerar cuando se guardan bellotas es el control de la humedad, determinado por el tipo de material utilizado. En el caso de la turba, se agregó una mayor cantidad de agua (114.4 mL) y al tener las partículas muy finas estas se adherían a las bellotas, lo que pudo provocar que se oxidaran y resultara en una emergencia baja de plántulas al sexto mes. En cambio, a la perlita se incorporaron 101.2 mL de agua, pero la germinación fue nula al final de la evaluación, posiblemente porque el agua tiende a adherirse a la superficie de las partículas, absorbiendo poca humedad (Landis et al., 2022). Esto sugiere que las bellotas probablemente perdieron su capacidad fisiológica de germinación, debido a la pérdida de agua y a la deshidratación del embrión (Kang et al., 2023). Por otro lado, aunque la vermiculita retiene cantidades grandes de agua (Monsalve Camacho et al., 2021), se añadió una menor cantidad (68 mL), lo que se reflejó en la disminución significativa del porcentaje de germinación entre el quinto y sexto mes. En contraste, el aserrín fresco mantuvo la viabilidad de las bellotas por encima del 50 % durante al menos seis meses, a pesar de que se agregó la menor cantidad de agua al sustrato (65.0 mL).

Germinación acumulada

La germinación acumulada de los frutos de *Q. durifolia*, después de seis meses de almacenamiento, mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$; $gl = 4$; $X^2 = 17.0$) en las seis evaluaciones (Figura 3). La germinación comenzó a los dos días, excepto el testigo que inició a los cuatro días,

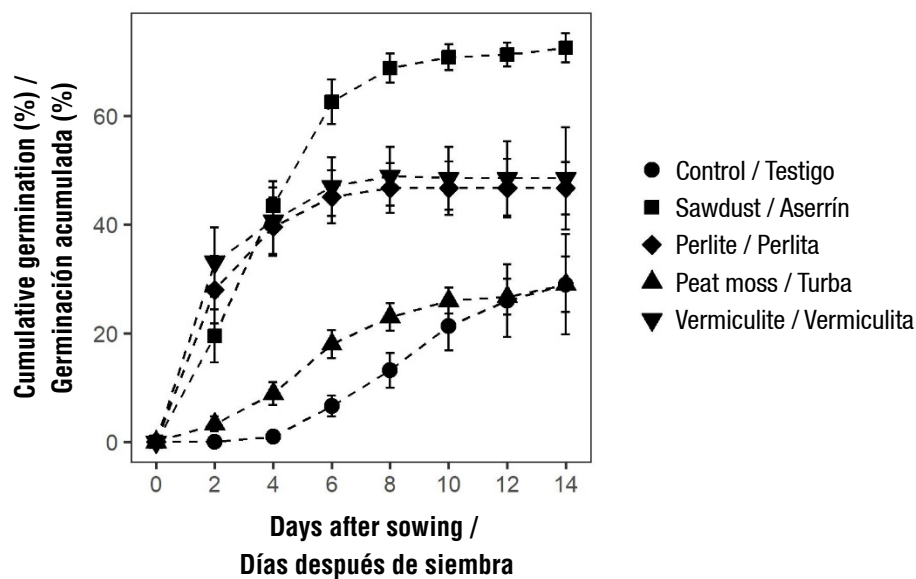


Figure 3. Cumulative germination of *Quercus durifolia* acorns after six months of storage using four different substrates. The points represent mean values $\pm$ standard error from monthly evaluations.

Figura 3. Germinación acumulada de bellotas de *Quercus durifolia* durante seis meses de almacenamiento en cuatro tipos de sustratos. Los puntos son valores promedio $\pm$ error estándar de las evaluaciones mensuales.

had a negative impact on seed viability. Similarly, Berjak and Pammenter (2010) highlight that one of the main factors contributing to the loss of viability in recalcitrant seeds is an imbalance in metabolism, which occurs both during dehydration and when seeds are stored under hydrated conditions. Doria (2010) further indicates that seeds stored with excessive moisture are susceptible to fungal attacks and reduced oxygen availability for the embryo.

This study also recorded acorn rot with the different substrates ($p = 0.0004$; $gl = 4$; $X^2 = 20.6$) and consistent with the germination levels, seeds stored in fresh sawdust had the lowest percentage of rotten seeds (30 %). In contrast, 50 % of the seeds stored in vermiculite and perlite were rotten, while the highest percentages were recorded in the control and peat moss treatments (81.5 and 73 %, respectively). In most substrates, acorn rot was caused by fungal activity (Figure 4a). González-Salvatierra et al. (2013) found that after storing *Q. polymorpha* seeds for one year, 70 % of the acorns were damaged by parasitic insects, 20 % were affected by fungal damage and physiological loss of viability, and only 10 % remained viable. In the present study, larvae were observed in some seeds during germination, although the percentage was minimal in each treatment (0.5 %) (Figure 4b). It is important to note that no signs of infestation were detected before acorn storage. According to González-Salvatierra et al. (2013), acorns may be infested by parasitic insect larvae at the time of collection without visible signs of damage, as the damage caused by the infestation is not visually apparent.

In this study, seed germination occurred within the containers in the storage media with perlite (2 %) and vermiculite (7 %) (Figure 4c). This is consistent with the findings of Pasquini et al. (2012), who reported that *Q. ilex* acorns stored in peat moss began germinating inside the container and experienced faster deterioration due to seed rot. Germination occurs

y la emergencia máxima acumulada ocurrió a los 14 días. En las semillas guardadas en vermiculita y perlita, la germinación acumulada fue similar entre ellas desde el inicio de la prueba hasta los 14 días. Las semillas conservadas en aserrín fresco presentaron más del 50 % de germinación a los seis días y tuvo el porcentaje máximo acumulado con 72.5 %, mientras que en el testigo y la turba dicho valor fue 29 %.

Son pocos los trabajos realizados en almacenamiento de semillas en sustratos, uno de ellos es el de Pasquini et al. (2012), quienes pusieron bellotas de *Q. ilex* en un recipiente mezcladas con turba y en bolsas de polietileno sin sustrato. La conservación de semillas en bolsas de polietileno mantuvo parámetros óptimos de calidad, al limitar el intercambio de gases y mantener la actividad metabólica de las bellotas en niveles bajos; por otro lado, las bellotas en turba tuvieron menor porcentaje de germinación y mayor cantidad de semillas dañadas. Pasquini et al. (2012) concluyeron que el exceso de humedad pudo influir en forma adversa en la viabilidad de la semilla. Asimismo, Berjak y Pammenter (2010) señalan que uno de los principales factores que contribuyen a la pérdida de viabilidad de semillas recalcitrantes es el metabolismo desbalanceado que se produce durante la deshidratación y también cuando se guardan en condiciones hidratadas. Doria (2010) menciona que las semillas almacenadas con exceso de humedad son vulnerables al ataque por hongos y a deficiencias en la disponibilidad de oxígeno para el embrión.

En este estudio también se registró la pudrición de las bellotas en los medios ($p = 0.0004$; $gl = 4$; $X^2 = 20.6$) y, en coherencia con los niveles de germinación, las semillas puestas en aserrín fresco también registraron menor porcentaje de semillas podridas (30 %). En los sustratos vermiculita y perlita se registró 50 % de semillas podridas para ambos casos; mientras que en el testigo y la turba se registraron los mayores porcentajes de semillas podridas (81.5 y 73 %, respectivamente). En



Figure 4. Conditions observed in *Quercus durifolia* acorns during storage: a) rotten seed, b) seed with larvae, and c) germinated seed.
Figura 4. Condiciones encontradas de las bellotas de *Quercus durifolia* durante su almacenamiento: a) semilla podrida, b) semilla con larva y c) semilla germinada.

under these conditions due to a combination of factors such as moisture, temperature, and oxygen availability in the storage medium (Adetunji et al., 2021).

Another important factor affecting seed viability during storage is temperature, which should be kept low to moderate (1 to 7 °C) (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). In this regard, Szuba et al. (2022) evaluated two temperatures for *Quercus robur* L. acorns (-3 °C and -7 °C) and demonstrated that those stored at -7 °C for six months showed deterioration and 80 % reduction in germination capacity. Similarly, Zavala Chávez (2008) stored *Q. glabrescens* and *Q. rugosa* acorns in plastic bags at temperatures between 5 and 7 °C for 15 months and achieved germination rates of 69 and 54 %, respectively. In the present study, seeds stored in plastic containers with fresh sawdust at 5 °C showed higher germination rates, but only for six months, while seed rot was similar to that observed in the aforementioned study (30 %). The advantage of using low temperatures for acorn storage is the reduction of metabolic activity and respiration rates, making the seeds less susceptible to deterioration (Magnitskiy & Plaza, 2007).

Germination speed

According to Figure 5, the germination speed index varied significantly ($p \leq 0.05$; $df = 4$; $X^2 = 75.7$) between the control and the evaluated substrates. Seeds from the control and those stored in peat moss showed a drastic reduction in germination speed (8.6 and 13.0, respectively), while those stored in fresh sawdust, perlite, and vermiculite were statistically similar ($p > 0.05$). When no storage medium was used, the germination speed index of the seeds decreased by more than 50 %, as acorns had lost more moisture in a shorter period, thereby reducing their viability.

The germination value indicates the seed's vigor during the initial days of germination. In this case, seeds stored in fresh sawdust showed an increased germination speed during the first days, contributing to the overall germination percentage. Díaz-Pontones and Reyes-Jaramillo (2009) reported that maintaining acorns of *Q. hintonii* at 7 °C is essential for preserving a high germination rate (94 %) for over 48 days in a chamber with 33 % relative humidity. In the present study, acorns were stored at 5 °C, and the highest germination capacity was achieved with fresh sawdust after two months (76 %).

The storage conditions of the containers, as described in the methods, may have affected the viability of acorns. Since recalcitrant seeds require constant gas exchange, they are usually placed in unsealed containers to avoid oxygen deprivation and carbon dioxide accumulation (Luna & Wilkinson, 2014). Therefore, it is recommended that the containers be

la mayor parte de los sustratos existió pudrición de las bellotas debido a los hongos (Figura 4a). González-Salvatierra et al. (2013), después de almacenar semilla de *Q. polymorpha* durante un año, encontraron que 70 % de las bellotas fueron dañadas por insectos parásitos y 20 % tuvieron daño por hongos y pérdida fisiológica de viabilidad; al final solo 10 % de las bellotas eran viables. En el presente estudio, durante la germinación se observaron larvas en algunas semillas, aunque el porcentaje fue mínimo en cada tratamiento (0.5 %) (Figura 4b). Es importante señalar que, previo al almacenamiento de las bellotas, no había indicios de infestación. Según González-Salvatierra et al. (2013), las bellotas pueden estar infestadas por larvas de insectos parásitos al momento de su recolección sin percibir el daño, ya que no es detectable visualmente.

En este estudio existió germinación de semillas dentro de los recipientes en los medios de almacenamiento con perlita (2 %) y vermiculita (7 %) (Figura 4c). Esto coincide con el ensayo de Pasquini et al. (2012), quienes reportaron que las bellotas de *Q. ilex* con turba comenzaron a germinar dentro del recipiente y tuvieron un deterioro más rápido causado por pudrición de las semillas. Estas germinan debido a la combinación de factores como la humedad, temperatura y disponibilidad de oxígeno en el medio de almacenamiento (Adetunji et al., 2021).

Otro factor importante que influye en la viabilidad de las semillas durante su almacenamiento es la temperatura, la cual debe ser baja a moderada (1 a 7 °C) (Rodríguez-Trejo & García-Pascual, 2021). Al respecto, Szuba et al. (2022) evaluaron dos temperaturas en bellotas de *Quercus robur* L. (-3 °C y -7 °C) y demostraron que las almacenadas a -7 °C durante seis meses presentaron deterioro y reducción de la capacidad germinativa en 80 %. También, Zavala Chávez (2008) guardó bellotas de *Q. glabrescens* y *Q. rugosa* durante 15 meses en bolsas de plástico bajo temperaturas de 5 a 7 °C y obtuvo germinación de 69 y 54 %, respectivamente. En el presente estudio, las semillas colocadas en recipientes de plástico con aserrín fresco a 5 °C mostraron tasas mayores de germinación, pero solo por seis meses, mientras que la pudrición de las semillas fue similar a dicho estudio (30 %). La ventaja del uso de temperaturas bajas en el almacenamiento de las bellotas es la reducción del metabolismo y de la tasa de respiración, haciéndolas menos susceptibles al deterioro (Magnitskiy & Plaza, 2007).

Velocidad de germinación

De acuerdo con la Figura 5, el índice de velocidad de germinación varió significativamente ($p \leq 0.05$; $gl = 4$; $X^2 = 75.7$) entre el testigo y los sustratos evaluados. Las semillas del testigo y las almacenadas en turba presentaron reducción drástica en la velocidad de

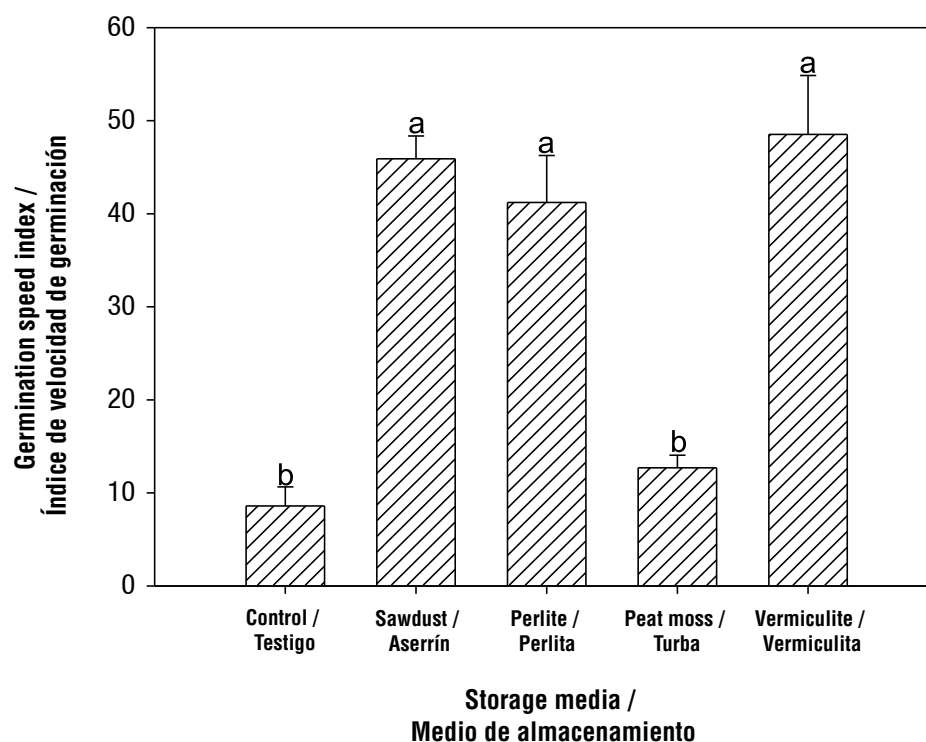


Figure 5. Germination speed index of *Quercus durifolia* acorns according to the type of substrate used for storage. Bars represent means $\pm$ standard error; different letters indicate statistically significant differences among treatments according to Dunn's median test ($p \leq 0.05$).

Figura 5. Índice de velocidad de germinación en bellotas de *Quercus durifolia* según el tipo de sustrato utilizado para su almacenamiento. Las barras representan medias $\pm$ error estándar; letras distintas indican diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, según la prueba de medianas de Dunn ($p \leq 0.05$).

left open or have openings that promote aeration. Humidity present in the containers was another factor that could have influenced the results, as moisture was only added at the start of the storage process. Each substrate retained different amounts of water due to the inherent characteristics of the particles and their size. For example, sawdust is a lightweight material with fine particles and has a low to medium water retention capacity, but its aeration capacity is adequate (Pineda-Pineda et al., 2012). In contrast, peat moss contains very fine particles that adhere to the seeds, which may have caused a higher percentage of rotten seeds at the end of the test due to constant moisture on the seed coating. Perlite and vermiculite, on the other hand, have a high moisture retention capacity due to the size of their particles (1-3.5 mm and 0.6-4.7 mm, respectively). These characteristics may have influenced the results of this study, which confirm that the storage medium is critical for maintaining the viability of acorns, including temperature, moisture, and ventilation, to prevent damage from excess moisture and microorganisms (Díaz-Pontones & Reyes-Jaramillo, 2009). Based on the above, it is recommended to continue evaluating acorn storage in fresh sawdust for longer periods and under different moisture and temperature conditions.

germinación (8.6 y 13.0, respectivamente), mientras que en aserrín fresco, perlita y vermiculita fueron estadísticamente similares ($p > 0.05$). Cuando no se utilizó medio de almacenamiento, el índice de velocidad germinativa de las semillas disminuyó en más del 50 %, debido a que las bellotas habían perdido mayor humedad en un periodo más corto y, con ello, su viabilidad.

El valor germinativo indica el vigor que tiene la semilla durante los primeros días de la germinación. En este caso, las semillas almacenadas en aserrín fresco aumentaron la velocidad de germinación en los primeros días, lo que contribuyó al porcentaje de germinación total. Díaz-Pontones y Reyes-Jaramillo (2009) mencionan que la temperatura de almacenamiento de bellotas de *Q. hintonii* a 7 °C es fundamental para mantener un índice alto de germinación (94 %) por un periodo mayor a 48 días en una cámara con humedad relativa del 33 %. En el presente estudio, las bellotas se guardaron a 5 °C y la máxima capacidad germinativa se alcanzó con aserrín fresco a los dos meses (76 %).

Las condiciones de almacenamiento de los recipientes, como se describe en los métodos, pudieron haber afectado la viabilidad de las bellotas. Dado que las semillas recalcitrantes requieren intercambio constante

Conclusions

Quercus durifolia acorns stored in fresh sawdust at 5 °C had the highest germination rate and the least reduction in viability after six months of storage. They also had the lowest proportion of rotten seeds. Acorns stored in peat moss and those without a substrate showed greater reduction in germination capacity and higher percentage of rotten seeds. This study provides an economic alternative for prolonging the viability of acorns for nursery plant production, reforestation, and restoration efforts with the species. However, further long-term studies are needed to evaluate the effects of storage in relation to temperature levels and humidity levels of storage media in acorns from Mexican oaks.

Acknowledgments

We would like to thank the Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación for the scholarship granted to the first author, awarded through the "Postdoctoral Fellowships for Mexico 2022 (3)" program.

Conflicts of Interest

The authors declare that we have no economic conflicts of interest or known personal relationships that could have influenced the research presented in this article.

End of English version

References / Referencias

- Adetunji, A. E., Adetunji, T. L., Varghese, B., Serksen, & Pammenter, N. W. (2021). Oxidative stress, ageing and methods of seed invigoration: An overview and perspectives. *Agronomy*, 11(12), 2369. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122369>
- Aguilar-Peralta, J. S., González-Rodríguez, A., González-Esquivel, J. G., & Cuevas-Reyes, P. (2016). Patrones de depredación de bellotas en especies del género *Quercus* (Fagaceae) a lo largo de un gradiente altitudinal en el Volcán de Tequila, Jalisco. *Biológicas*, 18(1), 1–9. <https://www.biologicas.umich.mx/index.php?journal=biologicas&page=article&op=view&path%5B%5D=244>
- Aguilera-Rodríguez, M., Aldrete, A., Sánchez-Velázquez, J. R., & Prieto-Ruiz, J. A. (2023). Instalaciones e insumos para la producción. En A. Aldrete, J. R. Sánchez-Velázquez, M. Aguilera Rodríguez, D. Cibrián-Tovar, & S. E. García-Díaz (Eds.), *Manual de buenas prácticas para el manejo de la salud de planta en viveros forestales* (pp. 41–90). Universidad Autónoma Chapingo. <https://dicifo.chapingo.mx/publicaciones/>
- Barragán-Zúñiga, J., Rocha-Guzmán, N. E., Montoya-Ayón, J. B., Gallegos-Infante, J. A., Moreno-Jiménez, M. R., Sigala-

de gases, estas se ponen generalmente en contenedores no sellados para evitar la falta de oxígeno y la acumulación, de dióxido de carbono (Luna & Wilkinson, 2014); por ello, se sugiere que los recipientes se dejen abiertos o tengan aperturas que favorezcan la aireación. También, la humedad presente en los recipientes fue otro factor que pudo haber influido, la cual solo se agregó al inicio del proceso de almacenamiento; cada sustrato retuvo diferente cantidad de agua por las características propias de las partículas y su tamaño. Por ejemplo, el aserrín es un material ligero con partículas finas y tiene una capacidad de retención de agua de baja a media, pero su capacidad de aireación es adecuada (Pineda-Pineda et al., 2012). En cambio, la turba tiene partículas muy finas que se adhieren a las semillas, lo que pudo haber provocado que, debido a la humedad permanente en la cubierta de la semilla, el porcentaje de semillas podridas al final de la prueba fuera mayor. También, la perlita y la vermiculita tienen capacidad alta de retención de humedad, debido al tamaño de sus partículas (1-3.5 mm y 0.6-4.7 mm, respectivamente). Estas características pudieron haber influido en los resultados de este estudio, los que confirman que el medio de almacenamiento es crítico para mantener la viabilidad de las bellotas, incluidas la temperatura, humedad y ventilación, para prevenir daños causados por el exceso de humedad y microorganismos (Díaz-Pontones & Reyes-Jaramillo, 2009). Derivado de lo anterior, se recomienda seguir evaluando el almacenaje de bellotas en aserrín fresco, durante más tiempo y en diferentes condiciones de humedad y temperatura.

Conclusiones

Las bellotas de *Quercus durifolia* almacenadas en aserrín fresco a 5 °C tuvieron la mayor tasa de germinación y menor reducción de su viabilidad durante seis meses de almacenamiento; asimismo, tuvieron la menor proporción de semillas podridas. Las bellotas guardadas en turba y aquellas sin sustrato tuvieron mayor reducción de la capacidad germinativa, así como mayor porcentaje de semillas podridas. Este estudio proporciona una alternativa económica para prolongar la viabilidad de las bellotas con fines de producción de plantas en vivero, reforestación y restauración con la especie. Aún se requieren más estudios a largo plazo para evaluar los efectos del almacenamiento en relación con niveles de temperatura y niveles de humedad de los medios de almacenamiento en bellotas de encinos mexicanos.

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por la beca otorgada al primer autor, derivada de la convocatoria "Estancias Posdoctorales por México 2022 (3)".

- Rodríguez, J. A., Pulido-Díaz, C., Chávez-Simental, J. A., & González-Laredo, R. F. (2020). *In vitro* propagation of *Quercus sideroxylla* form mature acorns. *Agrociencia*, 54(1), 129–145. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7258171>
- Berjak, P., & Pammenter, N. W. (2010). Semillas ortodoxas y recalcitrantes. In J. A. Vozzo (Ed.), *Manual de semillas de árboles tropicales* (pp. 143–155). Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. https://rngr.net/publications/manual-de-semillas-de-arboles-tropicales/parte-i-semillas-ortodoxas-y-recalcitrantes/at_download/file
- Bonner, F. T. (2003). *Collection and care of acorns: A practical guide for seed collectors and nursery managers*. <https://es.scribd.com/document/64752250/Collection-and-Care-of-Acorns>
- Clark-Tapia, R., Mendoza-Ochoa, A., Aguirre-Hidalgo, V., Antúnez, P., Campos-Contreras, J. E., Valencia, A. S., Luna-Krauletz, M. D., & Alfonso-Corradó, C. (2018). Reproducción sexual de *Quercus macdougalii* un encino endémico de la Sierra Juárez, Oaxaca. *Madera y Bosques*, 24(2), 1–12. <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2421617>
- De Jesús Albino, F., Ignacio Hernández, R., Rodríguez Trejo, D. A., & Mohedano Caballero, L. (2021). Calidad de planta de *Quercus rugosa* Née en vivero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 12(67), 147–167. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v12i67.967>
- Díaz-Guzmán, H., & Bonfil, C. (2020). Depredación predispersión en tres especies de *Quercus* del pie de monte del Ajusco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 91, e913242. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.3242>
- Díaz-Pontones, D., & Reyes-Jaramillo, I. (2009). Producción y almacenamiento de bellotas de *Quercus hintonii* Warburg (Fagaceae) de la Depresión del Balsas, México. *Polibotánica*, 27, 131–143. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5652535>
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 74–85. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000100011
- García Molina, J. G. (2008). Carbón de encino: Fuente de calor y energía. CONABIO. *Biodiversitas*, 77, 7–9. https://www.ccms.org.mx/wp-content/uploads/Carbon_de_encino_fuente_de_calor_y_energia.pdf
- González-Elizondo, M. S., González-Elizondo, M., Tena-Flores, J. A., Ruacho-González, L., & López-Enríquez, I. L. (2012). Vegetación de la sierra madre occidental, México: Una síntesis. *Acta Botánica Mexicana*, 100(1), 351–404. <https://doi.org/10.21829/abm100.2012.40>
- González-Rodríguez, A., Arias, M., Valencia, S., & Oyama, K. (2004). Morphological and RAPD analysis of hybridization between *Quercus affinis* and *Quercus laurina* (Fagaceae), two Mexican red oaks. *American Journal of Botany*, 91(3), 401409. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.3.401>
- González-Salvatierra, C., Badano, E. I., Flores, J., & Podas, J. P. (2013). Germinación, infestación y viabilidad en bellotas de *Quercus polymorpha* (Schltdl. & Cham.) tras un año de almacenamiento. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 19(3), 351–362. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2012.07.044>
- Hong, T. D., & Ellis, R. H. (2010). Almacenamiento. In J. A. Vozzo (Ed.), *Manual de semillas de árboles tropicales* (pp. 129–142). USDA.

Conflictos de intereses

Los autores declaramos que no tenemos conflictos de intereses económicos ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en la investigación presentada en este artículo.

Fin de la versión en español

- <https://rngr.net/publications/manual-de-semillas-de-arboles-tropicales>
- InfoStat (2020). *InfoStat versión 2020*. Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.
- International Seed Testing Association (ISTA). (2016). *Reglas Internacionales para el análisis de las semillas*. https://vri.umayor.cl/images/ISTA_Rules_2016_Spanish.pdf
- Jaganathan, G. K., Canelo, T., Phartyal, S. S., Li, J., Kang, H., Chmielarz, P., Wawrzyniak, M. K., Tewari, A., Shah, S., Liu, B., Sánchez, J. A., & Berry, K. (2024). The reproductive biology of Fagaceae acorns in the current and future climate. *Flora*, 315, 152504. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2024.152504>
- Kang, H., Jaganathan, G. K., Han, Y., Li, J., & Liu, B. (2023). Revisiting the pericarp as a barrier restricting water entry/loss from cotyledons and embryonic axis of temperate desiccation-sensitive *Quercus* acorns. *Planta*, 257(2), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s00425-022-04061-4>
- Landis, T. D., Jacobs, D. F., Wilkinson, K. M., & Luna, T. (2022). Sustratos. In K. M. Wilkinson, T. D. Landis, D. L. Haase, B. F. Daley, & R. K. Dumroese (Eds.), *Manual de viveros tropicales. Una guía para iniciar y operar un vivero para plantas nativas tradicionales* (pp. 101–121). United States Department of Agriculture. <https://rngr.net/publications/manual-de-viveros-tropicales>
- Liegel, L. H., & Venator, Ch. R. (1987). *A technical guide for forest nursery management in the Caribbean and Latin America*. General Technical Report SO-67. USDA Forest Service. Southern Forest Experiment Station. https://www.srs.fs.usda.gov/pubs/gtr/gtr_so067.pdf
- Luna, T., & Wilkinson, K. M. (2014). Collecting, processing, and storing seeds. In K. M. Wilkinson, T. D. Landis, D. L. Haase, B. F. Daley, & R. K. Dumroese (Eds.), *Tropical nursery manual* (pp. 141–161). United States Department of Agriculture. <https://geographicconsulting.com/wp-content/uploads/2014/05/8.-Collecting-Processing-and-Storing-Seeds.pdf>
- Magnitskiy, S. V., & Plaza, G. A. (2007). Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana*, 25(1), 96–103. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180316240011>
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergences and vigor. *Crop Science*, 2(2), 176–177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>
- Monsalve Camacho, O. I., Henao Toro, M. C., & Gutiérrez Díaz, J. S. (2021). Caracterización de materiales con uso potencial como sustratos en sistemas de cultivo sin suelo. *Ciencia y Tecnología*

- Agropecuaria*, 22(1), e1977. https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num1_art:1977
- Pasquini, S., Braidot, E., Petrusa, E., & Vianello, A. (2011). Effect of different storage conditions in recalcitrant seeds of holm oak (*Quercus ilex* L.) during germination. *Seed Science and Technology*, 39(1), 165–177. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-0996-9>
- Pasquini, S., Mizzau, M., Petrusa, E., Braidot, E., Patui, S., Gorian, F., Lambardi, M., & Vialleno, A. (2012). Seed storage in polyethylene bags of a recalcitrant species (*Quercus ilex*): analysis of some bio-energetic and oxidative parameters. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34, 1963–1974. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-0996-9>
- Pineda-Pineda, J., Sánchez-Del Castillo, F., Ramírez-Arias, A., Castillo-González, A. M., Valdés-Aguilar, L. A., & Moreno-Pérez, E. C. (2012). Aserrín de pino como sustrato hidropónico. I: Variación en características físicas durante cinco ciclos de cultivo. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 18(1), 95–111. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2012000100007
- Ramírez-Roacho, R. F., Guerrero-Cervantes, M., Prieto-Ruiz, J. Á., Bocanegra-Salazar, M., Chávez-Simental, J. A., & Goche-Télles, J. R. (2021). Morphological, physical and chemical analysis of acorns from three oak species from Durango, Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 27(3), 481–495. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2020.10.064>
- Rodríguez-Acosta, M., & Coombes, A. J. (2020). *Manual de propagación de Quercus: Una guía fácil y rápida para cultivar encinos en México y América Central*. Jardín Botánico Universitario, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. <https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2021/01/MANUAL-PARA-LA-PROPAGACION-DE-QUERCUS.pdf>
- Rodríguez-Trejo, D. A., & García-Pascual, E. (2021). *Quercus* L. (Fagaceae). En D. A. Rodríguez-Trejo (Ed.), *Semillas de especies forestales* (pp. 298–328). División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. <https://dicifo.chapingo.mx/pdf/publicaciones/SemillasdeEspeciesForestales.pdf>
- Rosaliano-Evaristo, R., Ávila-Akerberg, V., Gómez-Demetrio, W., & Sotelo-Núñez, E. I. (2024). Research on Mexican oak forests subject to public policy instruments for conservation and use. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 30(2), 1–15. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2023.03.017>
- Szuba, A., Kalemba, E. M., Wawrzyniak, M. K., Suszka, J., & Chmielarz, P. (2022). Deterioration in the quality of recalcitrant *Quercus robur* seeds during six months of storage at subzero temperatures: Ineffective activation of prosurvival mechanisms and evidence of freezing stress from an untargeted metabolomic study. *Metabolites*, 12(8), 756. <https://doi.org/10.3390/metabo12080756>
- Zavala-Chávez, F. (2004). Desecación de bellotas y su relación con la viabilidad y germinación en nueve especies de encinos mexicanos. *Ciencia Ergo Sum*, 11(2), 177–185. <https://www.redalyc.org/pdf/104/10411207.pdf>
- Zavala Chávez, F. (2008). Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y la germinación de bellotas de *Quercus rugosa* y *Quercus glabrescens*. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 33(103), 15–25. <http://cienciasforestales.inifap.gob.mx/index.php/forestales/article/view/738>