

24.20



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**Facultad de Ciencias**

**IDENTIFICACION DEL GALACTOMANANO EN LA SEMILLA DE  
TURBINA CORIMBOSA Y OBSERVACION DE LOS CAMBIOS EN  
EL ENDOSPERMO DURANTE LA GERMINACION.**

**T E S I S**

**Que para obtener el título de:**

**B I O L O G O**

**P r e s e n t a :**

**ALICIA ENRIQUETA BRECHU FRANCO**

**México, D. F.**

**1980**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**

**Tesis Digitales**

**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **I N D I C E**

|                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| <b>RESUMEN</b>                       | <b>1</b>  |
| <b>INTRODUCCION</b>                  | <b>2</b>  |
| <b>Generalidades</b>                 |           |
| <b>Antecedentes</b>                  |           |
| <b>Objetivos</b>                     |           |
| <b>UBICACION TAXONOMICA</b>          | <b>16</b> |
| <b>DESCRIPCION ESPECIFICA</b>        | <b>17</b> |
| <b>LOCALIZACION</b>                  | <b>18</b> |
| <b>PARTE EXPERIMENTAL QUIMICA</b>    | <b>19</b> |
| <b>PARTE EXPERIMENTAL CITOLOGICA</b> | <b>25</b> |
| <b>RESULTADOS</b>                    | <b>27</b> |
| <b>Parte Química</b>                 |           |
| <b>Parte Citológica</b>              |           |
| <b>DISCUSION</b>                     | <b>31</b> |
| <b>CONCLUSIONES</b>                  | <b>39</b> |
| <b>LITERATURA</b>                    | <b>40</b> |

## RESUMEN

El polisacárido del endospermo de la semilla de Turbina corymbosa, es una sustancia higroscópica que consiste de galactosa y manosa en una proporción 1:7.2 y esta reserva no es movilizada en las primeras etapas de la germinación, sino hasta después de 60 horas de la salida de la radícula. En un lapso de 60 horas más, el polisacárido es completamente degradado, el contenido citoplásmico de las células de la capa de aleurona desaparece, qudando sólo restos de sus paredes celulares, que posteriormente también son destruidas.

El desarrollo de embriones aislados y cultivados en agar al 1%, en condiciones adecuadas de luz y humedad, reafirma la hipótesis de que el embrión tiene un crecimiento autosuficiente. De esta manera, se propone una triple función del endospermo :

- a) Captación de moléculas de agua, necesarias para activar el metabolismo.
- b) Presión en contra de la testa, suscitando su fractura.
- c) Reserva alimenticia, que favorece el desarrollo de la plántula.

## INTRODUCCION

La anatomía e histología de las semillas, así como su composición química, han sido materia de estudio para un gran número de investigadores en un período de tiempo largo y aún son sujetos de indagación, sobre todo aquellas semillas que son útiles al hombre como fuente de alimento y materia prima de fibras, especias, bebidas, condimentos, aceites, vitaminas y medicinas. En este tipo de semillas se han adquirido ciertos conocimientos acerca de los mecanismos de germinación, pero falta todavía mucho por aprender sobre las estrategias que siguen la gran mayoría de las semillas de angiospermas.

Una semilla verdadera se define como un óvulo maduro fertilizado que posee una planta embrionica, material alimenticio almacenado y una o varias capas protectoras llamadas testa (Esau 1977).

Las plantas productoras de semillas pueden incluirse dentro de tres taxa: Pteridospermae, Gymnospermae y Angiospermae (Kozlowski 1972).

El primer grupo está representado solo por fósiles de los períodos Carbonífero inferior al Cretácico, teniendo su cenit tanto en número como en diversidad, en el período Carbonífero superior. Las pteridospermas fueron de las primeras plantas que produjeron óvulos y semillas verdaderas. El óvulo, que puede definirse como "un esporangio femenino provisto de tegumento", se considera en general como un importante logro estructural en la evolución de las plantas vasculares. La protección que proporcionan los tegumentos que la rodean, y la presencia de nutrientes almacenados, dan a las plantas con semillas una ventaja definitiva sobre las plantas con esporangios (Scael et al 1977)

Las angiospermas con 220 000 especies existentes,

comprende el grupo más próspero, tanto numéricamente como en área ocupada, en relación a las gimnospermas con 520 - especies existentes. Las diferencias básicas entre estos dos taxa son que las semillas de gimnospermas son el producto de una sola fertilización y no existe ovario, mientras que las semillas de las angiospermas son el producto de doble fertilización dentro de un ovario (Kozłowski -- 1972).

En la doble fertilización, los dos núcleos espermáticos contenidos en el tubo polínico, llegan al saco - embrionario donde son descargados; uno de los núcleos espermáticos se pone en contacto con la membrana plasmática de la ovocélula o de la célula central. La fusión de las dos membranas plasmáticas desencadena una reacción - en la que el receptor celular de la membrana se incapacita para fusionarse con el segundo núcleo espermático. Este último se une a la membrana receptiva que resta.

Los núcleos espermáticos son transportados pasivamente, por medio de corrientes citoplásmicas, a través de la ovocélula y de la célula central, no habiendo evidencia alguna de que estos efectúen movimientos ameboides (Jensen 1972).

Uno de los núcleos espermáticos se pone en contacto con el núcleo de la ovocélula e inicia la fusión antes de que el segundo núcleo espermático lo haga con los núcleos polares. Esto puede deberse a :

- a) Una diferencia en la proporción de movimientos de los dos núcleos espermáticos.
- b) La diferencia en distancia que los gametos masculinos deben recorrer para alcanzar el núcleo de la ovocélula y los núcleos polares.
- c) La diferencia en tiempo, desde el momento en que los gametos masculinos dejan la sinérgida, para fusionarse con el núcleo respectivo (Jensen y Fisher 1967).

De esta manera, uno de los núcleos espermáticos se fusiona con el núcleo de la ovocélula, formando un cigoto diploide ( $2n$ ) que por divisiones y diferenciación celular se transforma en un embrión, y el otro núcleo espermático se fusiona con los núcleos polares obteniéndose de esto - un núcleo triploide ( $3n$ ), el cual experimenta también divisiones celulares sucesivas para formar un tejido endospermico que constituye la reserva alimenticia de la semilla.

Mientras que el embrión y el endospermo se desarrollan, la nucela en ciertos casos origina el perispermio, y el o los tegumentos se modifican y endurecen formando la cubierta de la semilla.

El grado en que estos componentes continúan su desarrollo, así como el hecho de ser o no retenidos, indica algunas de las diferencias estructurales fundamentales, entre varios tipos de semillas.

Las semillas de la familia Convolvulaceas se encuentran en un fruto capsular (con cálix persistente), que está formado por un ovario súpero bi- o tricarpelar, con uno, dos o tres lóculos conteniendo dos óvulos unitégmicos, anátropos erectos sobre placentas axilares (Sánchez Sánchez 1968, Govil 1971). El primordio del óvulo se desarrolla como una protuberancia que nace de la placenta. En seguida, la parte terminal se curva hasta formar un ángulo de  $90^\circ$  con respecto a la parte basal, la cual forma el funículo del óvulo. Es en esta etapa en la que el tegumento individual surge de la base de la nucela. El doblamiento del óvulo continúa, hasta que la forma anátropa es alcanzada (Rao 1944). El extremo micropilar, por lo tanto, se encuentra frente a la región placentar. La superficie de la semilla puede ser lisa, rugosa, glabra o pubescente.

En algunos géneros de convolvulaceas se han realizado estudios sobre el desarrollo de las partes de la semilla (Govil 1971, Kaur y Singh 1970, Sripleng y Smith --

1960). La descripción del proceso en Ipomoea sinuta, I. purpurea, I. carnea y Convolvulus arvensis, ilustra la transformación del óvulo fertilizado en la semilla madura, dentro de esta familia:

**Cubierta Seminal.** - En el momento de la fertilización, el tegumento tiene de quince a veinte células de grosor.

A los cuatro o cinco días después de la fertilización, se pueden reconocer cuatro capas de células: la capa más externa o epidermis, consiste de células que -- son más grandes y más vacuoladas que las de la capa hipodérmica. La capa hipodérmica, que consiste de células pequeñas con pocas vacuolas y núcleos grandes. La tercera capa, que se deriva de la misma capa que la hipodermis, tiene una célula de grosor en algunos lugares y dos ó cuatro células de grosor en otros donde ocurrieron divisiones. La cuarta capa consta de quince estratos de células parenquimatosas y de un estrato interno de células parcialmente digeridas.

En la segunda semana de la fertilización, las capas están claramente diferenciadas. Las células de la -- epidermis se alargan, se vuelven vacuoladas y comienzan a acumular material granular. En la hipodermis, las divisiones anticlinales son frecuentes. La capa de células -- en empalizada, bajo la hipodermis, se caracteriza por la elongación perpendicular a la superficie. Las células -- parenquimatosas, bajo el tejido en empalizada, cesan de dividirse y acumulan grandes cantidades de almidón, excepto en las células más internas que están siendo digeridas por el endospermo.

Quince ó veinte días después de la fertilización, la epidermis, la hipodermis y la capa en empalizada, engrosan sus paredes celulares. La hipodermis, además, se impregna con lignina y cutina o suberina, convirtiéndose



en la capa principal responsable de la impermeabilidad de la cubierta seminal al agua.

A los veinticinco días de fertilización, todo el material de las células del parénquima es digerido y en la madurez queda sólo una banda oscura de paredes celulares comprimidas, separando al endospermo de la capa de esclerénquima en empalizada.

La maduración de la cubierta seminal ocurre aproximadamente a los treinta días (Sripleng y Smith - 1960). En ella se pueden distinguir tres regiones: la primera está representada por la mayor parte de la cubierta seminal; la segunda es una región entre el micropilo y el funículo, formando el cojincillo; y la tercera es una región entre el funículo y la chalaza. Estas tres regiones difieren en su desarrollo (Govil 1970).

El número y constitución de las capas de la cubierta seminal, confieren a la semilla un grado de impermeabilidad al agua y/o a los gases, incluyendo oxígeno, ejerciendo así una influencia reguladora sobre el metabolismo y crecimiento de los tejidos y órganos de la semilla (Bewley y Black 1978).

**Embrión.-** La embriogénesis en las especies mencionadas, sigue el mismo plan básico. La primera división del cigoto, que es transversal, origina una célula terminal y una célula basal. La célula basal se divide vertical u oblicuamente y la célula terminal, transversalmente; de las células resultantes de esta última división, la interna a su vez, lo hace de manera vertical y la externa de manera transversal. Las células que se han derivado de la célula terminal, sufren subsiguientes divisiones promoviendo la formación de un embrión globular. Así mismo, las células que se han derivado de la célula basal, presentan divisiones irregulares de las cuales resulta un suspensor masivo; este persiste por un período largo y va comprimiéndose a medida que el embrión alcanza la

madurez. En conjunto el embrión y el suspensor forman una estructura llamada proembrión.

Se inicia la diferenciación en el polo radicular y en el polo del brote, indicando un establecimiento temprano de la polaridad. El constante crecimiento diferencial y la vacuolización de las células resultantes suscitan la organización de los sistemas de tejidos (Eam 1977). A los once días después de la fertilización, los cotiledones son alargados y hay diferenciación de procambium - en el hipocótilo y los cotiledones (Sripleng y Smith --- 1960).

En la semilla madura, el eje hipocótilo-raíz es más corto que los cotiledones; estos últimos presentan - la forma de hoja doble plegada.

El embrión en conjunto ocupa un volumen considerable dentro de la semilla, por lo que se piensa que almacena algún tipo de reserva nutritiva. Sripleng y Smith (1960) reportan que el embrión de la semilla de C. arvensis comienza a almacenar almidón, especialmente en los cotiledones, en el período de doce a catorce días después de la fertilización.

Endospermo.- Se han reconocido tres tipos principales de formación del endospermo en las angiospermas:

- a) Nuclear.- En el que los núcleos endospermáticos sufren una serie de divisiones nucleares libres y subsiguientemente pueden presentar o no el fenómeno de celularización.
- b) Celular.- En el que las paredes celulares son formadas inmediatamente después de la primera división nuclear.
- c) Helobial.- Después de la primera mitosis, el saco embrionario es dividido en dos cámaras de tamaño diferente: la más grande (chalazal) usualmente desarrolla

endospermo nuclear y la más pequeña ( micropilar ) - muestra un comportamiento variable.

En las especies de la familia Convolvulaceae a que se ha hecho referencia, el desarrollo del endospermo es de tipo nuclear.

En C. arvensis, aproximadamente a los cinco días después de la fertilización aparece en el saco embrionario una línea periférica de citoplasma denso, conteniendo gran cantidad de núcleos. En el extremo antipodal del saco embrionario, los núcleos se dividen más frecuentemente que aquéllos del resto del endospermo. La división celular se inicia cerca del suspensor y progresa lentamente hacia el extremo antipodal. En el noveno día aproximadamente, el endospermo llena el saco embrionario y es completamente celular, excepto en el extremo antipodal donde la celularización ocurre hasta el día doce ó trece después de la fertilización.

Las células endospermicas en un principio son - vacuoladas y tienen paredes celulares delgadas. Cerca de los quince días después de la fertilización, el endospermo consiste de dos ó tres capas periféricas de células pequeñas rectangulares, que desarrollan progresivamente paredes celulares más gruesas, mientras que las células internas se vuelven más largas y vacuoladas. En el período de veinte a veinticinco días, el endospermo es gradualmente digerido hasta que, en la semilla madura, sólo persisten dos ó seis capas externas alrededor de la mayor parte de la semilla y las células internas se encuentran en varias etapas de digestión ( Sripleng y Smith 1960 ).

Se ha observado en semillas de otras familias , que el endospermo está caracterizado por la presencia - de una capa externa de células vivas llamada capa de - aleurona. Cuando la semilla inicia su maduración, las células periféricas del endospermo comienzan a dividirse

anticlinalmente formando células pequeñas rectangulares. Se pueden producir una o más capas de células de este tipo, las cuales engrosan sus paredes, desarrollan cuerpos protéicos llamados granos de aleurona y, lo más importante, permanecen vivas, a diferencia de las células internas del endospermo que mueren (Bewley y Black 1978)

Estudios realizados por Martin (1946, 1961 en -- Kozlowski 1972) muestran que hay una gran diversidad en la morfología interna de las semillas, variando tanto en la relación endospermo-tamaño del embrión, como en el tamaño, forma y posición del embrión en la semilla. De esta forma pueden encontrarse semillas con:

- a) Un embrión bien desarrollado, ocupando virtualmente la totalidad de la semilla, y un endospermo reducido o ausente. Ejemplo: Beta vulgaris, Phaseolus vulgaris.
- b) Un endospermo bien desarrollado y un embrión pequeño. Ejemplo: Apium graveolens.
- c) Un embrión y un endospermo bien desarrollados. Ejemplo: Trigonella foenum-graecum.

Existe una clasificación de semillas que las divide en endospermicas y no endospermicas, dependiendo de la presencia o ausencia de este tejido en la etapa de semilla madura. Durante el desarrollo del endospermo, algunos de los nutrientes son obtenidos de los tejidos adyacentes y otros son sintetizados in situ a partir del material transportado. De esta forma el endospermo se convierte en una fuente de alimento disponible para el embrión en su etapa de maduración, el cual lo agotará total o parcialmente.

En semillas dicotiledóneas no endospermicas, las reservas del endospermo son consumidas por el desarrollo del embrión y reorganizadas en los cotiledones, actuando éstos como órganos de almacenamiento. En algunos casos -

el endospermo está representado por una o pocas capas de células muy vacuoladas, con paredes celulares delgadas y que no contienen sustancias de reserva a la madurez de la semilla.

En contraste, el endospermo se mantiene como un tejido de almacenamiento permanente en semillas dicotiledóneas endospermicas, en las cuales puede consistir de células con paredes delgadas, localizándose el material de reserva en los lúmenes, o puede constar de células con paredes gruesas, las cuales constituyen la reserva alimenticia. Estas últimas usualmente consisten de hemicelulosas u otros carbohidratos similares que se convierten en material mucilaginoso al contacto con el agua. En la semilla seca las células endospermicas son duras, pero durante la germinación funcionan como tejido esponjoso y de nutrición (Fahn 1967)

Desde fines del siglo pasado se tienen reportes acerca de las reservas de tipo mucilaginoso, que se presentan en semillas endospermicas. En ellos se hace patente el interés de los investigadores por identificar el material que compone el endospermo, a partir de sus constituyentes.

Los primeros trabajos que se realizaron, fueron con semillas de la familia Leguminosae (ver Anderson -- 1949).

Bourquelot y Hérissay (1900) aislan de semillas de Medicago sativa y de Trigonella foenum-graecum, un producto destrógiro, ligero y blanco, cuya hidrólisis revela la presencia de dos azúcares, manosa y galactosa en diferente proporción molar para cada especie, y concluyen que las reservas de estas semillas, corresponden a un polisacárido al que denominan manogalactano.

Daoud (1932) estudia la composición química del polisacárido de semillas de T. foenum-graecum y afirma -

que la manosa y la galactosa son los únicos azúcares -- que constituyen este polisacárido; pero además, al quemarlo completamente, confirma la presencia de los siguientes elementos: fierro, calcio, magnesio, fósforo y silice, por lo que plantea que el polisacárido es un éster silico-fosfórico de manogalactano.

Refiriéndose a los resultados de Bourquelot y - Hérissey, en los que ponen de manifiesto una ligera diferencia entre el manogalactano de semillas de T. foenum-graecum y M. sativa, Daoud propone que estos azúcares se encuentren presentes en diversas formas y probablemente, en distintos grados de esterificación, que corresponderían a diferentes grados de solubilidad, como sucede con la amilosa, amilopectina y amilohemicelulosa de los granos de almidón.

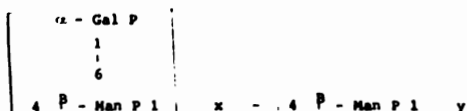
En el mismo trabajo, Daoud comprueba que las semillas de T. foenum-graecum, antes de la germinación, no contienen más azúcar que el manogalactano. Así mismo, en semillas en germinación, verifica la ausencia de galactosa y manosa en los cotiledones y en la radícula, encontrando en ellos solamente fructosa, glucosa y sacarosa, los cuales, según el autor, podrían ser el resultado de la transformación completa de galactosa y manosa, por mecanismos aún no estudiados.

Anderson (1949) realiza una investigación con - semillas de 163 especies de la familia Leguminosae, de las cuales tres cuartas partes contienen mucilago de origen endospermico. El análisis del material mucilaginoso demuestra que los azúcares que lo componen son, invariablemente, galactosa y manosa, pero su relación es diferente entre las especies. De esta manera concluye que el endospermo mucilaginoso de las semillas de leguminosas es un polisacárido al que llama galactomanano.

Owen y colaboradores (1947), llevando a cabo un estudio sobre las reservas de galactomanano de semillas

de leguminosas, elucidan que las uniones estructurales presentes en este tipo de carbohidratos poliméricos son ligaduras 1,4 y además proponen la posibilidad de ramificaciones.

Stepanenko (1960) hace una revisión de los gluco- y galactomananos que se encuentran en semillas, bulbos y rizomas, y reporta que la molécula de galactomano no está formada de unidades de D-manopiranosas conectadas por uniones  $\beta$ -1,4 formando una columna lineal a la que se ligan unidades de D-galactopiranosas por uniones  $\alpha$ -1,6:



Bewley y Black (1978) afirman que cuando aumentan los sitios de sustitución en la cadena de manosa, - siendo ocupados por unidades de galactosa, se da origen a la familia de los mucílagos. Sin embargo, Whistler -- (1960) reporta que las propiedades de las gomas no dependen de una sola característica sino de varias, como: el grado de hidratación del polisacárido, la asociación intermolecular, peso y forma del polisacárido, efectos de sales, interacción con otros componentes.

Se ha clasificado a los galactomananos como hemicelulosas, cuya definición resulta muy poco satisfactoria, pues no permite trazar una línea de demarcación neta entre hemicelulosas, por una parte, y ciertas sustancias pásticas o ciertas gomas, por otra. Sin embargo, el término hemicelulosas debe conservarse hasta que se tenga un conocimiento más completo que permita marcar - categorías definidas más rigurosamente (Roudier 1960).

Trabajos posteriores muestran que los galactomananos forman el mayor componente de almacenamiento en -

el endospermo, no solo de semillas de Leguminosae, sino también de semillas de Palmae, Annonaceae, Rubiaceae y Convolvulaceae (McCleary y Matheson 1975).

En lo que se refiere a esta última familia, Khanna y Gupta (1967) realiza un estudio sobre la estructura del galactomanano de semillas de Ipomoea muricata, en el cual encuentran que las uniones de los azúcares galactosa y manosa corresponden a las reportadas por Stepanenko (1960), y la proporción molar 1:1.8 de los mismos, en esta especie, indica que es un polisacárido muy estratificado.

La germinación de la semilla, definida como la emergencia visible de la radícula a través de las capas de la cubierta seminal (Halmer 1976), implica una serie de procesos y mecanismos de control, que sólo se han comprendido parcialmente. La mayor parte del trabajo hecho sobre estructura celular y fisiología de la semilla en germinación, ha sido enfocado principalmente hacia el embrión, y el interés por estudiar el endospermo u otros tejidos nutritivos extraembrionarios, ha ocupado un lugar secundario, con excepción de los granos de cereal - (Jacobsen y Pressman 1979).

Entre los estudios realizados sobre los fenómenos de movilización de sustancias alimenticias que suceden en la germinación de semillas con embrión y endospermo bien desarrollados, uno de los más importantes es el de Reid (1971), quien lleva a cabo una investigación cualitativa y cuantitativa de los eventos que ocurren a diferentes etapas de la germinación de semillas de T. foenum-graecum. La formación de zonas de disolución, a partir de la capa de aleurona hacia los cotiledones, le sugiere que son las células de esta capa, y no las del embrión, quienes secretan las enzimas o activadores de enzimas que degradan el galactomanano. Observa una dis-



minución y un aumento sincronizados de galactomanano en el endospermo y de almidón en los cotiledones, respectivamente, en base a lo cual plantea una transformación - rápida del primer polisacárido en el segundo. Reid hace notar que la reserva polisacárida del galactomanano está presente hasta 18 horas después de la germinación y propone que esta haya sido retenida hasta entonces debido a su alta capacidad para imbibir agua.

Un año más tarde, Reid y Meier (1972) comparan la función de la capa de aleurona de tres especies de leguminosas durante la movilización del galactomanano - en semillas en germinación, concluyendo que las células de la capa de aleurona son las responsables de la síntesis y secreción de las enzimas necesaria para la degradación del galactomanano.

Estos autores también refieren que el galactomanano de semillas de leguminosas no es indispensable para la supervivencia de la planta joven, ya que, cuando se proporcionan condiciones adecuadas de luz y humedad, embriones aislados de semillas de T. foenum-graecum crecen sostenidos por las reservas de aceite y proteínas - de los cotiledones. Dado que muchas de las plantas de la Tribu Trifolieae tienen una distribución muy amplia en las regiones secas del Este del Mediterráneo, surge la posibilidad de que el galactomanano de las semillas haya sido retenido por su gran capacidad de captar agua.

McCleary y Matheson (1974, 1975) orientan sus estudios hacia la actividad de las enzimas que hidrolizan el galactomanano, en la germinación de semillas de leguminosas.

Existe una cierta semejanza entre las semillas de leguminosas, mencionadas anteriormente, y la semilla de Turbina corymbosa (familia Convolvulaceae), ya que en el endospermo de éstas también se presenta un polisa-

cárido que, al contacto con el agua, se convierte en una goma.

En las convolvuláceas el interés de los investigadores se ha dirigido hacia el proceso de formación de la semilla, con el afán de atacar en esta etapa a la planta, que en ocasiones constituye una maleza seria para los agricultores (Sripleng y Smith 1960)

No existe reporte alguno sobre la fisiología de la semilla madura hasta que se convierte en planta autotrófica, por lo que la presente Tesis tiene el propósito de contribuir a esclarecer la estrategia de germinación de las semillas pertenecientes a esta familia.

Un representante de la familia Convolvulaceae es la especie Turbina corymbosa, en cuyas semillas se fundan los estudios del actual trabajo, el cual comprende los siguientes objetivos:

- 1.- Determinar la composición química del material de reserva del endospermo.
- 2.- Observar los cambios que sufre el endospermo durante la germinación de la semilla hasta el establecimiento de la plántula.

## UBICACION TAXONOMICA

(Standley y Williams 1970)

|             |                                               |
|-------------|-----------------------------------------------|
| DIVISION    | Embryophyta Siphonogama                       |
| SUBDIVISION | Angiospermae                                  |
| CLASE       | Dicotyledoneae                                |
| ORDEN       | Tubiflorae                                    |
| SUBORDEN    | Convolvulinae                                 |
| FAMILIA     | Convolvulaceae                                |
| GENERO      | <u>Turbina</u> Rafinesque                     |
| ESPECIE     | <u>Turbina corymbosa</u> (L.) Rafinesque 1836 |

## SINONIMIA

Convolvulus corymbosa L. Syst. Nat. ed. 10.293. 1759.Rivea corymbosa Hallier f. in Engler, Bot. Jahrb. 18:157. 1893.Convolvulus sidaefolia H.B.K. Nov. Gen. & Sp. 3:99. 1818.Ipomoea sidaefolia Choisy, Mem. Soc. Phys. Hist. Nat. Geneve. 6:459. 1833

Nombres Comunes.- Xtabentun, Ololiqui, Pascua, Flor de Pascua, Gloria de la mañana, Manto.

DESCRIPCION ESPECIFICA  
(Standley y Williams 1970)

Enredadera leñosa grande o pequeña, frecuentemente trepada sobre árboles pequeños, glabra; hojas pecioladas, ovaladas, 4-10 cm. de largo, agudas o acuminadas, cordadas en la base, enteras; pedúnculos axilares, iguales o más largos que las hojas, poco o muy floreada, formando - frecuentemente densos panículos terminales, los pedicelos delgados; sépalos oblongos persistentes, los internos con 8-12 mm, casi el doble de longitud que los externos; corola blanca, 2.5-3 cm. de largo; cápsula ovoide-oblonga, aguda, más corta que los sépalos internos, 1 semilla.

Distribución.- Matorral húmedo o seco formador de cercas; frecuentemente de crecimiento secundario; Peten, Alta Verapaz; Izabal; El Progreso; Zacapa; Santa Rosa. México; de Honduras Británicas a Panamá; Indias Occidentales; América del Sur. Introducida a Filipinas.

## LOCALIZACION

Las semillas de Turbina corymbosa se colectaron el mes de febrero de 1979, en los alrededores del pueblo de San Carlos Yautepac, Estado de Oaxaca, México, encontrándose la especie como una enredadera abundante en los árboles que bordean el río cercano.

Varios ejemplares se depositaron en el Herbario de la Facultad de Ciencias U.N.A.M., quedando clasificados con los números 4547 y 4548.

La localidad de San Carlos Yautepac se encuentra en las coordenadas 16°33' Latitud Norte y 96°10' -- Longitud Oeste, a una altitud de 1 003 m.s.n.m. (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos 1972). El clima, según la clasificación de García (1964), es del tipo árido o seco con un cociente P/T sobre 22.9 (el mes más seco de los secos); muy cálido, con temperatura media anual sobre 22°C y la del mes más frío sobre 18°C; régimen de lluvias de verano 10 veces mayor que en el mes más seco, con un porcentaje de lluvia invernal bajo 5 de la anual; el mes más caliente del año es antes de junio; poca oscilación térmica, entre 5°C y 7°C; es -- asignado como BS<sub>1</sub>(h')w"(w) (i')g.

## PARTE EXPERIMENTAL QUIMICA

Antes de iniciar el experimento con la semilla de T. corymbosa, se puso a punto la técnica de extracción del polisacárido galactomanano e identificación de los azúcares que lo componen con la semilla de Ipomoea murucoides, perteneciente también a la familia de las convolvuláceas.

Los resultados de esta semilla comprobaron la efectividad del proceso al obtenerse los azúcares galactosa y manosa en una proporción molar de 1:1.19, datos que son similares a aquellos logrados por Khanna y Gupta --- (1966) quienes, trabajando con semillas de Ipomoea muricata, obtienen galactosa y manosa en una proporción --- 1:1.8.

Teniendo montada la técnica, se procedió a la experimentación con la semilla de T. corymbosa.

## 1.- Aislamiento del Polisacárido.

Las semillas de T. corymbosa (99.5 g) se molieron finamente en seco en un molino de manivela sometándose a extracción selectiva por el procedimiento de Soxhlet: el goteo que produce la condensación de los vapores del disolvente moja completamente el cartucho que contiene la harina de la semilla, efectuándose entonces la extracción en frío de la sustancia elegida; los solutos disueltos se van concentrando en el matríz de fondo redondo que contiene el disolvente, el cual es reciclizado a través del sistema.

Empleando el método anterior, la harina se extrajo primero con hexano (500 ml/4 veces/8 horas), eliminando así las grasas que podrían constituir un obstáculo en la marcha de extracción.

En seguida la harina se extrajo con etanol (500 -

ml/4 veces/8 horas), con el objeto de separar otras sub-  
tancias como carbohidratos de peso molecular bajo.

La harina seca que se derivó de este proceso tu-  
vo un peso de 74.1 g.

En un cristizador se colocó la harina seca, a  
la cual se le agregó un volumen de ácido acético al 1%,  
en cantidad suficiente para que la harina se suspendiera  
y en esta forma fuera agitada durante 5 horas con un agi-  
tador mecánico. Posteriormente la mezcla se vació en em-  
budos con papel filtro plegado y permaneció así hasta --  
que el escurrimiento del mucílago, en matraces Erlenmeyer  
de 500 ml, fuese completo. La filtración fué muy lenta --  
debido a la naturaleza viscosa de la solución. Al filtra-  
do se le agregó etanol en forma paulatina y agitando vi-  
gorosamente, hasta completar 3 volúmenes de solución. La  
adición de etanol en exceso provocó la precipitación del  
polisacárido en forma de hilos blancos, el cual se filtró,  
se lavó con etanol y se colocó en un desecador al vacío--  
para que se secara totalmente; se formó una masa de co-  
lor blanco difícil de pulverizar. Después de esto se pe-  
só y se guardó nuevamente en el desecador, ya que es una  
sustancia higroscópica que no debe permanecer a la in--  
temperie.

Este procedimiento se repitió con la harina rete-  
nida en el papel filtro hasta que no se obtuvo precipita-  
do alguno al agregar exceso de etanol al extracto.

Rendimiento: 5.47 g.

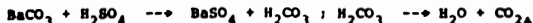
## 2.- Hidrólisis.

Del polisacárido obtenido en la primera extrac-  
ción con ácido acético al 1 % se pesó 1 g en un matrás -  
de fondo redondo de 100 ml, al que se añadieron 50 ml de  
 $H_2SO_4$  2N y piedras porosas para regular la ebullición. -  
El matrás se ensambló con un refrigerante de rosario y -

el aparato de hidrólisis, conectado de esta manera, se montó en un soporte, sobre una canasta de calentamiento cuya temperatura se reguló con un reostato.

Los vapores del agua acidulada suben hasta el refrigerante donde se condensan y gotean en el matríz. El sistema de reflujo se mantuvo durante 18 horas, después de lo cual se corrió la mezcla de reacción en una cromatoplaque de gel de sílice (60 F<sub>254</sub> para cromatografía en placa fina Merck) para comprobar que la separación de los azúcares fué completa.

El jarabe que se obtuvo de la hidrólisis se neutralizó a pH 6 con BaCO<sub>3</sub>, llevándose a cabo la siguiente reacción:



El BaCO<sub>3</sub> se adicionó poco a poco, agitando la mezcla con una barra magnética. La formación de burbujas provocada por el desprendimiento de CO<sub>2</sub> fué un indicio de que la solución se estaba neutralizando; sin embargo, el pH se confirmó con Papel Indicador de pH, haciendo lecturas a intervalos cortos.

El jarabe neutralizado se filtró y la solución de azúcares se liofilizó.

### 3.- Separación e Identificación de los Azúcares.

La separación de la mezcla de azúcares liofilizados (0.6644 g) se llevó a cabo en una columna cromatográfica de 3 cm de diámetro y 80 cm de largo. Se usó como adsorbente celulosa microcristalina para cromatografía en columna, Merck, en una proporción, azúcares - celulosa, de 1:80 y como eluyente la fase no acuosa de la mezcla butanol-etanol-agua 5:1:4 v/v.

Al liofilizado se le adicionó un volumen pequeño de la misma mezcla para disolverlo y se introdujo en la-



columna preparada siguiendo la técnica descrita por --- Abbott (1977).

La llave de la columna se mantuvo totalmente abierta, logrando una velocidad de flujo de 12 gotas/minuto.

El eluyente se recibió en matraces Erlenmeyer - con capacidad de 50 ml, en los que se colectaron fracciones de 20 ml cada una.

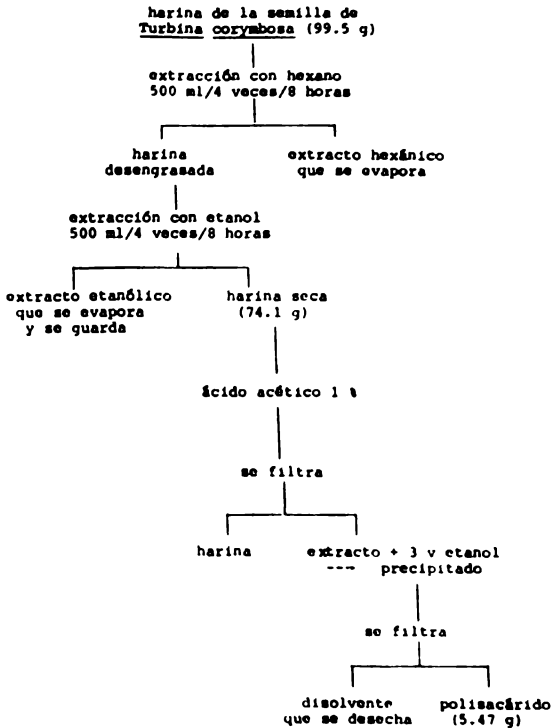
La identificación del material contenido en las fracciones se hizo por cromatografía en placa fina, en cromatoplasas del gel de sílice, aplicando siempre como referencia los azúcares puros D-galactosa y D-manosa, de Productos Sigma, S.A. El eluyente en este caso fue la fase acuosa de la mezcla propanol-etanol-agua 7:1:2 -- v/v, usando como revelador sulfato cármico-ácido sulfúrico y calentando las cromatoplasas en una estufa a 100-105°C.

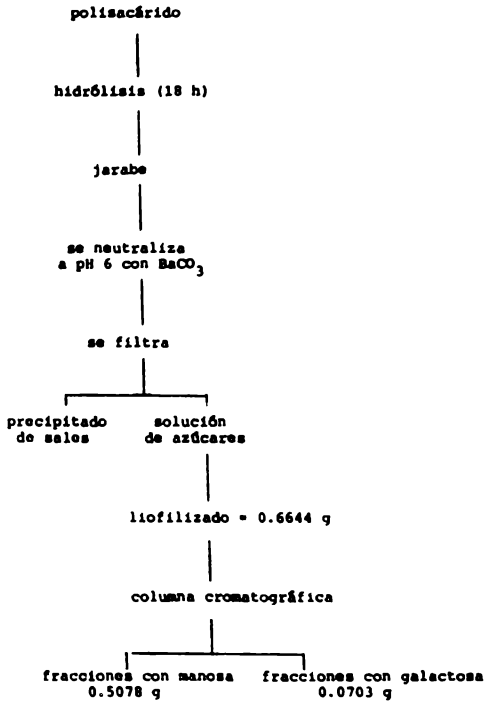
La comparación de los R<sub>f</sub>s, de las manchas de -- los azúcares testigo y de las manchas de las sustancias contenidas en las fracciones, permitió la identificación de los componentes de la mezcla de azúcares.

Localizados los matraces que incluían el material separado, se reunieron las fracciones con el mismo azúcar y se procedió a la evaporación del disolvente a sequedad en un rotavapor.

Se obtuvieron así 0.5078 g de manosa y 0.0703 g de galactosa.

## ESQUEMA DE EXTRACCION





## PARTE EXPERIMENTAL CITOLOGICA

Para la experimentación se descartaron todas las semillas que mostraban un orificio originado por el ataque de un insecto. Las semillas restantes fueron colocadas en un recipiente con agua y agitadas enérgicamente - durante 5 minutos, dejándolas luego reposar; se eliminaron todas aquellas que flotaban, usándose para el trabajo las que permanecieron en el fondo.

Haciendo un análisis de las semillas flotantes, se vió que contenían en su interior huevos o larvas de insecto.

La semillas seleccionadas fueron esterilizadas - con una solución de hipoclorito de sodio,  $\text{NaOCl}$ , al 5 %, moviendo en forma rotatoria con agitador magnético durante 15 minutos, al cabo de los cuales las semillas se enjuagaron dos veces con agua corriente y tres con agua -- destilada.

Debido a que la testa de la semilla de T. corymbosa es impermeable al agua, fué necesario lijar superficialmente la cubierta seminal de cada una de ellas, antes de ser puestas a embeber, para lograr de esta forma el - 100 % de semillas hinchadas en un lapso menor de 24 horas (Koller y Cohen 1959). El período de imbibición fué de 24 horas a 4°C, con el objeto de reducir el metabolismo celular, pero permitir la entrada de agua a la semilla.

Para su germinación, las semillas fueron depositadas en cajas de Petri sobre dos discos de papel filtro húmedo y se cubrieron con un disco más de papel filtro - también humedecido; las cajas tapadas se colocaron en -- una incubadora regulada a 23°C. Tanto la imbibición como la germinación se efectuaron en la obscuridad.

La fijación de las semillas se hizo a diferentes etapas, iniciándose con aquellas que tenían 24 horas de imbibición, hasta aquellas con una longitud de radícula de 5 cm. Con una navaja de afeitar se cortó un cuarto de cada semilla del extremo chalazal, a fin de que hubiera una buena penetración de las sustancias con las que posteriormente se tratarían. Para la fijación se utilizó la solución formol-ácido acético-agua (F.A.A.), en la que permanecían las semillas por 24 horas, lavándolas después por 2 horas con agua corriente.

Siguiendo los métodos acostumbrados de deshidratación e inclusión en parafina, el material fue seccionado en un micrótomos rotatorio American Optical, modelo -- 820, a 10  $\mu$ m de grosor.

Se usó la tinción doble de safranina-fast green (Jensen 1962) para la observación de la anatomía y citología de la semilla. Además, para la detección de polisacáridos se usó la reacción P.A.S. (ácido peryódico - Schiff, ver Jensen 1962).

## RESULTADOS

## Parte Química.

En cortes de semillas secas de T. corymbosa se observó, a microscopio de disección, que el endospermo tiene una constitución fibrosa y un color blanco brillante; en el momento en que la semilla se puso en contacto con el agua, el aspecto del endospermo empezó a cambiar, hasta que en su máxima hidratación se convirtió en un mucílago.

La extracción con ácido acético al 1 %, de la semilla íntegra molida, produjo una solución mucilagínea de la cual se separó y purificó un polisacárido cuyo rendimiento fué de 5.49 %, calculado en relación al peso inicial de las semillas.

La hidrólisis de 1 g de polisacárido dió como resultado 0.6644 g de mezcla de azúcares.

El primer azúcar que se obtuvo de la cromatografía en columna fué la manosa, substancia menos polar, con un  $R_f$  de 0.6 igual al de la mancha de D-manosa empleada como referencia. El segundo azúcar en aparecer fué la galactosa, con un  $R_f$  de 0.466 que coincidió con el de D-galactosa pura comercial.

La localización en cromatoplatea de los azúcares cromatografiados en columna, reveló que su separación no fué total, pues en tres fracciones se obtuvieron manchas encimadas de los mismos. Estas tres fracciones se-recromatografiaron en columna, con lo cual se logró la separación completa de la mezcla.

El peso de los azúcares obtenidos de esta forma reveló un contenido de 0.5078 g de manosa y 0.0703 g de galactosa, lo cual indica que el material de reserva -- del endospermo de T. corymbosa corresponde a un polisa-

cárido constituido por galactosa y manosa en una proporción molecular de 1:7.2.

#### Parte Citológica.

En las semillas de T. corymbosa la radícula comenzó a emerger, aproximadamente, a las 40 horas después de colocarlas a 23°C. Sin embargo, se advirtió que a un tiempo determinado había semillas con diferente longitud de radícula y las observaciones de los cortes mostraban distintas etapas en la movilización de las reservas del endospermo.

En estas condiciones la evaluación del desarrollo no era confiable, por lo cual se sometieron a germinación 100 semillas, en las que se tomaron los parámetros de longitud de radícula y tiempo, para obtener la curva promedio de crecimiento de la radícula de T. corymbosa.

De las 100 semillas, 14 no germinaron y el resto se dividió en 7 grupos correspondientes al momento de la salida de la radícula.

Como se puede observar en la Tabla 1, la germinación, entendida como la protusión de la radícula, no ocurre al mismo tiempo; sin embargo, se apreciaba que una vez salida la radícula, la tasa de crecimiento es similar en todas las semillas. Al promediar las longitudes de las radículas en los 7 grupos (Tabla 2), se nota que la longitud es proporcional al tiempo después de la emergencia de la radícula (Gráfica 1).

Habiendo determinado la forma de crecimiento, se tomaron nuevas semillas para su germinación y se fijaron a tiempos y longitudes de radícula determinadas.

En lo que se refiere a la movilización de reservas endospermicas, el examen al microscopio óptico de los cortes evidenciaba tres fases con las siguientes caracterís-

ticas:

1.- Ningún cambio aparente en el endospermo.- El tejido muerto del endospermo, constituido por paredes celulares, es abundante y ocupa un espacio amplio entre la testa y los cotiledones. Las células de la capa de aleurona se caracterizan por la presencia de un núcleo grande, citoplasma denso con muchas inclusiones protéicas y lipídicas y paredes celulares gruesas. Esta etapa comprende de 0 a 60 horas, hasta que la longitud en promedio de la radícula llega a 1.85 cm.

2.- Progresiva movilización del endospermo.- Esta fase empieza a ser visible después de las 60 horas de germinación con 1.85 cm de longitud de radícula y se distingue por una gradual disminución del endospermo. Inicia la degradación del material de reserva, se observan cambios en las células de la capa de aleurona, donde el citoplasma aparece lleno de pequeñas vacuolas. La fase se prolonga hasta las 120 horas de germinación con 3.8 cm de longitud de radícula.

3.- Ausencia total de endospermo.- Después de las 120 horas de germinación con 3.8 cm de longitud de radícula, ya no hay endospermo y sólo quedan restos de paredes celulares de la capa de aleurona que posteriormente son degradados.

Las tres fases de movilización de reservas endosperómicas se marcaron en la curva de crecimiento de la radícula (Gráfica 1).

De los resultados anteriores se puede deducir -- que en las primeras etapas de germinación el embrión tiene un desarrollo autosuficiente, soportado por las propias reservas que contiene en los cotiledones y probablemente en el eje embrionario.

Para comprobar esta suposición, se extrajeron em



briones de semillas de T. corymbosa, eliminando todo resto de endospermo, y se colocaron en agar neutro al 1 %, con luz indirecta del sol, en una campana estéril de cultivo de tejidos.

El desarrollo de los embriones se hizo evidente por el despliegue y aumento en volumen de los cotiledones, pero principalmente por el alargamiento de la radícula. Después de los primeros días del cultivo, los embriones presentaron la pigmentación verde debida a la formación de clorofila por la exposición a la luz. Al cabo de un mes, los embriones continuaban vivos y la longitud que alcanzaron las radículas fué en general de 2.5 cm, desarrollando en algunos casos raíces laterales.

## DISCUSION

El propósito de las extracciones de la semilla - molida en el aparato Soxhlet, fué separar aquellas substancias que pudieran interferir en el aislamiento del polisacárido. Se sabe que este carbohidrato no se disuelve en hexano ni en etanol, sino que es un compuesto soluble en agua, sobre todo agua un poco acidulada (Khanna y Gupta 1967).

El peso (0.6644 g) de la mezcla de azúcares proveniente de la hidrólisis, se vió reducido probablemente por los siguientes factores:

a) Destrucción de azúcares en la hidrólisis. Anderson (1949) reporta una pérdida de manosa de 4.2 % por calentamiento de D-manosa pura con ácido sulfúrico.

b) Retención de azúcares u otros componentes del polisacárido en el precipitado de  $\text{BaSO}_4$ , al momento de la neutralización. Daoud (1932) declara que al efectuar la hidrólisis del galactomanano de T. foenum-graecum con ácidos minerales, se forma un precipitado gelatinoso com puesto principalmente por combinaciones de sílice con -- carbohidratos.

Los componentes individuales de la mezcla de azú cares son muy parecidos entre sí por sus propiedades físicas y químicas. Es por esto que la técnica de separación que se utilizó fué la cromatografía en columna, por medio de la cual se determinó la relación galactosa-manosa 1:7.2.

Uno de los procedimientos de disolución que permiten aislar el material mucilaginoso del endospermo, es el utilizado en el presente trabajo, basado en los repor

tes de Khanna y Gupta (1967), en el que operando con la semilla completa molida, el método de extracción es el apropiado para separar el material que constituye el endospermo.

Decoud (1932) y Reid (1971) confirman que, en la semilla madura de T. foenum-graecum (Leguminosae), el galactomanano se encuentra sólo en el endospermo, compuesto por tejido de almacenamiento muerto, a excepción de la capa de aleurona. Göring y colaboradores (1968) - refieren que los cotiledones, formados por células vivas, normalmente no acumulan galactosa. Estos reportes, junto con las observaciones de cortes de semillas, apoyan el hecho de que la substancia identificada como galactomanano, en la semilla de T. corymbosa, proviene del endospermo y no de otro tejido.

Tomando como referencia la proporción galactosamano y la estructura de otros galactomananos, como el guaran de Cyamopsis tetragonolobus = 1:1.2 (Stepanenko 1960), el de T. foenum-graecum = 1:1.2 (Anderson 1949, - Stepanenko 1960) y el de I. muricata = 1:1.8 (Khanna y Gupta 1967), se puede inferir que la fórmula del polisacárido de T. corymbosa está representada por una cadena polimérica de manosa, conteniendo un número pequeño de unidades de galactosa en los sitios de sustitución de esta cadena.

Bawley y Black (1978) refieren que hay una gran cantidad de semillas con reservas clasificadas como hemicelulosas, muchas de las cuales son cadenas de manosa con pequeñas cantidades de azúcares (glucosa, galactosa, arabinosa), presentes en algunos sitios de sustitución de la cadena; al aumentar estos sitios en la cadena de manosa y ser ocupados por unidades de galactosa, se da origen al grupo de los mucílagos.

Esta afirmación suscita el problema de clasificar al galactomanano de T. corymbosa como representante de las hemicelulosas o del grupo de los mucílagos.

El punto puede ser aclarado analizando las propiedades de esta macromolécula de carbohidratos: la característica de ser un polisacárido que al ponerse en contacto con el agua se hincha, produciendo un gel o una solución de alta viscosidad con apariencia de mucílago, encaja perfectamente en la definición de goma (Whistler 1960).

Por otra parte, el galactomanano de T. corymbosa puede ser considerado dentro del amplio grupo de las hemicelulosas, pues su definición (Roudier 1960) incluye a los políidos diferentes de la celulosa y las pectinas, presentes en las paredes celulares de tejidos vegetales lignificados, que en general son solubles en soluciones alcalinas diluidas y frecuentemente también en agua fría o caliente, y son fácilmente hidrolizables con ácidos minerales produciendo xilosa, arabinosa, galactosa, manosa, en cantidades variables según su origen.

En base a la misma referencia de Bewley y Black (1978), se podría inferir que, debido al porcentaje tan bajo de galactosa en el polisacárido de T. corymbosa, las propiedades de su goma serían menos importantes, -- desde el punto de vista industrial. Sin embargo, entre los reportes de polisacáridos de leguminosas se tiene el de Ceratonia siliqua, con una proporción galactosamansa de 1:2.3 a 1:6.1, y cuyo galactomanano constituye cerca del 88 % de la goma comercial (Stepanenko 1960); Anderson (1949) declara que, antes de la Segunda Guerra Mundial, el mucílago de la semilla de C. siliqua se usó ampliamente en la industria textil, del papel, de alim--mentos y algunas otras.

Reid y Meier (1970) recopilan los resultados de estudios sobre galactomananos de varias especies de leguminosas, y observan que especies con la misma o similar proporción galactosa-manosa se encuentran relacionadas muy cercanamente. Debido a ésto aíslan polisacáridos de semillas de 8 especies pertenecientes a la Tribu Trifolieae y comparan la composición de sus galactomananos, encontrando la misma proporción en 7 de estas especies. Por lo anterior sugieren que ese trabajo y estudios similares podrían ayudar a la clasificación de la familia Leguminosae.

Esta misma idea podría ser aplicada a la familia Convolvulaceae, pues se encontró que en especies del mismo género, como son I. muricata e I. murucoides, la proporción galactosa-manosa es cercana, en cambio en la semilla de T. corymbosa, perteneciente a otro género, la relación galactosa-manosa está muy alejada de las primeras. Es evidente que los resultados de tres especies son insuficientes para dar una conclusión válida a este respecto. Es necesario realizar análisis químicos de galactomananos de una mayor cantidad de especies, lo cual representaría un arma fuerte para resolver el problema tan complejo de la clasificación de las convolvulaceas.

De acuerdo a los resultados anteriormente expuestos, queda de manifiesto que el endospermo no es utilizado por la semilla de T. corymbosa durante las primeras etapas de la germinación; la movilización de las sustancias nutritivas en este período proviene de las almacenadas en el embrión.

Como se puede observar en la Gráfica 1, hay un crecimiento considerable en la longitud de la radícula, de 1.85 cm en 60 horas, el cual no ha dependido evidentemente del material del endospermo. La movilización visible al microscopio óptico, de la reserva polisacárida, -

ocurre entre 60 y 120 horas alcanzando entonces la degradación completa.

Tal fenómeno se presenta también en semillas endospermicas de leguminosas, con un período, al inicio de la germinación, en el que no se detecta hidrólisis alguna del galactomanano y que varía de 16 horas en Medicago sativa a 3-4 días en Cyamopsis tetragonolobus. Esta etapa es seguida por un lapso de consumo total del endospermo que va de 20 horas en M. sativa a 4-5 días en Oenothera siliqua y C. tetragonolobus (McCleary y Matheson 1974).

Con los datos anteriores y el hecho de que los embriones cultivados germinaran, es obvio que las reservas alimenticias del endospermo de T. corymbosa no son indispensables para la supervivencia de la plántula. Sin embargo, el polisacárido que constituye el endospermo -- tiene la propiedad de embeber grandes cantidades de agua, por lo cual una de sus funciones podría ser el proporcionar las condiciones de humedad que la semilla necesita para promover su metabolismo; una vez satisfechos los requerimientos de agua, la semilla emplearía los azúcares del endospermo como material nutritivo para un posterior crecimiento rápido de la plántula.

Esta proposición también ha sido hecha por Daoud (1932) y Reid (1971) para la semilla de T. foenum-graecum y otros géneros de la tribu Trifolieae (familia Leguminosae), que se hallan distribuidos en la región Este del Mediterráneo y que muestran características semejantes a T. corymbosa en el proceso de germinación.

Otro hecho evidente es que la captación de agua y el posterior hinchamiento del endospermo ejercen una gran presión sobre la testa de la semilla, constituyendo así un factor determinante en su ruptura.

Un punto más acerca de la función del galactoma mano es que, en la semilla seca, este puede ser más eficiente que el almidón de otras semillas como mecanismo de defensa de los cotiledones, ricos en material nutritivo, protegiéndolos del ataque de insectos y otras influencias externas (Daoud 1932).

No es posible hablar de zonas específicas de de gradación del endospermo, como lo hace notar Reid (1971) en su trabajo sobre T. foenum-graecum; se necesita afinar mucho más la técnica para seccionar la semilla de T. oorymbosa y poder dar de esta manera una respuesta firme. La dureza de la testa, así como lo blando de los tejidos interiores, han hecho difícil la obtención de cortes completos. En este momento se están poniendo a prueba nuevas técnicas para obtener resultados más claros.

A partir de las observaciones y consideraciones hechas en la presente Tesis, se abren nuevas perspectivas en el estudio de estas semillas, como: ¿Es el embrión el que controla la movilización de reservas en el endospermo o cuál estructura es la que la controla? ¿Qué parte del embrión proporciona las materias nutritivas para el desarrollo de la plántula? ¿Qué papel juega la capa de aleurona durante la germinación de la semilla? ¿Cuáles son los productos de degradación del endospermo y cómo son utilizados por el embrión en crecimiento?

| Ma    | 1         | 2         | 3         | 4         | 5         | 6         | 7         | 8         |
|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| hora  | 7 12 19 0 | 7 12 19 0 | 7 12 19 0 | 7 12 19 0 | 7 12 19 0 | 7 12 19 0 | 7 12 19 0 | 7 12 19 0 |
| Grupo |           |           |           |           |           |           |           |           |
| 21 s  | 0         | 0.40 0.51 | 1.15 1.40 | 1.80 2.30 | 2.60 2.85 | 3.15 3.40 |           |           |
| 24 s  |           | 0 0.37    | 0.76 0.90 | 1.26 1.57 | 2.00 2.30 | 2.70 2.85 | 3.18      |           |
| 10 s  |           | 0 0.37    | 0.64 1.00 | 1.50 2.00 | 2.40 2.80 | 3.00 3.30 | 3.45      |           |
| 18 s  |           | 0         | 0.38 0.67 | 1.25 1.66 | 2.10 2.50 | 3.00 3.50 | 4.00 4.30 |           |
| 5 s   |           | 0         | 0.44 0.61 | 1.20 1.60 | 2.10 2.50 | 3.20 3.40 | 3.88 4.35 |           |
| 2 s   |           |           | 0 0.30    | 0.70 1.27 | 1.50 1.70 | 2.60 3.00 | 3.10 3.65 | —         |
| 6 s   |           |           | 0         | 0.25 0.56 | 1.00 1.40 | 1.70 1.90 | 2.10 --   | -- 3.20   |

TABLA 1  
 Distribución de semillas germinadas  
 y su relación de crecimiento (cm) en el tiempo (h). s=semillas

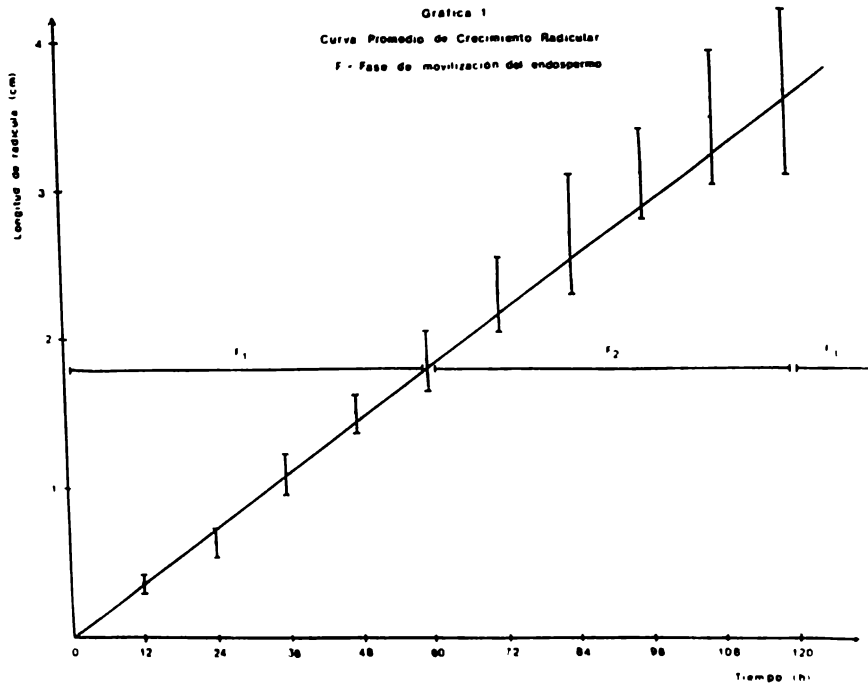


| Tiempo     | Longitud de radícula                                    | Promedio | Desviación Standard |
|------------|---------------------------------------------------------|----------|---------------------|
| $T_0$ =    | 0 h = Salida de la radícula                             | = 0      |                     |
| $T_1$ =    | 12 h = $0.40 + 0.37 + 0.37 + 0.38 + 0.44 + 0.30 + 0.25$ | = 0.358  | 0.064               |
| $T_2$ =    | 24 h = $0.51 + 0.76 + 0.64 + 0.67 + 0.61 + 0.70 + 0.56$ | = 0.635  | 0.085               |
| $T_3$ =    | 36 h = $1.15 + 0.90 + 1.00 + 1.25 + 1.20 + 1.27 + 1.00$ | = 1.110  | 0.143               |
| $T_4$ =    | 48 h = $1.40 + 1.26 + 1.50 + 1.66 + 1.60 + 1.50 + 1.40$ | = 1.470  | 0.134               |
| $T_5$ =    | 60 h = $1.80 + 1.57 + 2.00 + 2.10 + 2.10 + 1.70 + 1.70$ | = 1.850  | 0.213               |
| $T_6$ =    | 72 h = $2.30 + 2.00 + 2.40 + 2.50 + 2.50 + 2.60 + 1.90$ | = 2.300  | 0.267               |
| $T_7$ =    | 84 h = $2.60 + 2.30 + 2.80 + 3.00 + 3.20 + 3.00 + 2.10$ | = 2.710  | 0.402               |
| $T_8$ =    | 96 h = $2.85 + 2.70 + 3.00 + 3.50 + 3.40 + 3.10 + --$   | = 3.100  | 0.311               |
| $T_9$ =    | 108 h = $3.15 + 2.85 + 3.30 + 4.00 + 3.88 + 3.65 + --$  | = 3.470  | 0.446               |
| $T_{10}$ = | 120 h = $3.40 + 3.18 + 3.45 + 4.30 + 4.35 + -- + 3.20$  | = 3.646  | 0.536               |

TABLA 2

Promedios de Longitud Radicular en función del Tiempo

Gráfica 1  
Curva Promedio de Crecimiento Radicular  
F - Fase de movilización del endospermo



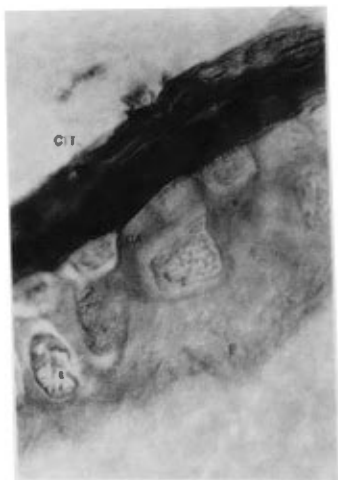


Fig. 1. Corte transversal de semilla de T. corymbosa en la fase 1 de movilización de la reserva-endospérmica: Ningún cambio aparente en el-endospermo. (CA) capa de aleurona; (CIT) capa más interna de la testa; (E) endospermo. (40x).

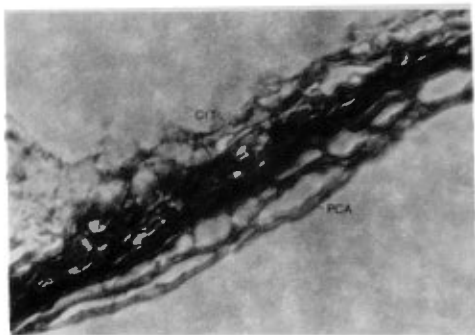


Fig. 2. Corte transversal de semilla de T. corymbosa en la fase 3 de movilización de la reserva-endospérmica: Ausencia total de endospermo. (CIT) capa más interna de la testa; (PCA) - paredes de la capa de aleurona. (40x).

## CONCLUSIONES

- 1.- El material de reserva del endospermo de - Turbina corymbosa es un polisacárido identificado como galactomanano, cuyos azúcares, galactosa y manosa, se encuentran en una proporción molecular de 1:7.2.
- 2.- El galactomanano, al contacto con el agua, produce un mucílago.
- 3.- Durante las primeras etapas de germinación el endospermo no es movilizado visiblemente.
- 4.- Embriones aislados, en condiciones favorables de humedad y luz, son capaces de germinar.
- 5.- Se propone que el papel que desempeña el - endospermo en la germinación de T. corymbosa sea :
  - a) Como un tejido con gran capacidad para absorber agua, proporcionando al embrión un ambiente húmedo apto para llevar a cabo las reacciones metabólicas.
  - b) Como material que al absorber agua e hincharse, ejerce gran presión sobre la testa, propiciando su rompimiento.
  - c) Como un material de reserva alimenticio utilizado en el desarrollo de la plántula.

## LITERATURA

- Anderson, E. 1949. Endosperm Mucilages of Legumes. Occurrence and Composition. Ind. Eng. Chem. - - - 41:2887-2890
- Abbott, D., y Andrews, R.S. 1977. Introducción a la Cromatografía.  
1ª reimpresión. Alhambra. España.
- Bewley, J.D., y Black, M. 1978. Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination .  
Vol 1. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. New York.
- Bourquelot, E., y Hérissé, H. 1900. Les Hydrates de --  
Carbone de Réserve des Graines de Luzerne et de Fenugrec.  
Compt. rend. 130:731-733
- Daoud, K.M. 1932. The Reserve Polysaccharide of the ---  
Seed of Fenugreek: Its Digestibility and its Fate During Germination.  
Biochem. J. 26:255-263
- Esau, K. 1965. Plant Anatomy. 2ª ed. Wiley. New York
- Esau, K. 1977. Anatomy of Seed Plants. 2ª ed. Wiley. New York.
- Fahn, A. 1967. Plant Anatomy. Pergamon Press. Oxford.
- García, E. 1964. Modificaciones al Sistema de Clasifica

ción Climática de Koppen para adaptarlo a las condiciones particulares de la República Mexicana. Offset Larios. México, D.F.

- Görling, H., Neckin, E., Kaiser, R. 1968. Einfluß der D-Galaktose auf den Kohlenhydratstoffwechsel -- pflanzlicher Gewebe.  
Flora, Abt. A, Bd. 159 (8):82-103
- Govil, C.M. 1971. Morphological Studies in the Family - Convolvulaceae.  
I. Development and Structure of the Seed Coat.  
J. Indian bot. Soc. 50:32-39.
- Halmer, P., Bowley, J.D., Thorpe, T.A. 1976. An Enzyme to Degrade Lettuce Endosperm Cell Walls. - -- Appearance of a Mannanase Following.  
Phytochrome and Gibberellin-induced Germination.  
Planta (Berl.) 130:189-196
- Jacobsen, J.V., y Pressman, E. 1979. A Structural Study of Germination in Celery (Apium graveolens L.) Seed with Emphasis on Endosperm Breakdown. Planta (Berl.) 144:241-248.
- Jensen, W.A. 1962. Botanical Histochemistry. Principles and Practice. W.H. Freeman and Company. U.S.A.
- Jensen, W.A., y Fisher, D.B. 1967. Cotton Embryogenesis: Double Fertilization. Phytomorphology - - - 17:261-269.
- Jensen, W.A. 1972. The Embryo Sac and Fertilization in -- Angiosperms. Lyon Arboretum Lecture. Univ. - - Hawaii, Honolulu.

- Koller, D., y Cohen, D. 1959. Germination Regulating - Mechanisms in some Desert Seeds. VI Convolvulus lanatus Vahl., Convolvulus negvensis -- Zoh. and Convolvulus secundus Desr. Bull. Res. Council. Israel. 7 D:175-180
- Kaur, H., y Singh, R.P. 1970. Structure and Development of Seeds in Three Ipomoea Species. J. Indian bot. Soc. \_\_ :168-174.
- Khanna, S.N., y Gupta, P.C. 1967. The Structure of a - Galactomannan from the Seeds of Ipomoea muricata. Phytochemistry 6:605-609.
- Kozlowski, T.T. 1972. Seed Biology. Vol 1. Academic -- Press. New York.
- McCleary, B.V., y Matheson, N.K. 1974.  $\alpha$ -D-galactosidase Activity and Galactomannan and Galactosylsucrose Oligosaccharide Depletion in Germinating Legume Seeds. Phytochemistry 13: 1747-1757.
- McCleary, B.V., y Matheson, N.K. 1975. Galactomannan -- Structure and  $\beta$ -mannanase and  $\beta$ -mannosidase Activity in Germinating Legume Seeds. Phytochemistry 14:1187-1194
- Moe, D.A., Miller, S.C., y Iwen, M.H. 1947. Investigation of the Reserve Carbohydrates of Leguminous -- Seeds. I. Periodate Oxidation. J. Amer. Chem. Soc. 69:2621-2625.
- Rao, V.S. 1944. Development of the Embryo Sac in the -- Convolvulaceae. J. Indian bot. Soc. 23:164-169.



- Reid, J.S.G., y Meier, H. 1970. Chemotaxonomic Aspects of the Reserve Galactomannans in Leguminous - Seeds.  
Z. Pflanzenphysiol. 62 8 :89-92.
- Reid, J.S.G. 1971. Reserve Carbohydrate Metabolism in Germinating Seeds of Trigonella foenum-graecum L. (Leguminosae).  
Planta (Berl.) 100:131-142.
- Reid, J.S.G., y Meier, H. 1972. The function of the - Aleurona Layer during Galactomannan Mobilisation in Germinating Seeds of Fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.), Crimson Clover (Trifolium incarnatum L.) and Lucerne (Medicago sativa L.) : A Correlative Biochemical and -- Ultrastructural Study. Planta (Berl.) 106:44-60.
- Roudier, A. 1960. Les Hemicelluloses et les Oligosides Provenant de leur Hydrolyse. Bull. Soc. Chim. Biol. 42 (12):1493-1514.
- Sánchez Sánchez, O. 1968. La Flora del Valle de México. Editorial Herrero, S.A. México.
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1972. Boletín Anual del Servicio Meteorológico Nacional. Resumen Climatológico correspondiente al año 1972. Dirección General de Geografía y Meteorología.
- Scagel, R.F., Bandoni, R.J., Nouse, G.E., Schofield, W. B., Stein, J.R., y Taylor, T.M.C. 1977. El -- Reino Vegetal. Omega. Barcelona.

Sripleng, A., y Smith, F.H. 1960. Anatomy of Seed of Convolvulus arvensis. Amer. J. Bot. 47:386-392.

Standley, P.C., y Williams, L.O. 1970. Flora of Guatemala. Vol 17, Part IX, Numbers 1 and 2. Chicago Natural History Museum.

Stepanenko. B.N. 1960. Galactomannans and Glucomannans of Seeds, Bulbs and Rhizomes. Bull. Soc. Chim. Biol. 42 (12):1519-1536.

Whistler, R.L. 1960. Relation Between Structure and -- Properties of Polysaccharide Gums. Bull. Soc. Chim. Biol. 42 (12):1479-1487.