



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

00345

1

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Determinación Estructural e Histoquímica  
de la Impermeabilidad al Agua de la Diáspora  
de *Sicyos deppei* G. Don Durante su Período  
de Deshidratación Natural**

**T E S I S**

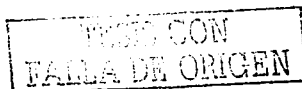
**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGÍA VEGETAL)**

**PRESENTA:**

**María Aurora Alcázar Pestaña**

**DIRECTORA DE TESIS: Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán**

**MÉXICO, D. F.**



**JUNIO 2003.**

A



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Maria Aurora

Alicia Terrazas

FECHA: 16 Junio 2003

FIRMA: [Signature]

La presente tesis se realizó en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, U.N.A.M., bajo la Dirección de la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, con el apoyo de la beca No. 1688 de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, UNAM y sustentada ante el siguiente jurado:

Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

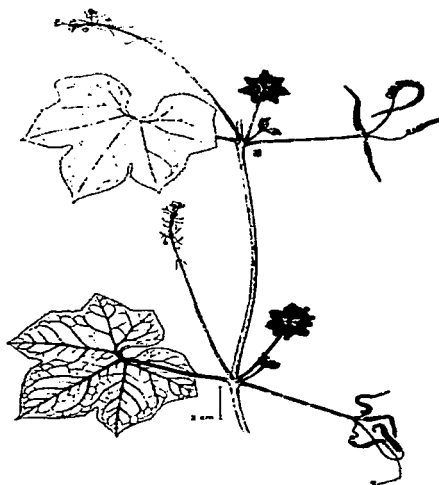
Dr. Emil Mark Engleman Clark

Dr. Hermilo Jorge Ramón Quero Rico

Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco

Dra. Teresa Terrazas Salgado

TESIS CON  
CARTA DE ORIGEN



## **DEDICATORIAS**

A mi esposo Hugo Sánchez Pérez , por su gran apoyo en mi desarrollo profesional, por su respeto y amor que me alientan siempre a continuar.

A mi hija Nancy Carolina, por que su vida me estimula a seguir y luchar por la mía.

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, por que sin su sabiduría compartida este trabajo continuaría enterrado, gracias por tu ayuda.

A mis padres Fernando Alcázar C., para mí vivo en mi ser  
Y Aurora Pestaña C. por darme la vida, por su amor valor y apoyo incondicional.

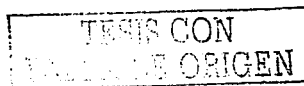
A mis hermanas Guadalupe, Esther y Conny con mucho cariño, por su respeto y por creer en mí.

A Araceli Pompa por su sincera amistad y apoyo durante los estudios de grado.

A cada una de las personas que me animaron a continuar con su especial manera y cariño, en especial a: Verónica Avila por la emotividad e incondicional ayuda; Gabriela Velázquez por su comprensión y total apoyo; Isabel Anaya; GC, por sus oraciones e Irma Estupiñán por tu sabio y sincero afecto, gracias.

Al Amor que crece hoy en mí para mí, por amor.

A los Maestros de la Facultad de Ciencias cuya misión académica es de corazón y sabiduría.



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco sinceramente toda la guía, apoyo y confianza que me ha brindado hasta hoy la Dra. Judith Márquez Guzmán durante mis estudios, dirección y desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Mark Engleman y Dr. Hermilo Quero Rico por la revisión del proyecto, avances de esta investigación y por cada una de sus acertadas contribuciones para el escrito final de esta investigación.

A la Dra. Alicia Brechú Franco y Dra. Teresa Terrazas Salgado por la revisión del documento final y por cada una de sus valiosos comentarios que enriquecieron esta investigación.

A los Biólogos Ana Isabel Bieler A y Alfredo Gamboa, así como al M. en C Alejandro Martínez Mena por su asistencia técnica en las fotografías que ilustran esta tesis.

A la Bióloga Yolanda Ornelas por su asistencia técnica en el uso y la toma de microfotografías al Microscopio Electrónico de Barrido

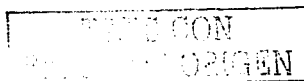
Al Dr. Felipe Cruz García por su asesoría y apoyo en las técnicas de contenido de humedad, germinación y análisis estadístico.

Al Lic. Rodolfo Jesús Vázquez Saldaña por su apoyo en la actualización del Software del manuscrito original de esta tesis.

A la Ing. María de Lourdes Gretel Durán Casco por su apoyo en la actualización de las gráficas sobre contenido de humedad, germinación, y desarrollo.

Al Biol. Samuel Aguilar Ogarrío por su apoyo en la investigación bibliográfica.

A Ing. Raciél Flores Quijano y Dr. Rafael Rangel González, miembros del Departamento de Ingeniería de la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, por su total apoyo emocional, académico e incluso financiero para culminar las revisiones de esta investigación.



## CONTENIDO

1.	RESUMEN	1
2.	INTRODUCCION	2
3.	REVISION DE LITERATURA	
3.1.	CARACTERISTICAS DE LA FAMILIA CUCURBITACEAE	4
3.2.	CARACTERISTICAS DEL GENERO <i>Sicyos</i>	5
3.3.	EMBRIOLOGIA DE <i>Sicyos</i>	8
3.4.	<i>Sicyos deppei</i> COMO MALEZA	9
3.5.	LATENCIA EN LA SEMILLA DE <i>S. deppei</i>	12
3.5.1	TIPOS DE LATENCIA EN SEMILLAS	13
3.5.1.1	LATENCIA INNATA O ENDOGENA	14
3.5.1.2	LATENCIA INDUCIDA O SECUNDARIA	14
3.5.1.3	LATENCIA IMPUESTA O EXOGENA	15
3.6.	CONTENIDO DE AGUA EN LAS SEMILLAS	15
3.7.	DESCRIPCION DE LA DESHIDRATACION NATURAL EN SEMILLAS	18
3.8.	ESTRUCTURA DE LAS CUBIERTAS SEMINALES RELACIONADAS CON LA IMPERMEABILIDAD AL AGUA	20
3.9.	LONGEVIDAD EN LAS SEMILLAS	25
3.9.1	ECOLOGIA DE LA LONGEVIDAD	26
3.10	COLOR DE LA CUBIERTA SEMINAL RELACIONADA CON LA IMPERMEABILIDAD	27
3.11	BANCO DE SEMILLAS DEL SUELO	28
3.12	EL PROCESO DE GERMINACION	29
3.12.1	GEMINACION DE LAS SEMILLAS EN EL SUELO	31
3.12.2	GERMINACION RETARDADA POR UNA TESTA IMPERMEABLE	31
4.	OBJETIVOS	33
5.	MATERIAL Y METODOS	
5.1.	ZONAS DE ESTUDIO	34
5.2.	DETERMINACION DE LAS ETAPAS DE ESTUDIO PARA LOS FRUTOS DE <i>S. deppei</i> G Don	34
5.3.	DETERMINACION DE LOS PERIODOS DE DESHIDRATACION NATURAL DE LOS FRUTOS DE <i>S. deppei</i>	36
5.4.	COLECTA DE INFRUTESCENCIAS	36
5.5.	TECNICAS DE LABORATORIO	
5.5.1.	CONTENIDO DE HUMEDAD	37
5.5.2.	PRUEBAS DE GERMINACION	37
5.5.3.	PRUEBA DE ABSORCION DE AGUA	38
5.6.	ANATOMIA E HISTOQUIMICA	
5.6.1.	ANATOMIA	39
5.6.2.	HISTOQUIMICA	39
5.7.	MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO	40
5.8.	FOTOMICROGRAFIAS	40

E

TESIS CON  
 FOLIO DE ORIGEN

<b>6. RESULTADOS</b>	
<b>6.1. PERIODOS DE DESHIDRATACION NATURAL DE LOS FRUTOS DE <i>S. deppei</i></b>	<b>41</b>
6.1.1. CAMBIOS MACROMORFOLOGICOS EXTERNOS DEL FRUTO DURANTE LA DESHIDRATACION NATURAL DE <i>S. deppei</i> AL MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO (MEB)	42
6.1.2. CONTENIDO DE HUMEDAD DE LOS FRUTOS DE <i>S. deppei</i> EN LAS ETAPAS DE DESHIDRATACION EI (14-17 dpa), EII (25 dpa), EIII (28 dpa) y EIV (31 dpa)	43
<b>6.2. DETERMINACION DEL MOMENTO EN EL QUE SE ESTABLECE LA IMPERMEABILIDAD AL AGUA EN LOS FRUTOS DE <i>S. deppei</i>.</b>	
6.2.1 PORCENTAJE DE GERMINACION DE LAS ETAPAS DE DESHIDRATACION, EI (14-17 dpa), EII (25 dpa), EIII (28 dpa) y EIV (31 dpa)	46
6.2.2 ABSORCION DE AGUA EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE DESHIDRATACION	51
<b>6.3. ANATOMIA E HISTOQUIMICA ASOCIADAS CON LA IMPERMEABILIDAD AL AGUA</b>	<b>55</b>
6.3.1 FRUTO: PERICARPIO	55
6.3.2 SEMILLA: TESTA	57
6.3.2.1 a) EXOTESTA PLURIESTRATIFICADA	58
6.3.2.1.1 EPIDERMIS	58
6.3.2.1.2 HIPODERMIS	59
6.3.2.1.3 ESCLERENQUIMA EN EMPALIZADA	59
6.3.2.2 b) MESOTESTA	60
6.3.3 SEMILLA: CUTICULA NUCELAR	61
<b>LAMINAS</b>	<b>62</b>
<b>7. DISCUSION</b>	
7.1. TIEMPO DE DESARROLLO DE LOS FRUTOS DE <i>Sycios deppei</i> .	81
7.2. CAMBIOS MACROMORFOLOGICOS EXTERNOS DE LOS FRUTOS DE <i>Sycios deppei</i> DURANTE SU PERIODO DE DESHIDRATACION NATURAL	82
7.3. CONTENIDO DE HUMEDAD DE LOS FRUTOS DE <i>Sycios deppei</i> DURANTE SU PERIODO DE DESHIDRATACION NATURAL	84
7.4. ESTABLECIMIENTO DE LA IMPERMEABILIDAD AL AGUA EN FRUTOS DE <i>Sycios deppei</i> .	
7.4.1. ABSORCION DE AGUA EN LOS FRUTOS DE <i>S. deppei</i>	85
7.4.2. GERMINACION DE LOS FRUTOS DE <i>S. deppei</i> .	86

TRIS CON  
EAS DE ORIGEN

7.4.3.	ANATOMIA E HISTOQUIMICA DE LOS FRUTOS DE <i>S. deppel</i>	
7.4.3.1	COLOR E IMPERMEABILIDAD	89
7.4.3.2	REGIONES ANATOMICAS E IMPERMEABILIDAD	89
7.4.3.2.1	MADUREZ FISIOLÓGICA DE LA DIASPORA DE <i>S. deppel</i>	90
7.4.3.2.2	IMPERMEABILIDAD E HISTOQUIMICA, TIEMPO DE SU ESTABLECIMIENTO	93
7.4.3.2.2.1	ZONAS DE PERMEABILIDAD AL AGUA	96
7.5	INTEGRACION E INTERPRETACION DE LOS PROCESOS FISIOLÓGICO -ANATOMICOS ESTUDIADOS EN <i>Sicyos deppel</i> G. Don.	97
8.	CONCLUSIONES	101
9.	BIBLIOGRAFIA GENERAL	104

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

G



## 1. RESUMEN

El propósito del presente estudio fue determinar el momento del establecimiento de la impermeabilidad al agua de la diáspora (fruto monospermico) de *Sicyos deppei* G. Don (Cucurbitaceae) a nivel estructural, histoquímico y fisiológico durante el periodo de deshidratación natural. Se realizaron observaciones en campos de cultivo de Maíz en los cuales, *S. deppei* crece como maleza. Se colectaron infrutescencias en distintas etapas de desarrollo para su posterior estudio en el laboratorio. Se determinaron mediante observaciones macromorfológicas visuales y de microscopía electrónica de barrido cuatro etapas diferentes de la deshidratación de los frutos. A las diásporas correspondientes de cada una de las etapas de deshidratación se les determinó: a) contenido de humedad; b) porcentajes de germinación; c) capacidad de absorción de agua; d) análisis estructural e histoquímico. El tiempo de desarrollo de los frutos de *S. deppei* de la etapa de antesis hasta la etapa de dispersión fue de 28 a 31 días a partir de la antesis (dpa). Las etapas de deshidratación estudiadas comprenden un intervalo entre los 14 a los 31 dpa. La pérdida final de humedad de un fruto de *S. deppei*, cuya etapa inicial contiene 77.09% de humedad y cuya etapa final contiene 6.694% de humedad, es del 70.42%. La deshidratación de los frutos de *S. deppei* no es un proceso uniforme. Los resultados de las pruebas de germinación y absorción de agua indican que la impermeabilidad de la diáspora comienza a partir de los 25 dpa y que este proceso se establece después de los 28 dpa.

La impermeabilidad al agua de la diáspora de *S. deppei* se encuentra asociada a cambios estructurales e histoquímicos del **Pericarpio** por el depósito de taninos hidrolizables evidentes en las últimas etapas de deshidratación y su cutícula cuya reacción al rojo O de aceite se hace evidente al inicio de su deshidratación; **Esclerenquima de osteoesclereidas de la exotesta** por la presencia de lignina y posiblemente cutina o suberina en las paredes radiales (anticlinales) así como por la presencia de un engrosamiento en forma de "estalactita" en las paredes tangenciales adyacentes a la hipodérmis cuya reacción al rojo O de aceite persiste durante todo el proceso de deshidratación; **Mesotesta** por la presencia de taninos hidrolizables depositados en las últimas etapas de deshidratación y la **Cutícula Nucelar** de la semilla, debido a su composición de cutina o suberina evidenciada por su reacción positiva al rojo O de aceite durante todo el proceso de deshidratación.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 2. INTRODUCCION

*Sicyos deppei* G. Don (Cucurbitaceae) es una planta con distribución mundial en regiones tropicales y subtropicales. En México es una especie endémica (Lira *et al.*, 1998) que se le puede encontrar prácticamente en todos los tipos de vegetación, pero siempre asociada a sitios con perturbación alta, se distribuye en los estados de Chiapas, Distrito Federal, Estado de México, Tlaxcala, Guanajuato, Jalisco, Hidalgo, Puebla, Veracruz, Michoacán, Morelos, Nayarí, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, y Sinaloa (Rodríguez, 2001; Zepeda, 1988). Es una hierba trepadora, anual, de hoja ancha que crece entre cultivos básicos como frijol, trigo, cebada y maíz.

*S. deppei* G. Don (especie reconocida por Rodríguez (2001) como *Sicyos microphyllus*, para México) es considerada como una de las malezas más importantes e indeseables en nuestro país debido a que causa daños directos e indirectos a los cultivos que invade. En forma directa, compite con las plantas cultivadas por humedad, luz y nutrimentos, ocasionando disminución en la producción. Además, utiliza como soporte las plantas de maíz, evitando su óptimo crecimiento y en muchos casos provocando su acame (derribamiento) lo que favorece el ataque de roedores o microorganismos a las mazorcas que quedan cerca del suelo. En forma indirecta, esta maleza es un reservorio de una rica entomofauna y de otros patógenos que afectan los cultivos (Anaya *et al.*, 1981 y Roman *et al.*, 1991, citados en Zambrano 1992).

Así, el rendimiento de las cosechas en los terrenos de cultivo se afecta significativamente al disminuir la longitud y diámetro de las mazorcas cuando existe una alta densidad de población de *S. deppei* en los terrenos cultivados (Zepeda, 1988)

Además *S. deppei* produce gran cantidad de diásporas (frutos monospermicos) un promedio de 30.000 por planta (Zepeda, 1988). Las diásporas tienen cerdas espinosas frágiles, caducas de color amarillo de 2 a 4 mm de largo y caen al suelo formando bancos de semillas de tipo persistente, en donde sólo unas cuantas semillas germinan después de su dispersión y por lo tanto el banco de semillas varía poco con la estación y es grande en comparación con la producción de semillas (Thompson y Grime, 1979, citados en Cruz, 1989).

En terrenos de cultivo invadidos por esta maleza la mano de obra se encarece debido a que las cerdas espinosas de los frutos causan lesiones a los trabajadores durante el deshierbe y cosecha y el tiempo empleado para realizarla aumenta. El rastrojo de las plantas infestadas se pierde ya que no puede ser utilizado como forraje pues causaría lesiones en la boca del ganado al ingerirlo.

Las diásporas poseen latencia impuesta por testa dura y en condiciones de laboratorio es necesaria su escarificación (desgaste mecánico de su cubierta seminal) para obtener altos porcentajes de germinación (Zambrano,1992).

La infrutescencia de *S. deppei* contiene de 5 a 12 frutos los cuales maduran y se deshidratan unidos a la planta madre.

La propiedad que tienen las semillas de *S. deppei* de ser impermeables al agua, es posible que se imponga durante el proceso de deshidratación en la planta madre y que estén involucradas algunas de las estructuras seminales (Alcázar, 1990).

Dada la importancia económica de esta maleza y el desconocimiento que se tiene de los procesos involucrados durante el periodo de deshidratación natural de la diáspora, se realizó este trabajo cuyo propósito fue estudiar algunos parámetros estructurales, histoquímicos y fisiológicos que se presentan durante este periodo.

### 3. REVISION DE LITERATURA

En México a la par con el desarrollo de la agricultura y de la civilización, ha evolucionado un considerable contingente de malezas nativas arvenses y ruderales. Así el país ha sido un centro de evolución de malezas introducidas y nativas. Dentro de las especies endémicas se encuentran numerosos representantes de géneros como: *Argemone*, *Bidens*, *Euphorbia*, *Melampodium*, *Physalis*, *Sicyos*, etc., grupos que se encuentran en pleno proceso de evolución (Rzedowski, 1992).

#### 3.1 CARACTERISTICAS DE LA FAMILIA CUCURBITACEAE

El género *Sicyos* pertenece a la familia de las cucurbitáceas que son plantas principalmente herbáceas, trepadoras o decumbentes, anuales y rara vez perennes, con tallos frecuentemente con 5 ángulos y con zarcillos espirales situados en la cara superior de la base del peciolo, rara vez arbustivo (*Dendrosicyos*), con hojas alternas, enteras o lobuladas, sin estípulas; con inflorescencias de varios tipos, cimosas o solitarias, algunas veces axilares, plantas monoicas o dioicas; flores radiadas, unisexuales femeninas o masculinas, rara vez hermafroditas, sépalos 5 fusionados a la pared del ovario, pétalos 5 fusionados campanulados, solveforme o discoide la forma de la corola, estambres 1-5 (algunas veces 5 estambres con dos grupos de 2 estambres fusionados llevando 2 estambres compuestos más un estambre libre o simple, con apariencia de tres estambres, gineceo ínfero de 1 a 10 carpelos (usualmente 3) fusionados, con placentación parietal central libre; fruto peponide o baya grande, rara vez cápsula, seco o carnoso, a menudo provisto de espinas, dehiscente o indehiscente. Semillas lisas, rugosas o más o menos esculpidas, generalmente comprimidas, testa rígida, endospermo ausente. Distribución: Familia que consta de 130 géneros y 1200 especies con distribución mundial en regiones tropicales y semitropicales, abundante en México. Esta familia tiene algunos géneros cuyos frutos son comestibles y también son usadas como ornamentales. Sin embargo también tiene 4 géneros que contienen malezas de cultivos básicos: *Echinocystis*, *Ciclantera*, *Cucurbita* y *Sicyos* (Rodríguez, 1985, citado por Rzedowski y Rzedowski, 1985).

#### 3.2 CARACTERISTICAS DEL GENERO *Sicyos*.

El género *Sicyos* presenta fundamentalmente 4 especies consideradas malezas sumamente agresivas: *S. angulatus*, *S. lacinata*, *S. parviflora* y *S. deppei* (Rodríguez y Porras, 1985).

*Sicyos deppei* G Don es una hierba trepadora, anual. Tallos ramificados de varios metros de largo, estriados glabros. Hojas con peciolo de 1 a 9 cm de largo, hirsutos, limbo ovado de 2 a 15 (20) cm de largo y de ancho, (3) 5 a 7 lobado o angulado, lóbulo terminal triangular-oblongo, ápice acuminado, márgenes serrulados, base profundamente cordada; inflorescencia masculina de 8 a 18 cm de largo. Flores con pedicelo de 5 a 12 mm de diámetro; inflorescencia femenina en glómérulos, sobre pedúnculos de 1 a 2 (3) cm de largo, flores en número de 5 a 12. Fruto triangular-ovoide, de 6 a 8 mm de largo, de color café o negro al madurar, con cerdas espinosas frágiles, caducas, de color amarillo, de 2 a 4 mm de largo, levemente tuberculado (esto sólo es visible cuando se han caído las espinas) (Rodríguez, 1985, citado por Rzedowski y Rzedowski, 1985).

La diáspora, de *S. deppei* es el fruto monospermico. Se entiende como diáspora a el o los embriones y el complejo orgánico acompañante que la planta separa de sí para su propagación (Font Quer, 1973) o como la unidad de diseminación que se asemejan a las semillas en el sentido funcional (Esau, 1982); para Daubenmire (1996) son las estructuras reproductoras que se desprenden, para su diseminación o transporte lejos de la planta madre, las cuales son morfológicamente variadas, siendo esporas, semillas, frutos, partes de frutos, grupos de frutos, toda la inflorescencia, bulbillos, fragmentos vegetativos de la planta madre, entre otras.

Kohashi-Shibata *et al.* (1990) estudiaron la biología de *S. deppei* y describen la planta como epígea, de crecimiento indeterminado y trepadora. Su fase vegetativa esta constituida por un tallo principal, con ramas de segundo y tercer orden con hojas y zarcillos; la fase reproductiva presenta inflorescencias monoicas. La longitud aproximada de una planta es de 8 m. y el número de frutos promedio es de 37, 000 por planta. Consideran que el hábito indeterminado voluble ("trepador") aunado al crecimiento rápido de esta maleza, le confiere una gran ventaja competitiva, de tal manera que las poblaciones de *S. deppei* que emergen aún después de la última escarda, llegan prácticamente a cubrir las plantas de maíz y agobiarlas.

La floración es acropéta, es decir, ocurre de la base hacia el ápice de la planta. La antesis ocurre en las inflorescencias masculinas uno o dos días antes que en las femeninas (androginia). Este fenómeno se presenta durante todo el periodo de floración y favorece la polinización cruzada. La polinización es entomófila.

El lapso desde la antesis de las flores femeninas hasta que los frutos adquieren una coloración café o negra, es de 24 a 26 días. La coloración se considera como indicio de madurez fisiológica. El fruto presenta cerdas frágiles y una vez maduro, se desprenden con facilidad.

El estudio más reciente relacionado con *Sicyos deppei* corresponde a un estudio taxonómico en el que Rodríguez (2001), realizó la revisión del Género *Sicyos* L. (Cucurbitaceae) en México, este estudio reconoce 17 especies del género *Sicyos* en México de las cuales 6 son nuevas para la ciencia (a continuación marcados por un \*), siendo éstos: *S. barbatus* (Gentry) C. Jeffrey; *S. bulbosus* Rodríguez-Arévalo, Dávila&Lira\*; *S. collinus* Rob.& Fern.; *S. cordifolius* Rodríguez-Arévalo Dávila& Lira\*; *S. davidiae* Rodríguez-Arévalo & Lira\*; *S. dieterleae* Rodríguez-Arévalo & Lira\*; *S. galeottii* Cong; *S. guatemalensis* Standl. & Steyer; *S. laciniatus* L.; *S. lirae* Rodríguez-Arévalo\*; *S. longisepalus* Cong; *S. longistaminatus* Rodríguez-Arévalo, Lira & Calzada\*; *S. microphyllus* Kunth; *S. motozintlensis* Lott & Fryxell; *S. parviflorus* Willd; *S. peninsularis* Brandege; *S. sertuliferus* Cogn.

De acuerdo al estudio de Rodríguez (2001) *Sicyos microphyllus* Kunth ha sido regularmente citada en estudios de biológicos, fisiológicos y embriológicos de México como *Sicyos deppei* (Alcázar, 1990; Brechú *et al.*, 1991; Kohashi-Shibata *et al.*, 1990; Ozuna, 1991; Zambrano, 1992; Zepeda, 1991), resalta que para su estudio fue necesario tomar decisiones importantes para la delimitación y asignación de nombres de varias de las especies revisadas.

En esta investigación se utiliza el nombre de *Sicyos deppei*, para la especie bajo estudio.

Las características taxonómicas descritas por Rodríguez (2001) para *Sicyos microphyllus* Kunth son:

Plantas herbáceas, rastreras y trepadoras, aparentemente anuales. Tallos delgados, ramificado, sulcados, escasa y densamente glandular-pubescente-vellosos, principalmente en los nudos. Hojas sobre pecíolos delgados, 0.4-24.0 cm de largo, sulcados, escasa a densamente glandular-pubescente-vellosos; lámina de consistencia papirácea, ocasionalmente membranacea, 1.5-19.5 cm de ancho, anchamente ovado-triangular, 3-7 angulada o superficial a profundamente lobada, lóbulos, anchos o angostos, de forma muy diversa, triangulares o lanceolados, el central fuertemente acuminado y más largo que los laterales, la lamina nunca crece doblada envolviendo con la superficie abaxial a los frutos de la misma axila, margen ligera a fuertemente serrulado-denticulado, superficies con tricomas cónicos, agudos, ligeramente recurvados, ocasionalmente la base blanca como calcificada, en la abaxial los tricomas de menor tamaño y las venas más resaltadas. Zarcillos con pedúnculos delgados, 1.6-6.0 cm de largo, sulcados, 3-5 ramificados, escasa a densamente glandular-pubescente-vellosos. Flores estaminadas dispuestas en racimos y panículas conspicuos, 3.6-40.7 cm de largo, generalmente más largos que la hoja adyacente, pedunculados, el pedúnculo 2.9-21.5 cm de largo, generalmente ascendente, escasa a densamente glandular-pubescente-velloso; pedicelos delgados, 3.0-22.0 mm de largo, generalmente ascendentes,

escasa a densamente glandular-pubescente-veloso; receptáculo anchamente campanulado, 0.7-1.7 mm largo, 1.1-2.7 mm de ancho; sépalos subulados a filiformes, nunca más largos que los pétalos, 0.2-2.0 mm de largo, 0.1-0.5 mm de ancho; pétalos 5-6, 1.2-3.5 mm de largo, 1.3-3.2 mm de ancho, triangulares a triangular-ovoide, amarillo-verdoso, superficie interna densamente cubierta por tricomas de ápice globoso, posiblemente glandulares, superficie externa glabra a escasamente vellosa; columna estaminal 2.7-3.5 mm de largo, ocasionalmente conspicuamente exertas, anteras en número indeterminado, completamente fusionadas formando una cabezuela globosa, tejas completamente arqueadas. Flores pistiladas numerosas, dispuestas en glomérulos, creciendo sobre un pedúnculo común, 0.6-2.0 cm de largo que se extiende hasta 5.5 cm en los frutos, escasa a densamente glandular-pubescente-veloso ovario ovoide, armado, escasa a densamente glandular-pubescente; receptáculo y perianto como en las estaminadas, solo que más reducido; columna de estilo y estigma 1.5-3.1 mm de largo, estigma generalmente 3 lobado, ocasionalmente 4 lobados, lóbulos redondeados, dilatados, triangulares, reflexos. Frutos secos, numerosos, triangular-ovoides 0.3-0.8 cm de largo, 0.2-0.6 cm de diámetro, densamente armados excepto hacia el ápice, ligera a fuertemente tuberculados al secar, pared del fruto delgada fuertemente adherida a la semilla, escasa a densamente vellosa, verde con máculas blancas hacia el ápice, tornándose a pardo clara a negra al secar; espinas muy numerosas, 0.2-7.5 mm largo, aciculares, antrosas, caedizas, retrobarbadas, amarillentas. Semilla ovoide, diminutamente tuberculada, pardo oscura.

Distribución geográfica. Más que cualquier otra especie del género, *S. microhyllus* prospera en zonas perturbadas donde la actividad humana es importante; es definitivamente la especie más tolerante a la perturbación. En la actualidad, salvo dos poblaciones pequeñas de *S. laciniatus* encontradas recientemente, es la única especie que crece abundantemente y vigorosamente en prácticamente toda la Ciudad de México y zonas aledañas. Se le encuentra principalmente a orillas de caminos canales y lagunas, en patios, bardas, terrenos baldíos, parques, camellones, chinampas y, de manera muy importante, como arvense en terrenos de cultivo, principalmente de maíz. Es una especie endémica de México, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Tlaxcala y Veracruz, entre los 1000 y 2900 msnm.

Fenología. Las plantas de esta especie se han recolectado de abril a enero, prácticamente todo el año, con todas sus estructuras.

Nombres comunes. "akarheni" (Michoacán, purépecha), "chayotillo" (Distrito Federal, Durango, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí), Ch'uma te'ch'óo" (Chiapas, tzeltal).

Usos. El rizoma en infusión es aplicado en la cabeza para evitar la caída del cabello (Oaxaca) y sus frutos machacados tres veces al día, aplicados en la piel, durante dos días, son utilizados para curar la sarna (Chiapas).

### **3.3 EMBRIOLOGIA DEL GENERO *Sicyos*.**

Para la familia Cucurbitaceae se han realizado algunos estudios embriológicos, principalmente en representantes con valor comercial (Kirwood, 1905; Singh, 1953; Puri, 1954; Singh, 1961 y Singh, 1965) y muy poco se ha hecho para los géneros perjudiciales desde el punto de vista agronómico (Lott, 1973; Singh y Dathan 1974; Orea y Engleman 1983).

Con respecto al género *Sicyos*, Singh (1953) reporta que *S. angulatus* tiene un óvulo anátropo, bitégmico, con placentación parietal, el cual se encuentra pendulado y el micrópilo está dirigido hacia el estigma. Su nucela es masiva; el tegumento externo tiene de seis a diez estratos celulares y este número se incrementa de 15 a 20 en la región del haz vascular. El haz vascular no se ramifica y atraviesa por el borde del tegumento externo. El tegumento interno está formado por dos a tres estratos celulares.

La cubierta seminal está formada por las siguientes capas derivadas del tegumento externo: epidermis, hipodermis, capa protectora (esclerenquimatosa) y aerénquima (con células clorofilicas). El tegumento interno degenera tempranamente, por lo que esta completamente ausente en la semilla madura.

Alcázar (1990) estudió el desarrollo de la semilla de *S. deppei* encontrando un óvulo que en la etapa de antesis es anátropo, bitégmico, sésil, con placentación parietal, la región micropilar queda orientada en dirección del estigma de la flor, saco embrionario pequeño y heptacelular, nucela persistente y cálaza amplia. El tegumento externo formado por: epidermis externa uniestratificada en la región calazal y central y biestratificada en la región micropilar, parénquima de ocho a nueve estratos celulares por donde corre el haz vascular no ramificado desde la rafe hasta cerca del micrópilo y epidermis interna uniestratificada. El tegumento interno consta de dos estratos de células y forma al micrópilo largo y ligeramente curvo hacia su región terminal.

La cubierta seminal en la semilla madura se forma exclusivamente por la diferenciación del tegumento externo y consta de dos regiones: la Exotesta y la Mesotesta. La primera formada por epidermis, hipodermis y una capa esclerenquimatosa de osteoesclereidas cuyas paredes tienen los engrosamientos más evidentes de la exotesta; la segunda región formada por tejido de reserva que a la madurez, es una zona de paredes celulares comprimidas con ligeros engrosamientos apreciables a microscopio electrónico de barrido; sus estratos



adyacentes a la cutícula nucelar contienen cloroplastos y forman una cubierta en forma de red alrededor del embrión y completamente adherida a él.

La nucela se desintegra conforme aumenta la cantidad de endospermo. En la semilla madura se encuentran de uno a tres estratos comprimidos de paredes celulares.

El desarrollo del endospermo es nuclear. En las semillas maduras persiste un estrato de células vivas, constituyendo una capa de aleurona.

La primera división del cigoto es transversal, las células apical y basal participan en la formación del cuerpo del embrión, a la madurez, un embrión ocupa la mayor parte del volumen de la semilla. Las células cotiledonarias contienen abundantes granos de proteínas, aceite y escasos granos de almidón.

En este trabajo se sugiere que la impermeabilidad de la semilla de *S. deppei* es impuesta por estratos de la testa de la semilla, siendo éstos:

- a) La capa esclerenquimatosa de osteoesclereidas cuyas paredes están engrosadas de manera diferencial. Las paredes tangenciales en forma de estalactitas están compuestas de polisacáridos insolubles, cutina y/o suberina y los engrosamientos de las paredes radiales tienen una composición más compleja de polisacáridos insolubles, correspondientes a taninos, cutina y lignina.
- b) Cutícula nucelar compuesta por polisacáridos insolubles y cutina.

### **3.4 *Sicyos deppei* COMO MALEZA.**

Se puede considerar como maleza cualquier planta que crece en un lugar en que no se desea. El término se aplica con mayor frecuencia a las plantas no cultivadas que emergen sin ser deseadas en tierras cultivadas, prados, pasturas u otras áreas usadas por el hombre. La mayoría de las malezas son prolíficas y persistentes (Boswell, 1984).

Las malezas son un grupo heterogéneo de plantas pertenecientes a diferentes familias botánicas, principalmente compuestas, gramíneas y en menor proporción quenopodios (Rzedowski, 1986). Para Espinoza (1981) comparten ciertas características que permiten agruparlas, correspondientes a:

- a) Alto potencial reproductivo
- b) Abundancia y disponibilidad en el banco de semillas
- c) Latencia generalmente prolongada (vida media mayor de dos años como semilla)
- d) Presencia de metabolitos secundarios

- e) Plasticidad
- f) Alto potencial de dispersión y de colonización

Ninguna de estas características puede definir por si sola una maleza, sino es el conjunto el que las delimita.

Baker (1974) considera que una planta es una maleza "si se encuentra en un área geográfica específica y sus poblaciones crecen predominantemente en situaciones con marcada perturbación ocasionada por el hombre, como es el caso de las áreas cultivadas".

Las malezas son plantas que afectan a los cultivos desde su establecimiento hasta su madurez fisiológica. Esto se debe principalmente a su capacidad proliferativa y a su resistencia a los cambios ambientales, así como a su persistencia en los campos de cultivo. La gran plasticidad fenotípica, edad y tamaño en la cual maduran las arvences influyen en la viabilidad de las semillas producidas. Como consecuencia, se presenta una cierta frecuencia de aparición de estas plantas y se dificulta su control (Harper, 1960, citado en Duke 1985).

El suelo de los terrenos de cultivo constituye un reservorio de un número elevado de semillas de malezas que se entierran y permanecen latentes durante temporadas variables de tiempo, las cuales pueden ser muy largas. Estos reservorios son conocidos como bancos de semillas.

Las semillas pueden permanecer en el banco en estado latente hasta que se presenten las condiciones ambientales que rompan dicho estado y estimulen el proceso de germinación (Harper, 1977, citado en Zambrano, 1992).

Con respecto a los terrenos de cultivo de maíz, para obtener rendimientos máximos resulta imprescindible el control mecánico o químico de las malezas debido a que estudios realizados demuestran que cuando las malezas sólo poseen entre 15 y 20 cm de altura, ya han reducido el rendimiento del maíz en un 7.3% de la cosecha.

La competencia por los nutrimentos no es el único efecto perjudicial de las malezas, ya que éste se minimizaría aplicando cantidades suficientes de fertilizantes para satisfacer las necesidades del maíz y las malezas, con lo que se permitiría el crecimiento normal del grano. Pero las malezas compiten también por agua y luz. En años secos, el agua absorbida por las malezas reduce seriamente los rendimientos del maíz. Además, cuando las malezas crecen libremente se necesita una cantidad tan grande de fertilizante para compensar el déficit que, en el mejor de los casos, tal práctica resulta peligrosa y bastante desfavorable la mayoría de las veces. Si a las malezas se les permite crecer durante varias

temporadas, se suma una enorme cosecha de semillas de malezas, lo que multiplica el problema para los años siguientes (bancos de semillas).

Las malezas que comienzan a crecer después de la última labor cultural le dan un mal aspecto al campo, pero no perjudican tanto los rendimientos como las que crecen cuando el Maíz todavía es pequeño. El mayor daño que provocan las malezas que crecen desde temprano se debe especialmente a que compiten durante toda la estación. Las malezas que inician su crecimiento después de la última labor cultural compiten sólo durante una parte de la estación. Además las de iniciación tardía tienden a proyectar sombra sólo sobre las hojas inferiores del maíz que ya están parcialmente sombreadas por las hojas superiores del propio cultivo (Aldrich y Leng, 1974).

En México, en los cultivos de Maíz se han detectado más de 390 especies de malezas pertenecientes a 52 familias en las diversas zonas productoras (Agundis, 1984). *Sicyos deppei* es una de éstas malezas, la cual se ha reportado en nueve Estados del País: Michoacán, Querétaro, Valle de Toluca, Estado de México, Valle de Tlaxcala, Guanajuato, Jalisco, Hidalgo, Puebla y Veracruz. Se desarrolla significativamente en caminos y cultivos principalmente de maíz, frijol, cebada y trigo (Zepeda, 1988).

Así por ejemplo, en el Distrito 04 de Querétaro, donde se siembran 40.000 hectáreas de maíz, *S. deppei* aparece con una frecuencia de 21.4, siendo una de las principales especies de malezas de hoja ancha presentes en los cultivos de maíz (Zepeda, 1991).

En cultivos experimentales de maíz, la emergencia y desarrollo de *S. deppei* afecta el rendimiento de la cosecha hasta en un 33%, reducción estadísticamente significativa en el rendimiento del grano del maíz en relación al testigo. La reducción del rendimiento esta directamente relacionada con la disminución significativa en la longitud y diámetro de las mazorcas (Zepeda, 1988).

Varios autores coinciden que las malezas a nivel mundial son una de las principales causas de la disminución del rendimientos del maíz, al igual que en otros cultivos, debido a que compiten por agua, luz solar nutrimentos y bióxido de carbono; segregan sustancias alelopáticas; son albergue de plagas y patógenos, dificultando su combate y, finalmente, obstaculizan la cosecha, bien sea ésta manual o mecanizada (Rodríguez, 1972; Rodríguez 1981; Ennis, 1976; Shaw, 1978; Mercado y Manuel, 1978; Sibuga y Bandeen, 1978, citado en Fontana *et al.* 2000; Alvarez y Rodríguez 1986 y Cruz *et al.*, 1998).

### 3.5 LATENCIA EN LAS SEMILLAS DE *S. deppei*.

*S. deppei* cumple con casi todos los atributos asignados a las malezas (Espinosa, 1981). Se sabe que sus semillas son duras e impermeables al agua (Zepeda 1988, Cruz 1989, Brechú *et al.*, 1992) y que poseen latencia innata también conocida como latencia primaria.

De acuerdo a Roberts (1972, citado en Murray 1984) latencia es el estado en el que una semilla viable no puede germinar cuando se encuentra en condiciones normalmente consideradas adecuadas o favorables para su germinación.

La latencia primaria previene la germinación durante el desarrollo y maduración de la semilla sobre la planta madre y usualmente también dura algún tiempo después de su dispersión y cosecha (Karssen, 1980, 1981, citados en Murray 1984).

Las causas de la latencia son muchas y variadas (Roberts, 1972; Mayer y Poljakoff-Mayber, 1975; Copeland, 1976; Nikolaeva, 1973, citados en Murray, 1984). Algunas de éstas son:

- Impermeabilidad de la cubierta seminal al agua y gases.
- Inmadurez del embrión.
- Requerimientos especiales de temperatura y luz.
- Presencia de inhibidores.
- Restricciones mecánicas al crecimiento y desarrollo del embrión o a la extensión de la radícula en la germinación.

La latencia en algunos casos puede ser causada por uno o más factores que operen simultáneamente.

Las semillas con cubiertas impermeables representan una forma de latencia primaria. Cuando la semilla tiene sólo latencia primaria, ésta puede suspenderse o eliminarse para su germinación a través de controlar algunas condiciones como la humedad excesiva, luz prolongada, altas o bajas temperaturas, etc.

La latencia juega un papel muy importante en la supervivencia de las especies vegetales (Murray, 1984).

Cuando la infrutescencia de *S. deppei* se desprende de la planta madre en la madurez, ésta cae al suelo y poco a poco cada uno de los frutos que la forman se desprenden para constituir unidades de dispersión independientes. Estos frutos se encuentran en una etapa avanzada de deshidratación.

### **3.5.1 TIPOS DE LATENCIA EN SEMILLAS**

Vázquez *et al.* (1997) mencionan que una vez que la semilla ha completado su desarrollo se inician los cambios que darán lugar al establecimiento del reposo en las semillas (cuadro 1). Este reposo o reducción del metabolismo se denomina quiescencia cuando la causa de que no ocurra la germinación es fundamentalmente la falta de agua, como es el caso de las semillas almacenadas en condiciones artificiales, por ejemplo un frasco con frijoles en la alacena o las semillas que permanecen en los frutos unidos a la planta madre por largo tiempo. En cambio, el reposo de las semillas se denomina latencia cuando la semilla no germina a pesar de encontrarse en un lugar óptimo en cuanto a la temperatura y la humedad. Las causas por las que no germinan pueden deberse a la existencia de un periodo cronológicamente regulado de interrupción del crecimiento y de disminución del metabolismo durante el ciclo vital. Ésta es una estrategia adaptativa de supervivencia frente a condiciones ambientales desfavorables que se presenta en algunos seres vivientes. En las plantas superiores puede existir latencia o interrupción del crecimiento en el tejido meristemático, por ejemplo en las yemas de crecimiento de las ramas, así como en las semillas. El establecimiento de la latencia está regulado por factores hereditarios que determinan los mecanismos fisiológicos endógenos de las plantas, los cuales interactúan con factores del ambiente en el que las plantas crecen; esto da lugar, a la larga, a cambios evolutivos en las plantas. Entre las condiciones más importantes del ambiente se encuentran las variaciones climáticas de temperatura y humedad, las variaciones microclimáticas derivadas de aspectos fisiográficos y bióticos, como la calidad espectral de la luz y el termoperiodo, así como las características específicas del lugar a las que las plantas se han adaptado para establecerse y crecer. Las variaciones micro y macroclimáticas, así como las condiciones hormonales y nutricionales de la planta progenitora tienen gran influencia en el establecimiento de la latencia de sus semillas durante su desarrollo, por lo cual pueden existir variaciones entre cosechas de semillas de una especie, según la época y el lugar de producción.

#### **CUADRO 1. Pasos en el desarrollo del reposo en las semillas**

- 
- 1) Pérdida de agua (deshidratación)
  - 2) Diferenciación de la cubierta de la semilla
  - 3) Interrupción de la transcripción genética y de la síntesis de proteínas.
  - 4) Reducción de la respiración y de otras actividades del metabolismo inmediato
-

Se han definido varios tipos de latencia que en síntesis se presentan en el cuadro 2.

**CUADRO 2. Clasificación de los tipos de latencia de acuerdo con diferentes autores citados por Koslowski en 1972 (citado en Vázquez *et al.*, 1997).**

Crocker (1916)	Brenchley & Warrington (1930)	Bibbey (1948)	Harper (1957)	Sussman & Halvorson (1966)	Nikolaeva (1969). Schafer & Chilcote (1969)
Primaria	Natural	Inherente	Innata	Constitutiva	Endógena
Secundaria	Inducida	Ambiental	Forzada u Obligada, Inducida	Exógena	Exógena

### 3.5.1.1. LATENCIA INNATA O ENDÓGENA

Se presenta en el momento en el que el embrión cesa de crecer (cuando la semilla aún está en la planta madre) y continúa hasta que el impedimento endógeno cesa, en ese momento las semillas están en condiciones de germinar en cuanto se presentan las condiciones ambientales adecuadas.

La presencia de inhibidores químicos de la germinación en el embrión o la inmadurez de éste son probablemente las causas principales de esta latencia. La duración de la latencia innata es muy variable según la especie, en algunos casos, incluso puede variar entre las semillas de un mismo individuo. Algunos experimentos parecen indicar que en ciertas semillas tropicales existen procesos comparables a la posmaduración, característica de muchos árboles de climas templados, cuyas semillas sólo germinan después de haber transcurrido el invierno, de haber sido expuestas a bajas temperaturas en el laboratorio o mediante la aplicación de hormonas vegetales, como el ácido giberélico o almacenándolas en frío.

### 3.5.1.2. LATENCIA INDUCIDA O SECUNDARIA

Este tipo de latencia se produce cuando las semillas están en condiciones fisiológicas para germinar y se encuentran en un medio que presenta alguna característica muy desfavorable, como poco oxígeno, concentraciones de CO<sub>2</sub> mayores a las de la atmósfera, temperatura alta, etc., lo que puede producir alteraciones fisiológicas reversibles en las semillas. En estos casos, las semillas

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

pueden caer en un estado de latencia secundaria en el que ya no pueden germinar a pesar de continuar vivas. En algunos casos este tipo de latencia se rompe por medio de un estímulo hormonal. Algunas veces la latencia inducida también puede sumarse a otros tipos de latencia o sustituirlos.

### **3.5.1.3 LATENCIA IMPUESTA O EXÓGENA**

En la naturaleza esta latencia se presenta en semillas aptas para germinar en condiciones adecuadas de humedad y temperatura media, es decir, adecuadas al hábitat que ocupan, pero que continúan latentes por falta de luz, requerimientos especiales de temperatura, oxígeno o de otro factor. Esta latencia está controlada por las condiciones físicas del ambiente que rodea a la semilla, y se presentan en aquellas que se encuentran en el suelo y que germinan sólo después de una perturbación que modifique el régimen lumínico o el contenido de oxígeno (Vázquez *et al.*, 1997).

### **3.6. CONTENIDO DE AGUA EN LAS SEMILLAS.**

Con respecto al agua contenida en las semillas ésta se ha clasificado en tres categorías:

- a) Agua de absorción, que se encuentra en los espacios intragranulares y en los poros del tejido vegetal, mantenida por fuerzas capilares.
- b) Agua de adsorción, que se encuentra ligada al material por atracción molecular y por lo tanto más estrechamente unidas que el agua de absorción.
- c) Agua de composición, que esta químicamente unida a los elementos constitutivos de las semillas.

La gran relevancia de la humedad en el manejo de las semillas radica en que ésta es el factor más importante para su conservación, un alto contenido, favorece el desarrollo de insectos y hongos. También tiene efecto sobre los procesos fisiológicos de las semillas, de los que dependen la pérdida de vigor y viabilidad.

El contenido de humedad de las semillas se define como la cantidad de agua que contienen las semillas, expresándose en porcentaje. Este se puede calcular con base al peso húmedo o seco de una muestra, en investigación frecuentemente se usa el contenido con base en el peso seco (Moreno, 1984).

El contenido de agua de la semilla en desarrollo es similar al de cualquier tejido en activo desarrollo alrededor del 70 al 80%. Cuando la semilla alcanza el estado de madurez la cantidad de agua decrece rápidamente.

La cantidad de agua que permanece en la madurez depende de la especie de planta y de las condiciones en las cuales las semillas maduran.

Para muchas especies comerciales, el contenido de agua en las semillas es decisivo en el momento de su cosecha y durante su almacenamiento.

Las semillas que no tienen cubiertas impermeables al agua, se embeben o hidratan cuando se exponen al agua.

El grado y cantidad de imbibición influye en la germinación y ruptura de latencia y es gobernada por tres factores:

- 1) Propiedades de la semilla
- 2) Propiedades del suelo
- 3) Grado de contacto entre el suelo y la semilla

La imbibición final ocurre como resultado del equilibrio entre el potencial de agua del suelo ( $\psi$  SUELO) y el potencial de agua de la semilla ( $\psi$  SEMILLA) y es el potencial de agua del suelo el que determina el potencial final de imbibición en la semilla ( $\psi$  FINAL).

El grado final de imbibición de la semilla está influenciado por la compleja interacción de los factores físicos y químicos los cuales afectan cada uno de los tres componentes del potencial de la semilla.

El grado y velocidad de imbibición es controlado por la semilla para evitar un daño en ésta.

La rápida imbibición en semillas impermeables ocurre al remover o perforar la cubierta seminal (Duke, 1985).

Las variaciones del contenido de agua, influyen las actividades metabólicas de la semilla, incluyendo la respiración, la temperatura y su poder germinativo.

Aumentando la cantidad de agua en la semilla arriba del 10 al 15%, se activan fuertemente las enzimas de sus células. En las semillas almacenadas la intensidad de la respiración se aumenta al incrementar el contenido de agua hasta un 50%. La temperatura dentro de las semillas aumenta después de que la respiración se activa.



Si el contenido de agua es demasiado elevado, grandes cantidades de sustancias químicas, requeridas para el desarrollo, se utilizarán. Entonces las semillas serán incapaces de germinar cuando son colocadas bajo condiciones favorables.

Una pérdida muy elevada de agua en las semillas, también ocasiona la muerte. El contenido de agua óptimo almacenado en las semillas a 4.4 °C, ha sido determinado para las más importantes especies en la agricultura.

Aunque el contenido óptimo de agua almacenada y la capacidad de almacenamiento de agua puede diferir en semillas de diferentes especies, en cambio, la naturaleza universal de las enzimas que controlan el metabolismo en todas las células vivas, establecen límites estrechos de temperatura (Russell y Musil, 1979).

Así, los bajos contenidos de humedad en las semillas son vitales para mantener su vigor, longevidad y viabilidad. La vida promedio de las semillas impermeables al agua esta por arriba de los 16 años, como en *Albizia julibrissia*, 14 años en *Robinia pseudo-acacia* y de 10 años en *Acacia melanoxylon* (Moore y Moore, 1962; Kondo, 1929 y Cambage, 1928, citados en Murray ,1984).

Nerson (1991) estudió la germinación de semillas de cuatro frutos de cucurbitáceas cultivadas: pepino (*Cucumis sativus* L.); melón (*Cucumis melo* L.); sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) y calabaza (*Cucurbita pepo* L.), menciona que las semillas de cucurbitáceas normalmente maduran entre los 35 y 50 días postantesis (dpa) y que las semillas de pepino, melón y sandía alcanzan un 90% de germinación a los 35 dpa a 25 °C en obscuridad. Las semillas de calabaza requieren algunos días más para alcanzar altos porcentajes de germinación. Considera que la fermentación, lavado y secado (deshidratación) de las semillas son procesos importantes para mejorar la germinación de semillas inmaduras de pepino, melón y sandía.

La cubierta seminal en estas cucurbitáceas termina su desarrollo tempranamente con respecto al embrión y esto lo considera como un inhibidor importante de la germinación de semillas inmaduras, ya que, para la germinación, el embrión maduro tiene acumulada energía para romper la cubierta y un embrión pequeño o en desarrollo tendría dificultades para terminar esta misión. En este estudio se reporta un incremento en la germinación al remover la cubierta seminal.

La cubierta seminal de las cuatro especies alcanza su máximo peso seco a los 25 dpa mientras que sólo los embriones de melón y sandía alcanzan también su peso final.

Nelson (1991) propone que el potencial de germinación depende probablemente del tiempo de desarrollo del embrión. Los embriones de melón adquieren latencia antes de completar su maduración y los de sandía tienen una cubierta que inhibe su germinación, tal inhibición se va perdiendo al ir madurando la semilla.

De lo anteriormente expuesto se desprende la importancia que, para el posterior funcionamiento de las diásporas, implican los procesos que ocurren durante su deshidratación.

### 3.7 DESCRIPCIÓN DE LA DESHIDRATACIÓN NATURAL EN SEMILLAS.


En la gran mayoría de las semillas de zonas templadas el periodo de deshidratación es un proceso natural, entre el de desarrollo y el de germinación y esto supone que la pérdida de agua juega algún papel en el "encendido" de la actividad celular. La deshidratación es importante para adquirir la capacidad de germinación, esto ha sido reportado para cereales, soya y frijol entre otros.

Las semillas no toleran la deshidratación durante todos los estadios de su desarrollo (cuadro 3), por lo que hay estadios durante los cuales hay tolerancia a la deshidratación y otros en los que no hay tolerancia a ésta, a continuación se indican los estadios de tolerancia e intolerancia a la deshidratación descritos por Allison *et al.*, 1986.

**Cuadro 3. Grado de tolerancia a la deshidratación en diferentes estadios de desarrollo de la semilla.**

Grado de tolerancia de deshidratación	Estadios
I. Intolerancia a la deshidratación	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diferenciación de tejidos en donde ocurre una continua división celular.</li> <li>- Maduración, en donde ocurre la expansión celular e inicio del depósito de reservas.</li> </ul>
II Tolerancia a la deshidratación	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ocurre reducción del metabolismo</li> <li>- Depósito total de reservas</li> <li>- Se adquiere la etapa de reposo y la deshidratación ha ocurrido.</li> <li>- Algunas veces se adquiere latencia.</li> </ul>

Así, al transcurrir el desarrollo, la semilla adquiere a) la tolerancia a la deshidratación y b) la capacidad para la germinación.



La germinación puede ocurrir una vez que se adquiere el máximo peso seco, después de lo cual ocurre la pérdida de agua insitu.

La tolerancia a la deshidratación generalmente se adquiere después del estadio de maduración (fin del desarrollo) y después del depósito de reservas (proteínas, lípidos, fitína, entre otros), cuando se considera que la semilla está completa.

Las semillas son capaces de germinar después de una deshidratación prematura, sólo después de que ha ocurrido el depósito total de reservas.

No se sabe si las semillas adquieren la capacidad de germinación durante los estadios de desarrollo de intolerancia, porque sólo se ha estudiado la capacidad de germinación en semillas deshidratadas o prematuramente deshidratadas.

La deshidratación prematura durante los estadios de tolerancia suprime eventos metabólicos que son exclusivamente desarrollados en la naturaleza, los cuales están relacionados con la germinación. Por ejemplo, durante la deshidratación natural ocurre la síntesis de dos tipos de proteínas las requeridas para el desarrollo y las requeridas para la germinación, este cambio en el tipo de proteínas no ocurre cuando las semillas son deshidratadas durante algún estadio de intolerancia a la deshidratación.

La inducción de la deshidratación cambia la dirección del desarrollo para la germinación y también cambia el patrón de síntesis de proteínas. Esto se ha podido apreciar durante el desarrollo del endospermo, en el cual ocurre la síntesis de una proteína de almacenamiento, la lecitina y otras proteínas sintetizadas exclusivamente durante la maduración. Durante las primeras cinco horas de imbibición de semillas maduras deshidratadas ocurre la síntesis de proteínas similares a las producidas durante el desarrollo; después de doce horas y más tarde, ocurre la síntesis de proteínas únicas para la germinación y crecimiento, incluyendo enzimas presumiblemente involucradas directamente en el catabolismo de proteínas, lípidos almacenados para la postgerminación.

Durante la deshidratación existe una declinación de poliribosomas en algunas partes de la semilla (eje radícula hipocótilo del embrión) y están ausentes en los tejidos maternos secos.

Los ribosomas y ARNt son muy abundantes a través de la maduración y deshidratación y son un potencial activo en la semilla seca.

La deshidratación es el evento normal de término del desarrollo en la mayoría de las semillas y ésta está controlada por la planta madre y /o por los

tejidos que rodean al embrión, sin embargo, puede ser inhibida por alguna sustancia sintetizada por el embrión (ej. ácido abscísico). Así, hay algunas semillas que pasan naturalmente de la etapa de desarrollo al de germinación sin intercalar el periodo de deshidratación, ejemplos: semillas de manglares y las vivíparas tales como las de chayote. Se ha reportado que la reducción en los niveles de ácido abscísico esta involucrada en la germinación de éste tipo de semillas. El ácido abscísico puede aumentar durante la deshidratación natural y esto puede inducir la germinación precozmente.

Después de la deshidratación las células de la capa de aleurona son muy sensibles a la giberelina y esto esta asociado con la síntesis de  $\alpha$ -amilasa por estas células, tal sensibilidad se ha asociado con un arreglo en la composición de lípidos en respuesta a la deshidratación. Los cambios en el arreglo de la membrana de las células de aleurona sólo han sido apreciables en el periodo de tolerancia a la deshidratación. Finalmente se define como Tolerancia a la desecación la supervivencia que alcanza la semilla después de eliminar completamente el agua y mantener el vigor en el estado desecado (Allison *et al.*, 1986)

A continuación se tratarán las estructuras seminales que se modifican durante la deshidratación natural.

### **3.8 ESTRUCTURAS Y COMPOSICION DE LAS CUBIERTAS SEMINALES RELACIONADAS CON LA IMPERMEABILIDAD.**

En muchas semillas de plantas herbáceas, la latencia es impuesta por la cubierta o cubiertas que rodean el embrión. Estas cubiertas (cubierta seminal, cubiertas del fruto, endospermo) previenen la germinación al: 1) bloquear la entrada de agua al embrión; 2) limitar el intercambio de gases para la respiración; 3) bloquear la entrada de luz al embrión; 4) restringir mecánicamente la expansión del embrión y 5) prevenir la disminución de inhibidores para el embrión. Una o más de estas condiciones pueden ocurrir en una semilla impermeable.

Las cubiertas impermeables al agua representan un mecanismo de latencia efectivo. Este tipo de latencia ocurre en las familias, leguminosae, malvaceae, chenopodiaceae, solanaceae y otras.

Las semillas que presentan cubiertas impermeables al agua tienen una gran longevidad. Estas semillas, también llamadas "duras", responden a la escarificación de la cubierta seminal para la imbibición de agua y su germinación. La imbibición es un requisito para la germinación.

Hasta el momento no se conoce completamente el proceso fisiológico en el establecimiento de la impermeabilidad en las cubiertas de la semilla, pero es evidente que éstas llegan a ser impermeables durante los últimos estadios de desarrollo en la planta madre (Duke, 1985).

Hay investigaciones reportadas acerca de la localización y naturaleza de las barreras de entrada al agua al interior de la semilla, las que consideran que todos los sitios sobre la semilla que fueron aberturas tempranas (ej. hilio, micrópilo, calaza) durante el desarrollo podrían sellarse y desarrollar barreras impermeables aislando eficientemente el embrión maduro del agua externa (Werker, 1980,1981. en Roti *et al.*, 1987; Tran y Cavanagh, 1984, citado en Egley, 1990).

La barrera impermeable más significativa en la semilla es la cubierta seminal (Ballard, 1973; Quinlivan, 1971; Tran y Cavanagh, 1984; Rolston, 1978; Werker, 1980/81, citado en Roti *et al.*, 1987, citados en Egley, 1990).

Algunos sitios de la cubierta seminal han sido propuestos como sitios de impermeabilidad al agua y son:

- 1) El **estrato de células en empalizada**, el cual se encuentra en la mayoría de semillas duras de leguminosas y malváceas. Las células de este estrato tienen paredes densas y en ocasiones no se encuentra sólo en algunos lugares de la semilla (hilio, micrópilo, y región calazal). Este estrato varía en longitud, grosor y tamaño del lumen celular, dependiendo de su localización específica sobre la semilla. Este estrato de la cubierta seminal se considera una barrera importante para la difusión del agua debido al arreglo de las células y la composición de sus paredes impermeables al agua (Ballard, 1973; Quinlivan, 1971; Tran y Cavanagh, 1984; Rolston, 1978; Werker, 1980/81, citados en Egley, 1990; Ponce *et al.*, 1990 y Alcázar, 1990).
- 2) La **línea clara**, la cual se localiza en el estrato de células en empalizada ha sido propuesto como barrera a la difusión del agua. La línea clara se extiende a través de la porción superior del estrato de células en empalizada. La naturaleza de esta línea no es totalmente entendida, pero se propone su presencia u origen a partir del arreglo de los materiales depositados en las paredes radiales de las células en empalizada lo cual provoca diferencias en las propiedades de refracción de luz (Barton, 1965, citado en Egley 1990; Ballard, 1973; Rolston, 1978). La línea clara en las semillas duras de algunas especies de Malvaceas como *Sida spinosa* contiene material denso que no es digerido con celulasas y que restringe la difusión de algunas sales solubles en agua y colorantes (Egley y Paul. 1986; Egley *et al.*, 1985).

La línea clara y el estrato de células en empalizada pueden contribuir en cierto grado a la impermeabilidad, pero no son las únicas estructuras involucradas.

- 3) La **interfase entre la hipodermis y la capa de empalizada** en *Cuscuta campestris*, próxima a la línea clara y probablemente sintetizada por las células hipodérmicas y cuya composición probablemente de taninos (Hutchinson *et al.*, 1979).
- 4) La **cutícula** sobre la superficie de la semilla, intergumentaria y la nucelar pueden funcionar como una primera barrera a la difusión del agua y pueden actuar en combinación con otras barreras internas de la semilla (Alcázar, 1990; Ballard, 1973; Dell, 1980; Duke, 1985; Rolston, 1978; Riggio *et al.*, 1985; Tran y Cavanagh, 1989; Ponce *et al.*, 1990 y Valdovinos, 1992).
- 5) La **subepidérmis** en *Ipomoea purpurea* (L.) Roth se ha propuesto como una de las barreras relacionadas con su impermeabilidad por la presencia de lípidos, cutina o suberina y taninos en sus paredes celulares (Ponce *et al.*, 1990) y en *I. acuatica* cuyas paredes presentan depósitos de lípidos, cutina o suberina, taninos y pectinas (Valdovinos, 1992).
- 6) El **parénquima de la cubierta seminal** en *I. acuatica* el cual forma una capa de restos de paredes celulares con depósito de pectina (Valdovinos, 1992)
- 7) Los **restos del tegumento interno** constituidos por una capa hidrofóbica de restos celulares que rodea los residuos nucleares se ha considerado la barrera más importante a la difusión de agua en *Cercis siliquastrum* L.S. (Roti *et al.*, 1987)
- 8) La firme **adhesión de la cubierta seminal** al tejido subyacente (**cutículas, restos de nucela, perispermo, aleurona**) puede impedir el movimiento lateral del agua desde los sitios de entrada hacia el embrión (Powel, 1989). Las características de los tejidos que se encuentran por debajo de la cubierta seminal también pueden ser un factor en la impermeabilidad.

Vázquez *et al.* (1997) mencionan que a pesar de la gran diversidad y complejidad de estructuras y funcionamientos en las semillas es posible hacer algunas generalizaciones y señalar cuáles son las características de las semillas que más directamente afectan su longevidad potencial, ya que la longevidad ecológica, o sea la que se da en la comunidad natural, no solamente depende de la estructura de las semillas, sino de factores externos que pueden variar de un lugar a otro y afectar de diferente manera a una misma especie de semillas. Estas características intrínsecas son: la dureza e impermeabilidad de la testa o cubiertas de la semilla; el contenido de agua inicial con el que se disemina la semilla y el que se puede lograr disminuir por deshidratación sin matarla; la tolerancia a la temperatura de congelación del agua, ya que los cristales de hielo pueden alterar las células de la semilla; la naturaleza de la latencia, la tasa metabólica o

respiración mínima o interrumpida que se pueda alcanzar sin matarla; el tipo de reservas y su propensión al deterioro químico; el tipo de compuestos secundarios (sustancias que produce la semilla que pueden evitar la depredación o el parasitismo de éstas) y su ubicación dentro de las células de la semilla; la disposición del agua subcelular, o sea la que está unida a macromoléculas como proteínas, que forman las células; la composición de los lípidos (grasas) de las membranas celulares; la resistencia a la invasión de microorganismos y la resistencia al deterioro del material genético los cuadros, 4 y 5 integran los factores relacionados con la longevidad de las semillas y las estructuras y composición en relación con su viabilidad.

#### **CUADRO 4. Factores relacionados con la longevidad de las semillas**

- 1) Humedad al momento de la diseminación
  - A) Depende de la posibilidad de arreglo molecular y del Agua residual en el protoplasma de las células de la Semilla, este rearrreglo da lugar a la formación de la Estructura resistente a la desecación que reasume su Actividad vital al ocurrir la embibición.
- 2) Resistencia térmica al frío
  - A) Depende del contenido de humedad, de la naturaleza De las membranas y de la tolerancia del protoplasma Deshidratación al frío.
- 3) Tasa metabólica al momento de la diseminación
  - A) Depende de la posibilidad de interrumpir el metabolismo Respiratorio. Lo cual es factible en semillas con bajos Contenidos de humedad
- 4) Composición de las semillas
  - A) Tipo de las reservas y naturaleza de los lípidos De las membranas.
  - B) Tipo de compuestos secundarios en las vacuolas.
  - C) Dureza e impermeabilidad de la cubierta de la semilla

#### **Cuadro 5. Estructura y composición de las semillas y su relación con la duración de la viabilidad**

ESTRUCTURA Y COMPOSICION	MAYOR LONGEVIDAD
- Impermeabilidad de la cubierta	- Cubierta impermeable
- Contenido inicial de agua	- Bajo
- Tolerancia a la deshidratación	- Alta
- Tolerancia a las bajas temperaturas	- Alta
- Latencia	- Presente
- Tipo de reservas	- No lipídicas
- Resistencia a la invasión de microorganismos	- Presencia de compuestos secundarios
- Lípidos de las membranas celulares	- Ácidos grasos no saturados
- Resistencia al deterioro genético	- Alta
- Presencia de sustancias protectoras Dehidrinas, cristales de azúcar y algunos polipéptidos	- Presentes
- Tasa metabólica	- Baja
- Disposición del agua	- Unida a macromoléculas, es decir agua subcelular

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Sustancias químicas que sugieren ser las responsables de la restricción de la difusión del agua hacia el interior de la semilla son: ceras, cutina, suberina, lignina, calosa, quinonas y taninos (Rolston, 1978). La composición química de estas sustancias se conoce a partir de estudios de partes de la planta que no son la semilla.

**Ceras:** Constituidas por mezclas complejas de compuestos alifáticos, siendo mayoritarios los alcanos de número impar de carbonos (C29 y C31). Aparecen en la superficie de la cutícula, así como embebiendo las paredes cutinizadas y suberificadas (Azcón y Talón, 1996). Puede contener también ácido fático libre y cetonas de alto peso molecular e hidrocarburos. Es soluble en solventes no polares como el cloroformo. La cera se encuentra frecuentemente con una matriz de polímeros fenólicos, cutina o suberina (Kolattukudy, 1980).

**Cutina:** Es un biopoliéster consiste en su mayoría de ácido fático hidróxi y epoxí. Se encuentra normalmente sobre las superficies de las plantas. Sin embargo, éste puede ser detectada en algunas partes internas. La cutina se encuentra frecuentemente embebida en o sobre la superficie de la cera. La síntesis de la cutina es una función especial de las células epidérmicas de la planta y es el principal componente de la cutícula (Kolattukudy, 1980). Azcón y Talón (1996) la reportan como una mezcla compleja de ácidos grasos de 16 y 18 C, generalmente hidroxilados, siendo los grupos hidroxilo una porción significativa, esterificados con ácidos grasos o fenólicos como ferúlico o p-cumárico que da una compleja red tridimensional.

**Suberina:** es otro tipo de polímero con poliésteres similares a los de la cutina y con una matriz fenólica en ocasiones similar a la de la lignina. La suberina se encuentra casi exclusivamente en las partes internas de la planta y su depósito tiene una localización extracelular, sobre la membrana plasmática formando parte de la pared celular. La composición de la suberina no es totalmente conocida como la de la cutina o cera ya que la suberina está en estructuras internas y es difícil extraer sin contaminación como lignina o materiales similares (Kolattukudy, 1980). Azcón y Talón (1996) la describen como constituida por ácidos fenólicos esterificados a ácidos grasos de cadena larga (C14-C30), ácidos dicarboxílicos e hidroxiácidos.

Debido a sus propiedades hidrofóbicas, la suberina y cutina asociadas a las paredes celulares pueden hacer lenta o detener la difusión del agua a través de los tejidos.



**Compuestos fenólicos:** Los compuestos fenólicos como las quinonas pueden estar oxidados y formar productos insolubles (Werker *et al.*, 1979).

**Materiales pécticos:** Gruesas capas de en la cubierta seminal de algunas semillas han sido relacionadas con la impermeabilidad (Werker *et al.*, 1979).

**Ligninas y Calosa:** Existen dudas de que las ligninas y calosa sean las barreras principales de la impermeabilidad ya que se consideran barreras cuando están impregnadas con cutina o suberina. Por lo que es más común que la cera asociada con cutina o suberina sean las sustancias responsables con la impermeabilidad al agua en la semilla. Las ligninas son componentes de la pared celular de varios tipos de células vegetales, como fibras, vasos y traqueidas, constituyen del 20 al 30 por 100 del peso seco de la pared. Son grandes polímeros que se encuentran en forma de masas amorfas incrustadas en las fibras de celulosa, confiriendo rigidez a la pared, a la vez que protegen las células frente al ataque de patógenos (Azcón y Talón, 1996).

**Taninos hidrolizables (Tanoides):** Son derivados de los ácidos fenólicos, corresponden a polímeros de los ácidos gálico o elágico esterificados con azúcares. Algunos otros derivados fenólicos correspondientes a los ácidos cinámicos tales como el cinamoil, deriva de la cubierta de las semillas de numerosas especies vegetales, y actúan como inhibidores de la germinación (inhibición tegumentaria) Durante la germinación de las semillas estos compuestos captan oxígeno y se oxidan, disminuyendo de forma ostensible la tasa de respiración del embrión y en consecuencia el desarrollo de la plántula. Los taninos reaccionan con las proteínas salivales y las glucoproteínas de la boca ejerciendo un efecto astringente (Azcón y Talón, 1996).

### **3.9. LONGEVIDAD DE LAS SEMILLAS**

En el medio natural las semillas con testa impermeable y bajo contenido de humedad suelen ser muy longevas, como sería el caso de la especie de leguminosa encontrada en el permafrost, que se mencionó en párrafos anteriores, pero también pueden serlo algunas semillas de latencia fotoregulada que plenamente hidratadas pueden conservarse enterradas en suelos con una alta humedad estable, en condiciones de oscuridad total. Éste es el caso de las semillas de plantas arvenses de larga duración en el suelo. Su requerimiento de luz para germinar las mantiene latentes por mucho tiempo en condiciones de enterramiento, como las de muchas malezas que producen semillas fotoblásticas. En los almacenamientos a temperatura ambiental las semillas con testa dura de las leguminosas, malváceas, ninfáceas, etc., son las más longevas. En los almacenamientos óptimos a bajas temperaturas muchas familias como las crucíferas, las compuestas, las cariofiláceas, las solanáceas, las gramíneas y otras han demostrado tener una longevidad potencial extremadamente larga.

### 3.9.1 ECOLOGIA DE LA LONGEVIDAD.

En toda comunidad natural es posible encontrar especies con semillas de longevidad potencial muy larga y otras de longevidad corta, ya que la longevidad ecológica (y como consecuencia la potencial) está relacionada con varias características de las plantas que las producen (cuadro 6), como son: la historia de vida de la planta; la estacionalidad climática; la distancia temporal entre el periodo de fructificación y diseminación y el de germinación y establecimiento; el grado de discontinuidad en el hábitat, o sea que las plantas requieran para establecerse condiciones ambientales especiales que sólo aparecen esporádicamente en la comunidad en la que viven; el agente dispersor de las semillas, y los niveles de estrés ambiental y de presión de depredadores que sufre la semilla en el suelo, antes y durante la germinación. Debido a la complejidad de todos estos factores se mencionan sólo algunos ejemplos.

#### **CUADRO 6. Algunos factores ecológicos relacionados con la longevidad de las semillas**

1) Historia de la vida de la planta	Generalmente las plantas de ciclo de vida Corta poseen una longevidad más larga
2) Estacionalidad climática y separación entre el periodo de fructificación y el de germinación y establecimiento.	Climas marcadamente estacionales favorecen a especies con longevidad larga.
Grado de discontinuidad del hábitat de la especie.	Hábitat discontinuos favorecen la presencia de especies con semillas de longevidad larga.
Agente dispersor.	Algunas de las características de las semillas relacionadas con su dispersión pueden indicar la duración de la viabilidad, por ejemplo: semillas dispersadas por agua tienen testa dura y longevidad larga.
3) Presión de depredadores antes y durante la germinación.	Una alta presión reduce la duración de la longevidad ecológica
4) El nivel de estrés ambiental	La longevidad es más larga en especies de hábitat con mayor estrés.

Con respecto a la historia de vida, las plantas anuales, que tienen una estación de crecimiento corta y que sobreviven sólo en forma de semilla el periodo desfavorable del año, suelen producir semillas con una longevidad ecológica y potencial más larga que muchas de las especies perennes que comparten su hábitat, para las que existen varias oportunidades de reproducirse durante su vida.

Las semillas cuyo periodo óptimo de germinación está separado varios meses de la época de diseminación, como el caso de las especies que pueblan zonas del planeta con un clima estacional muy marcado, suelen tener longevidades ecológica y potencial más largas que aquellas que en el medio natural tienden a germinar de inmediato porque encuentran condiciones permanentemente favorables al caer al suelo. Con respecto a la discontinuidad del hábitat, mencionan a las plantas costeras que se diseminan por el agua de mar, que al tener estructuras de resistencia al agua marina y capacidad de flotación pueden tener longevidades ecológica y potencial muy prolongadas, en este segundo caso aun a la temperatura ambiente. Esto se debe a que estas plantas tienen una testa o cubierta protectora impermeable muy resistente que impide la entrada de agua salada a la semilla.

Las semillas de diseminación anemócora suelen tener bajos contenidos de humedad, ya que esta característica reduce el peso del propágulo, y como la baja humedad propicia la larga longevidad potencial frecuentemente se deshidratan y almacenan con facilidad. Tal es el caso de algunas especies tropicales de selvas húmedas como la balsa, las ceibas, el cedro rojo y la teca, que con frecuencia son las únicas semillas disponibles en los bancos de semillas del trópico húmedo.

En las selvas tropicales húmedas es frecuente que la germinación ocurra inmediatamente después de la diseminación. El estrés ambiental al que se ven sometidas las plántulas por la carencia de luz y a veces de nutrientes ha favorecido a las plántulas grandes, y por lo tanto a las semillas grandes. Éstas son fácilmente depredadas en este ambiente. Este conjunto de factores ha determinado que, por lo general, la longevidad ecológica y potencial de las semillas de estas comunidades sean muy breves, con excepción de las plantas que germinan y se establecen en los claros, o sea, que tienen un hábitat de establecimiento discontinuo en el espacio y en el tiempo (Vázquez *et al.*, 1997).

### **3.10 COLOR DE LA CUBIERTA SEMINAL RELACIONADO CON LA IMPERMEABILIDAD.**

El color de cubierta seminal ha sido relacionado con la impermeabilidad, pero un análisis de los resultados de diversas investigaciones muestra que éstos son contradictorios.

Slattery *et al.* (1982) concluyen que la coloración de la testa de *Trifolium subterraneum* esta asociada con la oxidación de fenoles por la actividad de la catecoloxidada, pero que el desarrollo de la impermeabilidad es independiente de éste proceso. Sin embargo, en *Glycine ussuriensis* y *Ononis sicula* existe una correlación positiva entre el color oscuro y la adquisición de la impermeabilidad. Se ha propuesto que la asociación entre el color de la semilla y la

impermeabilidad observada en algunas especies puede ser debida a la relación de los genes que contienen ambos caracteres.

Marbach y Mayer (1975, citado en Hutchinson *et al.*, 1979) reportan que en semillas de *Pisum* existe una relación entre la impermeabilidad al agua y la adquisición de su color castaño al formarse quinonas que interactúan con proteínas de las células. Ellos consideran que los taninos y las proteínas de adquisición la cubierta seminal puede imponer la impermeabilidad al agua de la semilla.

Además de relacionarse el color con la impermeabilidad, el primero se usa para determinar la madurez fisiológica de la semilla o frutos. Chamma *et al.* (1990) consideran que el parámetro visual (color) es relevante para planear la cosecha de vainas cerradas de *Phaseolus vulgaris* L. con semillas fisiológicamente maduras y reducir las pérdidas.

### **3.11 BANCO DE SEMILLAS DEL SUELO**

Vazquez *et al.* (1997) mencionan que el banco de semillas del suelo está formado por las semillas viables no germinadas presentes en éste, ya sea enterradas, depositadas sobre la superficie o mezcladas en la capa de hojarasca y humus. Frecuentemente hay gran cantidad de semillas latentes en la mayoría de los suelos, su número depende de factores como la historia, la diversidad y la dinámica de la vegetación que cubre cada suelo. Entre las muchas contribuciones que el naturalista británico Charles Darwin hizo a la biología está el hecho de que quizá fue el primero que escribió acerca del banco de semillas del suelo, en 1859:

No creo que los botánicos se hayan percatado de lo cargado que está el fango de los estanques de semillas. Yo he intentado varios pequeños experimentos sobre esto, pero expondré aquí solamente el caso más asombroso. En febrero yo tomé tres cucharadas de fango en diferentes lugares de un pequeño estanque, debajo del agua y a la orilla: al secar este fango pesó solamente pocas onzas; lo mantuve cubierto en mi estudio por seis meses, arrancando y contando cada planta que en él crecía. Las plantas fueron de muchas clases y fueron en total 537 en número, a pesar de que el viscoso fango sólo llenaba una taza.

El tiempo que las semillas permanecen latentes en el suelo antes de germinar, morir o ser atacadas por parásitos o depredadores está determinado por factores fisiológicos innatos y por las condiciones ambientales del lugar. Los bancos de semillas de diferentes especies varían en duración, de temporales a persistentes. En los primeros su duración corresponde al periodo de diseminación de una cosecha de semillas, en los segundos las semillas latentes de una especie siempre se encuentran en el suelo. Las semillas recién diseminadas tienen tres destinos diferentes en el suelo, que son: 1) la pronta germinación después de su

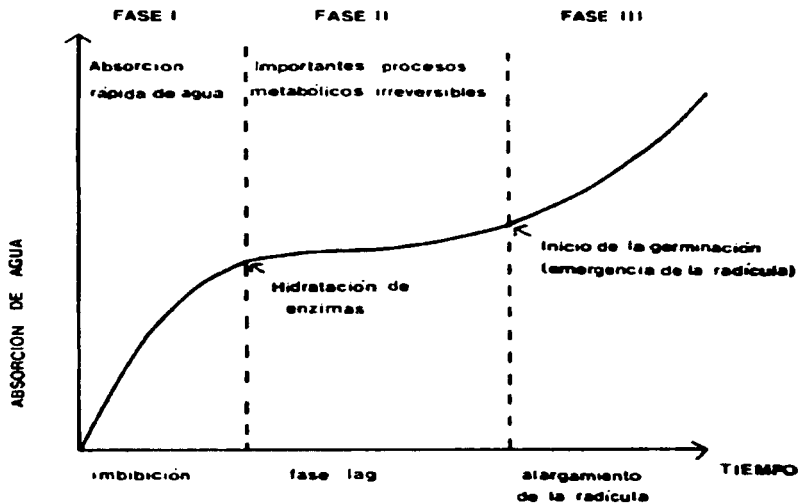
llegada al suelo; 2) un periodo de latencia que dura hasta que las condiciones ambientales son apropiadas para la germinación, y 3) la muerte por envejecimiento natural o por la acción de parásitos o depredadores. En el primer caso se forman solamente bancos de semillas relativamente efímeros correspondientes a la época de diseminación de las semillas de cada especie. En el segundo caso se forma un reservorio de semillas de duración más larga que permanece en el suelo hasta que un cambio ambiental interrumpe la acción del mecanismo que induce la latencia. Otra situación en la que se forman bancos de semillas permanentes se debe a la llegada continua al suelo de semillas de especies que presentan una ininterrumpida producción

Thompson y Grim (1981, citado en Duke, 1985) definen como banco de semillas a un gran reservorio de semillas en el suelo, el cual puede consistir de miles de semillas o diásporas por metro cuadrado y ser estas semillas o diásporas las que infesten los suelos en un futuro. Describe dos tipos fundamentales de bancos de semillas: Transitorio y Persistente en donde:

- 1) Los bancos de semillas transitorios contienen semillas que permanecen viables sólo por un año.
- 2) Los bancos de semillas persistentes contienen semillas que no germinan durante los primeros años después de su producción y que presentan latencia primaria o secundaria.

### **3.12. EL PROCESO DE GERMINACION.**

La germinación de las semillas comprende tres etapas sucesivas que se superponen parcialmente: 1) la absorción de agua por imbibición, causando su hinchamiento y la ruptura final de la testa (Gráfica 1); 2) el inicio de la actividad enzimática y del metabolismo respiratorio, translocación y asimilación de las reservas alimentarias en las regiones en crecimiento del embrión, y 3) el crecimiento y la división celular que provoca la emergencia de la radícula y posteriormente de la plúmula. En la mayoría de las semillas el agua penetra inicialmente por el micrópilo y la primera manifestación de la germinación exitosa es la emergencia de la radícula



**Gráfica 1. Etapas de la germinación que conducen a la emergencia de la radícula. Se inician con la absorción de agua y la activación metabólica del embrión.**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### **3.12.1 GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS EN EL SUELO**

La gran diversidad de las plantas se refleja en la multitud de posibilidades del desarrollo y la temporalidad de la germinación de las semillas de diferentes especies. Existen plantas que diseminan sus semillas cuando ya han germinado en el fruto; en el otro extremo, algunas semillas que son dispersadas están provistas de una dura testa impermeable que sólo permite la germinación después de muchos meses de desgaste.

Cuando llegan las semillas al suelo, el recurso clave para iniciar los cambios fisiológicos que conducen a la germinación es el agua, que resulta indispensable para activar el metabolismo y el crecimiento de las células vivas de los tejidos de las semillas. La cantidad de agua que absorbe una semilla y la velocidad a la que lo hace no sólo dependen de las características de la semilla, como la permeabilidad de sus cubiertas, la composición química de sus reservas, su tamaño y su contenido de humedad, sino que también están determinadas por condiciones ambientales como la humedad del suelo, la humedad del aire y la temperatura.

### **3.12.2 GERMINACIÓN RETARDADA POR UNA TESTA IMPERMEABLE**

Muchas semillas cuyo tegumento externo es duro impermeable al agua o a los gases, e incluso el micrópilo está provisto de una barrera que impide la penetración de agua al embrión. Esta característica es frecuente en las semillas de varias familias de plantas, particularmente en las fabáceas o leguminosas, las malváceas y bombacáceas.

En el suelo del bosque la cubierta de la semilla gradualmente se vuelve permeable por intemperismo, degradación microbiana, factores del suelo como las saponinas o por el efecto de fluctuaciones de temperatura, y va germinando poco a poco. Este mecanismo de latencia pasiva es particularmente frecuente en los bosques tropicales secos, y puede haberse originado como un mecanismo de persistencia de las semillas en el suelo a lo largo de la estación desfavorable de crecimiento.

Frecuentemente se dice que el tránsito a través del tubo digestivo de animales es uno de los factores principales que rompen este tipo de latencia entre las semillas que son dispersadas por animales. Sin embargo, muchas de las especies que presentan testa dura no son ingeridas por animales; otras, aunque sí sean ingeridas, son destruidas o no muestran mucha diferencia en su germinación antes y después de haber sido ingeridas por animales.

Las altas temperaturas también pueden romper los tegumentos. Esto ocurre frecuentemente durante los incendios o las quemas en los terrenos de cultivo, sobre todo en los trópicos. Los tegumentos también pueden cambiar su estructura después de ser expuestos a la insolación directa por periodos prolongados.

Es probable que muchas de las semillas resistentes al calor presenten tegumentos impermeables al agua, ya que las semillas contienen enzimas, nucleoproteínas y otras sustancias que se desnaturalizan con facilidad con el calor; estos compuestos son menos lábiles cuando están deshidratados, por lo que una testa impermeable impide que la semilla se embeba y por lo tanto queda protegida durante las quemas (Vázquez *et al.*, 1997).



#### **4. OBJETIVO GENERAL.**

**4.1** Observación de la adquisición de la impermeabilidad al agua de la diáspora (fruto monospórico) de *Sicyos deppei* G. Don (Cucurbitaceae) a nivel estructural, histoquímico y fisiológico durante su deshidratación natural

#### **OBJETIVOS PARTICULARES.**

**4.1.1.** Delimitación de las etapas de deshidratación de la diáspora a través de criterios morfológicos externos y su contenido de humedad.

**4.1.2.** Determinación del tiempo de deshidratación de la diáspora de *Sicyos deppei* G. Don, en condiciones naturales de desarrollo.

**4.1.3.** Determinación del porcentaje de germinación durante las etapas de deshidratación de la diáspora.

**4.1.4.** Determinación de la cantidad de agua absorbida por las diásporas durante las distintas etapas del periodo de deshidratación.

**4.1.5.** Seguimiento estructural e histoquímico del desarrollo del fruto en las distintas etapas de deshidratación.

**4.1.6.** Análisis de la micromorfología del fruto durante su deshidratación.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **5. MATERIAL Y METODOS**

### **5.1. ZONAS DE ESTUDIO.**

Para realizar el presente estudio se seleccionó un terreno de 5 X 35 m situado en la zona suroeste de la Ciudad de México, conocida como Pedregal de San Angel, en el cual se encontró creciendo naturalmente una población abundante de plantas de *S. deppei*.

Esta población se utilizó para determinar los periodos de deshidratación de los frutos.

Una segunda zona de estudio correspondió a terrenos de cultivo de maíz invadidos por *Sicyos deppei* situados en San Pedro Atocpan, Delegación Milpa Alta, D.F. (19°11'N,99°02'W) En esta zona se recolectaron infrutescencias para las pruebas de contenido de humedad, germinación, absorción, anatomía e histoquímica, *Sicyos deppei* es una maleza de crecimiento indeterminado con un ciclo relativamente corto (115 - 180 días después de la emergencia), pero caracterizado por un gran crecimiento vegetativo que se prolonga hasta la producción diásporas maduras deshidratadas (Zambrano, 1992).

### **5.2. DETERMINACION DE LAS ETAPAS DE MUESTREO DE LOS FRUTOS DE *S. deppei* G. DON.**

A partir de observaciones periódicas de las plantas en el campo se pudieron delimitar cuatro etapas distintas de desarrollo durante el periodo de deshidratación natural de los frutos de *S. deppei*. En las etapas seleccionadas se observan cambios macromorfológicos evidentes en el color y la morfología externa, parámetros que permitieron hacer eficiente el trabajo de campo durante la colecta para posteriormente aplicarles las pruebas de contenido de humedad, germinación, absorción, anatomía e histoquímica.

El color de los frutos en las cuatro etapas se comparó con la Tabla de Colores de Kornerup y Wascher (1978). Los parámetros morfológicos externos a través de la observación a simple vista de los frutos, fueron los siguientes: turgencia del pericarpio, morfología de la base de las espinas, color y flexibilidad de las espinas.

Las cuatro etapas muestreadas , iniciaron con frutos con semilla madura hidratada y terminan con frutos con semilla madura deshidratada.

De esta manera se constituyeron cuatro grupos que representan cuatro etapas diferentes en el proceso de deshidratación de la diáspora de *S. deppei* y se referirá a ellas como EI =Etapa I, EII =Etapa II, EIII =Etapa III y EIV = Etapa IV.

Las características macromorfológicas utilizadas para diferenciar en el campo y laboratorio las cuatro etapas de deshidratación de los frutos de *S. deppei* se presentan en el cuadro 7, correspondientes a: color, turgencia, base de las espinas protuberantes, espina aserradas y abundancia de los tricomas.

**CUADRO 7. Características macromorfológicas de las cuatro etapas de deshidratación de frutos de *Sicyos deppei*.**

ETAPAS DE DESHIDRATACION	COLOR (Kornerup y Wanscher,1978)	ASPECTOS MACROMORFOLOGICOS
EI	VERDE OSCURO 28F8	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Gran turgencia</li> <li>➤ Base de las espinas protuberantes y sosteniendo a una espina retorso-serradas, amarilla y flexible.</li> <li>➤ Tricomas largos y delgados abundantes.</li> </ul>
EII	VERDE GRISACEO O PARDO 30C6	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Mediana turgencia</li> <li>➤ Base de la espina con una zona oscura la cual sostiene una espina retorso-serradas, café poco flexible al tacto.</li> <li>➤ Tricomas largos y delgados escasos</li> </ul>
EIII	CASTAÑO AMARILLENTO 5F4	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Poco turgencia</li> <li>➤ El color amarillento es el mejor parámetro para esta etapa.</li> <li>➤ Sin tricomas</li> <li>➤ Espina retorso-serradas sin flexibilidad, no se desprenden fácilmente.</li> </ul>
EIV	NEGRO 8F2 Y CASTAÑO OSCURO 7F4	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Sin turgencia (secos)</li> <li>➤ Color negro característico.</li> <li>➤ Espinas retorso-serradas rígidas que se desprenden fácilmente al tacto.</li> </ul>

E I, corresponde a frutos que contienen una semilla madura hidratada.

E II y III, corresponden a frutos con estadios más avanzados de deshidratación de la diáspora.

E IV, corresponde a frutos que contienen una semilla madura deshidratada.

### **5.3. DETERMINACION DE LOS PERIODOS DE DESHIDRACION NATURAL DE LOS FRUTOS.**

Infrutescencias de diferentes plantas de *S. deppei* correspondientes a antesis y las cuatro etapas de deshidratación establecidas mediante su morfología externa, se marcaron durante los meses de octubre y noviembre de 1991.

Las etiquetas contenían los siguientes datos: fecha del día marcado y etapa de desarrollo determinada por sus características morfológicas externas correspondiente a: Antesis, EI, EII, EIII y EIV.

Los cuatro periodos entre las etapas marcadas fueron:

- De Antesis a Etapa I (EI)
- De Etapa I a Etapa II (EII)
- De Etapa II a Etapa III (EIII)
- De Etapa III a Etapa IV (EIV)

Se evaluaron las infrutescencias marcadas cada dos días en las etapas de Antesis a la Etapa II y diariamente entre las Etapas II a IV.

### **5.4. COLECTA DE INFRUTESCENCIAS.**

Se recolectaron de plantas diferentes de *S. deppei* G. Don infrutescencias de las cuatro etapas de deshidratación, durante los meses de Octubre y Noviembre de 1991. Las plantas se encontraban invadiendo cultivos de Maíz de la localidad San Pedro Atocpan, México, Distrito Federal.

Para realizar la colecta de cada una de las etapas de deshidratación de los frutos en las plantas de *S. deppei*, se consideraron los parámetros de turgencia, color, morfología y flexibilidad de las espinas retorso-serradas antes mencionados. Las infrutescencias recolectadas se transportaron al laboratorio dentro de bolsas de polietileno y en una hielera a  $\pm 4$  °C.

## 5.5 TECNICAS DE LABORATORIO.

**5.5.1 Contenido de Humedad.** De cada una de las cuatro etapas de deshidratación EI, EII, EIII y EIV, se tomó una muestra de 2500 frutos, los cuales se aislaron de la infrutescencia y seleccionaron aquellos aparentemente sanos y sin daños mecánicos. Cada muestra se dividió en 50 grupos de 50 frutos cada uno, los cuales se colocaron en cajas de aluminio de cinco cm de diámetro, después de tapar y pesar las cajas en una balanza analítica, se sometieron a desecación por calor en una estufa a  $103 \pm 2$  °C durante 300 min, se pesaron grupos de cinco cajas cada 30 min en la balanza analítica previamente enfriadas por 20 min. en un desecador con silicagel, para obtener la curva de humedad. El cálculo del contenido de humedad se hizo mediante la siguiente fórmula (Moreno 1984):

$$\frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_1} \times 100 = \% \text{ de humedad (con base en peso húmedo)}$$

en donde:

P1= Peso en gramos de la caja y su tapa

P2= Peso en gramos de la caja, tapa y los frutos antes de la desecación

P3= Peso en gramos de la caja, tapa y frutos después del periodo de secado.

**5.5.2 Pruebas de Germinación.** Para obtener los resultados de germinación se empleó el método de las "muñecas" elaboradas con hojas de papel absorbente (Moreno, 1984). Se emplearon hojas de papel de 27 X 22 cm.

De cada una de las cuatro etapas de deshidratación se tomó una muestra de 250 frutos la cual se dividió en 10 grupos de 25 frutos cada uno, cinco de estos grupos de frutos se escarificaron mecánicamente. La escarificación se realizó perforando la parte central de la región calazal de la semilla que corresponde con la porción del fruto que se une con el pedicelo de la infrutescencia. Para conocer la profundidad a la cual debía realizarse la perforación, se cortaron longitudinalmente cinco frutos de cada una de las cuatro etapas de deshidratación y se sacó un promedio de la profundidad para cada una de ellas marcándolo en la punta del alfiler. La perforación atravesó aproximadamente los estratos celulares del pericarpio y exotesta. Todos los frutos se desinfectaron con una solución acuosa de Captán 50 al 0.2% antes de colocarse sobre las hojas de papel para hacer las "muñecas" (Moreno, 1984).

Las "muñecas" se elaboraron con cuatro hojas de papel, dos debajo de los frutos colocados en cinco líneas, cada una con cinco frutos y se cubrieron con dos hojas más. Una vez cubiertos los frutos con las hojas de papel húmedas con Captán 50 al 0.2%, se doblaron hacia arriba 2 cm de la parte basal para evitar la salida de los frutos y se enrollaron.

Las "muñecas" húmedas que contenían los frutos, se colocaron verticalmente dentro de bolsas de polietileno para evitar la pérdida de humedad. Las bolsas se colocaron en charolas plásticas, en condiciones de oscuridad a  $25 \pm 2$  °C durante 35 días.

Se humedecieron las "muñecas" cada tercer día con 20 ml de la solución de Captán 50 al 0.2%.

Se registró la germinación cada tres días en las etapas correspondientes EI, EII y EIII y diariamente en E IV. Se consideró como fruto germinado aquel que tuviera la radícula salida a través de la cubierta seminal (Mayer y Poljakoff-Mayber 1975, citado en Zambrano, 1992). A los frutos que no germinaron se les aplicó la prueba de tetrazolio al 0.5% para verificar su viabilidad. Se consideró viable aquella semilla que contuviera rojo al menos 2/3 partes del área cortada incluyendo siempre al eje radícula hipocótilo y su unión con los cotiledones.

**5.5.3 Prueba de Absorción de Agua.** Para determinar la posibilidad de incorporar agua y cuantificarla en las semillas de cada una de las cuatro etapas establecidas, se tomaron muestras de 150 frutos de cada una de las etapas y se colocaron en una bolsa de malla plástica cuyo peso fue de 2.63 g. La bolsa de malla con los frutos se colocó en un vaso de precipitado con 500 ml de agua destilada y se realizaron lecturas del peso en una balanza analítica cada 15 min toda vez que se extraía la bolsa de malla con los frutos y se le quitaba el exceso de agua con una toalla de papel absorbente, el tiempo muestreado fue de 125 min.

El promedio de absorción de agua se obtuvo a partir de la diferencia entre :

$$P1 - P2 = \text{absorción (ml)}$$

P1= Peso de los frutos menos el peso de la bolsa de malla

P2= Peso de los frutos transcurrido el tiempo de absorción menos el peso de la bolsa de malla.

Se convirtió la unidad de gramos a mililitros; considerando que a temperatura ambiente, la densidad del agua es de  $1.00 \text{ g/cm}^3$  y que de acuerdo a la unidad SI derivada de volumen es el metro cúbico ( $\text{m}^3$ ):  $1 \text{ ml} = 1 \text{ cm}^3$  (Umland y Bellama, 1999).

Un promedio de diez frutos de las Etapas I (14 a 17 dpa),II (25 dpa) y III (31 dpa) se inbibieron en una solución acuosa al 1.6% de colorante artificial verde para alimentos (McCormick), por 15, 30, 60, 120 , 180, 240 y 300. Transcurrido cada uno de los tiempos se les secó con papel absorbente el exceso de solución y se les practicaron cortes a mano con navaja de doble filo, observándose inmediatamente los cortes al microscopio fotónico American Optical, mod. Phase Star, y la obtención de fotografías fue a través de un fotomicroscopio Zeiss.

## **5.6. ANATOMÍA E HISTOQUÍMICA.**

**5.6.1. Anatomía.** Se fijaron frutos de las cuatro etapas de deshidratación natural en FAA. (formalina, ácido acético, etanol 96%, agua, 2:1:10:7).

Las muestras fijadas se deshidrataron en alcoholes graduales (50, 70, 90, 100, 100 %), 3 h en cada cambio y se incluyeron en parafina de acuerdo al método de Johansen (1940) con las siguientes modificaciones para la mejor infiltración de los frutos:

- a) El medio de inclusión fue Paraplast plus.
- b) A los frutos se les hizo un corte longitudinal transmediano que los dividió en dos porciones de diferente tamaño.
- c) Omisión del paso de parafina-xilol-1:2.

Se obtuvieron cortes seriados de 8  $\mu\text{m}$  de grosor, en el plano transmediano y transversal, por medio de un microtomo de rotación American Optical mod. 820.

Los cortes desparafinados y deshidratados de las cuatro etapas de muestreo se tiñeron con la técnica doble safranina-verde fijo, para observar la estructura celular así como con fuccina básica y verde de metilo (Curtis, 1986) que tiñe de púrpura rojizo los tejidos lignificados y verde y azul los tejidos celulósicos.

**5.6.2 Histoquímica.** En cortes desparafinados y deshidratados se realizaron las siguientes pruebas histoquímicas, para detectar y localizar productos químicos que pudieran intervenir en la impermeabilidad de los frutos durante las diferentes etapas de su deshidratación natural.

**5.6.2.1 Acido peryódico - reactivo de Schiff (A:P:S)** (E:M.Engleman, com. pers).-Tiñe de color rosa intenso o magenta los polisacáridos insolubles.

**5.6.2.2. Permanganato de potasio (KMnO<sub>4</sub>)** (E.M. Engleman, com. pers.) .-Tiñe de color pardo oscuro los taninos y otros compuestos susceptibles a la oxidación.

**5.6.2.3. Rojo O de aceite** (E.M. Engleman, com. pers.).-Tiñe de color rojo la cutina y las grasas.

**5.6.2.4 Fluoroglucina - ácido clorhídrico** (E.M. Engleman, com. pers.).- Tiñe de color rojo violáceo la lignina.

**5.6.2.5 Rojo de rutenio** (Curtis, 1986).- Tiñe de color rosado a rojo las sustancias pécticas.

**5.6.2.6 Azul Negro de Naftol** (Fisher, 1968).- Tiñe de azul las reservas protéicas.

**5.6.2.7 Sulfato férrico** (Johansen, 1940).- Tiñe de café los taninos hidrolizables.

## **5.6 MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (M.E.B).**

Para complementar las características macromorfológicas observadas en cada una de las cuatro etapas, se realizó el estudio del fruto a través del Microscopio Electrónico de Barrido, Joel JMS-35. El material fue preparado de la siguiente forma:

**5.7.1** Se deshidrataron frutos completos de cada una de las cuatro etapas de deshidratación natural en una serie de alcoholes graduales (50, 70, 90, 100 y 100%) 3h en cada cambio, posteriormente se hizo un cambio de 15 min en acetona al 100%.

**5.7.2** Se colocó el material deshidratado para desecar en una rejilla y de esta forma a la cámara de presión Chamber C.P.A. II, para llevar las muestras a punto crítico del CO<sub>2</sub>.

**5.7.3** En estas condiciones los frutos se montaron en cilindros metálicos (portamuestras), con tintura de plata, dándoles la orientación adecuada.

**5.7.4** Se llevó el cilindro con los frutos a la cámara de ionización, Joel JFC- 1100, donde fueron sometidos a un baño fino de oro durante 8 min.

**5.7.5** Se colocó el cilindro con el material en el microscopio electrónico de barrido y se obtuvieron las fotografías respectivas.

## **5.8. FOTOMICROGRAFÍAS.**

Las observaciones y análisis de los cortes seriados y teñidos se realizó en un microscopio fotónico American Optical, mod. Phase Star, y la obtención de fotografías fue a través de un fotomicroscopio Zeiss.



## 6. RESULTADOS

### 6.1 PERIODOS DE DESHIDRATACIÓN NATURAL DE LOS FRUTOS DE *S. deppei*.

El cuadro 8 muestra los resultados de los días de desarrollo que transcurren entre cada una de las cuatro etapas de deshidratación de los frutos de *S. deppei*.

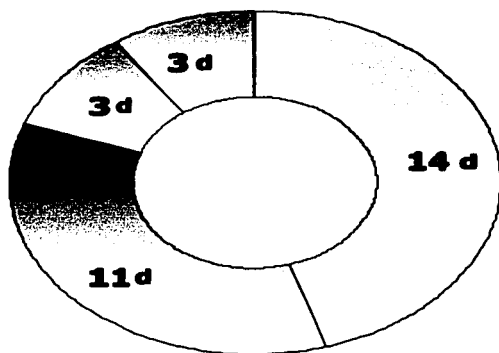
#### CUADRO 8. Periodos de deshidratación natural de la diáspora de *S. deppei* G. Don.

PERIODOS (E = ETAPA)	NUMERO DE FLORES Y FRUTOS MARCADOS	DIAS DE DESARROLLO POSTANTESIS (dpa)
Antesis EI	156	14
EI EII	156	25
EII EIII	180	28
EIII EIV	156	28-31
TOTAL	648	31
Antesis EI	156	14
EI EIV	168	29
TOTAL	324	29
Antesis EIV	180	28

La Gráfica 2 señala los días de desarrollo que transcurren entre las cuatro etapas de deshidratación diferenciadas para su estudio, éstos muestran que existe un periodo de hasta 31 días de desarrollo a partir de la antesis hasta el fruto deshidratado.

Transcurren de hasta 17 días entre la etapa EI (Fruto con semilla madura hidratada) a la Etapa E IV (Fruto con semilla madura deshidratada). LAMINA I, figuras 1 - 4.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



### Periodos

- |                          |              |
|--------------------------|--------------|
| <input type="checkbox"/> | Antesis - EI |
| <input type="checkbox"/> | EI-EII       |
| <input type="checkbox"/> | EII-EIII     |
| <input type="checkbox"/> | EIII-EIV     |

d= días.

**Gráfica 2.** Periodos de deshidratación natural de la diáspora de *S. deppel*.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### **6.1.1 CAMBIOS MACROMORFOLOGICOS EXTERNOS DEL FRUTO DURANTE LA DESHIDRATACIÓN NATURAL DE *S. deppei* AL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (M.E.B).**

Al observar frutos procesados para microscopía electrónica de barrido se apreciaron detalles de las estructuras de la morfología externa de las cuatro etapas de deshidratación, las cuales permitieron detallar las características macromorfológicas consideradas para cada una de las etapas.

La secuencia de los cambios ocurridos en el fruto durante su deshidratación natural es:

- 1.- Disminución del volumen del fruto.
- 2.- Cambio en la morfología de la región apical del fruto que corresponde a la región micropilar de la semilla. LAMINA II, figuras 6 y 7.
- 3.- Colapso de las células epidérmicas del pericarpio. LAMINA III, figuras 8 - 10.
- 4.- Evidencia de "cicatrices" correspondientes a los sitios de desprendimiento de los tricomas largos y delgados en la superficie del fruto deshidratado. LAMINA III, figuras 9 y 10.
5. Presencia de estomas de tipo paracíticos (estoma acompañado de una o más células subsidiarias paralelas al eje longitudinal del poro y células guarda) y ciclocíticos (estoma acompañado de células subsidiarias periféricas al poro y células guarda) (Gifford y Foster, 1989). LAMINA III, figuras 8 -10.
- 6.- Colapso de la base de los tricomas largos y delgados. LAMINA IV, figuras 11 y 12.
- 7.- Disminución del número de tricomas largos y delgados. LAMINAS I y II, figuras 1, 2 y 5.
- 8.- Disminución del diámetro de la base de las espinas retorso - serradas. LAMINAS IV y V, figuras 13 - 16.

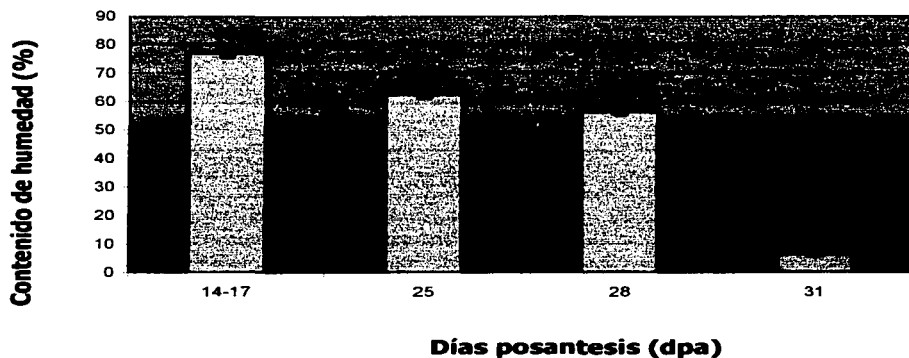
### **6.1.2 CONTENIDO DE HUMEDAD DE LOS FRUTOS DE *S. deppei* EN LAS ETAPAS DE DESHIDRATACION EI (14-17 dpa), EII (25 dpa), EIII (28 dpa) y EIV (31 dpa).**

Cuando una semilla alcanza su estado de madurez fisiológica (ha terminado su desarrollo) la cantidad de agua que contiene decrece hasta que se deshidrata, conteniendo en la época de dispersión, un bajo contenido de humedad.

El propósito de la prueba de secado en estufa a  $103 \pm 2$  °C fue determinar el porcentaje de humedad para cada una de las etapas utilizadas en este estudio.

Es claro que la etapa EI (14-17 dpa), la cual corresponde al fruto maduro hidratado contiene un porcentaje mayor de humedad y por consecuencia pierde más humedad durante la prueba, comparada con las tres etapas restantes y así sucesivamente hasta llegar a la etapa EIV (31 dpa) en la cual el porcentaje de humedad es mínimo.

La curva de cuantificación del contenido de humedad realizada para las cuatro etapas de deshidratación, indicó que bajo las condiciones utilizadas en este experimento la etapa EI (14-17 dpa) contiene un 77.09 % de humedad, EII (25 dpa) del 62.59 %, EIII (28 dpa) del 56.49 % y EIV (31 dpa) del 6.694 % a los 180 min de secado en estufa a  $103 \pm 2$  °C, tiempo en el cual se estabiliza la pérdida de agua; es decir ya no hay cambios en el contenido de humedad debido a que sólo se tiene materia seca, por lo que a éste tiempo de secado se realizaron las pruebas estadísticas (Gráfica 3).



**Gráfica 3.** Relación entre el contenido de humedad y el tiempo de desarrollo de las diásporas de *S. deppel* durante su periodo de deshidratación natural.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

El análisis de varianza y rango múltiple aplicado a los resultados de muestra que existe una diferencia altamente significativa ( $F_{(3,19)} = 2667.173$ ,  $P_0 0.00001$ ) entre las Etapas con respecto al contenido de humedad (Cuadro 9). Así EI presenta un contenido de humedad significativamente mayor con respecto al de las Etapas II, III y IV.

**CUADRO 9. Análisis de varianza y análisis de rango múltiple para el contenido de humedad de las diferentes etapas de deshidratación de las diásporas de *Sicyos deppei* desarrolladas en campo y a los 180 min de deshidratación en estufa a  $103 \pm 2$  °C**

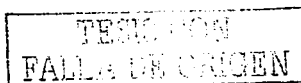
Metodo: intervalos hsd de Tukey al 95%

FV	S.C	G.L	CM	F	NS
Entre grupos	14037	3	4679.249	2667.173	0.00001
Dentro de grupos	28.070	16	1.754		
TOTAL	14065.817	19			

ETAPA	PROMEDIO	ERROR ESTANDAR	GRUPOS HOMOGENEOS
EI (14-17dpa)	77.09	1.55	A
EII (25 dpa)	62.59	1.37	B
EIII (28 dpa)	56.49	1.05	C
EIV (31 dpa)	6.69	0.78	D

La deshidratación de los frutos de *S. deppei* no es un proceso uniforme con respecto al numero de días de desarrollo posantesis. De los 14 a los 28 dpa (de EI a EIII) el contenido de humedad perdido de los frutos es del 20.6% , sin embargo, es de los 28 a los 31 día (de EIII a EIV) cuando se tiene el fruto maduro y deshidratado, listo para su dispersión, que el contenido de humedad perdido, en tan solo tres días, es del 49.82%.

La pérdida total de humedad de un fruto de *S. deppei*, cuya etapa inicial contiene 77.09% de humedad y cuya etapa final contiene 6.694% de humedad es del 70.42%.



## 6.2 DETERMINACION DEL MOMENTO EN EL QUE SE ESTABLECE LA IMPERMEABILIDAD AL AGUA.

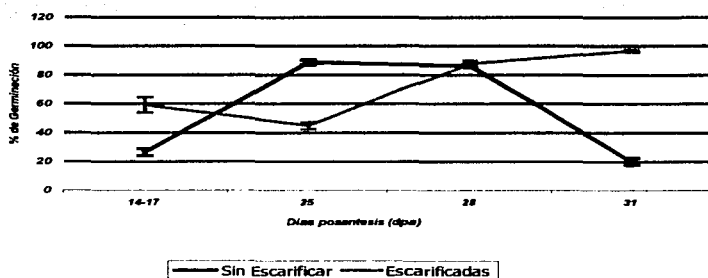
### 6.2.1 PORCENTAJE DE GERMINACION DE LAS ETAPAS EI (14-17 dpa), EII (25 dpa), EIII (28 dpa) y EIV (31 dpa).

Las diásporas maduras deshidratadas de *S. deppel* son impermeables al agua, haciéndose necesaria la escarificación mecánica para su germinación (Zepeda, 1988; Cruz, 1989; Brechú *et al.*, 1992; Osuna, 1994).

Para determinar el momento en el que se establece la capacidad de germinación y el establecimiento de la impermeabilidad al agua se realizó la prueba de germinación en las diferentes etapas establecidas (Gráfica 4).

Comparando los porcentajes de germinación de frutos no escarificados con los de escarificados se pudo determinar que:

- De los 14 a los 17 dpa (EI) los frutos no escarificados germinaron un 26.4% y los escarificados un 59.2%.
- A los 25 dpa (EII), los frutos no escarificados germinaron en un 88.8% y los escarificados 44.8%.
- A los 28 dpa (EIII), los frutos no escarificados germinaron en un 86.4% y los escarificados en un 88%.
- A los 31 dpa (EIV), los frutos no escarificados germinaron en un 20% y 96.8% los escarificados.



**Gráfica 4.** Germinación a  $25 \pm 2$  °C de diásporas no escarificadas y escarificadas de *S. deppel* en diferentes etapas de desarrollo durante su deshidratación natural.

TESTE CON  
FALLA DE ORIGEN

Se evaluó la viabilidad de aquellos frutos que no germinaron mediante la prueba de tetrazolio.

Se consideraron frutos "muertos" aquellos que se encontraron vacíos, es decir contenían pericarpio y cubierta seminal pero no embrión. También aquellos cuyo embrión apareció en estado de descomposición, cuadro 10.

Los frutos no escarificados a los 31 dpa (EIV) tienen un alto porcentaje de viabilidad (68%). Los porcentajes de frutos no viables fueron bajos ( $\geq$  al 12%).

Los porcentajes de frutos escarificados "muertos" entre los 14 y 25 dpa (EI y EII) fueron del 37.6% y 34.4% respectivamente, correspondiendo a los valores más altos.

**CUADRO 10. Porcentajes de frutos viables, no viables y muertos en las diferentes etapas de deshidratación No escarificados (NO ESC) y Escarificados (ESC).**

ETAPA (en días posantesis. dpa)	FRUTOS					
	VIAIBLES (%)		NO VIAIBLES (%)		MUERTOS (%)	
	NO ESC.	ESC.	NO ESC.	ESC.	NO ESC.	ESC.
EI (14 - 17)	36	1.6	16	1.6	21.6	37.6
EII (25)	4.8	9.6	3.2	11.2	3.2	34.4
EIII (28)	5.6	7.2	2.4	1.6	5.6	3.2
EIV (31)	68	0	12	0	0	3.2

Al integrar los valores porcentuales de los frutos muertos y los no viables, considerándolos conjuntamente como frutos no viables e integrar los valores de las semillas viables y las germinadas, considerándolos como frutos viables se obtienen los valores reportados en el cuadro 11.

**CUADRO 11. Porcentajes de frutos viables y no viables de *Sicyos deppei* en cada una de las etapas estudiadas.**

ETAPA	FRUTOS NO ESCARIFICADOS				FRUTOS ESCARIFICADOS			
	GERMINADAS	VIAIBLES EN TETRAZOLIO	SEMILLAS VIAIBLES	NO VIAIBLES	GERMINADOS	VIAIBLES EN TETRAZOLIO	SEMILLAS VIAIBLES	NO VIAIBLES
EI	26.4	36.0	62.4	37.5	59.2	1.6	60.8	39.2
EII	88.8	4.8	93.6	6.4	44.8	9.6	54.4	45.6
EIII	86.4	5.6	92.0	8.0	88.0	7.2	95.2	4.8
EIV	20.0	68.0	88.0	12.0	96.8	0.0	96.8	3.2

El cuadro 11 permiten notar que no hay diferencias entre la viabilidad de los frutos no escarificados de EII (25 dpa), EIII (28 dpa) y EIV (31 dpa).

Así como que la diferencia más evidente en los frutos viables escarificados es en EII (25 dpa) con 54.4 % de frutos viables, mostrando que esta etapa no presenta cubierta impermeable y es muy susceptible a la entrada de agua sin control al alterárseles la cubierta seminal.

Con respecto a los frutos escarificados, no escarificados y no viables los valor de 37.6 % y 39.2 % para EI (14-17 dpa) en frutos no escarificados y escarificados respectivamente así como del 45.6% en EII (25 dpa) podría indicar con mayor probabilidad que el embrión estuviera aun inmaduro o que hubiera algún inhibidor endógeno.

Los resultados de viabilidad en EIII (28 dpa) permiten interpretar que la cubierta seminal continua siendo permeable y la maduración del embrión ha vuelto al fruto más resistente al libre paso de agua por la cubierta.

Para EIV (31 dpa) la alta viabilidad de los frutos no escarificados y escarificados comparada con su germinación permiten reconocer la influencia del mecanismo de escarificación de la cubierta seminal para favorecer la imbibición y con ello su germinación.

Si bien se registró la germinación cada tercer día, la germinación se inicia en momentos diferentes entre cada una de las etapas estudiada, al igual que varia entre ellas el número de días en los cuales puede llegar a ocurrir la germinación; para la Etapa IV se registró la germinación diariamente. El cuadro 12 incluye el tiempo de germinación de cada una de las etapas de deshidratación de frutos no escarificados y escarificados.

**CUADRO 12. Tiempo de germinación de cada una de las etapas de deshidratación de frutos No Escarificados (NO ESC) y Escarificados (ESC).**

ETAPA (en días posantesis, dpa)	Inicio de la Germinación (días postsiembra en "muñecas")		Tiempo maximo de Germinación (días postsiembra en "muñecas")		Tiempo promedio de mayor Germinación (días postsiembra en "muñecas")	
	NO ESC.	ESC.	NO ESC.	ESC.	NO ESC.	ESC.
EI (14-17)	15	5	35	30	1-3*	13
EII (25)	5	6	35	30	8	8
EIII (28)	3	4	31	31	7	5
EIV (31)	1	1	29	18	1**	8

\* La germinación durante tiempo promedio es de 1 a 3 frutos.

\*\* La germinación ocurre en el tiempo promedio de un fruto por día.



Se realizó un conjunto de análisis de varianzas (ANOVA) capturando los datos de los tratamientos EI 14-17, EII 25, EIII 28 y EIV 31 dpa tomando los valores de germinación cada 5 días (día 5, día 10, 15, 20, 25, 30 y 35), para conocer si en el transcurso del proceso había diferencias. Se separaron los datos en dos grandes grupos: escarificados y no-escarificados y se les aplicó a cada uno un ANOVA.

Los resultados de los frutos **escarificados** se reportan en el cuadro 13.

**CUADRO 13. Resultados del ANOVA de los frutos escarificados de *S. deppei*.**

Tratamiento	Grados de Libertad	Valor de F	Nivel de Significancia
Días postantesis (14-17, 25, 28 y 31)	3	249.058	0.00001
Días 5, 10-35	6	68.836	0.00001
Total	139		

El ANOVA indica que sí hay diferencias significativas tanto en los tratamientos de días postantesis como en el de días de germinación.

El Análisis de rango múltiple (cuadro 14) mostró para los tratamientos de días postsntesis, que hay diferencias entre las cuatro etapas.

**CUADRO 14 Análisis de rango múltiple entre las cuatro etapas de deshidratación de los frutos escarificados de *S. deppei*.**

Tratamiento	Media del Valor Transformado			
EII (25 dpa)	35.35	X		
EIII (28 dpa)	46.94		X	
EI (14-17 dpa)	74.07			X
EIV (31 dpa)	74.73			X

El análisis indicó que la germinación de 25 dpa fue la menor y fue diferente a la de 28 dpa, la cual la superó; esta última a su vez fue menor que la obtenida en los tratamientos de 14-17 y de 31 dpa. Estos dos últimos fueron los que alcanzaron mayor germinación y no hay diferencias entre ellos.

El análisis de rango múltiple mostró para los tratamientos de días de germinación, que hay diferencias y estas se muestran en el cuadro 15.

**CUADRO 15. Análisis de rango múltiple para los tratamientos de días de germinación entre las etapas estudiadas de deshidratación de los frutos escarificados de *S. deppei*.**

Días de germinación	Media del Valor Transformado			
5	28.01	X		
10	54.20		X	
15	61.50			X
20	63.67			X
25	65.55			X
30	65.67			X
35	65.78			X

En donde se muestra que la menor germinación es en el días 5. La germinación en el día 10 fue mayor a la del día 5, pero inferior al resto de los días; y del día 15 al 35 no hubo diferencias significativas

Los resultados de la ANOVA de los frutos **No-Escarificadas** se presentan en el cuadro 16.

**CUADRO 16. Resultados del ANOVA de los frutos No escarificados de *S. deppei*.**

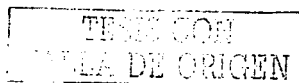
Tratamiento	Grados de Libertad	Valor de F	Nivel de Significancia
Días postantesis (14-17, 25,28 y 31)	3	9.692	0.00001
Días 5, 10-35	6	2.958	0.0102
Total	139		

El ANOVA indica que sí hay diferencias significativas tanto en los tratamientos de días postantesis como en el de días de germinación.

El Análisis de rango múltiple mostró para los tratamientos de días postsntesis, que hay diferencias y estas se presentan en el cuadro 17.

**CUADRO 17. Análisis de rango múltiple para los tratamientos de días postsntesis en frutos No escarificados entre las etapas estudiadas de deshidratación de los frutos de *S. deppei*.**

Tratamiento	Media del Valor transformado		
EI (14-17 dpa)	17.41	X	
EIV (31 dpa)	17.98	X	
EII(25 dpa)	57.89		X
EIII (28 dpa)	69.11		X



El cuadro 17 muestra que la germinación de 14-17 y de 31 dpa fue menor y diferente a la obtenida en 25 y 28 dpa

El análisis de rango múltiple mostró para los tratamientos de días de germinación, que hay diferencias y estas se incluyen en el cuadro 18.

**CUADRO 18. Análisis de rango múltiple para los tratamientos de días de germinación en frutos no escarificados de *S. deppel*.**

Días de germinación	Media del Valor Transformado		
5	13.94	X	
10	23.86	X	
15	33.55	X	X
20	42.02	X	X
30	47.65	X	X
35	48.64	X	X
25	74.54		X

Aquí el día 25 es cuando se obtuvo el valor más alto, el cual es diferente a los días 5 y 10

**6.2.2. ABSORCIÓN DE AGUA EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE DESHIDRATACIÓN.**

La entrada de agua a una semilla madura y deshidratada es un proceso indispensable para desencadenar la germinación.

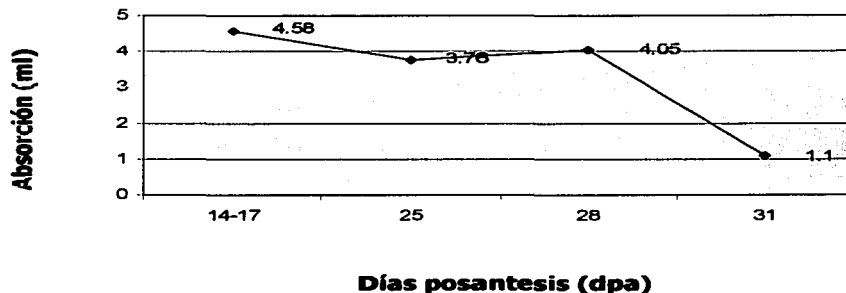
La prueba de absorción de agua por las diásporas de *S. deppel* en las diferentes etapas de deshidratación natural complementó los resultados para determinar el momento del establecimiento de su impermeabilidad al agua.

A los 125 minutos de la prueba las etapas de deshidratación presentaron diferencias en la cantidad de agua absorbida.

La Gráfica 5 evidencia el hecho de la disminución de la capacidad de absorción de agua a partir de los 25 dpa (3.76 ml), la cual se acentúa después de los 28 dpa (1.1 ml).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Estos resultados se correlacionan directamente con los de germinación y apoyan los resultados obtenidos en ésta. El hecho de disminuir la capacidad de absorción es un indicador del inicio del establecimiento de la impermeabilidad al agua a partir de los 25 dpa y su establecimiento total después de los 28 dpa. a partir de los cuales la germinación en frutos no escarificados es muy baja (20 % a los 31 dpa) y su capacidad de absorción también (1.1 ml a los 31 dpa).



**Gráfica 5.** Absorción de agua de 150 diásporas de *S. deppel* en diferentes etapas de deshidratación natural, alcanzada a los 125 min, en condiciones de imbibición.

El cuadro 17 describe las observaciones de los cortes de los frutos colocados en la solución acuosa al 1.6% de colorante verde artificial para alimentos, lo cual permitió reconocer los sitios por los que se mueve el agua para la imbibición de los frutos y desencadenar con ello la germinación, así como determinar la etapa en la que el movimiento del agua es menor o nulo, con base en los tejidos teñidos.

Considerar que los haces vasculares del pericarpio corren a través de los estratos centrales del parénquima sin un arreglo definido y que el parénquima está formado por 15 a 20 estratos celulares y los primeros 10 estratos contienen amiloplastos parietales abundantes en EI (14-17 dpa), el desarrollo del mismo se describe ampliamente en el punto 6.3.1 de esta sección.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**CUADRO 17. Tejidos teñidos por la solución acuosa al 1.6% de colorante artificial para alimentos en las etapas estudiadas de deshidratación de frutos de *S. deppoi* de los 15 a los 300 min de imbibición.**

Etapa (en días posantesis. dpa)	Tiempo de imbibición (min)	Regiones y Tejidos del Fruto Teñidos, indicados por una X											
		Región micropilar						Región central				Región calazal	
		Pr.	HVPr	T.H	Ep.Ex	Es.	Mt.	CC.	Pr.	HVPr.	Ep.Ex	Es.	Mt.
E I (14-17)	15	X	X										
	30	X	X					X	X				
	60		X										
	120	X	X							X	X		
	180	X	X							X	X		
	240	X	X							X	X		
	300	X	X		X		X			X	X		
E II (25)	15												
	30												
	60	X	X										
	120	X	X	X	X					X	X		
	180	X	X	X	X					X	X	X	
	240	X	X	X	X		X						
	300	X	X	X	X		X			X	X	X	
E III (28)	15												
	30												
	60	X								X			
	120	X								X			
	180	X						X		X			
	240	X	X										
	300	X	X					X		X			

Pr. Pericarpio  
 HVPr. Haz Vascular del Pericarpio  
 T.H Tejido Hilar  
 Ep.Ex Epidermis de la Exotesta  
 Es. Esclerenquima  
 Mt. Mesotesta  
 CC. Células del Cotiledón

El cuadro 17 permite destacar los sitios en cada una de las etapas de deshidratación estudiadas en los que llegó a ocurrir la entrada de agua en la que se disolvió el colorante teniéndose que es por la región micropilar por la que en cualquiera de las Etapas de deshidratación (EI, EII y EIII) hubo entrada de agua durante los primeros 60 min de imbibición, participando los tejidos del pericarpio y sus haces vasculares como los sitios de principal vía de entrada; al transcurrir el tiempo fue la región calazal del pericarpio la que permitió el acceso de agua a través de los tejidos del pericarpio y su haz vascular principalmente.

Una marcada diferencia en los sitios de absorción de agua se presentó entre EI (14-17 dpa) y EIII (28 dpa) así como entre EII (25 dpa) y EIII (28 dpa) con respecto a los tejidos involucrados en la absorción de agua y el tiempo transcurrido, teniéndose que:

En EI (14-17 dpa), hay absorción de agua desde los 15 min de imbibición por la región micropilar hacia la región central a los 30 min. Para a los 120 min, se realizó la entrada de agua por la región calazal, hasta los 240 min sólo por los tejidos del pericarpio y sus haces vasculares, para los 300 min de imbibición llega el agua a la epidermis de la exotesta y a la mesotesta de la región micropilar. Este resultado es muy importante ya que estaría mostrando la posibilidad de entrada a la cubierta seminal por los tejidos permeables y evidenciando los tejidos impermeables al agua (capa de esclerenquima, cutícula nuclear) para lograr la imbibición del embrión, además de evidenciar los sitios a los que inicialmente debe llegar el agua para desencadenar la germinación. Debe retomarse que la mesotesta es apreciable en las semillas deshidratadas como una cubierta verde, la cual contiene cloroplastos ( ver su descripción en el punto 6.3.2.2 y LAMINAIX, figuras 34 y 35.).

En EII (25 dpa) la absorción de agua ocurre a partir de los 60 min de imbibición por la región micropilar mientras que en E III la absorción de agua ocurre a partir de los 60 min de imbibición por la región micropilar y la calazal. En EII desde los 120 min hasta los 300 min de imbibición participan varios tejidos como el pericarpio, sus haces vasculares, el tejido del hilio y la epidermis de la exotesta, mientras que es hasta los 180 min de imbibición que en E III sólo llega el agua a las paredes colapsadas y compactadas del pericarpio de la región micropilar y calazal e incluso la central. Esto evidenciaría que muy probablemente EII (25 dpa) es una etapa enfocada a procesos no relacionados con la latencia por cubiertas impermeables, sino a los relacionados con latencia endógena embrionaria y de depósito de sustancias contra agentes microbianos, ya que es esta etapa que se inicia el depósito de taninos en el pericarpio y mesotesta así como la síntesis de proteínas de reserva.

La absorción de agua en EII (25 dpa) a los 240 y 300 min de imbibición por la región micropilar hacia la mesotesta evidencia la importancia del tejido hilar para el acceso a ese tejido y esquivar la capa de esclerenquima impermeable al agua. El hecho de no mostrarse absorción de agua hacia el embrión a los 300 min de imbibición evidencia la importancia de la cutícula nuclear como barrera impermeable.

Fue muy claro que aun después de 300 min de imbibición los frutos de *S. deppei* en EIII (28 dpa), no hay entrada de agua más allá de las paredes colapsadas y compactadas del pericarpio de las regiones micropilar, central y calazal y que la entrada de agua ocurrió por los haces vasculares del pericarpio más que por las cicatrices resultado del desprendimiento de los tricomas; es probable que estos sitios se encuentren obstruidos por sustancias impermeables como la cutina o bien que sea tal el colapso de las células que impida esta función a las cicatrices que son muy evidentes al microscopio electrónico de barrido. LAMINA III, figuras 9 y 10.

### **6.3 ANATOMIA E HISTOQUIMICA ASOCIADAS CON LA IMPERMEABILIDAD AL AGUA.**

A continuación se describen los cambios anatómicos ocurridos durante los periodos de deshidratación (EI, EII, EIII y EIV), los cuales se observaron en cortes longitudinales transmedianos de la región calazal (Ca), central (Ce) y micropilar (Mi) de la semilla y el fruto.

#### **6.3.1. Fruto: Pericarpio.**

**EI (14-17 dpa).**-Formado por tres tipos de tejidos, epidermis, parénquima y haces vasculares.

La **epidermis** rodeada por una cutícula evidente (reacción positiva al rojo O de aceite, rojo de rutenio y A.P.S), presenta dos tipos celulares: células isodiamétricas de diferentes tamaños y células cuyo eje mayor es paralelo a la superficie. De la epidermis se diferencian abundantes **tricomas** no glandulares multicelulares simples, filiformes (Bates *et al.*, 1990) (LAMINA VI, figura 17) y estomas cicloclíticos (LAMINA VI, figura 18) y paracíticos (LAMINA III, figura 8) dispersos sobre la superficie.

Por debajo de la epidermis hay de 15 a 20 estratos celulares de tipo **parenquimatoso**, los primeros cinco estratos presentan células pequeñas, éstos y cinco adyacentes a ellos contienen abundantes amiloplastos alrededor de la pared (LAMINA IV, figura 19) y el resto de los estratos contiene menor cantidad de ellos (reacción positiva al reactivo de lugol y A.P.S).

Los **haces vasculares** son abundantes y distribuidos en todo el pericarpio sin un arreglo definido excepto en la base de las espinas aserradas las cuales siempre tienen un haz vascular (reacción positiva al  $\text{KMnO}_4$ ).

En toda la superficie del fruto se diferencian un promedio de 40 a 50 **protuberancias cónicas** formadas por los tres tipos de tejidos anteriormente descritos. Estas protuberancias sostienen a la espina retorso-serrada y se referirá a ellas como la base de las espinas retorso-serradas (LAMINA VI, figura 20).

Las pruebas histoquímicas revelaron la presencia de polisacáridos insolubles (reacción positiva al A.P.S) y pectinas (reacción positiva al rojo de rutenio) en las paredes celulares de las células del pericarpio.

En los haces vasculares la tinción y pruebas histoquímicas revelaron la presencia de polisacáridos insolubles (reacción positiva al A.P.S), lignina (reacción positiva a la fuccina básica-verde de metilo) y taninos (reacción positiva al  $\text{KMnO}_4$ ).

**EII (25 dpa)** .- En este periodo de deshidratación la epidermis, cutícula, estomas paracíticos y ciclocíticos y los **tricomas** no glandulares, multicelulares simples, filiformes mantienen las características descritas para EI (14-17 dpa).

En el **parénquima** la cantidad de almidón disminuye e inicia la desintegración de los estratos adyacentes a la exotesta. Las paredes celulares contienen polisacáridos insolubles (reacción positiva al A.P.S), cutina o lípidos (reacción positiva al rojo O de aceite) y pectinas (reacción positiva al rojo de rutenio).

En la unión de las espinas retorso-serradas con la protuberancia se evidencian vesículas que contienen taninos hidrolizables (reacción positiva al sulfato férrico).

**EIII (28 dpa)**.- La **epidermis y cutícula** sin modificación. Los **tricomas** se han colapsado y ya no se observan a simple vista.

Los estratos del pericarpio adyacentes a la exotesta se han desintegrado y ocurre la compactación de las paredes celulares. Las pruebas histoquímicas para polisacáridos insolubles, cutina o lípidos y pectinas tiñen con mayor intensidad. Los primeros estratos del pericarpio continúan celularizados, sin almidón, pero, con mayor cantidad de vesículas con taninos hidrolizables. LAMINA VIII, figura 32.

Los **haces vasculares** permanecen rodeados por las paredes celulares compactadas. Las pruebas histoquímicas para lignina (reacción positiva a la flouroglucina-HCl<sub>2</sub> y fuccina básica- verde de metilo), polisacáridos insolubles (reacción positiva al A.P.S) y taninos (reacción positiva al  $\text{KMnO}_4$ ) son muy intensas.



Los tejidos de la **base de espinas retorso-serradas** también se desintegran quedando sólo las paredes celulares compactadas excepto en la unión de la protuberancia con la espina, en donde aumenta la cantidad de vesículas con taninos hidrolizables. LAMINA VI, figura 21.

**E IV (31dpa)** .- En esta etapa de deshidratación las **células epidérmicas** el pericarpio se han colapsado y desintegrado, permanece la **cutícula** rodeando las paredes celulares compactadas con abundantes vesículas que contienen taninos hidrolizables.

Los **haces vasculares** permanecen.

La **base de las espinas** consiste de paredes celulares compactadas y un haz vascular. Existen abundantes vesículas que contienen taninos hidrolizables. LAMINAS VI y VII, figuras 22 y 23.

### **6.3.2. Semilla: Testa.**

Aunque el óvulo es bitégmico, el tegumento interno (tegmen) no participa en la formación de la cubierta seminal, puesto que se degrada en etapas muy tempranas de la formación de la semilla. Alcázar (1990) describe que se inicia la desintegración del tegumento interno cuando el cuerpo del embrión es de seis células aproximadamente y que se encuentra totalmente ausente cuando el embrión está en el estado de proembrión (ocho células). LAMINA VII, figura 23.

Los estratos de la testa en una semilla madura hidratada, EI (14-17 dpa) son:

**a) Exotesta**<sup>1</sup>.- constituida por tres estratos: epidermis uniestratificada en su región calazal y central y pluriestratificada en la región micropilar; hipodermis biestratificada en su región calazal y central y pluriestratificada en la región micropilar y esclerénquima de osteoescleroides LAMINA VII, figura 24.

**b) Mesotesta**.- constituida por una capa con ocho a 15 estratos de células parenquimatosas. LAMINA VII, figura 25.

**c) Endotesta**.- La epidermis interna uniestratificada del tegumento interno o endotesta se desintegra cuando el embrión se encuentra en el estadio globular (Alcázar, 1990).

---

<sup>1</sup> Singh y Dathan (1974) utilizan el término hipodermis para el estrato celular que resulta de la división periclinal de las células epidérmicas del tegumento externo de las semillas de la familia Cucurbitaceae. Engelman, M. y Terrazas, T. (Comp. pers.) proponen denominar a la epidermis "estrato externo de la exotesta pluriestratificada"; a la hipodermis "capa intermedia" y al esclerénquima de osteoescleroides "estrato interno de la exotesta", esto conforme al origen de los estratos celulares. Este trabajo usará los términos propuestos por Singh y Dathan (1974).

A continuación se describen cada uno de los estratos de la testa y la secuencia de cambios que sufren durante el periodo de deshidratación natural.

### **6.3.2.1 a) EXOTESTA PLURIESTRATIFICADA**

#### **6.3.2.1.1 EPIDERMIS :**

**EI (14-17 dpa).**- La **epidermis** en las regiones calazal y central es **uniestratificada** con células más o menos cúbicas, de paredes radiales, y laterales engrosadas, formadas por polisacáridos insolubles (reacción positiva al A.P.S) contienen abundantes granos de almidón (reacción positiva al lugol). LAMINA VII, figura 24.

La **epidermis** en la región micropilar es **pluriestratificada**. Las células presentan paredes con un engrosamiento de tipo colenquimatoso y sin contenido celular. Las pruebas histoquímicas revelaron la presencia de polisacáridos insolubles y taninos (reacción positiva en A.P.S y  $\text{KMnO}_4$ ). LAMINA VII, figura 27.

Rodeando la testa se encuentra una cutícula evidente, cuya reacción positiva al rojo O de aceite y rojo de rutenio indicó la presencia de cutina o lípidos y pectinas. LAMINA VII, figura 24.

**EII (25 dpa).**- En este periodo de deshidratación el único cambio que ocurre en la epidermis es la disminución del contenido de granos de almidón en las células de las regiones calazal y central. LAMINA VII, figura 26.

**EIII (28 dpa).**- Para este periodo de deshidratación, ha ocurrido el colapso de las células de la epidermis en las regiones calazal y central, por lo que sólo se observan las paredes celulares compactadas y completamente adheridas al pericarpio que en esta etapa se ha reducido a paredes celulares compactadas. La cutícula de la testa ya no se observa.

Hacia la región micropilar permanece la epidermis pluriestratificada de células con engrosamiento de tipo colenquimatoso.

**E IV (31 dpa).**- La epidermis en las regiones calazal y central ha desaparecido, hacia la región micropilar permanece pluriestratificada con engrosamiento de tipo colenquimatoso. LAMINAS VI y VII, figuras 27 y 29.

### **6.3.2.1.2 HIPODERMIS:**

**EI (14-17 dpa).**- La **hipodermis es biestratificada** en las regiones calazal y central, formada por células cuyo eje mayor es paralelo a la superficie, las paredes laterales están engrosadas por polisacáridos insolubles (reacción positiva al A.P.S); contienen granos de almidón de menor diámetro que los de la epidermis (reacción positiva al lugol). LAMINA VI, figura 24 y 25.

La **hipodermis es pluriestratificada** en la región micropilar, formada por células isodiamétricas con paredes celulares que han sufrido un engrosamiento de tipo colenquimatoso y sin contenido celular. LAMINAS VI Y VII, figuras 27 y 28.

Las pruebas histoquímicas evidenciaron la presencia de polisacáridos insolubles y taninos en los engrosamientos de las paredes celulares (reacción positiva al  $\text{KMnO}_4$ ) principalmente en la región micropilar. LAMINA VII, figura 27.

**EII (25 dpa).**- En este periodo de deshidratación sólo se observan en las regiones calazal y central la disminución de los granos de almidón.

**EIII (28 dpa).**- Para este periodo de deshidratación de la hipodermis sólo se observan las paredes celulares compactadas y completamente adheridas a las osteoesclereidas del esclerénquima.

En la región micropilar permanece la hipodermis pluriestratificada cuyas paredes presentan engrosamiento de tipo colenquimatoso y sin contenido celular.

**E IV (31 dpa).**- La hipodermis ausente en las regiones calazal y central. Presente en la región micropilar con las características descritas para la etapa anterior.

Es difícil asegurar si las paredes celulares de la epidermis e hipodermis en la región calazal y central permanecen compactadas o se han desintegrado completamente.

### **6.3.2.1.3 ESCLERENQUIMA EN EMPALIZADA.**

**EI (14-17 dpa).**- Esclerénquima en empalizada: uniestratificado de células cuya forma y engrosamiento de sus paredes celulares permiten determinarlas como osteoesclereidas. En su estrecho lumen citoplásmico se observa un núcleo en degeneración. LAMINA VII, figura 31 (Alcázar, 1990).

La longitud de células esclerenquimatosas disminuye en la región micropilar. LAMINA VII, figuras 27 y 29.

Las osteoesclereidas presentan dos tipos de engrosamiento: En las paredes tangenciales adyacentes a la hipodermis tienen forma de estrella visto desde la superficie y están compuestos por polisacáridos insolubles (reacción positiva al A.P.S), cutina o lípidos (reacción positiva al rojo O de aceite), proteínas (reacción positiva al negro de naftol) y pectinas (reacción positiva al rojo de rutenio). Alcázar (1990) lo denomina de tipo estalactitas. Este tipo de engrosamientos abarcan una quinta parte de la longitud de la osteoesclereida, 0.022 mm en la región calazal y central y 0.011 mm en la región micropilar.

El engrosamiento de las paredes radiales es perpendicular a la superficie, de apariencia columnar, y abarcan las cuatro quintas partes de la longitud de las osteoesclereidas (0.11 mm de largo en la región calazal y central, y 0.044 mm en la región micropilar. Estos engrosamientos contienen abundantes polisacáridos insolubles, cutina o lípidos, lignina, proteínas y taninos de acuerdo a su reacción positiva al A.P.S, rojo O de aceite, fluoroglucina-HCl<sub>2</sub>, negro de naftol y KMnO<sub>4</sub> respectivamente. LAMINA VIII, figura 31.

**EII (25 dpa) y EIII(28 dpa).**- Durante estos periodos de deshidratación las células del esclerénquima en empalizada continúan el engrosamiento de sus paredes celulares y las pruebas histoquímicas lo evidencian en la intensidad de reacción.

**EIV (31 dpa).**- Para este periodo de deshidratación las pruebas histoquímicas son muy intensas para lignina y taninos principalmente, pero probablemente se deba sólo a la compactación celular ocurrida por la pérdida de humedad. LAMINA VII, figura 32.

#### **6.3.2.2 b) MESOTESTA.**

**EI (14- 17 dpa).**- En la región calazal y central formada por ocho a nueve estratos de células isodiamétricas de tipo parenquimatoso y en la región micropilar por 12 a 15 estratos. En esta etapa de deshidratación se ha iniciado la desintegración de las células de los estratos centrales por lo que se observan amplios espacios intercelulares. Las paredes celulares presentan polisacáridos insolubles (reacción positiva en A.P.S). LAMINA VII, figura 25.

**EII (25 dpa).**- En esta etapa de deshidratación la cantidad de espacios intercelulares aumenta, por la desintegración de los estratos centrales. LAMINAS VII y VIII, figuras 27 y 30.

**EIII (28 dpa).**- En los dos primeros estratos de la mesotesta adyacentes al esclerenquima en empalizada de la región micropilar hacia la central ha ocurrido el depósito de taninos hidrolizables (reacción positiva en sulfato férrico). Los taninos se encuentran en vesículas. Los estratos adyacentes a la cutícula nucelar inician su desintegración. LAMINA VII, figura 32.

**EIV (31 dpa).**- Para este periodo de deshidratación se encuentra una gran cantidad de vesículas con taninos hidrolizables en los dos primeros estratos de la mesotesta adyacentes al esclerenquima en empalizada, las paredes celulares de los estratos desintegrados se han compactado y engrosado por polisacáridos insolubles principalmente (reacción positiva en A.P.S). LAMINA VIII, figura 33.

Un corte en fresco hecho a mano de un fruto en este periodo de deshidratación y teñido con rojo O de aceite, permitió localizar abundantes plastos verdes ("cloroplastos"), en el último estrato de la mesotesta adyacente a la cutícula nucelar, por lo que la cubierta verde que rodea el embrión corresponde a restos de la mesotesta. LAMINA IX, figuras 34 y 35.

### **6.3.3 Semilla: Cutícula Nucelar**

Como fue descrito por Alcázar (1990) la cutícula nucelar es evidente desde las etapas tempranas del desarrollo de la semilla, la cual se va engrosando conforme avanza el desarrollo. LAMINA IX, figura 33.

En el presente estudio, la cutícula nucelar es evidentemente gruesa desde EI (14-17 dpa), y separa la cubierta seminal del embrión. Su reacción al rojo O de aceite evidenció su composición de cutina. LAMINA VIII, figuras 34 y 35.

# LAMINAS

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## LAMINA I

Frutos de *S. deppel* maduros hidratados y deshidratados o secos

Figura 1. Infrutescencia de *S. deppel* con frutos monospermicos hidratados con semilla madura hidratada, correspondiente a la EI de 14-17 días posantesis (dpa).

Barra = 5 mm

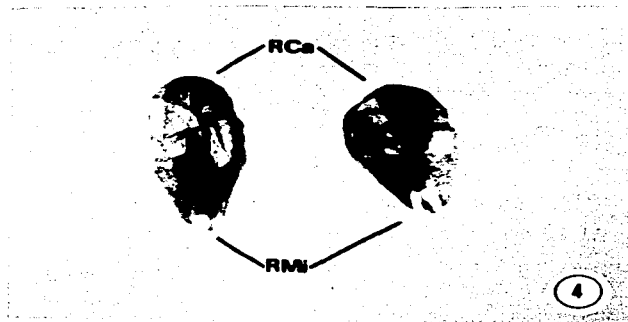
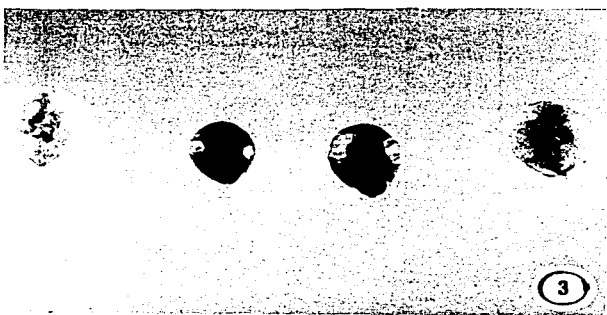
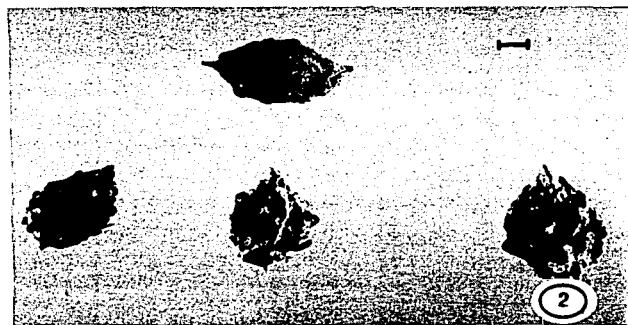
Figura 2. Frutos monospermicos secos, con una semilla madura deshidratada, correspondientes a E IV (31 dpa).

Barra = 5 mm

Figura 3. Semillas en vista frontal de *S. deppel* maduras deshidratadas, variedad de colores y tamaños.

Figura 4. Región calazal y micropilar en la semilla madura deshidratada de *S. deppel* en vista lateral.

RCa Región calazal  
RMi Región micropilar



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **LAMINA II**

La secuencia de figuras muestra que en la maduración y deshidratación del fruto ocurre: disminución de su volumen, modificaciones en la morfología de la región apical y colapso de sus células epidérmicas.

Figura 5. Fruto Maduro hidratado de 25 dpa (EII). M.E.B. 120X. Al negativo.

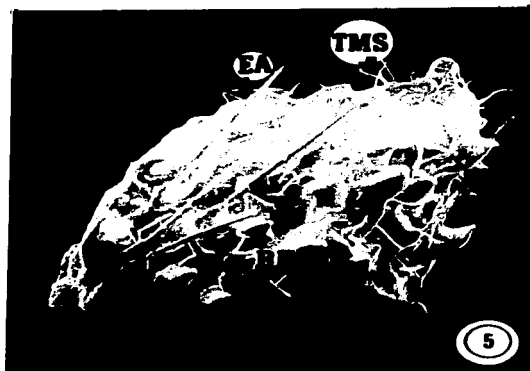
EA Espina retorso-serrada  
TMS Tricoma multicelular simple (Tricoma largo y delgado)  
BEA Base de la espina retorso-serrada

Figura 6. Región apical de un fruto maduro hidratado de 14 a 17 dpa (EI) que corresponde a la región micropilar de la semilla. M.E.B 101 X. Al negativo.

TMS Tricoma multicelular simple (Tricoma largo y delgado)

Figura 7. Región apical de un fruto maduro de 28 dpa (EIII). M.E.B. 101X. Al negativo.

Es Estoma



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### LAMINA III

La secuencia de figuras muestra el colapso de las células epidérmicas del pericarpio, la presencia de estómas y de cicatrices en la superficie del fruto de *S. depppei* correspondientes al desprendimiento de los tricomas multicelulares simples (tricomas largos y delgados).

Figura 8. Fruto maduro hidratado de 14 a 17 dpa (EI) M.E.B. 25X. Al negativo.

EP Epidermis del pericarpio

EsP Estoma paracítico

TMS Tricoma multicelular simple (Tricoma largo y delgado)

Figura 9. Fruto de 25 dpa (EII) M.E.B. 20X. Al negativo.

EP Epidermis del pericarpio

C Cicatriz

TMS Tricoma multicelular simple (Tricoma largo y delgado)

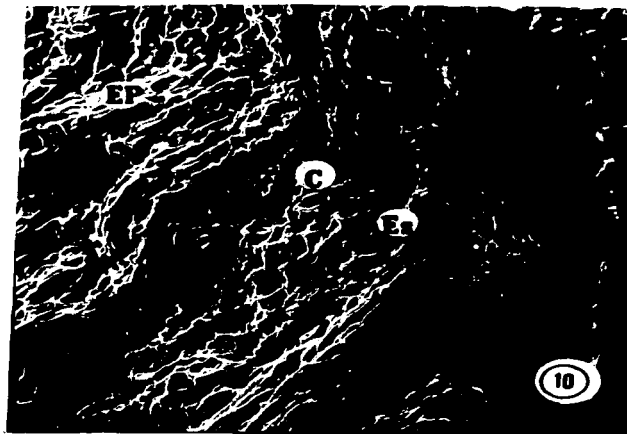
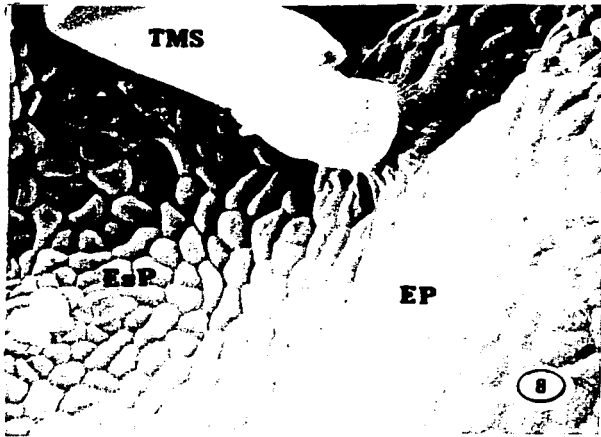
Figura 10. Fruto de 31 dpa (EIV) M.E.B. 20X. Al negativo.

EP Epidermis del pericarpio

C Cicatriz

Es Estoma

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

#### **LAMINA IV**

La secuencia de figuras muestra el colapso que sufren los tricomas multicelulares simples (largos y delgados) del pericarpio de *S. deppei* durante la deshidratación natural.

Figura 11. Base de los tricomas multicelulares simples (largos y delgados) en un fruto de 14 a 17 dpa (EI). M.E.B. 751X. Al negativo.

TMS Tricoma multicelular simple (largo y delgado)

Figura 12. Base colapsada de un tricoma largo y delgado en un fruto de 28 dpa. M.E.B. 751X. Al negativo.

TMSc Tricoma multicelular simple (largo y delgado)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## LAMINA V

La secuencia de figuras muestra la disminución del diámetro de la base de las espinas aserradas en frutos de *S. deppoi*.

Figura 13. Fruto maduro hidratado de 14 a 17 dpa (EI). M.E.B. 121X. Al negativo.

EA Espina retorso-serrada

BE Base de la espina

Figura 14. Fruto de 25 dpa (EII). M.E.B. 121X. Al negativo.

EA Espina retorso-serrada

BE Base de la espina

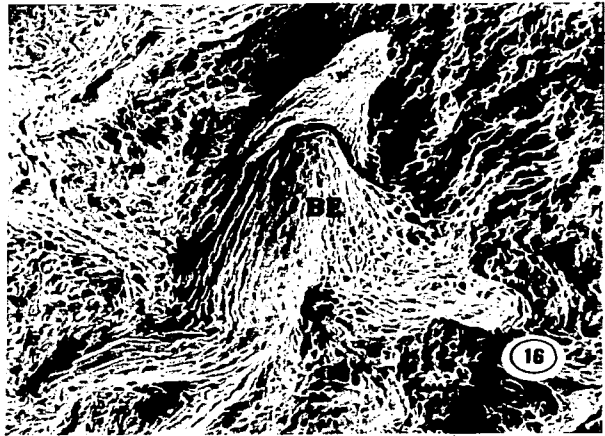
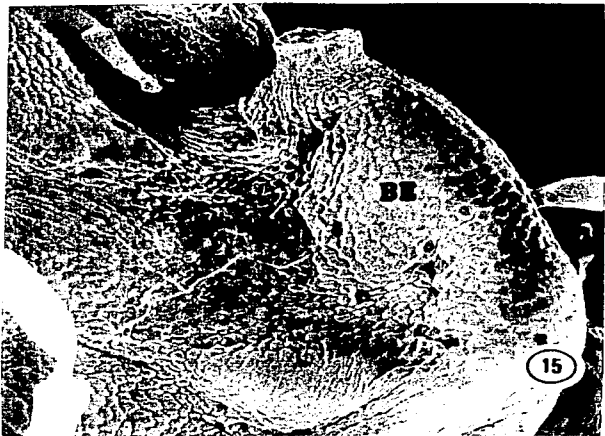
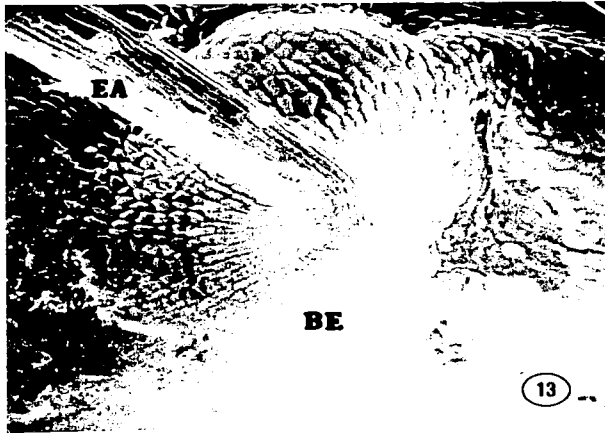
Figura 15. Fruto de 28 dpa (EIII) M.E.B. 121X. Al negativo.

BE Base de la espina retorso-serrada sin la misma

Figura 16. Fruto de 31 dpa (EIV) M.E.B. 121X. Al negativo.

BE Base de la espina retorso-serrada sin la misma

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



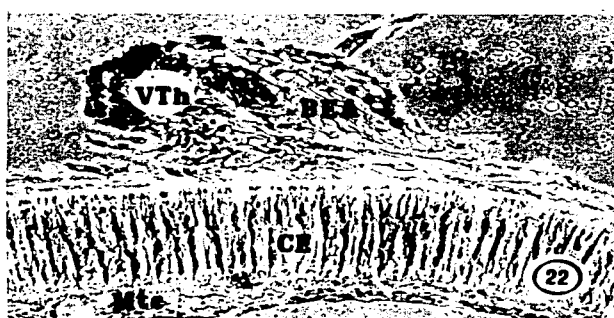
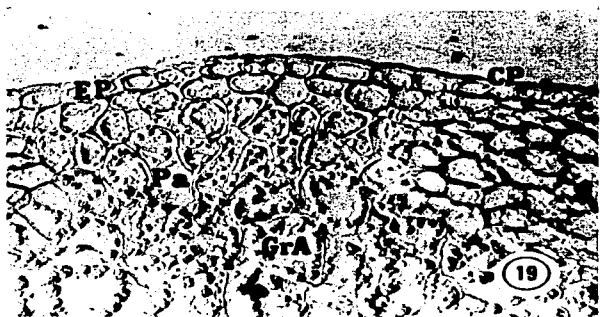
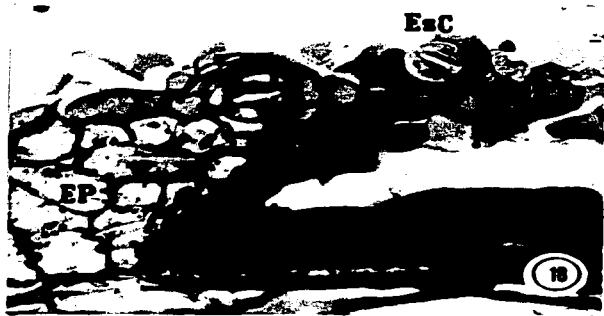
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## LAMINA VI

Anatomía e histoquímica de los cambios del pericarpio de *S. deppei* durante su deshidratación natural.

<p><b>Figura 17.</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Safranina verde fijo Etapa de desarrollo: EI (14-17 dpa) Región: Central EP Epidermis del pericarpio TM Tricoma multicelular Pa Parénquima GrA Granos de almidón</p> <p>160X. Al negativo. Contraste de fases</p>	<p><b>Figura 18.</b> Vista superficial de la epidermis del pericarpio Tinción: Safranina verde fijo Etapa de desarrollo: EII (25 dpa) Región: Central E.s.C Estoma ciclocítico Pr Pericarpio CP Cutícula del pericarpio EP Epidermis del pericarpio HV Haz vascular</p> <p>82X. Al negativo. Campo claro</p>
<p><b>Figura 19.</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Rojo O de aceite Etapa de desarrollo: EI (14-17 dpa) Región: Central EP Epidermis del pericarpio Pa Parénquima GrA Granos de almidón parietales</p> <p>102X. Al negativo. Luz tangencial</p>	<p><b>Figura 20.</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Safranina verde fijo Etapa de desarrollo: EII (25 dpa) Región: Central BAE Base de la espina retorso-serrada EpEx Epidermis de la Exotesta</p> <p>40X. Al negativo. Campo claro</p>
<p><b>Figura 21.</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Sulfato férrico Etapa de desarrollo: EIII (28 dpa) Región: Central BEA Base de la espina retorso-serrada VTh Vesículas de taninos hidrolizables Pad Parénquima en desintegración</p> <p>40X. Al negativo. Contraste de fases</p>	<p><b>Figura 22.</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Sulfato férrico Etapa de desarrollo: E VI (31 dpa) Región: Central BEA Base de la espina retorso-serrada Pac Parénquima del pericarpio de paredes celulares compactadas CE Cutícula de la exotesta MTc Mesotesta de paredes celulares compactadas. VTh Vesículas de taninos hidrolizables</p> <p>40X. Al negativo. Contraste de fases</p>



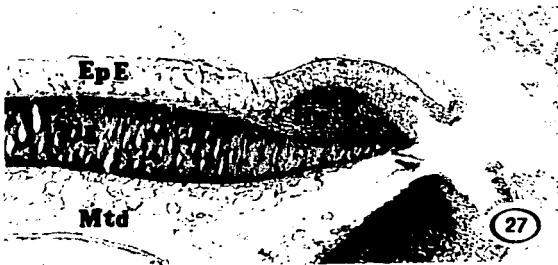
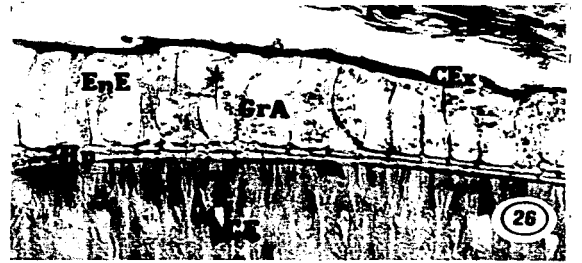
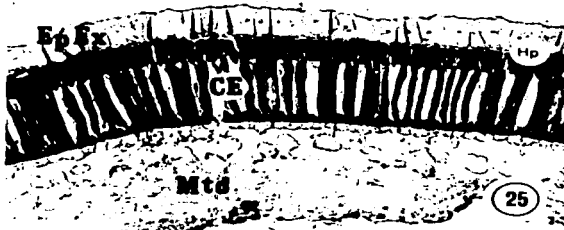
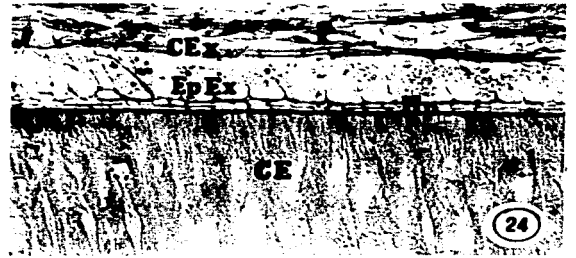
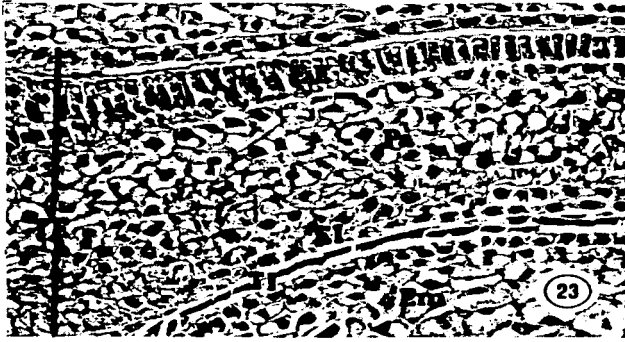
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## LAMINA VII

Anatomía e histoquímica de la cubierta seminal (testa) de la semilla de *S. deppei* en las etapas de deshidratación natural estudiadas.

<p><b>Figura 23.</b> Corte longitudinal del óvulo en antesis (Alcázar, 1990). Tinción: Safranina verde fijo Región: Micropilar TE Tegumento externo EE Epidermis externa Pa Parénquima EI Epidermis interna TI Tegumento interno Em Embrión 82X. Al negativo. Contraste de fases</p>	<p><b>Figura 24 .</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Acido peryódico reactivo de Schiff Etapa de desarrollo: EI (14-17 dpa) Región: Central CEx Cutícula de la exotesta EpEx Epidermis de la exotesta Hp. Hipodermis CE Capa de esclerénquima GrA Granos de almidón 32X. Al negativo. Luz tangencial</p>
<p><b>Figura 25 .</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Safranina verde fijo Etapa de desarrollo: EI (14-17 dpa) Región: Central EpEx Epidermis de la exotesta Hp Hipodermis CE Capa de esclerénquima Mtd Mesotesta en desintegración 21X. Al negativo. Campo claro</p>	<p><b>Figura 26.</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Acido peryódico reactivo de Schiff Etapa de desarrollo: EII (25 dpa) Región: Central CEx Cutícula de la exotesta EpEx Epidermis de la exotesta GrA Granos de almidón CE Capa de esclerénquima 32X. Al negativo. Luz tangencial</p>
<p><b>Figura 27 .</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Safranina verde fijo Etapa de desarrollo: EII (25 dpa) Región: Micropilar EpEx Epidermis de la exotesta Hp Hipodermis CE Capa de esclerénquima Mtd Mesotesta en desintegración 25X. Al negativo. Campo claro</p>	<p><b>Figura 28 .</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Sulfato Férrico Etapa de desarrollo: E VI (31 dpa) Región: Calazal Pr Pericarpio CE Capa de esclerénquima Mtc Mesotesta de paredes celulares compactas CC Células del cotiledón 40X. Al negativo. Luz tangencial</p>

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN



## LAMINA VIII

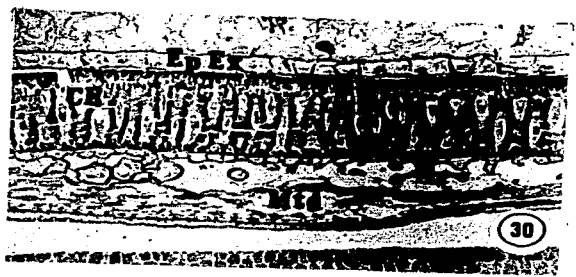
Anatomía e histoquímica de la cubierta seminal (testa) de la semilla de *S. deppei* en las etapas de deshidratación natural estudiadas.

<p><b>Figura 29.</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Azul de toluidina Etapa de desarrollo: EIII (28 dpa) Región: Micropilar Hp Hipodermis pluriestratificada con engrosamiento de tipo colenquimatoso CE Capa de esclerénquima 32X. Al negativo. Campo claro</p>	<p><b>Figura 30.</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Safranina verde fijo Etapa de desarrollo: E III (28 dpa) Región: Calazal EpEx Epidermis de la exotesta CE Capa de esclerénquima Mtd Mesotesta en desintegración 40X. Al negativo. Contaste de fases</p>
<p><b>Figura 31.</b> Disociado de Testa (Alcázar, 1990). Etapa de desarrollo: EIV (31 dpa) Región: Central OE Osteoesclereidas LC Lúmen celular N Núcleo en degeneración 100X. Al negativo. Luz tangencial</p>	
<p><b>Figura 32.</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Azul de toluidina Etapa de desarrollo: EIII (28 dpa) Región: Central Prc Pericarpio con paredes celulares compactas BAE Base de la espina retorso-serrada CE Capa de esclerénquima MTc Mesotesta con paredes celulares compactas CC Células del cotiledón 40X. Al negativo. Campo claro</p>	<p><b>Figura 33 .</b> Corte longitudinal transmediano. Tinción: Sulfato férrico Etapa de desarrollo: E VI (31 dpa) Región: Central Pr.c. Pericarpio con paredes celulares compactas VTh Vesículas de taninos hidrolizables CE Capa de esclerénquima Mtc Mesotesta de paredes celulares compactas 51X. Al negativo. Campo claro</p>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



29



30



31



32



33

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## LAMINA IX

Anatomía e histoquímica de la cubierta seminal (testa) de la semilla de *S. deppei* en las etapas de deshidratación natural estudiadas.

### **Figura 34.**

Corte longitudinal transmediano (Alcázar, 1990).

Tinción: Rojo O de aceite

Etapas de desarrollo: Semilla madura hidratada.

Región: Central

CN Cutícula nucelar

Mt Mesotesta

MTc Mesotesta con paredes celulares compactas.

Al Aleurona

EpC Epidermis del cotiledón

CC Células del cotiledón

CP Cuerpos proteicos

82X. Al negativo. Contraste de fases

### **Figura 35.**

Corte longitudinal transmediano.

Tinción: Rojo O de aceite

Etapas de desarrollo: EIV (31dpa)

Región: Central

CN Cutícula nucelar

MTc Mesotesta con paredes celulares compactas

PIV Plastos verdes, "Cloroplastos"

CC Células del cotiledón

CP Cuerpos proteicos

32X. Al negativo. Contraste de fases

TESIS CON  
FALSA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALIÓ  
DE LA BIBLIOTECA



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **7. DISCUSION**

Una de las etapas menos conocidas del desarrollo de los frutos y semillas es probablemente el periodo comprendido entre el fruto y semilla maduros e hidratados hasta los mismos completamente deshidratados y listos para su dispersión.

La mayoría de los estudios sobre el tema abordan aspectos fisiológicos del problema, algunos otros los problemas bioquímicos (Duke, 1985; Rojas y Ramírez, 1991). Sin embargo los trabajos sobre los cambios estructurales que están asociados a esta última etapa de desarrollo prácticamente no existen.

En la literatura se encuentran pocos trabajos anatómicos que relacionan las estructuras involucradas en la impermeabilidad al agua con las últimas etapas de desarrollo de las diásporas.

Probablemente la escasez de este tipo de trabajos se deba a: 1) las grandes dificultades técnicas que implica trabajar con frutos y semillas en el periodo de deshidratación debido a la dureza que van adquiriendo las estructuras, 2) la complejidad para delimitar (mediante características morfológicas externas) las etapas de desarrollo a estudiar y 3) el asociar los eventos fisiológicos con los estructurales.

### **7.1 TIEMPO DE DESARROLLO DE LOS FRUTOS DE *Sicyos deppei*.**

El tiempo transcurrido desde la antesis hasta los frutos maduros deshidratados de color negro fue de 28 a 31 días. Este dato es muy similar al reportado por Kohashi-Shibata *et al.* (1992) quienes mencionan un lapso de 24 a 26 días después de la antesis (dpa) hasta frutos de color café a negro y al de Zambrano (1992) quien reporta de 26 a 28 días desde la antesis hasta frutos maduros deshidratados de color café o negros.

Para muchas semillas cultivadas se prefiere usar el número de días postantesis como un criterio para la fecha de cosecha en lugar de signos externos visuales de los frutos o semillas, debido a que éstos últimos pueden ser perturbados por factores ambientales.

Las semillas de Cucurbitaceas cultivadas, normalmente maduran entre los 35 a 50 dpa (Nerson, 1991).

Se debe considerar que las variaciones micro y macroclimáticas, así como las condiciones hormonales y nutricionales de la planta progenitora tienen gran influencia en el desarrollo de las semillas y en el establecimiento de la latencia, por lo cual pueden existir variaciones entre cosechas de semillas de una especie, según la época y el lugar de producción (Vázquez *et al.*, 1997)

Roach y Wulff (1987, citado en Osuna, 1994) describen el efecto materno, el cual corresponde a la contribución de la planta madre al fenotipo de su descendencia a nivel del tamaño de la semilla, su composición mineral; el control de la latencia primaria y germinación, a través de los tejidos que rodean al embrión, en particular la cubierta seminal.

Así el efecto materno y las condiciones micro y macroclimáticas influyen en el desarrollo de *S. deppei* mostrando entre otras variaciones su tiempo de deshidratación natural.

## **7.2 CAMBIOS MACRO Y MICROMORFOLOGICOS EXTERNOS DE LOS FRUTOS DE *Sicyos deppei* DURANTE SU PERIODO DE DESHIDRATACIÓN NATURAL.**

Para determinar las cuatro etapas de deshidratación de los frutos de *S. deppei* estudiadas en este trabajo, fueron muy importantes, desde un inicio, los aspectos morfológicos externos apreciables a simple vista correspondientes a: color, turgencia, base de las espinas aserradas y abundancia de los tricomas largos y delgados, así como la observación detallada al microscopio electrónico de barrido de los frutos.

Para *S. deppei* se ha reportado el color café oscuro y negro en frutos maduros deshidratados (Kohashi-Shibata *et al.*, 1990; Alcázar, 1990 y Zambrano, 1990). Osuna (1994) reporta el color del fruto en etapas previas a la deshidratación, los cuales corresponden completamente a los del presente estudio.

Se considera que los criterios macromorfológicos visuales utilizados para realizar la colecta de los frutos de *S. deppei* en los cultivos de maíz, en San Pedro Atocpan, fueron adecuados y que, en realidad permitieron diferenciar cada una de las etapas de deshidratación, de tal manera que las pruebas realizadas en el laboratorio (sobre germinación, absorción de agua, contenido de humedad, anatomía e histoquímica) se efectuaron en poblaciones de frutos debidamente determinados.

Si bien es cierto que es preferible usar el número de días postantesis como un criterio más exacto para determinar el estadio de desarrollo o el momento de la cosecha, no siempre es posible marcar las flores en antesis para conocer tal información y más difícil aun cuando éstas forman inflorescencias pequeñas como es el caso de *S. depppei*.

Existe un conjunto de estudios realizados con maíz, sorgo, avena y frijol reportados por Chamma *et al.* (1990) que muestran que se puede considerar el color de los frutos y/o semillas para identificar de manera precisa la madurez fisiológica de éstos. Tal indicador visual lo consideran un parámetro muy relevante para planear la cosecha y reducir el porcentaje de pérdidas, ya que suponen que el color de la vaina o fruto cerrado, tiene relación con la calidad de las semillas.

Egley *et al.* (1985) seleccionaron cinco estadios de desarrollo de las semillas de *Anoda cristata*, *Abutilon theophrasti*, *Sesbania exaltata* y *Crotalaria spectabilis* por el color de su cubierta seminal, para estudiar el papel de las peroxidasas en el proceso de lignificación e impermeabilidad al agua en la cubierta seminal. De acuerdo a sus resultados este criterio de selección fue correcto.

Obtener el número de días posantesis que marcan diferencias macromorfológicas en el proceso de deshidratación, permitió conocer el tiempo de mayor pérdida de humedad.

A través del microscopio electrónico de barrido se pudo observar una secuencia de los cambios morfológicos externos del fruto que ocurren durante su deshidratación natural, de los cuales, los más sobresalientes, por no apreciarse a simple vista son: el colapso de la base de los tricomas largos y delgados determinados con base en Inamdar *et al.*, 1990 (citado en Bates *et al.*, 1990) como tricomas no glandulares, multicelulares y simples (LAMINA IV, figuras 11 y 12), la disminución de la base de las espinas retorso-serradas (LAMINA V, figuras 13 - 16) y la evidencia de "cicatrices", entre ellas las estomáticas, en la superficie del fruto deshidratado (LAMINA III, figuras 8 y 10). Las cicatrices resultado del desprendimiento de los tricomas multicelulares simples se proponen como sitios que pudieran participar en la imbibición del fruto maduro deshidratado (EIV 31 dpa).

### **7.3 CONTENIDO DE HUMEDAD EN LOS FRUTOS DE *Sicyos deppei* DURANTE SU PERIODO DE DESHIDRATACION NATURAL.**

En la gran mayoría de las semillas el periodo de deshidratación es un fenómeno natural que ocurre entre el proceso de desarrollo y el e germinación y esto supone que la pérdida de agua juega algún papel en el "encendido" de la actividad célula. Así, la deshidratación es importante para adquirir la capacidad de germinación (Allison *et al.*, 1986).

Para *Sicyos deppei* se determinó el contenido de humedad (C.H. en %) en cuatro etapas de deshidratación natural. Estos resultados indican que el proceso de deshidratación de los frutos de *S. deppei* no es uniforme, de tal manera, que la mayor pérdida de humedad (49.8 %) ocurre en los tres últimos días del proceso de deshidratación, es decir, entre los 28 y 31 dpa (de EIII a EIV).

Un fruto maduro deshidratado de *S. deppei* contiene 6.7% de humedad. Esto concuerda con lo reportado por Duke (1985) quien menciona que generalmente las semillas en el momento de su dispersión cuentan con un porcentaje del 10 al 15% de humedad, para mantener su vigor, longevidad y viabilidad al conservar los procesos metabólicos muy atenuados.

Estos datos contribuyen al conocimiento del proceso de deshidratación natural. No hay reportes que describan la cantidad y velocidad de pérdida de humedad durante el periodo de deshidratación natural, o si tal evento es continuo en el tiempo y cantidad.

Allison *et al.* (1986) mencionan que la tolerancia a la deshidratación, correspondiente en semillas corresponde a la supervivencia que alcanza la semilla después de eliminar completamente el agua y mantener el vigor en el estado desecado la cual se adquiere después del estadio de maduración (al final del desarrollo) y después del depósito de reservas (proteínas, lípidos, etc). En este trabajo la primera cuantificación de pérdida de humedad se realizó en frutos de *S. deppei* con 25 dpa (EII). Sin embargo el mayor porcentaje de pérdida de humedad ocurre a los 28 dpa, no se puede afirmar que los frutos de *S. deppei* se encuentran inmaduros.

Zambrano (1992) obtuvo un porcentaje de humedad de 20.6 % en frutos maduros deshidratados de *Sicyos deppei* desarrollados en el campo bajo el efecto de la luz natural directa a 103 °C en estufa de secado por dos horas. Definitivamente este dato difiere por mucho al obtenido en este trabajo, Zambrano (1992) no presenta la curva del contenido de humedad a partir de la cual determinó el tiempo en el cual ocurrió la pérdida final de humedad, además de que trabajó con muestras de 200 frutos, con 40 frutos por repetición.

En este trabajo se utilizó una muestra de 2500 frutos de cada una de las etapas de deshidratación dividida en 50 grupos de 50 frutos cada uno, sometidos a desecación en estufa a  $103 \pm 2$  °C durante 5 h para obtener la curva de humedad, a partir de la cual se determinó que es a los 180 minutos de secado que se estabiliza la humedad a la temperatura dada y que para los frutos maduros deshidratados su contenido de humedad final a los 31 dpa es de 6.7 %.

## **7.4 ESTABLECIMIENTO DE LA IMPERMEABILIDAD AL AGUA EN FRUTOS DE *S. deppei* DURANTE SU DESHIDRATACION NATURAL.**

### **7.4.1 IMBIBICION DE AGUA EN LOS FRUTOS DE *S. deppei*.**

La absorción de agua por la semilla es el primer paso de la germinación sin el cual este proceso no puede ocurrir; la absorción de agua por la semilla desencadena una secuencia de cambios metabólicos que incluyen la activación del proceso respiratorio, la síntesis proteica y la movilización de las reservas. A su vez, la división y alargamiento celular en el embrión produce la rotura de las cubiertas de la semilla que generalmente es ocasionada por la emergencia de la radícula (García y Primo 1996, citados en Azcón y Talón, 1996).

Los frutos de *S. deppei* mostraron diferentes capacidades de absorción de agua a los 125 min de imbibición en agua destilada (Gráfica 5), los resultados muestran que EI (14-17 dpa) hasta EIII (28 dpa) es un fruto hidratado que muestra células turgentes con la capacidad de absorber mayor cantidad de agua que los frutos con una etapa de deshidratación evidente (EIV (31 dpa)) con células colapsadas o paredes celulares comprimidas en diferentes tejidos celulares.

Se propone el hecho de la disminución de la capacidad de absorción como un indicador del inicio del establecimiento de la impermeabilidad al agua a partir de los 25 dpa (EII) y su establecimiento total a partir de los 28 dpa (EIII).

Se desconoce la cantidad de agua que los frutos de *S. deppei* absorben para su germinación en las diferentes etapas estudiadas, sin embargo al relacionar los datos de germinación con los de capacidad de imbibición se puede concluir que es la escarificación la que favorece la imbibición en frutos y su germinación de las Etapas III y IV principalmente, confirmándose la impermeabilidad al agua.

Duke (1985) menciona que la rápida imbibición en semillas impermeables ocurre al remover o perforar la cubierta seminal y que son las variaciones del contenido de agua las que influyen las actividades metabólicas de la semilla, incluyendo la respiración, la temperatura y su poder germinativo.

Se pudo determinar al colocar frutos de las etapas estudiadas en solución acuosa de color verde, las regiones y tejidos de la diáspora de *S. deppei* teñidas con respecto a los diferentes tiempos de imbibición (hasta 300 min), obteniéndose resultados muy claros con respecto a los sitios y etapas de deshidratación en las que llega a ocurrir la entrada de agua en la que se disolvió el colorante (cuadro 17).

Es la región micropilar por la que en cualquiera de las Etapas de deshidratación (I, II y III) hubo entrada de agua en los primeros 60 min de imbibición, participando los tejidos del pericarpio y sus haces vasculares como los sitios de principal vía de entrada; al transcurrir el tiempo fue la región calazal del pericarpio la que permitió el acceso de agua a través de los tejidos del pericarpio y su haz vascular principalmente.

Esta prueba permite conocer que la región calazal de la diáspora de *S. deppei* es un sitio de permeabilidad al agua a nivel del pericarpio, por lo que realizar la perforación en este sitio para favorecer la germinación de las semillas siempre ha mostrado favorables resultados en su imbibición y su posterior germinación (Cruz, 1989; Brechú *et al.*, 1992; Wong, 1991; Zambrano, 1992; Osuna, 1994) ya que se dañan las capas impermeables al agua correspondientes en un fruto maduro deshidratado a: epidermis del pericarpio; pericarpio de paredes celulares compactadas con abundantes taninos; capa de esclerénquima por su abundante composición de polisacáridos insolubles, cutína o suberina, taninos y lignina; mesotesta con taninos; cutícula nuclear gruesa y con reacción positiva al rojo O de aceite la cual evidencio abundante cutína. Para *S. deppei* no existen estudios que describan las regiones y tejidos relacionados con la absorción de agua, por lo que los resultados obtenidos son relevantes.

*Sicyos deppei* almacena en los cotiledones del embrión del fruto maduro deshidratado (EIV 31 dpa) abundantes proteínas y lípidos, así como escaso almidón en esta etapa de deshidratación se podría considerar una semilla madura con latencia impuesta por cubierta seminal dura e impermeable al agua, como se ha mencionado en trabajos previos (Brechú *et al.*, 1992; Osuna *et al.*, 2000).

#### **7.4.2 GERMINACION DE LOS FRUTOS DE *S. deppei***

Los frutos de *S. deppei* en EI (14-16 dpa) de forma natural permanecen unidos a la planta madre hasta finalizar su deshidratación por 14 a 17 días más, sin embargo estos frutos tienen semillas capaces de germinar es decir son semillas quiescentes si se les proporcionan las condiciones requeridas para tal proceso. Vázquez *et al.* (1997) denominan quiescencia el que no ocurra la germinación fundamentalmente por falta de agua, como es el caso de semillas que permanecen en los frutos unidos a la planta madre por largo tiempo.

Osuna (1994) llama quiescentes los frutos verdes hidratados de *S. deppei* con semillas maduras quiescentes al obtener alrededor del 30% de su población estudiada capaz de germinar.

De acuerdo a la prueba de germinación con frutos no escarificados (Gráfica 4), se considera que el inicio del establecimiento de la impermeabilidad al agua es a partir de los 28 dpa (EIII), debido a que es a partir de esta etapa que disminuye el porcentaje de germinación, debido probablemente a que no se logra la imbibición necesaria para la germinación al haber barreras para la entrada de agua; pero el momento en el que se encuentra completamente establecida la impermeabilidad al agua es a partir de los 31 dpa (EIV), momento en el cual es muy bajo el porcentaje de germinación (20%).

El tratamiento de escarificación mecánica incrementó la germinación en un 96.8 % en E IV (Gráfica 4), por lo que la dureza de las cubiertas seminales es uno de los mecanismos que controla la germinación al impedir la imbibición.

Zambrano (1992) confirmó latencia impuesta por la cubierta seminal dura en *Sicyos deppei*, al obtener altos porcentajes de germinación (80%), bajo condiciones de oscuridad en frutos deshidratados escarificados, los cuales contrastan con los porcentajes de germinación de frutos deshidratados no escarificados (7.2%) de *S. deppei* utilizados en su estudio y pone de manifiesto además un control endógeno que requiere de un periodo de postmaduración para liberarse y el cual se ve alterado por la estratificación a 4°C.

Para Osuna (1994) el establecimiento de la impermeabilidad al agua ha ocurrido ya, cuando los frutos de *Sicyos deppei* contienen una semilla madura hidratada (fruto verde), con base en los porcentajes de germinación (50%) de estos frutos, que han sido escarificados para eliminar la barrera o bloqueo de la germinación la cual se va enfatizando al irse alcanzando la deshidratación del fruto y semilla.

En el presente trabajo la muerte de los frutos no escarificados a los 14 a 17 dpa (EI) se debió principalmente a la presencia de larvas de insectos que dejaban sólo el pericarpio y testa y a frutos que se embebían y pudrían.

Los porcentajes de frutos muertos entre los 14 y 25 dpa (37.6 y 34.4% respectivamente) evidencian la sensibilidad de las diásporas en estas etapas de deshidratación a depredadores y daño mecánico de las cubiertas seminales, capa de aleurona y embrión. Además, la muerte de los frutos en estas etapas de deshidratación también pudo deberse al grado y velocidad de imbibición del agua que debe ser controlada por la semilla. Al haber sido perforada la cubierta seminal y pericarpio, la velocidad de imbibición aumenta y esto pudo dañar las actividades metabólicas de la semilla, provocando la incapacidad de germinar (Murray, 1984).

Osuna (1994) también obtiene altos porcentajes de pudrición en los lotes de frutos escarificados correspondientes a la etapa de fruto amarillo, etapa II (25 dpa) del presente estudio.

Si bien no fue el objetivo de este trabajo estudiar el mecanismo de germinación de *S. deppei*, se observó que frutos maduros hidratados de 14 a 25 dpa germinan y por lo tanto el mecanismo de germinación se establece antes del periodo de deshidratación natural.

Osuna (1994 y 2000) obtiene un incremento en los porcentajes de germinación en frutos de *Sicyos deppei* al transcurrir el proceso de deshidratación natural (de frutos verdes hidratados a frutos con semilla madura deshidratada) y lo relaciona con el incremento en la maduración fisiológica de los frutos.

Allison *et al.* (1986) reportan que no se sabe si las semillas adquieren la capacidad de germinación durante los estadios de desarrollo o de intolerancia a la deshidratación, porque sólo conocen la capacidad de germinación de semillas deshidratadas naturalmente, por lo que concluye que la deshidratación juega un papel muy importante para "encender" el mecanismo de germinación.

Es muy importante considerar que la germinación en las Etapas I y II de deshidratación (14 a 17 y 25 dpa) pueda estar ocurriendo en los campos de cultivo, debido a que, es probable que durante la cosecha del maíz y frijol, se provoque la caída de frutos "verdes" (maduros hidratados) permeables, capaces de germinar y establecerse, tal vez con mayor probabilidad de germinar que aquellos que se encuentran en el banco de semillas como frutos maduros deshidratados e impermeables.

Ahora bien, el hecho de que los porcentajes de germinación en frutos escarificados de las etapas I y II (con capacidad de germinación) no sean muy altos (Gráfica 4) hace suponer que la latencia no es sólo impuesta por cubiertas impermeables, sino probablemente por algún factor embrionario endógeno como ha sido propuesto por varios autores (Cruz, 1989; Osuna, 1990; Wong, 1991; Brechú *et al.*, 1992; Zambrano, 1992) aunque sigue siendo una interrogante por resolver.

Zambrano (1992) menciona que el aumento en los porcentajes de germinación de frutos escarificados a 4°C de *S. deppei* pone de manifiesto un control endógeno que requiere de un periodo de postmaduración que es afectado por la estratificación y que son una interrogante por resolver los factores internos que inhiben parcialmente la germinación aún después de eliminar la barrera de la cubierta seminal dura.



### **7.4.3 ANATOMIA E HISTOQUIMICA DE LOS FRUTOS DE *S. deppei*.**

#### **7.4.3.1 COLOR E IMPERMEABILIDAD**

En *Sicyos deppei* los primeros cambios en el color del pericarpio y testa se aprecian a los 28 dpa cuando el fruto tiene un 56.49% de humedad, etapa en la cual existe un evidente depósito de taninos en la base de las espinas aserradas del pericarpio y en sus paredes celulares compactadas, así como en el esclerenquima con reacción positiva al  $KMNO_4$ , la cual evidencia taninos y compuestos susceptibles a la oxidación y es posiblemente la estructura que le proporciona el color a la semilla.

Debe resaltarse el hecho de que para *S. deppei* corresponde a la diáspora los restos del pericarpio completamente adheridos a la semilla.

Si bien, no se determinó el color de las semillas en las etapas I, II y III de deshidratación estudiadas, se ha reportado el color negro para la semilla de frutos secos deshidratados por Alcázar, 1990 y pardo obscura por Rodríguez, 2000. Debe mencionarse que al desprender el pericarpio de las semillas en la Etapa de deshidratación EIII, la cubierta seminal ya tenía un color café apreciable a la vista.

Aparentemente para *S. deppei* hay relación entre el color oscuro de la cubierta seminal y pericarpio con el momento del establecimiento final de la impermeabilidad al agua (EIII: 28 dpa a EIV: 31 dpa) en los estadios finales de deshidratación natural.

Se ha encontrado una correlación positiva entre el color oscuro de las semillas y su impermeabilidad en *Onionis sicula* y *Glycine ussuriensis* (Guterman y Haydeker, 1973; Ting, 1946, citados en Slattery 1987). El cambio de color en semillas de *Pisum*, está asociado con los estadios finales de deshidratación de acuerdo a los estudios de Slattery et al. 1987, quienes mencionan que el cambio de color en *Pisum* esta asociado con los estadios finales de deshidratación y la enzima responsable de la actividad de los taninos (catecol oxidasa) así como que la coloración de la testa de *Trifolium subterraneum* está asociada con la oxidación de fenoles por la actividad de los taninos (catecol oxidasa); pero que el desarrollo de la impermeabilidad es independiente de ese proceso.

#### **7.4.3.2 REGIONES ANATOMICAS E IMPERMEABILIDAD**

La impermeabilidad de las semillas es más frecuentemente relacionada con la cubierta seminal o las estructuras de la cubierta seminal como la cutícula, células de malpigi, capa de esclerenquima y los rudimentos del tegumento interno (Corner, 1976, citado en Roti *et al.*, 1987).

La diáspora de *S. deppei* presenta en el transcurso de su desarrollo y deshidratación natural un conjunto de mecanismos, estructuras anatómicas y químicas relacionadas con la adquisición de sus estados de reposo y latencia.

Se puede resumir el siguiente análisis como que la diáspora de *S. deppei* presenta un fruto a los 14-17 dpa (EI) quiescente con embrión inmaduro, pericarpio permeable al agua y cubierta seminal parcialmente impermeable; que a los 25 dpa (EII) incrementa sus frutos con latencia impuesta por el embrión inmaduro y por el proceso de endurecimiento de la cubierta seminal; que a los 28 dpa (EIII) el embrión presenta una madurez intermedia que favorece la cantidad y tiempo de germinación pero que la latencia por cubierta seminal impermeable se impone previa a la dispersión de los frutos deshidratados a los 31 dpa (EIV) con un embrión maduro y una cubierta seminal impermeable al agua.

Por lo que si bien la germinación se incrementa conforme el embrión madura ésta capacidad disminuye cuando la cubierta se hace dura, impermeable y deshidrata.

#### **7.4.3.2.1 MADUREZ FISIOLÓGICA DE LA DIÁSPORA DE *S. deppei*.**

Existe una serie de conceptos en la literatura relacionados con la descripción de madurez de frutos y semilla. Se debe resaltar nuevamente que para *S. deppei* la diáspora corresponde a los restos del pericarpio completamente adheridos a la semilla madura deshidratada y que debe considerarse tal vez el conjunto de características del fruto y semilla para poder definir la madurez de la diáspora en conjunto.

Para las semillas se considera una semilla con madurez fisiológica aquella que tiene la capacidad de germinar, si bien *S. deppei* presenta esta capacidad a partir de los 14 a 17 dpa (EI), la cantidad de frutos germinados no escarificados y escarificados es baja comparada con la de las etapas de deshidratación posteriores, además debe observarse y evaluarse que el inicio de la germinación de esta etapa en frutos no escarificados es 15 días después de que se le dan las condiciones adecuadas para su germinación, periodo en el cual ya habría finalizado su desarrollo y deshidratación en la planta madre, es decir que si bien ya se presenta la capacidad de germinación muy probablemente existe un embrión inmaduro que requiere del desarrollo de enzimas, proteínas, RNAm, entre otros factores para desencadenar la germinación los cuales pueden adquirirse "lejos" de la planta madre (Cuadros 10 y 11).

El incremento de la cantidad de frutos germinados de esta etapa de desarrollo al ser escarificados los frutos permite relacionar la presencia de agua en el fruto como indispensable para continuar y finalizar la madurez del embrión la cual se considera se llega a un estado intermedio a los 28 dpa (EIII) cuando los porcentajes de germinación en frutos no escarificados se incrementa y más aun cuando se escarifica el fruto y finaliza a los 31 dpa (EIV) cuando si bien existe un embrión maduro y existen altos porcentajes de germinación en frutos escarificados, es ahora la latencia impuesta por una cubierta seminal dura e impermeable la que impide su germinación.

Nelson (1991) describe la cubierta seminal en Cucurbitáceas y menciona que ésta termina su crecimiento tempranamente, con respecto al embrión y se propone que ésto explique el papel de inhibición de la cubierta seminal en la germinación de embriones no completamente desarrollados.

Las semillas de Sandía tienen una cubierta que inhibe su germinación cuando tienen aún un embrión inmaduro, la germinación se favorece conforme ocurre la maduración de la semilla. Así el potencial de germinación probablemente depende del tiempo de desarrollo del embrión.

Hutchinson *et al.* (1979) observó que la germinación en semillas de *Cuscuta campestris* se incrementa después de que el embrión madura, deshidrata y endurece la testa y considera como semillas inmaduras aquellas que presentan bajos porcentajes de germinación, semillas de madurez intermedias aquellas con porcentajes de germinación incrementados y semillas maduras aquellas que presentan los más altos porcentajes de germinación, deshidratación y endurecimiento de la testa.

Para el fruto existen los siguientes conceptos de madurez:

Rasyad *et al.* (1990) definen madurez fisiológica como: el máximo peso seco (MSW). En *S. deppei* el máximo peso seco se tienen a los 14-17 dpa (EI)

Será con base a la descripción de Hobson (1996, citado en Azcón y Talón, 1996) que se describan las características de madurez del fruto de *S. deppei* considerando que: la maduración es la fase final del crecimiento y desarrollo del fruto, en la que se producen una serie de cambios coordinados, que conducen a la senescencia y abscisión del fruto. La finalidad del fruto es favorecer la dispersión de las semillas, y la combinación de las características de color, aroma, textura y gusto contribuyen a ello, haciéndolo atractivo a las distintas especies. Si los frutos maduros no se consumen, se forma la capa de abscisión mediante diversos mecanismos de acuerdo a la especie y el fruto cae al suelo, promovándose la distribución del material genético en diferentes nichos ecológicos. Así, algunas de las características que definen a un fruto maduro son:

**APARIENCIA:** La maduración suele coincidir con un cambio de color en la piel o en las capas parenquimáticas. Los antocianos o carotenoides ( o ambos) reemplazan las clorofilas y puede existir una reutilización de los productos degradados. La presencia de los frutos en la planta madre puede ocasionar un reverdecimiento de los mismos.

En *S. deppei* el cambio de color del fruto del pericarpio verde al amarillo ocurre en EIII (28 dpa), etapa en la cual se aprecian además a simple vista como puntos cafés en la base de las espinas aserradas, al igual que el amarillamiento de las mismas.

**TEXTURA:** La maduración del fruto suele estar asociada a un ablandamiento de los tejidos, que probablemente esta bajo control genético. Las alteraciones en la firmeza del fruto conllevan el adelgazamiento de la pared celular, la disolución de la lamina media, la pérdida de turgencia y la degradación de productos de reserva, originando constituyentes semilíquidos.

En *S. deppei* la pérdida de turgencia es apreciable en la EIII (28 dpa) y es en esta etapa cuando ocurre la mayor pérdida de humedad, debida probablemente a los constituyentes semilíquidos productos de la degradación de productos de reserva como el almidón del pericarpio y embrión.

**SABOR:** Producción de un mezcla compleja de compuestos volátiles que interaccionan con la producción de otros constituyentes mayoritarios, especialmente carbohidratos, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos. El aroma es característico de cada especie y variedad. El almacenamiento incorrecto y la sobremaduración de los frutos puede inducir la formación de componentes con sabores desagradables.

En *S. deppei* se enfatiza el depósito de taninos condensados en EIII (28 dpa) a nivel de: pericarpio; los cuales puedan darle al fruto y semilla un sabor astringente, aroma repelente a hervíboros y dar propiedades antisépticas contra microorganismos así como posiblemente participar en la inhibición de la germinación por inhibición tegumentaria o de cubierta seminal dura.

**FISIOLOGIA:** El comienzo de la maduración de frutos "climatéricos" está asociado a un incremento en la producción de etileno y en la respiración. Los frutos "no climatéricos" por el contrario no son sensibles al etileno y tampoco incrementan la respiración. Los frutos de otras especies tienen un comportamiento intermedio.

Se desconoce la presencia o ausencia de etileno durante la maduración de *S. deppei* así como su tasa de respiración.

**EXPRESION GENETICA:** Una serie de cambios controlados que originan alteraciones en mRNA, actividades enzimáticas específicas y síntesis proteica. Estas modificaciones en la expresión genética determinan los cambios en los distintos aspectos de la maduración del fruto.

Se desconoce para *S. depppei* los puntos descritos para expresión genética.

**SENESCENCIA:** Una serie de transformaciones programadas que siguen a la maduración del fruto y originan cambios degradativos en los tejidos que rodean a las semillas que pueden finalizar en la abscisión del fruto. Determinadas organizaciones celulares pueden persistir después de estos procesos.

En *S. depppei* la degradación del parénquima del pericarpio del fruto se inicia desde EII (25 dpa), siendo muy evidente en EIII(28 dpa) en donde sólo se aprecian los primeros estratos celularizados y el resto son paredes celulares compactadas y se encuentra totalmente acelular en EIV (31 dpa)

#### **7.4.3.2 IMPERMEABILIDAD E HISTOQUIMICA TIEMPO O MOMENTO DE SU ESTABLECIAMIENTO.**

De acuerdo con estudios ontogenéticos se ha observado que la impermeabilidad al agua ocurre durante las etapas tardías de desarrollo (Bagoury y Niyazi, 1973, citados en Rolston, 1978). En semilla impermeables al agua se han realizado estudios tratando de dar respuesta a las causas y mecanismos de la impermeabilidad, relacionando la estructura con la composición química de sus cubiertas seminales (Ponce *et al.*, 1990).

Se ha relacionado la lignificación de la cubierta seminal con el principio de la impermeabilidad al agua (Duke, 1985).

Para *S. depppei* se propone que la dureza e impermeabilidad al agua la establecen diferentes estructuras anatómicas del pericarpio, exotésta y cutícula nucelar en grado ascendente a partir de los 14 a 17 dpa (EI) y continua durante el desarrollo y deshidratación del fruto en la planta madre estableciéndose completamente a partir de los 28 dpa (EIII) de tal forma que a los 31 dpa (EIV) el fruto maduro deshidratado se dispersa con latencia debida a una cubierta seminal dura e impermeable al agua.

Se propone que el desarrollo de la dureza e impermeabilidad al agua ocurre en la diáspora de *S. depppei* sólo si se lleva a cabo y finaliza en la planta madre lo que apoya a Osuna (1994) quien considera que la rápida deshidratación de frutos de *S. depppei* en el laboratorio permite alcanzar altos niveles de germinación debido probablemente a que la desecación en el laboratorio impide la conclusión del establecimiento de la impermeabilidad.

Si bien la deshidratación se ha valorado como importante para adquirir la capacidad de germinación (Allison *et al.*, 1986) y aparentemente puede adquirirse fuera de la planta madre, como lo muestran los resultados de desecación en el laboratorio, el desarrollo de la impermeabilidad se altera si se impone la deshidratación y por lo tanto ésta se adquiere en la planta madre, el papel, de la impermeabilidad al agua y dureza de la semilla en *S. depppei* al igual que en otras especies es un mecanismo más para la supervivencia de la especie, son barreras contra la germinación temprana o rápida, para la protección del embrión y regulación del momento de la germinación (Duke, 1985).

Duke (1985) considera que las semillas llegan a ser impermeables durante los últimos estadios de desarrollo, sobre la planta madre.

Para EI (14-17 dpa) los tejidos impermeables al agua son:

- ◆ Cutícula de la Epidermis de la Exotesta rica en cutina y pectina
- ◆ Hipodermis por su composición de cutina, polisacaridos insolubles y taninos)
- ◆ Capa de Esclerenquima la cual presenta osteoesclereidas con dos tipos de engrosamientos, siendo los de las paredes tangenciales adyacentes a la hipodermis de tipo estalactitas compuestos de polisacaridos insolubles, cutina, proteínas, celulosa y pectinas. Los engrosamientos de las paredes radiales tienen abundantes polisacaridos insolubles, cutina o lípidos, lignina, proteínas y taninos.
- ◆ Cutícula Nucelar, por su composición de cutina.

Para EII (25 dpa) los tejidos impermeables al agua son:

- ◆ Hipodermis compuesta por polisacaridos insolubles y taninos hidrolizables
- ◆ Capa de Esclerenquima por su composición de polisacaridos insolubles, cutina o suberina, lignina y taninos, siendo esta capa y en ésta etapa la de principal influencia en la dureza e impermeabilidad al agua por el incremento de las sustancias relacionadas con la impermeabilidad.
- ◆ Cutícula Nucelar por su abundante composición de Cutina

Para EIII (28 dpa) los tejidos impermeables al agua son:

- ◆ Pericarpio de paredes celulares compactas por su composición de taninos
- ◆ Capa de Esclerenquima por su abundante composición evidenciada por la intensidad de las reacciones en las tinciones para polisacáridos insolubles, cutina o suberina, lignina y taninos
- ◆ Mesotesta con taninos, debe tenerse presente que este tejido contiene abundantes plastos verdes y se encuentra completamente adherido al embrión.
- ◆ Cutícula Nucelar la cual presenta un marcado engrosamiento y composición de cutina.

Para EIV (28 dpa) los tejidos impermeables al agua son:

- ◆ Epidermis del Pericarpio, la cual evidencia cutína
- ◆ Pericarpio de paredes compactadas con abundantes taninos
- ◆ Capa de Esclerénquima por su abundante composición de polisacáridos insolubles, cutína o suberina, taninos y lignina, en esta etapa las reacciones a las tinciones son muy intensas y probablemente ha sesado el depósito de sustancias y la intensidad de las reacciones se deba a la compactación de las células producto de la deshidratación.
- ◆ Mesotesta con taninos, este tejido contiene abundantes plastos verdes y se encuentra completamente adherido al embrión.
- ◆ Cutícula nucelar gruesa y con intensa reacción positiva al Rojo O de aceite la cual evidencia abundante cutína.

Así, en *S. deppei* la disminución en el contenido de humedad del fruto se relaciona con el establecimiento e incremento de la impermeabilidad al agua.

Werker, 1980/1981 (citado en Roti, 1987) considera que la impermeabilidad al agua tiene una estructura y química básica ya que el arreglo de las fibras de celulosa en las paredes celulares forman paquetes herméticos que además están impregnadas de sustancias repelentes al agua, tales como ceras, cutína, suberina, lignina, calosa, taninos y pectinas, sustancias que fueron abundantes en las estructuras asociadas con la impermeabilidad para *S. deppei*.

Se ha relacionado la lignificación de la cubierta seminal con el principio de la impermeabilidad al agua (Duke, 1985). Sin embargo la lignina es un polímero que se asocia principalmente incrustado en la pared celular secundaria de las células de las plantas leñosas que ayuda a robustecer y endurecer las paredes se considera que químicamente es muy complicada, conteniendo monómeros variados y derivan principalmente del fenilpropano. Producto final del metabolismo que a la muerte de la planta es degradado lentamente por hongos y bacterias, por ello forma la parte principal de la materia orgánica del suelo. Sustancia orgánica o mezcla de sustancias de elevado contenido de carbono. Asociada con la celulosa en las paredes de muchas células. Para *S. deppei* se propone el establecimiento de la dureza de su cubierta seminal asociada por la presencia de lignina a partir de los 14- 17 dpa (EI), la cual se enfatiza al igual que la impermeabilidad a los 28 dpa (EIII).

Duke (1985) menciona que las cubiertas impermeables al agua previenen la entrada de agua hacia el interior de la semilla con lo que éstas adquieren un mecanismo de latencia efectivo y gran longevidad. Zambrano (1992) trabajó con diásporas de *S. deppei* de seis meses postcosecha, las cuales se comportaron como fotoblásticas indiferentes en su mayoría y una pequeña proporción de frutos como fotoblásticas positivas (que requieren luz para germinar). La longevidad total de las diásporas de *S. deppei*, no se ha reportado al igual que se desconoce la influencia de los cloroplastos de la mesotesta en la respuesta fotoblástica de *S. deppei*.

#### **7.4.3.2. 2 .1 ZONA DE PERMEABILIDAD AL AGUA**

Para *Sicyos deppei* se proponen como zonas de mayor penetración de agua en sus semillas:

- ◆ La región micropilar: a través del tejido hilar y haz vascular del pericarpio.
- ◆ La región calazal: a través del haz vascular del pericarpio
- ◆ Las protuberancias de la región micropilar de la semilla, correspondiente a la hipodermis pluriestratificada con engrosamientos de tipo colenquimatoso compuestos de lignina la cual le confieren dureza a la semilla más no impermeabilidad, probablemente estas estructuras participen en el control de la válvula hilar, evitando una rápida penetración del agua pues si bien entre ellas se encuentra el tapón hilar permeable al agua en semillas en estado de deshidratación avanzado (EIII), la rigidez de las protuberancias rodeando este tejido tal vez influya en la regulación de la cantidad y velocidad de absorción de agua durante la imbibición e incluso tal vez participe esta región en la pérdida de humedad durante el proceso de deshidratación.

Se ha reportado que todos los sitios que sobre la semilla fueron aberturas tempranas, durante el desarrollo podrían sellarse y desarrollar barreras impermeables al agua, aislando eficientemente al embrión maduro del agua externa, tal sería el caso del hilio, micropilo y calaza (Werker 1980/1981; Tran y Cavanagh, 1984, citados en Egley, 1990).

En *Cercis silyquastrum* los restos del tegumento interno constituyen una capa no celular hidrofóbica, la cual se ha demostrado es la mayor barrera de penetración de agua en sus semillas (Roti *et al.*, 1987).



## **7.5 INTEGRACION E INTERPRETACION DE LOS PROCESOS FISIOLÓGICO - ANATOMICOS ESTUDIADOS EN *Sicyos deppei* G. Don.**

**7.5.1 El tiempo de deshidratación natural** (en la planta madre) de la diáspora de *S. deppei* es de 14 a 17 días posantesis (dpa), siendo la pérdida final de agua de un fruto del 70.42%.

Un fruto maduro deshidratado de *S. deppei* contiene 6.7% de humedad en el momento de su dispersión.

El fenómeno de deshidratación de los frutos de *S. deppei* no es uniforme, la mayor pérdida de humedad (49.82%) ocurre en los tres últimos días de deshidratación, entre los 28 y 31 dpa (E III a E IV).

El proceso de deshidratación natural de *S. deppei* es un mecanismo o factor relacionado con su longevidad, confirmada por los bancos de semillas que forma.

Es posible que la deshidratación natural en *S. deppei* tenga un papel importante para evitar o prevenir su germinación precoz. Proceso que puede ocurrir a partir de los 14 a 17 dpa (EI) en frutos verdes hidratados con un 26.4% de germinación en frutos no escarificados y del 59.2% si los frutos son escarificados.

Se considera que los frutos de *S. deppei* tienen alta resistencia y tolerancia a la desecación a partir de los 25 dpa (EII), momento en el cual ya es perceptible su pérdida de humedad (56.49%), siendo entre los 28 y 31 dpa el tiempo de mayor pérdida de humedad (70.42%).

**7.5.2** Se considera que el **establecimiento de la impermeabilidad** al agua en la diáspora de *S. deppei* se presenta en diferentes momentos del periodo de deshidratación debidos a variados procesos fisiológicos. El conjunto de evaluaciones realizadas a cada una de las cuatro etapas de deshidratación estudiadas consistentes en: la capacidad de germinación, la capacidad de absorción de agua, la imbibición en colorante adicionales a la anatomía e histoquímica permitieron establecer que:

El fruto con madurez fisiológica hidratado de color verde con 14 a 17 dpa (EI) es un fruto con estado de reposo quiescente, con gran capacidad de absorción de agua (4.58 ml) a través del parénquima y haces vasculares pericarpio de la región micropilar y calazal y que si bien se presenta un porcentaje de germinación éste es bajo, con respecto al de el resto de las etapas de deshidratación, además de requerir mayor número de días bajo condiciones propicias para la germinación (temperatura, humedad e iluminación)

Para esta etapa se proponen como sitios relacionados con la imbibición y movilidad de agua como parte del proceso de germinación el parénquima del pericarpio y sus haces vasculares de la región micropilar en los primeros minutos, así como el parénquima del pericarpio y sus haces vasculares de la región calazal.

Debido a la tinción del pericarpio en su región micropilar y calazal y de la mesotesta de la cubierta seminal de la región micropilar por la conducción del colorante a través del tejido que obstruye el hilio (paredes celulares compactadas como restos del tegumento interno que formaba al micrópilo) y por la ausencia de tinción en el resto de los estratos de la cubierta seminal y embrión se proponen las siguientes estructuras de la exotesta pluriestratificada como las principales barreras de impermeabilidad al agua en la Etapa EI (14-17 dpa):

- ❖ Cutícula de la epidermis (por su composición en cutína y pectina)
- ❖ Hipodermis (por su composición de cutína, polisacáridos insolubles y taninos hidrolizables).

Debido a que el tiempo que requieren los frutos no escarificados de la etapa EI (14-17 dpa) para iniciar la germinación una vez proporcionadas las condiciones favorables para la misma es superior al del resto de las etapas de deshidratación estudiadas (15 días), se concluye que la tardía germinación y los bajos porcentajes de la misma se deben probablemente a una inmadurez embriológica y por lo tanto el inicio del proceso de deshidratación coincide con una latencia endógena.

El fruto con madurez fisiológica, de color verde grisáceo de 25 dpa (EII) es un fruto que ya presenta un 14.5% de humedad menos con respecto a la etapa EI, disminuye su capacidad de absorción de agua (3.76%) y disminuye su capacidad de germinación en frutos no escarificados, pero aumenta significativamente en frutos escarificados con respecto a la etapa EI. Se considera esta etapa de marcados cambios fisiológicos correspondientes al periodo de tolerancia a la deshidratación, depósito de sustancias que le confieran impermeabilidad a la cubierta seminal y madurez embriológica, la cual puede ser severamente influida y llevar a altos porcentajes de mortandad si se alteran las cubiertas que le envuelven.

Para esta etapa se proponen como sitios relacionados con la movilidad del agua como parte del proceso de germinación: pericarpio de la región micropilar y calazal, de paredes celulares compactas (por su composición de taninos hidrolizables), sus haces vasculares, y la epidermis externa de la exotesta que inicia su desintegración, la movilidad de agua hacia la mesotesta a través del tejido que obstruye al hilio, lleva a concluir que la movilidad del agua en frutos con avanzada deshidratación e impermeabilidad al agua y probablemente en los secos es a través del hilio para continuar a través de la mesotesta, sin atravesar la exotesta.

Las estructuras asociadas con la impermeabilidad en la EII (25 dpa) son:

- ❖ Hipodermis (por su composición de cutína, polisacáridos insolubles y taninos hidrolizables).
- ❖ Esclerénquima (por su abundante composición de polisacáridos insolubles, cutína o suberina, lignina y taninos), se propone este estrato celular el de principal influencia en la dureza e impermeabilidad al agua.
- ❖ Cutícula nuclear (por su abundante composición de cutína).

Es entre la Etapa III (28 dpa) y la EIV (31 dpa) que se establece la impermeabilidad al agua, momento en el cual ocurre la mayor pérdida de humedad (49.82% del 70.42% total), la movilidad de agua es menor en las estructuras anatómicas del fruto y en mayor tiempo correspondientes al pericarpio de paredes compactadas de las regiones micropilar, central y calazal y sus haces vasculares de la región micropilar. Así como el periodo en el que el depósito de los componentes químicos es muy evidente a través de las pruebas histoquímicas.

Las estructuras relacionadas con la impermeabilidad en la Etapa III (28 dpa) son:

- ❖ Pericarpio de paredes celulares compactas (por su composición de taninos hidrolizables).
- ❖ Esclerénquima (por su abundante composición de polisacáridos insolubles, cutína o suberina, lignina y taninos), se propone este estrato celular el de principal influencia en la dureza e impermeabilidad al agua.
- ❖ Mesotesta (por presentar taninos hidrolizables).
- ❖ Cutícula nuclear (por su abundante composición de cutína).

Para un fruto maduro deshidratado (EIV 31 dpa), es evidente que la disminución en el contenido de humedad aumenta la impermeabilidad al agua a través de las siguientes estructuras:

- ❖ Pericarpio de paredes celulares compactas (por su composición de taninos hidrolizables).
- ❖ Esclerénquima (por su abundante composición de polisacáridos insolubles, cutína o suberina, lignina y taninos), se propone este estrato celular el de principal influencia en la dureza e impermeabilidad al agua.
- ❖ Mesotesta (por presentar taninos hidrolizables).
- ❖ Cutícula nuclear (por su abundante composición de cutína).

Los estratos de paredes celulares de color verde que se encuentra completamente adherido al embrión desde el estadio de semilla madura hidratada (EI 14-17 dpa) corresponden a paredes de la mesotesta y contienen plastos verdes ("cloroplastos").

Se propone que la ruptura de la latencia impuesta por la testa impermeable al agua sea previa a la activación del metabolismo embrionario que desencadene la diferenciación de los tejidos del eje radícula-epicotilo, esto debido a que después de 300 min de imbibición en la solución acuosa de colorante artificial no se llegó a teñir ninguna estructura embrionaria y debido a que llega a presentarse hidratación de la mesotesta la cual contiene plastos verdes, se propone que el factor disparador del proceso de germinación sea la luz que active los sistemas enzimáticos de éstos y desencadene una respuesta fotoblástica.

Sería interesante conocer la forma en la que el agua logra atravesar la barrera de impermeabilidad correspondiente a la cutícula nuclear para poder activar la producción de hormonas a través de la aleurona y células cotiledonarias, así como conocer si alguna de las hormonas (auxina, cinetina o giberelinas) se encuentran deficientes, lo cual estaría presentando un embrión inmaduro que adquiera su madurez durante el proceso de deshidratación.

**7.5.4** En *S. deppoi* la **capacidad de germinación** se presenta desde los 14-17 días posantesis, en frutos maduros verdes hidratados y se adquiere durante el desarrollo del fruto previo a su deshidratación, sin embargo los bajos porcentajes de germinación de esta etapa, el tiempo requerido para el inicio de la germinación una vez proporcionadas las condiciones propicias para ello y la presencia de embriones viables hacen concluir que el proceso de deshidratación es una parte integral en la formación de la diáspora y se considera la fase final normal de maduración de la semilla.

Se apoya la conclusión de Osuna (1994) quien concluye que la capacidad de germinación de los frutos de *S. deppoi* en diferentes etapas de deshidratación, les confiere mayor capacidad para invadir terrenos de cultivo.

**7.5.5** La disposición de un bajo contenido de agua (6.7%) en el fruto de *S. deppoi*, su baja tasa metabólica, resistencia a la invasión de microorganismos por la presencia de taninos hidrolizables, reservas proteínicas, latencia impuesta por testa dura e impermeable al agua, alta tolerancia a la deshidratación y bajo contenido de agua le confieren **mayor longevidad** y duración de la viabilidad de sus semillas.

## 8. CONCLUSIONES

A partir de la observación y estudio de las cuatro etapas de desarrollo natural de los frutos de *Sicyos deppei* G. Don se determinó que:

**8.1** El proceso de deshidratación natural de los frutos de *S. deppei* no es uniforme, de tal manera, que la mayor pérdida de humedad (49.82%) ocurre en los tres últimos días del proceso de deshidratación, es decir, entre los 28 y 31 dpa (de EIII a EIV).

**8.2** Un fruto maduro deshidratado contiene 6.7 % de humedad.

**8.3** Las pruebas de germinación con frutos no escarificados de *S. deppei*, permiten considerar que el inicio del establecimiento de la impermeabilidad al agua es a partir de los 28 dpa (EIII), ya que es a partir de esta etapa que disminuye el porcentaje de germinación, debido probablemente a que no se logra la imbibición necesaria para la germinación al haber barreras para la entrada de agua; siendo el momento en el que se encuentra completamente establecida la impermeabilidad al agua a partir de los 31 dpa (EIV), momento en el cual es muy bajo el porcentaje de germinación (20%).

El tratamiento de escarificación mecánica incrementa la germinación en un 96.8 % en los frutos con 31 dpa (E IV), por lo que se confirma que la dureza de las cubiertas seminales es uno de los mecanismos que controla la germinación al impedir la imbibición.

Es posible que la deshidratación natural en *S. deppei* tenga un papel importante para evitar o prevenir su germinación precoz. Proceso que puede ocurrir a partir de los 14 a 17 dpa (EI) en frutos verdes hidratados con un 26.4% de germinación en frutos no escarificados y del 59.2% si los frutos son escarificados.

**8.4** Para *Sicyos deppei* se proponen como zonas de mayor penetración de agua en sus semillas:

- ❖ La región micropilar: a través del tejido hilar y haz vascular del pericarpio.
- ❖ La región calazal: a través del haz vascular del pericarpio.
- ❖ Las protuberancias de la región micropilar de la semilla.

La capacidad de absorción de agua en los frutos de *S. deppei* disminuye a partir de los 25 dps (EII) etapa en la cual llega a absorber 3.76 ml, y se acentúa la disminución de la capacidad de absorción a los 31 dpa (EIV) en la cual sólo absorbe 1.1 ml de agua.

**8.5** Se proponen las siguientes estructuras de la exotesta pluriestratificada como las principales barreras de impermeabilidad al agua en los frutos verdes maduros hidratados (EI, 14-17 dpa):

- ❖ Cutícula de la epidermis, por su composición en cutína y pectina.
- ❖ Hipodermis, por su composición de cutína, polisacáridos insolubles y taninos hidrolizables.

**8.6** Para el fruto con madurez fisiológica, de color verde grisáceo de 25 dpa (EII) se proponen las siguientes estructuras como las principales barreras de impermeabilidad al agua:

- ❖ Hipodermis, por su composición de cutína, polisacáridos insolubles y taninos hidrolizables.
- ❖ Esclerénquima, por su abundante composición de polisacáridos insolubles, cutína o suberina, lignina y taninos, se propone este estrato celular el de principal influencia en la dureza e impermeabilidad al agua.
- ❖ Cutícula nuclear, por su abundante composición de cutína.

**8.7** Las estructuras relacionadas con la impermeabilidad en el fruto de 28 dpa (EIII) son:

- ❖ Pericarpio de paredes celulares compactas por su composición de taninos
- ❖ Capa de esclerénquima por su abundante composición de polisacáridos insolubles, cutína o suberina, lignina y taninos
- ❖ Mesotesta con taninos, debe tenerse presente que este tejido contiene abundantes plastos verdes y se encuentra completamente adherido al embrión.
- ❖ Cutícula nuclear la cual presenta un marcado engrosamiento y composición de cutína.

**8.8** Es entre la Etapa III (28 dpa) y la EIV (31 dpa) que se establece la impermeabilidad al agua, momento en el cual ocurre la mayor pérdida de humedad (49.82% del 70.42% total). Así, en *S. deppoi* la disminución en el contenido de humedad del fruto se relaciona con el establecimiento e incremento de la impermeabilidad al agua.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**8.9** Las principales estructuras que se asocian con la impermeabilidad al agua en la diáspora deshidratada (EIV 31 dpa) son:

- ❖ Epidermis del pericarpio, la cual evidencia cutína.
- ❖ Pericarpio de paredes compactadas con abundantes taninos.
- ❖ Capa de esclerénquima por su abundante composición de polisacáridos insolubles, cutína o suberina, taninos y lignina, en esta etapa las reacciones a las tinciones son muy intensas y probablemente ha cesado el depósito de sustancias y la intensidad de las reacciones se deba a la compactación de las células producto de la deshidratación.
- ❖ Mesotesta con taninos, este tejido contiene abundantes plastos verdes y se encuentra completamente adherido al embrión.
- ❖ Cutícula nucelar gruesa y con intensa reacción positiva al rojo O de aceite la cual evidencia abundante cutína.

**8.10** Las modificaciones más sobresalientes en la morfología externa de la diáspora de *S. deppei*, por no apreciarse a simple vista son: el colapso de la base de los tricomas largos y delgados (tricomas no glandulares, multicelulares y simples), disminución de la base de las espinas retorso-serradas, presencia de "cicatrices", entre ellas las estomáticas, en la superficie del fruto deshidratado.

**8.11** La diáspora de *S. deppei* presenta en el transcurso de su desarrollo y deshidratación natural un conjunto de mecanismos, estructuras anatómicas y químicas relacionadas con la adquisición de sus estados de reposo y latencia.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

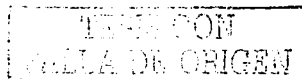
## 9. BIBLIOGRAFIA

- Agundis, M. O. (1984). Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el combate de la maleza.[Publicación Num. 115]. México:INIA,SARH. pp.19.
- Alcázar, P. M. A. (1990). Desarrollo e histoquímica de la semilla de *Sicyos deppei* G. Don (Cucurbitaceae) maleza de cultivos de maíz. (Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM). México, D.F.pp.105.
- Aldrich, A.S, y Leng, R.E. (1974). Producción moderna del maíz. Argentina: Hemisferio Sur.pp. 308.
- Allison R.K., Derek, J. B. Dasgupta, J. Santosh, M. (1986).The Transition from Seed Development to Germination: A key Role for Desiccation? HortScience. 21(5):1113-1118.
- Azcón, B. J. y Talón, M. (1996). Fisiología y Bioquímica Vegetal. España: Interamericana-McGraw-Hill.p. 581
- Baker, H.G. (1974). The evolution of weeds. Annual Review of Ecology and Systematics 5: 1-24.
- Brechú, F. A., Cruz, G. F., Márquez, G.J., y Laguna, H. G. 1992. Germination of *Sicyos deppei* (Cucurbitaceae) Seeds as affected by scarification and light Weed Science. 40:54-56.
- Bates, M. D., Robinson, W.R., y Jeffrey, Ch. 1990. Biology and utilization of the Cucurbitaceae. Unites Sdtates of America: Comstock Publishing Associates, a division of Cornell University Press.
- Cruz, G. F. 1989. Germinación y Establecimiento de Plantulas de "atatana" (*Sicyos deppei*, Cucurbitaceae), Maleza de Maíz. (Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM). México. D.F.
- Cruz-Ortega, R., Anaya, A. L. Hernández-Bautista,B.E. Laguna-Hernandez, G., (1998). Effects of allelochemical stress produced by *Sicyos deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Cucurbita ficifolia*. Journal of Chemical Ecology. 24(12):2039-2057.
- Curtis, P.J. (1986). Microtécnia vegetal. México: Trillas. pp. 106.
- Chamma, H.M.C.P., Marco-Filho, J., y Crocomo, O. J. (1990). Maturation of seeds of "Aroana" beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and its influence on the storage potencial. Seed Science and Technology. 18 (2): 371-382.
- Daubemnire, R. F. (1996). Ecología vegetal. Tratado de Autoecología de Plantas. México: Limusa. pp. 496.
- Duke, S. O. (1985). Weed Physiology. (Vol. I). Reproduccion and Ecophysiology. Florida: CRC Press. p. 165.
- Egley. G.H., Paul, R.N Jr., Duke S.D., y Vaughn K.C. (1985). Peroxidase involvement in lignification in water-impermeable seed coats of weed, leguminous and malvaceous species. Plant cell and Enviroment. 8:253-260
- Egley. G.H., y Paul, R .N, Jr. (1986). Detection of barriers to penetration of soluble salt into weed seeds. Plant Physiology and Supplement. 8 (4): 105-108

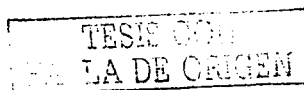
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



- Egley, G.H. 1990. Water impermeable seed coverings as barriers to germination; en Recent Advances in the Development and Germination of Seeds. New York: Editado por R.B. Taylorson. pp. 207 – 219.
- Esau, K. (1982). Anatomía de las plantas con semilla. Buenos Aires: Hemisferio Sur, S.A.p. 512.
- Espinoza, G.F.J. (1981). Las Malezas: Una Maldición?. Naturaleza.5:297-307.
- Fisher, D. B. (1968). Protein staining of ribboned Epon sections for light microscopy. Histochemie 16: 92-96.
- Font Quer. 1973. Diccionario de Botánica. (4ª. Reimpresión). Barcelona: Labor.[primera impresión, 1953] pp. 1244.
- Fontana, N., y González N. C. (Compilador). (2000). Maíz en Venezuela. Protección y Sanidad Vegetal. Combate y Control De Malezas. Elio Rodríguez Tineo. [Cap. 6 ] .Venezuela: Universidad Central de Venezuela, Maracay.
- Gifford, E. M. y Foster, A.S. (1989). Morphology and Evolution of Vascular Plants. (3ª. ed.) New York: W.H. Freeman.
- Hutchison, M.J., y Ashton, M.I. (1979). Effect of desiccation and scarification on the permeability and structure of the seed coat of *Cuscuta campestris*. American Journal of Botany. 66 (1):40-46
- Johansen, D.A. (1940). Plant microtechnique. New York: McGraw Hill.
- Jurado, R. Y. (2002). Técnicas de investigación documental. México:Thomson.pp. 236.
- Kirwood, J. E. (1905). The comparative embryology of the Cucurbitaceae. Bull. New York. Bot. Gard. 3 :313-402.
- Kohashi-Shibata J., S. Zepeda A., y J.R Gómez. (1990). Crecimiento, floración y fructificación de la maleza *Sicyos deppel* G, Don "Chayotillo" (familia Cucurbitaceae). Agrociencia serie Fitociencia. 1 (1):11-26
- Kolattukudy, P.E. (1974). Biochemistry and funcion of cutin and suberin. Canadian Journal of Botany. 62: 2918-2933.
- Kornerup, A., y Wanscher, J. H. (1978). Methuen Handbook of Colour. (3a ed.) London: Fletcher and Son. Norwich,VR. p. 252.
- Lira, R., Rodríguez-Jiménez, C., Alvarado, J., Rodríguez, I., Castrejón, J., y Domínguez-Mariani A. (1998). Diversidad e importancia de la familia Cucurbitaceae en México. Acta Botánica Mexicana. 42: 43-47.
- Lott, A.J. (1973). A scanning electron microscope study of *Cucurbita maxima* seed coat structure. Canadian Journal of Botany. 51: 1711-1714.
- Moreno, M.E. (1984). Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. México: Instituto de Biología, UNAM. p. 383.
- Murray, D.R. (Ed.). (1984). Seed Physiology (Vol. 1-2). Germination and Reserve Mobilization. Australia: Academic Press. 2: 295.
- Nerson, H. (1991). Fruit age and seed extraction procedures affect germinability of cucurbit seeds. Seed Science and Technology. 19:185-195.



- Orea, C.D., y Engleman, E.M. (1983). Anatomía de la testa de *Sechium edule*. Chapingo. Año VIII. 39: 27-30.
- Orozco, S. A., Brechú, F. A., Zambrano, P. L., Osuna, F., y Sánchez, C. M. (2000). Effects of maternal light environment on germination and morphological characteristics of *Sicyos deppei* seeds. Blackwell Science Ltd Weed Reserch. 40:495-506.
- Osuna, F H.R. (1994). Efecto del ambiente hídrico y de la calidad de luz durante el desarrollo y la deshidratación de Semillas Maduras de *Sicyos deppei* G. Don (Cucurbitaceae) sobre la Germinación. (Tesis de Maestría (Biología Vegetal). UNAM). México.pp.122.
- Osuna, F. R., Brechú. F. A., y Laguna, H. G. (2000). Effect op light conditions and controlled desiccation of *Sicyos deppei* (Cucurbitaceae) fruts on germination and seed hardness. Phyton.67: 5-12.
- Ponce, S.R.M., Márquez, G.J., Brechú, F. A y Laguna, H.G. (1990). Desarrollo e histoquímica de la cubierta seminal de *Ipomoea purpurea* (L.) Roth (Convolvulaceae) y su relación con la impermeabilidad al agua. Phyton. 51 (1):5-12.
- Puri, V. (1954).Studies in floral anatomy.Placentation in the Cucurbitaceae, Phytomorphology. 4: 278-299.
- Quinlivan, B.(1971). Seed coat impermeability in legumes. Journal Australrain Institute of Agricultura Science. 37:283-295.
- Rodríguez, C.B., y Porras, M.C. (1985). Botánica Sistemática. México: UACH. pp. 424.
- Rodríguez, A.N.I. (2001). Revisión del género *Sicyos* L. (Cucurbitaceae) en México. (Tesis de Maestría en Ciencias (Biología Vegetal). Facultad de Ciencias UNAM). México. pp.184.
- Rojas, G.M., y Ramírez H. (1991). Control Hormonal del Desarrollo de las Plantas. Fisiología-Tecnología-Experimentación. México: Noriega Limusa. pp. 239.
- Rolston, Ph. M. (1978). Water impermeable seed dormancy. Botanical Review. 44 (3): 365-396.
- Roti, G. M, Serroti, G. y Riggio, L.B. (1987). Remnants of the inner integument as the major barrier to water entry in *Cercis siliquastrum* L. seed. Phytomorphology, 37(2,3): 165-171.
- Rzedowski,J. y Rzedowski, C. G. 1985. Flora Fanerogámica del Valle de México. Dicotiledoneas. (Vol.II ) México: ENCB. I.E. pp 674.
- Rzedowski, J. (1986). La Vegetación de México. México: Limusa.p.482.
- Rzedowski, J. (1992). Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. Ciencias. [No. Esp.] 6:47-56.
- Singh, B. 1953. Studies on the structure and development of seeds of Cucurbitaceae. Phytomorphology. 3: 224 - 239.
- Singh, B., y Singh, D. (1961). Development of embryo in the Cucurbitaceae. Journal Indian of Botany Soc.40:620-623.



- Singh, D. 1965. Ovule and Seed of *Sechium edulis* Sw. a reinvestigation. Current Science. 34 (24): 696-697.
- Singh, D. y Dathan, R. 1974. Structure and development of the seed coat in Cucurbitaceae. IX. Seeds of *Corallocarpus*, *Kedrostis* e *Ibervillea*. Bull. Torrey Bot. Club. 101: 78-82.
- Slattery, H.D., Atwell, B.J., y Kuo, J. (1982). Relationship between Colour, Phenolic Content and Impermeability in the Seed Coat of various *Trifolium subterraneum* L. genotypes. Annals of Botany. 50: 373-378.
- Tran, V. N. y Cavanagh, A.K. (1984). Structural aspects of dormancy. En Murray D.R. Seed Physiology. (Vol I). Orlando: Academic Press.
- Umland J. A. y Bellama, J.M. (1999). Química General. (3ª ed.) México. Internacional Thomson Editores.pp. 1016.
- Valdovinos, P. G. (1992). Estructura e histoquímica del desarrollo de la semilla de tres variedades de Ipomoea aquatica (Convolvulaceae). (Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM). México. D.F.
- Vázquez, Y. C., Orozco, A., Rojas, M., Sánchez, M.E. y Cervantes, V. (1997). La Reproducción De Las Plantas: Semillas y Meristemas. México: Fondo de Cultura Económica.
- Werker, E., Marbach, I., y Mayer, A.M. (1979). Relation between the Anatomy of the Testa, water permeability and the presence of phenolics in the Genus *Pisum*. Annals of Botany.43: 765-771
- Wong, R. 1991. Influencia de la temperatura en la ruptura de la latencia de semillas de las arvenses Ipomoea purpurea (Convolvulaceae) y Sicyos deppei (Cucurbitaceae). (Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM). México. pp.142.
- Zambrano, P.L. (1992). Estructura y Respuesta Fisiológica de las semillas maduras de Sicyos deppei G. Don. (Cucurbitaceae) influenciadas por la calidad de la luz durante su desarrollo. (Tesis de Maestría en Ciencias (Biología Vegetal), Facultad de Ciencias, UNAM). México. pp. 142.
- Zepeda S. 1991. La Biología del "Chayotillo" *Sicyos deppei* G. Don., una maleza de los Valles altos de México. Serie Técnicas de la Asociación Mexicana de la Ciencia de la Maleza.11:3-6.
- Zepeda, S., y Kohashi-Shibata J. (1991). Efecto de la maleza de Chayotillo *Sicyos deppei* (Cucurbitaceae) de emergencia tardía sobre el maíz. Agrociencia. Serie Fitociencia. 2(2): 27-37.

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN