



00381
25
Y.
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

División de Estudios de Posgrado

**ESTRUCTURA Y RESPUESTA GERMINATIVA DE SEMILLAS DE
PLANTAS MEDICINALES: *Chiranthodendron pentadactylon*
Y *Talauma mexicana***

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS (BIOLOGIA)**

P R E S E N T A

HELIA REYNA OSUNA FERNANDEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. GUILLERMO LAGUNA HERNANDEZ

MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TITULO DE LA TESIS:

"ESTRUCTURA Y RESPUESTA GERMINATIVA DE SEMILLAS DE PLANTAS MEDICINALES.

Chiranthodendron pentadactylon y Talauma mexicana".

GRADO Y NOMBRE DEL ASESOR O DIRECTOR DE TESIS:

Doctor Guillermo Laguna Hernández.

INSTITUCION DE ADSCRIPCION DEL ASESOR O DIRECTOR DE TESIS:

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

RESUMEN DE LA TESIS: (Favor de escribir el resumen de su tesis a máquina en 25 renglones a un espacio como máximo, sin salir del extensión de este cuadro.

Chiranthodendron pentadactylon y Talauma mexicana son plantas con uso medicinal, reportadas como especies amenazadas en nuestro país, debido a la tala inmoderada y a la apertura de terrenos para la ganadería y agricultura. Debido a la necesidad de realizar estudios que aporten información para conservar estas especies, se realizó el presente trabajo enfocado al estudio fisiológico y morfológico de las semillas de ambas especies. Se evaluó la morfología externa e interna de las semillas; el efecto de la escarificación, temperatura, calidad de luz y tiempo de almacenamiento sobre la germinación; el estudio fitoquímico comparado entre flores y semillas y el análisis edafológico de los sitios de colecta (Guerrero, Oaxaca y Veracruz).

Las semillas de Ch. pentadactylon se clasificaron como ortodoxas; se obtuvo una mayor germinación en las semillas escarificadas respecto a las no escarificadas, lo que indica que son semillas duras o con cubierta impermeable. Esta característica se sustentó además por el estudio estructural que mostró depósito de taninos en epidermis de exotesta y parénquima de endotesta, el engrosamiento y depósito de sustancias impermeables en esclerénquima de endotesta y la presencia de cutícula que separa el embrión de la cubierta seminal. La latencia impuesta por cubiertas impermeables no se alteró por los tratamientos de estratificación y fluctuación de temperatura. Las semillas de Guerrero presentaron un mayor peso, longitud y contenido de humedad respecto a las de Oaxaca. La temperatura fluctuante, favoreció la germinación de las semillas escarificadas de ambos sitios, las cuales respondieron como fotoblásticas indiferentes. No se logró obtener respuesta de germinación de las semillas de T. mexicana, debido posiblemente a inmadurez embrionaria de las semillas. El análisis fitoquímico detectó flavonoides, terpenos y glicósidos en las flores de ambas especies; en las semillas se detectaron glicósidos y alcaloides sólo en semillas de T. mexicana. Del análisis edafológico destaca la deficiencia en fósforo y alto contenido de carbonatos en las muestras de Guerrero y Oaxaca, así como nitratos deficientes en Veracruz.

LOS DATOS ASENTADOS EN ESTE DOCUMENTO CONCUERDAN FIELMENTE CON LOS REALES Y QUEDO ENTERADO QUE EN CASO DE CUALQUIER CAMBIO QUEDARA SUSPENDIDO EL TRAMITE DEL EXAMEN.

FECHA DE SOLICITUD 3- Noviembre-1997

FIRMA DEL ALUMNO

Acompaño los siguientes documentos:

- Nombramiento del jurado del examen de grado
- Aprobación del trabajo escrito por cada miembro del jurado.
- Copia de la última revisión de estudios

Chiranthodendron pentadactylon and Talauma mexicana are medicinal plants that actually are in danger of extinction because the deforestation and agriculture problems. This study is about the morphology and physiology of seeds in both species. The effect of scarification, temperature, light quality and storage time on the germination was evaluated. The compare phytochemistry study between flowers and seeds and soil analysis in the collect site was determined (Guerrero Oaxaca y veracruz).

Ch. pentadactylon seeds showed to be orthodox and dormant due to an impervious seed coat. The seeds from Guerrero had higher weight, length and water content than those from Oaxaca, however the scarified seeds from Oaxaca reached a higher germination percentages. Germination of scarified seeds of the two populations was enhanced by alternated temperatures and inhibited by far red light. Germination under darkness, red light and white light did not differ significantly. In soil some seeds could be dormant under a low ratio red:far red light transmitted by litter. The differences between the two populations might be due to a maternal effect induced by weather conditions in their geographic localities.

T. mexicana seeds didn't germinated probably because immature embryo. The phytochemistry analysis detected flavonoids and glicosides in the flowers of both species; glicosides in seeds and alkaloids in seeds of T. mexicana only. The soil analysis remark o phosphorus deficient and high levels of carbonates in Guerrero and Oaxaca. In Veracruz, the soil analysis registered a deficient in nitratous content.

"Nuestro Señor hizo el Cielo y la Tierra;
en el cielo sembró estrellas y en la tierra árboles,
las raíces de los árboles y las estrellas son una sola,
cuando cae un árbol, cae una estrella"

Poesia Maya.

La presente tesis se realizó en el laboratorio de Citología de la Facultad de Ciencias, U.N.A.M., bajo la Dirección del Dr. Guillermo Laguna Hernández. Fué apoyada por la Beca para estudios de Doctorado de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), UNAM, así como por el Proyecto PAPIIT-DGAPA-IN207597. Fué sustentada ante el siguiente jurado:

Dra. Ma. Cristina Pérez Amador y Barrón

Dr. Guillermo Laguna Hernández

Dra. Alma Delfina Lucia Orozco Segovia

Dra. Alicia Enriqueta Brachú Franco

Dra. Patricia Guevara Fefer

Dra. Clara Esquivel Huesca

Dr. Francisco Alfonso Larqué Saavedra

DEDICATORIA

*A la memoria de mis Abuelos, Mamá Sarita y Papá Cuquito,
por todo su amor y ternura.*

*A la memoria de mi Tía Popo, por darme ánimo para seguir
adelante con su amor y ejemplo, al haber sido Doctora en
Historia del Arte.*

*A mi Mamá, por su amor, comprensión y apoyo
incondicionales.*

A mi Tío, por su cariño y apoyo en todo momento.

*A mi Hermana Marisa, por su cariño, ayuda, y ánimo cuando
yo lo perdía.*

A mi Hermana Sara, por su cariño.

*A mi sobrino Jafet, por su amor y ánimo que me da con su
sonrisa.*

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Guillermo Laguna Hernández, por su dirección y apoyo constantes en la realización de este trabajo.

A los integrantes del jurado, por la revisión y sugerencias que enriquecieron este trabajo.

A la Dra. Alicia Brechú Franco, por su amistad, cariño y ayuda en todo momento.

A la Dra. Alma Orozco Segovia, por su asesoría y ayuda durante el desarrollo del trabajo.

A la Dra. Ma. Cristina Pérez Amador por su asesoría y apoyo brindado a través del laboratorio de Química, Fac. de Ciencias, UNAM.

A la Dra. Patricia Guevara Fefer, por su ayuda y asesoría en la realización del análisis fitoquímico, a través del laboratorio de Química, Fac. de Ciencias, UNAM.

Al M. en C. Benjamín Miramontes Flores, por su asesoría en la realización del análisis edafológico y apoyo brindado a través del laboratorio de Aguas y Suelos, UAM-Xochimilco.

A la Dra. Judith Márquez Guzmán, que por su dirección hace grato el trabajo en el laboratorio.

Al Biol. Alfredo Gamboa del laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias, por su apoyo en el procesamiento del material fotográfico.

A mis compañeros del laboratorio de Citología, por su apoyo al tener siempre la disposición de brindar ayuda.

A mi amiga Rosa María, por su cariño y apoyo incondicionales.

A mi amiga Alejandra, por todo lo compartido y el cariño que nos une desde hace tiempo.

ÍNDICE

Páginas

1.0. RESUMEN.	
2.0. INTRODUCCION.....	1
2.1. OBJETIVOS.....	3
3.0. ANTECEDENTES.....	4
3.1. Plantas medicinales.....	4
3.2. Germinación y latencia.....	8
3.3. Efecto de la luz (Fitocromo).....	15
3.4. Efecto de la temperatura.....	20
3.5. Investigaciones realizadas.....	22
4.0. CARACTERISTICAS GENERALES DE <i>Chiranthodendron</i> <i>pentadactylon</i> y <i>Talauma mexicana</i> .	
4.1. Descripción específica.....	25
4.2. Distribución.....	26
4.3. Nombres comunes.....	26
5.0. MATERIALES Y METODOS.	
5.1. Materiales y procedimientos generales.....	27
5.1.1. Características de las semillas colectadas.....	27
5.1.1.1. Peso.....	27
5.1.1.2. Longitud.....	27
5.1.1.3. Color.....	27
5.1.1.4. Contenido de humedad.....	27
5.1.1.5. Pruebas de germinación.....	28
5.1.1.6. Prueba de viabilidad.....	28
5.1.2. Población objetivo.....	29
a) Definición.....	29
b) Características generales.....	29
5.1.3. Diseño estadístico.....	29
a) Marco de muestreo.....	29
b) Unidad última de muestreo.....	30
c) Método de muestreo.....	30
d) Comparabilidad de las muestras.....	30
e) Especificación de variables y escalas de medición.....	30
f) Captación de la información.....	30
g) Modelo estadístico.....	31
h) Análisis e interpretación de la información.....	32

5.2. Materiales y procedimientos particulares de cada experimento.....	33
5.2.1. Respuesta germinativa bajo los tratamientos de escarificación, temperatura, calidad de luz, tiempo de almacenamiento y estructura de semillas de <i>Ch. pentadactylon</i>	33
5.2.1.1. Trabajo de campo.....	33
5.2.1.2. Trabajo de laboratorio.....	33
a) Almacenamiento durante 6 meses a 5°C.....	33
b) Germinación de semillas bajo los factores de temperatura y escarificación.....	37
c) Germinación de semillas bajo el factor calidad de luz.....	39
d) Estudio estructural.....	40
5.2.2. Pruebas de imbibición y germinación de semillas de <i>T. mexicana</i>	41
5.2.2.1. Trabajo de campo.....	41
5.2.2.2. Trabajo de laboratorio.....	43
a) Prueba de imbibición.....	43
b) Pruebas de germinación.....	43
c) Estudio estructural.....	43
5.2.3. Análisis fitoquímico.....	43
5.2.4. Análisis edafológico.....	46
6.0. RESULTADOS Y DISCUSION.	
A) Respuesta germinativa y morfología de semillas de <i>Ch. pentadactylon</i>	48
6.1. Características de las semillas.....	48
6.1.2. Respuesta germinativa.....	48
a) Almacenamiento durante 6 meses a 5°C.....	48
b) Respuesta germinativa de semillas bajo los factores de escarificación, temperatura y calidad de luz.....	49
6.1.3. Estudio estructural.....	59
B) Pruebas preliminares de germinación y morfología de semillas de <i>T. mexicana</i>	60
6.2. Características de los frutos y semillas.....	67

6.2.1. Pruebas de imbibición y germinación.....	68
C) Análisis fitoquímico.....	70
6.3. Metabolitos secundarios.....	70
6.3.1. Perfiles cromatográficos.....	74
D) Análisis edafológico.....	75
6.4. Muestras colectadas en Carrizal de Bravos, Guerrero....	79
6.4.1. Muestras colectadas en Miahuatlán, Oaxaca.....	79
6.4.2. Muestras colectadas en Zongolica, Veracruz.....	80
7.0. CONCLUSIONES.....	85
8.0. BIBLIOGRAFIA.....	86
9.0. APENDICE.....	94
9.1. Cuadros de análisis de varianza (ANOVA) y Pruebas de rango múltiple.....	94
9.2. Registros meteorológicos de Guerrero y Oaxaca.....	106
9.3. Método seguido en las distintas pruebas para el análisis edafológico.....	111

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PAGINA
1. Características de las semillas de <i>Ch. pentadactylon</i> recolectadas en Carrizal de Bravos, Guerrero y San José del Pacífico, Oaxaca.....	48
2. Germinación y contenido de humedad de semillas de <i>Ch. pentadactylon</i> almacenadas a 5°C durante 6 meses.....	49
3. Germinación de semillas escarificadas y no escarificadas de <i>Ch. pentadactylon</i> , bajo temperatura constante (25°C) y fluctuante (8-26°C).....	50
4. Germinación de semillas estratificadas-escarificadas de <i>Ch. pentadactylon</i> , expuestas a temperatura constante (25°C) y fluctuante (15-30°C).....	52
5. Germinación de semillas escarificadas de <i>Ch. pentadactylon</i> , recolectadas en Guerrero y Oaxaca, expuestas a temperatura constante (25°C) y fluctuante (15-30°C).....	52
6. Germinación de semillas escarificadas de <i>Ch. pentadactylon</i> , recolectadas en Guerrero y Oaxaca, expuestas a diferente cantidad de luz.....	54
7. Características morfológicas de los frutos de <i>T. mexicana</i>	67
8. Características morfológicas de las semillas de <i>T. mexicana</i> ..	67
9. Resultados de la prueba de imbibición de semillas de <i>T. mexicana</i>	68
10. Rendimiento (%), de los extractos hexánicos, de AcOEt y metanólicos de flores y semillas de ambas especies.....	70
11. Resultados de la prueba de metabolitos secundarios para detectar terpenos y esteroides en los extractos hexánicos de las flores de ambas especies.....	73
12. Resultados de las pruebas de metabolitos secundarios, en los extractos de AcOEt de flores y semillas de ambas especies.....	73
13. Resultados de las pruebas de metabolitos secundarios, en los extractos metanólicos de flores y semillas de ambas especies.....	74
14. Resultados del análisis edafológico de las muestras recolectadas en Carrizal de Bravos, Guerrero.....	79

15. Resultados del análisis edafológico de las muestras recolectadas en San José del Pacífico, Oaxaca.....	80
16. Resultados del análisis edafológico de las muestras recolectadas en Zongolica, Veracruz.....	81

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PAGINA
1. Ubicación de la zona de recolecta de semillas de <i>Ch. pentadactylon</i> en el estado de Guerrero.....	34
2. Ubicación de la zona de recolecta de semillas de <i>Ch. pentadactylon</i> en el estado de Oaxaca.....	35
3. Método seguido para evaluar la viabilidad de semillas de <i>Ch. pentadactylon</i> recolectadas en Guerrero, después de almacenarlas durante 6 meses a 5°C.....	36
4. Método seguido para determinar la germinación de semillas de <i>Ch. pentadactylon</i> recolectadas en Guerrero, bajo los factores de escarificación y temperatura.....	38
5. Método seguido para determinar la germinación de semillas de <i>Ch. pentadactylon</i> recolectadas en Oaxaca, bajo diferentes condiciones de temperatura.....	39
6. Método seguido para determinar la germinación de semillas de <i>Ch. pentadactylon</i> , bajo cuatro calidades de luz.....	40
7. Ubicación de la zona de recolecta de semillas de <i>T. mexicana</i> en el estado de Veracruz.....	42
8. Método seguido para el análisis fitoquímico de flores y semillas de <i>Ch. pentadactylon</i>	45
9. Método seguido para el análisis fitoquímico de flores y semillas de <i>T. mexicana</i>	46
10. Germinación de semillas recolectadas en Guerrero, bajo los factores: almacenamiento, escarificación y temperatura.....	51
11. Germinación de semillas escarificadas de Oaxaca y Guerrero, bajo los factores: temperatura y calidad de luz.....	53
12. Corte longitudinal de semilla inmadura de <i>Ch. pentadactylon</i> (exotesta y endotesta).....	62
13. Esclerenquima de endotesta, semilla inmadura de <i>Ch. pentadactylon</i>	62
14. Corte longitudinal de semilla inmadura de <i>Ch. pentadactylon</i> (endotesta).....	62
15. Embrión globular, semilla inmadura de <i>Ch. pentadactylon</i>	64
16. Esclerenquima zona calazal, semilla inmadura de <i>Ch. pentadactylon</i>	64
17. Arilo de semilla madura de <i>Ch. pentadactylon</i>	64

18. Esclerénquima de semilla madura de <i>Ch. pentadactylon</i>	66
19. Corte longitudinal de semilla madura de <i>Ch. pentadactylon</i>	66
20. Imbibición de semillas no escarificadas de <i>T. mexicana</i>	69
21. Corte longitudinal de sarcotesta de semilla de <i>T. mexicana</i> ...66	
22. Cromatograma de las muestras de los extractos hexánicos de las flores de ambas especies.....	76
23. Cromatogramas de las muestras de los extractos metanólicos de flores y semillas de ambas especies.....	76
24. Cromatograma de las muestras de los extractos de AcOEt de flor y semilla de <i>T. mexicana</i>	77
25. Cromatograma de las muestras de los extractos metanólicos de flor y arilo de <i>Ch. pentadactylon</i>	77
26. Cromatograma de las muestras del extracto de CH ₂ Cl ₂ de la sarcotesta de <i>T. mexicana</i>	78
27. Placa cromatográfica del extracto de CH ₂ Cl ₂ de la sarcotes- ta de semilla de <i>T. mexicana</i>	78

1.0. RESUMEN

Chiranthodendron pentadactylon y *Talauma mexicana* son plantas con uso medicinal desde la época prehispánica hasta la actualidad. Sin embargo, la disminución en sus zonas de distribución debido a la tala inmoderada y a la apertura de terrenos para la ganadería y agricultura, han provocado que actualmente se consideren en nuestro país como especies amenazadas.

Debido a la necesidad de realizar estudios que aporten información útil para conservar estas especies, se realizó el presente trabajo enfocado al estudio fisiológico y morfológico de las semillas de ambas especies. Se evaluó la morfología externa e interna de las semillas; el efecto de la escarificación, temperatura, calidad de luz y tiempo de almacenamiento sobre la germinación; el estudio fitoquímico comparado entre flores y semillas y el análisis edafológico de los sitios de colecta.

Considerando el contenido de humedad y la respuesta a las condiciones de almacenamiento, las semillas de *Ch. pentadactylon* se clasificaron como ortodoxas. Se obtuvo una mayor germinación en las semillas escarificadas respecto a las no escarificadas, lo que indica que son semillas duras o con cubierta impermeable. Esta característica se sustenta además por el estudio estructural que mostró depósito de taninos en epidermis de exotesta y parénquima de endotesta, el engrosamiento y depósito de sustancias impermeables en esclerénquima de endotesta (polisacáridos insolubles), y la presencia de cutícula que separa el embrión de la cubierta seminal. La latencia impuesta por cubiertas impermeables no se alteró por los tratamientos de estratificación y fluctuación de temperatura.

Las semillas de Guerrero presentaron un mayor peso, longitud y contenido de humedad respecto a las semillas de Oaxaca, sin embargo las semillas escarificadas alcanzaron mayores porcentajes de germinación. La temperatura fluctuante (15-30°C), favoreció la germinación de las semillas escarificadas de ambos sitios. Se encontró un efecto inhibitorio significativo del rojo lejano sobre la germinación. Sin embargo, la capacidad germinativa en oscuridad, luz roja y blanca, no fue significativamente diferente. La respuesta a la luz podría

significar una adaptación de una fracción de la población de semillas, para permanecer latentes, expuestas a las bajas relaciones rojo:rojo lejano transmitida por la hojarasca. Las diferencias entre poblaciones probablemente se deban a un efecto materno inducido por las diferentes condiciones de temperatura y humedad de las localidades en las que se desarrollaron. Estas diferencias deben considerarse para el almacenamiento y manejo de las distintas poblaciones para su propagación.

Respecto a las semillas de *T. mexicana* no se logró obtener respuesta de germinación, con los diferentes tratamientos probados, debido posiblemente a inmadurez embrionaria de las semillas. Del estudio estructural, el arilo de las semillas presenta células glandulares y abundante depósito de almidón.

El análisis fitoquímico mostró la presencia de flavonoides, terpenos y glicósidos en las flores de ambas especies; en semillas, se detectaron glicósidos y alcaloides sólo en *T. mexicana*, no así en *Ch. pentadactylon*, con las concentraciones utilizadas. En los extractos analizados por cromatografía en placa delgada, destaca una mayor complejidad en las muestras de los extractos metanólico y de AcOEt de flores de *Ch. pentadactylon* respecto a *T. mexicana* a diferencia de la semilla, donde el extracto de AcOEt de *Talauma* presentó una mayor complejidad.

Del análisis edafológico destaca la deficiencia en fósforo y alto contenido de carbonatos en las muestras de Guerrero y Oaxaca, así como la deficiencia en nitratos en las muestras de Veracruz.

2.0. INTRODUCCION

El presente trabajo de investigación forma parte del proyecto "Morfofisiología de semillas y plántulas de plantas medicinales" del Laboratorio de Citología Vegetal de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Este proyecto comprende investigaciones que se enfocan hacia el estudio estructural y la respuesta de las semillas de plantas medicinales a factores ambientales para aportar información que pueda ser útil para desarrollar programas de propagación y/o conservación de las especies, así como información respecto a la morfología externa e interna que sustenta la respuesta fisiológica y permite ubicar taxonómicamente a las especies.

México es uno de los países con mayor diversidad florística en el mundo, con más de 30,000 especies de plantas vasculares. Se calcula que al menos el 50% se utiliza para satisfacer alguna necesidad humana, entre las cuales las plantas medicinales ocupan el principal porcentaje (Estrada, 1992). El número de especies medicinales registradas en el país es de 3,352 de las cuales no se ha estudiado ni siquiera el 10% en el laboratorio (Bye et al, 1992). Hasta ahora, los sistemas de medicina tradicional siguen siendo la principal fuente de asistencia sanitaria para más de dos tercios de la población mundial (Estrada, 1994.d.). Se requiere de estudios interdisciplinarios etnobotánicos, antropológicos, agronómicos, morfofisiológicos, farmacológicos, taxonómicos y fitoquímicos que aporten información útil para preservar y aprovechar el recurso de plantas medicinales.

En México, gran parte de los sistemas terapéuticos utilizados y las plantas medicinales en las cuales se basan, se remontan a la época prehispánica, como lo representa el uso medicinal de *Ch. pentadactylon* y *Talauma mexicana*, cuya referencia en las fuentes históricas data desde 1552 en el Códice de la Cruz-Badiano, hasta la actualidad (Bye y Linares, 1987). La infusión con las flores y semillas por vía oral, se han utilizado como remedio para afecciones del corazón, presión alta y sedante para los nervios. Sin embargo, la tala de los bosques y selvas donde se desarrollan las especies, han disminuido sus zonas de distribución, lo que pone en riesgo su comercialización y más aún, la pérdida de diversidad que esto representa.

En México, el manejo de más de 200 especies curativas en los

principales mercados del país, que en más del 95% son de recolección silvestre, ha ocasionado la disminución o extinción de algunas de ellas en su área de distribución natural (Estrada, 1994a.). Por ello se hace necesario tomar medidas para evitar estas pérdidas, siendo una alternativa, la formación de bancos de semillas para conservar las especies en condiciones controladas como fuente de aprovisionamiento de germoplasma para poblaciones que crecen en áreas naturales y ambientes controlados (Vázquez, 1987). Por otro lado, debido a la comercialización en respuesta de un mayor consumo de plantas medicinales a nivel mundial, se vuelve urgente desarrollar métodos para la introducción al cultivo de las plantas medicinales; prácticamente las únicas plantas medicinales cultivadas en México, son aquellas introducidas por los españoles desde el siglo XVI (Estrada, 1994d.).

El estudio de la germinación de semillas de plantas medicinales, constituye uno de los aspectos trascendentales para integrar la información necesaria que permita someter a las plantas a un sistema de cultivo; con ello se mantiene el potencial de variabilidad genética que representan las semillas como producto de la reproducción sexual, a diferencia de las técnicas vegetativas de propagación. Con base en lo anterior se realizó el presente estudio con el objetivo de determinar las características estructurales de las semillas y frutos de ambas especies, las condiciones propicias de germinación bajo diferentes factores, así como aportar conocimientos útiles de tipo fitoquímico y edafológico, para la introducción al cultivo de ambas especies.

Para cumplir con este objetivo, se plantearon los siguientes objetivos particulares:

2.1. OBJETIVOS

- a) Determinar la morfología de las semillas de *Chiranthodendron pentadactylon* y *Talauma mexicana*: color, peso, tamaño y contenido de humedad.
- b) Describir la estructura interna de las semillas maduras, mediante microscopía fotónica.
- c) Realizar pruebas histoquímicas para la identificación de compuestos depositados en los tejidos de las semillas.
- d) Determinar la respuesta germinativa bajo diferentes factores: escarificación, temperatura, calidad de luz y tiempo de almacenamiento.
- e) Realizar el análisis químico comparado entre flores y semillas para detectar los grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos.
- f) Determinar el número aproximado de componentes de los extractos de flores y semillas, mediante cromatografía en placa delgada.
- g) Realizar un estudio preliminar edafológico de las muestras de los sitios de colecta.

3.0. ANTECEDENTES

3.1. Plantas Medicinales.

Según la Organización Mundial de la Salud de las Naciones Unidas (OMS), plantas medicinales son aquellas que al introducirse o ponerse en contacto con un organismo, desarrollan en éste una terapia "suave", es decir, que dé un beneficio terapéutico con el menor número de inconvenientes (Capasso, 1980).

México es conocido como uno de los países con mayor diversidad florística en el mundo, con una estimación de más de 30,000 especies de plantas vasculares. Se calcula que al menos el 50% es utilizado para satisfacer alguna necesidad humana, entre las cuales las plantas medicinales ocupan el principal porcentaje (Estrada, 1992). El número total de plantas medicinales en México es de 3,352 especies distribuidas en 1,214 géneros y 166 familias de plantas vasculares (Bye et al., 1992), de las cuales no se ha estudiado ni siquiera el 10% en el laboratorio (Estrada, 1985). Se calcula que por lo menos México puede tener 15,000 plantas medicinales, aunque sólo se tengan registradas taxonómicamente un poco más de la quinta parte (Estrada, 1994.a.). De las plantas medicinales registradas en México, las estudiadas desde el punto de vista químico no rebasan el 10%, farmacológicamente son menos del 5% y agronómicamente ni siquiera el 1% (Estrada, 1994.b.).

El tratamiento de enfermedades mediante el uso de plantas, tiene orígenes que se remontan a 8000 años A.C. entre los pueblos asiáticos; más tarde se tienen registros entre los egipcios, hebreos y fenicios para posteriormente difundirse hacia Grecia y al mundo occidental antiguo. Ya en la Edad Media se comienzan a catalogar las plantas de acuerdo a su valor terapéutico y la herbolaria alcanza su máximo esplendor en los pueblos occidentales durante el siglo XVIII. Con el descubrimiento de América, se incorporan nuevas plantas a la farmacopea antigua. En América, los pueblos prehispánicos en general, tenían amplios conocimientos de las plantas medicinales y su entorno, los cuales relacionaban con aspectos míticos rituales (Capasso, 1980). El registro más amplio sobre estos conocimientos de los pueblos mesoamericanos, se realizó durante la conquista. La medicina náhuatl en particular se basaba en medios religiosos, medios mágicos y medios basados en el conocimiento empírico del efecto de minerales, animales y

plantas medicinales (Estrada, 1994.c.). A partir del siglo XIX se presenta un cambio del uso terapéutico de la planta y sus derivados, al de las moléculas activas que contienen; entonces se considera a las plantas como un depósito de materias primas explotables por el hombre, a través de la industria farmacéutica. A partir de 1970, las sociedades industrializadas retornan a los remedios naturales, debido a la necesidad de substituir la desmedida contaminación por medicamentos sintéticos, en muchos casos nocivos y costosos, por formas terapéuticas menos agresivas para el organismo (Capasso, 1980).

Actualmente los sistemas de medicina tradicional siguen siendo la principal fuente de asistencia sanitaria para más de dos tercios de la población mundial. El 66% de la población de los países subdesarrollados, recurre solamente a la medicina tradicional para resolver sus problemas de salud, cifras que no han cambiado en los últimos años (Estrada, 1992).

La medicina tradicional es una institución dinámica que prácticamente todos los días incorpora nuevos ingredientes a sus tratamientos terapéuticos y deshecha otros (Estrada, 1994.a.).

En México, aproximadamente la mitad de la población nacional resuelve sus problemas de salud con una medicina tradicional basada en el uso de las plantas medicinales. Las plantas medicinales constituyen una alternativa para resolver los problemas de salud en México de manera complementaria con la "medicina moderna" (Estrada, 1985). Así, la tendencia actual no es la elección entre las plantas medicinales o las sustancias químicas (sintéticas o naturales), sino complementar ambos grupos. Todo esto requiere de amplios estudios interdisciplinarios etnobotánicos, antropológicos, agronómicos, farmacológicos, fitoquímicos, taxonómicos y, la línea de investigación de la cual forma parte el presente proyecto (Morfofisiología de las semillas de plantas medicinales), representa un nuevo enfoque del estudio de las plantas medicinales en México, que aportará información de suma importancia, quedando inscrita en estas áreas interdisciplinarias.

A pesar de que en México se tiene una gran diversidad de plantas medicinales, éstas no se pueden encontrar en todas las estaciones del año. Es frecuente la situación de escasez o no existencia de las plantas en su área de distribución natural o en sus lugares de venta;

de aquí la conveniencia de tener disponible cualquier planta medicinal sin importar la época del año, en cada lugar y al alcance de todas las personas, sobre todo para las de bajos recursos económicos, por lo que es importante introducir el cultivo de las plantas medicinales (Zárate et al, 1987). Prácticamente las únicas plantas medicinales cultivadas, son aquellas introducidas por los españoles desde el siglo XVI.

En México, la propagación de plantas medicinales a través del cultivo comenzó varios siglos antes de la conquista por los europeos, como lo demuestran los reportes del primer jardín botánico del Anáhuac fundado por Netzahualcóyotl (1402-1470), especializado en el cultivo y conocimiento de las plantas medicinales, ubicado en Tetzcotzingo; así como el jardín fundado por Moctezuma Ilhuicamina (1408-1468) en Huaxtépétl. Lamentablemente esta tradición no ha sido recuperada, y en la actualidad los lugares donde se mantienen colecciones de plantas medicinales son los jardines botánicos de Acapatzingo, Morelos y el fundado en la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) (Estrada, 1992). En México, la propagación de plantas medicinales se hace principalmente a través del cultivo en suelo ya sea con fines comerciales o de conservación (como los jardines botánicos), o proyectos de cultivo de tejidos (como el de Xochitepec, Morelos).

Las tendencias actuales indican un mayor consumo de plantas medicinales a nivel mundial, por lo que las plantas silvestres tienen cada vez mayor demanda (Bonati, 1991). Del total de especies medicinales que en la actualidad se comercializan en todo el mundo, al menos el 90% son de explotación silvestre en los países subdesarrollados, a pesar de que el recolector percibe una ganancia sumamente baja (7.4% del precio final por la operación de intermediarios), lo cual está propiciando la extinción regional o total de las principales plantas que demandan los mercados tanto a nivel nacional como internacional (Hersch, 1992). Debido a esto se vuelve urgente desarrollar métodos para su propagación, donde lo que importa es la concentración de principios activos y no la biomasa, como ocurre con las plantas alimenticias (Palevitch, 1991; Estrada, 1994.a).

A pesar del problema, no se ha realizado ningún esfuerzo concertado para garantizar el abastecimiento de las plantas medicinales, pese a las amenazas que suponen la demanda creciente, la explosión demográfica y la destrucción masiva de gran riqueza vegetal.

En la mayor parte de los países ni siquiera se ha hecho un inventario completo de plantas medicinales (Hamann, 1991). En México, un gran apoyo de información etnobotánica referente a las plantas medicinales, son el inventario de 5,000 plantas medicinales del Herbario Medicinal del Intituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) y las publicaciones del Instituto Nacional Indigenista (INI): "Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana" y "Flora medicinal indigena de México" (publicaciones de 1994).

Existen básicamente dos alternativas de propagación de plantas: a través de propágulos de origen sexual (semillas) o asexualmente a través de tejidos vegetales que conserven la potencialidad de multiplicación y diferenciación celular para generar nuevos individuos con partes vegetativas de la planta (Grime, 1982). Para su trasplante se puede sembrar directamente en la parcela o en viveros. Dentro de las labores de terreno debe evitarse al máximo el uso de fertilizantes químicos y la aplicación de plaguicidas químicos para el control de plagas y enfermedades, así como herbicidas (Estrada, 1992). Con cualquier método de propagación, hay que verificar la persistencia de los principios activos, variaciones en su concentración bajo el manejo aplicado, pasando primero por pruebas farmacológicas y fitoquímicas (Estrada, 1994.c.). Hay que considerar los principales factores climáticos que afectan la producción de metabolitos secundarios como son la temperatura, luz, precipitación y disponibilidad de agua, altitud, viento, suelo y las condiciones nutricionales; y factores bióticos como infecciones, depredación, densidad de población y competencia (Madueño, 1973; Villalobos, 1995).

La introducción al cultivo de las plantas medicinales, debe hacerse regionalmente en las áreas geográficas en donde crecían o crecen de manera silvestre, lo cual reduce los costos de producción (Estrada, 1994.b.), así como también se deben considerar los siguientes aspectos: determinar su distribución geográfica, describir las características de sus zonas de distribución (topografía, rocas, clima, suelo, vegetación y grupos culturales), colecta de propágulos (si son semillas, determinar su viabilidad, factores que estimulan o inhiben su germinación, factores que afectan su desarrollo en condiciones de vivero y prácticas agrícolas), encontrar la mejor forma de propagación, las condiciones óptimas de cultivo, los medios para proteger las plantas

contra plagas y enfermedades, medios para eliminar las malas hierbas, época de recolección más apropiada la cual debe efectuarse cuando la planta posea su mayor riqueza en principios activos y examinar las posibilidades de mecanización (Madueño, 1973; Estrada, 1994.c.;OMS, 1995).

La superficie más importante destinada a la propagación de plantas medicinales son los huertos familiares; la mayoría de las especies son destinadas al consumo familiar o al mercado local pero no se cuenta con un registro completo sobre el número de especies, superficie destinada al cultivo, distribución en el país y mucho menos se sabe sobre su producción, rendimientos y volúmenes de comercialización, tanto al interior del país como aquellas destinadas a la exportación (Estrada, 1994.b.). Lo ideal es que se exija un permiso para realizar cualquier actividad comercial de recolección de plantas. En la reglamentación hay que tener en cuenta, qué parte de la planta se utiliza y qué capacidad tienen ésta para regenerarse (OMS, 1995). Sin embargo, la comercialización de medicamentos naturistas en México, está fuera de todo control legal y pueden poner en riesgo la salud de la población; estos medicamentos no están reconocidos por la Secretaria de Salud (Alvarez *et al.*, 1991).

Una de las formas de propagación de las especies vegetales, es a través de sus semillas que derivan de un proceso de reproducción sexual. La semilla es una estructura de resistencia, que permite la dispersión de la especie y a partir de la cual resurge la información del material genético (Bradbeer, 1988). De esta forma, la germinación de las semillas es un proceso crítico en el ciclo de vida de las plantas, a partir de la cual se logran regenerar y mantener la variabilidad biológica de las poblaciones vegetales. Por esto, resulta de gran relevancia conocer los mecanismos endógenos y ambientales involucrados en la germinación de las semillas (Khan, 1982; Bewley y Black, 1985).

3.2. Germinación y latencia

La germinación puede llevarse a cabo cuando se presentan las condiciones ambientales propicias (luz, temperatura y humedad), así como los requerimientos internos de la semilla. Este proceso está sujeto a una regulación muy precisa donde varios factores del medio

Juegan un papel importante (Karszen, 1982).

La germinación inicia con la imbibición y termina con el alargamiento de la radícula. Incluye numerosos eventos como son la hidratación de proteínas y otras moléculas, cambios estructurales, respiración, síntesis de macromoléculas y crecimiento celular (Bewley y Black, 1985).

Se considera que los principales eventos que conducen a la germinación se llevan a cabo en tres fases: a) Imbibición (absorción de agua por las semillas secas), b) Fase de activación (metabolismo activo) y c) Germinación (protrusión de la raíz a través de la testa) (Simon, 1984).

Los principales factores requeridos para la germinación son: agua, temperatura y oxígeno. Todas las semillas requieren suficiente humedad para la imbibición y posterior germinación, sin embargo, excesivas cantidades de agua pueden reducir la permeabilidad de las cubiertas al oxígeno e inhibir la germinación. Respecto a la temperatura, cada especie tiene un intervalo de temperatura donde puede ocurrir la germinación; el oxígeno es el aceptor terminal de electrones en la respiración y la ausencia o insuficiencia de oxígeno inhibe la respiración necesaria para la germinación de las semillas y puede resultar una acumulación de productos potencialmente tóxicos como resultado de la respiración anaerobia, tales como acetaldehído, etanol y lactato (Bewley y Black, 1985).

La imbibición es un proceso físico que no es influido por la temperatura (de 0 a 40°C). Durante la imbibición se recupera la integridad de las membranas que se había modificado con la deshidratación de la semilla, aunque la salida de solutos ocurre antes de que la integridad de las membranas sea completamente reestablecida. El proceso de imbibición es reversible durante la primera fase, caracterizada por un incremento en la toma de agua y oxígeno. En esta fase, la semilla embebida puede ser deshidratada y rehidratada sin perder su viabilidad. Una vez que el crecimiento de la radícula y desarrollo de la plántula han comenzado, el proceso de germinación no puede revertirse por deshidratación sin provocar la muerte de la plántula. La síntesis de proteínas juega un papel importante en la germinación, en el crecimiento del eje embrionario y en la síntesis de enzimas hidrolíticas y de la maquinaria celular utilizada para la

movilización de reservas. La síntesis de proteínas ocurre dentro de pocas horas una vez iniciada la imbibición antes de que recomience la síntesis de ARNm. Las semillas secas contienen dos clases de ARNm: ARNm residual que codifica para proteínas sintetizadas durante la embriogénesis y, ARNm almacenado que fue sintetizado durante la embriogénesis pero es traducido durante la germinación para producir proteínas requeridas en el proceso de germinación (Bradbeer, 1988).

Además de los principales factores requeridos para la germinación: temperatura, humedad y oxígeno, la luz es también un factor que puede intervenir en el proceso. El efecto de la luz en la germinación depende de la intensidad y duración de la radiación, calidad de la radiación, contenido de humedad de la semilla y el tiempo de exposición a la radiación, incluyendo el desarrollo de la semilla en la planta madre (Bradbeer, 1988).

Las plantas son influidas por diversas características de la luz como su intensidad y composición espectral, no sólo en el proceso básico de la fotosíntesis sino también en otras respuestas, como la germinación y durante todas las etapas del crecimiento aéreo de la planta. Uno de estos procesos es la germinación fotorregulada o fotoblastismo cuyo pigmento receptor es el fitocromo (Orozco y Vázquez, 1992).

Una semilla que aún en condiciones favorables para la germinación no germina, se considera latente. La suspensión del crecimiento del embrión impuesto por condiciones no favorables del medio, se denomina quiescencia, y la suspensión del crecimiento por inhibición endógena, se denomina latencia (Jann y Amen, 1977). Si las semillas permanecen en el suelo, la viabilidad se mantiene hasta que se pierde la quiescencia o latencia; ésta a diferencia de la quiescencia, es causada por algún bloqueo de la germinación en la semilla embebida.

La latencia es una adaptación a condiciones estacionales no favorables. La latencia exhibida por las semillas durante su maduración en la planta madre se conoce como latencia primaria; ésta puede ser latencia innata o latencia condicional primaria (latencia forzada). La latencia condicional es una condición dinámica que regula la germinación de acuerdo a los requerimientos fisiológicos de las semillas en relación con los cambios del medio. Ocurren cambios bioquímicos que provocan que las semillas pasen de un estado de

latencia innata a no latencia, estos cambios se conocen en conjunto como postmaduración. Sin embargo, las semillas no pasan abruptamente de la latencia a la no latencia, lo hacen teniendo un estado intermedio conocido como latencia condicional durante el cual las semillas germinan sólo bajo un intervalo limitado de condiciones ambientales. Conforme transcurre la postmaduración, semillas con latencia condicional se vuelven no latentes. Así, hay un gradiente o continuo de cambios en la respuesta de germinación de las semillas conforme pasan de la latencia a la latencia condicional y a la pérdida de latencia (Baskin y Baskin, 1989). Las semillas se desprenden de la planta madre con diferentes grados de latencia (polimorfismo, heteroblasticidad). Frecuentemente la variación se refleja en el color, tamaño o grosor de las cubiertas de las semillas. La latencia permite distribuir la germinación en el tiempo a través de su rompimiento bajo ciertas condiciones ambientales; puede llevar también a una distribución de la germinación en el espacio. En semillas que requieren de luz para germinar, la germinación no ocurre en el suelo a profundidades donde no penetra la luz adecuada. Esto es importante en semillas pequeñas donde sus reservas pueden permitir un limitado desarrollo de las plántulas en el suelo.

Semillas de muchas especies pueden entrar en un estado de latencia secundaria cuando las condiciones no son favorables para la germinación. Aunque la latencia tiene una base genética, hay una gran plasticidad en la expresión genética determinada por efectos correlativos entre la planta y el medio. Las semillas pueden diferir en sus características de latencia dependiendo de su posición en la planta madre; también el estado hormonal que se establece durante su desarrollo y maduración puede influenciar el grado de latencia (Bewley y Black, 1985; Murdoch y Ellis, 1992).

Los mecanismos de latencia residen principalmente en dos sitios: las cubiertas embrionarias (pericarpio, testa, perispermo y endospermo), y el embrión en sí mismo (Bradbeer, 1988).

El mecanismo de latencia que evita el movimiento de agua a través de la cubierta seminal se conoce como "impermeabilidad". La latencia impuesta por cubiertas impermeables puede tener diferentes efectos: interferencia con la toma de agua, restricción mecánica, interferencia con el intercambio gaseoso o prevenir la salida de inhibidores

(Quinlivan, 1971). La presencia de cubiertas impermeables tiene una base genética, pero condiciones ambientales durante el desarrollo tales como humedad, temperatura, luz y la nutrición mineral pueden afectar su expresión (Murdoch y Ellis, 1992). La impermeabilidad al agua de las cubiertas es una latencia física exógena que puede o no estar combinada con otros mecanismos de latencia; se piensa que involucra el depósito de sustancias impermeables incluyendo ceras, lignina, taninos, suberina, pectinas y derivados de quinonas. Puede haber una relación entre el color de las cubiertas seminales y su permeabilidad al agua. Los factores que afectan la impermeabilidad de las cubiertas son: la composición de las cubiertas, factores ambientales como la humedad, temperatura, luz y fertilidad del suelo, así como factores genéticos heredables. En la naturaleza, las cubiertas seminales pueden ser dañadas por abrasión mecánica (especialmente en los cultivos), por el paso a través del tracto digestivo de animales y aves, por el fuego y por el ataque de microorganismos. Factores genéticos y condiciones ambientales afectan la proporción de semillas impermeables producidas (Rolston, 1978; Egley, 1989). Dentro de los factores ambientales que tienen un papel en la latencia se encuentran: el factor edáfico, temperatura y luz (flujo fotónico, fotoperiodo y calidad). Los factores que operan en el rompimiento de la latencia son: la postmaduración, bajas temperaturas ($1-10^{\circ}\text{C}$) o estratificación, temperaturas alternantes, escarificación y la luz. La mayoría de semillas latentes requieren la aplicación de más de un factor antes de poder romper la latencia (Bradbeer, 1988).

Respecto a los cambios que se dan en la semilla por acción de los diferentes factores que pueden romper la latencia se manejan principalmente dos teorías: la teoría hormonal de la latencia que atribuye el control de la latencia a varios reguladores del crecimiento; inhibidores tales como ácido abscísico (ABA) y promotores tales como giberelinas, citoquininas y etileno. De acuerdo con esta teoría, una semilla latente podría contener un alto nivel de inhibidores y/o un bajo nivel de promotores, y la postmaduración involucraría un cambio en el balance entre ambos. La segunda teoría es la del patrón de la pentosa-fosfato (PPP). De acuerdo con esta teoría, la glucólisis es el patrón predominante del metabolismo de la glucosa-6-fosfato en las semillas latentes. Durante la postmaduración, el

metabolismo de la glucosa-6-fosfato es cambiado al de la PPP; este cambio se asocia con el rompimiento de la latencia. Sin embargo, no existe evidencia substancial de alguna de estas teorías como un mecanismo universal de la latencia en semillas. Así, las reacciones metabólicas específicas asociadas con la inducción, mantenimiento y rompimiento de la latencia no son conocidas (Baskin y Baskin, 1989).

Las semillas latentes pueden permanecer enterradas en el suelo conformando un reservorio de semillas conocido como banco de semillas. Dentro de los factores que previenen la germinación de semillas enterradas se encuentran: altos niveles de CO₂ en el suelo, aireación inadecuada, inducción de un requerimiento de luz después de que las semillas se han enterrado y producción de inhibidores volátiles.

La capacidad de formar un banco de semillas persistente depende de factores tales como: número de semillas producidas, forma y tamaño de las semillas, resistencia al ataque de microorganismos y presencia de mecanismos que eviten la germinación. Los patrones estacionales de germinación en el banco de semillas están controlados por la respuesta de las semillas a factores ambientales, particularmente luz, temperatura y humedad (Baskin y Baskin, 1989). Dentro de estos mecanismos, el requerimiento de luz regulado por el fitocromo, se considera el más importante, particularmente en semillas pequeñas (Bewley y Black, 1985). Una baja relación rojo/rojo lejano, poca disponibilidad de agua, bajas temperaturas y latencia primaria de las semillas son condiciones que se encuentran frecuentemente al final de la estación de crecimiento, cuando muchas semillas se dispersan y caen al suelo (Pons, 1992).

La mayor parte de los trabajos sobre la latencia en semillas contenidas en el suelo y fotoblastismo han sido realizados en zonas templadas. En los trópicos pocos trabajos han tenido como uno de sus objetivos ver el efecto de la luz en la germinación de semillas enterradas (Karssen, 1980 en Orozco y Vázquez, 1992).

Muchas de las semillas que germinan al ser removido el suelo, es en respuesta a la luz. La imposición de la latencia en algunas semillas sensibles a la luz, ocurre cuando la semilla está aún unida a la planta madre y se acerca a la madurez. Así, la latencia puede deberse al fotoperiodo durante el desarrollo de la semilla o debida a la presencia de cubiertas con clorofila. El fotoperiodo puede afectar el grosor de

la cubierta seminal y el grado de latencia; las cubiertas con clorofila reducen la longitud de onda roja que provee a la semilla de un medio lumínico de baja relación rojo:rojo lejano (Attridge, 1990). Así, los requerimientos de luz de las semillas son afectados por: a) la madurez de la semilla al momento de la colecta, b) retención o eliminación de tejidos que rodeen a las semillas en su desarrollo, c) las condiciones de luz durante su deshidratación post-cosecha y d) transmitancia de la cubierta seminal (Cresswell y Grime, 1981).

Con base en los trabajos desarrollados sobre el banco de semillas de diferentes comunidades se sabe que el fotoblastismo es un fenómeno claramente asociado con la permanencia de semillas en el suelo. La luz es un factor importante en la germinación de muchas semillas y la respuesta fotoblástica puede variar en éstas en diferentes grados, lo que depende de las especies y de las condiciones particulares del suelo (Baskin y Baskin, 1989).

El banco de semillas es un conjunto dinámico que está formado por semillas que difieren entre sí en la época en que fueron producidas, en los progenitores, en el tiempo de permanencia en el suelo, eventos que los llevaron hasta él, microambientes ocupados, etc., y por lo tanto poseen diferentes capacidades para germinar y establecerse (Orozco, 1989). El suelo modifica tanto el flujo luminoso como la relación rojo:rojo lejano, constituye por sí mismo un filtro de luz donde la composición espectral de la luz que penetra el suelo puede ser más inhibitoria que estimulante de la germinación ya que transmite una proporción relativamente alta de luz rojo lejano. La calidad y cantidad de la luz que penetra, depende del tipo de suelo y de sus características físicas. Dentro de estas propiedades, la transmisión de luz es afectada por el contenido de humedad y el tamaño de las partículas (un incremento en el contenido de arena fina, disminuye la transmisión en el intervalo de 400 a 800 nm) (Woolley y Stoller, 1978). La luz en el suelo tiene tres componentes: a) la luz que pasa a través de los espacios vacíos en la estructura del suelo, b) la luz que pasa a través de partículas y agregados, y c) la luz reflejada entre las partículas y agregados. La naturaleza total de la luz transmitida depende de las proporciones en las cuales estén presentes estos componentes. Otros factores presentes en el suelo que pueden afectar la germinación de las semillas son: el nitrógeno (en forma de nitrato de

potasio), el CO₂, sustancias alifáticas, aromáticas y aminoácidos así como ácidos fenólicos (Bliss y Smith, 1985).

La germinación de las semillas en el suelo depende también de la tasa de conversión del fitocromo activo (Pfr) a fitocromo inactivo (Pr) en la obscuridad (Orozco y Vázquez, 1992).

El dosel vegetal, provoca también una disminución selectiva de la radiación. Causa una gran disminución en las longitudes de onda azul y roja y en menor proporción en el verde, mientras que el rojo lejano es grandemente transmitido. La distribución espectral de la energía debajo del dosel depende parcialmente de la elevación solar y de las condiciones del cielo; es también dependiente de la edad, altura, índice de área foliar y contenido de clorofila de la vegetación. El dosel vegetal puede tener un efecto inhibitorio de la germinación en las semillas que se encuentren debajo de él (Holmes y Smith, 1977).

3.3. Efecto de la luz (Fitocromo)

La importancia de la luz en las plantas no se limita únicamente a la fotosíntesis. Por diversos mecanismos las plantas captan las "señales" luminicas del medio y responden biológicamente a las variaciones luminicas del mismo, abarcando distintas fases del ciclo biológico (germinación, latencia, floración, etc).

La fotomorfogénesis (el control por la luz del desarrollo, a través de un proceso independiente de la fotosíntesis), engloba el sistema fitocromo, el fotorreceptor a la luz azul/UV (criptocromo), fototropismo y fotonastias (Barceló *et al.*, 1992). Las respuestas del fitocromo son importantes a través de toda la historia de vida de las plantas, incluyendo la regulación de diversos fenómenos fotomorfogenéticos como la germinación de semillas, establecimiento de plántulas, detección de otras plantas, reacciones para evadir la sombra y la inducción del desarrollo reproductivo. Estas variadas respuestas fotomorfogenéticas no están todas controladas por una sola especie molecular del fitocromo. Existen múltiples formas del fitocromo, y en algunos casos son identificables por diferencias espectrofotométricas, bioquímicas y fisiológicas, es posible que una función sensora fundamental, manifestada en diversas formas, esté por debajo de la aparente diversidad de los papeles fisiológicos (Smith *et al.*, 1990). En plántulas de *Arabidopsis thaliana* ha sido posible distinguir entre la

acción de un fitocromo lábil a la luz (Tipo I) y un fitocromo estable en la luz (Tipo II). Al menos tres genes discretos codifican estos fitocromos: *phy A*, *phy B* y *phy C*. La posibilidad de que diferentes especies de fitocromo jueguen diferentes papeles en el espectro de la fotomorfogénesis, puede en principio probarse a través del análisis de plantas mutantes que son deficientes en especies individuales del fitocromo (Whitelam y Smith, 1991). Estos autores resumen estos aspectos concluyendo que: a) múltiples modos de acción del fitocromo pueden reconocerse con base en diferentes características fisiológicas; b) una familia de genes codifica las diferentes formas moleculares del fitocromo, dentro de la cual existen subfamilias o genes cercanamente relacionados; c) Los miembros de la familia de genes del fitocromo se expresan diferencialmente en respuesta a señales ambientales y del desarrollo y d) estudios fisiológicos en plantas silvestres, mutantes y transgénicas, son consistentes con la hipótesis de que diferentes miembros de la familia genética del fitocromo codifiquen para fotorreceptores que tienen diferentes papeles fisiológicos.

El fitocromo es una proteína soluble en agua con un peso molecular aproximadamente de 120,000 daltons (Kendrick, 1976 en Orozco y Vázquez, 1992). La secuencia de los aminoácidos (1,128 aminoácidos), es ahora conocida así como gran parte de la estructura secundaria y cuaternaria del fitocromo (Attridge, 1990). Su grupo activo es un cromóforo tetrapirrólico que tiene un arreglo circular cuando el fitocromo está metabólicamente activo (Pfr), y absorbe la longitud de onda de 730nm. La forma inactiva (Pr), tiene un arreglo lineal y su pico de absorción se encuentra en 665nm (Kendrick y Frankland, 1983 en Orozco y Vázquez, 1992). Cuando Pr absorbe el rojo se convierte en Pfr y cuando Pfr absorbe rojo lejano, se convierte en Pr (pasando a través de intermediarios). Debido a que las dos formas absorben en su espectro de 300 a 700nm, la luz monocromática provoca un equilibrio, mezcla de Pr y Pfr conocido como estado fotoestacionario o fotoequilibrio (Pfr/P total) que se produce con cada tipo de radiación. Es un índice que proporciona la concentración del fitocromo activo (Pfr) del fitocromo total de la célula o muestra. La efectividad del fitocromo en terminar con la latencia está determinada por el valor de fotoequilibrio alcanzado en la semilla, dependiendo de que la especie alcance su propio umbral de respuesta, así, el valor requerido depende de la

especie. La luz del rojo lejano continuo de 720nm, causa un nivel bajo de Pfr del orden de 3 a 6% (estado fotoestacionario = 0.03 a 0.06), la irradiación de corto tiempo con luz roja cercana, determina un elevado estado fotoestacionario del orden de 0.8 (80% de Pfr) (Barceló et al, 1992). El tiempo necesario para que Pfr actúe, después del cual la fotorreversión Pfr a Pr no se lleva a cabo, es llamado tiempo de escape (Bewley y Black, 1985). Este tiempo de escape varía entre las especies con el periodo de imbibición y la temperatura. Smith y Holmes (1977), señalan que el tiempo de respuesta requerido por el fitocromo para adaptarse a los cambios en la distribución espectral de la energía, es de alrededor de 5 a 10 segundos bajo luz de día y de alrededor de 30 segundos bajo un dosel vegetal.

El fitocromo es sintetizado en la forma Pr que es mucho más estable que la forma Pfr, la cual se degrada 100 veces más rápido que Pr .

Respecto a la localización intracelular del fitocromo, existen principalmente dos áreas de investigación: una relaciona al fitocromo con los organelos, se le ha asociado con la mitocondria, retículo endoplásmico rugoso, cloroplastos y el núcleo (Hilton, 1983); la otra área, utilizando técnicas inmunológicas lo ubican en el citoplasma (Attridge, 1990). En cuanto al mecanismo de acción del fitocromo se proponen tres hipótesis: una que actúa a nivel de activación de ciertos genes (regulación diferencial de la expresión génica). En este modelo, se propone que Pfr debe interactuar con una sustancia o estructura , generando así una señal interna (acoplamiento de Pfr). En un segundo paso, esta señal interna tiene que interactuar con la maquinaria genética regulando así su expresión. Sin embargo, muchos pasos están aún abiertos a discusión: el proceso de acoplamiento, la naturaleza de la señal interna, su transmisión en el citoplasma y el mecanismo molecular de la respuesta (Haupt, 1990). Otra hipótesis propone que regula la permeabilidad de las membranas. Marmé (1977), resume el conocimiento de las membranas como posibles sitios de acción primaria del fitocromo; los datos que presenta apoyan la idea de que el fitocromo se localiza en varias membranas y muestra una variedad de efectos tales como: modular actividad enzimática (como la ATPasa), modular el metabolismo de moléculas unidas a la membrana (sustancias como las giberelinas) y controlar la actividad de enzimas unidas a la

membrana (como la colina acetiltransferasa). La permeabilidad de membranas y la actividad de enzimas unidas a la membrana puede estar modulada vía fitocromo. La última hipótesis propone que el fitocromo se asocia a una enzima, del tipo de las cinasas, activa en la forma Pfr. Singh y Song (1990) mencionan que el fitocromo quizá no tenga una actividad como proteína cinasa pero que es posible que una proteína cinasa esté funcionalmente asociada con el fitocromo y propone un modelo de los cambios en la topografía del cromóforo del fitocromo al exponerlo a la luz roja y roja lejana.

Los cambios en el contenido de fitocromo pueden deberse a procesos de rehidratación del pigmento, destrucción del pigmento, nueva síntesis, reversión (de Pfr a Pr) o reversión inversa (de Pr a Pfr), que sufre el fitocromo durante la formación de la semilla o cuando se encuentra latente (Orozco y Vázquez, 1992).

La fotoconversión no ocurre directamente entre Pr y Pfr, sino a través de intermediarios. Algunos de estos pasos pueden ocurrir sólo en semillas altamente hidratadas, mientras otros ocurren en semillas con muy bajos contenidos de humedad. Si la aparición de un intermediario requiere luz, recibe el prefijo "lumi", si se puede producir en la oscuridad, recibe el prefijo "meta". La mayoría de los intermediarios tienen cortos tiempos de vida; la deshidratación de la semilla puede inhibir la formación de algunos de estos intermediarios, sin embargo, todas las transformaciones del fitocromo entre Pr y Pfr no se conocen por completo. La reversión de Pfr por efecto de la temperatura puede ser muy importante durante la deshidratación que acompaña la maduración de la semilla, la reversión es más rápida en altas temperaturas que en bajas temperaturas (Attridge, 1990; Hecht y Mohr, 1990).

La influencia de la luz en la germinación de las semillas se ha dividido en dos tipos de respuesta: 1) Respuestas de baja energía (LER), donde opera el sistema reversible rojo/rojo lejano y la respuesta es independiente del tiempo de irradiación. La respuesta se inicia con la formación de Pfr y se incrementa con la concentración de Pfr o requiere un umbral de concentración de Pfr. La luz roja es más efectiva y las respuestas pueden ser revertidas por subsecuente exposición a rojo lejano; y 2) Respuestas de alta energía (HIR). En este caso, la respuesta es iniciada por irradiación continua con luz rojo lejano, la longitud de onda de máxima efectividad usualmente está

entre 710 y 720nm. El espectro de acción de este tipo de respuesta tiene un pico secundario de considerable magnitud en la región azul del espectro. La germinación es inhibida por la tasa de flujo y es dependiente del reciclaje del fitocromo (requiere una alta tasa de las fotoconversiones Pr---Pfr); la fotoinhibición de la germinación de las semillas por iluminación prolongada es una manifestación de la reacción de alta energía (HIR). La duración del estímulo combinado con el flujo fotónico son factores que determinan uno u otro tipo de respuesta (Kendrick y Spruit, 1977; Cone y Kendrick, 1986).

Las semillas cuya respuesta a la luz se conoce se han dividido básicamente en tres grupos: 1) fotoblásticas positivas: no germinan en la oscuridad y son producidas por plantas heliófilas (requieren luz solar intensa para crecer); 2) fotoblásticas negativas: su germinación es inhibida por la luz; y 3) especies indiferentes a la luz (Come, 1970). Una de las principales diferencias entre semillas fotoblásticas positivas y negativas es que la luz blanca estimula la germinación de las fotoblásticas positivas pero inhibe completamente la germinación de las negativas. Parece que las semillas fotoblásticas positivas reaccionan al componente rojo y las negativas al componente rojo lejano de la luz blanca. La germinación de ambos tipos de semillas es usualmente inhibida por luz azul (Botha y Small, 1988).

El contenido de humedad de la semilla es crucial para su respuesta a la luz, ya que durante la imbibición se desarrolla la sensibilidad a ésta. El rojo lejano transforma el fitocromo en Pr en semillas secas, este efecto sólo puede ser revertido con luz roja, en condiciones de hidratación. El período de hidratación del fitocromo puede determinar la germinación o latencia de la semilla bajo un clima lumínico determinado. En la semilla seca, las condiciones lumínicas ambientales (flujo fotónico y calidad de luz), las tasas de hidratación y deshidratación y la reversión en la oscuridad determinan la cantidad de Pfr en la semilla.

La sensibilidad de las semillas a la luz es fuertemente influenciada por las condiciones ambientales durante la maduración y la deshidratación de las semillas (Cone y Kendrick, 1986).

La acción fundamental del fitocromo es detectar las variaciones del balance del rojo:rojo lejano de la radiación natural. Esta detección de las diferencias en la calidad espectral por el fitocromo.

podría permitir a la planta detectar no sólo la presencia sino también la proximidad de otras plantas cercanas (Smith et al, 1990). Su función fundamental en las semillas es inducir o imponer la latencia cuando las condiciones luminicas son desfavorables para el establecimiento de las plantas, tanto por el efecto de un dosel que reduce el valor de la relación rojo:rojo lejano, como por el efecto del suelo, cuando las semillas se encuentran enterradas (Orozco y Vázquez, 1992). El fotocontrol de la germinación es generalmente considerado como una estrategia que asegura que pequeñas semillas sólo germinen a una profundidad que permita a la plántula emerger en la luz de una apropiada calidad antes de que se agoten las reservas alimenticias (Attridge, 1990).

3.4 Efecto de la temperatura

La temperatura puede afectar dos aspectos de la germinación: la capacidad germinativa y la velocidad, al incidir en diferentes procesos fisiológicos como el deterioro de la semilla, la pérdida de latencia en semillas secas y el cambio de latencia en semillas húmedas.

Respecto al deterioro de la semilla, la temperatura puede provocarlo al causar pérdida de viabilidad. De acuerdo al deterioro de las semillas en condiciones de almacenamiento se han clasificado en semillas ortodoxas y recalcitrantes. Las semillas ortodoxas pueden deshidratarse a bajos contenidos de humedad (5% o menos), sin sufrir daño; su longevidad se incrementa al disminuir el contenido de humedad y la temperatura de la semilla almacenada. Debajo de un valor crítico de contenido de humedad, ocurre un daño a componentes celulares que es dependiente de la temperatura y contenido de humedad, éste daño puede deberse a una desnaturalización gradual de macromoléculas. La mayoría de especies cultivadas y no cultivadas presentan semillas ortodoxas. En contraste, las semillas recalcitrantes se dañan aún con una leve deshidratación, la semilla puede morir si el potencial hídrico disminuye de -0.5 a -1.5 MPa; estas semillas rara vez pueden ser almacenadas por más de algunas semanas o meses. Un gran número de especies maderables perennes como el roble o castaño, incluyendo algunos cultivos tropicales como el caucho, cacao, aguacate y mango, presentan semillas recalcitrantes (Roberts, 1988; Murdoch y Ellis, 1992).

La conservación de semillas deshidratadas y en bajas temperaturas, puede ser una forma de preservar el germoplasma *ex situ*. Este almacenaje o "Bancos de semillas", conjuntamente con las reservas de la naturaleza, el mantenimiento de áreas seminaturales bien manejadas, la creación de viveros para el repoblamiento de especies explotadas comercialmente y otras estrategias de conservación de la biodiversidad, pueden contribuir a evitar la extinción de especies vegetales amenazadas (Rodríguez y Vázquez-Yanes, 1992).

La temperatura puede afectar la latencia de la semilla en diferentes aspectos:

a) En el proceso de deshidratación como parte del proceso de post-maduración de la semilla, provocando la pérdida de la latencia innata. Bajo ciertas condiciones (por ejemplo, requerimiento de luz), algunas semillas pueden entrar en latencia secundaria una vez que han perdido la latencia innata. Los cambios en la germinación asociados al proceso de post-maduración, dependen de cambios de humedad y temperatura en el embrión de la semilla, aunque las cubiertas seminales afectan grandemente la germinación y la expresión de la latencia como ocurre en las semillas con cubiertas impermeables. Temperaturas elevadas o alternantes que se presentan en ecosistemas tropicales, subtropicales o mediterráneos, pueden romper esta barrera así como incendios naturales o provocados (Probert, 1992). En bosques tropicales, el incremento en las fluctuaciones de temperatura en la superficie del suelo provocado por claros en la vegetación puede afectar la germinación de semillas de especies pioneras (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1982). La vulnerabilidad de las semillas a temperaturas elevadas extremas, depende del contenido de humedad de las mismas; las semillas con bajos contenidos de humedad son más resistentes al calor, mientras que semillas embebidas son más susceptibles a temperaturas elevadas al dañarse procesos celulares, como ocurre con semillas de bosques tropicales lluviosos (Probert, 1992).

b) En la semilla rehidratada, donde muchas semillas responden a la estratificación de tal forma que un periodo de temperaturas bajas precede a la germinación y evita que ocurra la germinación en el invierno; característica común en especies maderables de bosques que presentan latencia embrionaria. El control ambiental de la germinación

involucra la interacción de diversos factores entre los que se encuentran la luz, temperaturas alternantes, deshidratación y nitratos; varios estudios han mostrado que en ciertas especies la estratificación reduce el requerimiento de otros factores ambientales como la luz. Cambios en los fosfolípidos de membrana provocados por la estratificación podrían explicar su efecto en la germinación al incrementar quizá la disponibilidad de receptores de giberelinas (Bewley y Black, 1985).

c) Previendo la germinación o induciendo latencia, en los periodos que no son favorables para el establecimiento de las plántulas.

d) Provocar la pérdida de latencia cuando la semilla se expone a temperaturas alternantes, característica común en plantas con semillas pequeñas donde la latencia (primaria, inducida o forzada) se pierde con la alternancia de temperatura en combinación con la luz, lo que permite tener mayores posibilidades de que la semilla germine en niveles superficiales del suelo y se logre el establecimiento de la plántula. Registros de la temperatura en el suelo indican que las fluctuaciones de temperatura son mayores cerca de, o en la superficie del suelo así como en claros de la vegetación (Thompson *et al* 1977; Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1982). En algunas especies, la respuesta a ciclos diurnos de temperatura depende de la presencia de fitocromo Pfr; Thompson y Grime (1983), han encontrado una relación más o menos lineal en el incremento de la germinación con el aumento en la amplitud de temperatura. El efecto de la temperatura alternante en la germinación depende entonces de la amplitud, temperatura media, termoperiodo y número de ciclos de la alternancia (Roberts, 1988; Probert, 1992).

3.5. Investigaciones realizadas.

Chiranthodendron pentadactylon y *Talauma mexicana* son especies de gran importancia dentro de la medicina tradicional del país.

De acuerdo con Bye y Linares (1987), ambas especies se encuentran constantemente disponibles en el mercado y su referencia en las fuentes históricas, data desde 1552 en el Códice De la Cruz-Badiano, hasta la actualidad. Para el conocimiento de la medicina prehispánica, destacan 4 obras fundamentales: El Códice Florentino de Fray Bernardino de Sahagún, El Códice de la Cruz-Badiano (Autor Martin de la Cruz y

traducido del náhuatl al latín por Juan Badiano), las obras completas de Francisco Hernández y las Relaciones geográficas del s.XVI (Estrada, 1994.c.).

Las dos especies se comercializan constantemente en los mercados. Sin embargo, la comercialización general de más de 200 especies curativas en los principales mercados del país y que en más de 95% son de recolección silvestre, ha ocasionado la extinción de algunas de ellas en sus áreas de distribución natural como ha ocurrido con la Valeriana y la Cancerina (Estrada, 1992, 1994.a.). *Ch. pentadactylon* representa un recurso económico importante para algunas comunidades, como ocurre en Filo de Caballos, Guerrero. La flor se recolecta del suelo y no se afecta la producción potencial de frutos, por lo que es la tala de los bosques donde se desarrolla la especie, la principal causa de su disminución como ocurre con *T. mexicana*, donde las flores y frutos son comercializados de manera local ya que el número de árboles adultos presentes en la zona es reducido.

Ambas especies se reportan actualmente en nuestro país como especies amenazadas (de acuerdo a la norma NOM-059-ECOL-1994, publicada en el Diario Oficial de la Federación, 1994), debido a la reducción de sus zonas de distribución por la tala inmoderada de los bosques donde se desarrollan y/o a la introducción de terrenos a la ganadería y cultivos de granos.

Por otro lado, ambas especies actualmente se propagan sólo mediante reproducción vegetativa (por acodado aéreo), técnica que además de ser aplicada por un pequeño número de personas, no permite cubrir las demandas a nivel comercial de las flores de estas especies, por la dificultad para llevarla a cabo y el tiempo requerido para completar el desarrollo. Esto hace que sean de las plantas con mayor costo económico en los mercados. Por ello, el aportar información respecto a la germinación de sus semillas, como base para su futura introducción a cultivo, es de gran importancia puesto que contribuirá a reducir sus costos de producción, lo que provocará una disminución en su precio en el mercado y serán más accesibles a un mayor número de personas (Estrada, Com.Pers). La información obtenida podría permitir en un futuro introducir a las semillas en la comercialización y no solamente las flores, para lo cual se requiere de un estudio fitoquímico comparativo de los principios activos presentes en ambas

estructuras (flor y semilla).

Respecto a los trabajos realizados con ambas especies, son pocas las investigaciones publicadas. Referentes a *Ch. pentadactylon*, Sodi-Pallares y Martínez-Garza (1949), aislaron y determinaron la estructura del pigmento de la flor (un triglicósido de la apigeninidina llamada Trigalogluxi-5,7,4'-cloro-1-benzopiroxona); Domínguez et al. (1970) realizan extractos de la flor reportando un hidrocarburo $C_{28}H_{58}$, un éster alifático cuyo punto de fusión es de 63 a 65°C y β -sitosterol del extracto etéreo y un material rojo insoluble, glucosa y sacarosa del extracto etanólico; Domínguez y Gutiérrez (1972) aíslan diferentes compuestos del extracto etéreo (octacoseno, docosanol-1, acetato sitosterol y un flavonoide muy insoluble rojo), reportando que el extracto etanólico dio reacción negativa a alcaloides y glicósidos cardiacos; Toledo (1975), describe la polinización por aves percheras y discute algunos aspectos en el contexto del estudio de la polinización ornitófila; Estrada (1987), reporta características morfológicas del fruto y semillas, así como resultados obtenidos de pruebas con polinización manual; García y Perales (1990), evalúan la viabilidad de las semillas realizando pruebas de germinación bajo condiciones de almacenamiento (15° y 4°C), y Perusquia et al. (1995), comprueban el efecto farmacológico del extracto acuoso de las flores que inhibió la contracción muscular en aorta de rata previamente estimulada con noradrenalina.

Los trabajos con *T. mexicana* se han venido realizando desde finales del siglo pasado, enfocados a la identificación química de los constituyentes de la flor, semillas, hojas y corteza del árbol del Yoloxóchitl. Lozoya (1982), reporta la obtención de aceite esencial, quercitina y tanino por Altamirano (1876), el aislamiento de talaumina a partir de semillas por Armendáriz y Río de la Loza (1892), un alcaloide como clorhidrato no identificado y un flavianato de las hojas, por Guerra (1941), la obtención en hojas de parahidroxibenzofenona, ácido trimésico y quercitol, por Martínez Garza (1947). Durante la década de los años cuarenta, se aislaron dos alcaloides a partir de las hojas: la aztequina y la talaumina por Sodi-Pallares (1948). Pastelin (1993), reporta que Mendoza y Herrera (1866) encuentran una acción digitalica en las semillas y corteza, Coliera y colaboradores (1963) analizan la corteza y no detectan la

presencia de alcaloides, durante el presente siglo sobresalen los trabajos farmacológicos con extractos acuosos de las hojas, llevados a cabo en 1937-38 por los Drs. Pérez y Roca quienes observan un aumento en la amplitud de las contracciones en corazón de rana, un aumento en la presión arterial en gato, un incremento en el gasto cardiaco con reducción de la frecuencia cardiaca en corazón canino y un efecto vasoconstrictor coronario en corazón de conejo. Dichos autores suponen que los extractos acuosos contienen principios activos de acción similar a la de la adrenalina.

Considerando esta información, se propone el presente trabajo que considera la influencia de los factores: escarificación, luz, temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la germinación así como análisis enfocados a aportar información fitoquímica y edafológica de ambas especies.

4.0. CARACTERISTICAS GENERALES DE AMBAS ESPECIES

4.1. Descripción específica.

a) *Chiranthodendron pentadactylon* Larr.

Arbol de 12 a 15 m de alto, tronco de 40 cm de diámetro; hojas largamente pecioladas, de 12 a 30 cm de longitud, agudas a acuminadas, profundamente cordadas en la base, irregular y someramente 3 a 7 lobuladas o casi enteras, glabra arriba y estelado tomentoso abajo; pedúnculos cortos con una flor opuesta a las hojas; cáliz campanulado de 3.5 a 4.5 cm de longitud, profundamente 5 lobulado, verde rayado con rojo, con un largo pozo dentro de la base de cada lóbulo; sin pétalos; estambres columnares alargados, divididos usualmente en 5 ramas, éstas lineales, simulando anteras largas 2 loculadas; cápsula estrecha de 15cm de largo, profundamente sulcada; loculicidamente 5 valvadas, hispido por dentro; semillas pequeñas negras brillantes con un apéndice carnoso en el hilo (Standley, 1923).

b) *Talauma mexicana* (DC.) Don.

Arbol alto, a veces de 30 m de altura, con un tronco de 1.2 a 1.5 m de diámetro; hojas persistentes, ovales o elípticas, de 12 a 25 cm de longitud, agudas, lustrosas, venación reticulada; flores grandes,

blancas, esencia dulce, pétalos y sépalos muy gruesos y coriáceos, algunas veces teñida con púrpura; 3 sépalos; semillas rodeadas por un arilo rojo carnoso, unidas por un funículo como hebra (Standley, 1923).

4.2. Distribución.

Ch. pentadactylon se distribuye en México en los estados de Guerrero, Oaxaca y Chiapas; se encuentra a altitudes de 1450 a 2680 m. s. n. m. en bosques de pino-encino y bosque mesófilo de montaña. Además de México se reporta distribuida en Guatemala.

T. mexicana se distribuye en los estados de Veracruz, Oaxaca, y Chiapas; se encuentra en altitudes de 120 a 2150 m. s. n. m. en bosque mesófilo de montaña y selva alta perenifolia. Además se reporta en Guatemala y Honduras (Herbarios UACH, Fac. Ciencias UNAM, IPN y MEXU; Standley, 1949).

4.3. Nombres comunes.

Ch. pentadactylon se le conoce como "canaque", "palo de yaco", "flor de tulia", "flor de manita", "mano de perdiz", "macpalxochitl" o "mano de león".

T. mexicana se le conoce como "yolo", "jolismahte", "flor de atole", "yoloxochitl", "cuhui-xana" o "flor de corazón" (Herbarios UACH, Fac. Ciencias UNAM, IPN y MEXU).

5.0. MATERIALES Y METODOS

5.1. Materiales y procedimientos generales.

5.1.1. Características de las semillas colectadas.

5.1.1.1. Peso.

Se utilizaron 100 semillas de cada especie y cada una se pesó en balanza analítica para obtener un promedio.

5.1.1.2. Longitud.

De la misma colecta realizada para determinar el peso de las semillas, se midió el eje longitudinal de cada una (del extremo micropilar al extremo calazal) con un Vernier Scala 222-A, obteniendo un promedio.

5.1.1.3. Color.

De las muestras colectadas para medir peso y longitud, se observó el color que predominaba en cada lote comparándolo con tablas de referencia (Kornerup y Wanscher, 1963).

5.1.1.4. Contenido de humedad.

Para esta prueba se siguió el método de secado en la estufa propuesto por Moreno (1984). Se utilizaron 125 semillas divididas en 5 lotes de 25 semillas cada uno. En 5 cajas de aluminio de 5 cm de diámetro (numeradas en la base y en la tapa), se introdujeron las semillas en la estufa durante 1 hora a 103°C. En esta prueba los datos tomados en balanza analítica fueron los siguientes:

- a) Peso de la caja vacía: antes de realizar esta lectura, las cajas permanecieron en la estufa y después se colocaron 15 minutos en un desecador.
- b) Peso de la caja con 25 semillas.
- c) Peso de la caja después de permanecer en la estufa durante 1 hora a 103°C y 15 minutos en un desecador a temperatura ambiente.

Con estos datos, se calculó el contenido de humedad en porcentaje, de las semillas en los distintos lotes, para obtener un promedio:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_1} \times 100$$

P₁ = Peso en gramos de la caja vacía.

P₂ = Peso en gramos de la caja + las semillas.

P₃ = Peso en gramos de la caja + las semillas después del secado en la estufa.

5.1.1.5. Pruebas de germinación.

Todas las pruebas de germinación se llevaron a cabo en cámaras de crecimiento modelo 844 (lab-Line Instruments, Melrose Park, Ill), con un fotoperiodo de 12 hrs. A las semillas se les quitó el arilo o sarcotesta (según la especie) y se desinfectaron con fungicida al 0.2% (Captán 50, [Cis-N-[(Triclorometil) tio]-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida] Laboratorios AGM de México). Posteriormente se sembraron en cajas Petri sobre tres discos de papel absorbente humedecidos con 5 ml de agua destilada (20 semillas por caja y 8 repeticiones por tratamiento). En los casos indicados la escarificación fue mecánica con lija, por el extremo opuesto al arilo. La germinación final se determinó después de un mes de tratamiento. Se consideró una semilla germinada cuando la radícula salía a través de la cubierta seminal de 3 a 5 mm.

5.1.1.6. Prueba de viabilidad.

Se seleccionaron 100 semillas, que se dividieron en 5 lotes de 20 semillas cada uno. Las semillas se escarificaron y se embebieron durante 24hrs en agua destilada, para extraer posteriormente uno de los cotiledones con el eje hipocótilo-raíz, el cual se expuso durante 12hrs a una solución al 0.5% de cloruro de 2, 3, 5-trifenil tetrazolio. Las muestras se mantuvieron en la oscuridad a una temperatura de 25°C. El número de semillas viables se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Viabilidad} = \frac{\text{No. de semillas teñidas}}{\text{No. total de semillas}} \times 100$$

Se consideró viable aquella semilla teñida al menos en 2/3 partes y que la porción no teñida no tocara el eje embrionario ni su unión con los cotiledones.

5.1.2. Población objetivo.

a) Definición.

En el presente trabajo las poblaciones objetivo que son aquellas respecto a las cuales se harán las extrapolaciones o se inferirán los resultados del estudio, fueron: las poblaciones de *Ch.pentadactylon* de Carrizal de Bravos, Guerrero y San José del Pacífico, Oaxaca, así como la población de *T.mexicana* de Tonalixco, Veracruz.

b) Características generales.

• Criterios de inclusión.

Los criterios de inclusión o características presentes para considerar a las unidades como parte de la población fueron:

a) Tamaño de la semilla: de 4 a 5 mm de longitud para *Ch.pentadactylon* y de 11 a 12 mm de longitud para *T.mexicana*.

b) Estado de desarrollo y color de las semillas: semillas maduras deshidratadas, color negro con arilo anaranjado-rojizo para *Ch.pentadactylon* y color café oscuro o negro sin sarcotesta para *T.mexicana*.

c) Germinación: se consideró germinada una semilla cuando se presentó la emergencia de la radícula a través de las cubiertas (de 3 a 5 mm de longitud de la radícula).

• Criterios de exclusión.

Se excluyeron las semillas no maduras, perforadas por insectos, de menor tamaño, en diferente etapa de desarrollo o de diferente color, al ser estas las características de las unidades que interfieren en el estudio.

5.1.3. Diseño estadístico.

a) Marco de muestreo.

El marco de referencia o sitios donde se localizaron todas las unidades de las poblaciones estudiadas fueron: la localidad de Carrizal de Bravos, Guerrero; Sn.José del Pacífico, Oaxaca y Tonalixco, Veracruz.

b) Unidad última de muestreo.

El elemento que dio origen al valor de las variables obtenidas (Unidad experimental), fue una caja de Petri con 20 semillas cada una, en las diferentes condiciones probadas.

c) Método de muestreo.

Se realizó un muestreo aleatorio simple con tarjetas numeradas (todas las unidades tienen la misma probabilidad de quedar incluidas en la muestra), en los distintos tratamientos.

d) Comparabilidad de las muestras.

Se consiguió por medio de la asignación aleatoria de las unidades a los grupos de estudio. La validez interna estuvo dada por las mismas características de las semillas en los diferentes muestreos (color, tamaño, estado de desarrollo), igual número de lotes y semillas en las diferentes condiciones probadas, así como la colocación de los lotes en las mismas condiciones propuestas para los diferentes tratamientos (escarificación, luz, temperatura y almacenamiento).

La validez externa se fundamentó en la elección de una muestra representativa de la población y la asignación aleatoria de los lotes en los diferentes tratamientos de los factores probados.

e) Especificación de variables y escalas de medición.

La variable se clasifica como numérica discreta (número de semillas germinadas). La escala de medición empleada es absoluta (conteo del número de semillas germinadas por caja Petri). El intervalo entre cada conteo fue cada 8 días, durante un mes. En cada tratamiento probado se realizaron 4 conteos semanales de los lotes para obtener la germinación final.

f) Captación de la información.

En cada tratamiento se utilizaron hojas de registro para recabar los siguientes datos: fecha, tratamiento, Número de caja, Número de semillas germinadas, porcentaje de germinación y valor transformado (V.T.). (Méndez, 1990).

g) Modelo estadístico.

Para los experimentos de temperatura y escarificación en la germinación, se planteó un modelo factorial 2x2 completamente aleatorizado, con dos criterios de clasificación con interacción.

Los factores probados fueron los siguientes:

a) Escarificación con dos tratamientos: escarificadas y no escarificadas. b) Temperatura, con dos tratamientos: temperatura constante de 25°C y temperatura fluctuante de 8 a 26° ó 15 a 30°C.

El modelo empleado es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + (ab)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

en donde:

Y_{ijk} = Representa el % de germinación en la unidad experimental k-ésima, sometida a los tratamientos: a_i y b_j .

μ = Representa la media general de la población que contiene los tratamientos.

a_i = Representa el efecto del tratamiento a (escarificación) sobre la variable de respuesta (germinación).

b_j = Representa el efecto del tratamiento b (temperatura sobre la variable de respuesta (germinación).

$(ab)_{ij}$ Representa el posible efecto de interacción de los dos tratamientos: a_i y b_j sobre la variable de respuesta (germinación).

ϵ_{ijk} Representa el error aleatorio ocasionado por todos los factores no constantes o no controlados en cada uno de los tratamientos estudiados. Se considera de distribución normal, con media cero y varianza σ^2 (Méndez, 1976).

Para el experimento de calidad de luz sobre la germinación, se planteó un modelo completamente aleatorizado con un criterio de clasificación. El factor probado fue la calidad de luz, con 4 niveles o tratamientos: luz blanca, luz roja, luz rojo lejano y oscuridad.

El modelo empleado es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

en donde:

Y_{ij} = Representa el % de germinación en la unidad experimental j-ésima (1 caja petri), sometida al tratamiento (población i-ésima).

μ = Representa la media general de la población que contiene los tratamientos.

τ_i = Representa el efecto del tratamiento ($\tau_i = \mu_i - \mu$, donde μ_i es la media de la población o tratamiento i-ésimo).

ϵ_{ij} = Es el error aleatorio ocasionado por todos los factores no constantes en cada uno de los tratamientos estudiados. Se considera de distribución normal, con media cero y varianza σ (Méndez, 1976).

h) Análisis e interpretación de la información.

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza con un nivel de probabilidad $\alpha = 0.05$, utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS versión 5.0, así como mediante pruebas de t, con el programa STATISTICA versión 5.0.

Previamente se realizó una transformación de los porcentajes de germinación obtenidos, aplicando raíz cuadrada a cada valor de porcentaje y una transformación arcosenica para tener una distribución que se acerca a la normal, ya que la respuesta germinativa es de tipo binomial.

Todos los análisis que se presentan en los resultados se realizaron con los valores transformados.

Después de realizar los análisis, se tuvieron dos alternativas:

a) El caso donde no se rechazó la hipótesis nula (H_0), es decir, que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos al nivel de significancia usado. Esto implica que la variabilidad entre las poblaciones estudiadas es del mismo orden de magnitud que las de los errores y por esto se considera que las medias de los tratamientos (como poblaciones) son iguales.

b) El caso donde se rechaza la H_0 , es decir, se considera que hay diferencias significativas entre las medias de tratamientos. En este caso, se aplicaron pruebas de Rango Múltiple de Intervalos de confianza a un nivel de probabilidad $\alpha = 0.05$ (Tuckey), para distinguir los

niveles que causan la diferencia.

Las curvas obtenidas de la germinación acumulada contra el tiempo, se ajustaron a un modelo hiperbólico ($Y=(A*X)/(B+X)$) o exponencial ($Y=A*Exp(B*X)$) de acuerdo a la respuesta observada en cada tratamiento, mediante el programa TABLECURVE versión 3.0. De este ajuste se obtuvieron varios parámetros y se utilizó la pendiente para poder medir las velocidades de germinación en cada uno de los tratamientos de temperatura y calidad de luz desarrollados.

5.2. Materiales y procedimientos particulares de cada experimento.

5.2.1. Respuesta germinativa bajo los tratamientos de escarificación, temperatura, calidad de luz, tiempo de almacenamiento y estructura de semillas de *Ch. pentadactylon*.

5.2.1.1. Trabajo de campo.

Con base en la información de los ejemplares de herbario (UACH, Fac. de Ciencias UNAM, IPN y MEXU), se eligieron las localidades de Carrizal de Bravos, Mpo. Leonardo Bravo, Guerrero (17°39' N y 99°50' O) y Sn. José del Pacífico, Mpo. Miahuatlán, Oaxaca (16° 10' N y 96° 30' O) para coleccionar flores y semillas de esta especie (Fig.1 y 2). En ambos sitios el tipo de vegetación es bosque de pino-encino (alt. 2340-2580 m. s. n. m.)

La época de floración es de noviembre a abril, siendo la temporada más abundante en febrero. Como resultado de la polinización realizada por aves percheras (Toledo, 1975), se desarrollan las semillas y frutos, siendo la mayor fructificación en los meses de abril y mayo.

5.2.1.2. Trabajo de laboratorio.

a) Almacenamiento durante 6 meses a 5°C.

Se formaron 53 lotes de 20 semillas cada uno, con material coleccionado en Guerrero. Cada lote se colocó en un tubo de vidrio (1x6

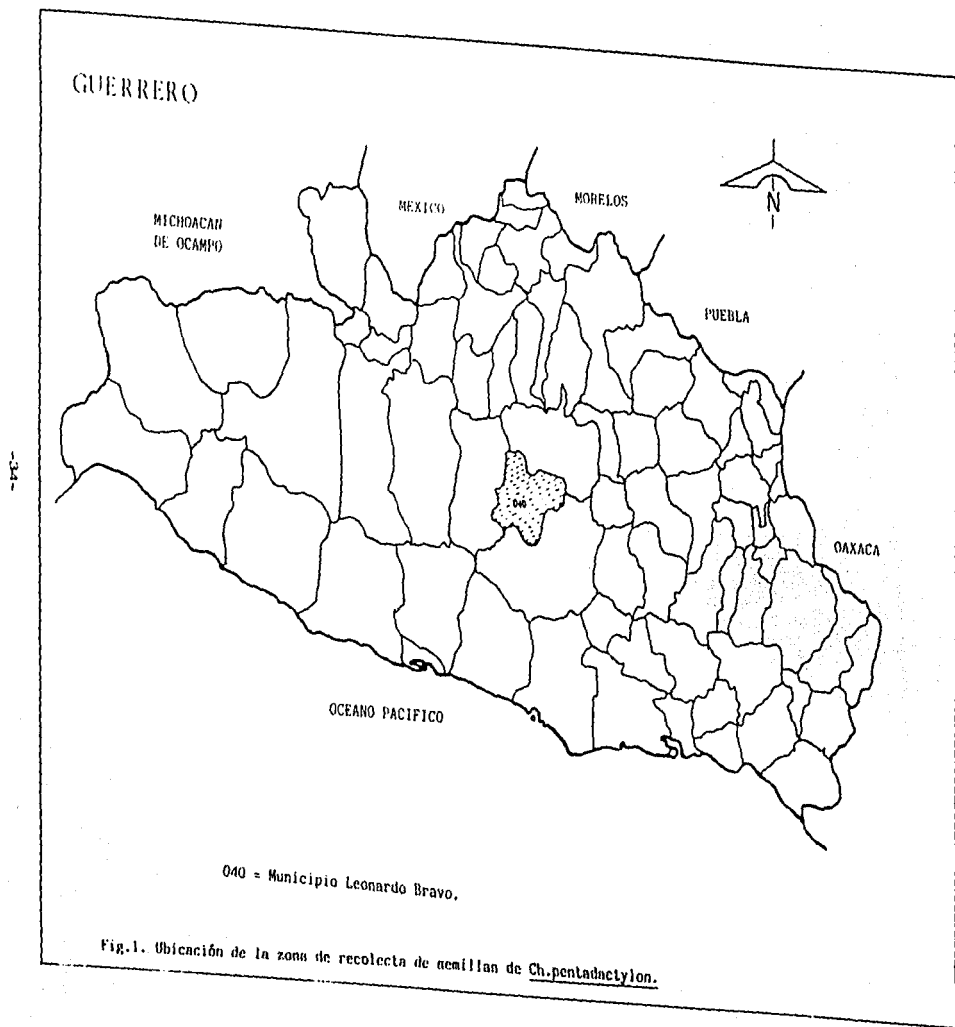
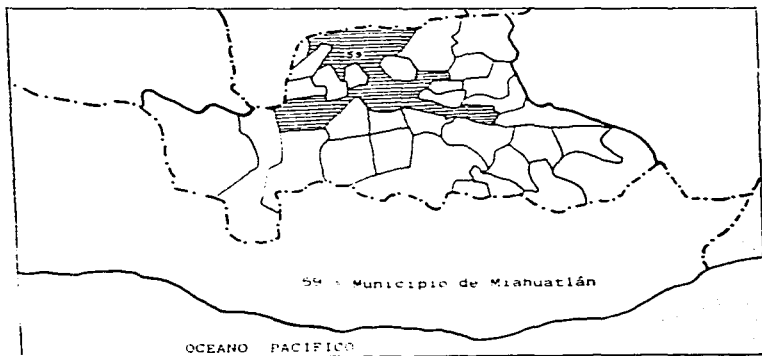
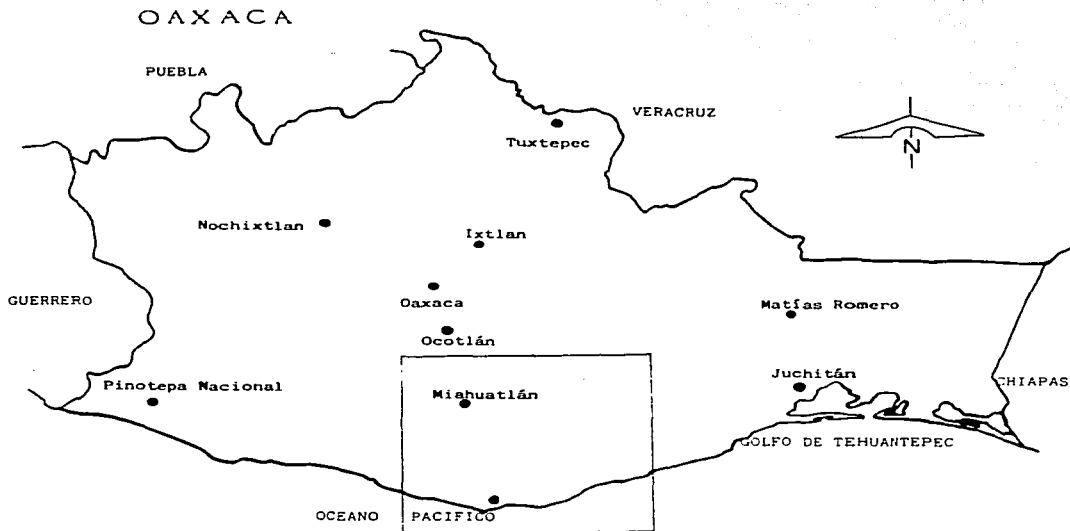


Fig.2. Ubicación de la zona de recolecta de semillas de *Ch.pentadactylon*.



cm), con 1 g de silica gel y algodón, sellados con tapón de hule y parafilm para mantener bajas condiciones de humedad (Vázquez- Yanes, 1987). Los tubos se forraron con papel aluminio y se almacenaron en el refrigerador a 5°C para obtener por sorteo 8 tubos cada mes durante 6 meses y realizar pruebas de germinación. Para estas pruebas, las semillas se escarificaron y se colocaron bajo temperatura constante de 25°C y luz blanca con un fotoperiodo de 12hrs). Al finalizar los 6 meses de almacenamiento, se determinó el contenido de humedad por diferencia de peso, al secar las semillas en la estufa 1 hora a 103°C (5 lotes de 20 semillas cada uno) (Fig. 3).

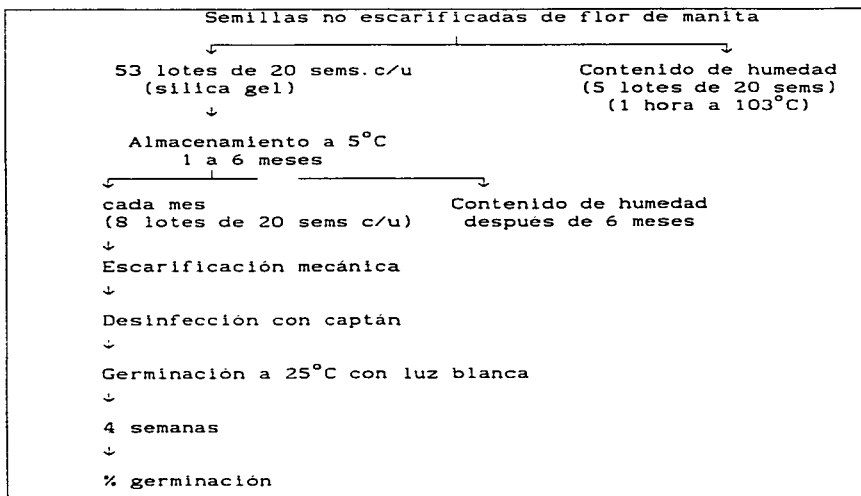


Fig. 3. Método para evaluar la viabilidad de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero, después de permanecer almacenadas durante 6 meses a 5°C.

b) Germinación de semillas bajo los factores de temperatura y escarificación.

Con las semillas colectadas en Carrizal de Bravos, Guerrero se formaron 4 lotes de 160 semillas cada uno, dos de éstos se escarificaron y se colocaron en 16 cajas Petri en condiciones de temperatura constante (25°C) y fluctuante (8 a 26°C): 8 con semillas escarificadas y 8 con semillas no escarificadas, en cada temperatura. Posteriormente los 16 lotes de semillas no escarificadas se sometieron a un tratamiento de estratificación (5°C durante 24 hrs) y se escarificaron para colocarlas bajo temperatura constante (25°C) y fluctuante (15 a 30°C) para obtener el porcentaje final de germinación después de doce semanas (Fig.4.).

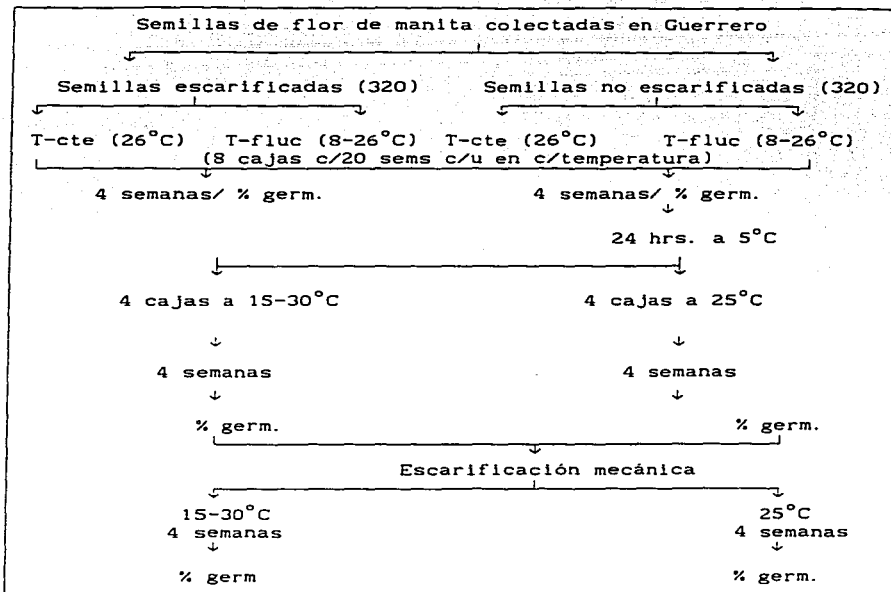


Fig. 4. Método para determinar la germinación de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero, bajo los factores de escarificación y temperatura.

Con las semillas colectadas en San José del Pacífico, Oaxaca, se evaluó el efecto de la temperatura constante (25°C) y fluctuante (15° a 30°C), en la germinación de semillas escarificadas, colocadas en las mismas condiciones que las semillas de Guerrero (Fig. 5).

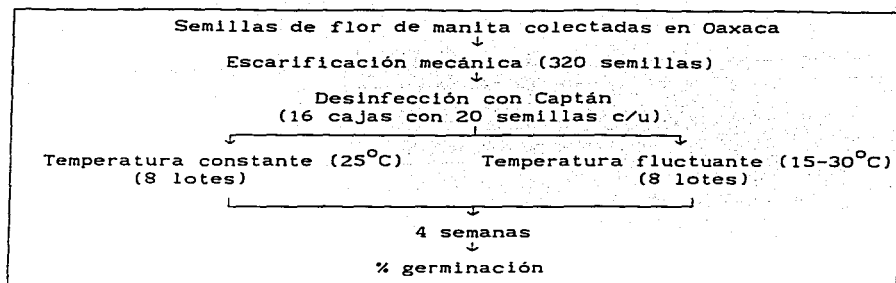


Fig.5. Método para determinar la germinación de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Oaxaca, bajo diferentes condiciones de temperatura.

c) Germinación de semillas bajo el factor calidad de luz.

Para evaluar el efecto de la calidad de luz sobre la germinación, con las semillas colectadas tanto en Guerrero como en Oaxaca, se escarificaron 640 semillas y se colocaron en cajas Petri de igual forma que en el experimento de temperatura. Las cajas se dividieron en grupos de 8, para cada condición de luz (8 repeticiones de 20 semillas cada una): luz blanca (LB), luz roja (R), luz rojo lejano (RL) y oscuridad (OSC). Para obtener estas condiciones de luz, en luz roja y luz roja lejano, las cajas petri se introdujeron en cajas de germinación de 34 x 44 x 10 cm elaboradas con Plexiglass azul y/o rojo. Las características de transmitancia y flujo fotónico de estas micas están reportadas por Orozco-Segovia y Vázquez-Yanes (1989). Para la condición de luz blanca, las cajas Petri se introdujeron en bolsas de plástico transparentes para evitar la pérdida de humedad; y para la condición de oscuridad, las cajas se cubrieron con papel aluminio.

Las cajas se colocaron en las cámaras de crecimiento con un fotoperiodo de 12 hrs, temperatura fluctuante de 15-30°C, con termoperiodo de 12 hrs y con 4 lámparas (General Electric, 20W, blanco frío), excepto en la condición de luz rojo lejano donde se colocaron bajo luz incandescente (2 focos OSRAM, de 25W). Se registró

semanalmente el número de semillas germinadas, revisando las cajas bajo luz verde de seguridad (Fig. 6).

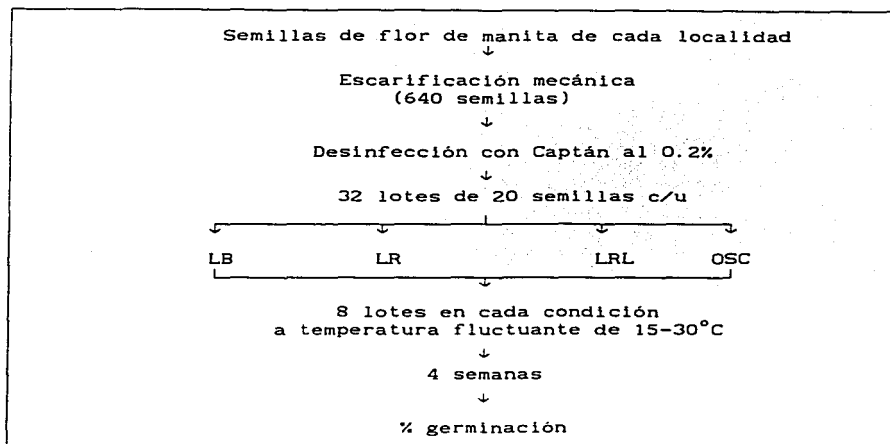


Fig.6. Método para determinar la germinación de semillas de *Ch. pentadactylon*, colectadas en Guerrero y Oaxaca, bajo cuatro condiciones de luz.

d) Estudio estructural.

Semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero, en dos etapas de desarrollo: semillas inmaduras y semillas maduras (éstas últimas escarificadas y embebidas durante 24 hrs), se cortaron con navaja en un plano transmediano y se fijaron en FAA (Formol-Alcohol etílico-Ac. acético glacial-Agua) por un tiempo mínimo de 48 hrs. Las muestras se procesaron por el método propuesto por Johansen (1940) para obtener cortes en parafina, aplicando posteriormente pruebas histoquímicas.

Después de la fijación en FAA, las muestras se lavaron con agua corriente durante 2 horas para posteriormente deshidratar el tejido en un tren de alcohol 30%, alcohol 50%, alcohol 70%, alcohol 85%, alcohol 96% y alcohol 100% (3 horas en cada alcohol). Después el tejido se

colocó 30 min en acetona, 12 hrs en xilol-paraplast 1:1 y 48 hrs de inclusión en paraplast en estufa a 55-58°C. Con un microtomo de rotación American Optical Mod. 820, se obtuvieron cortes de 8 a 10 µm. Los cortes desparafinados se tiñeron con la técnica doble Safranina-Verde rápido para observar la estructura celular. Se realizaron las siguientes pruebas histoquímicas para la detección y localización de ciertos productos químicos en los diferentes tejidos de la semilla:

- a) Acido peryódico-Reactivo de Schiff: tiñe de color rosa intenso polisacáridos insolubles.
- b) Rojo oleoso: tiñe de color rojo la cutina.
- c) Azul negro de naftol: tiñe de color azul intenso las proteínas.
- d) Tinción cuádruple de Johansen: tiñe de naranja el citoplasma, de violeta el almidón, de verde paredes primarias y de rojo paredes secundarias y núcleos.

Las observaciones y análisis de los cortes seriados se llevaron a cabo en un microscopio fotónico American Optical Mod. Phase Star.

5.2.2. PRUEBAS DE IMBIBICION Y GERMINACION CON SEMILLAS DE *Talauma mexicana*.

5.2.2.1. Trabajo de campo.

Con base en la información de los ejemplares de herbario (UACH, Fac. de Ciencias UNAM, IPN y MEXU), se eligió el municipio de Zongolica, Veracruz para recolectar flores y semillas de esta especie en la localidad de Tonalixco Chico (Fig.7). El tipo de vegetación es selva alta perenifolia (alt.950 m.s.n.m.). Las flores se recolectaron en febrero y el mayor número de frutos y semillas se recolectaron en marzo. Tanto las flores como las semillas se utilizan en la comunidad como remedio para afecciones del corazón; sin embargo existen pocos árboles de la especie en la zona siendo notoria su escasez.

Con las semillas recolectadas se realizaron las pruebas de laboratorio.

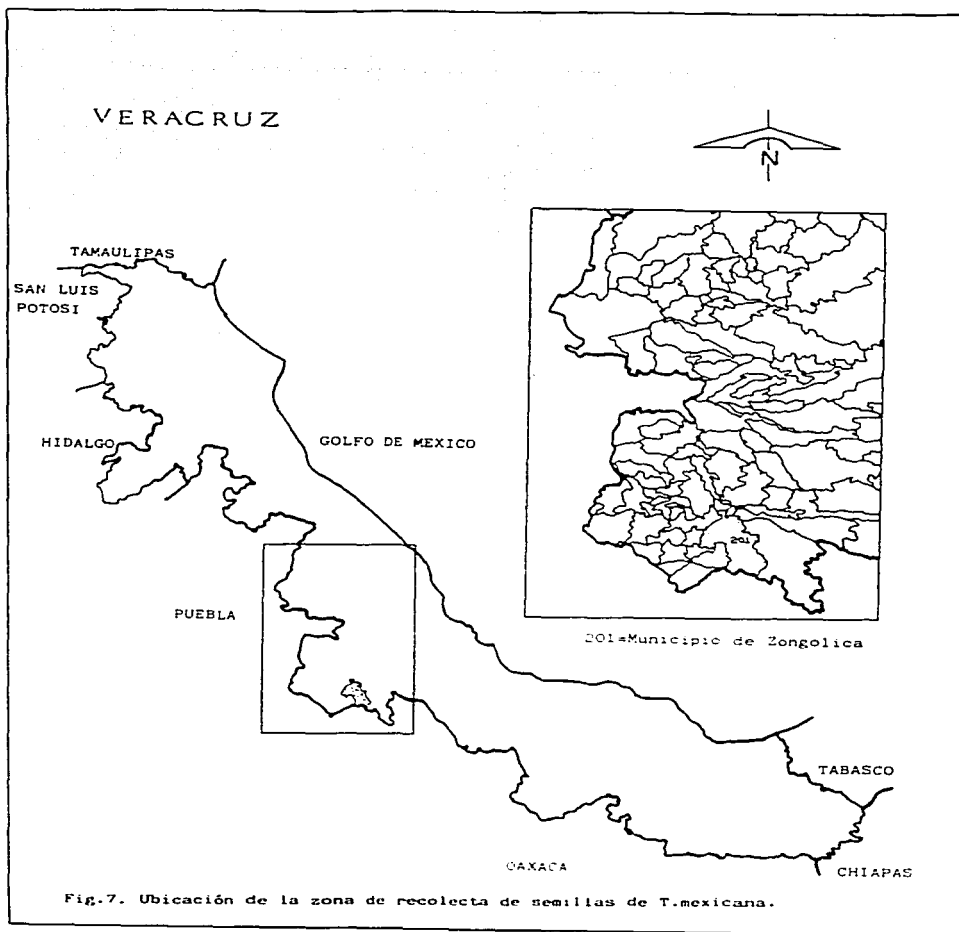


Fig.7. Ubicación de la zona de recolecta de semillas de T.mexicana.

5.2.2.2. Trabajo de laboratorio.

a) Prueba de imbibición.

Con una muestra de 200 semillas sin arilo, se realizó esta prueba de imbibición para determinar si las semillas presentaban cubierta impermeable. En 10 frascos se colocaron 20 semillas en cada uno; se obtuvo el peso inicial de cada lote y se les agregó 100 ml de agua destilada para obtener el peso cada 2 hrs durante 24 hrs. De cada lectura se obtuvo un promedio del peso de los 10 lotes.

b) Pruebas de germinación.

Las semillas utilizadas en la prueba de imbibición se escarificaron mecánicamente con lija (200 semillas totales). Se desinfectaron con Captán al 0.2% y se dividieron en lotes de 20 semillas cada uno. Se colocaron en cajas de plástico de 12 x 11 x 4.5 cm de altura. Debido a que después de 2 meses no se obtuvo ninguna respuesta de germinación y las semillas tuvieron un proceso de putrefacción, se realizaron diferentes pruebas con lotes de 10 semillas en cada uno, probando los siguientes tratamientos: escarificación con ácido sulfúrico concentrado durante 5 minutos; escarificación mecánica con lija y aplicación de ácido giberélico (1000 ppm); agua hirviendo durante 15 segundos y 15 segundos en agua a 15°C; agua hirviendo durante 1 minuto y 15 segundos en agua a 5°C. Un lote de cada prueba se colocó bajo temperatura constante de 25°C y otro lote en temperatura fluctuante de 15-30°C.

c) Estudio estructural.

Con semillas maduras de *T. mexicana*, previamente escarificadas y embebidas durante 24 hrs. se siguió el mismo método aplicado a las semillas de *Ch. pentadactylon*, eliminando después de la imbibición la cubierta seminal para lograr la inclusión del material con paraplast.

5.2.3. Análisis fitoquímico.

Este estudio es una aportación preliminar del análisis químico comparado entre flores y semillas de ambas especies, para detectar los

grupos de metabolitos secundarios en los extractos así como para determinar el número aproximado de componentes de los mismos, por cromatografía en placa delgada.

Respecto a *Ch. petadactylon* se utilizaron 50 g de flor seca y molida; 16.9 g de semilla madura deshidratada y molida y 5 g de arilo fresco. Con cada muestra se realizaron 3 extracciones de 8 hrs cada una en Soxhlet, empleando los disolventes: hexano, acetato de etilo y metanol. Se calculó el rendimiento de cada uno de los extractos obtenidos para posteriormente realizar las pruebas cromogénicas de metabolitos secundarios y los perfiles cromatográficos con los extractos, excepto aceites. Las pruebas de metabolitos secundarios se hicieron a una concentración de 5 mg/ ml, y algunas pruebas se repitieron duplicando la concentración (10 mg / ml) para corroborar los resultados. Para obtener las placas cromatográficas se probaron diferentes sistemas de eluyentes y se seleccionaron los más apropiados.

Se siguió el mismo método con las flores y semillas de *T. mexicana*, pero en esta especie se dividió el material recolectado de las flores en dos grupos: botones pequeños (6 cm promedio de longitud) y botones grandes (10 cm promedio de longitud). Respecto a las sarcotestas de las semillas de esta especie, se realizó una extracción en fresco con cloruro de metileno durante 24 hrs, debido a sus propiedades organolépticas (olor agradable). Con este extracto se realizó una placa cromatográfica revelada con reactivo de Lieberman para identificar terpenos y con el material seco se hizo una extracción metanólica (Figs. 8 y 9).

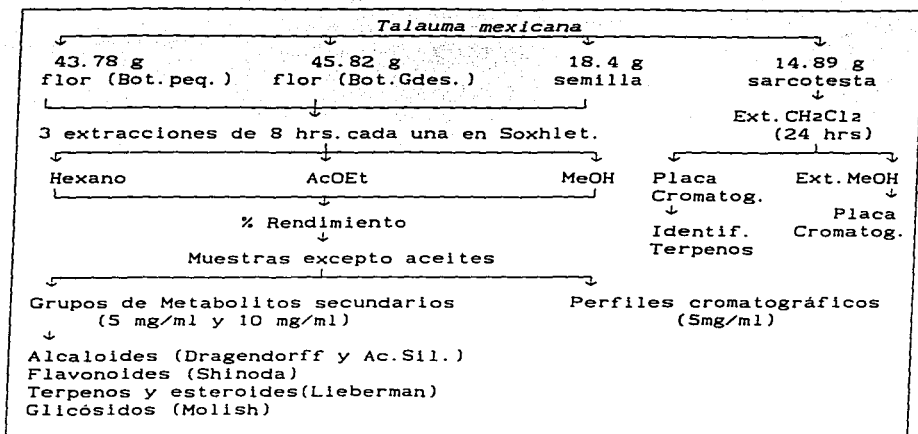


Fig. 9. Método para el análisis fitoquímico de flores y semillas de *T. mexicana*.

5.2.4. Análisis edafológico.

En los tres sitios de recolecta de flores y semillas de ambas especies (Guerrero, Oaxaca y Veracruz), se hizo un pozo de 50 cm de profundidad sacando aproximadamente 1 kg de suelo cada 10 cm (5 muestras totales). Las muestras se secaron y tamizaron (tamiz de abertura 1.91 mm), para realizar las siguientes pruebas (Apéndice 9.3):

- pH: Pasta a saturación con potenciómetro.
- Conductividad eléctrica: Puente de conductividad.
- Materia orgánica: Método Walkley-Balck, por oxidación con ácido sulfúrico y dicromato de potasio, titulando con sulfato ferroso 0.5 N.
- Textura: Hidrómetro.
- Nitratos: Método con el ácido fenoldisulfónico.
- Potasio: Flamómetro.
- Densidad aparente: Método de terrón con parafina.

- Fósforo: Método del color azul molibdofosfórico, por reducción con ácido cloroestannoso en un sistema de ácido clorhídrico.
- Carbonatos: Método de neutralización ácida con ácido clorhídrico e hidróxido de sodio (Black, 1965).

Los resultados de los diferentes análisis se compararon con tablas de características de suelos del Instituto Nacional de Agricultura (INA) y de Aguilera (1989) que, aunque se utilizan para suelos de plantas cultivadas, permiten tener una descripción de las condiciones del suelo ya que no hay este tipo de tablas para plantas silvestres.

6.0. RESULTADOS Y DISCUSION

A) RESPUESTA GERMINATIVA Y MORFOLOGIA DE SEMILLAS DE *Chiranthodendron pentadactylon*.

6.1. Características de las semillas.

El peso, longitud y contenido de humedad de las semillas de Guerrero fueron significativamente mayores que los de las semillas de Oaxaca ($F(1,198) = 117.666$, $P = 0.0001$; $F(1,198) = 38.517$, $P = 0.0001$; $F(1,9) = 33.076$, $P = 0.0004$ respectivamente) (Apéndice, Cuadros 1 al 6). En las semillas de Oaxaca se encontró un alto porcentaje de semillas plagadas con el coleóptero *Acanthoscelides alficola* Sharp. (32.5%), el cual estaba ausente en las semillas de Guerrero (Cuadro 1).

	Semillas de Miahutlán, Oax.	Semillas de Carrizal de Bravos, Gro.
Peso (g)	0.0254 ± 0.004*	0.0326 ± 0.006
Longitud (mm)	4.71 ± 0.32*	5.12 ± 0.56
Cont. Hum. (%)	6.9 ± 0.3*	9.4 ± 0.9
Viabilidad	17.4 ± 4.6*	46.0 ± 4.1
Color	Semilla: Negro; Arilo: Anaranjado rojizo.	

Cuadro 1. Características de las semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Carrizal de Bravos, Guerrero y San José del Pacífico, Oaxaca. * $P \leq 0.05$.

6.1.2. Respuesta germinativa de semillas de *Ch. pentadactylon*.

a) Almacenamiento.

Las semillas de Guerrero, incrementaron su porcentaje de germinación con el tiempo de almacenamiento (Fig. 10A, Cuadro 2). La capacidad germinativa después de los 6 meses de almacenamiento fue igual a la esperada de acuerdo a la prueba de viabilidad ($t(11) = 0.94$, $P = 0.4$) (Apéndice, Cuadro 7) (Fig. 10A, Cuadro 1). No hubo diferencia

significativa en la velocidad de germinación a lo largo del tiempo de almacenamiento, excepto en los meses 5 y 6 donde la velocidad fue mayor ($F(6,11) = 9.37$, $P = 0.0003$) (Apéndice, Cuadros 8 y 9) (Cuadro 2). El contenido de humedad de las semillas al final del periodo de almacenamiento fue menor que el inicial ($F(1,8) = 203.17$, $P = 0.0001$) (Apéndice, Cuadros 10 y 11) (Cuadro 2). La edad de las semillas (tiempo después de recolecta) al final del periodo de almacenamiento fue de 9 meses.

Con las semillas de Oaxaca no se realizaron pruebas de almacenamiento dada la baja cantidad de semillas disponibles. La prueba de viabilidad de las semillas recién cosechadas mostró valores significativamente menores a la capacidad germinativa ($t(11) = 6.95$, $P = 0.000024$) (Apéndice, Cuadro 12) (Cuadro 1).

Mes	Germinación (%)	A	B	d.f.	r ²	F
0	33.9 ± 3.0	33.845 ± 2.7	0.06 ± 0.1	38	0.79	141.24
1	38.7 ± 2.6	47.437 ± 4.2	0.72 ± 0.3	38	0.85	210.96
2	43.8 ± 3.6	47.298 ± 4.4	0.29 ± 0.2	38	0.76	123.95
3	37.4 ± 2.9	39.409 ± 2.9	0.21 ± 0.1	38	0.83	186.16
4	48.3 ± 2.8	53.896 ± 3.4	0.38 ± 0.1	38	0.89	306.96
5	44.6 ± 2.0	72.817 ± 11.	2.07 ± 0.8	38	0.83	190.46*
6	52.6 ± 5.0	68.791 ± 11.	0.98 ± 0.5	38	0.68	82.253*
Contenido de humedad(%) inicial			9.38 ± 0.9			
Contenido de humedad(%) final			2.64 ± 0.6			

Cuadro 2. Respuesta de germinación y contenido de humedad de semillas almacenadas a 5°C durante 6 meses. Parámetros y r² de la ecuación hiperbólica ajustada $y = (A \cdot X) / (B + X)$ de cada tratamiento. * $P \leq 0.05$.

b) Respuesta germinativa de semillas de *Ch.pentadactylon* bajo los factores de escarificación, temperatura y calidad de luz.

Escarificación y temperatura.

Las semillas no escarificadas de Guerrero tuvieron una germinación muy baja tanto a temperatura constante como fluctuante. Las semillas escarificadas a temperatura constante tuvieron una germinación significativamente más baja que a temperatura alternante (Fig. 10B,

Cuadro 3). Sin embargo la velocidad de germinación fue igual ($F_{(11,24)} = 1.054$, $P = 0.4343$) (Apéndice, Cuadro 13).

Tratamiento	Germinación	A	B	d.f.	r^2	F
Esc-Tete 25°C	33.9± 3.0	33.845± 2.7	0.06± 0.1	38	0.79	141.2*
No esc-Tete 25°C	6.5± 2.9					
Esc-Tfluc 8-26°C	45.0± 2.8	45.862± 2.9	0.16± 0.1	38	0.86	230.1*
No esc-Tfluc 8-26°C	7.4± 3.4					

Cuadro 3. Porcentajes de germinación de semillas escarificadas y no escarificadas, bajo temperatura constante (25°C) y fluctuante (8-26°C). Parámetros y r^2 de la ecuación hiperbólica ajustada $y = (A \cdot X) / (B + X)$ de cada tratamiento. * $P \leq 0.05$.

Las semillas no escarificadas que se estratificaron, no incrementaron su germinación sino hasta después de su escarificación (Fig. 10 C,D) (Cuadro 4). En las semillas que se colocaron a temperatura constante y las que estuvieron en temperatura fluctuante, el porcentaje de germinación final después de la estratificación no tuvo diferencias significativas ($F_{(3,12)} = 2.934$, $P = 0.07$) (Apéndice, Cuadro 14). Al comparar la capacidad germinativa de las semillas escarificadas de la figura 10B, 10C y 10D, no hubo diferencia significativa (Apéndice, Cuadro 15); sin embargo la prueba de rango múltiple revela que las semillas que estuvieron en temperatura fluctuante después de un periodo de estratificación, germinaron significativamente más que las semillas en el mismo régimen de temperatura que no se estratificaron (Apéndice, Cuadro 16).

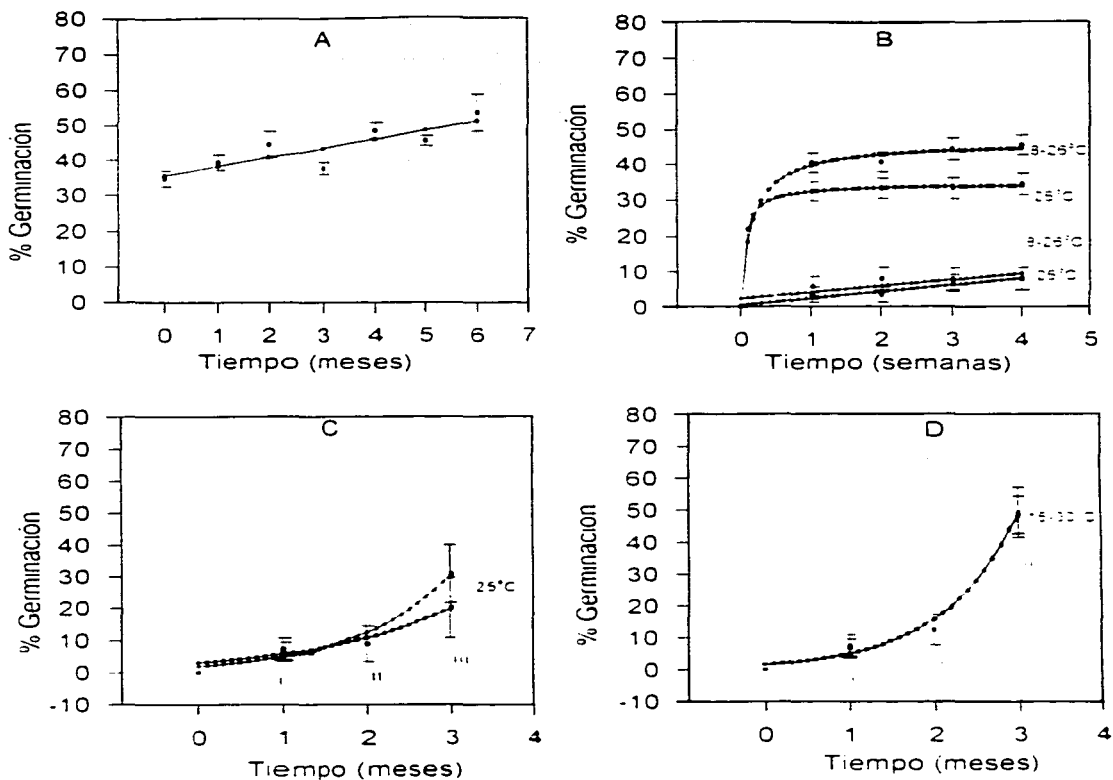


Fig.10. Germinación de semillas colectadas en Guerrero.

A) Almacenamiento a 5°C durante 6 meses, semillas escarificadas.
 B) Semillas escarificadas (●); semillas no escarificadas (▲).
 C) y D) De las semillas no escarificadas y no germinadas de B):
 I) Semillas no escarificadas a 8-26°C (●), semillas no escarificadas a 25°C (▲). II) Estratificación y germinación. III) Escarificación mecánica.

No esc-cte (25°C)	25°C	A	B	d.f.	r ²	F
	30.9±9.1	2.030±1.7	0.90±0.3	18	0.50	18.12
No esc-flu (8-26°C)	15-30°C					
	49.1±7.8	1.520±1.1	1.16±0.2	18	0.78	63.81
No esc-flu (8-26°C)	25°C					
	20.2±9.5	3.096±2.4	0.62±0.3	18	0.27	6.54
No esc-flu (8-26°C)	15-30°C					
	48.1±5.8	1.600±0.9	1.13±0.2	18	0.81	8.51

Cuadro 4. Respuesta de germinación de semillas estratificadas: esscarificación-germinación a 25°C y esscarificación-germinación a 15-30°C. Parámetros y r² de la ecuación exponencial ajustada $Y = A \cdot \text{EXP}(B \cdot X)$ de cada tratamiento. *P ≤ 0.05.

Las semillas de Oaxaca germinaron significativamente más en temperatura fluctuante que en temperatura constante (Fig.11 A) (Cuadro 5) ($F(1,62) = 46.305$, $P = 0.0001$ (Apéndice, Cuadros 17 y 18). También germinaron significativamente más que las de Guerrero, en ambas condiciones de temperatura ($F(1,125) = 439.69$, $P = 0.0001$) (Apéndice, Cuadros 19 y 20). La velocidad germinativa fue igual para ambas poblaciones, así como para los tratamientos ($F(11,24) = 1.054$, $P = 0.43$) (Apéndice, Cuadro 13).

GUERRERO						
	% Germ.	A	B	d.f.	r ²	F
T-cte (25°C)	33.9±3.0	33.84±2.7	0.06±0.1	38	0.79	141.24
T-fluc (8-26°C)	45.0±2.8	45.86±2.9	0.16±0.1	38	0.86	230.09
OAXACA						
T-cte (25°C)	61.2±2.1	62.57±1.8	0.07±0.1	38	0.97	1052.9*
T-fluc (8-26°C)	77.2±3.2	84.01±3.7	0.26±0.1	38	0.94	560.33*

Cuadro 5. Respuesta de germinación de semillas esscarificadas, bajo temperatura fluctuante, colectadas en Guerrero y Oaxaca. Parámetros y r² de la ecuación hiperbólica ajustada: $y = (A \cdot X) / (B + X)$ de cada tratamiento. *P ≤ 0.05

Efecto de la luz.

Tanto en las semillas de Guerrero como en las de Oaxaca se

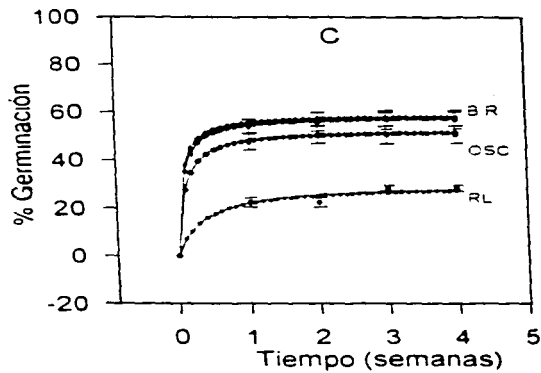
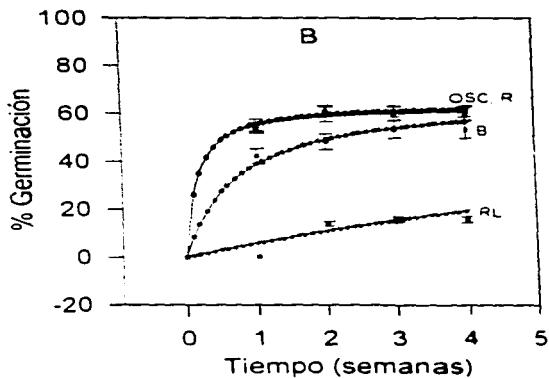
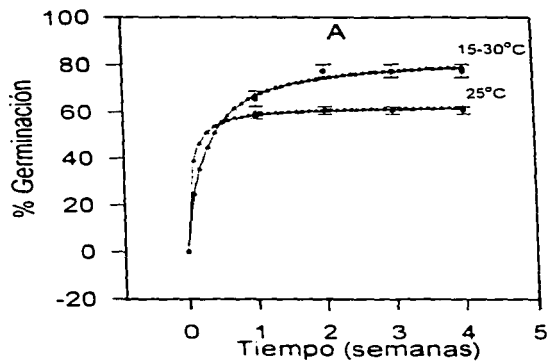


Fig. 11. A. Germinación de semillas escarificadas de Oaxaca.
 B. Germinación de semillas escarificadas de Guerrero bajo 4 calidades de luz (15-30°C) C. Germinación de semillas escarificadas de Oaxaca bajo 4 calidades de luz (15-30°C)

encontró un efecto significativo del factor calidad de luz, sobre la germinación ($F(3,90) = 159.430$, $P = 0.0001$ y $F(3,90) = 57.820$, $P = 0.0001$ respectivamente) (Fig. 11B y C) (Apéndice, Cuadros 21 y 22). La prueba de rango múltiple indicó que la capacidad germinativa entre OSC, R y LB es igual, pero el RL tuvo un efecto inhibitorio significativamente diferente a las otras calidades de luz (Cuadro 6) (Apéndice, Cuadros 23 y 24); sin embargo, la velocidad de germinación fue igual en todos los tratamientos (Apéndice, Cuadro 13). La capacidad germinativa de las semillas de Guerrero que permanecieron en OSC, R y LB fue más alta que la obtenida a temperatura fluctuante con semillas 3 meses más jóvenes que éstas (Fig. 10D) ($F(3,8) = 5.14$, $P = 0.02$) (Apéndice, Cuadros 25 y 26). También fue más alta que en semillas de la misma edad (3 meses), pero expuestas a temperatura constante (Fig. 10A) ($F(3,28) = 8.68$, $P = 0.0003$) (Apéndice, Cuadros 27 y 28).

GUERRERO						
Luz	% Germ.	A	B	d. f.	r^2	F
B	43.6 \pm 4.	44.028 \pm 3.7	0.07 \pm 0.1	38	0.77	125.24*
R	60.5 \pm 3.5	63.248 \pm 3.5	0.15 \pm 0.1	38	0.89	301.79*
RL	17.5 \pm 2.4	79.187 \pm 5.9	12.5 \pm 1.2	38	0.61	59.001*
OSC	60.9 \pm 2.6	64.230 \pm 2.6	0.16 \pm 0.1	38	0.94	589.33*
OAXACA						
B	57.2 \pm 3.8	58.437 \pm 3.4	0.07 \pm 0.1	38	0.87	264.52*
R	57.7 \pm 3.9	58.550 \pm 3.7	0.06 \pm 0.1	38	0.85	223.83*
RL	27.6 \pm 1.7	29.520 \pm 2.2	0.34 \pm 0.2	38	0.84	206.28*
OSC	51.0 \pm 4.6	52.755 \pm 4.3	0.01 \pm 0.1	38	0.79	140.02*

Cuadro 6. Porcentajes de germinación de semillas escarificadas de Guerrero y Oaxaca, bajo diferentes calidades de luz. Parámetros y r^2 de la ecuación hiperbólica ajustada $y = (A \cdot X) / (B + X)$ de cada tratamiento. * $P \leq 0.05$.

DISCUSION

Las poblaciones de semillas de *Ch. pentadactylon* estudiadas presentaron entre si diferencias morfológicas y fisiológicas. El contenido de humedad de las semillas de Oaxaca fue más bajo que el de

las semillas de Guerrero (Cuadro 1). Esto puede relacionarse con las diferencias en la pérdida de humedad en las semillas, debido a las características climatológicas de las zonas de colecta: en San José del Pacífico la temperatura promedio anual es de 19.4°C, mientras que en la localidad de Guerrero, la temperatura promedio anual es de 13.8°C (Apéndice 9.2). Además, probablemente como consecuencia del menor contenido de humedad, las semillas de Oaxaca también tienen un menor peso y longitud que las de Guerrero.

El efecto de las condiciones de temperatura durante el desarrollo de las semillas, sobre su contenido de humedad y en otras de sus características morfológicas, ha sido reportado para diferentes poblaciones de varias especies y se le ha considerado como un efecto materno en el desarrollo de las semillas (Gutterman, 1980/81; Roach y Wulff, 1987; Silvertown, 1984).

A pesar de que la población de Oaxaca estuvo altamente parasitada, las semillas que no lo estaban tuvieron una alta capacidad germinativa, que no se reflejó en las pruebas de viabilidad con cloruro de tetrazolio, pues muy pocas semillas se tiñeron. En cambio, las semillas de Guerrero se tiñeron en una proporción similar a la máxima capacidad germinativa del lote (Cuadro 1). La técnica para determinar viabilidad con el cloruro de tetrazolio indica que debe haber un periodo de imbibición de las semillas previo a la aplicación del reactivo, el cual sirve para una mejor difusión del compuesto, para activar el metabolismo de la semilla y por lo tanto, poder detectar la respiración de las semillas. Al haber diferencias en el contenido de humedad de las semillas de las poblaciones estudiadas, también pudo haber diferencias en el periodo necesario de imbibición previo a la prueba con tetrazolio; por ello, al haberse aplicado el mismo tiempo de imbibición en ambos lotes, éste pudo ser insuficiente para que la prueba resultara positiva en las semillas de Oaxaca. En diferentes especies se ha reportado la necesidad de variar tanto el periodo de imbibición previo a la aplicación del cloruro de tetrazolio como el de exposición a éste (Pili-Sevilla, 1987).

Al final de la prueba de almacenamiento, las semillas de Guerrero presentaron un porcentaje de humedad más bajo que el inicial, prolongaron su viabilidad hasta la edad de 9 meses después de la

colecta e incrementaron su capacidad germinativa con el tiempo de almacenamiento (Cuadro 2, Fig. 10A). El incremento en la capacidad germinativa también se refleja en las semillas de mayor edad que se utilizaron en las pruebas de luz (Fig. 11B). Estos resultados son contrarios a lo reportado por García y Perales (1990), quienes encontraron que la viabilidad se pierde en un plazo de 3 meses, aún almacenándolas a temperaturas similares a la utilizada en el presente trabajo (5°C). La interpretación de estos autores puede deberse a que no almacenaron las semillas en condiciones de baja humedad, como se recomienda en la literatura (Gómez-Campo, 1985), y a la aplicación incorrecta de la prueba de germinación.

Aunque no fue posible ampliar el periodo de almacenamiento, dada la baja cantidad de semillas disponibles, las semillas de *Ch. pentadactylon* pueden considerarse como ortodoxas, al no perder su viabilidad con el almacenamiento a bajas temperaturas y con un bajo contenido de humedad, como ocurre con las semillas ortodoxas reportadas en la literatura (Hong y Ellis, 1990).

Las semillas de *Ch. pentadactylon* se caracterizaron por la presencia de una testa dura, por lo que las pruebas de germinación sólo fueron exitosas con las semillas escarificadas. Esto puede explicar la baja capacidad germinativa reportada previamente para la especie (García y Perales, 1990).

Las semillas de Guerrero presentaron inicialmente una baja capacidad germinativa, que se incrementó con el tiempo (Fig. 10A); mientras que las de Oaxaca tienen una alta capacidad germinativa prácticamente desde la colecta (Fig. 11 A y C). La diferencia entre ambas poblaciones también puede atribuirse a las temperaturas que se presentan en Guerrero, más bajas que las de Oaxaca a lo largo del año (Apéndice 9.2). El incremento en la capacidad germinativa con el transcurso del tiempo, indica la pérdida de una latencia endógena, causada por un inadecuado balance hormonal de la semilla (Villiers, 1972). Este tipo de control en la naturaleza, es un medio para prevenir la germinación hasta después que el invierno ha pasado (Bewley y Black, 1985).

El tratamiento térmico que indujo la germinación en forma más favorable, fue la fluctuación de temperatura (Figs. 10B, D, 11A). La

aplicación de una temperatura menor a 25°C, ya sea como parte de un tratamiento de fluctuación diaria de temperatura, o previa a un periodo de temperatura constante de 25°C, incrementó la germinación.

Tanto el requerimiento de una temperatura relativamente baja para la germinación, como el incremento en la capacidad germinativa a lo largo del tiempo de almacenamiento en las semillas de Guerrero, son características comunes a las especies de climas templados, donde son frecuentes estas temperaturas bajas durante el invierno o la primavera (Baskin y Baskin, 1988). En las zonas de colecta, esta fluctuación se presenta no sólo a lo largo del año, si no también de forma diaria. El obtener una alta germinación a los nueve meses de almacenamiento a temperatura constante, refleja la pérdida de requerimiento de una temperatura moderadamente baja para romper la latencia endógena.

El hecho de que la velocidad de germinación no difiera entre las semillas que germinaron en los diferentes tratamientos térmicos, indica que la temperatura está afectando principalmente la capacidad germinativa (Apéndice, Cuadro 13) (Bewley y Black, 1985). A diferencia de las semillas de Guerrero, las semillas de Oaxaca después de tres meses redujeron su capacidad germinativa, probablemente a causa de la adquisición de latencia secundaria. La germinación de semillas de ambos sitios fue de fotoblásticas indiferentes que se inhiben bajo RL (Figs. 11 B y 11 C), lo que indica que la semilla se libera con una relación Pfr/Pr (forma metabólicamente activa del fitocromo/ forma metabólicamente inactiva) adecuada para la germinación (Pons, 1992); sin embargo este balance se reduce al exponerse las semillas al RL, inhibiéndose la germinación, como ocurre en semillas de otras especies (Van Rooden *et al.*, 1970)

En condiciones naturales *Ch. pentadactylon* se dispersa por aves (Toledo, 1975), por lo que probablemente las semillas se escarifiquen al pasar por su tracto digestivo, o bien durante su permanencia en el suelo; de esta manera, podrían germinar en la superficie del suelo o enterradas, en condiciones de oscuridad. El rompimiento de la impermeabilidad es un proceso que distribuye la germinación en el tiempo e incrementa las posibilidades de que algunas semillas germinen y completen su ciclo de vida (Egley, 1989). La acumulación de hojarasca sobre las semillas, como ocurre con frecuencia en los bosques de

pino-encino (donde crece *Ch. pentadactylon*), reduce el valor de la relación entre rojo y rojo lejano de la luz a la que quedan expuestas las semillas (Vázquez-Yanes et al., 1990). Esto favorecería la germinación de un pequeño porcentaje de semillas, pero también permitiría la permanencia en el suelo de un porcentaje mayor, formando un banco de semillas.

El requerimiento de fluctuación de temperaturas para germinar de una parte de la población, permitiría que sólo un porcentaje germinara en niveles superficiales, en donde la mayor amplitud en la fluctuación de temperatura, sería el estímulo ambiental que indicara la proximidad a la superficie del suelo (Probert, 1992). En algunas especies, la amplitud de fluctuación de temperatura requerida para germinar se incrementa con la oscuridad (Thompson y Grime, 1983). Sin embargo en esta especie indiferente a la luz, la temperatura más bien debe tener un efecto a nivel enzimático, modificando la capacidad germinativa y/o sobre el balance hormonal de las semillas (Bewley y Black, 1985), como lo indica la presencia de una latencia endógena en una fracción de la población.

La hojarasca por un lado amortigua la fluctuación de la temperatura y por otra favorece la transmisión del RL (Holmes y Smith, 1977; Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1992). La inhibición de la germinación por RL y el requerimiento de alternancia de temperatura, son quizás una adaptación que permita sobrevivir a una fracción de la población de semillas bajo la hojarasca hasta que ésta sea removida o perturbada por un disturbio natural o humano (Thompson et al., 1977; Benech et al., 1988); el resto de la población podría germinar en cualquier otra condición ambiental, bajo la hojarasca y dentro del bosque. En las regiones de México, donde se realizó la recolecta de semillas (Guerrero y Oaxaca), la especie sobrevive principalmente en claros debido a la tala de los bosques.

Al igual que las diferencias morfológicas en distintas poblaciones, las diferencias en los requerimientos para la germinación de las poblaciones de *Ch. pentadactylon* han sido atribuidas a un efecto materno inducido por las condiciones ambientales durante la germinación. El efecto materno puede dar como resultado una mayor adecuación de las especies a condiciones locales, como lo demuestran

los trabajos de Thompson (1970; 1973; 1975), en poblaciones de especies distribuidas en diferentes partes de Europa. Por otra parte también pueden tener incidencia en el éxito de programas de conservación de germoplasma y propagación de la especie, ya que pueden variar tanto los requerimientos de germinación como la capacidad germinativa y la posibilidad de almacenamiento a largo plazo.

Las variaciones morfológicas encontradas entre las dos poblaciones de *Ch. pentadactylon*, indican que para almacenarse por tiempos prolongados las semillas de Oaxaca deben pasar por un examen fitosanitario previo, aunque dada su mayor capacidad germinativa y su menor contenido de humedad, muestran características más apropiadas para su almacenamiento que las semillas de Guerrero. Sin embargo, aún falta valorar el posible desarrollo de latencia secundaria en esta especie durante el almacenamiento y los mecanismos para romperla.

Es necesario realizar estudios enfocados a la respuesta de las semillas de *Ch. pentadactylon* bajo condiciones de campo, para compararla con la de laboratorio y corroborar que la germinación en esta especie se favorece con la fluctuación de temperaturas e incremento de la relación R/RL, condiciones que pueden darse con la perturbación de la hojarasca en el suelo. Debido a que el número de semillas recolectadas no fue suficiente para evaluar la viabilidad de las semillas almacenadas durante periodos mayores, es importante continuar los estudios en esta área para conformar en un futuro, un banco de semillas que permita conservar y propagar esta especie.

6.1.3. Estudio estructural.

La interpretación de los cortes se realizó con base en la descripción de algunos géneros de la familia Sterculiaceae (Corner, 1976).

La cubierta de la semilla inmadura está formada por exotesta y endotesta. La exotesta se divide en: epidermis con taninos y parénquima, cuya proliferación forma el arilo, el cual presenta abundante depósito de almidón. El arilo presenta haces vasculares (Fig.12), lo que hace pensar que posiblemente se derive del funículo.

La endotesta está formada por: esclerénquima con células

nucleadas (Fig.13); parénquima pluriestratificado con taninos en el extremo calazal y uniestratificado hacia la región micropilar, y cutícula que rodea al endospermo nuclear. Debajo de esta cutícula, en el extremo calazal se presentan restos de nucela y el embrión globular se desarrolla en la región micropilar (Figs. 14 y 15). En el extremo calazal, se observó un adelgazamiento del esclerénquima de endotesta, que podría ser una zona que permita la entrada de agua para la imbibición de la semilla (Fig.16).

En la semilla madura, el arilo presenta un mayor depósito de almidón además de un depósito abundante de lípidos (Fig.17). El esclerénquima de la endotesta presenta las paredes engrosadas, con un depósito diferencial de sustancias impermeables, donde se distingue una línea clara. Debido al engrosamiento de las paredes, el contenido celular se pierde y ya no se observan núcleos (Fig.18). El depósito de taninos es más evidente en el parénquima pluriestratificado de endotesta, en la región calazal. En el parénquima uniestratificado, hacia la región micropilar, las células no se observan cúbicas como en semilla inmadura, sino aplanadas y rectangulares. Permanece la cutícula que rodea al endospermo y los restos de nucela en el extremo calazal. El embrión presenta un depósito abundante de proteínas (Fig.19).

La presencia de sustancias que se asocian con la impermeabilidad de la cubierta al agua, es evidencia que permite apoyar la respuesta germinativa: dado que las semillas no escarificadas no rebasaron el 8% de germinación y las semillas escarificadas alcanzaron cerca del 50%, se pueden caracterizar como semillas duras o con cubierta impermeable. La impermeabilidad estaría dada en la semilla madura por el depósito de taninos en epidermis de exotesta y parénquima de endotesta, el engrosamiento del esclerénquima de endotesta con depósito diferencial de sustancias impermeables y presencia de línea clara, y por la cutícula que separa el embrión de la cubierta seminal.

B) PRUEBAS PRELIMINARES DE GERMINACION Y MORFOLOGIA DE SEMILLAS DE *Talauma mexicana*.

6.2. Características de los frutos y semillas.

- Fig.12. Corte longitudinal de semilla madura (*Ch. pentadactylon*). Tinción Cuádruple de Johansen. Pa= Parénquima de exotesta (arilo) Hv= haces vasculares Es= Esclerénquima de endotesta. 25X. Campo Claro.
- Fig.13. Corte longitudinal de semilla inmadura (*Ch. pentadactylon*). Tinción Cuádruple de Johansen. Es= Esclerénquima de endotesta Nu= Núcleo de esclereida Dd= Depósito diferencial de sustancias impermeables. 150X. Campo Claro.
- Fig.14. Corte longitudinal de semilla inmadura, región calazal (*Ch. pentadactylon*). Tinción con rojo oleoso. Pa= Parénquima pluriestratificado con taninos Cn= Cutícula nucelar Rn= Restos de nucela En= Endospermo. 50X. Contraste de fases.

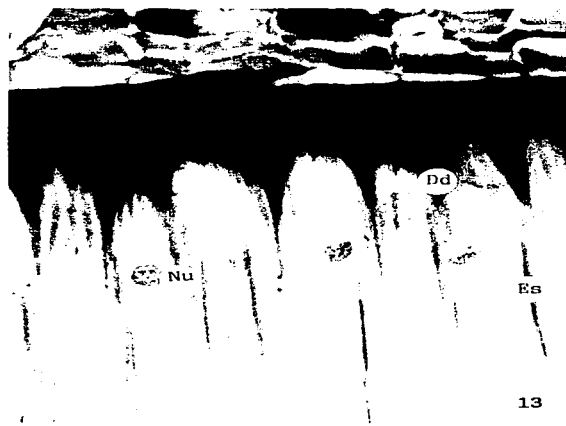


Fig. 15. Corte longitudinal de semilla inmadura, región micropilar (*Ch. pentadactylon*). Tinción Cuádruple de Johansen. En= Endospermo nuclear Eg= Embrión globular Cn= Cutícula nucelar Pa= Parénquima de endotesta. 50X. Campo Claro.

Fig. 16. Corte longitudinal de semilla inmadura, región calazal (*Ch. pentadactylon*). Tinción con Azul negro de naftol. Pa1= Parénquima de exotesta Es= Esclerénquima de endotesta Pa2= Parénquima pluriestratificado de endotesta con taninos. 25X. Campo Claro.

Fig. 17. Preparación en fresco de arilo de *Ch. pentadactylon*. Tinción con lugol. Gra= Gránulos de almidón Li= Lípidos. 150X. Contraste de Fases.

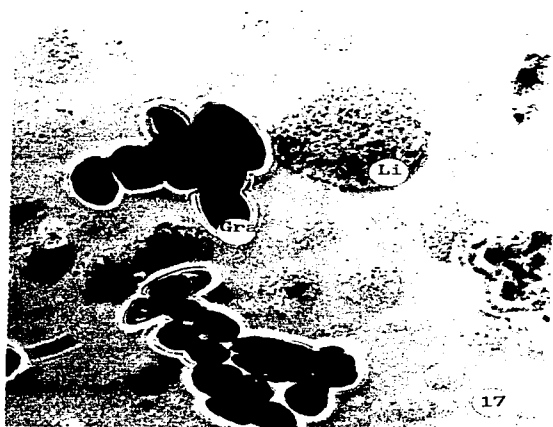
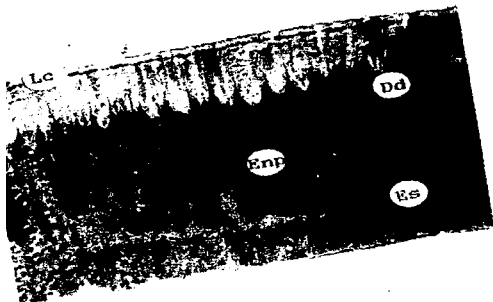


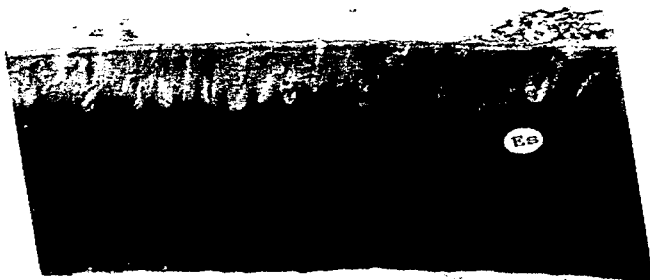
Fig. 18. Corte longitudinal de semilla madura (*Ch. pentadactylon*).
Tinción con Azul negro de naftol. Es= esclerénquima de
endotesta Enp= Engrosamiento de paredes Lc= Línea clara Dd=
Depósito diferencial de sustancias impermeables. SOX. Campo
Claro.

Fig. 19. Corte longitudinal de semilla madura (*Ch. pentadactylon*).
Tinción con Azul negro de naftol. Es= esclerénquima de
endotesta Pa= Parénquima uniestratificado de endotesta con
taninos Co= Cotiledón con cuerpos protéicos. SOX. Campo Claro.

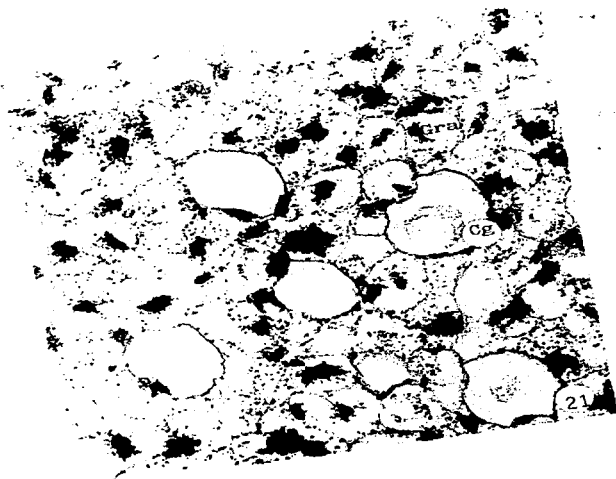
Fig. 21. Corte longitudinal de sarcotesta (*T. mexicana*). Tinción Acido
Peryódico- Reactivo de Schiff. Cg= Células glandulares Gra=
Gránulos de almidón. 38X. Campo Claro.



18



19



El fruto de esta especie es un polifolículo; cada folículo es un fruto seco simple con una sola línea de dehiscencia que se une al eje floral. En cada folículo se desarrollan de 1 a 2 semillas unidas por un funículo tipo hebra; las semillas están completamente rodeadas por una sarcotesta. En la base del eje floral se presentan las cicatrices de las anteras y tépalos.

Los datos promedio de los 18 frutos colectados son los siguientes (Cuadro 7):

Longitud eje floral (cm)	9.88 ± 0.92
Longitud polifolículo (cm)	14.86 ± 1.07
Diámetro polifolículo (cm)	25.60 ± 1.89
Peso polifolículo (cm)	380.56 ± 99.8

Cuadro 7. Características morfológicas: longitud, peso y diámetro de los frutos de *T. mexicana*.

De los frutos colectados en febrero de 1996 se obtuvo un promedio de 19 semillas por fruto (244 semillas totales) y de los colectados en marzo, un promedio de 44 semillas por fruto (523 semillas totales). Los datos morfológicos de una muestra de 100 semillas son los siguientes:

Peso, sin sarcotesta (g)	0.2863 ± 0.06
Longitud, sin sarcotesta (mm)	12.11 ± 0.81
Ancho, sin sarcotesta (mm)	10.83 ± 1.50
Color, sin sarcotesta	Café oscuro (7F7) o negro (6F3)
Peso, con sarcotesta (g)	0.476 ± 0.09
Longitud, con sarcotesta (mm)	12.78 ± 0.74
Ancho, con sarcotesta (mm)	11.13 ± 1.60
Color, con sarcotesta	Rojo langosta (9B8)

Cuadro 8. Características morfológicas: longitud, ancho, color y peso de semillas de *T. mexicana*.

6.2.1. Pruebas de imbibición, germinación y estructura.

La imbibición de las semillas ocurrió durante las dos primeras horas (Fig.20), encontrando diferencias significativas entre las primeras horas de imbibición con respecto al tiempo restante ($F(12,117) = 31.699$, $P = 0.0001$) (Apéndice, Cuadros 29 y 30). La imbibición ocurrió en el transcurso de las dos primeras horas. Con base en los resultados, sería conveniente repetir esta prueba, disminuyendo los tiempos de imbibición (cada 10 minutos durante 3 horas) para conocer la cinética del proceso. Con esta prueba se determinó que la cubierta seminal le confiere resistencia mecánica a la semilla pero no impermeabilidad, ya que sí ocurrió el proceso de imbibición (Cuadro 9).

Tiempo (hrs)	Peso (g)
0	6.43 ± 0.28
2	8.90 ± 0.25
4	8.70 ± 0.64
6	8.90 ± 0.38
8	9.10 ± 0.31
10	8.90 ± 0.37
12	9.20 ± 0.34
14	9.10 ± 0.61
16	9.30 ± 0.47
18	9.00 ± 0.42
20	8.90 ± 0.38
22	9.00 ± 0.36
24	9.40 ± 0.42

Cuadro 9. Imbibición de semillas de *T. mexicana*, durante 24 hrs.

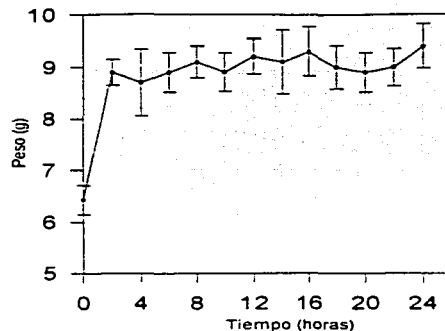


Fig.20. Imbibición de semillas de *Talauma mexicana*, durante 24hrs.

Dada la cantidad limitada de semillas de *T. mexicana*, las mismas que se utilizaron en la prueba de imbibición, se escarificaron mecánicamente con lija y se colocaron en condiciones de germinación. Después de un mes las semillas no germinaron y presentaron putrefacción, al igual que en los diferentes tratamientos probados: escarificación con ácido sulfúrico, giberelinas y agua hirviendo. Aunque las semillas secas realizaron la primera etapa de la germinación (la imbibición), no se logró completar el proceso hasta obtener la salida de la radícula. Las causas podrían ser: una viabilidad muy baja de las semillas, la dureza de las cubiertas podría ejercer una barrera mecánica que impida el crecimiento del embrión o presencia de inmadurez embrionaria (morfológica y/o fisiológica), por lo que quizás requieran de un período de postmaduración para su germinación el cual puede lograrse con almacenamiento en seco por un tiempo determinado. En la prueba de imbibición flotaban la mayoría de semillas, quizá gran parte de ellas eran vanas o presentan cámaras de aire entre el endospermo y la cubierta seminal, que provocaran su flotación.

En los cortes obtenidos de la sarcotesta, se observaron células glandulares (posiblemente laticíferos) y abundante depósito de almidón (Fig.21). Sin embargo con los tiempos de deshidratación e inclusión probados, no se lograron obtener cortes de la cubierta seminal y de la estructura interna de la semilla debido a su dureza, por lo que es necesario continuar los estudios modificando la técnica, para poder

describir su estructura y comprobar si se presentan cámaras de aire que provoquen la flotación de las semillas o si se debe a que la mayoría de las semillas eran vanas.

C) ANALISIS FITOQUIMICO.

6.3. Grupos de metabolitos secundarios.

Los extractos de flor, arilo y semilla de manita (*Ch. pentadactylon*) y de flor de corazón (*T. mexicana*), tuvieron el siguiente rendimiento en las diferentes muestras:

Muestra	Cantidad de ext. (g)			Rendimiento (%)		
	Hex.	AcOEt	MeOH	Hex.	AcOEt	MeOH
Flor de manita	0.28	0.41	2.22	0.56	0.82	4.45
Arilo de manita	2.30	0.63	0.16	46.04	12.61	3.24
Semilla de manita	2.55	0.22	0.70	15.06	1.29	4.18
Flor de corazón (botones pequeños)	0.52	0.38	5.51	1.20	0.88	12.6
Flor de corazón (botones grandes)	0.86	0.60	5.03	1.87	1.27	10.98
Sarcotesta de corazón	----	----	4.74	----	----	31.85
Semilla de corazón	6.63	1.27	0.60	36.05	6.89	3.81

Cuadro 10. Rendimiento (%), de los extractos hexánicos, de AcOEt y metanólico, de flores y semillas de *Ch. pentadactylon* y *T. mexicana*.

Los resultados de las pruebas coloridas y de precipitación (Cuadros 11, 12 y 13), se evaluaron con base en la siguiente escala:

- +, ligeramente positiva
- ++, positiva
- +++, positiva marcada
- ++++, fuertemente positiva
- , negativa

Las pruebas cromogénicas de metabolitos secundarios y los perfiles cromatográficos se realizaron con los diferentes extractos, excepto aceites. Los extractos en los que se obtuvo aceite esencial

fueron los siguientes: a) de *Ch. pentadactylon*: extracto hexánico y de AcOEt del arilo de la semilla y extracto hexánico de semilla; b) de *T. mexicana*: extracto hexánico de semilla y extracto metanólico de sarcotesta de semilla.

En los extractos hexánicos, la reacción para terpenos y esteroides fue más intensa en flor de manita (*Ch. pentadactylon*) respecto a los botones florales grandes de corazón (*T. mexicana*); en los botones chicos de la misma especie, no se detectaron estos compuestos (Cuadro 11).

En los extractos de acetato de etilo no se puso de manifiesto la presencia de alcaloides en ninguna de las muestras. Se detectaron flavonoides en los botones grandes de corazón (*T. mexicana*) y terpenos y esteroides en los botones chicos de esta especie. Se detectaron glicósidos tanto en flor como en semilla de corazón y en semilla de manita, siendo la reacción más intensa en los botones pequeños de corazón (Cuadro 12).

En los extractos metanólicos, se detectaron alcaloides en la semilla de corazón, siendo la reacción más intensa con el reactivo de Dragendorff. Se puso de manifiesto la presencia de flavonoides en flor de manita y flor de corazón, siendo la reacción más intensa en los botones grandes de esta especie. Los terpenos y esteroides sólo se detectaron en flor de manita. Respecto a los glicósidos, éstos se detectaron en todas las muestras, con intensidad de reacción en orden creciente en: arilo, flor y semilla de manita, semilla y flor de corazón (Cuadro 13).

Al comparar los resultados de ambas especies, se obtuvo lo siguiente: a) En las flores de ambas especies se detectó la presencia de flavonoides, terpenos, esteroides y glicósidos; en la flor de manita, la reacción positiva a flavonoides podría corresponder al pigmento rojo de la flor reportado en trabajos previos (Sodi- Pallares y Martínez Garza, 1949; Domínguez y Gutiérrez, 1972); b) En las semillas de ambas especies se detectó la presencia de glicósidos y c) En semilla de corazón se detectaron alcaloides, no así en semilla de manita. Esta reacción negativa a alcaloides se ha reportado no sólo para la semilla sino también para la flor de manita (Domínguez y Gutiérrez, 1972). La reacción positiva a alcaloides en la semilla de *T.*

mexicana podría deberse a la presencia de aztequina y talaumina, alcaloides aislados de las hojas de esta especie (Sodi y Pallares, 1948); la presencia de alcaloides de naturaleza aporfinica en las hojas, se ha reportado para otras especies de este género como *T. ovata* (Morato *et al.*, 1989).

En las dos etapas de desarrollo de las flores de corazón (botones grandes y pequeños), se detectó la presencia de flavonoides, pero la reacción fue más intensa en los botones grandes. En ambas etapas se manifestó la presencia de terpenos y esteroides, con igual intensidad de reacción, al igual que los glicósidos.

Considerando las determinaciones obtenidas con los diferentes solventes, los grupos de metabolitos secundarios se encontraron de la siguiente manera:

Flor de manita	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Terpenos y esteroides} \\ \text{Flavonoides} \end{array} \right.$	Semilla de manita	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Glicósidos} \end{array} \right.$
Flor de corazón	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Terpenos y esteroides} \\ \text{Flavonoides} \end{array} \right.$	Semilla de corazón	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Alcaloides} \\ \text{Glicósidos} \end{array} \right.$

La presencia de esteroides y glicósidos, en las flores y semillas de ambas especies, podrían indicar la presencia de compuestos con propiedades digitálicas, como lo reportado en semillas y corteza de *T. mexicana* (Mendoza y Herrera, 1866), que podrían relacionarse con el uso medicinal que se les ha dado tradicionalmente a las flores al consumirlas en infusión como remedio para afecciones del corazón, presión alta y sedante para los nervios.

Reacción de Lieberman-Burchard para los extractos hexánicos	
Muestra	Reacción
Flor de manita	+ + (verde)
Flor de corazón (Botones. peq.)	—
Flor de corazón (Botones gdes.)	+

Cuadro 11. Resultados de la prueba para detectar terpenos y esteroides en los extractos hexánicos de flores.

Extractos de AcOEt					
Muestra	Alcaloides Drag.	Ac. Sil.	Flavonoides Shinoda	Terp. y Est. Lieb-Bur.	Glicósidos Molish
Flor de manita	—	—	—	—	—
Semilla manita	—	—	—	—	+
Flor de corazón (Botones peq.)	—	—	—	+	+ +
Flor de corazón (Botones gdes.)	—	—	+	—	+
Semilla de corazón	—	—	—	—	+

Cuadro 12. Resultados de las pruebas de metabolitos secundarios, en los extractos de AcOEt de flores y semillas.

Extractos Metanólicos					
Muestra	Alcaloides Drag.	Flavonoides Ac.Sil.	Terp.y Est. Shinoda Lieb-Bur.	Glicósidos Molish	
Flor de manita	—	—	+ (rosa)	+ (rosa)	+ +
Semilla manita	—	—	—	—	+ +
Arilo manita	—	—	—	—	+
Flor de corazón (Botones peq.)	—	—	+ +	—	+ + +
Flor de corazón (Botones gdes.)	—	—	+ + +	—	+ + +
Semilla de corazón	+ +	+	—	—	+ +

Cuadro 13. Resultados de las pruebas de metabolitos secundarios, en los extractos metanólicos de flores y semillas.

6.3.1. Perfiles cromatográficos.

En las figuras 22 a 27 se muestran las placas cromatográficas corridas con el eluyente más apropiado.

Los extractos hexánicos de las flores de ambas especies, presentaron semejanza en el número aproximado de componentes, así como en la polaridad de los mismos (Fig.22). En los extractos metanólicos de flores y semillas, se observó un mayor número de componentes de mayor polaridad en flor de manita (*Ch. pentadactylon*), respecto a los botones pequeños y grandes de corazón (*T. mexicana*), entre los cuales no se observaron diferencias. La polaridad y el número de componentes son muy semejantes en los extractos metanólicos de las semillas de ambas especies (Fig.23).

En los extractos de acetato de etilo se observó semejanza en el número de componentes de las flores de ambas especies, a diferencia de la semilla, ya que en las semillas de corazón (*T. mexicana*), se encontró un mayor número de componentes respecto a la semilla de manita (Fig. 24).

Los cromatogramas de las cubiertas de las semillas de ambas especies (arilo o sarcotesta), no pudieron compararse porque la

composición del material es distinta. Los extractos se obtuvieron con diferentes solventes debido a las propiedades organolépticas (olor agradable), de la sarcotesta de las semillas de *T. mexicana*. Al considerarlos por separado, el extracto metanólico del arilo de *Ch. pentadactylon* mostró una mejor separación de sus componentes al aumentar la polaridad del solvente (MeOH 100%, Fig.25). Lo mismo ocurrió con la sarcotesta de *T. mexicana* (Fig. 26), donde se observó un mayor número de componentes con el eluyente de hexano-acetato 8:2 respecto a hexano 100%. Se encontraron terpenos presentes la sarcotesta de esta especie mediante la extracción en fresco con CH₂Cl₂ (Fig. 27).

Los resultados se resumen en los siguientes aspectos: a) Es muy semejante la complejidad de las muestras de las flores de ambas especies en extracto hexánico. b) Se presentó una mayor complejidad en las muestras de flor de manita (*Ch. pentadactylon*), al observarse un mayor número de componentes en los extractos metanólicos, respecto a la flor de *T. mexicana*, no así en los extractos de acetato de etilo. c) No se encontraron diferencias entre los componentes de las flores de *T. mexicana*, en las dos diferentes etapas de desarrollo (botones grandes y pequeños). d) Se encontró una mayor complejidad en la semilla de *T. mexicana*, al presentar un mayor número de componentes en el extracto de acetato de etilo, respecto a la semilla de manita. e) No se observaron diferencias entre las muestras de semillas de ambas especies en extracto metanólico.

Con base en los resultados obtenidos en la presente investigación, es necesario continuar los estudios para aislar, identificar y cuantificar los compuestos más abundantes en las flores y semillas de ambas especies. A su vez, se requieren estudios farmacológicos para evaluar el efecto terapéutico (efecto cardiotónico) que se les da a ambas especies en la medicina tradicional.

D) ANALISIS EDAFOLOGICO.

6.4. Muestras colectadas Guerrero, Oaxaca y Veracruz.

De acuerdo a las tablas del Instituto Nacional de Agricultura (INA) y Aguilera (1989), el suelo de Carrizal de Bravos, Gro., se

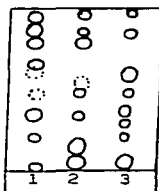


Fig.22. Cromatograma de las muestras de los extractos hexánicos de las flores de ambas especies.

Eluyente: Hexano: AcOEt. 7:3

Muestras: 1= Flor de manita.

2= Flor de Talauma (botones grandes).

3= Flor de Talauma (botones pequeños).

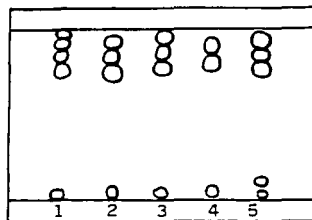
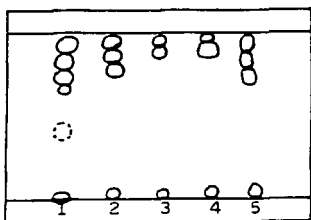


Fig.23 Cromatogramas de las muestras de los extractos metanólicos de flor y semilla de ambas especies.

Eluyente: MeOH: AcOEt. 1:1

Muestras: 1= Flor de manita.

2= Semilla de manita.

3= Flor de Talauma (bot.peq)

4= Flor de Talauma (bot.gdes)

5= Semilla de Talauma.

Eluyente: MeOH 100%

Muestras: 1= Flor de manita.

2= Semilla de manita.

3= Flor de Talauma (bot.peq)

4= Flor de Talauma (bot.gde)

5= Semilla de Talauma.

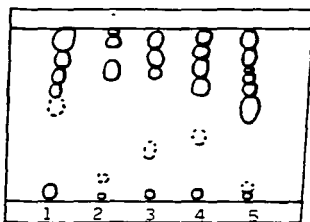


Fig.24. Cromatograma de las muestras de los extractos de AcOEt de flor y semilla de ambas especies.

Eluyente: AcOEt 100%

Muestras: 1= Flor de manita.

2= Semilla de manita.

3= Flor de Talauma (botones pequeños).

4= Flor de Talauma (botones grandes).

5= Semilla de Talauma.

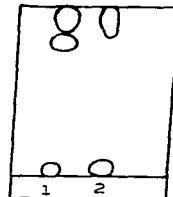
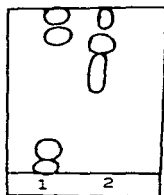


Fig.25. Cromatogramas de las muestras de los extractos metanólicos de flor y arilo de manita.

Eluyente: MeOH 100%

Muestras: 1= Flor de manita.

2= Arilo de manita.

Eluyente: AcOEt: MeOH, 1:1

Muestras: 1= Flor de manita.

2= Arilo de manita.



Fig.26. Cromatogramas de las muestras del extracto de CH_2Cl_2 de la sarcotesta de Talauma.

Eluyente: Hexano 100%

Eluyente: Hex: AcOEt, 8:2

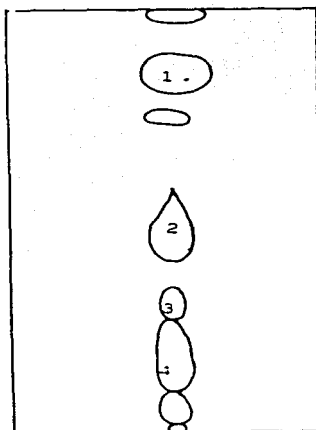


Fig.27. Placa cromatográfica del extracto de CH_2Cl_2 de la sarcotesta de Talauma.

Eluyente: CH_2Cl_2 100%

Terpenos en la muestra:

1= Pinenos.

2= Acetato bornilo.

3= Cineol.

4= Terpeneol.

clasifica como moderadamente ácido, conductividad normal, con un contenido muy alto de materia orgánica, adecuada proporción de potasio, severa deficiencia en fósforo, textura Franco C, ligera deficiencia en nitratos y un alto contenido de carbonatos (Cuadro 14).

Muestra	pH	Conductividad (millimohs)	Materia Org. (%)	K (ppm)	P (ppm)
0-10 cm	6.13	0.46	24.76	360	0.19
10-20 cm	6.08	0.49	23.21	220	0.009
20-30 cm	6.08	0.55	26.93	216	0.016
30-40 cm	6.13	0.69	26.62	260	0.028
40-50 cm	6.03	0.40	25.38	380	0.033
	Textura	Nitratos (ppm)	Densidad Aparente	Carbonatos (%)	
0-10 cm	Franco C	45.77	1.3	6.059	
10-20 cm	Franco C	110.4	1.25	6.64	
20-30 cm	Franco C	47.11	1.3	6.972	
30-40 cm	Franco C	24.23	1.7	7.055	
40-50 cm	Franco C	13.46	1.4	6.225	

Cuadro 14. Resultados del análisis edafológico de las muestras colectadas en Carrizal de Bravos, Guerrero.

El suelo de San José del Pacífico, Oax., se clasifica como muy ligeramente ácido, conductividad normal, presenta un contenido muy alto de materia orgánica, adecuada proporción de potasio y fósforo, severa deficiencia en nitratos y un alto contenido de carbonatos (Cuadro 15). Al comparar estos resultados con los de Guerrero (ambos sitios donde se desarrolla la flor de manita), se observa una gran semejanza ya que sólo difieren en el contenido de fósforo y nitratos.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Muestra	pH	Conductividad (milimohs)	Materia Org. (%)	K (ppm)	P (ppm)
0-10 cm	7.01	0.50	9.2	740	36.40
10-20 cm	6.96	0.51	12.58	480	15.95
20-30 cm	6.40	0.50	12.24	320	20.45
30-40 cm	6.13	0.46	9.18	240	13.50
40-50 cm	6.31	0.45	11.90	170	8.59
	Textura	Nitratos (ppm)	Densidad Aparente	Carbonatos (%)	
0-10 cm	migajón arc-ilm	21.54	1.2	11.71	
10-20 cm	migajón arc-ilm	7.0	0.98	11.70	
20-30 cm	Franco C	13.46	1.5	11.61	
30-40 cm	Franco C	16.16	1.4	11.60	
40-50 cm	migajón arcilloso	16.16	1.5	11.63	

Cuadro 15. Resultados del análisis edafológico de las muestras colectadas en Miahuatlán, Oaxaca.

El suelo de Zongolica, Ver., se clasifica como medianamente ácido, conductividad normal, adecuada proporción de materia orgánica, potasio y fósforo, proporción normal de carbonatos y muy deficiente en nitratos (Cuadro 16). El único problema evidente es la deficiencia en nitratos como se presentó en Oaxaca, y al ser el nitrógeno un macronutriente, como ocurrió con el fósforo en Guerrero, podrían afectar el desarrollo óptimo de las plantas en estas zonas.

De las características evaluadas, además de la deficiencia en macronutrientes como el nitrógeno y fósforo, el alto contenido de carbonatos encontrado en las muestras de Oaxaca y Guerrero, donde se desarrolla la flor de manita, podría interferir con la disponibilidad de micronutrientes como el hierro y el molibdeno. Su deficiencia provoca en la planta una inhibición de la floración o bien provoca la caída de las flores antes de formar el fruto (Clarkson y

Hanson, 1980; Barceló, 1992). Esto podría explicar la elevada caída de flores observada en el campo al coleccionar el material, sobre todo en la zona de Guerrero. Es necesario realizar un análisis edafológico más detallado para corroborar esto, coleccionando un mayor número de muestras de suelo en los terrenos donde se desarrolla esta especie.

Debido a que las propiedades químicas del suelo influyen en gran parte en los principios activos que sintetiza la planta y en la cantidad que produzca de éstos (Estrada, 1992), se propone coleccionar flores y semillas de flor de manita en Oax., para realizar su análisis fitoquímico y compararlo con el de flores y semillas de flor de manita coleccionados en carrizal de Bravos, Gro., y poder determinar qué propiedades del suelo podrían intervenir en la producción de principios activos.

Muestra	pH	Conductividad (milimohs)	Materia Org. (%)	K (ppm)	P (ppm)
0-10 cm	5.91	0.016	8.14	420	10.5
10-20 cm	5.88	0.017	4.30	200	6.12
20-30 cm	5.85	0.016	3.63	116	7.7
30-40 cm	5.79	0.018	4.92	68	14.7
40-50 cm	5.91	0.015	3.63	120	5.25
	Textura	Nitratos (ppm)	Densidad Aparente	Carbonatos (%)	
0-10 cm	arcillo limoso	10.75	1.4	2.37	
10-20 cm	migajón arcilloso	8.08	1.4	1.69	
20-30 cm	arcillo limoso	8.08	1.3	2.20	
30-40 cm	migajón arcilloso	24.23	1.3	2.71	
40-50 cm	migajón arcilloso	5.4	1.3	2.80	

Cuadro 16. Resultados del análisis edafológico de las muestras coleccionadas en Zongolica, Veracruz.

Para finalizar, se resumen los aportes del presente trabajo, considerando los diferentes aspectos abordados y retomando el objetivo general de proporcionar información enfocada a la propagación y conservación de ambas especies. Respecto a *T. mexicana*, se requiere de más estudios para evaluar los factores que determinan la germinación, ya que no se registró respuesta bajo los tratamientos planteados. Es necesario establecer si la baja viabilidad de las semillas impide la germinación o, de no ser así, evaluar si la dureza de la cubierta seminal actúa como una barrera mecánica, o bien la respuesta se debe a inmadurez embrionaria. El realizar pruebas de germinación con semillas almacenadas en seco a diferentes tiempos, permitiría evaluar si las semillas requieren de un periodo de postmaduración, variando las condiciones de temperatura y luz a las que se expongan; así como el realizar pruebas con embriones aislados de la cubierta seminal permitiría evaluar su efecto como barrera mecánica.

Respecto a *Ch. pentadactylon* (flor de manita), es factible propagar esta especie a través de la semilla, manteniendo así el potencial de variabilidad genética que esta estructura representa. Para su germinación, sería necesario aplicar un tratamiento de escarificación mecánica con lija, que desgastara los estratos relacionados con la impermeabilidad al agua tanto en exotesta (epidermis con taninos), como en endotesta (depósito de taninos y polisacáridos insolubles en esclerenquima, parénquima y cutícula). En el laboratorio se llevaría a cabo la escarificación mecánica y se deberá exponer a las semillas para su germinación, a un tratamiento de temperatura fluctuante (15-30°C), donde se alcanzarán los máximos porcentajes de germinación (50-60%). Se debe tomar en cuenta las condiciones de luz a las que se expongan las semillas, ya que una baja relación R:RL evitaría la germinación de una parte de la población (70 a 80%). Estas condiciones de escarificación, fluctuación de temperaturas e incremento de la relación R:RL se dan de manera natural en los bosques donde se desarrolla la especie. La mayoría de las semillas podrían permanecer en el suelo conformando un reservorio hasta que por perturbación del medio (formación de un claro y/o remoción de hojarasca), se incremente la amplitud de la fluctuación de temperatura

y la relación R:RL.

El poder conformar un banco de semillas, permite tener una alternativa para conservar la especie en condiciones controladas, como fuente de aprovisionamiento de germoplasma. En condiciones de laboratorio, se lograría el ambiente favorable para la germinación de las semillas y por otro lado, sería recomendable conformar un reservorio artificial a bajas temperaturas para mantener las semillas viables por tiempos prolongados. Ya que las semillas se caracterizaron como ortodoxas e incrementaron su germinación con el tiempo de almacenamiento, resulta factible almacenarlas en condiciones de baja temperatura y humedad. Sin embargo, se deben considerar las variaciones en los requerimientos para germinar, la capacidad germinativa y la posibilidad de almacenamiento de las semillas recolectadas en las diferentes localidades, ya que existen diferencias morfológicas y fisiológicas, como se encontró entre las semillas de Guerrero y Oaxaca. Las semillas de Oaxaca fueron más apropiadas para el almacenamiento que las de Guerrero, al tener una mayor capacidad germinativa y menor contenido de humedad, aunque deben pasar por un examen fitosanitario previo debido al gran número de semillas plagadas con coleópteros. En el presente trabajo, las semillas permanecieron viables durante 6 meses con un 60% de germinación, pero sería recomendable evaluar la capacidad germinativa de las semillas almacenadas por periodos más prolongados.

El banco de semillas serviría como fuente de aprovisionamiento de plántulas en periodos donde, de manera natural, no hubiera producción de las mismas. Las plántulas obtenidas bajo condiciones de vivero, se llevarían a las zonas donde se distribuye la especie para su desarrollo en huertos o jardines cercanos a las zonas de reforestación; al ser éstas, pequeñas extensiones de bosque cercanas a las casas de los pobladores donde se pueden cultivar diferentes especies útiles, se involucraría a las comunidades para mantener las especies de su entorno. Para lograr el establecimiento de las plántulas, se podrá utilizar suelo de la zona, aplicando fertilizantes para corregir las deficiencias de macro y micronutrientes, que se encontraron en el análisis edafológico, como el nitrógeno y fósforo, que podrían ser aportados con fertilizantes para lograr un mejor

desarrollo de las plántulas.

Ya que estas son recomendaciones generales para establecer una reforestación con esta especie, una reforestación intensiva debe considerar las leyes forestales que involucran la participación de Ingenieros Forestales desde la formulación de un proyecto, teniendo como meta en este caso, la preservación de habitats de especies en peligro, hasta la supervisión de los resultados derivados del mismo.

Los resultados obtenidos y los avances que se logren, permitirían ayudar a la comunidad y al mismo tiempo se contribuye al conocimiento de las plantas medicinales para llevar a cabo estudios más profundos como por ejemplo, los estudios farmacológicos para el uso medicinal de la semilla además de la flor de *Ch. pentadactylon*, al tomar como base, los resultados del análisis fitoquímico realizado. El estudio fitoquímico comparativo de los principios activos de flores y semillas de ambas especies, podría permitir introducir a las semillas en la comercialización y no solamente las flores. Los resultados obtenidos indican la presencia de compuestos que podrían tener propiedades cardiotónicas relacionadas con el uso medicinal que se las ha dado tradicionalmente, por lo que es necesario analizar su efecto terapéutico con estudios farmacológicos.

El adecuado aprovechamiento de las plantas medicinales, requiere así de estudios interdisciplinarios (etnobotánicos, agronómicos, farmacológicos), entre los que se encuentran los aspectos considerados en la presente investigación (fisiología de la semilla, su estructura y composición química), con el fin de preservar y dar un uso apropiado de este recurso, ya que México es uno de los países con mayor riqueza florística a nivel mundial en este campo.

7.0. CONCLUSIONES

- La temperatura fluctuante favoreció la germinación de las semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon*, condición que podría ser el estímulo ambiental que favorezca la germinación en condiciones de campo.
- Las semillas de *Ch. pentadactylon* presentan una latencia impuesta por cubiertas impermeables, característica que no se afecta por la temperatura fluctuante.
- El estudio estructural interno de las semillas de *Ch. pentadactylon*, corroboró la presencia de estratos impermeables, tanto en exotesta como en endotesta relacionados con la impermeabilidad al agua.
- Se encontró una respuesta diferencial entre las semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero y Oaxaca así como en el peso y longitud. Se infiere que las condiciones ambientales en las que se desarrollan las semillas, sus características morfológicas y su posterior germinación.
- De acuerdo a su bajo contenido de humedad y a su respuesta y sobrevivencia a través del tiempo de almacenamiento, las semillas de *Ch. pentadactylon* se clasifican como ortodoxas.
- Las semillas de *T. mexicana* llevan a cabo el proceso de imbibición, pero presentan una cubierta que puede actuar como una barrera mecánica que impide el crecimiento del embrión, aunado quizás a una baja viabilidad que evita la respuesta de germinación.
- La presencia de esteroides y glicósidos en las flores y semillas de ambas especies, podrían indicar la presencia de compuestos con propiedades cardiotónicas que podrían relacionarse con el uso medicinal que se les ha dado tradicionalmente.

8.O.BIBLIOGRAFIA

- Aguilera H.N. 1989. *Tratado de Edafología de México*. Tomo I. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Alvarez, L. 1991. *Medicamentos naturistas en México*. Cuadernos, CBS. UAM-Xochimilco. México. 14p.
- Attridge, T.H. 1990. *Light and plant responses*. Ed. Edward Arnold. Great Britain. pp. 23-37.
- Barceló C.J. 1992. *Fisiología Vegetal*. Ed. Pirámide, S.A. Madrid, España. 657p.
- Baskin M.J. y Baskin C.C. 1988. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany*. 75 (2): 286-305.
- Baskin M.J. y Baskin C.C. 1989. Physiology of Dormancy and germination in relation to seed bank Ecology. En: Leck A.M., Parker T.V. y Simpson L.R. (Ed). *Ecology of soil seed banks*. Academic Press, Inc. San Diego California, USA. pp. 53-66.
- Benech A.R., Ghersa C.M., Sánchez R.A. y García F.A. 1988. The role of fluctuating temperatures in the germination and establishment of *Sorghum halapense* (L.) Pers. Regulation of germination under leaf canopies. *Functional Ecology*. 2: 311-318.
- Besnier Romero Fernando. 1989. *Semillas, Biología y Tecnología*. Ed. Mundi-Prensa. España. 637p.
- Bewley J.D. y Black M. 1985. *Seeds. Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, New York. 367p.
- Bewley J.D. y Black M. 1994. *Seeds. Physiology of Development and Germination*. 2a. ed. Plenum Press, New York.
- Black C.A. 1965. *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological properties*. American Society of Agronomy Inc. Publishers. Madison, Wisconsin, USA.
- Bliss, D. y Smith, H. 1985. Penetration of light into soil and its role in the control of seed germination. *Plant, Cell and Environment*. 8: 475-483.
- Bonati A. 1991. Industry and the conservation of Medicinal Plants. En: Akerek O., Heywood W. y Songe H. (Ed). *Conservation of Medicinal Plants*. Cambridge University Press. Great Britain. pp.

- Botha, C.F. y Small, C.J. 1988. The germination response of the negatively photoblastic seeds of *Citrullus lanatus* to light of different spectral compositions. *J. Plant. Physiol.* 132: 750-753.
- Bradbeer J.W., 1988. *Seed dormancy and germination*. Ed. Chapman and Hall, New York. 146p.
- Bye R. y Linares M.E. 1987. Usos pasados y presentes de algunas plantas medicinales encontradas en los mercados mexicanos. *América Indígena*. XLVII.No.2.
- Bye R., Estrada-Lugo E. y Linares M.E. 1992. Recursos Genéticos en plantas medicinales de México. En: Estrada Lugo E. Ed. *Plantas Medicinales de México*. UACH, México.pp. 361-372.
- Capasso F., Balestrieri B. y Mascolo, N. 1980. Actualidad de las plantas medicinales. *Medicina Tradicional*. III.No.10.
- Chin H.F. 1994. Seedbanks: conserving the past for the future. *Seed.Sci.& Technol.* 22: 385-400.
- Clarkson, D.T. y Hanson, J.B. 1980. The mineral nutrition of higher plants. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 31: 239-298.
- Come, D. 1970. *Les obstacles a la germination*. Masson et cie editeurs, Paris. 162p.
- Cone, W. y Kendrick, E.R. 1986. Photocontrol of seed germination. En: Kendrick, E.R. y Kronenberg, G.H. *Photomorphogenesis in plants*. Martinus Nijhoff Publishers. The Netherlands. pp. 443-462.
- Corner E.J. 1976. *The seeds of dicotyledons*. Vol.2. Cambridge University Press.pp.471-489.
- Cresswell, E.G. y Grime, J.P. 1981. Induction of a light requeriment during seed development and its ecological consequences. *Nature*. 291: 583-585.
- Diario Oficial de la Federación. Tomo CDLXXXVIII No.10.México, D.F., lunes 16 de mayo de 1994.
- Dominguez X.A., Quevedo J. y Gutiérrez A. 1970. Estudio químico de la flor de manita (Macpalxochitl) *Chiranthodendron pentadactylon*. *Ciencia*, México.XXVII (2-3): 87-89.
- Dominguez X.A. y Gutiérrez A. 1972. Extractives from the flowers of *Chiranthodendron pentadactylon*. *Phytochemistry*. 11: 2895.

- Egley G.H. y Duke O.S. 1985. Physiology of weed seed dormancy and germination. En: Duke, O.S. *Weed physiology*. Vol.I. Reproduction and ecophysiology. C.R.C. Press, Inc. Florida. 165p.
- Egley G.H. 1989. Water-impermeable seed coverings as barriers to germination. En: Taylorson R.B. Ed. *Recent advances in the development and germination of seeds*. Plenum Press. New York. pp. 207-223.
- Estrada-Lugo E. 1985. *Jardín Botánico de Plantas Medicinales Maximino Martínez*. Depto. de Fitotecnia. UACH, México. 41p.
- Estrada-Lugo, E. 1987. El fruto de *Macpalochochicuahuitl* (*Chiranthodendron pentadactylon* Larr.): Tamaño, semillas, plagas y polinización manual. Memorias X Congreso Mexicano de Botánica. Guadalajara, Jalisco, México.
- Estrada-Lugo E., 1992. *Plantas Medicinales de México*. Depto. de Fitotecnia. UACH, México. 566p.
- a. Estrada, L. y Quezada, N. 1994. Chamanismo y plantas medicinales. En *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas medicinales de México*. Erick Estrada Lugo (Ed). UACH. México.
- b. Estrada, L., Reyes, T. y Navarrete, C. 1994. Medicina tradicional y herbolaria a 500 años. En: *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas medicinales de México*. Erick Estrada Lugo (Ed). UACH. México.
- c. Estrada, L. 1994. Códice Florentino: su información terapéutica. En: *Lecturas para el diplomado Internacional Plantas Medicinales de México*. Erick Estrada Lugo (Ed). UACH. México.
- d. Estrada, L. 1994. Cultivo de plantas medicinales, una urgencia latinoamericana. En: *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas medicinales de México*. Erick Estrada Lugo (Ed). UACH.
- García J. y Perales R. 1990. Nota sobre la propagación y pérdida de viabilidad de las semillas de *Chiranthodendron pentadactylon* Larr. (Sterculiaceae). *Bol. Soc. Bot. Méx.* 50, 157-159.
- Gómez-Campo C. 1985. *Plant Conservation in the Mediterranean Area*. W. Junk Publishers Dordrecht. pp. 237-247.
- Grime, J.P. 1982. *Estrategias de adaptación de las plantas y procesos que controlan la vegetación*. Ed. Limusa. México. pp. 13-78.

- Gutterman, Y. 1980/81. Influences on seed germinability: phenotypic maternal effects during seed maturation. *Israel Journal of Botany*, 29: 105-117.
- Hamann O. 1991. The joint IUCN-WWF plants conservation programme and its interest in Medicinal Plants. En: Akerek O., Heywood W. y Singe H. (Ed). *Conservation of Medicinal Plants*. Cambridge University Press. Great Britan. pp. 13-22.
- Haupt, W. 1990. Signal transduction in photomorphogenesis. *Photochemistry and Photobiology*. 52 (1): 261-263.
- Hecht, U. y Mohr, H. 1990. Relationship between phytochrome photoconversion and response. *Photochemistry and Photobiology*. 51 (3): 369-373.
- Hersch, M. Comercio de flora medicinal silvestre: implicaciones económicas y ambientales en el sur de Puebla, México. Resúmenes del Simposio Etnobotánica, 1992. Córdoba, España.p. 74.
- Hilton, R.J. 1983. An association of phytochrome with the chloroplast envelope membranes of *Spinacia oleracea* L. : a preliminary observation. *New Phytol*, 95: 175-178.
- Holmes M.G. y Smith H. 1977. The function of phytochrome in the natural environment-II. The influence of vegetation canopies on the spectral energy distribution of natural daylight. *Photochemistry and Photobiology*. 25: 539-545.
- Hong T.D. y Ellis R.H. 1990. A comparision of maturation drying, germination and desiccation tolerance between developing seeds of *Acer pseudoplatanus* L. and *Acer platanoides* L. *New Phytology*. 116: 589-596.
- IMEPLAM, 1978. Plantas medicinales mexicanas con uso popular. su validación experimental. *Medicina Tradicional*. 1978. Año 1.No.3.
- INEGI. 1995. Anuarios estadísticos delos Estados de Guerrero, Oaxaca y Veracruz.
- Jann, R.C. y Amen, R.D. 1977. What is germination?. pp. 7-26. En: Khan, A.A. *The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination*. Elsevier Biomedical Press. New York.
- Johansen D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, Book Company. Inc. New York. 523p.

- Karssen, C.M. 1982. Seasonal patterns of dormancy in weed seeds. pp. 243-240. En: Khan, A.A. *The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination*. Elsevier Biomedical Press. New York.
- Kendrick, R.E. y Spruit, C.J. 1977. Phototransformations of phytochrome. *Photochemistry and Photobiology*. 26: 201-214.
- Khan A. 1982. *The physiology and biochemistry of seed development dormancy and germination*. Elsevier Biomedical Press. Dordrecht, The Netherlands.
- Kornerup A. y Wanscher J.H. 1963. *Methuen "Handbook of colour"*. 3ed. Fletcher and Son Ltd, NorWhich.
- Lozoya X. y Lozoya. M. 1982. *Flora Medicinal de México*. Primera parte: Plantas Indígenas. IMSS.
- Madueño, B. 1973. *Cultivo de plantas medicinales*. Ed. Pub. de extensión agraria. Madrid, España. p.1-30.
- Marm, D. 1977. Phytochrome: Membranes as possible sites of primary action. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 28: 173-198.
- Martínez Maximino. 1969. *Las plantas medicinales de México*. Ed. Botas. México. 656p.
- Méndez I. 1976. Comparación de medias de población. *Comunicaciones técnicas*. 3.No.17. Serie azul: Monografías. IIMAS, UNAM.
- Méndez I. 1990. *El Protocolo de Investigaciopn: lineamientos para su elaboración y análisis*. 2a.Ed.Trillas, México. 210p.
- Mendoza, G. y Herrera, A. 1866. El Yoloxochitl (*Talauma mexicana*), árbol cuyas semillas y corteza tienen acción digitálica excelente. *Gaceta Médica de México*. II: 273.
- Morato, G.S., Calixto, J.B., Cordelro, L., Lima, T.C., Morato, E.F., Nicolau, M. Rae, G.A., Takahashi, R.N., Valie, R.M. y Yunes, R.A. 1989. Chemical and Pharmacological studies on *Talauma ovata* St.Hil. (Magnoliaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 26: 277-286.
- Moreno M. E. 1984. *Análisis físico y biológico de semillas agrícolas*. Instituto de Biología, UNAM. 383p.
- OMS, UICN, WWF. Directrices sobre conservación de plantas medicinales. En: *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas Medicinales de México*. 1995. UACH. México. pp. 465-493.

- Orozco-Segovia A. y Vázquez-Yanes C. 1989. Light effect on seed germination in *Piper* L. *Acta Oecol.Oecol.Plant.* **10**, 123-143.
- Orozco-Segovia A. y Vázquez-Yanes C. Los sentidos de las plantas: la sensibilidad de las semillas a la luz. *Ciencia*: **43**: 399-411.
- Palevitch D. 1991. Agronomy applied to Medicinal Plant Conservation. En: Akerek O., Heywood W. y Synge H. (Ed). *Conservation of Medicinal Plants*. Cambridge University Press. Great Britan. pp.
- Pastelin H.G. 1993. "Yoloxóchitl". En: *La investigación Científica de la Herbolaria Medicinal Mexicana*. Edición conmemorativa 50 años Secretaría de Salud, México. pp.203-208.
- Perusquia M., Mendoza S., Bye R., Linares E. y Mata, R. 1995. Vasoactive effects of aqueous extracts from five mexican medicinal plants on isolated rat aorta. *Journal of Etnopharmacology*. **46**: 1, 63-69.
- Pili-Sevilla E. 1987. Germination and tetrazolium testing. *Seed Science and Technology*. **15**: 691-698.
- Pons L.T. 1992. Seed response to light. En: Fenner M. Ed. *Seeds. The Ecology of regeneration in plant communities*. Cab International.UK. pp.259-283.
- Probert R.J. 1992. The role of temperature in germination ecophysiology. En: *Seeds. The ecology of regeneration in plant communities*. Cab International.UK.pp. 285-325.
- Quinlivan B.J. 1971. Seed coat impermeability in legumes. *J. Austral.Inst. Agric.Sci.* **37**:283-295.
- Roach, D.A. y Wulff, R.D. 1987. Maternal effects in plants. *Annual Review of Ecology and Sistematics*. **18**: 209-235.
- Rolston, M.P. 1978. Water impermeable seed dormancy. *The Botanical Review*. **44** (3): 365-396.
- Silvertown, J.W. 1984. Phenotypic variety in seed germination behavior: the ontogeny and evolution of somatic polymorphism in seeds. *Am.Nat.* **124**: 1-16.
- Simon, E.W. 1984. Early events in germination. pp. 77-110. En: Murray, D.R. *Seed physiology*. Vol.I. Academic Press. Australia.
- Singh, B.R. y Song, P.S. 1990. Phytochrome and protein phosphorylation. *Photochemistry and Photobiology*. **52** (1): 249-254.

- Smith, H. y Whitelam, G.C. 1990. Phytochrome, a family of photoreceptors with multiple physiological roles. *Plant, Cell and Environment*. 13: 695-707.
- Sodi-Pallares E. y Martínez-Garza H. 1949. Structure of the pigment of Macpalxochitl. *Archives Biochemistry*. 21: 377-382.
- Standley C.P. 1923. *Trees and shrubs of México*. 23.No. 3 y 5. Smithsonian Institution. United States National Museum. Washington. pp.275, 796.
- Standley, P.C. y Steyermark, J.A. 1946. *Flora of Guatemala*. Fieldiana: Botany. Vol.24. Part IV. Chicago Natural History Museum. pp. 268-269.
- Standley, P.C. y Steyermark, J.A. 1949. *Flora of Guatemala*. Fieldiana: Botany. Vol.24. Part IV. Chicago Natural History Museum. pp. 408-410.
- Thompson, P.A. 1970. Characterization of the germination response to temperature of species and ecotypes. *Nature*. 225: 827-831.
- Thompson, P.A. 1973. Geographical adaptation of seeds. En: Heydecker W. Ed. *Seed Ecology*. Butterworths. London. pp. 31-58.
- Thompson, P.A. 1975. Characterization of the germination responses of *Silene dioica* (L.) Clairv., Populations from Europe. *Annals of Botany*. 39: 1-19.
- Thompson K., Grime J.P., y Mason G. 1977. Seed germination in response to diurnal fluctuations of temperature. *Nature*. 267: 147-149.
- Thompson K. y Grime J.P. 1983. A comparative study of germination responses to diurnally fluctuating temperatures. *J. Appl. Ecol.* 20: 141-156.
- Toledo, V.M. 1975. *Chiranthodendron pentadactylon* Larreategui (Sterculiaceae): una especie polinizada por aves percheras. *Bol. Soc. Bot. Mex.* No. 35. pp. 59-67.
- Van Rooden J., Akkermans L.M.A. y Van Der Veen R. 1970. A study on photoblastism in seeds of some tropical weeds. *Acta Botánica Neerlandica*. 19 (2): 257-264.
- Vázquez-Yanez C. y Orozco-Segovia A. 1982. Seed germination of a tropical rain forest pioneer tree (*Heliocarpus donnel smithii*) in response to diurnal fluctuation of temperature. *Physiol. Plant.* 56: 295-298.

- Vázquez-Yanes C. 1987. Los bancos de almacenamiento de semillas en la conservación de especies vegetales. *Ciencia*.38: 239-246.
- Vázquez-Yanes C., Orozco-Segovia A., Rincón M.E., Sánchez-Coronado M.E., Huante P., Toledo R.I. y Barradas L.V. 1990. Light beneath the litter in a tropical forest: effect on seed germination. *Ecology*. 71 (5): 1952-1958.
- Vázquez-Yanes C. y Orozco-Segovia A. 1992. Effects of litter from a tropical rainforest on tree seed germination and establishment under controlled conditions. *Tree Physiology*. 11: 391-400.
- Vázquez-Yanes C. y Cervantes V. 1993. Estrategias para la reforestación con árboles nativos de México. *Ciencia y Desarrollo*. 19 (113): 52-58.
- Vázquez-Yanes C. y Orozco-Segovia A. 1994. Signals for seeds to sense and responds to gaps. En: *Exploitation of Enviromental Heterogeneity by plants*. Ac.Press.Inç.pp.209-236.
- Villalobos, S. Variables que afectan la producción vegetal de metabolitos secundarios. En: *Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas medicinales de México*. 1995. UACH. México. pp. 495-508.
- Villiers T.A. 1972. Seed dormancy. En: Kozlowski T.T. Ed. *Seed Biology*. II. Academic Press. USA. 447p.
- Whitelam, G.C. y Smith, H. 1991. Retention of phytochrome-mediated shade avoidance responses in phytochrome-deficient mutants of *Arabidopsis*, Cucumber and Tomato. *J. Plant. Physiol.* 139: 119-125.
- Wooley, T.J. y Stoller, W.E. 1978. Light penetration and light induced seed germination in soil. *Plant Physiol.* 61: 597-600.
- Zárate-Aquino M.A., López-Herrera A. y Estrada-Lugo, E. Germinación de dos especies medicinales: Cuachalalate y Chaparro amargoso. *Chapingo*. Año XII. No.56-57. 1987.

APENDICE

9.1. CUADROS DE ANOVA Y PRUEBAS DE RANGO MULTIPLE.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Procedencia	0.0026165	1	0.0026165	117.666	0.0001*
Error	0.0044029	198	0.0000223		
Total	0.0070195	199			

* Significativo.

Cuadro 1. Análisis de varianza del peso de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero y Oaxaca.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Procedencia	8.0560980	1	8.0560980	38.517	0.0001*
Error	41.413100	198	0.2091571		
Total	49.469198	199			

* Significativo.

Cuadro 2. Análisis de varianza de la longitud de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero y Oaxaca.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Procedencia	14.884000	1	14.884000	33.076	0.0004*
Error	3.6000000	8	0.4500000		
Total	18.484000	9			

* Significativo.

Cuadro 3. Análisis de varianza del contenido de humedad de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero y Oaxaca.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
Oaxaca	100	0.0254010	•
Guerrero	100	0.0326350	•

Cuadro 4. Análisis de rango múltiple del peso de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero y Oaxaca.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
Oaxaca	100	4.7144000	•
Guerrero	100	5.1158000	•

Cuadro 5. Análisis de rango múltiple de la longitud de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero y Oaxaca.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
Oaxaca	5	6.9400000	•
Guerrero	5	9.3800000	•

Cuadro 6. Análisis de rango múltiple del contenido de humedad de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero y Oaxaca.

Tratamiento	Promedio	t	G.L.	P
Germinación vs viabilidad	52.60 46.00	0.935813	11	0.369460

Cuadro 7. Prueba de t del porcentaje de viabilidad inicial y el porcentaje de germinación de semillas de *Ch. pentadactylon* almacenadas durante 6 meses a 5°C.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Mes almacen.	8.7592187	6	1.4598698	9.369	0.0003 *
Error	2.1814863	14	0.1558205		
Total	10.940705	20			

* Significativo.

Cuadro 8. Análisis de varianza de la velocidad de germinación de semillas de *Ch. pentadactylon*, almacenadas a 5°C durante 6 meses.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
Mes 0	3	0.0588681	•
Mes 3	3	0.2132300	•
Mes 2	3	0.2887200	•
Mes 4	3	0.3736200	• •
Mes 1	3	0.7229900	• •
Mes 6	3	0.9809333	•
Mes 5	3	2.0860100	•

Cuadro 9. Análisis de rango múltiple de la velocidad de germinación de semillas de *Ch. pentadactylon*, almacenadas a 5°C durante 6 meses.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Cont. Hum.	113.43424	1	113.43424	203.172	0.0001*
Error	4.4665200	8	0.5583150		
Total	117.90076	9			

* Significativo.

Cuadro 10. Análisis de varianza del contenido de humedad inicial y final de semillas de *Ch. pentadactylon*, almacenadas a 5°C durante 6 meses.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
Con. Hum. Final.	5	2.6440000	*
Cont. Hum. Inic.	5	9.3800000	*

Cuadro 11. Análisis de rango múltiple del contenido de humedad de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Guerrero y Oaxaca.

Tratamiento	Promedio	t	G.L.	P
Germinación vs viabilidad	57.23125 17.24000	6.9504	11	0.000024*

Cuadro 12. Prueba de t del porcentaje de viabilidad inicial y el porcentaje de germinación de semillas de *Ch. pentadactylon* colectadas en Oaxaca.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Velocidad	419.69787	11	38.154352	1.054	0.4343
Error	868.63247	24	36.193020		
Total	1288.3303	35			

Cuadro 13. Análisis de varianza de la velocidad de germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon*, expuestas a los factores de temperatura y luz (curvas hipérbolas).

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Germinación	2363.6488	3	787.88292	2.934	0.0766
Error	32221.9823	12	268.49852		
Total	5585.6310	15			

Cuadro 14. Análisis de varianza de la capacidad de germinación de semillas estratificadas de *Ch. pentadactylon*.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Tratamiento	3.3975278	5	0.6795056	2.999	0.0552
Error	2.7186207	12	0.2265517		
Total	6.1161485	17			

Cuadro 15. Análisis de varianza de la capacidad de germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* expuestas a temperatura constante (25°C)-fluctuante (8-26°C), y semillas estratificadas.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
Cte. 25°C	3	0.0588681	•
Fluc. 8-26°C	3	0.1647785	•
Estrat. 25°C, 25°C	3	0.6208268	• •
Estrat. 8-26°C, 25°C	3	0.9007554	• •
Estrat. 8-26°C, 8-26°C	3	1.1313383	•
Estrat. 25°C, 8-26°C	3	1.1550793	•

Cuadro 16. Prueba de rango múltiple de la capacidad de germinación de semillas escarificadas y estratificadas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Temperatura	3033.2556	1	3033.2556	46.305	0.0001*
Error	4061.3800	62	65.506128		
Total	7094.6356	63			

* Significativo.

Cuadro 17. Análisis de varianza de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Oaxaca, expuestas a temperatura constante (25°C) y fluctuante (15-30°C).

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
Constante	32	60.515000	•
Fluctuante	32	74.283750	•

Cuadro 18. Análisis de rango múltiple de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Oaxaca, bajo temperatura constante y fluctuante.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Localidad	28450.069	1	28450.069	439.687	0.0001*
Error	8088.1531	125	64.705225		
Total	40858.771	127			

* Significativo.

Cuadro 19. Análisis de varianza de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Oaxaca y Guerrero, expuestas a temperatura constante (25°C) y fluctuante (15-30°C).

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
Guerrero	64	37.582188	•
Fluctuante	64	67.399375	•

Cuadro 20. Análisis de rango múltiple de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Oaxaca y Guerrero, expuestas a temperatura constante y fluctuante.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Luz	36524.381	3	12174.794	159.430	0.0001 *
Error	6872.8074	90	76.364527		
Total	44349.043	95			

* Significativo.

Cuadro 21. Análisis de varianza de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Guerrero, expuestas a diferentes calidades de luz.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Luz	16527.104	3	5509.0346	57.820	0.0001 *
Error	8575.1192	90	95.279102		
Total	25274.173	95			

* Significativo.

Cuadro 22. Análisis de varianza de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Oaxaca, expuestas a diferentes calidades de luz.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%					
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos		
LRL	24	10.790000			*
LB	24	42.244167		*	
LR	24	58.254167			*
OSC	24	58.872917			*

Cuadro 23. Análisis de rango múltiple de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Guerrero, expuestas a diferentes calidades de luz.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
LRL	24	24.467500	.
OSC	24	49.923333	•
LB	24	56.066667	•
LR	24	56.509583	•

Cuadro 24. Análisis de rango múltiple de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Oaxaca, expuestas a diferentes calidades de luz.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Tratamiento	437.71063	3	145.90354	5.1420	0.0285*
Error	226.98167	8	28.372708		
Total	664.69229	11			

* Significativo.

Cuadro 25. Análisis de varianza de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Guerrero, expuestas a diferentes calidades de luz y temperatura fluctuante (15-30°C).

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%				
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos	
Estrat. 8-26°C, 15-30°C	3	48.183333	•	
Estrat. 25°C, 15-30°C	3	49.100000	•	
LR	3	60.500000	•	
OSC	3	60.900000	•	

Cuadro 26. Análisis de rango múltiple de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Guerrero, expuestas a diferentes calidades de luz y temperatura fluctuante.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Tratamiento	2217.5423	3	739.18078	8.677	0.0003
Error	2385.3750	28	85.191965		
Total	4602.9174	31			

• Significativo.

Cuadro 27. Análisis de varianza de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Guerrero, expuestas a diferentes calidades de luz y almacenamiento durante 6 meses a 5°C.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
LB	8	43.550000	•
Almacenamiento	8	44.602500	•
LR	8	60.503750	•
OSC	8	60.908750	•

Cuadro 28. Análisis de rango múltiple de la germinación de semillas escarificadas de *Ch. pentadactylon* recolectadas en Guerrero, expuestas a diferentes calidades de luz y almacenamiento durante 6 meses a 5°C.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	N.S.
Horas	66.924923	12	5.5770769	31.699	0.0001*
Error	20.585000	117	0.1759402		
Total	87.509923	129			

* Significativo.

Cuadro 29. Análisis de varianza del peso de semillas no escarificadas de *T. mexicana*, durante 24 horas de imbibición.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
0	10	6.4400000	*
4	10	8.6700000	*
2	10	8.8700000	* *
6	10	8.8900000	* *
10	10	8.9400000	* * *
20	10	8.9400000	* * *
18	10	9.0000000	* * *
22	10	9.0000000	* * *
8	10	9.1100000	* * *
14	10	9.1400000	* * *
12	10	9.2000000	* * *
16	10	9.3000000	* *
24	10	9.4100000	*

Cuadro 30. Análisis de rango múltiple del peso de semillas no escarificadas de *T. mexicana*, durante 24 hrs de imbibición.

9.2. REGISTROS METEOROLOGICOS DE GUERRERO Y OAXACA

Cuadro A. Temperatura (grados centigrados) y precipitación (mm), registrada en la estación meteorológica más cercana a Carrizal de Bravos, Guerrero (Omiltemi, 17° 33'N y 99° 39'O).

	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Agos.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.
<u>Temperatura media</u>												
1981	10.2	12.6	13.3	14.8	15.9	16.0	15.5	15.8	15.9	15.2	13.2	11.8
1982	11.6	12.4	13.2	15.3	15.2	16.4	15.8	15.8	15.6	14.8	--	11.7
1983	11.9	10.7	--	13.6	14.3	13.5	12.4	12.5	12.3	14.2	--	--
1984	--	14.0	--	16.0	16.8	16.5	16.0	16.4	15.2	15.4	12.8	11.8
1985	12.1	--	14.3	14.5	14.8	14.2	13.7	--	--	--	--	--
x	11.5	12.4	13.6	14.8	15.4	15.3	14.7	15.1	14.8	14.9	13.0	11.8
<u>Máxima extrema</u>												
1981	21.5	22.5	23.5	25.5	25.5	22.5	22.5	23.5	23.5	22.5	25.5	21.5
1982	22.0	22.0	25.0	27.0	24.0	23.5	22.5	23.5	22.5	22.0	--	21.5
1983	22.0	22.0	--	22.5	25.5	25.5	22.5	23.5	22.5	23.5	--	--
1984	--	22.5	--	25.5	25.5	23.5	22.5	23.5	21.5	24.5	23.5	23.0
1985	23.5	--	23.5	23.0	25.0	23.5	21.5	--	--	--	--	--
x	22.2	22.2	24.0	24.7	25.1	23.7	22.3	23.5	22.5	23.1	24.5	22.0
<u>Mínima extrema</u>												
1981	-0.5	2.5	1.5	4.5	3.5	9.5	7.5	7.5	8.5	5.5	1.5	2.5
1982	2.0	2.0	2.0	5.0	5.0	9.5	8.5	6.5	6.0	3.5	--	1.5
1983	2.5	1.0	--	3.5	3.5	0.5	1.5	2.5	1.5	2.5	--	--
1984	--	2.5	--	6.5	7.5	7.0	8.5	7.0	7.5	5.5	1.5	0.5
1985	2.5	--	5.5	5.5	5.5	5.5	3.5	--	--	--	--	--
x	1.6	2.0	3.0	5.0	5.0	6.4	5.9	5.9	5.9	4.2	1.5	1.5
<u>Oscilación de temperatura</u>												
1981	14.0	14.5	16.5	15.9	14.5	8.8	9.8	10.3	10.0	10.8	15.9	16.2
1982	16.8	16.1	15.2	15.6	11.6	9.5	10.4	11.8	10.6	10.9	--	15.0
1983	14.6	15.8	--	16.5	16.1	17.1	17.0	16.6	17.2	14.6	--	--
1984	--	12.2	--	12.7	10.4	9.5	9.9	9.4	8.4	13.3	15.8	16.5
1985	14.3	--	14.2	13.6	14.7	13.2	13.7	--	--	--	--	--
x	14.9	14.7	15.3	14.9	13.5	11.6	12.2	12.0	11.6	12.4	15.9	15.9

Continuación Cuadro A.

	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Agos.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.
<u>Promedios de Temperaturas máximas</u>												
1981	17.2	19.8	21.5	22.7	23.1	20.4	20.4	20.9	20.9	20.6	21.1	19.9
1982	20.2	20.4	20.8	23.1	21.0	21.1	21.0	21.7	20.9	20.2	--	19.2
1983	19.2	18.7	--	21.8	22.3	22.0	20.8	20.8	20.9	21.5	--	--
1984	--	20.1	--	22.3	22.0	21.2	20.9	21.1	19.4	22.0	20.7	20.0
1985	19.2	--	21.4	21.3	22.1	20.8	20.5	--	--	--	--	--
x	18.9	19.8	21.2	22.2	22.1	21.2	20.7	21.1	20.5	21.0	20.9	19.7
<u>Promedios de Temperaturas mínimas</u>												
1981	3.2	5.3	5.0	6.8	8.6	11.6	10.6	10.6	10.9	9.8	5.2	3.7
1982	3.2	4.3	5.6	7.5	9.4	11.6	10.6	9.9	10.3	9.3	--	4.2
1983	4.6	2.9	--	5.3	6.2	4.9	3.9	4.2	3.7	6.9	--	--
1984	--	7.8	--	9.6	11.6	11.7	11.0	11.7	11.0	8.7	4.9	3.5
1985	4.9	--	7.2	7.7	7.4	7.6	6.8	--	--	--	--	--
x	4.0	5.0	5.9	7.4	8.6	9.5	8.6	9.1	9.0	8.7	5.0	3.8
<u>Precipitación total</u>												
1981	31.9	6.7	0.0	20.8	33.6	295.6	218.8	298.3	223.4	142.9	0	0
1982	0	33.0	14.4	18.7	101.7	128.4	212.4	156.3	159.2	84.8	11.1	7.7
1983	32.1	32.5	29.4	0.0	18.5	215.0	340.5	369.2	330.3	137.2	--	--
1984	--	0.0	0.0	0.0	128.9	251.8	301.0	230.1	405.5	26.3	0.0	0.0
1985	17.7	--	69.4	12.7	89.7	310.2	300.0	--	--	--	--	--

Cuadro B. Temperatura (grados centígrados) y precipitación (mm), registrada en la estación meteorológica más cercana a San José del Pacífico, Oaxaca (San Miguel Suchixtepec).

	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Agos.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.
<u>Temperatura media</u>												
1954	--	--	--	--	--	18.9	18.5	18.5	17.6	17.7	17.7	16.9
1955	17.0	17.1	18.3	20.1	20.4	18.7	18.0	18.0	18.0	19.0	18.3	16.5
1956	16.3	18.3	19.3	20.3	18.6	17.8	18.2	18.7	18.0	18.1	17.9	16.4
1957	16.2	18.2	15.4	19.3	14.6	19.3	17.9	18.4	18.6	15.2	16.0	15.3
1958	15.1	18.3	20.9	21.7	20.5	19.0	19.3	17.7	18.3	18.0	17.9	17.0
1959	15.0	17.5	16.6	15.8	15.7	14.2	14.8	16.2	19.0	19.5	20.0	17.5
1960	18.8	19.5	20.5	20.5	20.8	19.9	19.1	19.5	18.8	18.4	12.2	12.9
x	16.4	18.1	18.5	19.6	18.4	18.3	18.0	18.1	18.3	18.0	17.1	16.1
<u>Temperatura máxima extrema</u>												
1954	--	--	--	--	--	31.0	29.0	30.0	29.0	29.0	31.0	29.0
1955	30.0	31.0	32.0	32.0	33.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
1956	30.0	31.0	32.0	34.0	31.0	30.0	30.0	30.0	30.0	29.0	31.0	33.0
1957	30.0	30.0	30.0	33.0	30.0	32.0	30.0	29.5	30.5	29.0	31.0	30.0
1958	28.3	32.0	35.0	35.0	35.0	31.0	30.0	31.0	30.0	30.0	30.0	29.5
1959	29.5	30.5	31.0	26.0	27.0	24.0	26.0	29.5	30.5	31.0	34.0	30.0
1960	31.5	32.0	34.0	32.0	32.5	30.5	30.0	30.0	29.5	29.5	18.0	21.5
x	29.9	31.1	32.3	32.0	31.4	29.8	29.3	30.0	29.9	29.6	29.3	29.0
<u>Temperatura mínima extrema</u>												
1954	--	--	--	--	--	9.0	8.0	7.0	5.0	6.0	5.0	5.0
1955	5.0	3.0	5.0	7.3	6.4	7.0	7.0	8.0	7.5	5.0	6.0	4.6
1956	3.0	5.5	6.3	8.0	7.0	8.0	8.0	8.0	8.0	7.0	6.0	6.3
1957	6.0	7.0	6.2	7.0	8.0	2.0	9.0	8.0	7.0	7.0	8.0	6.4
1958	3.4	4.7	8.4	10.0	9.5	8.5	8.5	8.9	8.5	8.5	8.0	7.0
1959	5.5	9.0	5.0	7.5	7.0	7.5	8.0	8.5	8.5	8.5	8.5	7.0
1960	7.0	9.5	10.0	10.0	10.0	10.0	8.5	9.0	9.0	7.0	7.0	6.0
x	5.0	6.5	6.8	8.3	8.0	7.4	8.1	8.2	7.6	7.0	6.9	6.0

Continuación Cuadro B.

	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Agos.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.	
<u>Oscilación de temperatura</u>													
1954	--	--	--	--	--	--	15.8	17.0	18.1	16.4	16.4	17.4	18.8
1955	16.1	20.6	20.6	20.6	20.5	17.5	16.2	16.3	16.0	19.2	18.4	17.0	
1956	17.7	20.4	20.8	21.4	18.5	16.9	17.9	18.6	18.8	19.1	19.9	16.6	
1957	15.6	16.9	15.2	20.1	9.9	18.9	15.6	16.9	17.4	12.4	13.5	12.4	
1958	13.8	19.5	20.4	20.8	19.1	16.7	17.5	14.7	16.3	15.6	16.5	15.8	
1959	12.7	12.9	12.5	12.4	11.8	9.1	9.5	12.2	15.9	18.3	16.7	13.0	
1960	16.6	15.5	16.5	16.7	16.9	17.2	16.1	15.6	16.5	15.7	7.9	9.5	
x	15.4	17.6	17.7	18.7	16.1	16.0	15.7	16.0	16.8	16.7	15.8	14.6	
<u>Promedios de temperaturas mínimas</u>													
1954	--	--	--	--	--	--	11.0	10.0	9.4	9.4	9.5	9.0	7.5
1955	7.3	6.8	8.0	9.8	10.3	9.9	9.8	9.9	10.0	9.4	9.1	8.0	
1956	7.5	8.1	8.8	9.6	9.3	9.3	9.2	9.4	8.6	8.5	7.9	8.1	
1957	8.4	9.6	7.8	9.2	9.6	9.8	10.1	9.9	9.9	8.9	9.2	9.1	
1958	8.1	8.5	10.7	11.3	10.9	10.6	10.5	10.4	10.2	10.2	9.6	9.1	
1959	8.6	11.0	10.3	9.6	9.8	9.6	10.0	10.1	11.1	10.3	11.6	11.0	
1960	10.5	11.7	12.2	12.1	12.3	11.3	11.1	11.6	10.5	10.5	8.3	8.1	
x	8.4	9.3	9.6	10.3	10.4	10.2	10.1	10.1	10.0	9.6	9.2	8.7	
<u>Promedios de temperaturas máximas</u>													
1954	--	--	--	--	--	--	26.8	27.0	27.5	25.8	25.9	26.4	26.3
1955	26.5	27.4	28.6	30.4	30.5	27.4	26.1	26.3	26.0	28.6	27.5	25.0	
1956	25.2	28.5	29.7	31.0	27.8	26.2	27.1	27.9	27.4	27.6	27.9	24.7	
1957	24.0	26.8	23.0	29.3	19.5	28.7	25.7	26.8	27.3	21.4	22.7	21.5	
1958	22.0	28.0	31.1	32.1	30.0	27.3	28.0	25.0	26.4	25.8	26.1	24.9	
1959	21.4	23.9	22.8	22.0	21.5	18.7	19.5	22.3	26.9	28.6	28.3	24.0	
1960	27.1	27.2	28.7	28.8	29.2	28.4	27.1	27.3	27.0	26.2	16.1	17.6	
x	24.4	27.0	27.3	28.9	26.4	26.2	25.8	26.1	26.7	26.3	25.0	23.4	

Continuación Cuadro B.

	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Agos.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.
1954	--	--	--	--	--	180.6	164.2	182.4	398.7	88.9	72.0	0.0
1955	42.5	2.0	8.8	3.1	51.3	130.1	229.5	172.7	266.0	144.0	25.1	26.0
1956	2.0	11.5	7.4	35.2	243.0	210.8	147.9	212.1	322.9	58.0	27.4	4.1
1957	0.0	0.0	58.5	34.3	223.1	276.3	451.9	286.8	140.3	40.1	45.5	0.0
1958	82.2	13.2	0.0	0.5	89.9	237.2	205.8	251.3	234.5	97.9	82.1	32.7
1959	17.9	1.0	0.0	49.6	54.5	204.7	210.7	286.8	129.8	422.9	9.5	3.0
1960	4.2	0.0	0.0	3.2	33.8	272.7	334.9	442.2	304.4	166.4	9.3	2.5

9.3. METODO SEGUIDO EN EL ANALISIS EDAFOLOGICO

Determinación de pH (pasta a saturación)

Secar las muestras de suelo
↓
Macerar y tamizar (tamiz 1.91 mm)
↓
Colocar cada muestra en un frasco de vidrio
↓
Agregar agua destilada a saturación
↓
Medir pH con potenciómetro

Conductividad eléctrica (Puente de conductividad)

Utilizar las pastas a saturación empleadas en pH
↓
Colocar la pasta en embudo de porcelana, sobre papel filtro
↓
Colocar el embudo sobre un matraz Kitasato y conectarlo al vacío
↓
Obtener la solución de las diferentes muestras
↓
Medir la conductividad de las soluciones con electrometro
(Puente de conductividad LAB-LINE, Lectromhometer)

Contenido de materia orgánica (Método Walkley-Black)

Tamizar la muestra de suelo seco (tamiz abertura 80 o 100)
↓
Pesar 0.1 g de suelo y colocarlo en matraz Erlenmeyer de 500 ml
↓
Agregar 20 ml de $K_2Cr_2O_7$ 1 N + 10 ml de H_2SO_4 concentrado
↓
Dejar reposar 30min y agregar 150 ml H_2O + 5ml ácido fosfórico conc.
↓
Mezclar y agregar 1 ml de difenilamina
↓
Titular el testigo (sin suelo) con sulfato ferroso 0.5 N
↓
Titular las muestras con sulfato ferroso 0.5 N
↓
Calcular la normalidad del sulfato ferroso gastado en el testigo
↓
Calcular el porcentaje de materia orgánica con la sig. fórmula:
$$\% M.O. = \frac{(ml \text{ dicromato} \times N) - (ml \text{ FeSO}_4 \times N) \times 0.69}{0.1}$$

Textura (Hidrómetro)

Pesar 50 g de suelo seco y tamizado (tamiz malla 1.91 mm)

↓

Colocar la muestra en vaso de metal

↓

Agregar 50 ml de Calgón + 100 ml de H₂O y agitar 15 min

↓

Vaciar la muestra a probeta de 1 l y aforar

↓

Agitar 10 veces con varilla

↓

Realizar las lecturas con termómetro e hidrómetro

↓

Dejar reposar 2 hrs y repetir las lecturas

↓

Calcular el porcentaje de arenas, limo y arcillas

Contenido de nitratos (Acido fenoldisulfónico)

Pesar 25 g de suelo tamizado (tamiz malla 1.91 mm)

↓

Colocar la muestra en matraz Erlenmeyer de 500 ml

↓

Agregar 125ml de solución para extracción de Nitratos y agitar 10min

↓

Añadir 0.4 g de Ca(OH)₂, agitar y añadir 0.5 g de MgCO₃

↓

Filtrar y descartar los primeros 10 ml del filtrado

↓

Tomar 10 ml del filtrado y evaporar en baño maria hasta sequedad

↓

Añadir 3 ml de ác. fenoldisulfónico y agitar

↓

Agregar 15 ml de H₂O y titular con hidróxido de amonio concentrado

↓

Vaciar en matraz aforado de 100 ml y aforar con hidróxido de amonio

↓

Leer en espectrofotómetro a 420 nm

↓

Calcular las ppm de nitratos

Potasio (Flamómetro)

Pesar 10 g de suelo tamizado (tamiz malla 1.91 mm)
↓
Agregar 30 ml de acetato de amonio 1 N, pH 7
↓
Agitar 30 min y filtrar
↓
Agregar 30 ml de acetato de amonio en el filtrado (1er. lavado)
↓
Agregar 30 ml de acetato de amonio (2o. lavado)
↓
Vaciar el filtrado en matraz aforado de 100 ml y aforar con acetato
↓
Leer la muestra en el Flamómetro
↓
Calcular las ppm de potasio (lectura Flamómetro x dilución / 5)

Densidad aparente (terrón en parafina)

Seleccionar un terrón de aprox. 1cm y pesarlo (terrón al aire)
(amarrarlo previamente con un hilo)
↓
Sumergir el terrón en parafina líquida y pesarlo
↓
Sumergir el terrón con parafina en agua y pesarlo
↓
Determinar el porcentaje de humedad de una muestra de 5 g de suelo
 $\% \text{ Hum} = (\text{Peso inicial} - \text{Peso final} / \text{peso final}) \times 100$
↓
Calcular la densidad aparente (g/cc) con las siguientes fórmulas:
Peso del terrón al aire, seco (P_t) = $\frac{\text{Peso del terrón al aire}}{1 + (\% \text{ Humedad} / 100)}$
 $\text{Dens. Ap} = \frac{P_t \text{ al aire, seco}}{P_t \text{ al aire} - P_t \text{ en agua} + P_t \text{ paraf.} - (P_t \text{ paraf.} / 0.9)}$

Fósforo (azul molibdofosfórico)

Colocar 5 g de suelo tamizado en matraz Erlenmeyer de 125 ml

↓
Agregar 35 ml de solución de Bray

↓
Agitar manualmente por 1 min. y filtrar

↓
Agregar carbón activado para decolorar y filtrar

↓
En matraz Erlenmeyer de 125 ml agregar 2ml del filtrado + 25ml H₂O +
3 gotas de 2.4 dinitrofenol

↓
Agregar gotas de NH₄(OH) hasta que aparezca un color amarillo

↓
Añadir gotas de HCl 1 N hasta que quede incolora

↓
Agregar 10 ml de ácido cloromolibdico 1.5%

↓
Aforar a 50 ml en matraz aforado

↓
Añadir 5 gotas de cloruro estañoso 0.05%

↓
Leer al espectrofotómetro a 660 nm

↓
Calcular las ppm de fósforo:
lectura de absorbancia
ppm P = $\frac{\text{pendiente de la curva patrón}}{\text{pendiente de la curva patrón}}$

Carbonatos (neutralización ácida)

Colocar 0.1 g de biftalato de potasio en matraz Erlenmeyer de 125 ml

↓

Disolver con 10ml de H₂O destilada y añadir 3 gotas de fenolftaleína

↓

Titular con NaOH 0.1 N y calcular la normalidad valorada de la sosa

↓

Colocar 2 ml de HCl 1 N en matraz Erlenmeyer de 125 ml

↓

Añadir 3 gotas de fenolftaleína y titular con NaOH 0.1N

↓

Calcular la normalidad valorada del HCl

↓

Colocar 5 g de suelo + 20ml de HCl 1N en matraz Erlenmeyer de 125 ml

↓

Esperar 30 min y filtrar

↓

Tomar 2 ml del filtrado en matraz Erlenmeyer de 125 ml + 3 gotas de fenolftaleína + 10 ml de H₂O destilada

↓

Titular con NaOH 0.1 N

↓

Calcular el % de carbonatos con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ carb.} = \frac{(\text{ml HCl} \times N) - (\text{ml NaOH} \times N) \times 0.050 \times 100}{5 \text{ (g de suelo)}}$$