



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**FENOLOGÍA FOLIAR Y PRODUCCIÓN DE
TERPENOS DE *Sambucus nigra* L. EN LA
CUENCA DEL RÍO MAGDALENA, CDMX.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

P R E S E N T A

CLAUDIA PINEDA ROMERO

DIRECTORA DE TESIS: DRA. SILVIA CASTILLO ARGÜERO



Los Reyes Iztacala, Tlanepantla, Edo. de México

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Dedicatoria

El presente trabajo esta dedicado con todo el amor y esfuerzo a las personas más importantes en mi vida, esperando que se sientan orgullosos de mí.

A mis padres: Guadalupe Romero Pérez y Antonio Pineda Ortuño y
a mi hermana Ximena Pineda Romero

Gracias por todo, los amo muéganos.

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis, Silvia Castillo, ya que gracias a ella este sueño ahora es palpable. Gracias por aceptarme desde un principio con los brazos abiertos en el laboratorio, por brindarme tu confianza y apoyo tanto en cuestiones académicas como personales, por las oportunidades, por haberme enseñado y aconsejado en todo este tiempo, por nunca dejarme sola en el trabajo de campo, por ayudarme a crecer profesional y personalmente cada día; eres una persona que admiro y quiero muchísimo, sin duda tengo a la mejor tutora.

A mi madre Lupita Romero, por ser esa gran mujer que admiro, quien me brindo las herramientas necesarias para enfrentarme al mundo, por ser mi fiel consejera y amiga, por siempre estar ahí para darme un abrazo y tranquilizarme; de igual manera quiero agradecer a mi padre Antonio Pineda por ser un gran hombre, responsable y respetable, por siempre cuidarme e inculcarme el estudio. A ambos mil gracias por su apoyo incondicional, por su dedicación, por desvelarse conmigo, por ser un pilar fundamental para llegar hasta aquí y por muchas cosas más que no terminaría de describir, pero sobre todo gracias por su amor.

A mi hermana Ximena por ser esa cereza en el pastel que le hacía falta a mi vida, por ser súper inteligente y ayudarme en mis tareas cuando lo he necesitado, por prestarme su laptop para instalar programas estadísticos utilizados para analizar los resultados de esta tesis, por ayudarme con mi inglés y por ser esa gran niña de la cual estoy muy orgullosa.

A mi tía Rosy Pineda por su apoyo desde que era pequeña, por quererme como una hija, por estar siempre presente y al pendiente de mis logros académicos; de igual manera a mi tía Juanita Pineda por alentarme moralmente, por su deliciosa comida que me enviaba cuando no podía asistir a las reuniones familiares, por motivos escolares y por el cariño que me ha brindado.

A la M. en C. Yuriana Martínez por sus aportaciones en la elaboración de esta tesis, por siempre estar accesible y con una sonrisa cuando acudí a ella con preguntas, por la gran ayuda que me brindó en el trabajo de campo, además de su calidez humana.

A la Dra. Gaby Santillán por sus enseñanzas en las clases de taller, ayudarme a resolver dudas de índole estadístico y por contagiarme con su alegría.

A la Dra. Josefina Santoyo por abrirme las puertas del laboratorio de química y ayudarme en la fase experimental de este trabajo.

A mi tutor durante los 4 años de carrera, Ángel Durán, excelente profesor y persona, quien siempre me brindó su apoyo, ayudo a resolver dudas, se preocupó por mí y con quien cree un gran lazo tanto académico como personal, siempre le tendré un gran cariño y admiración.

A mis compañeras, equipo y grandes amigas de la carrera Mitzi, Ana, Mónica y Frida, creo que son pocas las personas que pueden conjuntar la amistad y el trabajo y con ustedes tuve la gran fortuna de vivir esta experiencia, por siempre seremos el equipo limón, polen, hidroxapatita, protozoo, bentos y lentes!!! , sin duda han sido pieza clave en este camino, gracias por todo mis niñas, las quiero muchísimo.

A David Vargas, quien fue mi gran apoyo durante toda la carrera, gracias por enseñarme que la biología molecular puede ser muy fácil, por escucharme y brindarme tu cariño, por compartir conmigo la pasión por la Biología y animarme en aquellos momentos difíciles tanto de la carrera como personales. Gracias por estar presente en todo momento.

A mis compañeros de laboratorio Brenda, Yaz, Gus, Adrian, Chris y Leti, por sus aportaciones en mis seminarios, por su ayuda en campo, por haberme hecho parte de ustedes y los momentos divertidos que hacen que el laboratorio sea un gran espacio de trabajo.

A mi honorable jurado, el M. en C. Carlos Rojas, el Dr. Daniel Tejero, la Dra. Silvia Rangel y la M. en C. Liliana Licona, gracias por sus observaciones que ayudaron a enriquecer el presente trabajo

Finalmente gracias al proyecto PAPIME con número PE204413, "Ecología de las malezas y especies introducidas en el bosque templado de la cuenca del río Magdalena" y al proyecto PAPIIT IN-216014 "Importancia de las malezas en las comunidades secundarias del bosque templado de la cuenca del río Magdalena", por la beca otorgada, la cual permitió la realización de esta tesis.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	4
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 Fenología.....	3
1.2 Fenología foliar.....	3
1.3 Factores bióticos y abióticos que influyen en la fenología foliar.....	4
1.4 Fenología en bosques templados.....	5
1.5 Metabolitos secundarios.....	5
2. ANTECEDENTES	7
3. JUSTIFICACIÓN.....	9
4. OBJETIVOS	10
5. HIPÓTESIS.....	11
6. MÉTODO.....	12
6.1 Área de Estudio	12
6.2 Descripción de <i>Sambucus nigra L.</i>	15
6.3 Trabajo de campo.....	17
6.4 Trabajo de Laboratorio.....	21
7. ANÁLISIS DE DATOS.....	22
7.1 Fenología.....	22
7.2 Variables diamétricas.....	22
7.3 Factores abióticos	22
7.4 Producción de terpenos	23
7.5 Análisis estadísticos.....	23
7.6 Análisis Multivariados	24
8. RESULTADOS	25
8.1 Fenología.....	25
8.2 Fenología foliar.....	26
8.3 Clasificación y Ordenación	29
8.4 Producción de terpenos	33
9. DISCUSIÓN.....	45

10.	LITERATURA CITADA.....	53
11.	ANEXOS	61
11.1	Prueba de Lieberman-Burchad para detección de terpenos y esteroides.....	61
11.2	Valores promedio de las variables ambientales y características químicas del suelo de la temporada de lluvias y secas.	61

RESUMEN

La fenología es el estudio de los eventos biológicos repetitivos del ciclo de vida de los organismos a lo largo de un año. Para el caso particular de México, los estudios fenológicos se han desarrollado principalmente en bosques tropicales (húmedos y secos) y se ha investigado muy poco en los bosques templados, los cuales ocupan el 16% del territorio nacional y presentan aproximadamente 24% de la flora total estimada para el país; y en los que se han registrado principalmente la presencia y ausencia de flores y frutos. El objetivo principal del presente estudio es conocer los patrones fenológicos vegetativos de *Sambucus nigra* L, en el bosque de *Abies religiosa*, dentro de la cuenca del río Magdalena, CDMX y su relación con factores bióticos, así como determinar la producción de terpenos. Para ello se registró mensualmente, durante el periodo de diciembre de 2014 a diciembre de 2015, el porcentaje de hojas jóvenes, maduras y seniles, y la producción de terpenos en cada fenofase de 60 individuos distribuidos en cuatro parcelas, también se registró la cobertura y área basal de cada individuo. Además se tomaron registros de la humedad relativa ambiental, la precipitación, humedad del suelo, temperatura y análisis químicos del suelo en temporada de lluvias y de secas. Los resultados muestran que es una especie brevidecdua ya que tiene pérdida y renuevo foliar en un periodo no mayor a un mes, en temporada de secas; sin embargo, presenta renuevos, y hojas seniles durante todo el año. Presenta una mayor producción de hojas jóvenes en febrero, maduras en marzo y seniles en junio, además, de mayo a julio se da la mayor producción de flores y el pico máximo de producción de frutos maduros se da en el mes de junio. Por otra parte la producción de terpenos difiere estadísticamente entre las fenofases, siendo las hojas seniles las que presentan la mayor producción, principalmente durante la época de lluvias, que es el periodo en el cual ellas caen para formar parte de la hojarasca. Finalmente el análisis de ordenación separó marcadamente la época de secas de la de lluvias, agrupó a las parcelas 2 y 5 pertenecientes al sitio 1 y a las parcelas 6 y 7 pertenecientes al sitio 2, de acuerdo a las variables ambientales y las características químicas del suelo, relacionando el factor luz y la humedad del suelo, con la producción de hojas jóvenes, las mayores coberturas y producción de terpenos con la temporada de lluvias (precipitación y humedad del aire) y la mayor proporción de área foliar con la temporada de secas. Este trabajo es la base para ser utilizado posteriormente en otros estudios que permitan determinar algunas estrategias de manejo y conservación tanto de esta especie, como del bosque.

1. INTRODUCCIÓN

Presentación

La cuenca del Valle de México (CVM) contiene bosques de filiación templada en las que se desarrollan cerca del 2% de las plantas del planeta (Calderón de Rzedowski & Rzedowski 2001). En esta cuenca endorreica de origen volcánico con una extensión de 7,500km², se encuentra la cuenca del río Magdalena (CRM), ubicada en la Ciudad de México que, a pesar de ser una de las ciudades más grandes del mundo, (característica que la hace muy vulnerable) todavía cuenta con importantes áreas de vegetación natural, las cuales representan el 58% de su territorio (Corenader, 2006).

La CRM, abarca 3000 ha del suelo de conservación, tiene representados bosques de *Pinus hartwegii*, *Abies religiosa* y bosque mixto y de *Quercus ssp.* Se considera una fuente de importantes servicios ecosistémicos de provisión, regulación y culturales (Almeida-Leñero *et al.*, 2007). Dada su importancia y la presión antrópica a la que se enfrentan estos bosques, es indispensable evaluar su estado de conservación y realizar estudios que permitan la planeación de estrategias y alternativas dirigidas a la conservación y restauración que ayuden a mejorar su calidad, así como al mantenimiento mismo de la cuenca hidrológica (Almeida-Leñero *et al.*, 2007).

Los estudios fenológicos contribuyen al entendimiento de los patrones reproductivos y vegetativos de las plantas y de los animales que de ellas dependen, entre ellos herbívoros, polinizadores y frugívoros (Justiniano y Fredericksen, 2000). En el caso particular del ciclo de vida de las plantas se pueden distinguir como eventos fenológicos: la reproducción y los procesos vegetativos. En cada caso, las diferentes etapas de los procesos se conocen como fenofases. La fenología vegetativa se refiere a la producción de órganos vegetales como las raíces y hojas (foliación), mientras que las fenofases reproductivas corresponden a las actividades de floración y fructificación (Williams-Linera y Meave, 2002).

La fenología puede contribuir a la solución de algunos problemas forestales, ya que sienta bases para comprender la biología de la reproducción de las especies, la dinámica de las comunidades, las interacciones planta-animal y la evolución de la historia de vida de los animales que dependen de las plantas para su alimentación (Talora y Morellato, 2000; Vilchez *et al.*, 2004). Este conocimiento proporciona información sobre la disponibilidad de recursos a lo largo del año y permite determinar las estrategias que pueden favorecer la

calidad y cantidad en la producción de nuevas plántulas (Mantovani *et al.*, 2003). A través del estudio de la fenología, se tratan de establecer las posibles causas de su presencia con relación a factores bióticos y abióticos (Talora y Morellato, 2000; Vílchez *et al.*, 2004).

1.1 Fenología

El término fenología deriva de los vocablos griegos “*phaino*” que significa mostrar o aparecer y “*logos*” tratado o estudio (Dubé *et al.*, 1984; Rathcke y Lacey, 1985). Se define como el estudio de las respuestas de los organismos vivos a los diferentes cambios y estímulos originados por el medio externo, principalmente el clima y las interacciones con las otras formas de vida (Lieth, 1974; Fournier y Charpantier, 1975). Fue propuesto por el botánico belga Carlos Morren en 1853 por lo cual se le atribuye el título de “Padre de la Fenología Moderna”. Sin embargo, Carlos Linneo, en su *Philosophia Botanica* (1751), fue quien propuso los métodos de observación de producción y caída de hojas, ausencia de flores y frutos, junto con las observaciones climáticas (Hopp, 1974).

Una concepto interesante fue expuesto por Dugand (1978) quien manifiesta cómo la fenología se aprecia mejor dentro de la dinámica vegetal y de una temporada a otra durante el año, al cumplirse en estas los fenómenos visibles de su vida y particularmente los que se acomodan a cierta periodicidad, relacionada con el clima del lugar en el que ocurren, y por tanto, determinando las fenofases de las plantas, las cuales son: (1) el tiempo de germinación de las semillas, (2) duración y suspensión del crecimiento del tallo y ramificaciones, producción, brote y caída de hojas, (3) floración, (4) maduración de los frutos y liberación de estos últimos (Rathcke y Lacey, 1985).

En diversos trabajos se ha sugerido que el inicio, duración, frecuencia e intensidad de la floración, fructificación y foliación de las especies de una comunidad vegetal dependen de ciertos factores ecológicos, climáticos y biológicos. Entre los posibles factores se ha enfatizado en las horas de brillo solar, la humedad relativa, la variación estacional de la temperatura, de la precipitación y del fotoperiodo. (Kudo *et al.*, 2008; Seiwa, 1999).

1.2 Fenología foliar

Las estrategias de las plantas a partir del comportamiento foliar son presentadas por Monasterio y Sarmineto (1976) y Arriaga-Martínez (1991) de la siguiente forma:

- a) Deciduas o caducifolias: Las hojas permanecen menos de 10 meses. El renuevo foliar se presenta a finales de la temporada de secas. La producción de las hojas

ocurre en la temporada húmeda con su máximo en los meses de junio y julio. El máximo del envejecimiento y la caída foliar se registra a mediados de la temporada de secas. Este comportamiento, se observa principalmente en especies arbóreas pero igual es aplicable a especies arbustivas.

- b) Perennifolias: La duración de las hojas es de aproximadamente 12 meses, por lo que no existe una estacionalidad entre la caída y el renuevo foliar que ocurren simultáneamente.
- c) Brevidecuidas: Es un punto intermedio entre las dos anteriores; la duración de la permanencia de las hojas es menor de un año, por lo que la etapa de transición entre la abscisión y el renuevo es de un mes o menos. Sin embargo, estas especies pueden actuar como deciduas facultativas ya que dependerán de la cantidad de humedad que haya en el ambiente.

1.3 Factores bióticos y abióticos que influyen en la fenología foliar

Los factores abióticos más importantes para la emergencia de las hojas en una planta son la condición de la luz, el peso del individuo y el clima (Seiwa, 1999). El tamaño de la planta modifica en ocasiones los patrones fenológicos foliares, resultando en última instancia una asincronía intraespecífica notable (Seghieri y Simier, 2002).

Además de estos factores, también existen los factores bióticos, los cuales pueden ser externos como los insectos fitófagos y mamíferos rumiantes que afectan la permanencia de las hojas; o internos, como el gasto de energía para la formación de tejido no-fotosintético (flores y frutos) y néctar, que influyen directamente en algunas especies en la producción y mantenimiento de las hojas, lo que implica que ciertas especies presenten defoliación y deshidratación de los tallos posterior a la producción de flores, principalmente (Singh y Kushwaha, 2006).

La floración y la defoliación pueden estar interrelacionadas (Van Schaik *et al.*, 1993). La pérdida de las hojas puede ser el resultado de una menor disponibilidad de recursos como alimento y hormonas entre las flores y las hojas, y por esto es frecuente que se presente floración durante o después de la defoliación (Alencar, 1979; Falcao y Lleras, 1980).

1.4 Fenología en bosques templados

La relación fenológica clima-vegetación presenta mayor dinamismo en sistemas estacionales tales como son los bosques templados, debido a la marcada diferencia entre las estaciones en términos de temperatura, precipitación y duración del día por lo que la mayoría de las plantas reaccionan a estos cambios (Rich *et al*, 2008).

En los bosques templados, las condiciones climáticas durante el invierno inhiben el crecimiento y por esto predominan los ciclos anuales en los eventos fenológicos, durante el invierno de la región templada y también durante el período de sequía de algunos ecosistemas tropicales claramente estacionales, las plantas permanecen defoliadas como un mecanismo adaptativo, pues ello permite reducir la transpiración durante un período en el que el agua que se pierde es difícil de reemplazar (Addicott, 1978).

En estos climas la secuencia de fenofases de las plantas leñosas está claramente relacionada con la variación de temperatura y fotoperiodo (Lieth 1974, Rathcke y Lacey 1985). Por ello la mayoría de las especies suelen realizar las mismas fenofases en los mismos momentos del año. Esta sincronía fenológica que se observa en muchas especies de distintas comunidades vegetales puede presuponer la existencia de un ajuste fenológico preciso con la estacionalidad del clima (Lieth 1974).

1.5 Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios son compuestos con distribución restringida en los grupos taxonómicos. La síntesis específica de cada compuesto suele estar limitada a estados específicos del desarrollo de cada tipo de organismo, células especializadas y períodos de estrés causados por la deficiencia de nutrientes o por el ataque de microorganismos (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Estos compuestos no son necesarios para el crecimiento de la célula u organismo, sin embargo juegan un papel importante en la interacción con su ambiente, asegurando la supervivencia del organismo en su ecosistema (García, 2004).

Los metabolitos secundarios intervienen de distintas maneras en la interacción del organismo con su ambiente como por ejemplo, en las relaciones de competencia con otras plantas, actuando como agentes alelopáticos (terpenos, fenoles, taninos), en relaciones de mutualismo (flavonoides), en la atracción de polinizadores, en funciones defensivas causando toxicidad, entre otras. (García, 2004).

La alelopatía es un fenómeno biológico, donde una planta libera al medio ambiente por una determinada vía (por ej. lixiviación, descomposición de residuos, etc.) compuestos químicos los cuales al ser incorporados por otra planta (receptora) provocan un efecto perjudicial o benéfico sobre germinación, crecimiento o desarrollo de esta última (Molish, 1973).

La mayoría de los agentes alelopáticos son metabolitos secundarios derivados de las rutas del acetato-mevalonato o del ácido shikímico, como son los terpenos, los cuales tienen un efecto nocivo muy marcado sobre el metabolismo celular, especialmente sobre la respiración y la mitosis. Estas sustancias son excretadas al medio a través de los distintos órganos del vegetal y al llegar al suelo pueden afectar el crecimiento de otros organismos (Briemann *et al.*, 2006).

2. ANTECEDENTES

De acuerdo con Borchert (1983) en algunas especies la asociación entre floración y cambio foliar depende de la arquitectura de las ramas y del comportamiento del meristemo apical. Por ejemplo, las inflorescencias al final de las ramas, que se localizan en las yemas terminales, requieren para su desarrollo de la iniciación de nuevos rebrotes a partir de las yemas laterales, por lo cual estas inflorescencias terminales generalmente están precedidas de defoliación en la misma rama.

Farnsworth *et al.* (1995) estudiaron la fenología y desarrollo de tres formas de vida de un bosque templado en respuesta al calentamiento artificial del suelo, como simulación de un cambio global del clima. Se encontró que la fenología de la emergencia de las hojas y producción de flores no resultó afectada, sin embargo, los árboles y arbustos maduros produjeron hojas más temprano y en mayor número en el tratamiento con calentamiento, igualmente sucedió con la floración. El calentamiento del suelo también provocó un ligero aumento en el diámetro de crecimiento de arbustos.

En el estudio realizado por Seiwa (1999) se examinaron los rasgos fenológicos foliares tales como el registro de tiempo de la foliación y defoliación, duración de la emergencia de las hojas, duración y longevidad de las hojas en individuos de *Acer mono* de diferentes tamaños (edades), en condiciones de bosque cerrado y bosque expuesto. Los resultados indicaron que los cambios en la duración de los botones foliares y la longevidad de la hoja son respuestas al ambiente, específicamente a la cantidad de luz que recibe el organismo.

Sambucus nigra es catalogada como especie indicadora de disturbio antropogénico en Europa, ya que coloniza fácilmente suelos eutróficos y perturbados, ricos en nitrógeno, fosfato y sodio (Pollard *et al.*, 1976; Rackham, 1986; Atkinson y Atkinson, 2002). Esta especie crece principalmente en áreas de mucha luz, pero es capaz de establecerse bajo sombra profunda (Gilbert, 1991; Kollmann y Reiner, 1996; Atkinson y Atkinson, 2002).

Pollard y Cussans (1976, 1981) establecen que *S. nigra* es una maleza ocasional de invierno en Inglaterra. Por otro lado, Hultén y Fries (1986) la denominan especie nativa de Europa e introducida en América del norte, este de Asia y el sur de Australia. Cabe aclarar

que para México esta especie es catalogada como una maleza nativa, naturalizada (CONABIO, 2013, Rzedowki y Rzedowski, 2005).

De acuerdo con la base de datos Phytochemical and Ethnobotanical Databases, *Sambucus nigra* tiene registros de dos ácidos triterpenicos (ácido ursólico y ácido oleanólico), los cuales tienen reportes de efectos alelopáticos en otras especies.

De los trabajos más amplios que existen sobre *Sambucus nigra* L., se encuentra el realizado por Atkinson y Atkinson (2002), el cual recopila estudios fisiológicos y ecológicos en bosques holárticos, mencionando el trabajo de Frederick Lowe en Tenbury, Worcestershire entre 1915 y 1931 como parte de una red nacional de observación fenológica, donde se reportó que las hojas suelen surgir en febrero o marzo y las flores en mayo o junio, los frutos comienzan a desarrollarse en julio y a madurar durante agosto y finalmente estar maduros a principios de septiembre.

En México el estudio realizado por Bonilla-Valencia (2014), aborda el éxito reproductivo de esta especie, en el se encontró que *S. nigra* tiene patrones de floración y fructificación con índices de sincronización muy bajos y que estos patrones difieren entre microambientes encontrados, lo cual sugiere una alta plasticidad de la especie en cuanto a sus patrones reproductivos.

3. JUSTIFICACIÓN

El bosque templado de *Abies religiosa* de la cuenca del río Magdalena, es de suma importancia en términos de la biodiversidad que alberga, de los recursos que nos brinda y por la presión antrópica a la que se enfrenta, resultando indispensable realizar trabajos que permitan la planeación de estrategias para su conservación, como lo son los estudios fenológicos, que en el caso particular de las malezas, nos muestran la dinámica de colonización de estas plantas, las cuales llegan a presentar actividad inhibitoria en el crecimiento y germinación de otras especies, lo que podría atribuirse a fenómenos alelopáticos.

La maleza nativa *Sambucus nigra*, se distribuye de forma agregada en zonas perturbadas y de dosel abierto en el bosque de *Abies religiosa* (Santibáñez- Andrade, 2009). Por lo tanto, resulta importante conocer los tiempos y periodos de brote y caída de hojas de los individuos de esta especie, así como determinar los factores abióticos que influyen en su desarrollo y la producción de terpeno en cada una de las fenofases, éste conocimiento ayudará a tomar decisiones apropiadas para el monitoreo y manejo de la especie.

4. OBJETIVOS

General:

- Describir los patrones fenológicos foliares y determinar la producción de terpenos de *Sambucus nigra* L. en el bosque de *A. religiosa* en la cuenca del río Magdalena, D.F.

Particulares:

- Relacionar la producción y caída de hojas de *S. nigra* L., con su cobertura y área basal, así como con los factores abióticos de temperatura, precipitación, cantidad de luz y características químicas del suelo.
- Cuantificar la producción de terpenos en las hojas de *S. nigra* L.
- Relacionar el estadio de las hojas de *S. nigra* L. con el área foliar y la cantidad de terpenos que produzca.

5. HIPÓTESIS

- Se espera que los patrones fenológicos observados en este estudio sean de tipo estacional, ya que dependen de las condiciones ambientales de un clima templado.
- Se espera que la producción de flores y frutos tenga una relación negativa con la producción de hojas, debido a la disponibilidad de recursos entre las estructuras reproductivas y foliares.
- Los terpenos son los inhibidores de crecimiento más abundantes identificados en plantas superiores, estos suelen liberarse por lixiviación a través de las hojas más longevas, se espera encontrar diferencias en la producción de terpenos entre las fenofases foliares de *Sambucus nigra*; especie que presenta ácidos triterpénicos.

6. MÉTODO

6.1 Área de Estudio

La cuenca del río Magdalena (CRM) se localiza en la porción sur de la Sierra de las Cruces, en el límite SW de la CDMX, dentro de la cuenca del Valle de México. Presenta un relieve montañoso que va de los 2,470 m s.n.m. en el NE a los 3,850 m s.n.m. al SW (Álvarez, 2000; Ontiveros, 1980). Colinda al sur con la cuenca del río Eslava, al NW con las cabeceras de las cuencas de los ríos Hondo, Mixcoac, Barranca de Guadalupe y San Miguel; estos se unen al río Magdalena en la parte baja y forman el río Churubusco. Además ocupa parte del territorio de las delegaciones políticas Cuajimalpa, Álvaro Obregón y Magdalena Contreras (Álvarez, 2000).

El bosque de *Abies religiosa* de la CRM, al SW del valle de México en el D. F. entre las coordenadas 19° 13' 53 " y 19° 18' 12" N y 99° 14' 50" y 99° 20' 30" W ocupa una superficie de 1071 ha, por lo que es el bosque con mayor superficie de la CRM (44.6 %); se distribuye en la parte media y sur, colinda con el bosque de *Quercus* y bosque mixto entre los 2600 y 2700 m s.n.m. y en su límite altitudinal superior a 3650 m s.n.m. con el bosque de *Pinus hartwegii*.

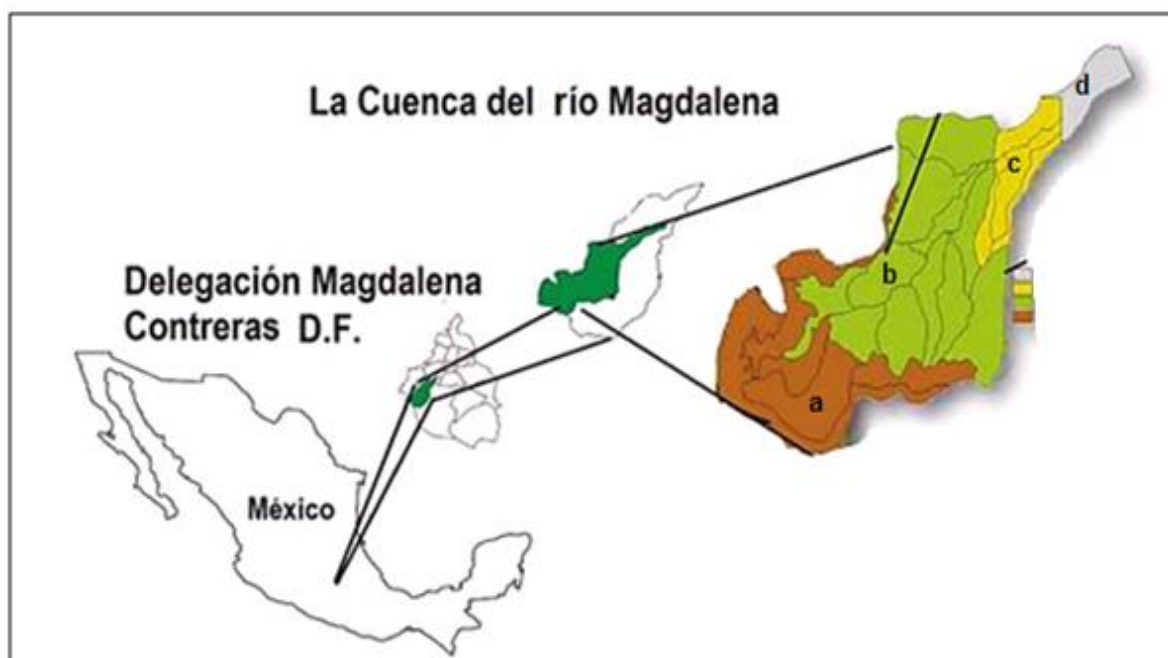


Fig. 1 Ubicación del bosque de *Abies religiosa* (b), dentro de la CRM, CDMX. La letra a) corresponde al bosque de *Pinus hartwegii*, la c) al bosque de *Quercus* y la d) asentamientos humanos (Tomado de Santibáñez-Andrade, 2009).

Clima

De acuerdo a la clasificación de Köppen en el bosque de *A. religiosa* se presentan dos subtipos de clima templado subhúmedo, entre los 2 400 y 2 800 m s.n.m. el subtipo C (w2) (w) b (i') el más húmedo de los húmedos, y entre 2800 y 3500 m s.n.m. el subtipo C (b') (w) b i, subhúmedo semifrío con verano fresco (García, 1978; Álvarez, 2000). Con base en las estaciones meteorológicas cercanas y similares en altitud al bosque de *A. religiosa*, se reporta que la temporada de lluvias se presentan en verano, con una precipitación anual de 950-1300 mm, temperatura mínima de 0-6 °C, media de 5-13 °C y una máxima que varía entre los 9-20 °C; el periodo más frío es de noviembre a diciembre y el más cálido comprende de marzo a septiembre (Dobler-Morales, 2010; Delgadillo-Durán, 2011).

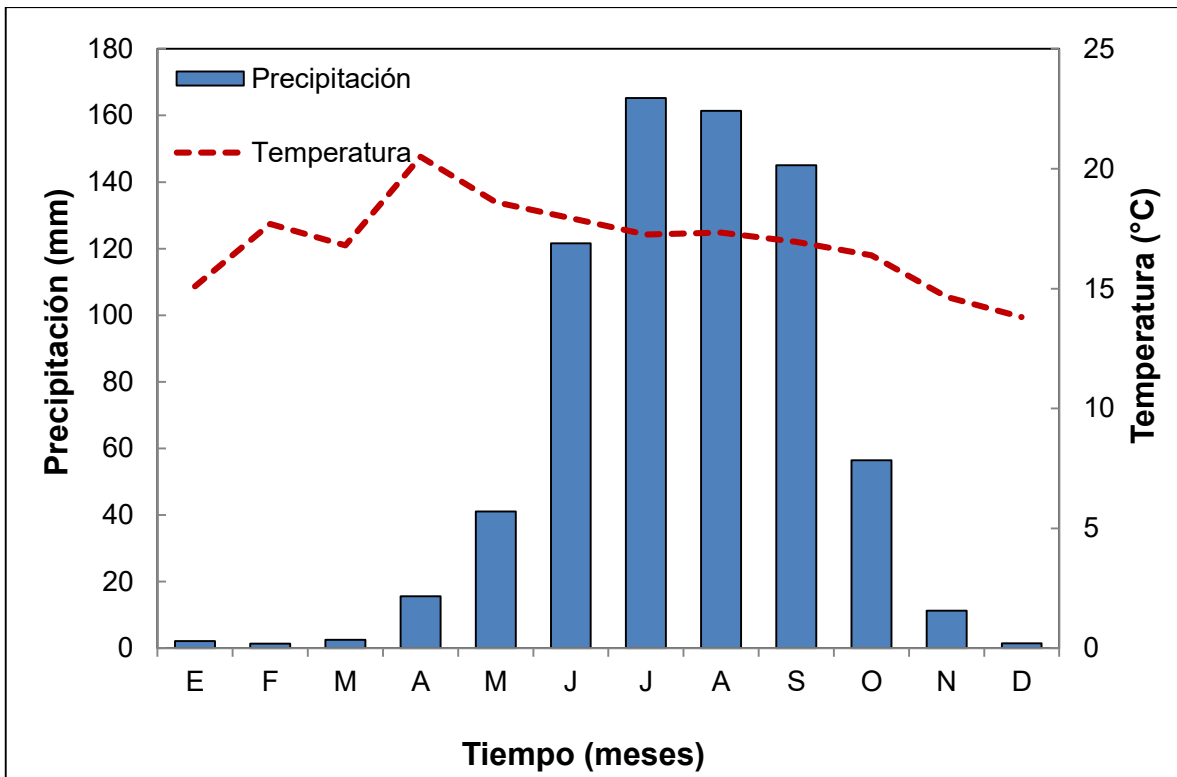


Fig. 2 Climograma obtenido a partir de los datos de la estación meteorológica Desviación Alta al Pedregal (19°18 '00 " N -99° 14"00" O, a una altitud de 2470 m s.n.m.), en el periodo de 1967-2000) y de la estación meteorológica Monte Alegre (19°13'00" O, a una altitud de 3450 m s.n.m., en el periodo de 1967-1987). Ambas estaciones se encuentran dentro de la delegación Magdalena Contreras (Tomado de Delgadillo- Durán, 2011).

Vegetación

Fisonómicamente el bosque de *A. religiosa* es perennifolio semicerrado, alto y medianamente denso. Presenta una alta heterogeneidad en su composición y estructura arbórea. La mayoría de especies que lo componen son de afinidad templada y cosmopolita. En este bosque se pueden encontrar áreas naturales, con coberturas arbóreas entre 40% - 75%, y áreas perturbadas por disturbios antrópicos, con coberturas arbóreas de 15% - 30 % (Ávila-Akerberg, 2002; Santibáñez-Andrade, 2009).

El bosque de *A. religiosa* presenta dos estratos arbóreos, uno alto de 35 m dominado por *A. religiosa*, que tiene asociaciones con otras especies arbóreas como *Pinus hartwegii* en las zonas de mayor altitud y *Quercus rugosa* y *Q. laurina* en las áreas con menor altitud (Santibáñez-Andrade, 2009). El segundo estrato arbóreo es el bajo (< 35 m), en donde están presentes de forma dominante, *Sambucus nigra* y *Salix paradoxa* (SMA, 2008; PUEC, 2008). Entre las especies que caracterizan al estrato arbóreo, se encuentran *Q. rugosa*, *Ceanothus coeruleus*, *Prunus serotina*, *Pinus hartwegii*, *Pinus montezumae*, *Pinus ayacahuite* y *Buddleia cordata* (Ávila-Akerberg, 2002; Santibáñez-Andrade, 2009, Ávila-Akerberg, 2010).

En el estrato herbáceo la mayoría de la especies son nativas, los géneros más representados son *Senecio*, *Salvia* y *Ageratina*, la especie representativa es *Acaena enlongata* (Pizarro-Hernández, 2012).

Hidrología

En el bosque de *A. religiosa* sigue su curso el río Magdalena, el cual nace en las estribaciones de los cerros Palma, San Miguel, Cochinos y Coconetla entre los más importantes, a una elevación aproximada de 3,650 m s.n.m; tiene un curso en dirección NE con una longitud aproximada de 21,600 m (Álvarez, 2000).

De los tres tipos de bosque de la CRM, el bosque de *A. religiosa* proporciona mayor cantidad de agua, pese a que a la precipitación no es tan grande como en la parte alta el escurrimiento total es mayor, debido a que presenta mayor extensión en superficie de los tres tipos de bosque. El bosque de *A. religiosa*, genera el 52% de agua disponible de toda la cuenca, presenta un escurrimiento anual de 742 mm y su escurrimiento en aguas subterráneas es de 300 mm (Jujnovsky, 2006; 2012).

Topografía

El bosque de *A. religiosa* se establece en una zona que proviene de roca ígnea extrusiva intermedia, de tipo andesitas, dacitas, tobas andesíticas y brechas, producto de procesos volcánicos y tectónicos que se desarrollaron durante el Terciario Medio hasta el Plioceno en el Cuaternario (Lugo-Hubp, 1989; Álvarez, 2000). Este bosque se desarrolla en un relieve montañoso con un ascenso continuo en altitud. Las condiciones de pendiente varían, ya que presenta pendientes desde planas (2°) hasta muy inclinadas (50°) y laderas agudas de más de 45° de inclinación (Ávila-Akerberg, 2002; Jujnovsky, 2003).

Suelo

El suelo del bosque de *A. religiosa* es principalmente de tipo Andosol húmico, que se distingue por presentar en la superficie una capa de color oscuro o negro, rica en materia orgánica (INEGI, 2004). La parte superior está compuesta de hojarasca, presenta una textura de migajón arenoso muy fino y tiene una alta porosidad. En menores altitudes se encuentran suelos de tipo Andosol húmico con litosoles, en sitios de mayor altitud se encuentra litosoles con Andosoles húmicos (Álvarez, 2000). De acuerdo a las propiedades químicas promedio presenta un pH (H₂O) de 6.1, conductividad de 2.7 dS/m, una humedad de 45.1%, un porcentaje de materia orgánica de 10.9%, 0.46 % de nitrógeno total, 11.4 mg/kg de fósforo, carbono orgánico total de 6.2% (León-Gutiérrez, 2011). Presenta variación en las condiciones de potasio y conductividad eléctrica, a lo largo del gradiente altitudinal (Santibáñez-Andrade, 2009).

6.2 Descripción de *Sambucus nigra* L.

Sambucus nigra pertenece a la familia Caprifoliaceae es un árbol mediano hasta grande de 5m a 20 m de altura y de 20 cm a 60 cm de diámetro. Tiene el fuste recto y copa globosa de follaje denso, que se desarrolla desde el segundo tercio. La corteza externa es agrietada de color marrón cenizo y a veces se desprende en placas de forma rectangular. La corteza interna es blanquecina (Bolli, 1994).

Presenta ramas frecuentemente arqueadas, las plantas jóvenes tienen numerosas ramas derivadas de la base y una gran capacidad de formar brotes nuevos, el tallo es de color gris, con lenticelas, las hojas son compuestas, opuestas, ovaladas a lanceoladas con márgenes aserrados a profundamente divididos en segmentos, a veces con pelillos sobre las venas (Barnola, 1972; Bolli, 1994).

Forma inflorescencias en forma de corimbo multifloro agrupadas en panículas muy anchas (de hasta 50 cm de diámetro) y redondeadas, que se ubican generalmente hacia las puntas de las ramas. Las flores son pequeñas, pentámeras, bisexuales, actinomorfas y fragantes, presentan cáliz pequeño y la corola es blanca, de menos de 1 cm de diámetro (Bolli, 1994; Wade *et al.*, 1994; Rzedowski y Rzedowski, 2001). El fruto al madurar, es una drupa globosa u ovoide de color púrpura a negro, de 3 a 8 mm de diámetro, las cuales contienen 3 a 5 semillas comprimidas (Rzedowski y Rzedowski, 2001; Atkinson y Atkinson, 2002).



Figura 3. Individuo de *Sambucus nigra*, en el bosque de *A. religiosa*.



Figura 4. (a) hojas, (b) flores y (c) frutos de *S. nigra*

6.3 Trabajo de campo

De acuerdo a la alta heterogeneidad espacial por la topografía del sitio, a las variantes en la vegetación y en las condiciones ambientales, en el bosque de *A. religiosa* se pueden distinguir 11 unidades ambientales (Santibáñez-Andrade, *et al.*, 2015) El estudio se realizó en la unidad ambiental número 8 (Fig. 5), la cual se localiza entre las coordenadas 19° 15' 39" N y 99° 18' 55" O, a una altitud de 3200-3500 m s.n.m., dado que esta unidad presenta una alta proporción de individuos de *S. nigra* L, con un valor de importancia de 4.65 y que es considerada como una zona con disturbio antropogénico y con dosel abierto (Santibáñez-Andrade, 2009).

Basándonos en el estudio realizado por Bonilla (2014), dentro de la misma unidad, se marcaron 60 individuos de *S. nigra*, distribuidos en cuatro parcelas de 25 x 25 m, las primeras dos parcelas (2 y 5), a las cuales hicimos referencia como las parcelas del sitio 1, mantenían una distancia de 5 metros entre ellas, al igual que las parcelas que nombramos parte del sitio 2 (6 y 7); existiendo una distancia de 20 m entre los sitios. Se midieron las variables diamétricas de cada individuo y se les registraron los porcentajes de hojas jóvenes, maduras y seniles mensualmente.

En el mes de marzo de 2015, el cual corresponde a la época de secas y en septiembre correspondiente a la época de lluvias, se eligieron al azar 5 individuos de cada parcela y de cada uno se colectaron 3 hojas aleatoriamente, en diferentes fenofases (juveniles, maduras y seniles), las cuales fueron transportadas en bolsas de papel estraza al

Laboratorio de Dinámica de Comunidades de la Facultad de Ciencias; donde se pesaron y se midió el área foliar de cada una.

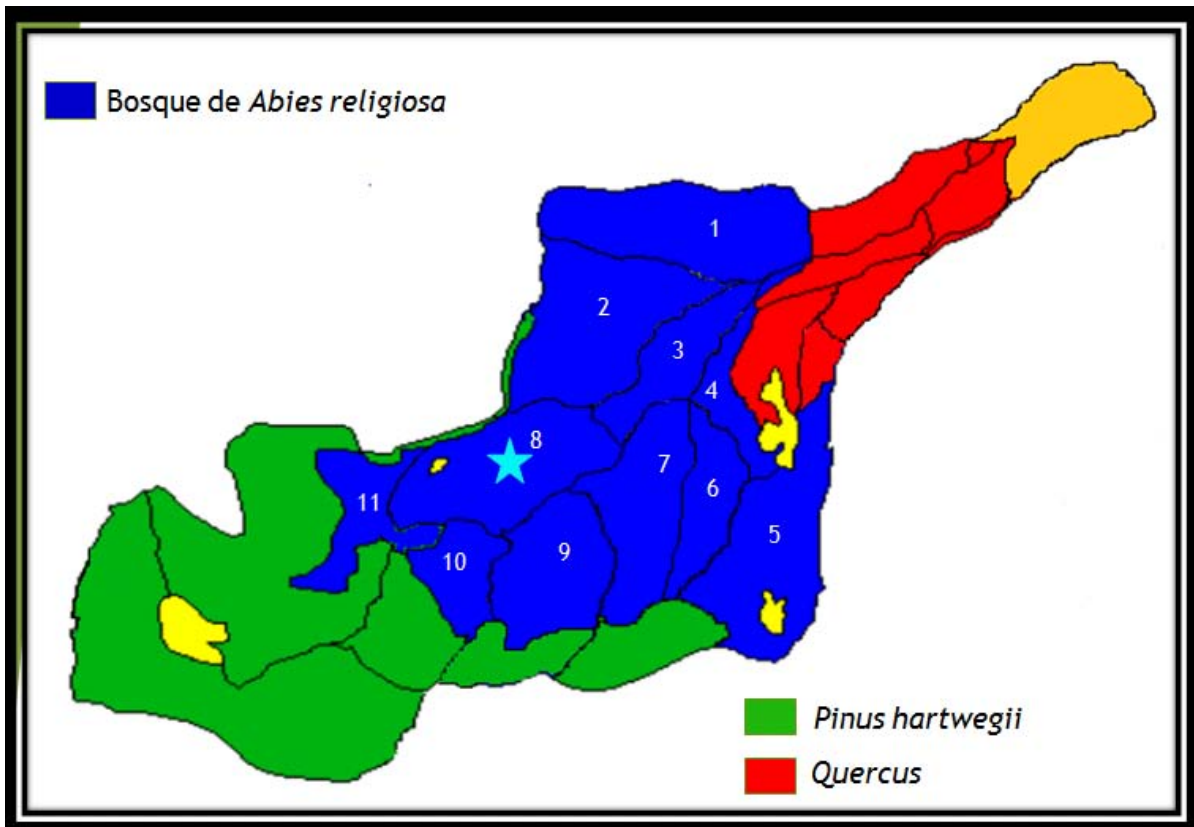


Figura 5. Unidades del bosque de *Abies religiosa*, en la CRM, CDMX. La unidad del presente estudio, se encuentra marcada con una estrella.

Registro de la fenología foliar

A partir de diciembre de 2014 y hasta diciembre de 2015, se registró en cada individuo la intensidad de fenofases, (hojas jóvenes, maduras y seniles)(Fig. 6.) con observaciones directas o con la ayuda de binoculares utilizando la escala porcentual propuesta por Fournier y Charpantier (1975) y modificada por Carabias-Lillo y Guevara-Sada (1985), en relación a las ramas observadas en cada individuo; por ejemplo: el rango 1 significa que el 10% de las ramas del árbol presentan hojas jóvenes y el rango 5 significa que más del 75% de las ramas del individuo muestran hojas jóvenes.

Cuadro 1. Escala fenológica Fournier y Charpantier (1975) y modificada por Carabias-Lillo y Guevara- Sada (1985).

Rango	Intensidad de la fenofase
0	Ausencia de la característica
1	Presencia de la característica, con un intervalo de 1-10%
2	Presencia de la característica, con un intervalo de 11-25%
3	Presencia de la característica, con un intervalo de 26-50%
4	Presencia de la característica, con un intervalo de 51%-75%
5	Presencia de la característica, con un intervalo de 76-100%

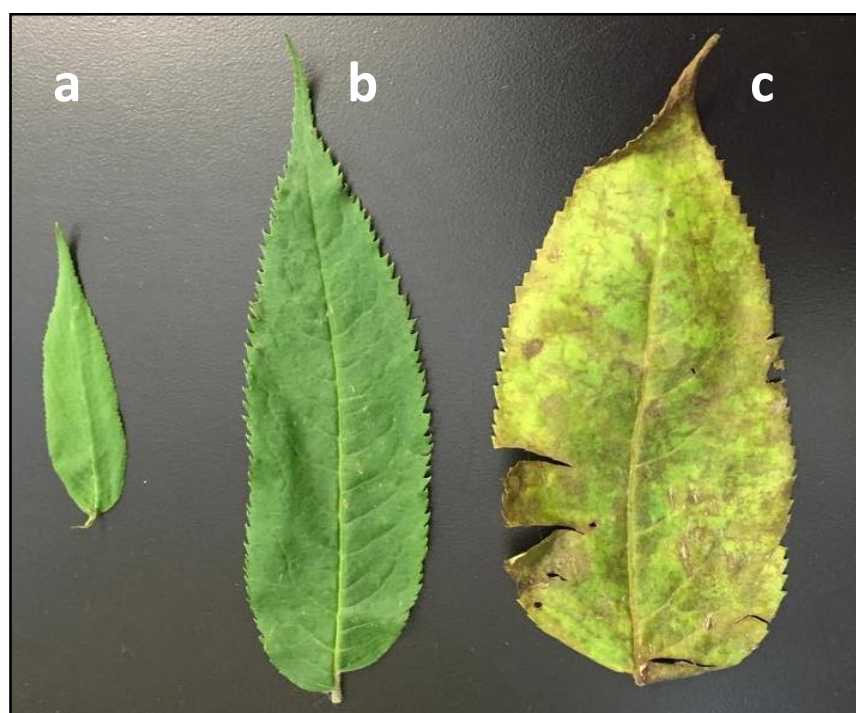


Figura 6. Fenofases foliares. a) juvenil, b) madura y c) senil.

Variables diamétricas de los individuos

Para tener una caracterización de las variables diamétricas de los individuos de la especie de estudio, se midió con una cinta métrica, el perímetro a la altura del pecho, a partir de los 1.30 m de altura, los 2 diámetros perpendiculares de la copa de cada árbol (d1 y d2) y se registró la altura de los árboles con una pistola láser de medición Trimble Laser Ace 100 rangefinder (Mostacedo y Fredericksen, 2000).

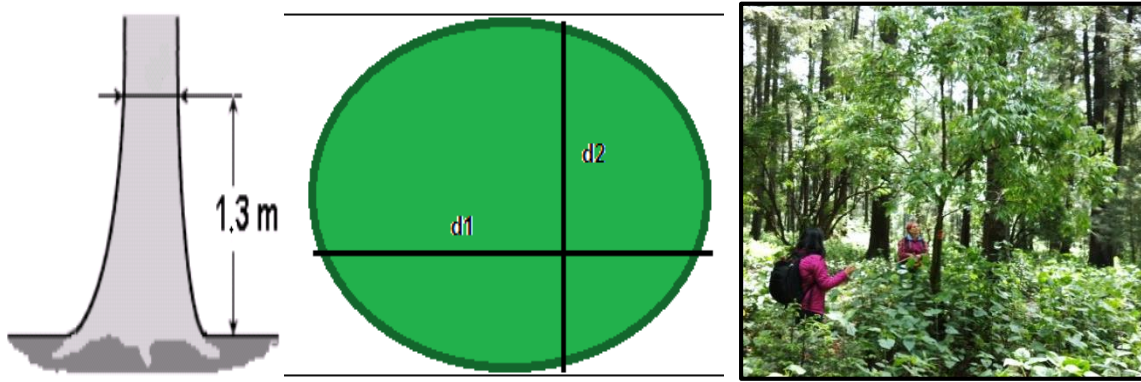


Figura 7. Representación de las variables diamétricas registradas en cada uno de los individuos.

Factores abióticos

Con el propósito de conocer los factores abióticos que se relacionan con la fenología foliar de *S.nigra*, se tomaron los promedios de precipitación mensual de las bases de datos de las estaciones meteorológicas río Magdalena y Monte Alegre (SMN, 2015), las cuales fueron las más cercanas a la unidad de muestreo. Para conocer la temperatura y la humedad del aire de los sitio, se colocaron (en un punto intermedio dentro de las parcelas delimitadas) dos medidores de temperatura HOBO Data Logger en el suelo, mismos que tomaron mediciones mensuales durante un año.

La cantidad de luz y apertura del dosel, se calcularon cada dos meses mediante la toma de fotografías hemisféricas por parcela, con una cámara digital Nikon D80 con lente de ojo de pez (EX SIGMA 4.5 1:28 DC HSM).

Para conocer la humedad del suelo, se tomaron muestras de suelo en cada parcela, las cuales fueron pesadas y posteriormente secadas en un horno a 100°C, durante tres días para registrar el peso seco.

Con el fin de determinar las características químicas del suelo, en cada parcela se tomaron cinco muestras de suelo de 250g. Posteriormente fueron enviadas al laboratorio de fertilidad de suelos, en el Colegio de Posgraduados campus Montecillos (COLPOS) para su análisis. Las variables que se analizaron fueron: pH y conductividad eléctrica en agua, porcentaje de materia orgánica por medio de una digestión húmeda (Walkley y Black, 1934), concentración de fósforo inorgánico disponible con una extracción de NaHCO₃ al 0.5 M, con un pH 8.5 y determinación colorimétrica (Olsen et al., 1954), porcentaje de nitrógeno mediante una digestión húmeda con una mezcla de ácido sulfúrico y una destilación semi-micro Kjeldahl por arrastre de vapor y titulación con ácido

sulfúrico 0.05 N (Bremner, 1965) y concentración de potasio con la extracción de NH₄OAc, 1 N, pH 7 y por fotometría de llama (Knudsen *et al.*, 1989).

6.4 Trabajo de Laboratorio

Cuantificación de terpenos

Se midió el área foliar de las hojas, estas fueron secadas en un horno ($\leq 50^{\circ}\text{C}$) por 48 hrs, se obtuvo el peso seco y posteriormente se realizaron las extracciones por maceración con disolvente de polaridad ascendente (hexano), las muestras se dejaron reposar por 24 hrs. Consecutivamente, los extractos obtenidos de cada fenofase, fueron trasvasados, filtrados y colocados en una cámara de vacío, para eliminar por completo el disolvente, este procedimiento se realizó por triplicado en cada muestra para obtener la mayor cantidad de extracto y finalmente calcular los rendimientos.

Para detectar la presencia de terpenos, a cada uno de los extractos se les efectuó la prueba de Lieberman-Burchad (Domínguez, 1973) (Anexo 1) en tubos de ensaye, para la cual se pesaron 10 mg de extracto, y fueron diluidos en 2 ml de cloroformo para obtener un blanco y una muestra a la que se le aplicó el reactivo, considerándose positiva si se observaba un cambio de coloración al azul o verde. Las muestras positivas a la prueba de Lieberman-Burchad fueron leídas en un espectrofotómetro para determinar la concentración de terpenos en relación a las absorbancias. La longitud de onda (580nm), fue determinada de acuerdo a la coloración que mostró el extracto con el disolvente (cloroformo), muestras que a su vez fueron utilizadas como blancos

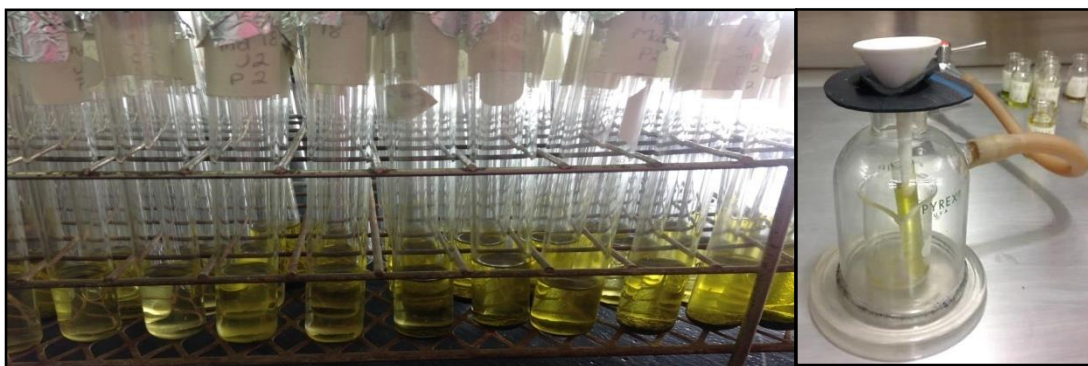


Figura 8. Extractos de las diferentes fenofases de los individuos de *S. nigra*.

7. ANÁLISIS DE DATOS

7.1 Fenología

Para conocer el patrón de la fenología vegetativa de *Sambucus nigra*, se promedió el porcentaje de hojas jóvenes, maduras y seniles producidos cada mes, en cada parcela, para así poder graficarlos respecto a los valores promedio de precipitación y temperatura, con sus respectivas desviaciones estándar. De igual manera se promediaron los porcentajes de las fenofases reproductivas.

7.2 Variables diamétricas

Bajo el supuesto, que la cobertura de la copa de cada individuo arbóreo tiende a ser un círculo, se calculará la cobertura de cada individuo, con los dos diámetros perpendiculares de la copa de los árboles (d1 y d2), mediante la siguiente fórmula (Mueller-Dombois y Ellenberg, 1974).

$$C = \pi \frac{(d1+d2)^2}{4}$$

C= cobertura; d1= diámetro 1; d2= diámetro 2 y $\pi = 3.1416$

El área basal, definida como la superficie transversal del tallo o tronco expresada en metros de materia vegetal por unidad de superficie, se determinará con el perímetro a la altura del pecho de cada uno de los individuos de *S. nigra*. En el caso de individuos policaulescentes (con más de un tallo) se sumará el área basal para obtener el área total por individuo, y se calculará con la siguiente fórmula (Matteucci y Colma, 1982).

$$AB = \frac{P^2}{4 \pi}$$

AB= área basal; P= perímetro a la altura del pecho; $\pi = 3.1416$

7.3 Factores abióticos

Con los datos de temperatura obtenidos de los Hobos, se calcularon los promedios mensuales y sus desviaciones estándar de la temperatura y humedad del aire de los sitios

Las fotografías hemisféricas fueron analizadas con el programa Gap Light Analyzer para conocer la cantidad de luz, determinar la fracción de apertura del dosel (FAD), el porcentaje de transmisión de luz directa (FSD) y el porcentaje de transmisión de luz difusa

(FSI), estos dos últimos parámetros representan en porcentaje la cantidad de luz recibida en moles (Frazer *et al.*, 2000) y permiten calcular el factor de sitio global (FSG), que se define como el porcentaje de transmisión de luz total (Canham *et al.*, 1990).

$$FSG = \frac{FSD + FSI}{2}$$

FSG= factor de sitio global; FSD= porcentaje de luz directa; FSI= porcentaje de luz difusa.

La humedad del suelo (cantidad de agua que puede ser extraída a una temperatura de 100°C), se calculó mediante el método gravimétrico, el cual expresa el porcentaje de la humedad del suelo en relación al peso húmedo y el peso seco, a través de la siguiente fórmula (Reynolds, 1970):

$$H = \left(\frac{Pehu - Pese}{Pese} \right) \times 100$$

H= porcentaje de humedad del suelo; Pehu = peso húmedo y Pese = peso seco.

7.4 Producción de terpenos

Para calcular el área foliar de las hojas jóvenes, maduras y seniles, se obtuvieron los promedios de las tres hojas colectadas por fenofase en cada individuo.

El rendimiento de los extractos se expresó en porcentaje y se calculó con la siguiente fórmula:

$$Rendimiento = \left(\frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso seco de la muestra}} \right) \times 100$$

7.5 Análisis estadísticos

Con el paquete Statistica (StatSoft, Versión 8.), se realizaron pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk para conocer si los datos se ajustaban a una distribución normal, en caso de no ajustarse, fueron transformados con logaritmo natural, y se le aplicó nuevamente la prueba de Shapiro-Wilk.

Posteriormente con el fin de evaluar las diferencias entre las fenofases foliares, así como las diferencias en la producción de terpenos en cada parcela y entre las temporadas de secas y lluvias, se aplicaron análisis de varianza (ANDeVa), y en aquellos que presentaron

diferencias significativas ($p \leq 0.05$), se utilizó la prueba post-hoc de Tukey HSD para identificar a los grupos significativamente diferentes entre sí.

Con ayuda del mismo programa estadístico, se calcularon los coeficiente de correlación de Spearman (Zar, 1999), entre la proporción de cada fenofase foliar, con las variables diamétricas y los factores ambientales, así como con la proporción de flores y frutos. También se aplicó este coeficiente para conocer la relación entre la producción de terpenos en las distintas fenofases, respecto al área foliar en cada una de ellas.

7.6 Análisis Multivariados

Para el tipo de análisis que se describirán a continuación, fue utilizado el programa PC-ORD versión 5.10 (Mc Cune y Mefford, 2006).

Se aplicó un análisis de clasificación jerárquica por medio del Análisis de conglomerados de dos vías (TWINSPAN), el cual agrupo a todos los individuos y a las fenofases foliares simultáneamente, formando grupos de datos, resumiendo la variación y generando un diagrama de clasificación (dendograma), con el objetivo de agrupar y mostrar las similitudes de los individuos de las diferentes parcelas, de acuerdo a sus patrones fenológicos y conocer las relaciones que existen entre ellos. (Zavala, 1986; Becker *et al*, 1998).

La ordenación se generó a través de un Análisis de Correspondencia Canónica (CCA), con el fin de conocer la relación entre las variables ambientales y la fenología foliar de *S. nigra*, a lo largo del periodo muestreado y poder interpretar las variables explicativas (CCA, ter Braak, 1987). Para realizar este análisis, fue necesario construir dos matrices con los datos que se obtuvieron de todo el periodo de muestreo, es decir, una matriz con variables ambientales y otra con los porcentajes de las fenofases foliares en cada parcela.

Por último se realizaron Análisis de Componentes Principales (PCA), uno entre las variables diamétricas, las fenofases foliares, y la producción de terpenos de los individuos elegidos al azar y el segundo entre las variables ambientales, las diferentes proporciones de las fenofases, y la producción de terpenos, respecto a las parcelas y la época del año.

8. RESULTADOS

8.1 Fenología

Respecto a las condiciones climáticas, la precipitación en este estudio varía respecto a lo reportado para este tipo de bosque y respecto a otros años en la Magdalena contreras, ya que el registro de altos niveles de precipitación comienzan un mes antes de la época de lluvias. La temperatura no mostró grandes fluctuaciones, esta osciló entre los 5.8°C (enero) y los 11°C (abril), en las parcelas de ambos sitios (Fig. 10).

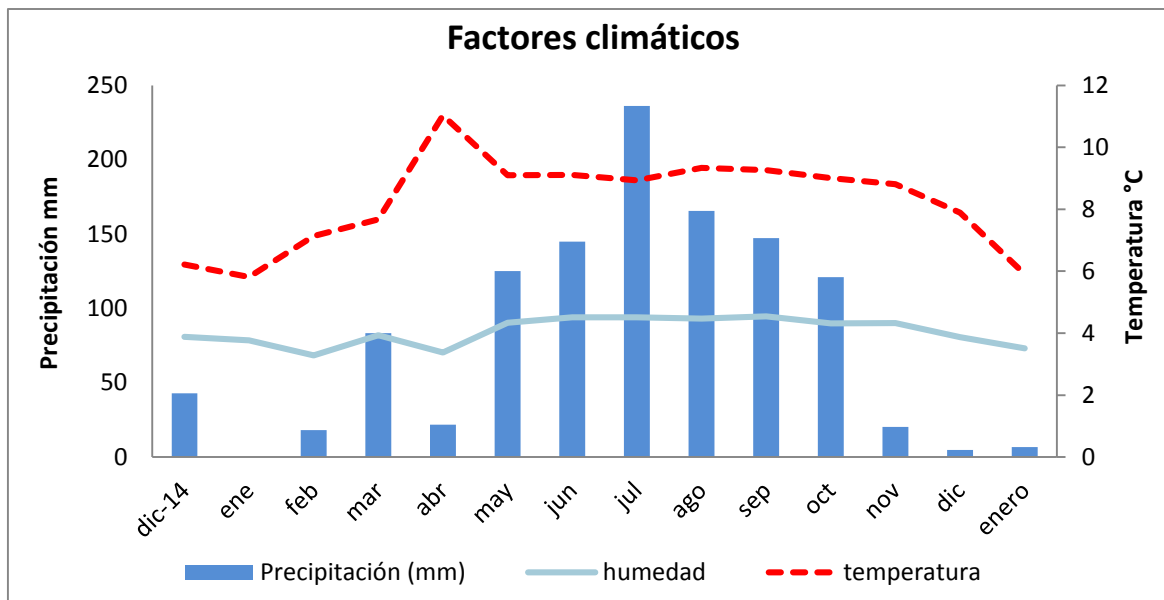


Figura 10. Temperatura y precipitación promedio del bosque de *Abies religiosa* de la cuenca del río Magdalena.

Durante el periodo de observación en campo (diciembre del 2014 a diciembre del 2015), la fenología de los individuos de *Sambucus nigra* en las cuatro parcelas, presentaron patrones similares, tanto en la producción de estructuras vegetativas (hojas), como en las reproductivas (flores y frutos).

Como se muestra en la figura 9, los registros de fenología reproductiva, tuvieron los mayores porcentajes de flores jóvenes (65 al 67%) en el mes de marzo para todas las parcelas, mientras que las flores maduras obtuvieron los porcentajes más altos en junio con 62% para las parcelas 6 y 7 (pertenecientes al sitio 2) y en abril para las parcelas 2 y 5 (del sitio 1) con 64% y 62% respectivamente, en este mes también se observó un decremento en el porcentaje de las hojas en ambos sitios

En el caso de los frutos, estos se registraron durante la época de lluvias en todas las parcelas, ya que tuvieron el mayor porcentaje de frutos jóvenes en junio con valores entre el 68% y 83%, y en julio se presentaron los valores más altos entre el 54% y 75% para los frutos maduros.

Si observamos el patrón general de la producción total de hojas, es decir, incluyendo a todas las fenofases, los mayores picos se presentan en marzo, mes en el que también se registraron los mayores porcentajes de flores jóvenes, por lo que existe una correlación positiva (0.524). Por otro lado al comenzar a disminuir la producción de hojas, durante la época de lluvias, comienza a incrementarse el porcentaje de frutos, resultando una correlación positiva de 0.564 entre la producción de frutos y las hojas seniles, en el otro extremo tendríamos la producción de hojas juveniles, la cual a pesar de que el valor de correlación no fue significativo, este resultado ser negativo.

8.2 Fenología foliar

En relación a la fenología foliar, todos los individuos de las cuatro parcelas presentaron hojas durante todo el año, además de mostrar el mismo patrón fenológico para todas las fenofases, el cual nos muestra los mayores porcentajes de productividad en la época de secas como se presenta en la figura 11, donde también se observa que con el término de la temporada de lluvias, la producción de hojas en todas la fenofases disminuye inclusive a 0% en el caso de hojas maduras.

La producción de hojas jóvenes comprende los meses de diciembre a febrero, siendo febrero el de mayor porcentaje con 30% para las parcelas del sitio 1, 12% en la parcela 6 y 24% para la parcela 7; en contraste los porcentajes más bajos de hojas juveniles en ambos sitios se presentan en el mes de septiembre. Por otra parte las hojas maduras presentaron las mayores producciones en los meses de febrero a mayo, siendo abril el de mayor porcentaje para el sitio 1 con 55.62% en la parcela 2 y 49.75% en la 5; para las parcelas 6 y 7 del sitio 2 marzo registró los porcentajes más altos con 52.57% y 59.13% respectivamente. Finalmente la producción de hojas seniles presento los valores más altos en los meses de marzo y junio, en el caso del sitio 1 marzo obtuvo los mayores porcentajes con 22.18% en la parcela 2, un 21.62% en la parcela 5 y en el sitio 2 el mes junio con 24.57% en la parcela 6 y 23.93% en la 7 (Fig. 11).

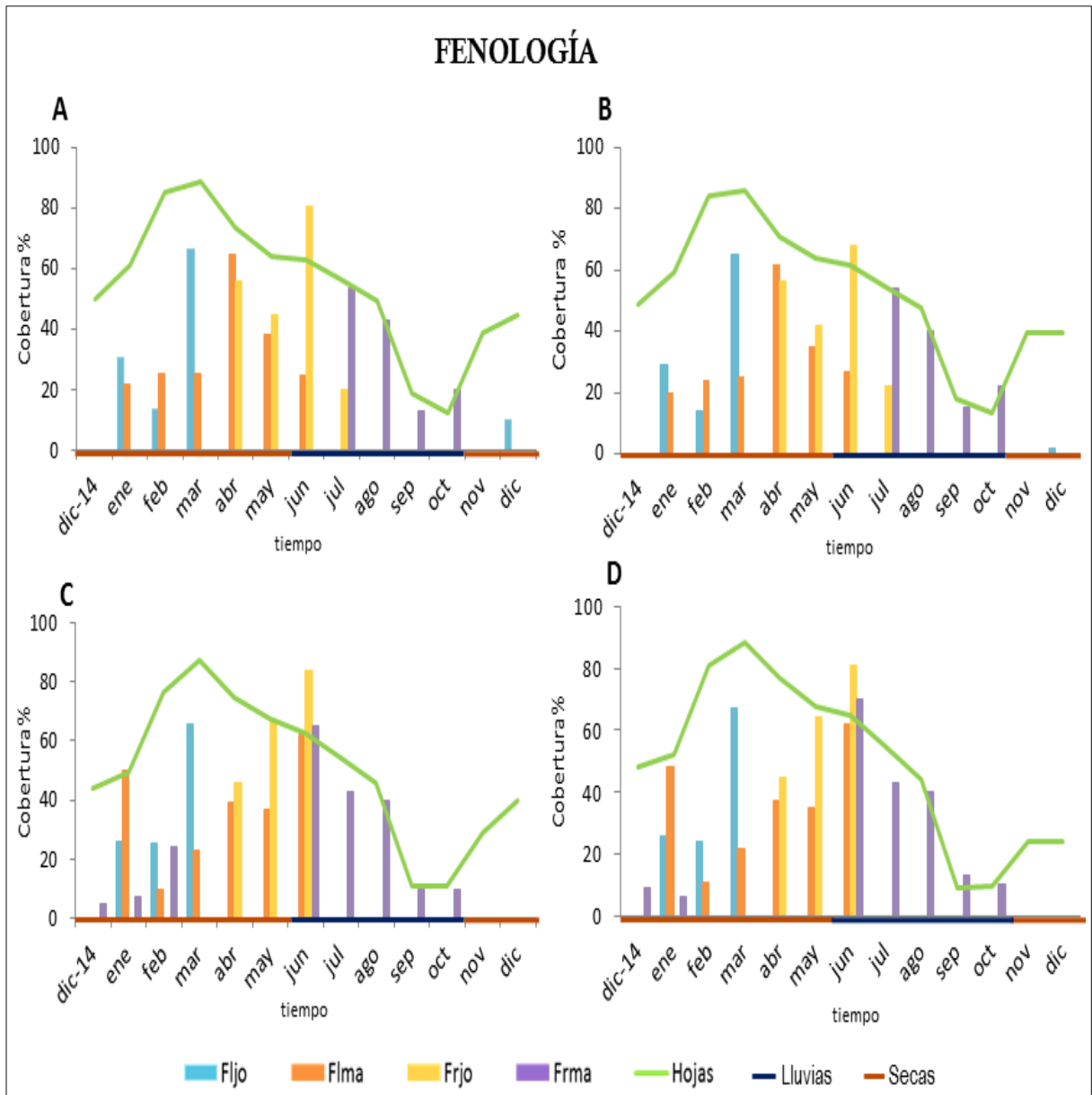


Figura 9. Patrones de fenología reproductiva de *S. nigra* en porcentaje de flores jóvenes y maduras y frutos inmaduros y maduros, respecto al porcentaje total de la producción de hojas durante el periodo de diciembre de 2014 a diciembre de 2015. **A** corresponde a la parcela 2, **B** a la parcela 5, ambas pertenecientes al sitio 1, **C** corresponde a la parcela 6 y **D** a la parcela 7, pertenecientes al sitio 2. **Fijo**: flores jóvenes, **Flma**: flores maduras, **Frjo**: frutos jóvenes, **Frma**: frutos maduros.

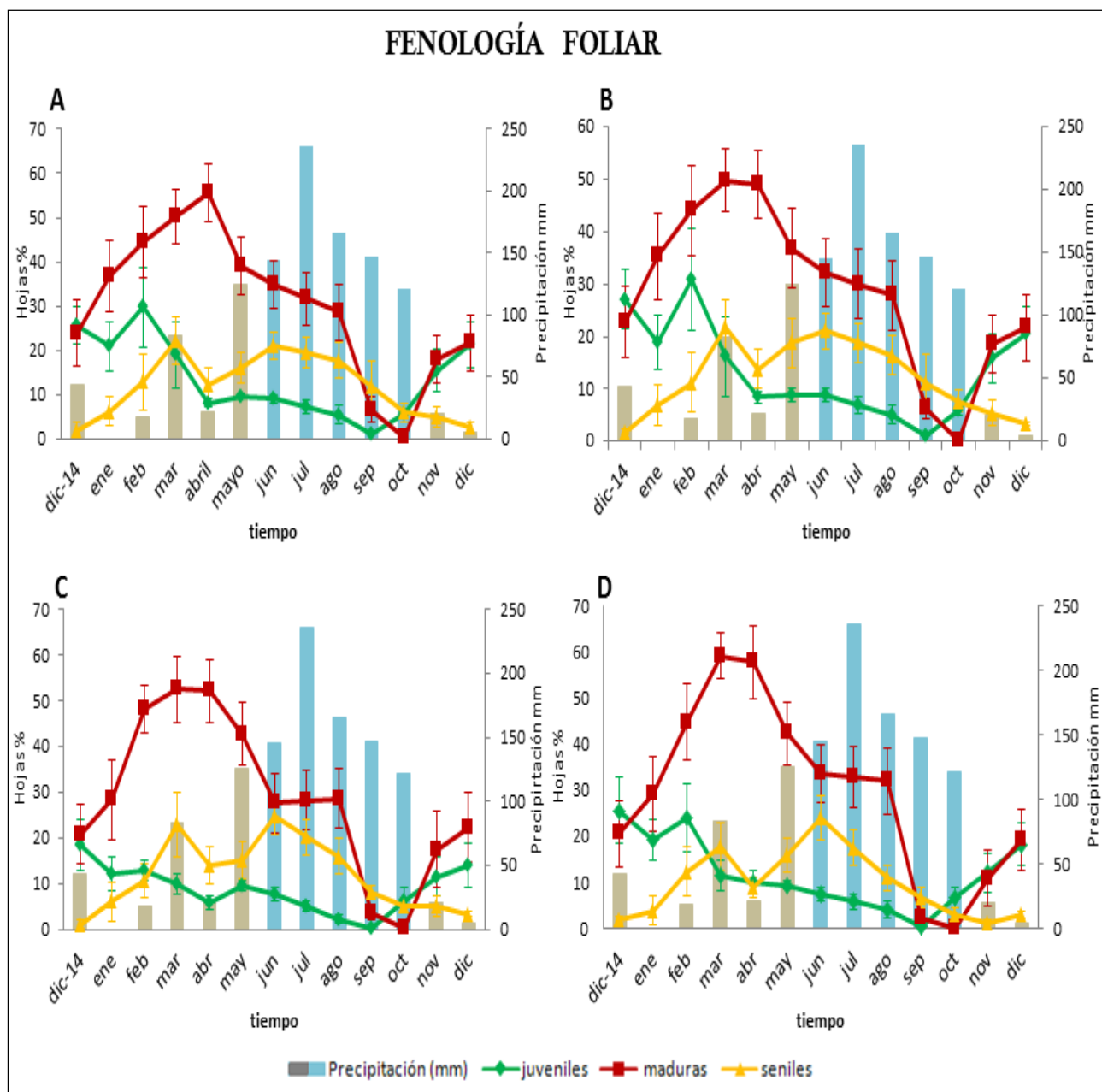


Figura 11. Porcentaje de hojas jóvenes, maduras y seniles de *S. nigra* y precipitación media de cada mes ($\bar{x} \pm EE$), barras grises corresponden a la época de secas y barras azules a la época de lluvias, durante el periodo de diciembre de 2014 a diciembre de 2015. **A** corresponde a la parcela 2, **B** a la parcela 5, ambas pertenecientes al sitio 1, **C** corresponde a la parcela 6 y **D** a la parcela 7, pertenecientes al sitio 2

8.3 Clasificación y Ordenación

Con el objeto de poder interpretar de una manera más evidente el papel de las fenofases foliares (jóvenes, maduras y seniles), se realizó la clasificación y ordenación de los individuos de las parcelas de los dos sitios, a lo largo de todo el tiempo de estudio.

Análisis de conglomerados de dos vías (TWINSpan)

La agrupación de las fenofases foliares, formó tres grupos. El primer grupo estuvo formado principalmente por la fenofase juvenil, con altas producciones en los meses abarcados de noviembre a marzo (época de secas) y por la fenofase senil, de igual manera con producciones altas en los meses comprendidos de febrero a agosto.

El segundo grupo está representado solamente por la fenofase madura, para los meses comprendidos de enero a agosto; esta fenofase es la que presenta los mayores porcentajes de producción en todo el año.

Finalmente al tercer grupo lo caracterizan nuevamente la fenofase juvenil en los meses comprendidos de abril a octubre y la fenofase senil para los meses que van de octubre a enero, pero esta vez con valores bajos para ambos casos (Figura 12).

Análisis de conglomerados de dos vías (TWINSPAN) de los individuos y las fenofases foliares

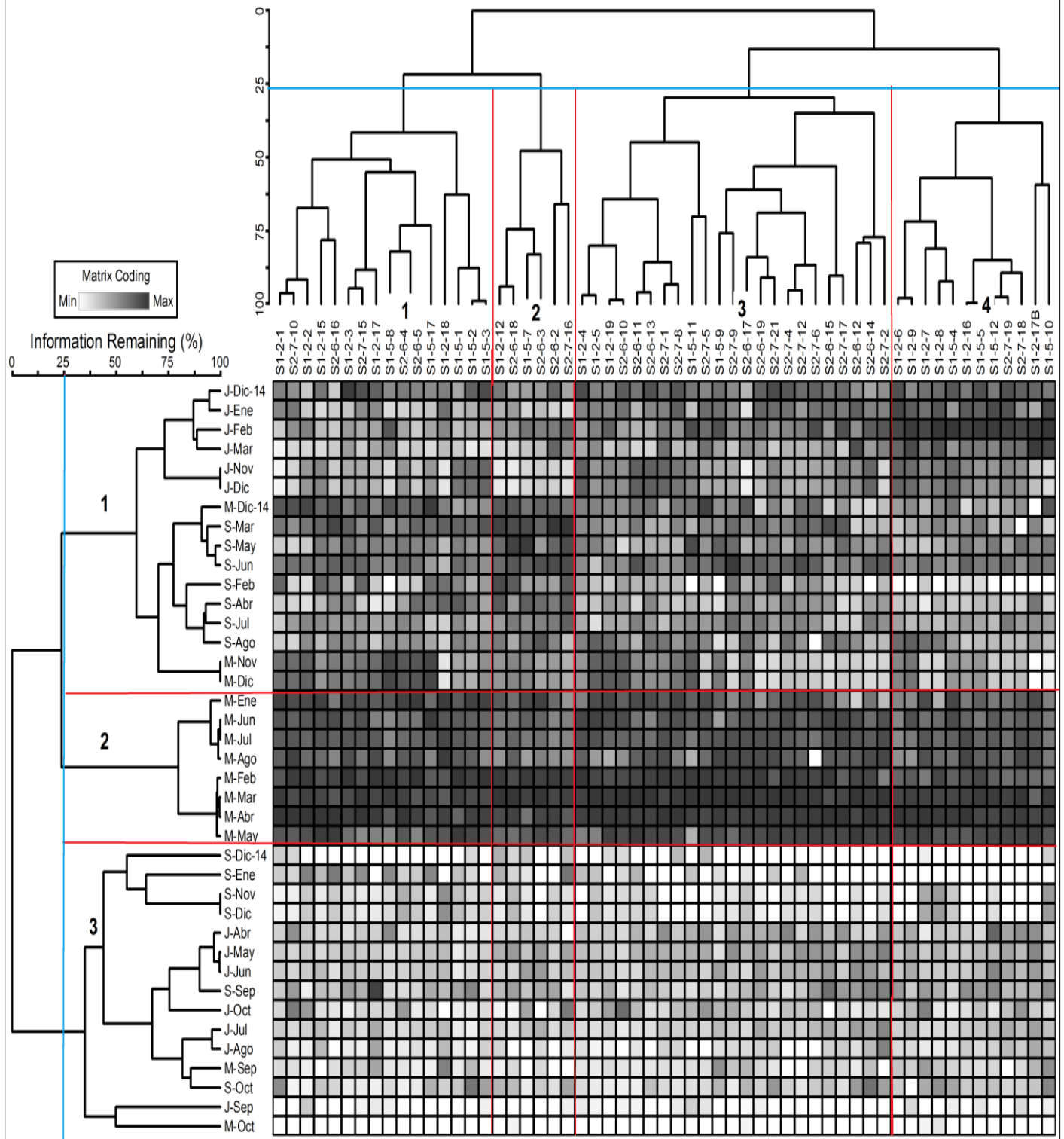


Figura 12. Dendrograma del análisis de conglomerados de dos vías para los individuos y las fenofases foliares, donde **J** corresponde a la fenofase juvenil, **M** a la madura y **S** a la senil. **S1-2-1** hace referencia, primero al sitio (S1 ó S2), seguido del número de la parcela (2, 5, 6 ó 7) y por último nos indica el número del individuo de *Sambucus nigra* dentro de cada parcela.

Análisis de correspondencia canónica (CCA)

Para la ordenación de las variables ambientales, se utilizó un Análisis de Correspondencia Canónica (CCA). El diagrama de ordenación proporciona una representación de la distribución de las fenofases y las variables ambientales a lo largo del año.

En la figura 13 podemos observar la formación de dos grandes grupos respecto a las épocas del año, ya que en los cuadrantes del lado izquierdo, se encuentran los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero, los cuales corresponden a la época de secas, relacionados con la humedad, luz y producción de hojas juveniles.

Por otro lado, en los cuadrantes del lado derecho aparecen los meses que forman parte de la época de lluvias, a excepción de marzo, abril y mayo, asociados con los parámetros de temperatura, precipitación, humedad ambiental, las variables diámetricas y los porcentajes de hojas maduras y seniles. Además cabe mencionar que en la mayoría de los meses existe una mayor cercanía entre las parcelas 2 y 5 (sitio 1) y entre las parcelas 6 y 7 (sitio 2).

Cuadro 2. Resultados del CCA, de las fenofases foliares y las variables ambientales, con la prueba de Monte Carlo de los ejes y de las correlaciones de especies-ambiente basado en 998 operaciones con valores aleatorizados.

Datos reales		Datos aleatorizados (Prueba Monte Carlo)			
Eje	Valor del eje	Media	Mínimo	Máximo	p
1	0.033	0.011	0.003	0.029	0.001
2	0.022	0.005	0.001	0.013	
3	0.003	0.002	0.000	0.007	
Eje	Correlación Spp-Ambiente	Media	Mínimo	Máximo	p
1	0.896	0.451	0.250	0.671	0.001
2	0.604	0.350	0.173	0.588	
3	0.530	0.249	0.106	0.459	

Análisis de correspondencia canónica (CCA) de las fenofases foliares y las variables ambientales

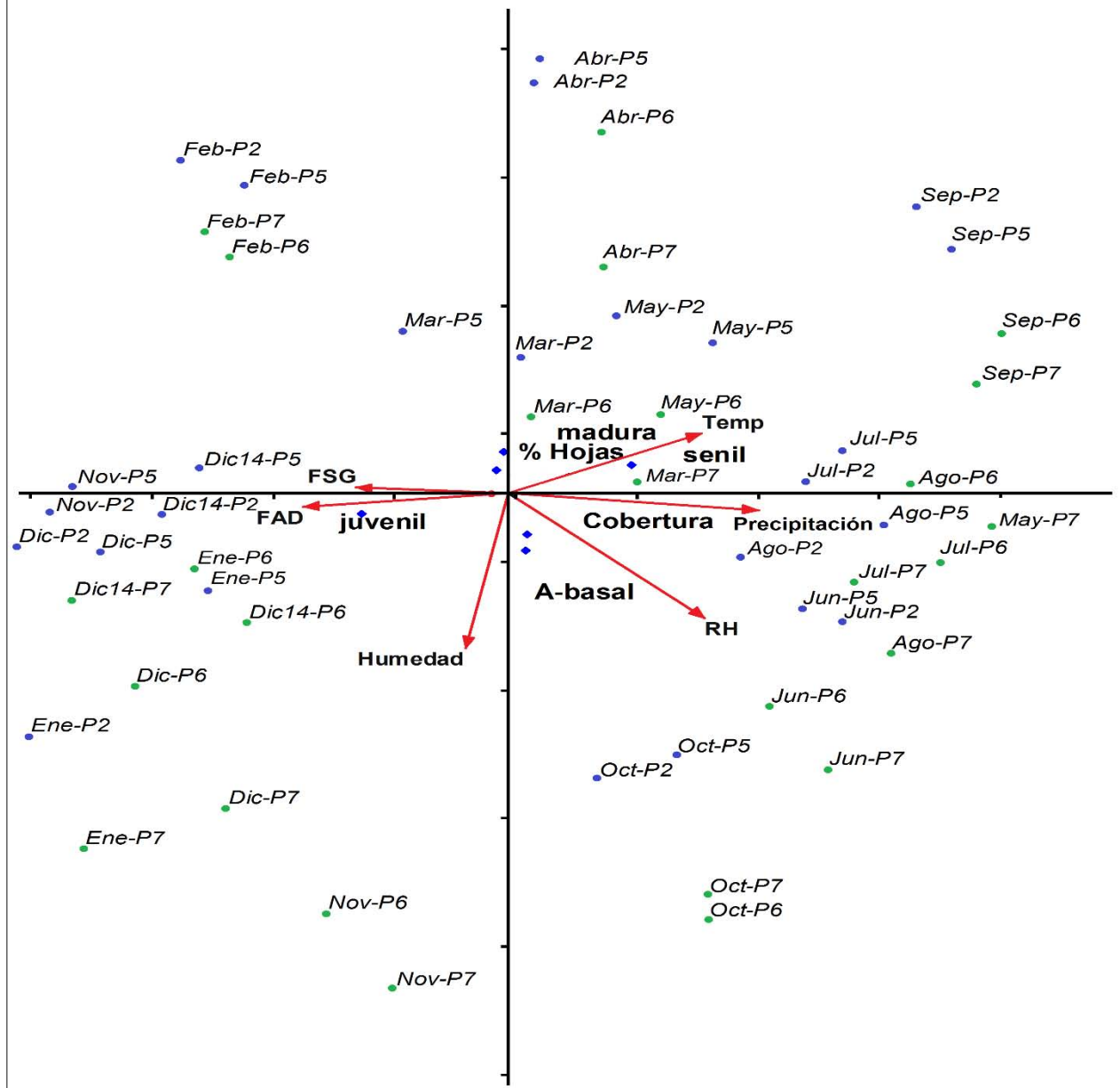


Figura 13. Diagrama de ordenación de las fenofases y su relación con las variables ambientales a lo largo del periodo muestreado (de diciembre de 2014 a diciembre de 2015). Donde **juveniles**: hojas jóvenes, **maduras**: hojas maduras, **seniles**: hojas seniles, **A-basal**: área basal (cm²), **Cobertura**: cobertura (m), **% hojas**: producción total, incluyendo a todas las fenofases foliares, **FSG**: factor de sitio global, **FAD**: fracción de apertura del dosel, **Temp**: temperatura (°C), **Precipitación**: precipitación (mm), **RH**: humedad del aire, **Humedad**: humedad del suelo.

8.4 Producción de terpenos

En las dos épocas del año, a las hojas de los individuos de *S. nigra* elegidos al azar, se les midieron sus áreas foliares y se obtuvieron 15 extractos por parcela, correspondientes a las tres fenofases foliares, de los cuales también se obtuvieron sus respectivos rendimientos (Cuadro 3).

Para comprobar las diferencias entre las hojas jóvenes, maduras y seniles colectadas en la época de secas, para todas las parcelas se realizó un análisis de varianza de una vía (ANDeVA), el cual indicó que el área foliar es significativamente diferente entre las fenofases ($p < 0.001$), por lo que se aplicó la prueba post-hoc de Tukey HSD ($p < 0.05$), esta formó tres grupos distintos (Fig.14) evidenciando que existen diferencias significativas entre las tres fenofases en las cuatro parcelas (P2: $F_{2, 12} = 93.83$, P5: $F_{2, 12} = 38.90$, P6: $F_{2, 12} = 86.66$ y P7: $F_{2, 12} = 85.04$).

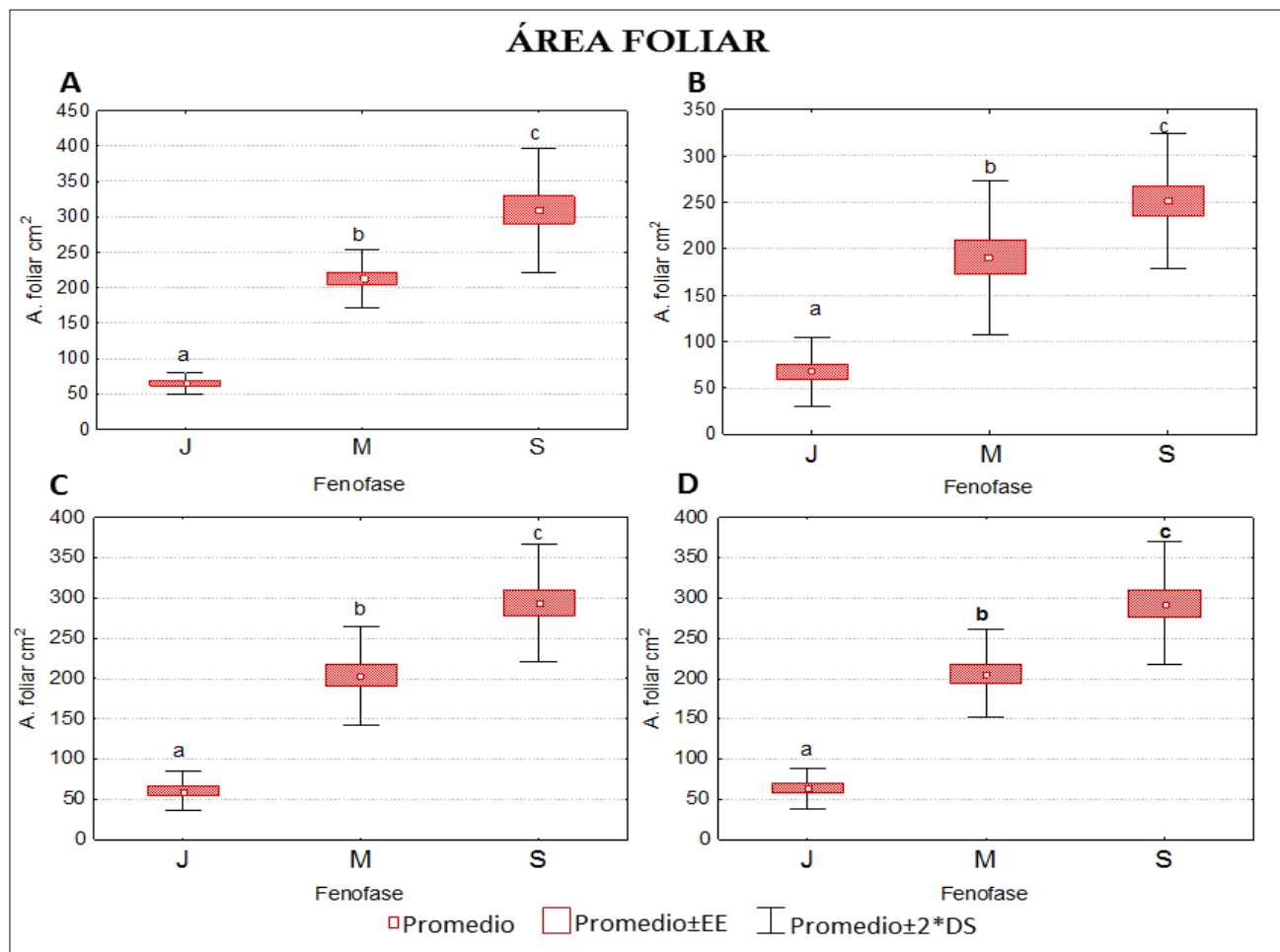


Figura 14. Comparación del área foliar (cm²), entre las fenofases foliares de los individuos de *S. nigra* durante la época de secas en la parcela 2 (A), parcela 5 (B), parcela 6 (C) y parcela 7 (D). Los puntos centrales representan la media, la caja representa el error estándar (± E.E.) y las barras indican la desviación estándar (± D.S.). Los grupos con la misma letra no difieren significativamente.

Cuadro 3. Promedio de los rendimientos de los extractos hexánicos.

Fenofases	Parcela 2	Parcela 5	Parcela 6	Parcela 7
Juvenil	1.84 %	2.09 %	3.85 %	3.76 %
Madura	1.97 %	2.12 %	3.36 %	3.74 %
Senil	1.99 %	1.98 %	2.97 %	3.45 %

Las pruebas de Lieberman-Burchard para la época de secas, resultaron positivas en todas las muestras, tornándose de una coloración amarilla a una verde de diferentes intensidades (Fig. 15) e inmediatamente fueron leídas sus absorbancias en el espectrofotómetro a 580 nm, para determinar la concentración de terpenos, es decir, a mayores absorbancias, mayor concentración de terpenos.

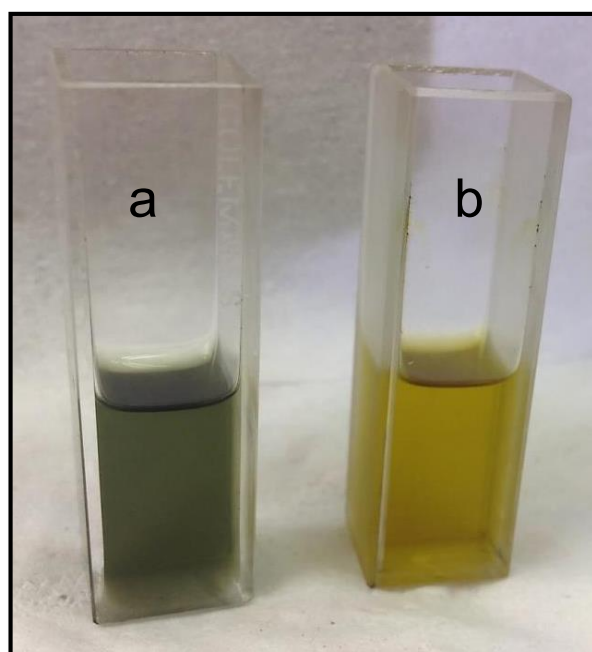


Figura 15. Prueba de Lieberman-Burchard. **a)** muestra positiva y **b)** muestra sin reactivo.

El análisis de varianza de una vía (ANDeVA) indicó que la producción de terpenos presenta diferencias significativas entre las fenofases foliares ($p < 0.001$); y al aplicar la prueba post-hoc de Tukey HSD ($p < 0.05$), se formaron nuevamente tres grupos en cada parcela (P2: $F_{2, 12} = 20.47$, P5: $F_{2, 12} = 47.44$, P6: $F_{2, 12} = 36.58$ y P7: $F_{2, 12} = 15.28$) existiendo diferencias significativas entre las hojas jóvenes, maduras y seniles (Fig. 16).

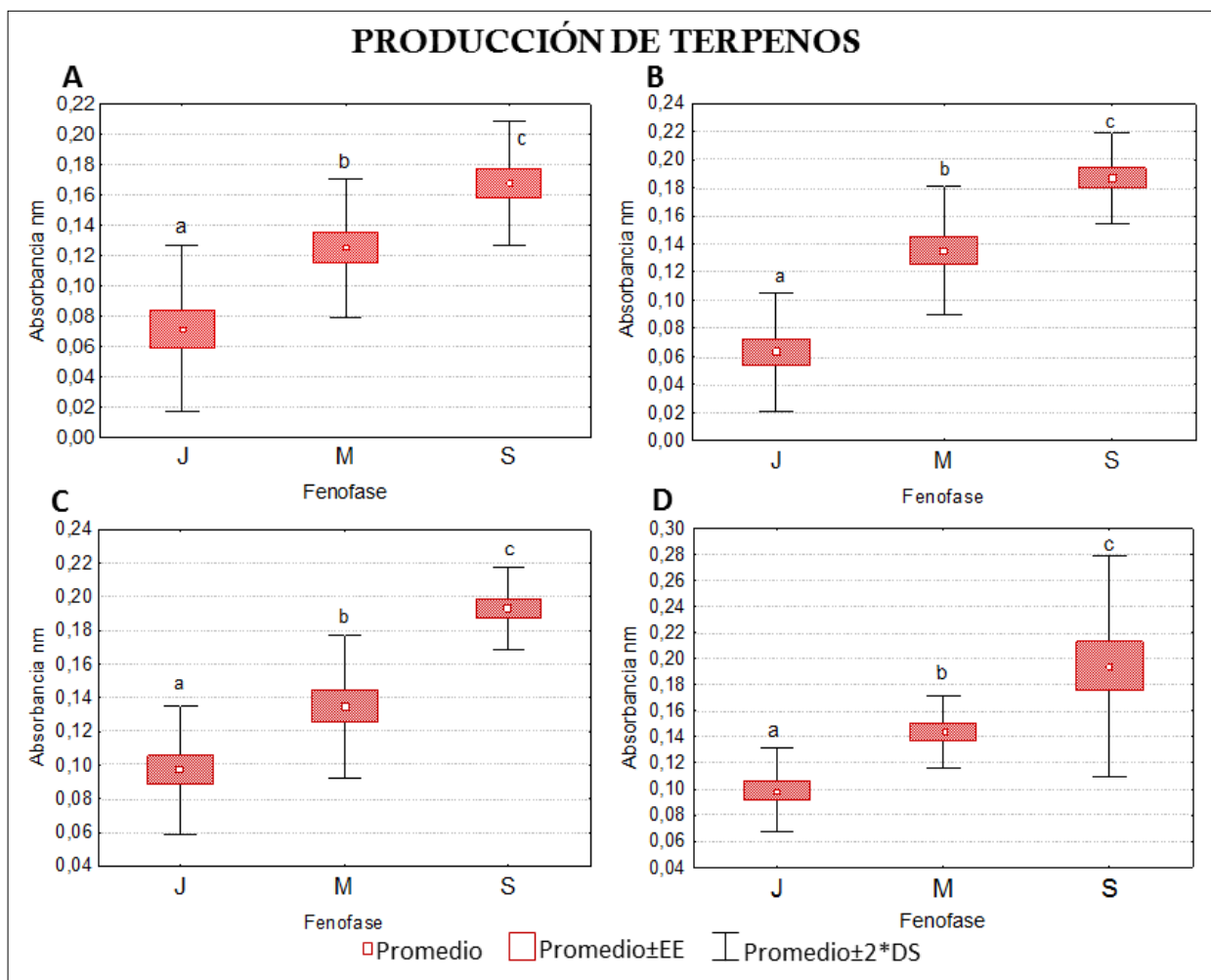


Figura 16. Comparación de la producción de terpenos (abs.) entre las fenofases foliares de los individuos de *S. nigra* durante la época de secas en la parcela 2 (A), parcela 5 (B), parcela 6 (C) y parcela 7 (D). Los puntos centrales representan la media, la caja representa el error estándar (\pm E.E.) y las barras indican la desviación estándar (\pm D.S.). Los grupos con la misma letra no difieren significativamente.

En el cuadro 4 se muestran las correlaciones entre las variables área foliar (relacionada con el estadio fenológico) y la producción de terpenos (abs.), correspondientes a la época de secas, las cuales mostraron un coeficiente de correlación significativo ($p < 0.005$) para todas las parcelas (Fig.17).

Cuadro 4. Correlaciones significativas ($p < 0.05$) durante la época de secas.

	Área foliar cm ²				Absorbancia nm			
	P2	P5	P6	P7	P2	P5	P6	P7
Área foliar cm ²	1.00	1.00	1.00	1.00	0.76	0.90	0.93	0.77
Absorbancia nm	0.76	0.90	0.93	0.77	1.00	1.00	1.00	1.00

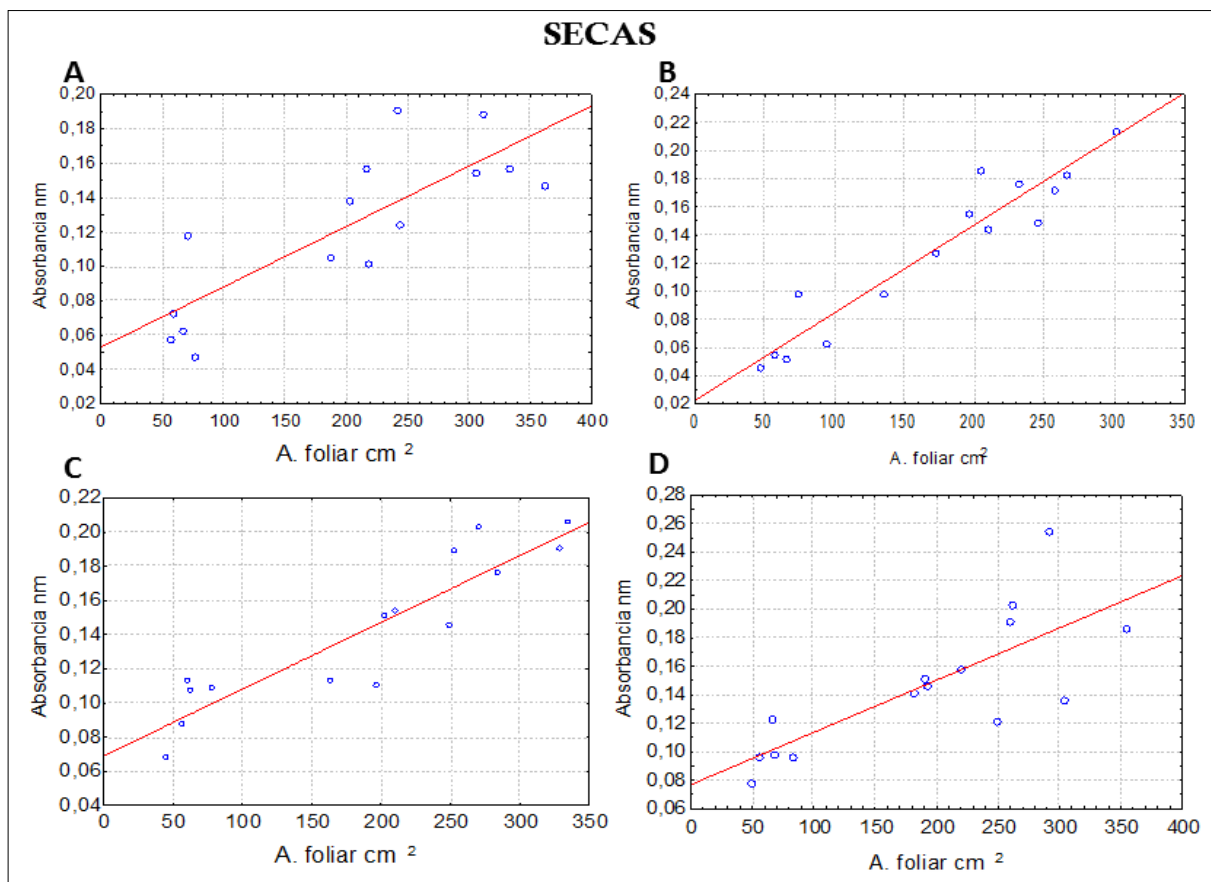


Figura 17. Gráficas de los coeficientes de correlación de las variables en la parcela 2 (A), parcela 5 (B), parcela 6 (C) y parcela 7 (D).

En la época de lluvias se aplicaron nuevamente las mismas pruebas estadísticas, en el caso del área foliar el análisis de varianza de una vía (ANdeVA) mostró diferencias significativas ($p < 0.001$) entre las fenofases en todas las parcelas. Esta vez la prueba post-hoc de Tukey HSD ($p < 0.05$), reveló que las tres fenofases difieren significativamente en las parcelas 5 ($F_{2, 12} = 69.64$), 6 ($F_{2, 12} = 59.72$) y 7 ($F_{2, 12} = 21.07$) y solo en la parcela 2 ($F_{2, 12} = 20.27$) la fenofase madura y senil no difirieron estadísticamente (Fig. 18).

Los rendimientos de los extractos en la época de lluvias, se muestran en el cuadro 5, donde los mayores porcentajes se presentaron en hojas juveniles.

Cuadro 5. Promedio de los rendimientos de los extractos hexánicos.

Fenofases	Parcela 2	Parcela 5	Parcela 6	Parcela 7
Juvenil	19.75 %	6.95 %	8.62 %	7.63 %
Madura	8.26 %	2.47%	2 %	2.36 %
Senil	5.17 %	1.71%	2.15 %	1.95 %

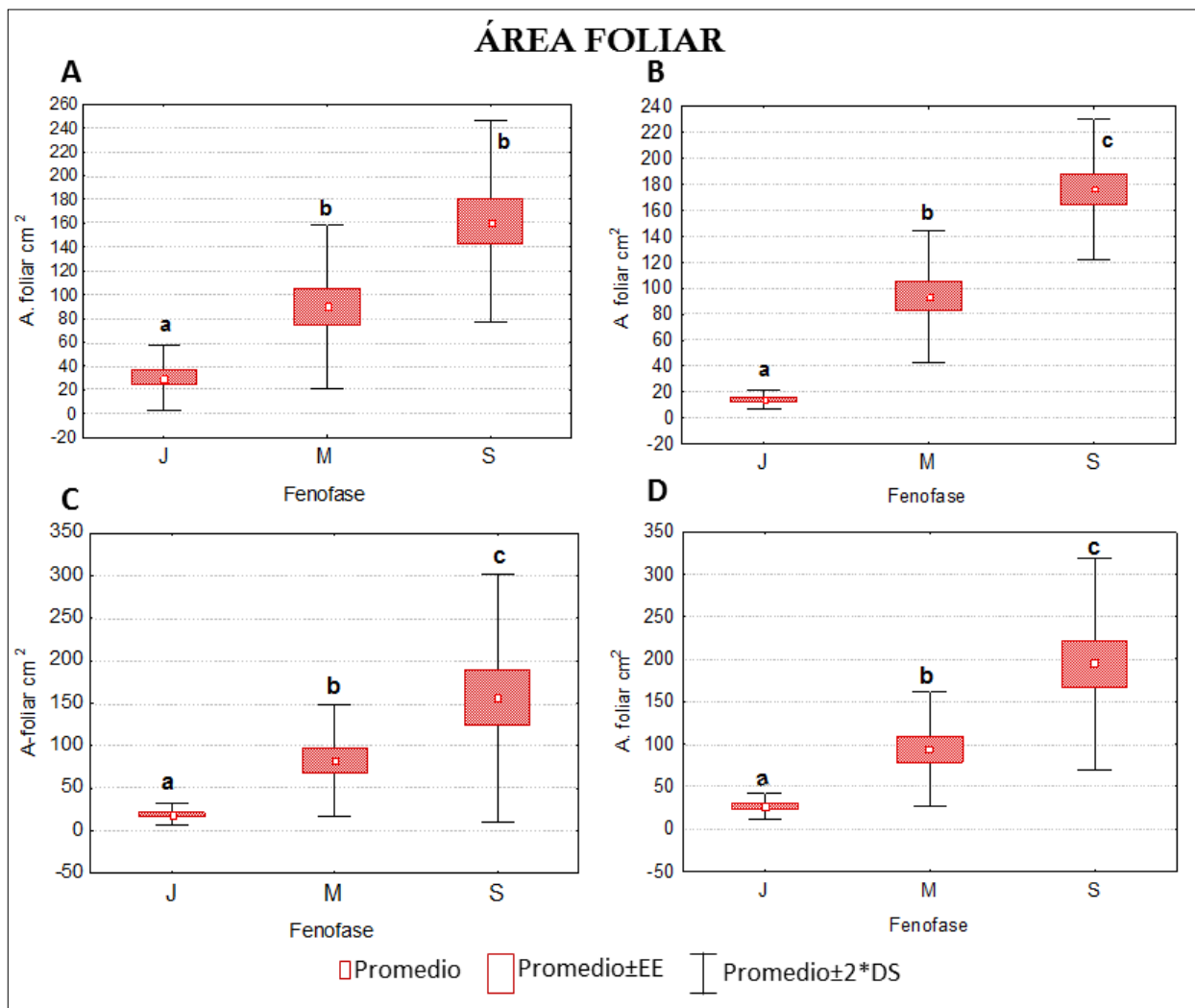


Figura 18. Comparación del área foliar (cm^2), entre las fenofases foliares de los individuos de *S. nigra* durante la época de lluvias en la parcela 2 (**A**), parcela 5 (**B**), parcela 6 (**C**) y parcela 7 (**D**). Los puntos centrales representan la media, la caja representa el error estándar (\pm E.E.) y las barras indican la desviación estándar (\pm D.S.). Los grupos con la misma letra no difieren significativamente.

Respecto a la prueba de Lieberman-Burchard, al aplicar el reactivo hubo un cambio de coloración al verde en todas las muestras, por lo que se confirmó la presencia de terpenos en todas ellas.

La producción de terpenos también mostró diferencias significativas ($p < 0.001$), de acuerdo con el análisis de varianza de una vía (ANDeVA) y al aplicar la prueba post-hoc de Tukey HSD ($p < 0.05$), se formaron dos grupos en las parcelas del sitio 1 (P2: $F_{2, 12} = 20.30$ y P5: $F_{2, 12} = 151.27$), separando a la fenofase juvenil de la madura y senil. En el caso de las parcelas del sitio 2 (P6: $F_{2, 12} = 11.06$ y P7: $F_{2, 12} = 42.29$), existieron diferencias significativas entre las tres fenofase (Fig. 19).

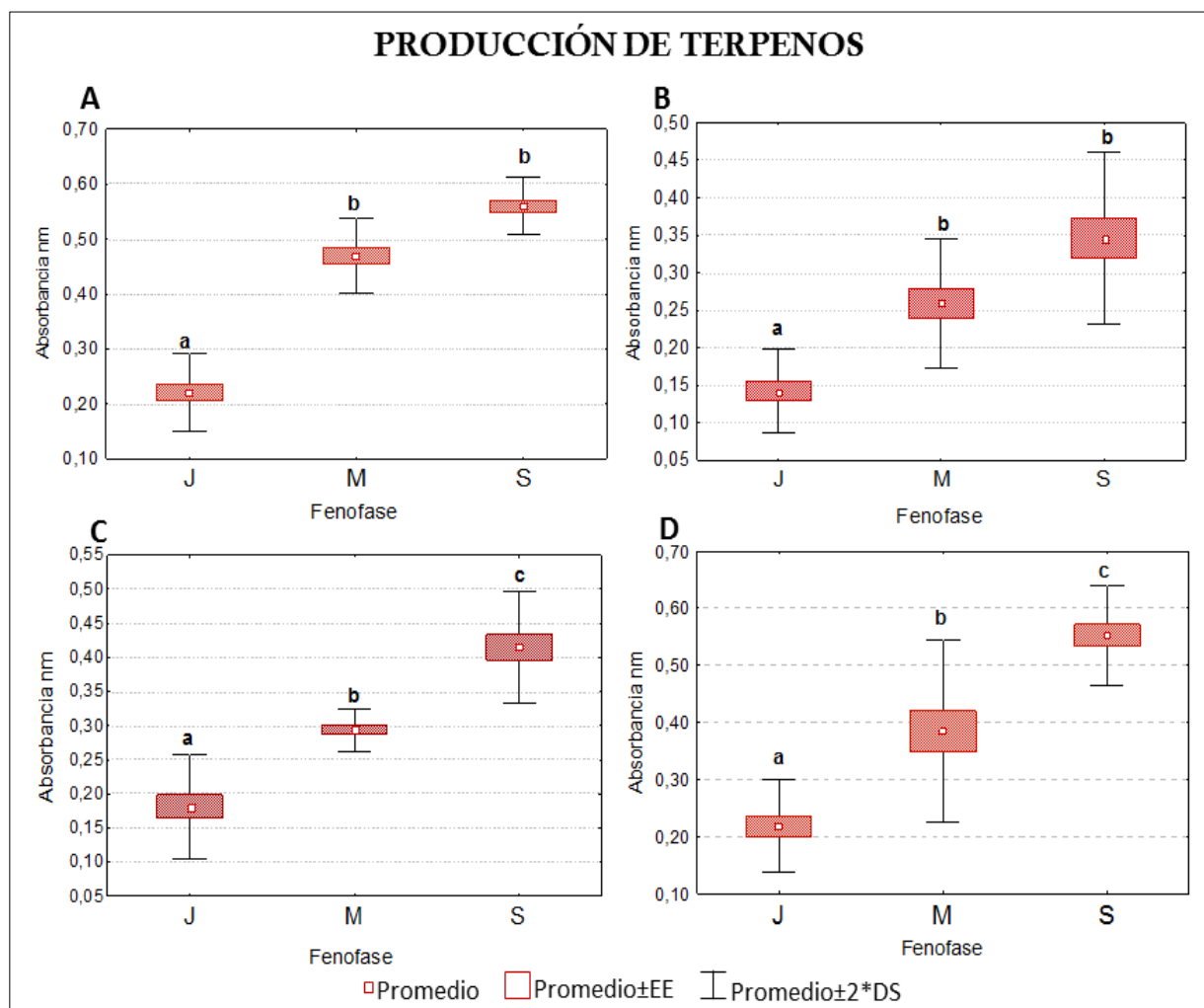


Figura 19. Comparación de la producción de terpenos (abs.) entre las fenofases foliares de los individuos de *Sambucus nigra* durante la época de lluvias en la parcela 2 (A), parcela 5 (B), parcela 6 (C) y parcela 7 (D). Los puntos centrales representan la media, la caja representa el error estándar (\pm E.E.) y las barras indican la desviación estándar (\pm D.S.). Los grupos con la misma letra no difieren significativamente.

En esta época del año, al igual que en la anterior, todas las correlaciones entre el área foliar y la producción de terpenos resultaron significativas ($p < .005$) en todas las parcelas, como se puede observar en el cuadro 6 (Fig. 20).

Cuadro 6. Correlaciones significativas ($p < 0.05$) durante la época de lluvias

	Área foliar cm ²				Absorbancia nm			
	P2	P5	P6	P7	P2	P5	P6	P7
Área foliar cm ²	1.00	1.00	1.00	1.00	.81	0.93	0.86	0.92
Absorbancia nm	0.81	0.93	0.86	0.92	1.00	1.00	1.00	1.00

LLUVIAS

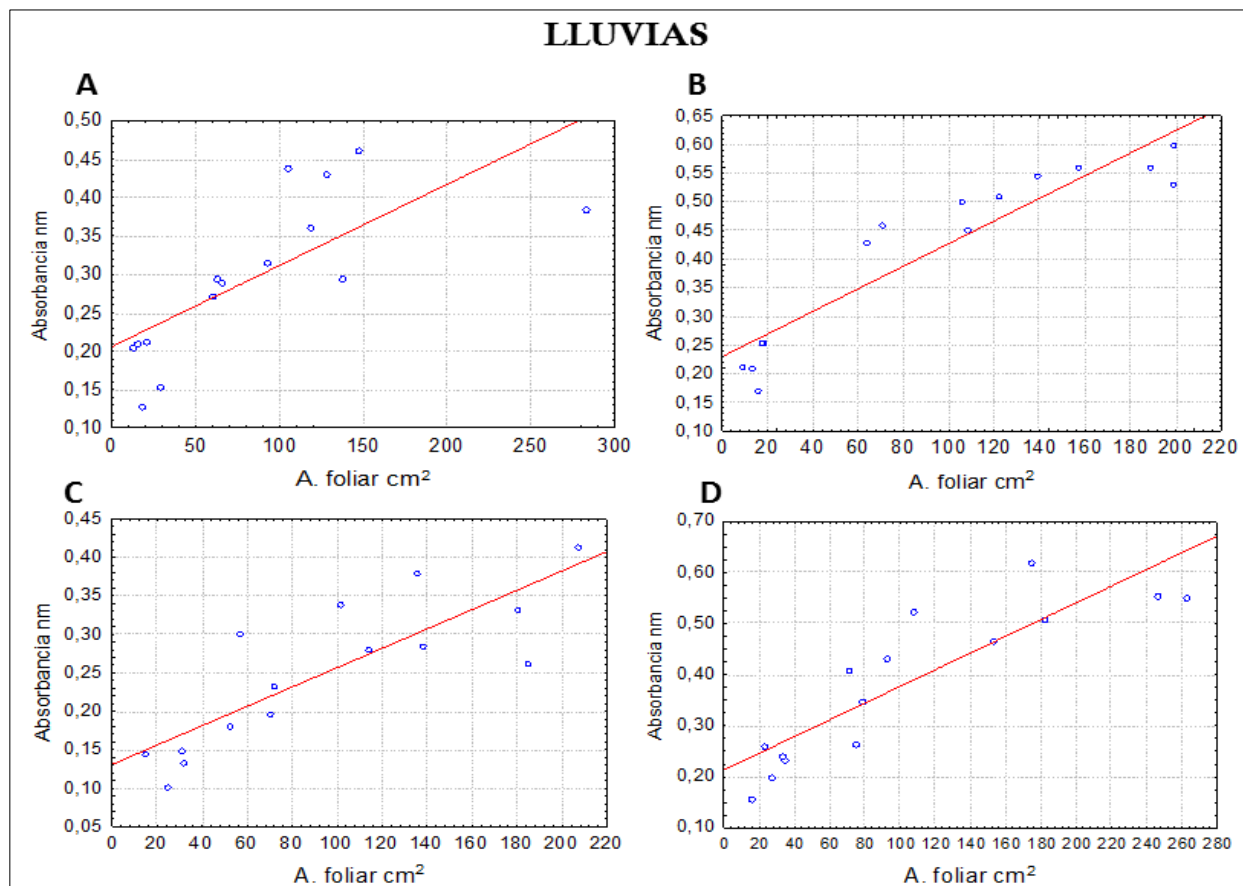


Figura 20. Gráficas de los coeficientes de correlación de las variables en la parcela 2 (A), parcela 5 (B), parcela 6 (C) y parcela 7 (D).

Durante la época de secas se presentaron las mayores áreas foliares en todas la fenofases, cuyos valores promedio en cada parcela se presentan en el cuadro 7. Por otro lado a pesar de que los valores promedio del área foliar en la época de lluvias fueron menores, en esta época hubo una mayor producción de terpenos como se muestra en el cuadro 8. Por lo que para conocer si las dos épocas de año difieren estadísticamente respecto a las variables mencionadas anteriormente, se aplicó nuevamente un análisis de varianza (ANDeVA), el cuál indicó que efectivamente existen diferencias significativas entre ellas ($p < 0.001$), por lo que en la agrupación de la prueba post-hoc de Tukey HSD ($p < 0.05$), se separaron la época de lluvias y la de secas en todas las parcelas, tanto para el área foliar (P2: $F_{1, 28} = 10.09$ y P5: $F_{1, 28} = 48.12$, P6: $F_{1, 28} = 9.53$ y P7: $F_{1, 28} = 6.12$) (Fig. 21), como para la producción de terpenos (P2: $F_{1, 28} = 21.58$ y P5: $F_{1, 28} = 6.22$, P6: $F_{1, 28} = 28.46$ y P7: $F_{1, 28} = 45.21$) (Fig. 22).

Cuadro 7. Valores promedio del área foliar (cm²) de cada fenofase durante la época de secas y la época de lluvias

Parcela	Época	Joven	Madura	Senil
2	Lluvias	30.56	89.98	161.40
5	Lluvias	14.45	93.85	176.20
6	Lluvias	18.98	83.15	156.08
7	Lluvias	26.44	93.84	194.29
2	Secas	65.37	212.94	310.14
5	Secas	67.16	190.79	251.20
6	Secas	60.51	204.12	293.88
7	Secas	63.95	206.09	293.25

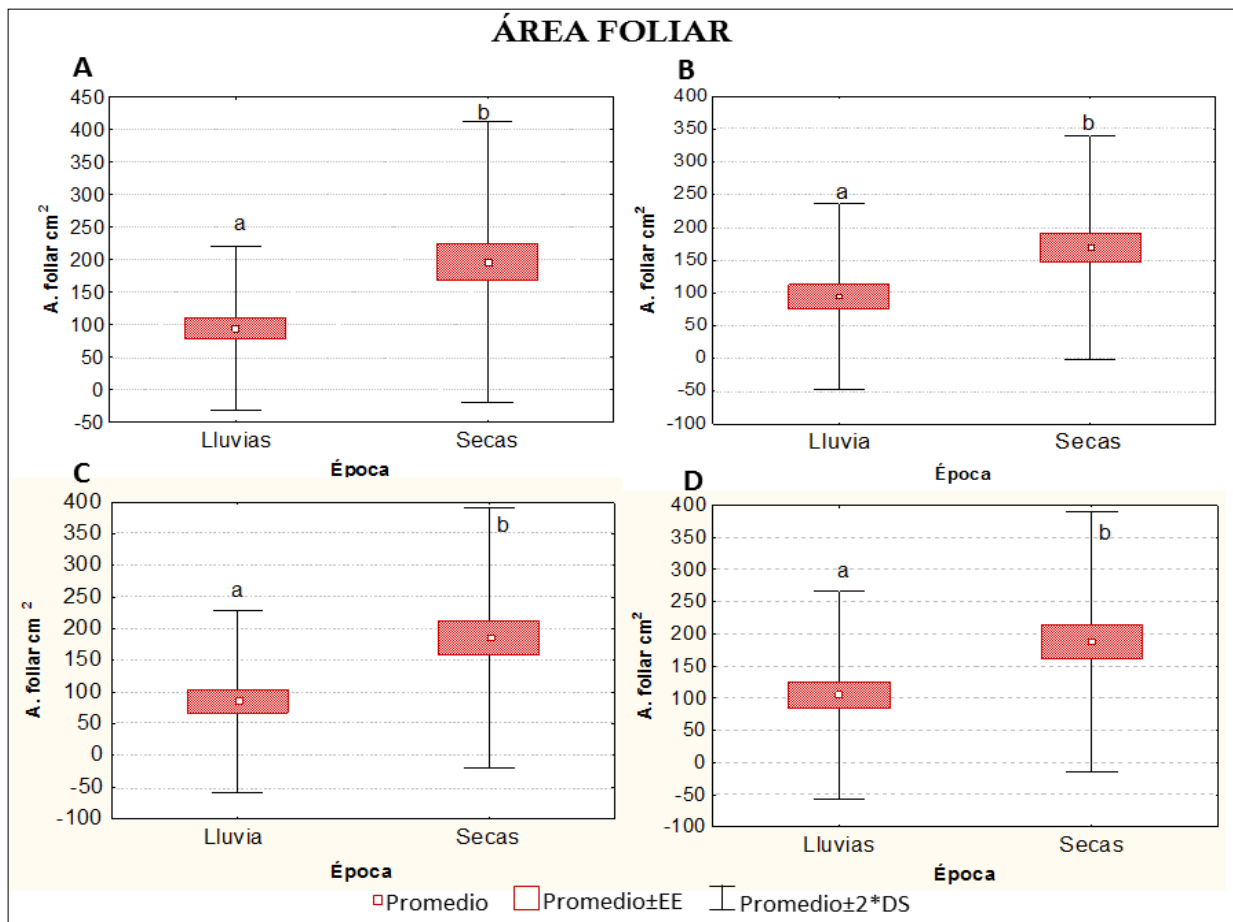


Figura 21. Comparación del área foliar (cm²) entre las dos épocas del año en la parcela 2 (A), parcela 5 (B), parcela 6 (C) y parcela 7 (D). Los puntos centrales representan la media, la caja representa el error estándar (± E.E.) y las barras indican la desviación estándar (± D.S.).

Cuadro 8. Valores promedio de la producción de terpenos (absorbancias) de cada fenofase durante la época de secas y la época de lluvias

Parcela	Época	Joven	Madura	Senil
2	Lluvias	0.14	0.26	0.35
5	Lluvias	0.22	0.47	0.56
6	Lluvias	0.18	0.29	0.42
7	Lluvias	0.22	0.38	0.55
2	Secas	0.07	0.13	0.17
5	Secas	0.06	0.14	0.19
6	Secas	0.10	0.14	0.19
7	Secas	0.10	0.14	0.19

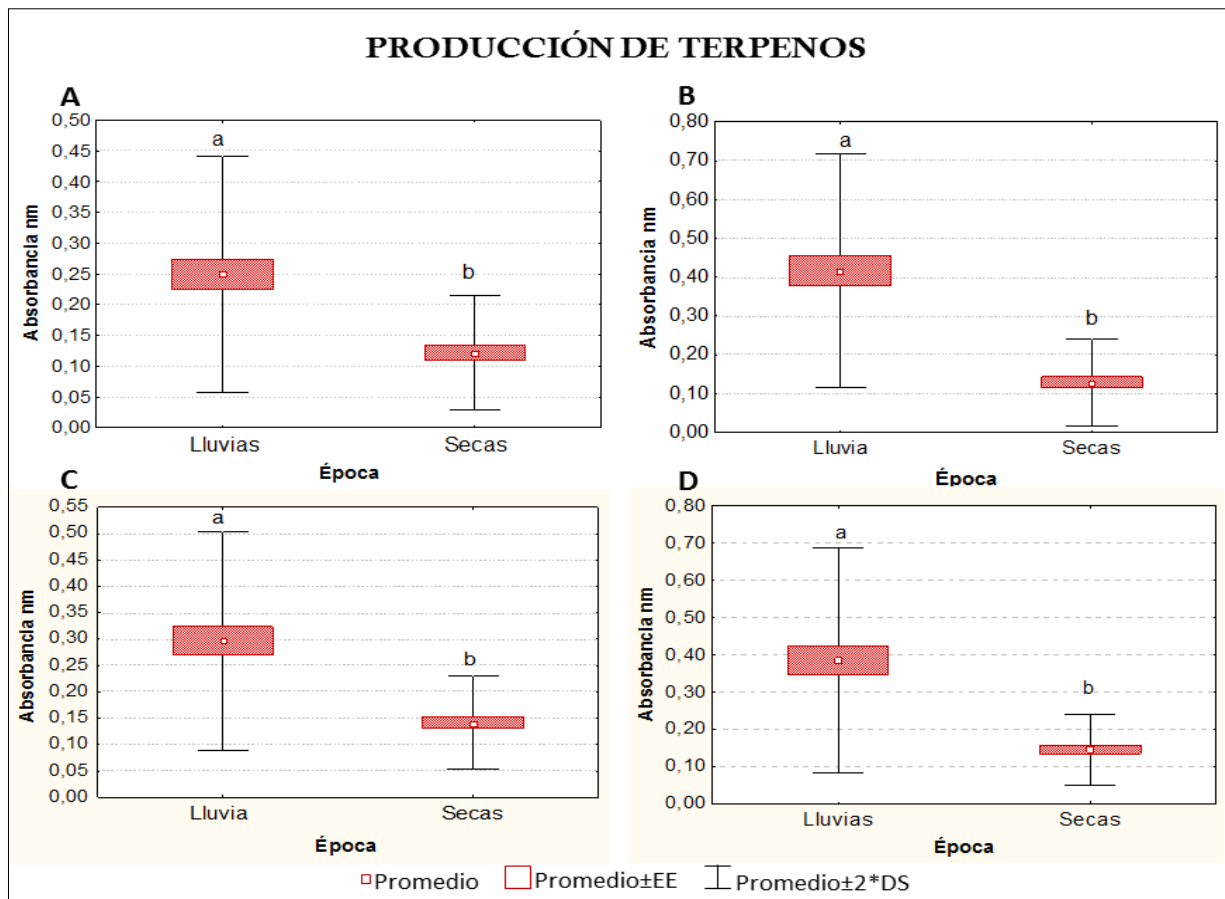


Figura 22. Comparación de la producción de terpenos entre las dos épocas del año en la parcela 2 (A), parcela 5 (B), parcela 6 (C) y parcela 7 (D). Los puntos centrales representan la media, la caja representa el error estándar (\pm E.E.) y las barras indican la desviación estándar (\pm D.S.).

Análisis de componentes principales (PCA)

En la ordenación por componentes principales para los individuos elegidos al azar en las dos épocas del año (Fig. 23), los dos primeros ejes explican el 87.02% del total de la variabilidad total con 55.6% y 31.42% respectivamente.

En el eje 1 se asociaron las variables de cobertura y área basal con la mayor producción total de hojas, y en particular con la fenofase madura para el cuadrante superior izquierdo, relacionando estas variables con la mayoría de individuos de las parcelas del sitio 2 en la época de lluvias, de acuerdo con el eje 2. Para el cuadrante superior derecho se asocian las áreas foliares y la producción de hojas seniles, de acuerdo al eje 1 y respecto al eje 2 se agrupan los mismos individuos mencionados anteriormente, pero esta vez relacionados con la época de secas.

De acuerdo con el segundo eje, en los cuadrantes inferiores observamos nuevamente una marcada separación entre la época de lluvias y secas, por lo que al complementarlo con el primer eje, este asocia la fenofase juvenil y la producción de terpenos en hojas maduras y seniles con la mayoría de individuos pertenecientes a las parcelas del sitio 1.

El segundo análisis de componentes principales asoció las variables ambientales y la producción de terpenos con las parcelas en las dos épocas del año, sus componentes explicaron el 83.20% de la variabilidad total (63.18% eje 1 y 20.02% eje 2). El análisis mostró que las variables de mayor peso en el primer componente fueron el factor luz relacionado con la época de secas en las parcelas 2 y 5 para el cuadrante superior derecho y para el izquierdo fueron la temperatura y precipitación relacionadas con las parcelas 6 y 7 en la época de lluvias. En los cuadrantes inferiores se observa la agrupación y separación de las parcelas del sitio 2, respecto al segundo eje, asociados con la humedad, materia orgánica, potasio, nitrógeno y área basal durante la época de lluvias y con la conductividad eléctrica, área foliar, cobertura y fósforo en la época de secas, de acuerdo al primer eje (Fig. 24).

Análisis de Componentes Principales (PCA) de la producción de terpenos y las fenofases foliares de los individuos en temporada de lluvias y secas

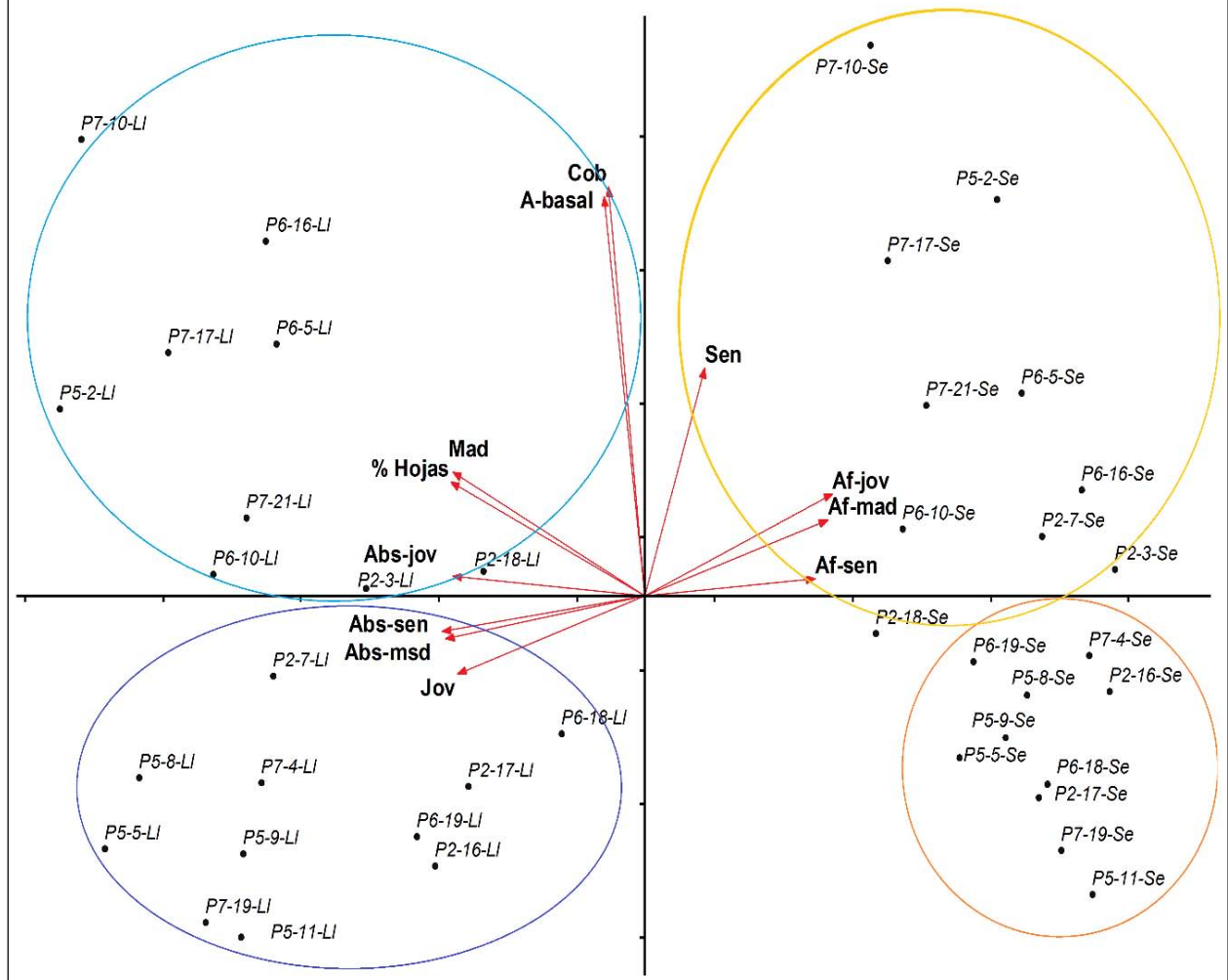


Figura 13. Diagrama de ordenación de las fenofases foliares, la producción de terpenos y las variables diamétricas y su relación con los individuos elegidos al azar durante la época de secas y la época de lluvias. El eje 1 explica el 55.6% de la varianza y el eje 2 el 31.42%. Donde **P2-3-LI** hace referencia primero a la parcela ya sea 2, 5, 6 ó 7, después al número del individuo y por último a la época del año (**LI**: lluvias y **Se**: secas) **jov**: hojas jóvenes, **mad**: hojas maduras, **sen**: hojas seniles, **A-basal**: área basal (cm²), **Cob**: cobertura (m), **% hojas**: producción total, incluyendo a todas las fenofases foliares, **Abs-jov**: producción de terpenos en hojas jóvenes, **Abs-mad**: producción de terpenos en hojas maduras, **Abs-sen**: producción de terpenos en hojas seniles.

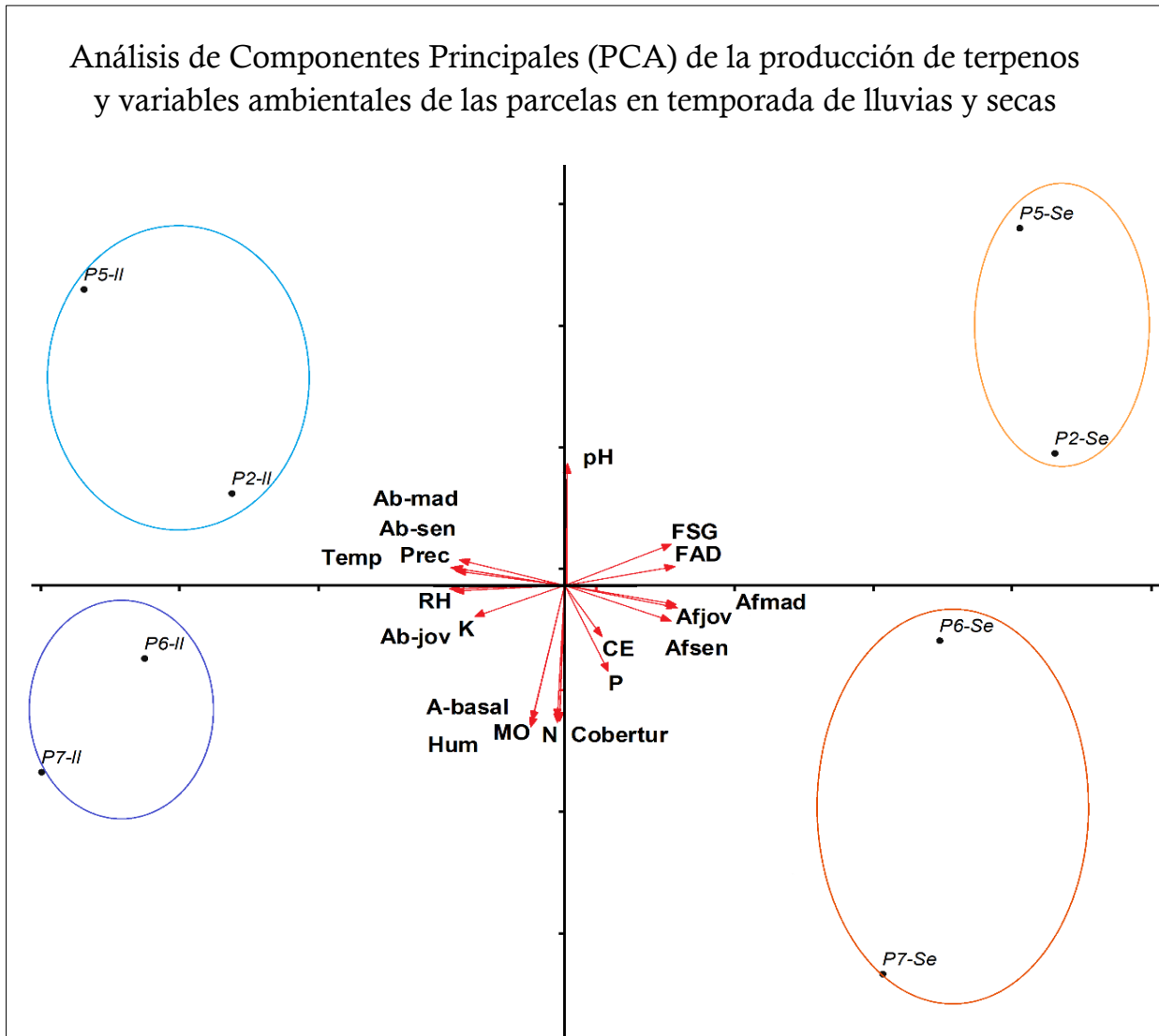


Figura 13. Diagrama de ordenación de la producción de terpenos y las variables ambientales y su relación con las parcelas en la época de secas y la época de lluvias. El eje 1 explica el 63.18% de la varianza y el eje 2 el 20.02%. Donde **P2-3-LI** hace referencia primero a la parcela ya sea 2, 5, 6 ó 7, después al número del individuo y por último a la época del año (**LI**: lluvias y **Se**: secas) **jov**: hojas jóvenes, **mad**: hojas maduras, **sen**: hojas seniles, **A-basal**: área basal (cm²), **Cob**: cobertura (m), % **hojas**: producción total, incluyendo a todas las fenofases foliares, **Abs-jov**: producción de terpenos en hojas jóvenes, **Abs-mad**: producción de terpenos en hojas maduras, **Abs-sen**: producción de terpenos en hojas seniles. **FSG**: factor de sitio global, **FAD**: fracción de apertura del dosel, **Temp**: temperatura (°C), **Precipitación**: precipitación (mm), **RH**: humedad del aire, **Humedad**: humedad del suelo, **CE**: conductividad eléctrica, **MO**: materia orgánica, **N**: nitrógeno, **P**: fósforo, **K**: potasio.

9. DISCUSIÓN

Sambucus nigra, especie originaria de regiones templadas, de acuerdo con Villarreal-Quintanilla (2008) *S. nigra* son árboles o arbustos deciduos o perennifolios, por su parte Gann, *et al.* (2014) la describe como una especie siempreverde a semidecidua. En el caso particular de los individuos estudiados en el presente trabajo, permiten deducir que es una especie que presenta hojas durante todo el año, sin embargo durante los meses de septiembre y octubre tiene producciones muy bajas, con porcentajes menores al 20% en los individuos del sitio 1 y menores al 15% en el sitio 2; en ambos, las hojas existentes durante estos meses son en su mayoría seniles y el resto juveniles, ya que es el tiempo en el que ocurre la caída y brotación de hojas, así como el surgimiento de renuevos en algunos individuos, por lo que a pesar de que casi todo el año presenta paulatinamente el surgimiento y la pérdida de follaje, estos no permanecen frondosos todo el tiempo como los perennifolios (Puentes *et al.*, 1993); pero tomando en cuenta la clasificación de Monasterio y Sarmiento (1976) y Arriaga-Martínez (1991), es una especie que se comporta como brevidecidua, es decir, que la duración de las hojas es menor a un año, con periodos de transición entre la abscisión y el renuevo de un mes o menos.

González *et al.* realizaron un estudio sobre los patrones fenológicos foliares en un bosque húmedo, donde debido al tipo de clima, nos hablan que la estacionalidad constituye una variable clave de ajuste en la fenología de las especies. Además mencionan que las especies semideciduas presentan dos o más estadios fenológicos simultáneos durante largos periodos del año como ocurre con las siempreverdes. No obstante, existe una complementariedad en el desarrollo que resulta de las diferencias en los valores de abundancia relativa de las fenofases con diferente potencial fotosintético, estos resultados coinciden con el patrón descrito para malezas anuales y perennes en climas estacionales (Madanes *et al.*, 1996; Madanes, 1999). En este mismo estudio, los patrones fenológicos reportados para árboles y arbustos siempreverdes coinciden con los resultados de este trabajo, ya que ellos mencionan que todas las fenofases por lo general abarcan largos periodos y las hojas maduras son las que presenta el mayor porcentaje de abundancia relativa a lo largo del año, como sucedió en los individuos de *S. nigra*. Por otra parte también mencionan que la mayoría de las especies presentaron una cobertura foliar superior al 85% durante la primavera y este valor disminuye a partir de octubre debido al incremento del porcentaje de hojas senescentes y juveniles, en el caso de los individuos

de *S. nigra* se presentaron patrones similares, ya que las mayores coberturas foliares fueron del 85% al 91% en el mes de marzo y los más bajos sucedieron entre los meses de septiembre y octubre, donde los valores de hojas maduras fueron de 0%, restando solamente hojas jóvenes y seniles en su mayoría.

Otros datos que coinciden con los patrones fenológicos foliares presentes en este estudio, son los reportados por Tolome (1993) quien menciona que en las especies holárticas la foliación se presenta de enero a abril, de octubre a noviembre, o en febrero, como es el caso de la especie en estudio, donde la foliación comienza en octubre y presentó la mayor producción de hojas jóvenes en febrero.

Como ya se ha mencionado, en bosques templados la fenología de la mayoría de las plantas es muy marcada, debido a la diferencia de las variables ambientales como la temperatura, precipitación y luz entre las temporadas, respecto a este tema existe bastante evidencia sobre la estacionalidad fenológica en regiones húmedas; de acuerdo con estudios realizados por Brenes-Cambronero y D'Stefano (2002) existe una correlación positiva de la temperatura con la caída de hojas, Tutin y Fernández (1993) sugieren una relación entre este mismo elemento y la fructificación y también se reportan correlaciones negativas entre la precipitación con la floración y positivas con la fructificación de acuerdo con Carabias y Guevara (1985) e Ibarra *et al.* (1991). Con base a lo mencionado, a pesar de que en este estudio la temperatura fue un factor que no presentó grandes oscilaciones, cuando se registró el valor más alto en el mes de abril con 11 °C, también se registró el mayor porcentaje de hojas maduras, existiendo una correlación positiva entre ellas (0.77), por otro lado la correlación con la producción de hojas jóvenes fue negativa (-0.79) y no hubo una correlación significativa con las hojas seniles.

En cuanto a la precipitación, esta se correlacionó negativamente con las hojas juveniles (-0.77), y a pesar de que su correlación con las hojas seniles no fue significativa, esta fue positiva (0.44), difiriendo con Reich y Borchert (1984) y López *et al.* (2005), quienes relacionaron de forma negativa la caída de hojas con la precipitación, ya que de acuerdo con ellos, la defoliación representa una adaptación contra la pérdida de agua, asegurando la supervivencia de la especie en periodos desfavorables. Por otra parte Singh y Kushwaha (2006) mencionan que en algunas especies la formación de tejido no fotosintético (flores y frutos) influye directamente en la producción y mantenimiento de las hojas, lo que implica la defoliación y deshidratación de los tallos posterior a la producción de flores principalmente; estos datos concuerdan con los individuos de *S. nigra* para este

trabajo, ya que en todas las parcelas el mayor porcentaje de flores jóvenes se produjo en marzo, mes que presentó uno de los mayores picos de producción de hojas seniles; surgiendo un segundo pico en junio, mes en el que se registró el mayor porcentaje de frutos jóvenes en las parcelas 2 y 5 (sitio 1) y también los mayores porcentajes de flores y frutos maduros en las parcelas 6 y 7 (sitio 2). Por lo que a pesar de que varios autores reportan que ante menores valores de precipitación se observa un incremento en la defoliación, resultado de la senescencia de las hojas, en este estudio el incremento de la fenofase senil se relacionó de manera más estrecha con el incremento de las estructuras reproductivas, ya que al iniciar la producción de flores y frutos aumenta la demanda de nutrientes y por tanto disminuye la disponibilidad de estos recursos para la parte vegetativa. Por otro lado, en el análisis de correspondencia canónica (CCA), la precipitación se relacionó con los meses de junio, julio y agosto, correspondientes a la época de lluvias, temporada en la que comenzó la producción de frutos; de acuerdo con esto, Bonilla-Valencia (2014) en su estudio sobre la fenología reproductiva de *S. nigra*, reportó que el aumento del porcentaje de frutos se relaciona con el incremento de la temperatura y la precipitación; concordando con Cornejo-Tenorio e Ibarra-Manríquez (2007) y Cortés-Flores *et al.* (2013), quienes mencionan que la fenología reproductiva de las especies arbóreas en los bosques templados de México se relaciona directamente con la temporada lluviosa, además junto con Ramírez-García y Nepomuceno-Martínez (1986) proponen que la mayoría de los frutos carnosos se producen durante la época de mayor precipitación, debido a que requieren altas cantidades de agua para su maduración.

Bonilla-Valencia (2014) reportó que la floración de la especie es durante la temporada seca, relacionándola con el factor luz, como una de las variables más influyentes en los cambios fenológicos para este tipo de bosques y que en su estudio se confirma, ya que la temporada en que se presentó la producción de flores, se registró una mayor apertura de dosel, así como cantidad de luz, dichos resultados concuerdan con el presente estudio ya que la floración se presenta en la temporada de secas, donde se registraron los mayores valores de luz (FSG) y apertura del dosel (FAD) en todas las parcelas, a lo que Wright y van Schaik (1994) proponen que la floración durante la época de mayor luz es una estrategia adaptativa, apoyando esta idea con lo descrito por Kilkenny y Galloway (2008), quienes establecen que la floración durante esta temporada puede favorecer las visitas de polinizadores al resultar óptima para la actividad de muchos insectos, además de favorecerlos al no presentarse durante las lluvias, ya que esta suele tener un efecto destructivo en el polen y las flores (Janzen, 1967). En cuanto a la producción de hojas,

este factor también tiene un papel muy importante, ya que las tasas de recambio foliar se ven favorecidas cuando hay altos niveles de luz (Reich *et al.*, 2004), al contribuir de manera directa con el proceso de fotosíntesis en las plantas del sotobosque, dentro de los parámetros vinculados con la estructura del follaje se pueden mencionar la fracción de apertura del dosel (FAD) y el índice de área foliar (IAF), a lo que los individuos de *S. nigra* obtuvieron las mayores áreas foliares durante las secas, esto podría explicarse debido a que la mayoría de las especies de este tipo de bosques como se mencionó previamente, suelen tirar sus hojas durante la temporada de menor precipitación, originando una mayor superficie libre de follaje y por lo tanto permitiendo el paso de una mayor cantidad de radiación solar interceptada por el dosel (Pukkala *et al.* 1991). Por otra parte, la luz también regula indirectamente características microclimáticas bajo el dosel como son la temperatura, humedad relativa y contenido hídrico del suelo, que a su vez influyen sobre la actividad microbiana y la disponibilidad de nutrientes (Roxburgh y Kelly, 1995).

La disponibilidad de agua para las plantas no solo depende de los cambios de precipitación, también depende de la humedad del suelo. Por ello los estudios de fenología además de tomar en cuenta la precipitación, deben conocer el papel que juega la humedad (Borchert, 1994), al ser una de las variables ambientales más importantes en la actividad biológica del suelo, aumentando el crecimiento microbiano (Li y Sarah 2003, Abbasi *et al.* 2010).

En el análisis de correspondencia canónica, la humedad se relacionó con los meses de noviembre, diciembre y enero, los cuales a pesar de formar parte de la temporada seca, presentaron los niveles más altos de humedad en el suelo, periodo que también se relaciona con los mayores valores de luz (FAD Y FSG) y producción de hojas jóvenes, esto podría deberse a que en los meses previos (temporada lluviosa) hubo una disminución en la producción del follaje, predominando las hojas seniles que posteriormente al formar parte de la hojarasca generaron una acumulación en el contenido de la materia orgánica, producto de una mayor acumulación de material vegetal durante estos meses, lo cual permitió la conservación de la humedad en época seca, al reducir la evapotranspiración.

Pérez-Ramos (2007) menciona que entre los factores del medio físico que ejercen una importante influencia sobre la foliación, destacan la disponibilidad hídrica del suelo, la intensidad lumínica a nivel del sotobosque, así como otros parámetros edafológicos relacionados con la fertilidad, la acidez o el espesor de la capa de hojarasca. Por otro

lado, la estrecha relación de estas características, podría deberse a que en el proceso de descomposición, donde se produce materia orgánica, se favorece la liberación de nitrógeno por microorganismos, promoviendo la formación de complejos órganominerales que favorecen la captación y mantenimiento de humedad en el suelo (Liebig *et al.*, 2004). En este estudio, a pesar de que efectivamente durante la temporada seca disminuye tanto la humedad relativa como la humedad del suelo, esta última al presentar valores altos en los primeros meses de la época de secas, permite el desarrollo de la primera fenofase foliar, relacionada con los valores de irradiación solar, pero por otra parte, al comenzar a disminuir la humedad en el suelo, se incrementa el porcentaje de flores jóvenes y también comienza el desarrollo de las flores maduras; en este sentido Borchert (1994) y Seghieri *et al.*, (2009) sugieren que el estrés hídrico y el aumento de flores se debe a que antes del inicio de su producción hay una pérdida considerable de hojas que evita la pérdida de agua por evotranspiración.

Respecto a la relación entre la materia orgánica y el nitrógeno, estos tuvieron una correlación positiva muy fuerte (0.91), esta explicada con base a que el nitrógeno puede llegar al suelo gracias a los aportes de materia orgánica, cuyos valores para ambas variables fueron mayores en la época de lluvias, además de acuerdo a la interpretación de Muñoz *et al.* (2013), basado en los criterios de Moreno (1978), suelos con valores arriba de 0.221% son considerados extremadamente ricos, por lo que el tipo de suelo para las cuatro parcelas en ambas temporadas del año corresponde a esta categoría, al presentar valores de nitrógeno entre el 0.54% y 0.98%, por su parte los valores del fósforo son categorizados como ricos con valores entre 11.95 ppm y 29.22 ppm, datos que concuerdan con Calderón de Rzedoswki y Rzedoski (2001) y Bonilla-Valencia (2014), quienes reportan que en nuestro país *S. nigra* se distribuye preferentemente en sitios de borde y con disturbios, caracterizados por ser de dosel abierto y con suelos enriquecidos en nitrógeno y fósforo (asociación que también ha sido encontrada en Europa, en donde su abundancia aumenta en áreas con suelos eutróficos). Por otro lado Pollard *et al.* (1974), Rackham (1986) y Atkinson y Atkinson (2002) coinciden en que es una especie con categoría de maleza que coloniza fácilmente suelos eutróficos y perturbados ricos en nitrógeno.

Las diferencias microambientales en las propiedades químicas del suelo, pueden influir en la fenología de las plantas (Valdez-Hernández *et al.*, 2010), de acuerdo con los resultados de Bonilla-Valencia (2014) (quien trabajó con las mismas parcelas del presente estudio)

se encontró la formación de dos microambientes en relación a las variables ambientales y el comportamiento de la fenología reproductiva de *S. nigra*; agrupando a las parcelas 2 y 5 como parte del microambiente 1 y las parcelas 6 y 7 como el microambiente 2; a pesar de ello, en este estudio se trabajaron las parcelas de manera independiente, ya que la mayoría de los resultados de estudios fenológicos dependen de las condiciones climáticas en el sitio estudiado durante el tiempo de muestreo, por lo que extrapolar o inferir conclusiones generales puede ser riesgoso (Mehltreter, 2008). Sin embargo al realizar el análisis de componentes principales se agrupan nuevamente las parcelas 2 y 5, así como la 6 y 7 respecto a las variables ambientales y las características químicas del suelo, confirmando lo descrito por Bonilla-Valencia (2014). Además los mayores valores de área foliar, área basal y coberturas, estuvieron relacionadas con los nutrientes (N, P y K), la materia orgánica y la humedad del suelo para las parcelas 6 y 7, tanto en la época de lluvias como en la de secas, ya que estos individuos presentaron siempre los valores más altos respecto a estas variables, en el caso particular del nitrógeno, McCullough *et al.* (1994), mencionan que este nutriente ocasiona incrementos en el área foliar (AF) y en el índice de área foliar (IAF), lo cual puede ser producto de un mayor número y tamaño de hojas, dato que coincide con éste trabajo ya que aunque el número de folíolos no fue una variable de respuesta, en campo pudo observarse un mayor número de folíolos (hasta 11) en las parcelas del sitio 2 (6 y 7), respecto al sitio 1 (hasta 9 folíolos).

El efecto de la luz en *S. nigra* a nivel microambiental, ya ha sido reportado en otros estudios, en los que se ha comprobado que el crecimiento vegetativo (Gilbert, 1991; Kollmann y Reiner, 1996; Atkinson y Atkinson, 2002) y la distribución de la especie, se favorecen en áreas con mayor irradiación solar (Santibáñez-Andrade, 2009), lo cual se comprobó en la temporada de secas con las mayores áreas foliares, de acuerdo al comportamiento entre las parcelas, a pesar de que entre ellas no hubo diferencias significativas respecto a este valor, las parcelas del sitio 1 presentaron las mayores áreas foliares, recordado que estas parcelas estuvieron más relacionadas con la luz, al igual que en los resultados obtenidos por Bonilla-Valencia (2014)

Por otra parte, de acuerdo con Bandoni A. (2000) la composición química de plantas de una misma especie depende también de diversos factores tales como el estado fenológico de la planta, factores geográficos (localización), ecológicos (hábitat), variabilidad genética, proceso de extracción, entre otros, lo cual se puede apreciar en este estudio, ya que a pesar de que todas las muestras fueron de *S. nigra*, hubo diferencias significativas en

cuanto a la producción de terpenos dependiendo de la fenofase foliar y del microambiente en que se encontraban los individuos.

Inoue y Sato (1975) reportan que *S. nigra* presenta triterpenoides que se encuentran en las hojas, los cuales son α - y β -amirina, ácido ursólico y ácido oleanólico, para el cual Ruszkowski (2004) reporta que secretado al suelo posee muy fuertes propiedades alelopáticas en relación con las dicotiledóneas y actividad más débil con las monocotiledóneas. También D'Abrosca *et al.* (2001) obtuvieron compuestos de *Sambucus nigra* para probar las propiedades alelopáticas sobre tres especies diferentes a saber, *Lactuca sativa*, *Raphanus sativa* y *Allium cepa*, utilizando diferentes concentraciones. Estos autores observaron diversos resultados que muestran diferentes grados de estimulación e inhibición de crecimiento de la raíz primaria en las tres especies, sin embargo los compuestos que mencionan no incluyen terpenos, pero por otra parte ninguno de ellos fue obtenido de las hojas, lo que nos da bases para suponer que existen efectos alelopáticos en las hojas de dicha especie, los cuales tendrían que probarse en posteriores trabajos, por otro lado basándose en este supuesto.

De acuerdo con varios autores entre los que se encuentran Duke, Hoagland y Williams (1985), la edad entre otros factores influyen en la producción de aleloquímicos, en este caso las hojas seniles fueron las que presentaron las mayores concentraciones de terpenos, lo que podría también sugerirnos (de acuerdo con la literatura consultada acerca de las vías de liberación de estos compuestos), una lixiviación por parte de las hojas, las cuales presentarían un mayor acumulo de metabolitos por parte de las hojas seniles ya que son las próximas a formar parte de la hojarasca, dónde son liberados al suelo, que de acuerdo con Ballester y Vietez (1978) esta es una de las vías de liberación de aleloquímicos más común en climas húmedos. Cabe mencionar que los valores de correlación resultaron altamente significativos y que la relación entre el área foliar y producción de terpenos, incrementó conforme avanza la fenofase, sobre todo presentando los valores más altos durante la temporada lluviosa, cuando se produjo pérdida de follaje.

Finalmente se recomienda la continuidad de este estudio, para darle seguimiento a la caracterización microambiental, también debería considerarse el coleccionar hojas en otros meses del año, para realizar estudios fotoquímicos, esto debido a que en el mes de colecta del presente estudio, los individuos en campo de *S. nigra*, comenzaban a defoliarse, a lo que se atribuye que en las parcelas del sitio 1, no existieran diferencias

significativas en cuanto a la producción de terpenos entre hojas maduras y seniles, por otra parte es de suma importancia continuar el seguimiento de las fenofases foliares a lo largo de otros años, para seguir conociendo sus patrones, en relación a los cambios en los factores abióticos, así como su relación con la fenología reproductiva, la cual hasta el momento a pesar de no haber sido uno de los objetivos principales de este trabajo, se logró observar que al comienzo de la producción de flores y frutos, disminuye la de hojas juveniles e incrementa la de hojas seniles. Además, el conocimiento de los patrones fenológicos también contribuye a la conservación de los recursos genéticos y al manejo forestal, puesto que informa sobre las temporadas en que es posible la recolección de material de siembra para la propagación.

10. LITERATURA CITADA

- Abbasi, K.M., M. Zafar, T. Sultan. 2010. Changes in soil properties and microbial indices across various management sites in the mountain environments of Azad Jammu and Kashmir. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41(6): 768-782.
- Álvarez, K. 2000. Geografía de la educación ambiental: algunas propuestas de trabajo en el bosque de Los Dinamos, área de conservación ecológica de la Delegación Magdalena Contreras. *Tesis de Licenciatura*. Facultad de Filosofía y Letras. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 127 pp.
- Almeida-Leñero, L., M. Nava, A. Ramos, M. Espinosa, M. de J. Ordoñez y J. Jujnovsky. 2007. Servicios ecosistémicos en la cuenca del río Magdalena, Distrito Federal, México. *Gaceta Ecológica*. 84-85: 53-64.
- Auñon, F.J & Tadesse, W. 2000. Crecimiento del brote y floración femenina de *Pinus pinaster Ait.* en el Banco Clonal situado en Carbonero El Mayor (Segovia). *Foresta Epoca* 3(9): 30-34.
- Arriaga-Martínez, V. 1991. Fenología de 12 especies de la montaña de Guerrero, México. *Tesis de Licenciatura*. Facultad de Ciencias, U.N.A.M., México. 95 pp.
- Atkinson, M. D. y E. Atkinson. 2002. *Sambucus nigra* L. *Journal of ecology*, 90(5): 895-923
- Ávila-Akerberg, V. 2002. La vegetación de la Cuenca Alta del Río Magdalena: un enfoque florístico, fitosociológico y estructural. *Tesis de Licenciatura*. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 86 pp.
- Bonilla, L.V. 2014. *Fenología reproductiva de Sambucus nigra L. en la Cuenca del Río Magdalena D.F.*, Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 76 pp.
- Calderón de Rzedowski G. y J. Rzedowski (eds.) 2001. Flora Fanerogámica del Valle de México. CONABIO-Instituto de Ecología, A.C. México, D.F.
- Corenader. 2006. El suelo de conservación del Distrito Federal. Secretaría de Medio Ambiente del Distrito Federal. En línea (<http://www.sma.df.gob.mx/sma/corenader>). Consultado 2-Agosto-2014.

- Barnola, P. 1972. Étude expérimentale de la ramification basitone du sureau noir (*Sambucus nigra* L.). *Annals des Sciences Naturelles*, 12 (139): 369–400.
- Bolli, R. 1994. Revision of the genus *Sambucus*. *Dissertationes Botanicae*, 223: 1–227.
- Bremner, J.M.1965. Total nitrogen. En: Black, C.A. (eds.). *Methods of soil analysis. American Society of Agricultural, USA*. 2: 1149–1178.
- Carabias-Lillo, J. y S. Guevara-Sada. 1985. Fenología de una selva tropical húmeda y en una comunidad derivada: Los Tuxtlas, Veracruz. En: Gómez-Pompa, A. y S. del Amo (eds.). *Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas en Veracruz*. México. 2: 27-78.
- Delgadillo-Durán, E. 2011. Productividad primaria neta de los bosques templados de la Cuenca del río Magdalena. *Tesis de Maestría*. Facultad de Ciencias. México D.F.82 pp.
- Dobler-Morales, E. 2010. Caracterización del clima y su relación con la distribución de la vegetación en el suroeste del D.F., México. *Tesis de Licenciatura*. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 50 pp.
- Domínguez, X. 1973 *Métodos de investigación fitoquímica*. ed. Limusa. México 281p.
- Dubé, P.A., L.P. Perry y M.T. Vittum. 1984. Instructions for Phenological observations: Lilac and honeysuckle. Vermont Agricultural Experiment Station Bulletin 692. University of Vermont, Burlington.
- Dugand, A. 1978. El paisaje vegetal y sus mudanzas en el tiempo. *Boletín científico del departamento del Valle del Cauca*. Cali (Colombia): 7(25): 9-11.
- Duke, S.O. 1985. Biosynthesis of phenolic compounds—Chemical manipulation in higher plants. *In* A.C. Thompson (ed.) *The chemistry of allelopathy: Biochemical interactions among plants*. Washington, DC. p.131.
- Fournier, L.A. y C. Charpentier. 1975. El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de los arboles tropicales. *Cespedesia*, 7(25): 13-20.
- Frazer, G. W., C.D. Canham y K.P. Lertzman.1999. Gap Light Analyzer (GLA), Version 2.0: Imaging software to extract canopy structure and gap light transmission indices

- from truecolour fisheye photographs, user's manual and program documentation. Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, and the Institute of Ecosystem Studies, Millbrook, New York, 36 pp.
- Frazer, G. W., C.D. Canham y K.P. Lertzman.2000. Gap Light Analyzer (GLA), version 2.00: Image processing software to analyze true-colour, hemispherical canopy photographs. *Bulletin of Ecological Society of America*, 81: 191-197.
- García de Miranda, E.1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen 2ª ed. UNAM. México. 246 pp.
- Hoagland, R.E. y R.D Williams. 1985. The influence of secondary plant compounds on the associations of soil microorganisms and plant roots. En: *The chemistry of allelopathy: Biochemical interactions among plants*. Washington, DC. p. 301–325.
- Hopp, R. 1974. Plant phenology observations networks. Pp. 25-43. En: Lieth, H. (ed.) *Ecological Studies. Analysis and Synthesis. Phenology and Seasonality Modeling*. Springer-Verlag, Nueva York.
- INEGI. 2004. Guía para la interpretación de cartografía edafología, Instituto Nacional de Estadística y Geografía, México. En línea <http://www.inegi.org.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/geografi/publicaciones/guias-carto/edafo/EDAFI.pdf> Consultado el 30-agosto-2014.
- Inoue, T. y K Sato. 1975. Triterpenoids of *Sambucus nigra* and *S. canadensis*. *Phytochemistry*, 14: 1871–1872.
- Juárez, P.W.R. 2002. Análisis químico y actividad biológica de hojas de Siparuna andina (Tul.) A.D.C. (Monimiaceae). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. 81p.
- Jujnovsky, J. 2003. Las unidades de paisaje en la cuenca alta del Rio Magdalena, D.F., México base fundamental para la planificación ambiental. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. México D.F. 77 pp.
- Jujnovsky, J. 2006. Servicios ecosistémicos relacionados con el recurso agua en la cuenca del Rio Magdalena, Distrito Federal, México. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. México D.F. 70 pp.

- Jujnovsky, J. 2012. Propuesta para la evaluación del servicio ecosistémico de provisión de agua: El caso de la Cuenca del río Magdalena, México D.F. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 122 pp.
- Justiniano, M. J. y T. S. Fredericksen. 2000. Phenology of tree species in Bolivian dry forest. *Biotropica* 32: 276-281.
- Knudsen, D., G. A. Peterson y P. F. Pratt. 1982. Lithium, sodium and potassium. En: Page, A.L., R.H. Miller y D.R. Keeney (Eds.). Methods of soil analysis. Chemical and microbiological properties. Part 2. American Society of Agronomy, *Soil Science Society of America*, Madison, WI. pp. 225-246.
- Kudo, G., Ida, T. y Tani, T. 2008. Linkages between phenology, pollination, photosynthesis and reproduction in deciduous forest understorey plants. *Ecology*. 89 (2): 321-331.
- León-Gutiérrez, J, D.2011. Distribución espacial de las propiedades físico-químicas del suelo, y su relación con diferentes variables ambientales en los bosques de *Pinus Hartwegii* y *Abies religiosa*, en la Cuenca del Río Magdalena, D. F. Tesis de Licenciatura. Facultad de Filosofía y Letras. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 118 pp.
- Lieth, H. En: phenology and seasonality modeling. Introduction to phenology and the modeling of seasonality. New York (USA): Lied, H., 1974, p. 3-19.
- Lugo-Hubp, J. 1989. Diccionario geomorfológico, México. Instituto de Geografía, Coordinación de Ciencia y Tecnología. 337 pp.
- Luna Nieves, A. L. 2011. Identificación, selección y aprovechamiento de árboles semilleros en áreas de conservación comunitaria en el municipio de Churumuco, Michoacán, México. Tesis de maestría. Centro de Investigaciones en Ecosistemas, Universidad Nacional Autónoma de México, México, Morelia, 102 pp.
- Mantovani, M., A.R. Ruschel, M. Sedrez dos Reis, A. Puchalski & R.O. Nodari. 2003. Fenología reproductiva de especies arbóreas en una formación secundaria del bosque Atlántico Rev. *Árvore* 27: 451-458.

- Matteucci, D. S. y A. Colma. 1982. Metodología para el estudio de la vegetación. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Washington, D. C. 168 pp.
- McCullough, D.E., Ph. Girardin, M. Mihajlovic, A. Aguilera y M. Tollenaar. 1994. Influence of N supply on development and dry matter accumulation of an old and new maize hybrid. *Can. J. Plant Sci.* 74: 471-477.
- Monasterio, M. y G. Sarmiento. 1976. Phenological strategies of plant species en the tropical savanna and the semi-deciduos forest of the Venezuelan Llanos. *Journal of Biogeography* 3: 325-356.
- Molish, H. 1973. *Der einflusseinerpflanzeauf die andere-allelopathie*. Fisher, Jena, p.1.
- Moreno D. R. 1978. Clasificación de pH del suelo, contenido de sales y nutrientes asimilables. INIA-SARH. México D.F.
- Muñoz I. D. J., Mendoza C. A., López G. F., Soler A. A., Hernández M. M. M. 2000 Manual de análisis de suelo. Edafología. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM, México.
- Morellato, L. P. C., D. C. Talora, A. Takahasi, C. C. Bencke, E. C. Romera y V. B. Ziparro. 2000. Phenology of Atlantic rain forest tres: a comparative study.
- Mostacedo, B. y T.S.Fredericksen. 2000. Manual de métodos básicos de muestreo y análisis en ecología vegetal. Santa Cruz, Bolivia: Editora El País. 87 pp.
- Mueller–Dombois, D. y H. Ellenberg. 1974. Aims and methods of vegetation ecology. John Wiley, Nueva York. 547 p.
- Newstrom, L., Frankie, G. y H. Baker. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica* 26: 141-159.
- Notivol, E. 2000. Forest tree improvement. En: Advanced Course of Enhancing breeding processes of fruit and forest Woody species. CIHEAM. Zaragoza.
- Olsen, O., R.V.Cole, F.S. Watanabe y C.A. Dean. 1954. Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. U. S. Dept. Agr. Circ. USA. 939–943 pp.

- Ontiveros A. 1980. Análisis físico y algunos aspectos socioeconómicos de la cuenca del río Magdalena. Tesis de Licenciatura en Geografía, Facultad de Filosofía y Letras. UNAM. México
- Pérez, O. G. 2009. *Estudio etnobotánico y fitoquímico de Tilia americana L. var. Mexicana (Schltdl.) Hardin en el estado de Michoacán 108pp.*
- Pizarro-Hernández, C. 2012. Relación del banco y lluvia de semillas con la estructura vegetal del bosque de *Abies religiosa* de la Cuenca del río Magdalena, D. F. *Tesis de Licenciatura*. Facultad de Ciencias. México D.F. 77 pp.
- Programa Universitario de Estudios sobre la Ciudad (PUEC-UNAM) (2008) Propuesta línea de acción para el Plan Maestro de la Cuenca del río Magdalena: 5.1.2 Instrumentos transversales de la participación social. En: Plan Maestro de Manejo Integral y Aprovechamiento Sustentable de la Cuenca del río Magdalena. SMA-GDF, UNAM.
- Pollard, E., M.D. Hooper y N.M. Moore. 1974. *Hedges*. Collins, London, UK.
- Pollard, F. y G.W. Cussans, G.W. 1981. The influence of tillage on the weed flora in a succession of winter cereal crops on a sandy loam soil. *Weed Research*, 21: 185–190.
- Pollard, F. y G.W. Cussans. 1976. The influence of tillage on the weed flora of four sites sown to successive crops of spring barley. Proceedings of the 1976 British Crop Protection Conference, *Weeds*, 3:1019–1028.
- Pukkala, T., P. Becker, T. Kuuluvainen and P. Oker-Blom. 1991. Predicting spatial distribution of direct radiation below forest canopies. *Agricultural and Forest Meteorology* 55: 295- 307.
- Rackham, O. 1986. *The History of the Country side*. J.M. Dent, London, UK.
- Rathcke, B. y E.P. Lacey. 1985. Phenological patterns of terrestrial plants. *Annual Review of ecology and Systematics*, 16: 179-214.
- Reich P.B., Uhl C., Walters M.B., Prugh L. y Ellsworth D.S. 2004. Leaf demography and phenology in Amazonian rain forest: A census of 40 000 leaves of 23 tree species. *Ecological Monographs* 74:3-23.

- Rzedowski, G. C. y J. de Rzedowski. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Ruszkowski, D., K. Uniewicz, E. Auguscinska, W. Janiszowski. 2004. The allelopathic properties of oleanolic acid 3-O-monoglucoside secreted by roots of *Calendula officinalis* to the soil. Second European Allelopathy Symposium, Pulawy, Poland.
- Santibañez-Andrade, G., 2009. Composición y estructura del bosque de Abies religiosa en función de la heterogeneidad y determinación de su grado de conservación en la cuenca del río Magdalena, México, D.F. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 134 pp.
- Singh, J.S. y C.P. Kushwaha. 2006. Diversity of flowering and fruiting phenology of trees in a tropical deciduous forest in India. *Annals of Botany*, 97: 256-276.
- SMA D.F. [Secretaría de Medio Ambiente del Distrito Federal]. 2008. Plan Maestro de Manejo Integral y Aprovechamiento Sustentable de la Cuenca del Río Magdalena del Distrito Federal: Diagnóstico integral.
- Talora, D.C. & P.C. Morellato. 2000. Fenología de especies arbóreas del bosque en la llanura costera del sudeste de Brasil. *Rev. Bras. Bot.* 23: 13-26.
- Villarreal Quintanilla, J.A. 2003. Sambucaceae. In: A. Gómez Pompa y V. Sosa (eds.). *Flora de Veracruz* 129: 1-8.
- Villarreal-Quintanilla, J.A. 2008. Sambucaceae, Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Faascículo 64: 1-5.
- Vílchez, B., R. Chazdon y A. Redondo. 2004. Fenología reproductiva de cinco especies forestales del bosque secundario tropical. Kurú: *Rev. Forestal* 1: 1-10.
- Wade, A.E., Q.O.N. Kay y R.G. Ellis, R.G. 1994. *National Museum of Wales, Flora of Glamorgan*. HMSO, London, UK.
- Walkley, A. y I. A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*. 34: 29-38.

Williams-Linera, G. y J. Meave. 2002. Patrones Fenológicos. En: Guariguata, M.R. y G.H. Kattan (eds.). *Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales*. Cartago, CR. LUR .San José. pp. 408-431.

11. ANEXOS

11.1 Prueba de Lieberman-Burchad para detección de terpenos y esteroides.

Para su preparación, es necesario redissolver la muestra en cloroformo y se agrega 1ml de reactivo el cual contiene 1 ml de anhídrido acético, 1 ml de cloroformo y 1 gota de ácido sulfúrico concentrado. Si la prueba es positiva para identificación de terpenos se observa un cambio de coloración al azul o verde, mientras que para esteroides la coloración es rosa o naranja.

11.2 Valores promedio de las variables ambientales y características químicas del suelo de la temporada de lluvias y secas.

	pH	CE	MO	N	P	K	Hum	RH	Prec	Temp	FSG	FAD
P2-LI	5.73	0.10	24.38	0.77	15.14	1.24	69.91	91.50	76.38	8.99	25.28	13.23
P5-LI	5.70	0.08	14.76	0.54	17.21	0.72	65.99	93.17	76.38	9.13	24.94	12.19
P6-LI	5.77	0.13	21.36	0.72	20.29	1.33	71.38	91.50	76.38	8.99	22.17	12.71
P7-LI	5.70	0.11	25.72	0.74	11.95	1.06	81.62	93.17	76.38	9.13	23.22	11.53
P2-Se	5.75	0.12	17.91	0.63	22.33	0.50	65.92	77.59	16.21	7.96	36.30	21.83
P5-Se	5.80	0.10	10.88	0.55	14.89	0.59	56.18	78.51	16.21	7.96	33.66	19.93
P6-Se	5.70	0.13	18.17	0.61	14.78	0.62	67.04	80.93	16.21	7.96	29.67	16.40
P7-Se	5.60	0.11	29.20	0.99	29.22	0.72	86.59	81.85	16.21	7.96	28.68	17.56