



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Talauma mexicana*  
DESHIDRATADAS EN AMBIENTES CONTROLADOS**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**B I Ó L O G A  
P R E S E N T A:**

**XIMENA GÓMEZ MAQUEO BRIBIESCA**



**DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. HELIA REYNA OSUNA FERNÁNDEZ  
2011**



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.

### Hoja de datos del jurado

<p>1. Datos del alumno                  Apellido paterno                  Apellido materno                  Nombre(s)                  Teléfono                  Universidad Nacional Autónoma de México                  Facultad                  Carrera                  Número de cuenta</p>	<p>1. Datos del alumno                  Gómez Maqueo                  Bribiesca                  Ximena                  53780848                  Universidad Nacional Autónoma de México                  Facultad de Ciencias                  Biología                  302763364</p>
<p>2. Datos del tutor                  Grado                  Nombre(s)                  Apellido paterno                  Apellido materno</p>	<p>2. Datos del tutor                  Dra                  Helia Reyna                  Osuna                  Fernández</p>
<p>3. Datos del sinodal 1                  Grado                  Nombre(s)                  Apellido paterno                  Apellido materno</p>	<p>3. Datos del sinodal 1                  Dr                  Guillermo                  Laguna                  Hernández</p>
<p>4. Datos del sinodal 2                  Grado                  Nombre(s)                  Apellido paterno                  Apellido materno</p>	<p>4. Datos del sinodal 2                  Dra                  Clara                  Esquivel                  Huesca</p>
<p>5. Datos del sinodal 3                  Grado                  Nombre(s)                  Apellido paterno                  Apellido materno</p>	<p>5. Datos del sinodal 3                  M. en C.                  Sol                  Cristians                  Niizawa</p>
<p>6. Datos del sinodal 4                  Grado                  Nombre(s)                  Apellido paterno                  Apellido materno</p>	<p>6. Datos del sinodal 4                  Biól.                  Lucia Yoscelina                  Centeno                  Betanzos</p>
<p>7. Datos del trabajo escrito                  Título                   Número de páginas                  Año</p>	<p>Germinación de semillas de <i>Talauma mexicana</i> deshidratadas en ambientes controlados                   68p                  2011</p>

*A mis padres, Ceci y Antoine*

*A mis queridas:*

*Lupi y Lore*

*Emmy y Sergio*

*A Toño, mi bro*

*El aprendizaje más útil está motivado por uno mismo,  
continúa a lo largo de la vida y procede  
del enfrentamiento directo con los desafíos.*

**Al Siebert, 2007**

### **Agradecimientos:**

En esta tesis participaron muchas personas importantes en mi vida, ya sea de manera directa o indirecta, pues no solo contribuyeron a concretar lo que se presenta en este escrito, si no a mi propia consolidación como bióloga y como persona, por lo cual les estoy eternamente agradecida. A mis familiares, amigos y colegas de los que he aprendido y con los que he vivido experiencias inolvidables, muchas gracias a todos.

Agradezco a mis padres, los amo y me siento orgullosa de ser su hija. Son la hojita con la que aprendí a caminar y mis más grandes maestros. Este es uno más de los logros que hemos cosechado juntos, y todavía hay más por venir.

A mi bro, Toño, que siempre estuvo ahí para mi, en las buenas y en las malas, mi vida sería desastrosa y triste sin ti bro.

A mi tía Lupi y a mis primos Emmy, Lore y Sergio, que me abrieron sus corazones y las puertas de su casa para poder llegar a las clases; me ofrecieron un espacio seguro donde me pude sentir querida y en confianza, innumerables momentos donde pude conocerlos mejor y conocer facetas de mi misma que no podría haber descubierto en otra situación... de no haber sido por ustedes no estaría escribiendo estas líneas.

A mi padrino Charly, que me brindó su apoyo en momentos difíciles al principio de la carrera, cuando llegué a pensar que había cometido el peor error de mi vida... que equivocada estaba, gracias a ti pude canalizar mi estrés y mis inseguridades en una actividad sumamente enriquecedora y sana en lugar de hacer tormentas en vasos de agua.

A mi asesora Reyna Osuna, que me ayudó a recuperar la confianza en mí misma cuando yo lo veía todo perdido, gracias por confiar en mí y no dejarme hundir en la frustración de un proyecto poco factible; por proporcionarme el espacio y la libertad de explorar otros caminos, involucrarme en proyectos alternos que enriquecieran mi vida académica.

Al señor Antonio Velázquez Lemus y familia de la Zona Ecoturística Amatitla, así como a la señora Dionicia Calihua Mayahua y familia del Rancho Zapotla por su hospitalidad y permitirme coleccionar los frutos de *T. mexicana* en su propiedad.

A la M en C. María Eugenia Muñiz Díaz de León, responsable del Taller de Plantas II y a la Biol. Patricia Olguín Santos, responsable del invernadero de la Facultad de Ciencias, UNAM por permitirme usar estos espacios para cuidar las semillas y plántulas de *T. mexicana*.

A la Mtra. Ana Isabel Bieler Antolín, del Laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias, UNAM por tomar las fotografías de los cortes histológicos de las semillas de *T. mexicana*.

A mis compañeros del taller, que me ayudaron a llevar las plántulas a su sitio de origen.

A mis maestros de la carrera, es especial al Dr. Zenón Cano Santana y al M. en C. Iván Castellanos Vargas, así como del Laboratorio de Estructura y Fisiología de Plantas, el Dr. Guillermo Laguna Hernández y la Dra. Alicia Brechú Franco por compartir su tiempo y su experiencia conmigo.

A la Biol. Lucía Yoselina Centeno Betanzos, por sus correcciones y su visión objetiva, que me permitió delimitar y dimensionar los alcances de mi tesis, a ser congruente y ordenada en mis ideas para poder transmitir las adecuadamente.

A la Dra. Ma. Teresa Núñez Cardona y sus alumnos de la UAM- Xochimilco, por sus consejos, palabras de apoyo, ayudarme a romper con prejuicios que solo me limitaban y a tratar de sacar el mayor provecho de todos mis proyectos.

Al Dr. Pepper®, por mantenerme despierta incontables noches de trabajo o estudio.

A la Dirección General de Bibliotecas y a la Dirección General de Cómputo Académico, UNAM por sus bases de datos, libros, revistas y tesis digitales con acceso remoto.

A los desarrolladores de Google Earth®, por poner a nuestra disposición herramientas tan útiles y maravillosas como las imágenes satelitales.

## ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN .....	11
1.1	Antecedentes.....	12
1.1.1	Semilla.....	12
1.1.2	Manejo y almacenamiento de semillas: Bancos de germoplasma .....	13
1.1.3	Clasificación de semillas con base en su respuesta al almacenamiento.....	16
1.1.4	Tolerancia a la deshidratación.....	18
1.1.5	Germinación .....	20
1.1.5.1	Fases de la germinación.....	20
1.1.5.2	Factores que afectan la germinación .....	21
1.1.6	<i>Talauma mexicana</i> .....	27
1.1.6.1	Clasificación botánica.....	27
1.1.6.2	Descripción de la especie.....	27
1.1.6.3	Distribución.....	29
1.1.6.4	Usos e importancia.....	30
1.1.6.5	Estudios realizados.....	32
1.2	Justificación .....	34
1.3	Objetivos.....	35
1.3.1	Objetivo general .....	35
1.3.2	Objetivos particulares.....	35
II.	MÉTODOS.....	36
2.1	Trabajo de campo .....	36
2.2	Trabajo de laboratorio .....	36
2.2.1	Contenido de humedad.....	37
2.2.2	Prueba de viabilidad .....	38
2.2.3	Tratamientos de deshidratación.....	39
2.2.4	Prueba de germinación .....	39
2.2.5	Análisis morfométrico e histológico .....	41
2.3	Modelo estadístico.....	44
III.	RESULTADOS .....	45
3.1	Contenido de humedad.....	45
3.2	Prueba de viabilidad .....	46

3.3 Prueba de germinación .....	47
3.4 Análisis morfométrico.....	49
3.5 Análisis histológico e histoquímico .....	50
IV. DISCUSIÓN.....	55
V. CONCLUSIONES .....	61
LITERATURA CITADA.....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Talauma mexicana</i> , flor y fruto .....	28
Figura 2. Semillas de <i>Talauma mexicana</i> .....	29
Figura 3. Mapa de distribución de <i>Talauma mexicana</i> .....	30
Figura 4. Sitios de colecta de frutos de <i>Talauma mexicana</i> .....	36
Figura 5. Método general .....	37
Figura 6. Viabilidad de semillas de <i>Talauma mexicana</i> .....	38
Figura 7. Deshidratación de semillas de <i>Talauma mexicana</i> .....	39
Figura 8. Método histológico .....	43
Figura 9. Esquema del embrión de <i>Talauma mexicana</i> .....	44
Figura 10. Resultados contenido de humedad de las semillas de <i>Talauma mexicana</i> .....	45
Figura 11. Resultados viabilidad de las semillas de <i>Talauma mexicana</i> .....	47
Figura 12. Corte longitudinal embrión de <i>Taluma mexicana</i> .....	51
Figura 13. Tres regiones del endospermo de <i>Talauma mexicana</i> .....	51
Figura 14. Cuerpos protéicos del endospermo de <i>Talauma mexicana</i> .....	52
Figura 15. Cutícula lipídica del endospermo de <i>Talauma mexicana</i> .....	52
Figura 16. Polisacáridos insolubles en paredes celulares del endospermo de <i>Talauma mexicana</i> .....	53
Figura 17. Embrión de <i>Talauma mexicana</i> deshidratado durante 10 días .....	54
Figura 18. Embrión de <i>Talauma mexicana</i> deshidratado durante 15 días .....	54

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Usos etnomédicos de <i>Talauma mexicana</i> .....	31
Cuadro 2. Resultados contenido de humedad y viabilidad de semillas del Rancho y de la Quinta .....	46
Cuadro 3. Resultados de la prueba de germinación de semillas de <i>Talauma mexicana</i> .....	48
Cuadro 4. Análisis morfométrico de semillas de <i>Talauma mexicana</i> .....	49



## RESUMEN

Gómez-Maqueo, X. 2010. Germinación de semillas de *Talauma mexicana* deshidratadas en ambientes controlados. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México D.F. 68p.

*Talauma mexicana* (DC.) G. Don (Magnoliace), es un árbol conocido popularmente como Yoloxochitl, cuya flor y semillas son utilizadas en la medicina tradicional mexicana en el tratamiento de algunos síntomas cardíacos. También se utiliza con fines de ornato o como aromatizante de bebidas. La destrucción y fragmentación de su hábitat, ha llevado a que la especie se encuentre catalogada dentro de la NOM-ECOL-059-2001 como una especie amenazada; así mismo, carece de planes oficiales de conservación. *Talauma mexicana* cuenta con diversos estudios de tipo fitoquímico y farmacológico de diversas partes de la planta, sin embargo, cuenta con pocos estudios que traten sobre la biología de la planta y la caracterización de sus semillas, lo que permitiría establecer planes de manejo y conservación de este recurso tanto *in situ* como en condiciones de laboratorio. Por tal motivo en el presente estudio se evaluó el contenido de humedad, viabilidad y la respuesta germinativa de semillas de *T. mexicana* sometidas a deshidratación durante 10 y 15 días en dos condiciones de humedad relativa (HR, 26% y 84.5%); así mismo, se evaluó por medio de cortes histológicos las características morfométricas del embrión en las semillas recién colectadas y embriones deshidratados, con la finalidad de encontrar alguna diferencia anatómica relacionada con la pérdida de viabilidad que se ha observado en estudios anteriores. Las semillas de *T. mexicana* fueron colectadas en marzo de 2007 en dos localidades del municipio de Zongolica, Veracruz: El Rancho Zapotla, comunidad Tonalixco Chico, y La Quinta, comunidad Amatitla, las cuales se transportaron al laboratorio y se repartieron en los diferentes tratamientos de deshidratación y el grupo control. Así mismo se realizó una observación histológica de las semillas colectadas en el Rancho para determinar si había diferencias perceptibles en el crecimiento y desarrollo del embrión entre los diferentes tratamientos de deshidratación. A los cortes longitudinales de 8µm de espesor se les aplicaron las técnicas de tinción e histoquímicas de: Safranina-Verde

rápido, Azul-Negro de Naftol, Reactivo de Schiff, Cuádruple de Johansen, Rojo Oleoso, Lugol, Sudán III y Vainillina.

Las semillas recién colectadas del Rancho y de la Quinta presentaron diferencias significativas con una viabilidad de 38% y 82%, así como un contenido de humedad de 25% y 35% respectivamente. En los tratamientos de deshidratación el contenido de humedad disminuyó hasta 10-12% y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de deshidratación y el grupo control para cada localidad. Se observó un ligero aumento en la viabilidad de las semillas del Rancho con la deshidratación durante 10 días y a los 15 días la viabilidad fue similar a las semillas recién colectadas; las semillas de la Quinta mostraron una disminución en la viabilidad con los tratamientos de deshidratación.

En cuanto a la germinación, con las semillas de todos los tratamientos se obtuvo solamente el 11.8%, del cual el 38.7% correspondió a la semillas deshidratadas durante 10 días tanto a 26% como a 84.5% de humedad relativa, seguido de las semillas del grupo control sembradas con sarcotesta (24.19%), por lo que se recomienda la deshidratación de las semillas durante 10 días para favorecer la germinación.

El estudio histológico de las semillas recién colectadas mostró un embrión rudimentario de  $1.2 \pm 0.045$  mm de largo, en estadio de torpedo. A los 10 días de deshidratación fue evidente la elongación de los cotiledones y la aparición del procambium. El endospermo, rodeado de cutícula, presentó diferentes aspectos de acuerdo a su vecindad al embrión: proximal, intermedia y distal. La proximal mostró restos de paredes celulares con reacción positiva a proteínas y polisacáridos insolubles, siendo el área de esta región mayor a los 15 días. La intermedia presentó células grandes con núcleos prominentes y contenido granular lipoprotéico. Las células de la región distal están saturadas de cuerpos lipoproteicos muy grandes. En las etapas estudiadas fue evidente un crecimiento del embrión y mayor degradación del endospermo durante la deshidratación de la semilla, así como la acumulación, tanto en el endospermo como en el eje embrionario, de lo que podrían ser taninos condensados a los 15 días de deshidratación. Sin embargo, no se lograron observar cambios estructurales que se pudieran asociar con la pérdida de viabilidad a los 15 días, como por ejemplo una

reorganización de las membranas celulares, la cual solamente sería perceptible haciendo uso de técnicas de microscopía electrónica.

## I. INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de las semillas como unidad reproductiva de las plantas se estima que ocurrió hace aproximadamente diez mil años, cuando el hombre comprendió que al plantar una semilla podría generar una planta semejante a la que dio origen a su semilla inicial, y que esta nueva planta le proporcionaría muchas más semillas (Janick *et al.*, 1981; Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Moreno, 1996).

Este descubrimiento que ocurrió paralelamente en diferentes regiones del mundo, modificó drásticamente la vida del hombre, haciéndolo dejar de lado su hábito nómada de recolector, para formar las primeras civilizaciones; y desde entonces, las semillas han pasado a ser un recurso de seguridad y estabilidad de los pueblos, proveyéndolos de alimento de una manera más fácil y segura, a diferencia de la cacería de animales, que requería de un gasto mayor de energía y de un desplazamiento constante debido a los movimientos estacionales de los propios animales (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Moreno, 1996).

Desde entonces, por medio de las semillas se ha logrado el aprovechamiento de una gran cantidad de especies vegetales, ya no solamente como fuente de alimento para su propio consumo o de sus animales, sino para la propagación de especies maderables para la construcción, de ornato o con algún otro interés para el humano, como es el caso de las especies con uso medicinal.

En la actualidad, la semilla como unidad experimental es de vital importancia para la comunidad científica ya que ha permitido a los investigadores conocer más sobre la biología de las plantas de una manera fácil y rápida debido a que se puede reproducir un estudio las veces que sean necesarias y poder realizarlo en el período que sea más conveniente, independientemente de la temporada en la que las plantas progenitoras produjeron las semillas (Janick *et al.*, 1981; Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988). Sin embargo, para que esto sea posible, las semillas deben de mantener todas sus características lo mejor conservadas que sea posible, para lo cual se han desarrollado una amplia variedad de técnicas y métodos para mantener las semillas íntegras.

No todas las semillas resisten el almacenamiento por tiempos prolongados, por lo que actualmente se clasifican en semillas ortodoxas, intermedias y recalcitrantes. Esta calidad de almacenamiento se desconoce para la gran mayoría de las especies vegetales silvestres, dentro de las cuales se pueden encontrar muchas especies que por diferentes causas, generalmente antropogénicas, actualmente se ven amenazadas o en peligro de extinción, pero que aprovechando el conocimiento que se posee sobre otras especies domesticadas y muy estudiadas, se podrían establecer estrategias o alternativas de conservación para estas especies. Este es el caso de *Talauma mexicana*, cuyas propiedades medicinales se conocen desde la época prehispánica y que ha sido muy estudiada desde el punto de vista químico y farmacológico, pero que por el propio uso de la especie, así como por la destrucción y fragmentación de su hábitat se encuentra actualmente catalogada como una especie amenazada, de la cual realmente se conoce poco sobre su biología reproductiva o del comportamiento de sus semillas bajo condiciones controladas de almacenamiento que permitan establecer estrategias adecuadas para su aprovechamiento y conservación.

## **1.1 Antecedentes**

### **1.1.1 Semilla**

La semilla es el órgano reproductivo de las espermatofitas, que constituye una etapa de pausa del ciclo de vida y desarrollo parcial de la nueva planta, proveyendo la continuidad, entre las generaciones sucesivas de las especies que las producen, ya que en su interior contiene al embrión, que es capaz de establecerse y dar origen a una planta nueva. Para el caso de las angiospermas, la semilla se desarrolla a partir del óvulo; los tejidos circundantes del ovario de las flores dan origen a los tejidos accesorios conocidos como fruto, el cual puede fungir como un mecanismo adicional de protección e incluso como atrayente de dispersores. Generalmente la semilla es el resultado de la fusión de los gametos en la reproducción sexual, sin embargo en algunas especies se pueden formar semillas por aposporia (sin la fusión de gametas) (Esau, 1982; Parker, 2000).

En la semilla madura se encuentra el embrión, el cual está protegido por la cubierta seminal que lo envuelve y el endospermo, provisto de nutrientes almacenados (carbohidratos, lípidos y proteínas) que proporcionan alimento al nuevo esporofito que emerge de la semilla durante la germinación hasta que se convierte en un organismo fotosintéticamente activo, aunque en muchas especies es común que estos nutrientes sean absorbidos y almacenados en los cotiledones durante la maduración de la semilla (Esau, 1982; Moreira de Carvahlo y Nagakawa, 1988; Fenner y Thompson, 2005). El embrión solo o junto con el endospermo ocupan la mayor parte del volumen total de la semilla; mientras que los tegumentos, que dan origen a la cubierta seminal, a menudo sufren una reducción considerable de su espesor y una desorganización parcial (Esau, 1982).

El almacenamiento de las reservas alimenticias para el nuevo esporofito es una de las principales funciones de la semilla, pero de igual importancia es su capacidad de repartir la germinación tanto en el tiempo como en el espacio (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988), ya que además de permitir la colonización de otras áreas, también es capaz de regular por medio de sus mecanismos de latencia la germinación al momento de la madurez, como un mecanismo de resistencia a condiciones ambientales adversas como por ejemplo los cambios estacionales, la sequía o el frío, ya que las semillas pueden permanecer en un estado de latencia y/o quiescencia en el suelo durante un determinado período de tiempo, para después germinar cuando las condiciones son más adecuadas, favoreciendo así que la mayoría de los nuevos individuos no mueran antes de llegar a la madurez sexual y a la producción de nuevas semillas (Fenner y Thompson, 2005).

### **1.1.2 Manejo y almacenamiento de semillas: Bancos de germoplasma**

Las semillas ocupan un papel de gran importancia para el correcto funcionamiento de las diversas sociedades humanas como base de la alimentación, ya sea directa o indirectamente (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988). Actualmente se estima que alrededor del 50% del consumo energético a nivel mundial se basa en la ingesta de cereales, así mismo, alrededor del 20% del consumo energético mundial proviene de productos de origen vegetal, donde de manera indirecta también pueden estar implicadas semillas de una gran variedad de plantas además de los cereales (FAO, 2006). La necesidad histórica de satisfacer esta demanda de

productos de origen vegetal a nivel mundial ha tenido como consecuencia el desarrollo de diversas técnicas para tener semillas disponibles en todo momento.

En la actualidad se cuenta con técnicas de almacenamiento muy variadas, de acuerdo al uso que se les pretenda dar a las semillas; sin embargo, una de las prioridades de cualquier método de almacenamiento es conservar la viabilidad de las semillas por el mayor tiempo posible o el que sea necesario (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988). En este sentido, los bancos de germoplasma son los sitios de almacenamiento con el control más riguroso de los factores que afectan la viabilidad de las semillas, ya que estos han sido diseñados con la finalidad de conservar las semillas como una fuente de variabilidad genética dentro y entre las diversas especies vegetales, que sirvan para la investigación científica enfocada al mejoramiento, biotecnología y conservación de las especies cultivables y silvestres (Janick *et al.*, 1981; Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Goedert, 2002).

La vida en almacenamiento de cada semilla depende en gran medida de la especie y de las condiciones ambientales prevalecientes antes y durante el almacenamiento. Cuando las semillas son almacenadas durante un lapso de tiempo prolongado es necesario tener en cuenta los factores que se describen a continuación (Janick *et al.*, 1981; Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988):

- A. **Calidad inicial de las semillas.** Las semillas pueden variar en su viabilidad dependiendo de las características de la planta madre: vigor de la planta, su nivel nutricional, exposición al ataque de patógenos y plagas o condiciones de estrés. Así mismo influyen las condiciones climáticas en las que maduraron las semillas, el grado de madurez de las semillas al momento de ser cosechadas, el daño mecánico y las condiciones de secado.
- B. **Características del ambiente de almacenamiento.** Es necesario evitar condiciones favorables para la respiración y actividad enzimática de las semillas. Para ello es necesario controlar principalmente la humedad relativa del ambiente y el contenido de humedad de las semillas, mientras más bajos sean ambos, mejor conservadas permanecerán las semillas. La temperatura es otro factor de importancia, en general se

consideran bajas temperaturas de almacenamiento como las más adecuadas, así mismo es importante evitar la presencia de microorganismos como, por ejemplo, hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* y también la presencia de una gran variedad de insectos de los órdenes Coleóptera y Lepidóptera.

Actualmente existen bancos de germoplasma con colecciones muy amplias de material genético de especies cultivadas, principalmente de frijol, arroz, trigo, soya, maíz y sorgo, los cuales siguen los estándares de almacenamiento determinados por la FAO (Food and Agriculture Organization), el IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) y el CGIAR (Consultative Group on International Agricultural Research), que sugieren la conservación de semillas en cámaras frías a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  y un contenido de humedad entre 5 y 7%, almacenados en envases impermeables, herméticamente cerrados (Goedert, 2002).

Así mismo, el 'Royal Botanical Gardens, KEW' (Reino Unido) a través del desarrollo de un proyecto a escala mundial, el 'Millenium seed bank partnership', ha fomentado el resguardo de semillas de especies endémicas y en peligro de extinción en más de 50 países, entre ellos México. Este proyecto, el cual realizan en México en colaboración con la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FES-I), UNAM está enfocado en salvaguardar semillas de especies nativas de las zonas áridas y semiáridas del norte del país principalmente, conservando las semillas en bancos de germoplasma tanto en la FES-I, como en bancos en el Reino Unido (KEW, 2010). Sin embargo, pese al esfuerzo que han realizado para preservar estas especies, hasta el momento han dejado de lado otras especies de ecosistemas tropicales como los que se encuentran al sur de México, que al igual que el norte del país, también están siendo afectados por la actividad antropogénica y por tanto existe un riesgo muy elevado de pérdida de diversidad en estas regiones.

De cualquier forma, la utilización de bancos de germoplasma como estrategia para la conservación de especies silvestres, sean de zonas áridas o húmedas, es una tarea compleja, debido a que muchas semillas de estas especies no resisten condiciones de almacenamiento.



### **1.1.3 Clasificación de semillas con base en su respuesta al almacenamiento**

Las semillas se pueden clasificar en ortodoxas, recalcitrantes o intermedias, de acuerdo a su capacidad de germinación después de haber sido deshidratadas hasta alcanzar niveles muy bajos de contenido de humedad y ser almacenadas durante un periodo dado de tiempo. Existen tres factores fundamentales que modifican el tiempo que puede permanecer viable una semilla: la temperatura, el oxígeno y el contenido de agua de la misma; controlando estos tres factores es posible conservar, viables, semillas de algunas especies por más de un siglo (Roberts y Ellis 1989; KEW, 2010). Los bancos de germoplasma generalmente contienen en sus colecciones semillas que Roberts (1973) determinó con el nombre de ortodoxas, las cuales tienen la característica de poder germinar y producir plántulas normales después de haberse sometido a un proceso de secado posterior a la colecta, en el cual se reduce el contenido de humedad de la semilla hasta alcanzar un contenido entre el 10% y 5% y, una vez desecadas las semillas, es posible almacenarlas a bajas temperaturas en recipientes herméticos durante varios años.

En contraste, las semillas recalcitrantes son aquellas que deben mantener un contenido de humedad relativamente alto para poder mantenerse viables ya que sufren daño o muerte al desecarlas a contenidos de humedad menores al 30% y no pueden ser almacenadas por más de unas semanas o meses, así mismo no resisten el almacenamiento a bajas temperaturas, por debajo de los 15°C (Roberts, 1973; Bewley y Black 1994; Magnitskiy y Plaza, 2007). Hasta el momento, el determinar las condiciones adecuadas de almacenamiento de este tipo de semillas a “largo plazo” es una tarea extenuante que solo se puede determinar para cada especie por ensayo y error (Bewley y Black, 1994).

Ellis *et al.* (1990) determinaron la existencia de un tercer tipo de semillas, las intermedias, las cuales presentan un comportamiento tanto de semillas ortodoxas como recalcitrantes, ya que pueden tolerar la deshidratación a contenidos bajos de humedad entre el 10 y 5%, pero en esta condición son incapaces de tolerar las bajas temperaturas y por tanto no pueden ser almacenadas durante periodos prolongados de tiempo.

Ejemplo de semillas ortodoxas, intermedias y recalcitrantes se pueden encontrar indistintamente en todas las familias tanto de angiospermas como de gimnospermas, incluso entre especies emparentadas; aún así, se ha encontrado que las familias Fagaceae, Lauraceae y

Arecaceae presentan una gran cantidad de especies con semillas recalcitrantes (Kermode y Finch-Savage, 2002; KEW, 2010). No obstante, es posible hallar ciertos patrones de distribución de especies con determinado tipo de semillas en función del tipo de ecosistema en el cual habitan, de tal forma que la mayoría de las especies con semillas recalcitrantes se restringen generalmente a ambientes húmedos o semihúmedos y con estacionalidad poco marcada, ya sean bosques tropicales o templados, donde el establecimiento de las plántulas puede ser continuo durante todo el año (Tweddle *et al.*, 2003; Angelovici *et al.*, 2010; KEW, 2010). En cambio las semillas ortodoxas se pueden encontrar en todos los ambientes, desde las selvas húmedas hasta los ecosistemas áridos y semiáridos, lo que ha llevado a considerar esta capacidad de tolerar la deshidratación como un carácter adaptativo y funcional indispensable para la regeneración de las comunidades vegetales, en especial para las comunidades de ambientes secos y de estacionalidad muy marcada (Tweddle *et al.*, 2003; Angelovici *et al.*, 2010).

Actualmente continúa el debate concerniente al origen de las semillas tolerantes a la deshidratación (ortodoxas) y de la condición ancestral o derivada de las semillas recalcitrantes (sensibilidad a la desecación); sin embargo, la tendencia inclina la balanza hacia considerar la sensibilidad a la desecación como un carácter derivado ya que la mayoría de las angiospermas (~92%) así como de los grupos basales hasta ahora estudiados de gimnospermas presentan semillas ortodoxas (Tweddle *et al.*, 2003). Así mismo, de acuerdo con la regla de Dollo se sugiere que para caracteres tan complejos, como es la tolerancia a la deshidratación, es poco probable el surgimiento paralelo en diferentes clados, mientras que se necesita un solo gen modificado para perder la característica (Dickie y Pritchard, 2002).

Una de las diferencias más evidentes entre el desarrollo de semillas ortodoxas y recalcitrantes es que las primeras pasan por un período de desecación en la planta madre y que al momento de la dispersión éstas han entrado en un estado de “quiescencia”, que les permite permanecer en el banco de semillas del suelo hasta que las condiciones sean favorables para la germinación y el establecimiento de las plántulas; en cambio las semillas recalcitrantes llegan a la madurez con un alto contenido de humedad y en una condición metabólicamente activa, lo que le permite a la mayoría de las semillas (salvo algunos casos donde se ha reportado

latencia) germinar inmediatamente después de desprenderse de la planta madre sin detener su desarrollo (Tweddle *et al.*, 2003; Fenner y Thompson, 2005; Magnitskiy y Plaza, 2007).

#### **1.1.4 Tolerancia a la deshidratación**

La tolerancia implica la capacidad de un organismo “anhidrobiótico”, como es el caso de las semillas ortodoxas, para sobrellevar el estrés que trae consigo la pérdida de agua y la rehidratación subsecuente de sus tejidos. No obstante es importante hacer la distinción entre el estrés generado por la “falta de agua” producto de un período de sequía, por ejemplo, y la tolerancia a la deshidratación. En la primera, la mayor parte del agua permanece dentro de las células, mientras que en la deshidratación ésta se pierde casi completamente, lo que presupone diferencias entre los mecanismos de protección de las células ante la falta de agua y la deshidratación (Hoekstra *et al.*, 2003). Los mecanismos por los cuales las semillas ortodoxas adquieren la tolerancia no se comprenden totalmente, sin embargo se han descrito diversos procesos involucrados en el desarrollo de esta capacidad.

Durante el desarrollo de las semillas se pueden distinguir tres grandes fases (Kermode y Finch-Savage, 2002; Angelovici *et al.*, 2010): la “morfogénesis”, que es principalmente el proceso de desarrollo y crecimiento del embrión y las estructuras accesorias, y seguido de éste, la fase de “maduración” o la fase de “acumulación de reservas” en la cual se da toda una reorganización del metabolismo y la síntesis de sustancias nutricionales como azúcares, proteínas y lípidos. Por último, la tercera fase, la cual en estudios recientes se ha determinado como “deseccación”, se caracteriza por la pérdida gradual de casi todo el contenido de agua de la semilla y la reducción de la tasa metabólica que lleva al embrión a un estado de inactividad o “quiescencia”. Es entre la etapa final de la acumulación de reservas y el inicio de la desecación donde se considera que las semillas adquieren la tolerancia a la deshidratación, la cual se va incrementando durante el progreso de la desecación, favoreciendo la capacidad de formar plántulas normales (Bewley y Black, 1994; Angelovici *et al.*, 2010). La mayoría de las semillas ortodoxas presentan esta última fase de desecación como un evento pre-programado al final de su desarrollo en la planta madre, evento que al parecer no ocurre en la misma

magnitud en las semillas recalcitrantes, donde incluso no queda claro hasta qué punto terminan su desarrollo (Kermode y Finch-Savage, 2002).

Contrariamente a lo que se podría pensar, la desecación de la semilla es un proceso activo en cuanto a expresión de genes y metabolismo, involucrando múltiples procesos celulares entre los que se encuentran la acumulación de disacáridos y oligosacáridos, síntesis de proteínas (proteínas de choque térmico, y las abundantes en la embriogénesis tardía, LEA inducidas por ABA), activación de antioxidantes, reconfiguraciones de la estructura celular y el aumento gradual y constante en densidad (Bewley y Black, 1994; Kermode y Finch-Savage, 2002; Hoekstra *et al.*, 2003; Angelovici *et al.*, 2010). Así mismo se ha sugerido que las diferencias en la tolerancia entre diferentes especies se debe a las diferencias físicas y estructurales de la matriz interna de cada semilla, que aparentemente involucra la interacción entre los complejos formados por azúcares y proteínas con las sales, ácidos orgánicos y aminoácidos presentes (Angelovici *et al.*, 2010).

La presencia de estos compuestos permite proteger los tejidos de la semilla ante el estrés de la desecación al estabilizar las membranas y proteínas, favorecer la vitrificación del citoplasma inmovilizando compuestos y enzimas, así como proteger a las células de la oxidación por la presencia de radicales libres y especies oxigenadas altamente reactivas (ROS) que de manera natural se acumulan durante la desecación; así mismo, muchos de estos compuestos realizan funciones como sustratos o mensajeros de señales una vez que inicia la germinación (Bewley y Black, 1994; Kermode y Finch-Savage, 2002; Hoekstra *et al.*, 2003; Bailly *et al.*, 2008; Angelovici *et al.*, 2010). Por otro lado, se ha demostrado que durante la desecación no solamente se sintetizan los compuestos antes mencionados, sino que esta fase también es una fase preparatoria para la germinación, ya que es una etapa activa de transcripción y regulación de genes asociados con procesos biológicos y en gran medida para la germinación, por lo cual la fase de desecación se considera una fase de preparación para entrar al estado de quiescencia y posteriormente la germinación (Angelovici *et al.*, 2010).

### **1.1.5 Germinación**

El definir qué es el proceso de germinación es una problemática que persiste hasta el momento en la comunidad científica, debido a la complejidad que la caracteriza y a la imposibilidad de trazar una línea definitiva que delimite donde inicia y donde termina este proceso; sin embargo es común definir a la germinación como el proceso por el cual el embrión lleva a cabo, a nivel fisiológico, la reanudación o reactivación de toda su maquinaria metabólica que le permita continuar con su crecimiento y, desde el punto de vista morfológico, es el crecimiento activo del embrión que resulta en la ruptura de la cubierta seminal. De manera resumida, la germinación es el proceso por el cual el embrión de una semilla se transforma en una planta fotosintética independiente, siempre y cuando la semilla sea viable y se encuentre en condiciones favorables de temperatura, suministros de agua, oxígeno y en algunos casos de luz (Jann y Amen, 1977; Moreno, 1996; Don, 2006).

La energía utilizada durante la germinación proviene de la degradación de las reservas alimenticias de la propia semilla, valiéndose de la respiración celular, la cual es un proceso ininterrumpido entre la maduración de la semilla y la germinación; este proceso simplemente se reduce en intensidad en la semilla a tal grado que es casi imperceptible, pero al ser colocada en el sustrato y condiciones adecuadas, las actividades metabólicas se aceleran y culminan con el reinicio efectivo del crecimiento del eje embrionario.

Sin embargo, las diferentes definiciones de germinación resultan una simplificación de este proceso ya que no describen las fases o etapas que la caracterizan y que le son indispensables para lograr la reactivación de la maquinaria metabólica y el subsecuente crecimiento del embrión, que tendrán como desenlace el establecimiento de la plántula (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988).

#### **1.1.5.1 Fases de la germinación**

- I. *Imbibición.* En esta fase ocurre una absorción rápida de agua. En alrededor de una o dos horas la semilla alcanza un contenido de humedad que oscila entre el 35 y 40% para semillas con reservas cotiledonarias y de 25 a 30% para semillas con reservas endospermáticas. En general es una fase muy rápida que se caracteriza por un

incremento acentuado de la respiración celular y la degradación de las sustancias de reserva debida a la síntesis de enzimas. Esta fase de imbibición de las semillas es un proceso pasivo, por diferencias del potencial hídrico entre la semilla y el medio, por lo cual incluso en semillas muertas se puede observar un incremento en el peso fresco de las mismas, sin embargo en estas semillas no se reactiva la maquinaria metabólica (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Hartmann y Kester, 1997; Don, 2006).

II. *Degradación y traslocación.* En esta fase se da el transporte activo de las sustancias producidas durante la fase anterior, desde el tejido de reserva hacia el tejido meristemático, la absorción de agua disminuye considerablemente y la intensidad de la respiración comienza a decrecer lentamente. Así mismo el eje embrionario todavía no reanuda completamente su crecimiento y elongación. En comparación con la fase I, esta fase es mucho más larga, de ocho a diez veces la duración de la fase I (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Hartmann y Kester, 1997; Don, 2006).

III. *Crecimiento de la plántula.* En esta fase se puede apreciar el crecimiento del eje embrionario como consecuencia de la reactivación de la división celular. Se observa un nuevo incremento en la absorción de agua y la respiración celular; las sustancias que fueron transportadas en la fase anterior se utilizan para formar el citoplasma, protoplasma y paredes celulares. En esta fase es posible observar la protrusión de la radícula a través de la cubierta seminal (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Hartmann y Kester, 1997; Don, 2006).

### **1.1.5.2 Factores que afectan la germinación**

El que una semilla germine o no depende de una amplia variedad de factores internos (asociados a la historia de vida de cada semilla) y externos (condiciones ambientales prevalecientes durante la germinación) que modifican la capacidad germinativa de cada semilla (Janick *et al.*, 1981; Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Don, 2006):

I. Factores externos:

- a) *Agua*: es indispensable para la germinación ya que la rehidratación de los tejidos es el reactivador de la respiración celular y del resto de las actividades metabólicas de la semilla. Así mismo el aumento en volumen provoca la ruptura de la testa. Los requerimientos de agua varían dependiendo de la especie; por lo general ésta debe estar a la capacidad de carga del sustrato, ya que un exceso de agua generalmente impide la correcta aireación de la semilla.
- b) *Oxígeno*: la respiración celular es un proceso meramente oxidativo indispensable para la degradación de las sustancias de reserva y el suministro de nutrientes y energía para el eje embrionario, por tanto las semillas requieren de un suministro adecuado de oxígeno. A excepción de algunas especies de plantas acuáticas, un decremento en la concentración del oxígeno atmosférico generalmente impide la germinación.
- c) *Temperatura*: la tasa a la cual se lleva a cabo la germinación es dependiente de la temperatura. Afecta directamente la tasa de absorción de agua, la tasa de difusión de los gases en la respiración celular, regula la estabilidad y velocidad de las reacciones enzimáticas e incluso la solubilidad de ciertos compuestos en los tejidos de la planta como azúcares, almidón y grasas. Un incremento en la temperatura, hasta ciertos límites, generalmente incrementa la tasa de germinación; sin embargo, un aumento en la temperatura, una vez que se ha llegado al límite en el cual se aceleran los procesos mencionados, puede reducir, incluso impedir la germinación debido a la reducción de la eficiencia de la actividad enzimática y la desnaturalización de proteínas.
- d) *Luz*: Algunas especies requieren de luz para poder germinar. Esto generalmente ocurre en especies cuyas reservas nutricionales son muy escasas, favoreciendo que sólo las semillas que se encuentran cerca de la superficie sean las que germinen. En contraste, hay algunas semillas que su germinación es inhibida por la luz, como es el caso de *Trifolium subterraneum* y *Phacelia tanacetifolia*, cuyas semillas germinan en completa obscuridad (Janick *et al.*, 1981; Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Don, 2006).

## II. Factores internos

- a) *Longevidad*. El tiempo real que puede permanecer viva una semilla es prácticamente imposible de determinar; es así que semillas de diferentes especies responden de manera distinta a las mismas condiciones ambientales y viven por períodos extremadamente variables. Sin embargo se sabe que las semillas envejecen rápidamente si son expuestas a condiciones extremas como alta temperatura y humedad (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Don, 2006).
- b) *Viabilidad*. Es el tiempo efectivo de vida de una semilla dentro de su período de longevidad; sin embargo, una semilla viable puede no germinar, al no presentarse las condiciones adecuadas (Jann y Amen, 1977). La viabilidad está dada en función de los siguientes factores (Moreira de Carvahlo y Nakagawa, 1988; Don, 2006):
  - i. Características genéticas de la planta progenitora.
  - ii. Vigor de las plantas progenitoras. Es posible que una planta que se vea disminuida por la acción de algún factor ambiental, generalmente por deficiencias nutricionales, produzca semillas con un período de viabilidad más corto.
  - iii. Condiciones climáticas predominantes durante la maduración de la semillas. Estos pueden favorecer el crecimiento de microorganismos que dañen o incluso maten a las semillas, así mismo pueden causar que las semillas germinen en la planta madre antes de la cosecha. En relación al régimen hídrico puede suceder que una deficiencia de agua durante la fase de acumulación de materia seca puede generar semillas vanas, así como lluvias a partir de la fase de deshidratación de la semilla puede deteriorar la semilla madura.
  - iv. Grado de daño mecánico. El daño mecánico puede ocasionar la muerte de la semilla, así como fracturas en las cubiertas que facilitan la entrada



de microorganismos patógenos que al momento de la germinación reduzcan el vigor o provoquen la muerte del embrión.

v. Condiciones ambientales de almacenamiento. Ciertas condiciones ambientales pueden aumentar el metabolismo de las semillas pero no lo suficiente para provocar la germinación. Esto ocasiona que se acelere la tasa de deterioro de la misma por la reactivación del metabolismo.

c) *Fitohormonas*. Las giberelinas (GA) juegan un papel muy importante en la germinación de diversas semillas, aunque su efecto se ha estudiado más en cereales, donde mediante la inducción de la síntesis de  $\alpha$ -amilasa y su posterior secreción desde las capas aleuronales al endospermo favorece el metabolismo de las sustancias de reservas por parte del embrión para que reanude su desarrollo y crecimiento. Este proceso es inhibido por el ABA, por tanto, el balance entre GAs y ABA, así como la sensibilidad a ambas fitohormonas influyen en el proceso de germinación. Las GAs también pueden controlar la germinación induciendo la síntesis de enzimas que hidrolizan los galactomananos ( $\beta$ -endomananasas), componentes estructurales de la pared celular de los tejidos envolventes del embrión (zona del endospermo que rodea el extremo de la radícula) (Azcón-Bieto y Talón, 2008). Así mismo, la aplicación exógena de estas dos fitohormonas puede favorecer o inhibir el proceso de germinación (Jann y Amen, 1977).

d) *Latencia*. Generalmente se considera que la latencia es un mecanismo que ha evolucionado para prevenir que las semillas germinen en condiciones no favorables para el crecimiento subsecuente de las plántulas (Fenner y Thompson, 2005; Don, 2006). Como lo definen Vleeshouwers *et al.* (1995), la latencia es una característica propia de la semilla y define las condiciones necesarias para la germinación. Cunha-Dias (2005), describe que la latencia puede presentarse de dos formas: “primaria” la cual se instala durante la maduración de la semilla, y está regulada por mecanismos internos físicos o fisiológicos de cada semilla que restringen la germinación; y la latencia

“secundaria”, la cual acontece en semillas que en un principio no presentaban latencia, pero que por condiciones de estrés o por un ambiente desfavorable para la germinación se induce el estado de latencia en estas semillas.

Se considera que existen tres tipos fundamentales de latencia, los cuales están asociados al tipo de ecosistemas en los que se desarrollan esas semillas (Baskin y Baskin, 1998; Fenner y Thompson, 2005):

- a) *Latencia morfológica*. El embrión de la semilla es inmaduro al momento de la dispersión y por tanto requiere de un período de crecimiento o diferenciación antes de que se pueda llevar a cabo la germinación. Este tipo de latencia generalmente se encuentra en especies con semillas de embriones rudimentarios o lineares de las familias Annonaceae, Araceae y Monimiaceae entre otras y es frecuente encontrarla en semillas de especies maderables y en pastizales inundables en zonas con alta humedad, generalmente de distribución tropical. Así mismo existe una variante de este tipo de latencia, la latencia morfofisiológica, la cual se da en embriones rudimentarios o lineares que, además de requerir de un período de crecimiento o diferenciación, también presentan latencia fisiológica. La encontramos en familias como la Apiaceae, Araceae, Liliaceae y Magnoliaceae entre otras. Este tipo de latencia parece ser el más primitivo ya que aparece en el árbol filogenético antes que los otros tipos de latencia y se cree estuvo presente en gimnospermas, proveyendo de un método sencillo para distribuir la germinación de sus semillas en el tiempo.
- b) *Latencia fisiológica*. Previene la germinación hasta que ocurra un cierto cambio químico en la semilla. Las semillas de algunas especies que presentan latencia fisiológica tienen ciclos en los que entran y salen de la latencia hasta que las condiciones son favorables para la germinación. Este es el tipo de latencia de mayor distribución en los diferentes ecosistemas.

- c) *Latencia física*. Estas semillas tienen cubiertas impermeables, y para que el agua pueda entrar a la semilla primero se requiere de un proceso de escarificación que rompa o adelgace las cubiertas. Esta latencia precisa generalmente de altas temperaturas, variaciones amplias en la temperatura o fuego, y no requiere de la imbibición previa de la semilla, por tanto es más común encontrarla en especies que viven zonas con una estación seca muy marcada, incluyendo bosques tropicales caducifolios, sabanas, desiertos, estepas y matorrales.

Tratamientos para superar la latencia de las semillas (Hartmann y Kester, 1997).

- a) Escarificación mecánica. Las cubiertas de las semillas duras se raspan o liman con una lija, o también se pueden quebrar con un martillo. Después de este tratamiento las semillas se pueden almacenar o sembrar de inmediato. Sin embargo las semillas son más susceptibles a daño por organismos patógenos y no se almacenan bien en comparación con aquellas no escarificadas.
- b) Escarificación con agua caliente. Se colocan las semillas en una proporción de 4 a 5 veces su volumen de agua caliente a temperatura entre 77° y 100°C. De inmediato se retira la fuente de calor y las semillas se dejan remojar durante 12 a 24 h en el agua que se va enfriando gradualmente. De ordinario, las semillas escarificadas por este método deben ser sembradas inmediatamente después del tratamiento con agua caliente.
- c) Escarificación con ácido. Las semillas secas se colocan en recipientes y se cubren con ácido sulfúrico concentrado en proporción semilla/ácido de 1:2. Durante el tratamiento la mezcla debe mantenerse en agitación a fin de obtener resultados uniformes, el tiempo va desde 10 minutos hasta 6 o más horas. Se retiran del ácido y se limpian con agua corriente, después se pueden sembrar o secar y guardarse para su siembra posterior.
- d) Estratificación. En este método las semillas se colocan en un sustrato húmedo y son sometidas a un período de enfriamiento para que se lleve a cabo la

postmaduración del embrión. La temperatura usual de estratificación es de 0 a 10°C. Se ha observado que la estratificación disminuye los niveles de ABA endógenos de la semilla y en algunos casos aumenta los niveles de GA endógena, cuyo balance es importante para la germinación de algunas semillas (Jann y Amen, 1977).

- e) Estratificación cálido-húmedo. Conservando las semillas en un medio no estéril, cálido-húmedo (por ejemplo tierra arenosa no pasteurizada) durante varios meses, se pueden ablandar las cubiertas por la acción de microorganismos (Hartmann y Kester, 1997).

## **1.1.6 *Talauma mexicana***

### **1.1.6.1 Clasificación botánica**

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.  
Superorden: Magnolianaes Takht.  
Orden: Magnoliales Juss. ex Bercht. & J. Presl  
Familia: Magnoliaceae Juss.  
Género: *Talauma* Juss.  
Especie: *Talauma mexicana* (DC.) G. Don.

(Palacios, 2006)

### **1.1.6.2 Descripción de la especie**

*Talauma mexicana* (DC.) G. Don (Magnoliaceae) es un árbol perennifolio, de hasta 30m de altura, tronco recto, copa redondeada y compacta. Sus hojas están dispuestas en espiral, son simples, grandes, oblongas, coriáceas y brillantes, de color verde oscuro por el haz y claro por

el envés, lámina de 12×6.5 a 23×13 cm y peciolo de 4 a 9 cm de largo. Sus flores son solitarias, de sépalos blancos, gruesos, carnosos y aromáticos, presentan numerosos estambres; son terminales y están en pedúnculos. Sus frutos son policárpicos, leñosos, ovoides, pardo verdosos y aterciopelados, de forma semejante a una chirimoya. Florece de abril a junio, y fructifica de junio a marzo del año siguiente (Fig.1) (Martínez, 1969; Penington y Sarukhán, 1998; Waizel, 2002).

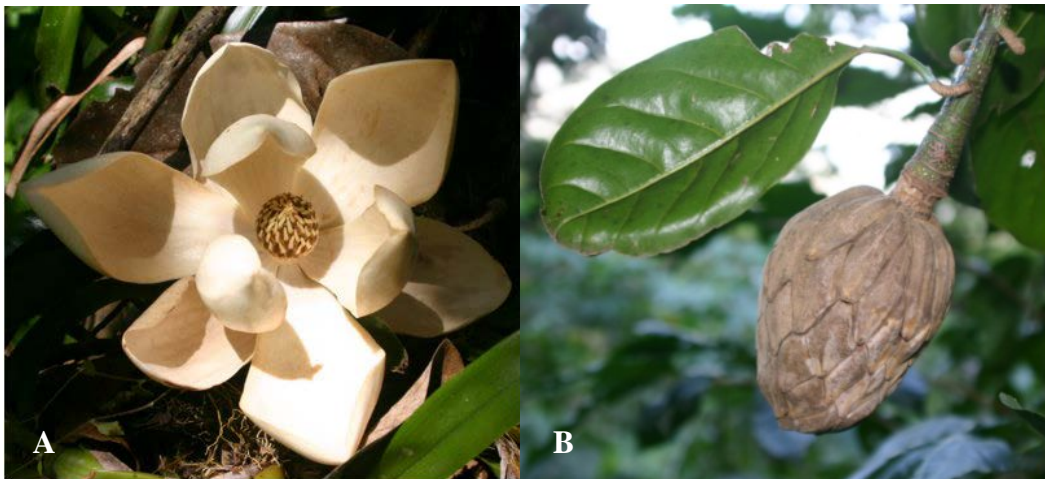


Fig.1. *Talauma mexicana*. A: flor; B: fruto y hoja.

Las semillas maduras tienen un tamaño promedio de 12 mm de longitud por 11 mm de ancho (Osuna, 1997). Presentan las siguientes estructuras:

1. Un embrión rudimentario con dos cotiledones, ubicado en el extremo micropilar (Crocker y Barton, 1957; Alcántara-Flores, 2002).
2. El endospermo, el cual abarca casi completamente el volumen total de la semilla, es de consistencia oleosa perceptible al tacto, formado por células de parénquima de forma isodiamétrica con abundante contenido lipídico y protéico (Alcántara-Flores, 2002).
3. La testa, es dura, de color café oscuro o negra y permeable (Callaway, 1994; Osuna, 1997). Presenta un esclerénquima en empalizada con células alargadas en sentido perpendicular a la superficie (Alcántara-Flores, 2002).

4. Una sarcotesta, la cual es de color rojo salmón, grasosa y carnosa (Callaway, 1994; Osuna, 1997). Presenta una epidermis de tres estratos de células rectangulares con su eje mayor paralelo a la superficie, de paredes celulares gruesas y con abundante contenido celular; estomas anomocíticos distribuidos de forma desigual con la mayoría de éstos concentrados en la zona calazal (Fig. 2) (Alcántara-Flores, 2002).

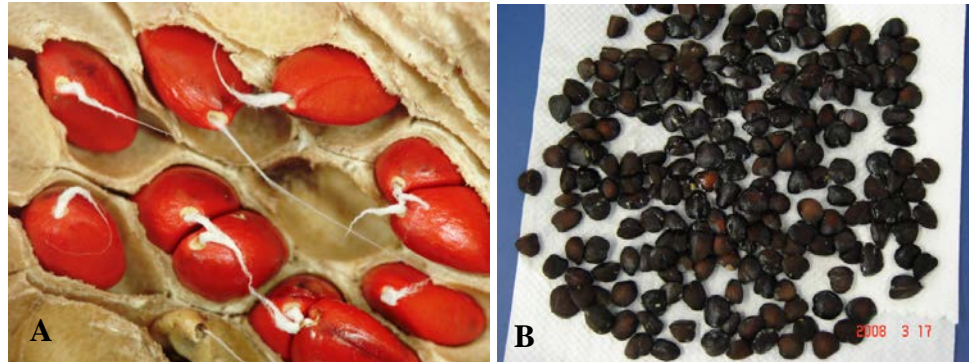


Fig.2. Semillas de *T. mexicana* con sarcotesta (A) y sin sarcotesta (B).

### 1.1.6.3 Distribución

Se distribuye en bosque caducifolio y selva alta perennifolia de la vertiente del Golfo de México desde el norte de Puebla y Veracruz hasta el norte de Chiapas, a lo largo de la Sierra Madre Oriental y en la vertiente del Pacífico en Guerrero (Zulueta y Soto, 1993; Pennington y Sarukhán, 1998). Es predominantemente silvestre, crece sobre suelos calizos, relativamente antiguos o de materiales metamórficos, preferentemente a una altitud entre los 450 y 1500 m (Pennington y Sarukhán, 1998; Waizel, 2002) (Fig. 3).

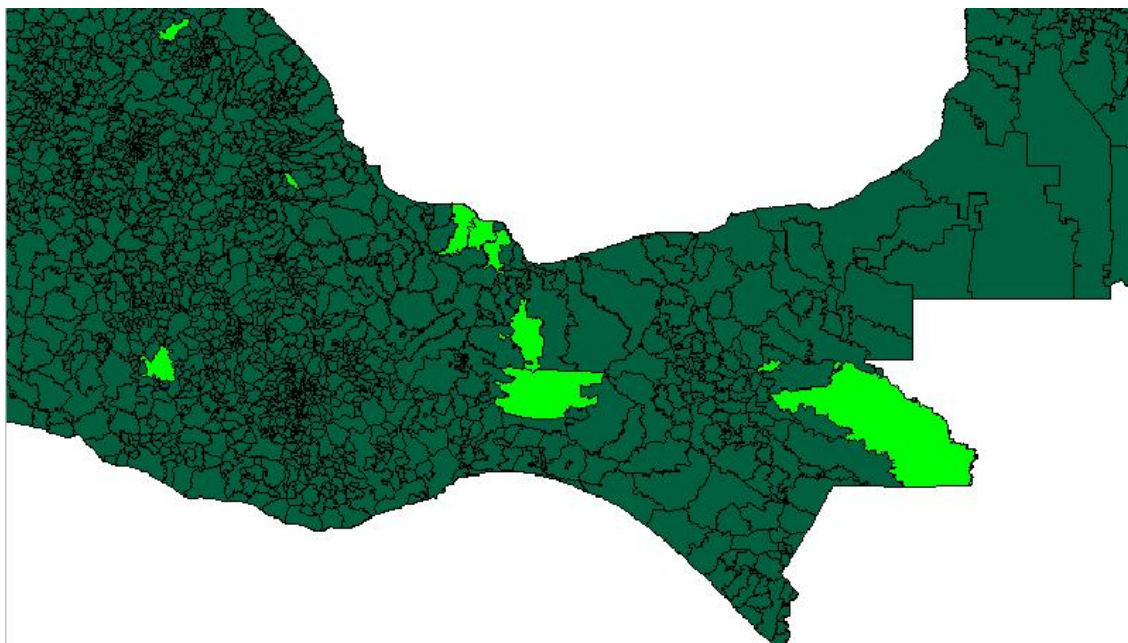


Fig.3. Mapa de distribución en México de *Talauma mexicana*, las regiones en verde claro indican la presencia de la especie (tomado de Palacios, 2006).

#### 1.1.6.4 Usos e importancia

*Talauma mexicana* recibe generalmente el nombre de Yoloxóchitl, que significa “flor de corazón” en náhuatl, aludiendo a la forma de la flor cuando todavía no abre y a sus propiedades medicinales contra algunas afecciones cardíacas (Martínez, 1969). Era considerado uno de los árboles ornamentales más estimados en los jardines de Moctezuma por su apariencia, sus propiedades medicinales, cualidades aromáticas y hasta por sus cualidades mágicas, por lo cual las flores eran ampliamente utilizadas para dar sabor y aroma a las bebidas de cacao, como remedio para el ardor de barriga e incluso para elaborar amuletos de protección para los viajeros. En la actualidad se siguen usando sus flores con fines de ornato, para perfumar el ambiente, como saborizante de atoles y en algunos rituales indígenas (Waizel, 2002).

A pesar de que actualmente el uso más generalizado del Yoloxóchitl está reportado contra afecciones cardíacas, es hasta los siglos XIX y XX donde se encuentran la mayor cantidad de referencias de su uso en la medicina popular como cardiotónico, para el control de

enfermedades cardiacas o para la curación de enfermedades del sistema nervioso y cardiovascular; por lo que hasta antes del siglo XIX se reportan otros usos muy variados como antiparasitario, astringente, antidiarreico, contra la esterilidad femenina, antiespasmódico, antipirético, diurético, contra la parálisis, para la fertilidad y contra síndromes de filiación cultural como el “susto”, “nervios” o “alferecía”, entre otros (Cuadro 1) (Waizel, 2002).

Cuadro 1. Algunos usos etnomédicos de *T. mexicana* (tomado de Waizel, 2002). \*Mente de Abdera: retraso mental, locura o esquizofrenia. \*\* Alferecía: convulsiones.

<b>Parte usada y forma de preparación</b>	<b>Usos o propiedades atribuidas</b>
Jugo, raíz y corteza, combinado con Flor de Cacahuaxóchitl	“Expulsar el mal humos de pecho” contra la “Mente de Abdera”*
Cocimiento de tronco, mezclado con Xochinacaztli, Cacalotl, Tlilxóchitl, Chollopahtli y cola de Tlacuatzin	Contra la esterilidad femenina, antipirético y astringente
Flor, mezclada con cáscara de Cacalotl, cocimiento	Fortalece el corazón, estriñen vientre suelto
Jugo de flor combinado con Cacao	Para curar la “melancolía”
Flor tostada y pulverizada, suspendida en agua	Astringente, para curar la diarrea
Flor, corteza, semillas, infusión en agua caliente	Malestares cardiacos, “dolor de corazón”, dolor de estómago, “susto”, “nervios”, esterilidad femenina
Sépalos, infusión	Malestares cardiacos
Flor y/o corteza, tisana	Enfermedades cardiacas, dolor de pecho, “desesperación”
Flor, cocimiento en agua caliente	Males cardiacos, cambios de presión arterial, derivados de enfermedad de



	los nervios
Flores, semillas, infusión acuosa	Antiespasmódico, parálisis
Anteras, extracto alcohólico	Epilepsia, “Alferecía”***
Flor, combinada con <i>M. grandiflora</i> , y 3 toronjiles, en té	Enfermedades del corazón y los nervios

Las formas de preparar el Yoloxóchitl también son muy variadas, sin embargo predomina la administración por vía oral de infusiones, cocimientos y extractos en agua de distintas partes de la planta, no obstante, la flor es la parte más utilizada (Waizel, 2002).

#### 1.1.6.5 Estudios realizados

A finales del siglo XIX se realizaron los primeros estudios químicos de la composición de las flores, semillas, hojas y corteza de *T. mexicana*, donde se reporta la identificación de un aceite esencial, una resina, el flavonoide quercetina y taninos en las flores (Armendáriz 1891, en Waizel, 2002). Así mismo se han aislado de sus flores algunos alcaloides como liriodenina y una lactona sesquiterpénica (Kametani *et al.*, 1975 en Waizel, 2002), compuestos de la fracción no alcaloidea como p-hidroxibenzofenona, ácido trimésico y quercitol (Guerra, 1937; Sodi-Pallares y Martínez-Garza, 1947; Collera *et al.*, 1963, en Waizel, 2002).

Armendáriz y Río de la Loza, en 1892 (en Osuna, 1997) reportan en la semilla y corteza la presencia de un glucósido y un alcaloide al que denominaron Talaumina. Por otro lado, Henry (en Pastelín, 1993) reporta la presencia de dos alcaloides en las hojas: Aztequina y Talaumina, de las cuales, el primero está en duda su existencia. En otro estudio, Collera *et al.*, en 1963 (en Pastelín, 1993) aislaron por cromatografía de los extractos obtenidos de la corteza un aceite aromático y betasitosterol, además lograron cristalizar la costunolída.

Osuna (1997), reporta en un estudio fitoquímico la presencia de flavonoides, terpenos, esteroides y glicósidos en las flores y semillas, en extractos realizados con acetato de etilo y la presencia de alcaloides, flavonoides y abundantes glicósidos en flores y semillas en el extracto con metanol.

*Talauma mexicana* también cuenta con diversos estudios de la actividad farmacológica de las flores, semillas, hojas y corteza, ya sea pulverizados o en extractos aplicados en diversos modelos animales, incluso en humanos. Mendoza y Herrera en 1866 (en Osuna, 1997) describen la acción digitalica de las semillas y corteza. Pérez y Roca (en Waizel, 2002), atribuyen a los extractos de esta planta una acción similar a la adrenalina. Terrés, en Martínez (1969) reportó el efecto de los extractos en agua y alcohol de corteza, semillas y flores, observando un aumento en la amplitud del pulso, así mismo observó un efecto regulador de las contracciones cardiacas, sin embargo su uso prolongado provocó arritmia en el pulso. Herrera (1891, en Waizel, 2002) reporta el efecto de las semillas para controlar la epilepsia. Los extractos hidroalcohólicos obtenidos de las flores también presentaron actividad farmacológica, al mejorar la contracción del músculo estriado isquémico, mostrando un efecto similar a la administración de glucósidos cardioactivos, sin embargo los propios autores mencionan que necesitan más estudios para confirmar su actividad contra la insuficiencia cardiaca. Probaron su efecto en el sistema músculo-esquelético de gatos y observaron un efecto vasoconstrictor y estimulante semejante al producido con *Digitalis purpurea*, sin embargo sigue habiendo controversia sobre su aplicación (<sup>a</sup>Pardo, 1956; <sup>b</sup>Pardo, 1956).

A pesar del amplio interés que existe en las propiedades medicinales de esta planta, existen pocos trabajos enfocados a la propagación y conservación de este recurso.

Osuna (1997) caracterizó morfológicamente las semillas de *T. mexicana* y el comportamiento germinativo de las mismas bajo distintos procesos de escarificación, los cuales mostraron que las semillas tienen una cubierta dura pero no impermeable, sin embargo, la alta mortandad de las semillas podría estar asociada a la baja viabilidad de las semillas, la dureza de la cubierta seminal que impide el crecimiento del embrión o presencia de inmadurez embrionaria, por lo cual se requeriría un período de postmaduración para favorecer la germinación. Así mismo describe histológicamente la presencia de células glandulares y abundantes depósitos de almidón en la sarcotesta.

Osuna *et al.* (2000) describieron el comportamiento de las semillas de *T. mexicana* en diferentes condiciones de almacenamiento, clasificándolas como intermedias, ya que resisten la deshidratación a porcentajes menores del 10%, pero no resisten el almacenamiento en frío;

así mismo observaron una disminución drástica de la viabilidad después de 20 días posteriores a la cosecha.

Por otro lado, en dos estudios recientes de germinación *in situ* en el estado de Chiapas se ha logrado propagar el Yolojóchitl en condiciones de invernadero, donde Hernández-Najarro (2009) obtuvo un 16.8% de germinación y recomienda la remoción de la sarcotesta para facilitar la germinación ya que actúa como una barrera para la imbibición de la semilla. Así mismo, Becerra-Vázquez (2010) reporta porcentajes muy altos de germinación (80.8%) y una supervivencia de plántulas de 94%.

## **1.2 Justificación**

Actualmente el Yolojóchitl se encuentra considerado dentro de la NOM-ECOL-059-2001 como una especie amenazada y carece de planes oficiales de manejo o conservación en los bosques donde se distribuye, salvo algunos programas locales en el estado de Veracruz. Medina y Soto (2003), reportan que para el estado de Veracruz, más del 50% de los ejemplares de *T. mexicana* se han colectado en zonas con perturbación por actividad antropogénica que van del nivel intermedio (alteraciones en la composición, estructura y dinámica funcional de los elementos bióticos) al nivel alto (predominio de agroecosistemas y modificación de los componentes abióticos como microclima, suelo, aguas superficiales y subterráneas). De no tomarse medidas precautorias adecuadas, podría volverse una fuerte presión sobre las poblaciones del Yolojóchitl, ya que, como se muestra en la figura 3, se distribuye en zonas limitadas muy dispersas y aisladas unas de otras y, por ende, fácilmente acercaría al Yolojóchitl cada vez más a la extinción. Esto, aunado al poco conocimiento que se tiene sobre las características físicas y fisiológicas de las semillas y a su condición como semillas intermedias que dificulta su manipulación en condiciones de laboratorio, hacen indispensable la búsqueda de alternativas para la conservación de la especie tanto en sus zonas de distribución como haciendo uso de técnicas *ex situ*, como es el caso de los bancos de germoplasma.

### 1.3 Objetivos

#### 1.3.1 Objetivo general

Describir el comportamiento de las semillas de *T. mexicana* en dos diferentes condiciones de almacenamiento y determinar por medio de cortes histológicos los cambios morfológicos en el desarrollo del embrión en respuesta al almacenamiento.

#### 1.3.2 Objetivos particulares

- Evaluar la viabilidad, contenido de humedad y germinación de las semillas de *T. mexicana* recién colectadas y deshidratadas durante 10 y 15 días a 26% y 85% de humedad relativa.
- Evaluar la respuesta germinativa de semillas de *T. mexicana* deshidratadas durante 10 y 15 días, aplicando GA<sub>3</sub> 10<sup>-7</sup> M.
- Evaluar la respuesta germinativa de semillas de *T. mexicana* deshidratadas durante 10 y 15 días, escarificadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
- Caracterizar morfométricamente el embrión de las semillas de *T. mexicana*.
- Describir por medio de técnicas de tinción e histoquímicas cambios en el embrión y endospermo de semillas de *T. mexicana* recién colectadas en comparación con semillas deshidratadas durante 10 y 15 días en 26% y 84.5% de humedad relativa.

## II. MÉTODOS

### 2.1 Trabajo de campo (sitio de colecta)

Se realizó la colecta de frutos del 8 al 10 de marzo del 2007, en el municipio de Zongolica Ver., en dos localidades: el Rancho Zapotla, comunidad Tonalixco Chico ( $18^{\circ} 38.811' N$ ,  $96^{\circ} 58.342' W$ , a 925 m.s.n.m.), y la Quinta, comunidad Amatitla ( $18^{\circ} 39.156' N$ ,  $96^{\circ} 59.85' W$ , a 1,202 m.s.n.m.) (Fig.4). La zona se caracteriza por presentar vegetación de tipo bosque mesófilo de montaña, con un clima semicálido húmedo con lluvias todo el año (Acf), y precipitación media anual de 2 500 mm (Zulueta y Soto, 1993).

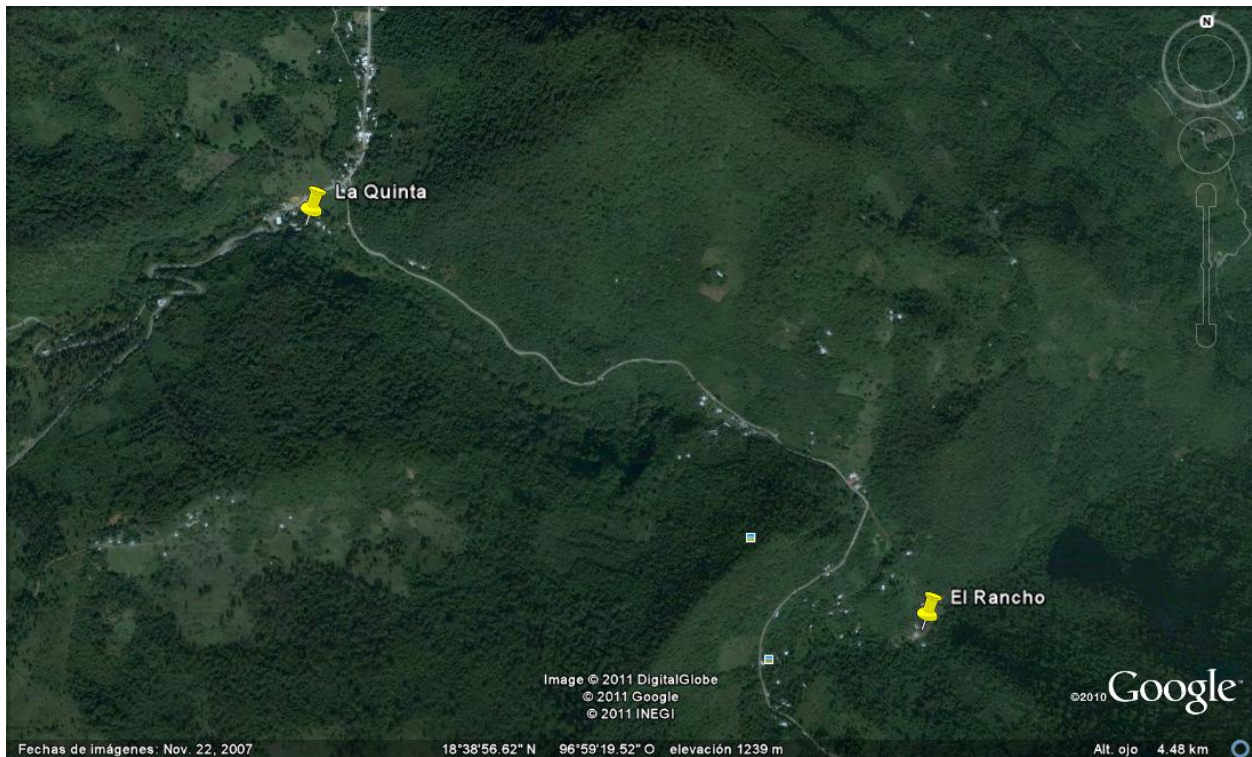


Fig.4. Sitios de colecta de frutos de *T. mexicana*.

### 2.2 Trabajo de laboratorio

Los frutos se transportaron al laboratorio y se dejaron secar a temperatura ambiente para que se abrieran y se pudieran extraer las semillas. En cuanto quedaron libres las semillas, alrededor de dos días después, se separaron 50 semillas del Rancho que se destinaron directamente a la

prueba de germinación, ya que los lugareños acostumbran sembrar las semillas con la sarcotesta; al resto de las semillas se les removió la sarcotesta manualmente y se repartieron en los distintos tratamientos. Se obtuvieron en total 217 semillas de 16 frutos de la Quinta y 820 semillas de 26 frutos del Rancho. Tanto de la Quinta como del Rancho se separaron 150 semillas las cuales se destinaron a las pruebas de contenido de humedad, viabilidad y germinación, en lotes de 50 semillas por prueba. El resto de las semillas se dividió entre los diferentes tratamientos de deshidratación en lotes de 25 semillas (Fig. 5).

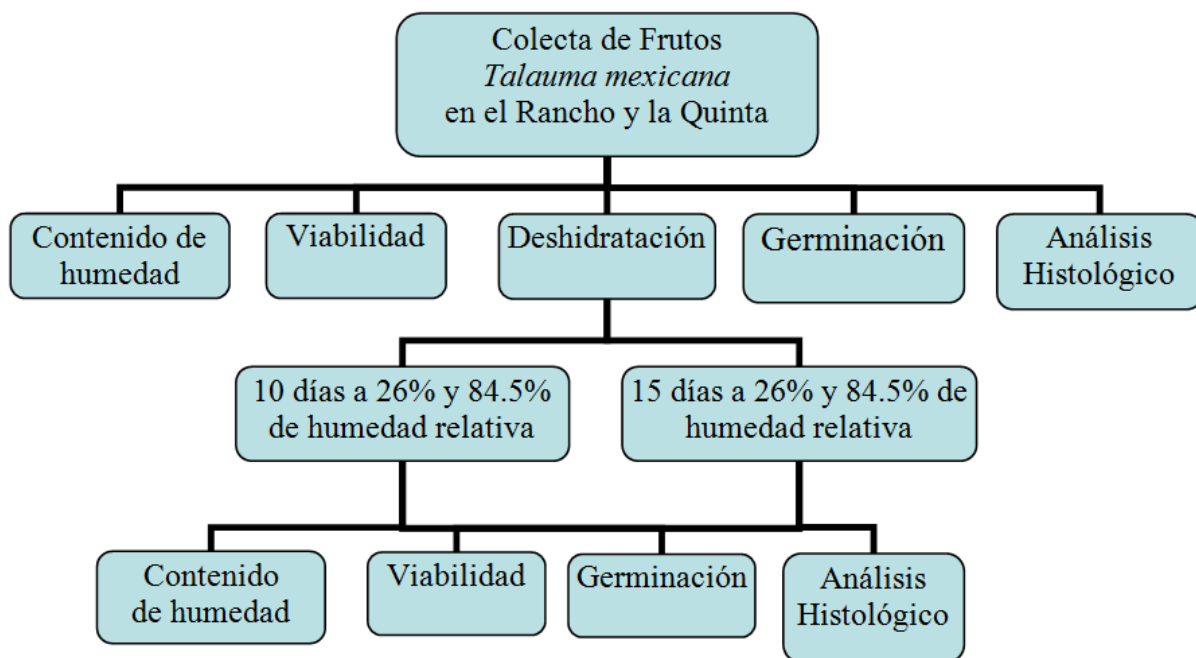


Fig.5. Diagrama de flujo de las pruebas realizadas con las semillas de *T. mexicana*.

### 2.2.1 Contenido de humedad

Se determinó la cantidad de agua que contenían las semillas por medio de secado en estufa a 103°C, siguiendo la metodología descrita por Moreno (1996). Se utilizaron cajas de aluminio con tapa y numeradas en la tapa y la base, de 5.0 cm de diámetro por 3.0 cm de altura, de las cuales se registró el peso vacías después de haber permanecido en la estufa a 103°C y posteriormente fueron colocadas en un desecador durante 15 min. Se colocaron 10 semillas en cada caja y se pesaron nuevamente; posteriormente se colocaron las cajas destapadas en la

estufa a 103°C durante 24 horas. Transcurrido el tiempo de secado se taparon las cajas dentro de la estufa y se colocaron en un desecador y una vez frías se pesaron de nuevo. El contenido de humedad (HR) se determinó con la siguiente fórmula:

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

Donde:  $P_1$ = peso en gramos de la caja vacía.

$P_2$ = peso en gramos de la caja, tapa y las semillas.

$P_3$ = peso en gramos de la caja, tapa y semillas después del secado en estufa.

### 2.2.2 Prueba de viabilidad

Tanto a semillas recién colectadas (n=50) como a semillas deshidratadas 10 y 15 días (n=25) se les aplicó la prueba con Tetrazolio (cloruro de 2, 3, 5-trifenil tetrazolio). Se les removió la testa a las semillas y se les cortó transversalmente, colocando solamente la porción que contenía al embrión (extremo micropilar) en la solución de Tetrazolio (TTC) al 1.0%, durante 24 horas. Con ayuda de un microscopio estereoscópico se separó a los embriones del endospermo para observar la coloración que adquirieron, considerando como viables solamente aquellos que presentaban una coloración roja en todo el embrión (Fig. 6).

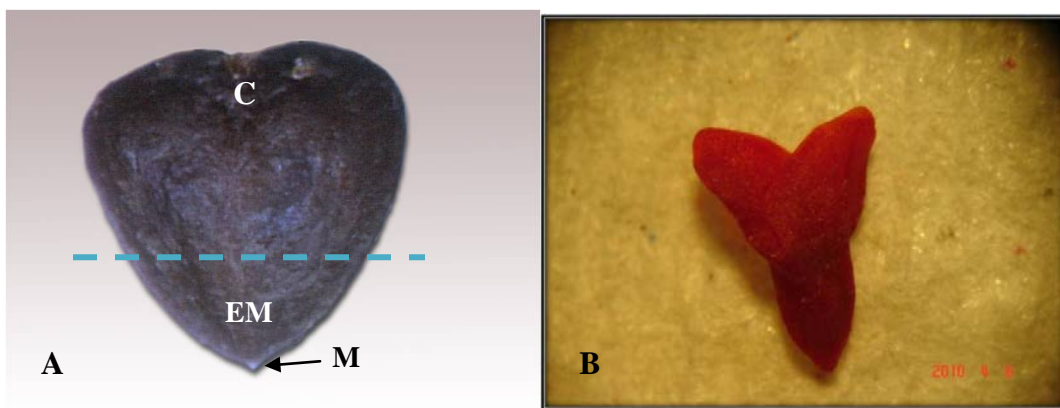


Fig.6. Prueba de viabilidad de semillas de *T. mexicana*. A) Corte del extremo micropilar de la semilla que se imbibió en TTC; EM: extremo micropilar; M: micrópilo; C: zona calazal. B) Coloración del embrión viable.



### 2.2.3 Tratamientos de deshidratación

Previo a la colecta de las semillas, se prepararon dos tratamientos de humedad relativa (26% y 84.5%) cada uno en cuatro cajas de plástico herméticas CIPSA de 11cm de largo por 10.5cm de alto y 11cm de ancho, lavadas y desinfectadas. Para lograr una humedad relativa de 84.5% se colocó una solución saturada de KCl (50g/100ml en cada caja), la cual, de acuerdo con Winston y Bates (1960) proporciona una humedad relativa de 84.5%. En las cajas con 26%  $\pm$  0.9 de humedad relativa no se agregó solución y la humedad relativa se midió con un HOBO Data Logger U-12-012, USA. Una vez removida la sarcotesta de las semillas y desinfectadas con Captán-50 ([Cis-N-[(Triclorometil)tio]-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida], laboratorios AGM de México), se colocaron 155 semillas sobre dos mallas de alambre lavadas y desinfectadas en cada caja a 4 cm del fondo. Todas las cajas se mantuvieron en estufa a 30° C. A los 10 y 15 días se sacaron cajas con semillas del Rancho de cada tratamiento y se repartieron en las pruebas mencionadas anteriormente. Para el caso de las cajas de la Quinta todas las cajas se sacaron hasta el día 15 ya que se contaba con pocas semillas (Fig.7).



Fig.7. Deshidratación de semillas de *T. mexicana* en cajas herméticas (A) colocadas en estufa a 30°C (B).

### 2.2.4 Prueba de germinación

Las semillas colectadas en el Rancho y La Quinta se dividieron en los siguientes tratamientos:

- RRC con sarcotesta: semillas del Rancho recién colectadas con sarcotesta (N= 50).



- RRC sin sarcotesta: semillas del Rancho recién colectadas sin sarcotesta (N=50).
- R10C: Semillas del Rancho con 10 días de deshidratación en 26% de humedad relativa (N=25).
- R10KCl: Semillas del Rancho con 10 días de deshidratación en 84.5% de humedad relativa (N=25).
- R15C: Semillas del Rancho con 15 días de deshidratación en 26% de humedad relativa (N=25).
- R15KCl: Semillas del Rancho con 15 días de deshidratación en 84.5% de humedad relativa (N=25).
- R10C+GA: Semillas del Rancho con 10 días de deshidratación en 26% de humedad relativa (N=25).
- R10KCl+GA: Semillas del Rancho con 10 días de deshidratación en 26% de humedad relativa, adicionadas con ácido giberélico (GA) en concentración de  $10^{-7}$  M (N=25).
- R10C+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Semillas del Rancho con 10 días de deshidratación en 26% de humedad relativa, escarificadas con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 15% durante 25min (Chien y Lin, 1994) (N=25).
- R10KCl+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Semillas del Rancho con 10 días de deshidratación en 84.5% de humedad relativa, escarificadas con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 15% durante 25min (Chien y Lin, 1994) (N=25).
- R15C+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Semillas del Rancho con 15 días de deshidratación en 26% de humedad relativa, escarificadas con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 15% durante 25min (Chien y Lin, 1994) (N=25).
- R15KCl+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Semillas del Rancho con 15 días de deshidratación en 84.5% de humedad relativa, escarificadas con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 15% durante 25min (Chien y Lin, 1994) (N=25).
- QRC: Semillas recién colectadas de la Quinta (N=25).

- Q15C: Semillas de la Quinta con 15 días de deshidratación en 26% de humedad relativa (N=25).
- Q15KCl: Semillas de la Quinta con 15 días de deshidratación en 84.5% de humedad relativa (N=25).
- Q15C+GA: Semillas de la Quinta con 15 días de deshidratación en 26% de humedad relativa (N=25).
- Q15KCl+GA: Semillas de la Quinta con 15 días de deshidratación en 84.5% de humedad relativa, adicionadas con ácido giberélico (GA) en concentración de  $10^{-7}$  M (N=25).
- Q15C+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Semillas de la Quinta con 15 días de deshidratación en 26% de humedad relativa, escarificadas con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 15% durante 25min (Chien y Lin, 1994) (N=25).
- Q15KCl+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Semillas de la Quinta con 15 días de deshidratación en 84.5% de humedad relativa, escarificadas con peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) al 15% durante 25min (Chien y Lin, 1994) (N=25).

Se tomaron semillas de cada tratamiento y se colocaron en charolas con sustrato vermiculita:suelo de los Tuxtlas (proporción 1:1); éstas se mantuvieron en germinadoras a 25°C y fotoperíodo de 16 horas de luz y 8 de oscuridad de marzo a mayo y posteriormente se pasaron al invernadero de la Facultad de Ciencias durante seis meses más (junio a noviembre), donde la temperatura y humedad relativa fueron variantes (apéndices 1 y 3). Las semillas germinadas se trasplantaron de manera individual en sustrato peatmoss:vermiculita:agrolita:suelo (1:1:1:2) y se calculó el porcentaje de sobrevivencia de cada tratamiento.

### **2.2.5 Análisis morfométrico e histológico**

Se fijaron en FAA 5 semillas del Rancho sin sarcotesta y testa, tanto de semillas recién colectadas como deshidratadas durante 10 y 15 días, las cuales posteriormente se deshidrataron en alcoholes graduales y se incluyeron en parafina para realizar cortes

longitudinales de 8µm de espesor del extremo micropilar de cada semilla, siguiendo la técnica descrita por López-Curto *et al.* (2005) (Fig.8). Se utilizaron las siguientes técnicas histoquímicas y de tinción:

- Safranina-verde (SV): tiñe de color rojo estructuras lignificadas y núcleos en división; paredes celulares primarias en verde.
- Schiff (PAS): presenta reacción positiva ante almidón y algunos polisacáridos de la pared celular tiñéndolos de rojo o magenta; algunos fenoles se observan de color rojo.
- Azul-negro de Naftol (AN): reacción positiva a proteínas tiñéndolas de azul.
- Rojo Oleoso (RO): reacción positiva con lípidos, tiñéndolos de color rojo.
- Sudán III: reacción positiva con lípidos, tiñéndolos de color rojo.
- Cuádruple de Johansen (4J): permite identificar varias estructuras y compuestos a la vez: cromatina en división (rojo), cromatina en reposo (púrpura), nucléolo (rojo), nucleoplasma (incoloro o verde), paredes lignificadas (rojo brillante), paredes cutinizadas (rojo-púrpura), paredes suberizadas (rojo), paredes de celulosa (verde naranja), citoplasma (naranja brillante), gránulos de almidón (púrpura con halos verde o naranja) y plástidos (púrpura a verde).
- Lugol (L): identificación de almidón el cual adquiere una coloración púrpura a negruzca.
- Vainillina (V): identificación de taninos no condensados que adquieren una coloración rojiza.

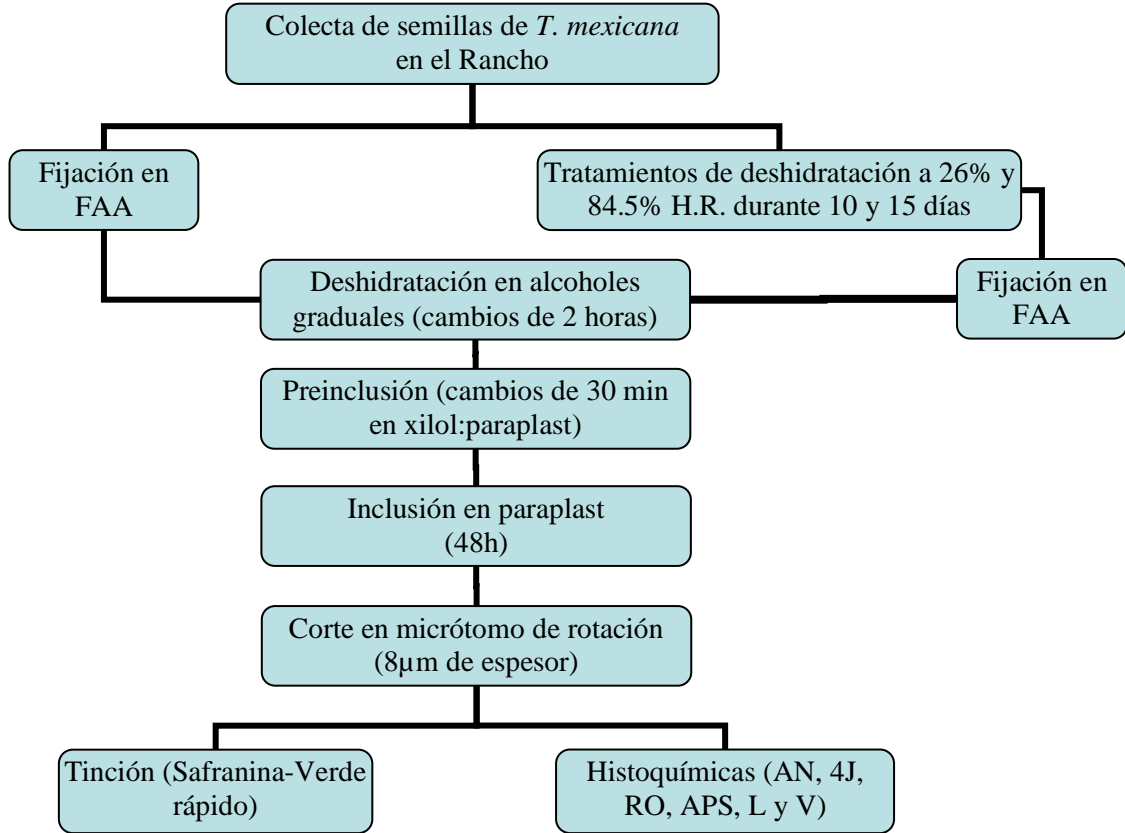


Fig.8. Diagrama de flujo del procesamiento histológico de las semillas de *T. mexicana*.

Para el análisis morfométrico se obtuvo el promedio de la longitud total del embrión desde el extremo radicular hasta los cotiledones, el largo y ancho del eje embrionario y el largo de los cotiledones, por medio de fotografías obtenidas para cada tratamiento con el microscopio óptico y el programa Axiovision® versión 4.8.1 (Fig.9).

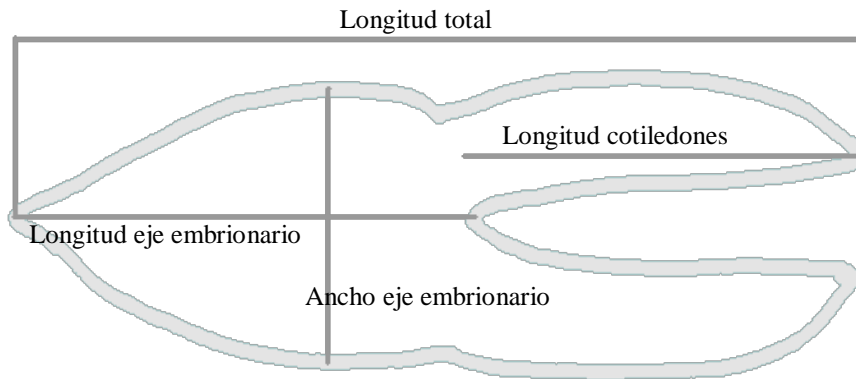


Fig.9. Esquema del embrión de *T. mexicana*, indicando las medidas que se obtuvieron en el análisis morfométrico.

### 2.3 Modelo estadístico

Los resultados obtenidos de porcentaje de humedad y viabilidad se analizaron mediante un análisis de varianza con un nivel de probabilidad de  $\alpha = 0.05$ , utilizando el programa estadístico STATISTICA® versión 7.0. En los casos que se encontró diferencias significativas entre las medidas de los tratamientos, se aplicó la prueba de Rango Múltiple de Intervalos de Confianza a un nivel de probabilidad de  $\alpha = 0.05$  (Tuckey) para cada caso.

### III.RESULTADOS

#### 3.1 Contenido de humedad

Se encontraron diferencias significativas en el contenido de humedad de las semillas provenientes de los distintos tratamientos ( $F_{(7, 37)}=204.36$ ,  $P=0.0000$ ) (Fig.10) (Cuadro 2). Se registraron porcentajes de humedad semejantes en las semillas recién colectadas tanto del Rancho (RRC) 24.02% como de la Quinta (QRC) 24.58%, que se redujeron significativamente a la mitad durante el proceso de deshidratación, siendo las semillas del Rancho deshidratadas 10 días en 84.5%HR las que presentaron el contenido de humedad más bajo (R10KCl) 8.90%. No se encontraron diferencias significativas en los contenidos de humedad entre los tratamientos de deshidratación tanto en semillas del Rancho como de la Quinta (R10C) 12.8%, (R15C) 10.74% (R15KCl) 11.70%, (Q15Cm) 14.32%, (Q15KClm) 12.87%, (Q15KCl) 12.03%.

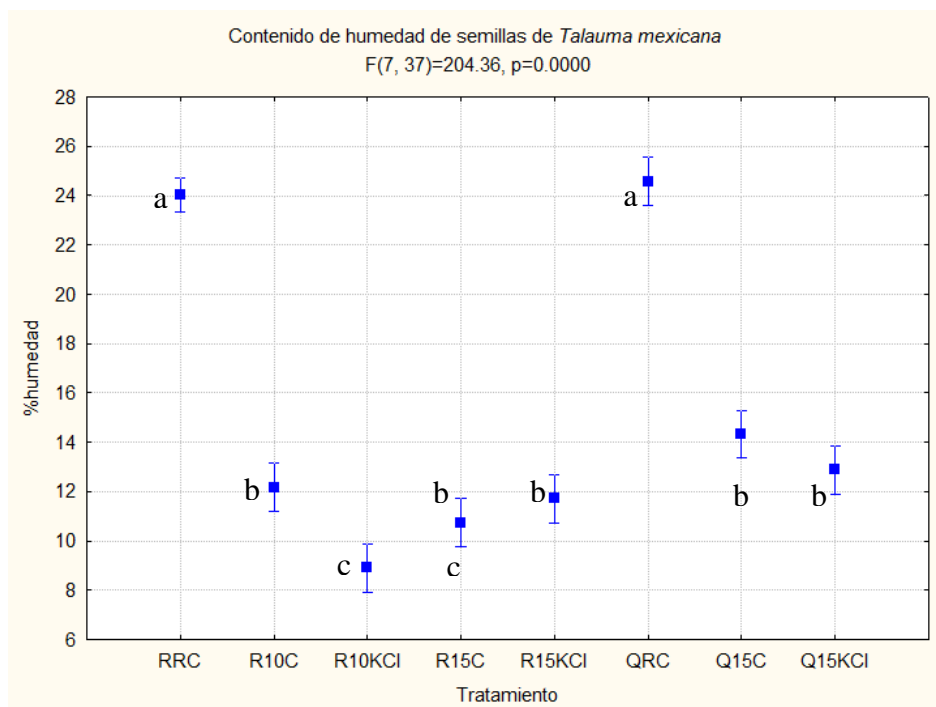


Fig.10. Resultados de la prueba de contenido de humedad en semillas de *Talauma mexicana* colectadas en el Rancho y la Quinta. Las barras denotan el intervalo de confianza de 95%. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre tratamientos.

Cuadro 2. Resultados de las pruebas de viabilidad y de contenido de humedad para semillas colectadas en el Rancho y la Quinta.

Tratamientos		% Viabilidad	% Humedad
Semillas recién colectadas		38.0	24.02
Rancho			
Semillas deshidratadas a	10 días	50.0	12.18
26% HR	15 días	52.0	10.75
Semillas deshidratadas a	10 días	60.0	8.90
84.5% HR	15 días	36.0	11.71
Semillas recién colectadas		82.0	24.58
Quinta			
Semillas deshidratadas a	15 días	56.0	14.32
26% HR			
Semillas deshidratadas a	15 días	12.0	12.87
84.5% HR			

### 3.2 Prueba de viabilidad

Se encontraron diferencias significativas principalmente entre las semillas del Rancho y la Quinta ( $F_{(7, 32)}=7.3925$ ,  $P=0.00003$ ) (Fig.11) (Cuadro 2). Para las semillas del Rancho la viabilidad fue semejante independientemente del tratamiento (47% viabilidad promedio). Se observó un ligero aumento de la viabilidad en las semillas deshidratadas 10 días a 84.5% H.R. mientras que a los 15 días de deshidratación la viabilidad fue semejante a las semillas recién colectadas. En las semillas colectadas en la Quinta se observó una mayor variabilidad de este atributo registrándose tanto los porcentajes más elevados de viabilidad (QRC) 82% como los porcentajes más bajos (Q15KCl) 12%.

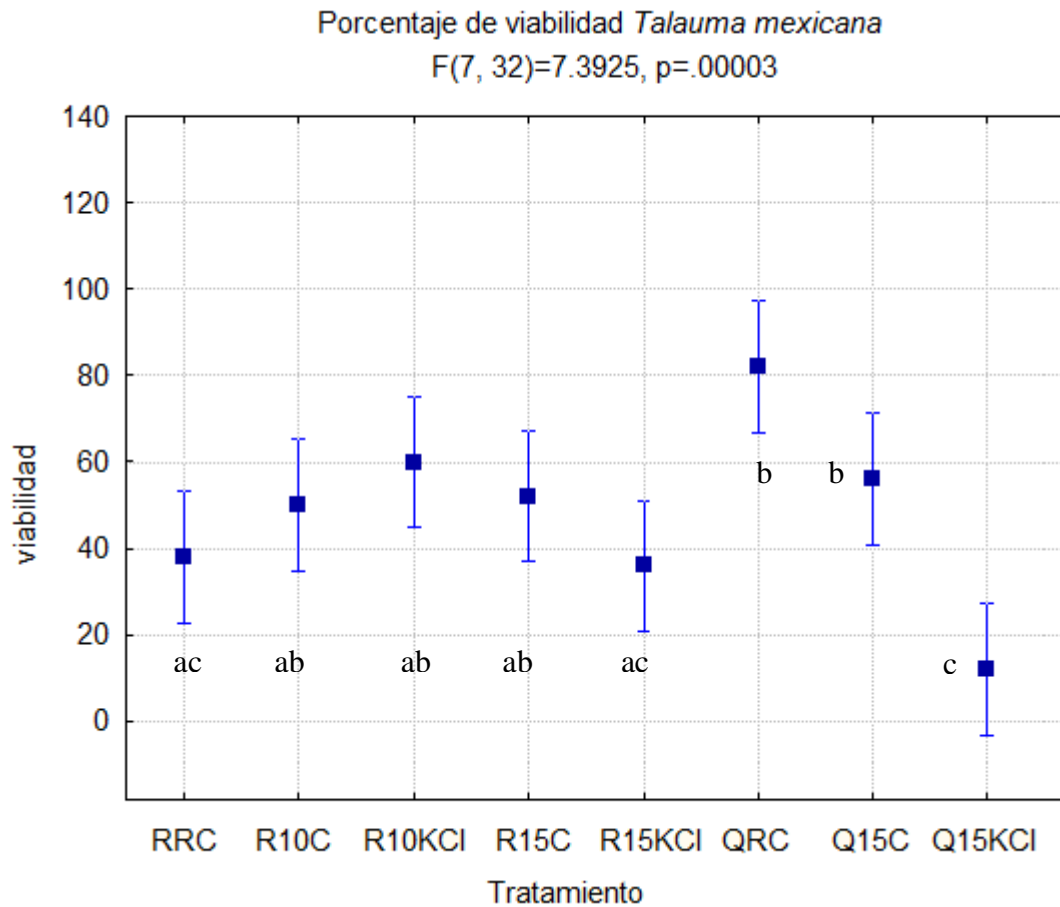


Fig.11. Resultados de la prueba de viabilidad de semillas de *Talauma mexicana* colectadas en el Rancho y la Quinta. Las barras denotan el intervalo de confianza de 95%. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre tratamientos.

### 3.3 Prueba de germinación

Se sembraron en total 525 semillas de las cuales germinaron 62 (11.8%) después de 6 meses (marzo-agosto) y culminando dos meses después (octubre), después del cual las semillas restantes mostraron pudrición o ataque de larvas. Finalmente se lograron establecer 22 plántulas, 35.48% del total de semillas germinadas. Para los tratamientos de: R10KCl, R10KCl+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, R15KCl, R15C+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y R15C+GA y R15KCl+GA no hubo sobrevivencia de las plántulas. En el cuadro 3 se observa que el mayor porcentaje de germinación se obtuvo en las semillas del Rancho con 15 días de deshidratación en 84.5% HR y escarificadas con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



(R15KCl +H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 32%, seguidas de las semillas del Rancho recién colectadas con sarcotesta (RRC con sarcotesta) 30%. Así mismo se observa que hubo mayor germinación y sobrevivencia en las semillas del Rancho deshidratadas durante 10 días que las semillas deshidratadas durante 15 días; para el caso de la Quinta prácticamente no hubo germinación, obteniendo únicamente dos semillas germinadas, una de ellas del tratamiento de deshidratación en 26%HR y la otra del tratamiento de deshidratación en 84.5% HR (Q15C y Q15KCl respectivamente). Por otro lado se observa que en los tratamientos R10KCl, R10KCl+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y R15KCl +GA hubo germinación pero las plántulas no lograron sobrevivir. De las plántulas establecidas se registró un crecimiento mensual promedio de 1.2 cm en 3 meses.

Cuadro 3. Resultados de las pruebas de germinación de semillas de *Talauma mexicana*. Se muestran únicamente los tratamientos en los que hubo germinación. En paréntesis se indican las plántulas obtenidas por tratamiento.

Tratamiento	N	% germinación	% sobrevivencia
RRC sin sarcotesta	50	16 (8)	25 (2)
RRC con sarcotesta	50	30 (15)	20 (3)
R10C	25	16 (4)	25 (1)
R10KCl	25	8 (2)	0
R10C + GA	25	24 (7)	71 (5)
R10KCl + GA	25	8 (2)	50 (1)
R10C+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25	24 (7)	14 (1)
R10KCl+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25	8 (2)	0
R15C	25	4 (1)	100 (1)
R15KCl	25	0	0
R15C+ GA	25	0	0
R15KCl + GA	25	16 (4)	0
R15C+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25	0	0
R15 KCl+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25	32 (8)	25 (2)
QRC sin sarcotesta	50	0	0

Q15C	25	4 (1)	100 (1)
Q15KCl	25	4 (1)	100 (1)
Q15C+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25	0	0
Q15KCl+ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	25	0	0

### 3.4 Análisis morfométrico

Las semillas de todos los tratamientos presentaron un embrión rudimentario en estadio de torpedo (Fig. 12) (Cuadro 4). Los embriones de semillas recién colectadas presentaron un embrión de  $1.238 \pm 0.045$  mm de longitud promedio, cuya longitud fue diferente de las semillas deshidratadas durante 15 días a 84,5% HR ( $1.388 \pm 0.088$  mm), en el resto de los tratamientos no se encontraron diferencias significativas con respecto al embrión recién colectado o entre tratamientos de deshidratación ( $F_{(4,21)}=4.004$ ;  $P=0.0144$ ). También se observaron diferencias significativas en la longitud de los cotiledones de semillas recién colectadas y las semillas deshidratadas durante 15 días en 84.5%HR ( $F_{(4,21)}=10.497$ ;  $P=0.00008$ ), siendo evidente la elongación de los cotiledones, aumentando de una longitud promedio de  $0.635 \pm 0.036$  mm a  $0.816 \pm 0.071$  mm respectivamente. En los cortes histológicos se puede observar la elongación de los cotiledones desde los 10 días de deshidratación a 26% HR, sin embargo esta diferencia no fue significativa con respecto a los embriones recién colectados, ya que en el muestreo se encontraron embriones de tamaños variables, aumentando las medidas de dispersión en los diferentes tratamientos. Para el resto de los atributos medidos no se encontraron diferencias significativas.

Cuadro 4. Características morfométricas del embrión de *T. mexicana*.

Atributo	Medida (mm)				
	Semillas Recién colectadas	10 días en 26%HR	10 días en 84.5%HR	15 días en 26%HR	15 días en 84.5%HR
Embrión completo (largo)	$1.238 \pm 0.045$	$1.306 \pm 0.209$	$1.052 \pm 0.051$	$1.072 \pm 0.094$	$1.388 \pm 0.088$
Eje embrionario (largo)	$0.597 \pm 0.031$	$0.694 \pm 0.214$	$0.448 \pm 0.094$	$0.584 \pm 0.089$	$0.667 \pm 0.061$

Eje embrionario (ancho)	0.561±0.033	0.541±0.340	0.451±0.025	0.597±0.032	0.543±0.049
Cotiledones (largo)	0.635±0.036	0.721±0.048	0.570±0.044	0.499±0.115	0.816±0.071

### 3.5 Análisis histológico e histoquímico

Los cortes longitudinales de las semillas tanto recién colectadas como de los tratamientos de deshidratación mostraron el embrión rudimentario en estadio de torpedo ubicado muy cerca del extremo micropilar. Así mismo, tanto en semillas recién colectadas como deshidratadas se observaron regiones de abundante división celular principalmente en el eje embrionario aunque también fue apreciable en los cotiledones (Fig. 12).

En todas las muestras se distinguieron 3 zonas en el endospermo en función de su vecindad con el embrión: proximal, intermedia y distal (Fig. 13 y 14). La zona proximal mostró restos de paredes celulares con reacción positiva a proteínas y polisacáridos insolubles (Fig.16), siendo esta área mayor a los 15 días de deshidratación. La zona intermedia presentó células grandes con núcleos prominentes y contenido granular proteico. Por último las células de la región distal se observaron saturadas de cuerpos proteicos muy grandes (Fig.14).

El endospermo está rodeado por una cutícula rica en lípidos y polisacáridos insolubles evidente por la reacción positiva con RO (Fig.15) y con APS (Fig.16), carece de almidón porque no se tiñó con Lugol, pero en cambio presentó un alto contenido de proteínas y lípidos, así como paredes celulares ricas en polisacáridos insolubles (Fig.14 a 16). En todos los tratamientos se observó la degradación del endospermo, incrementándose con el tiempo de deshidratación de la semilla (Fig.16D). Así mismo es notable la abundancia de aceites en el endospermo, observados en cortes frescos de semillas fijadas en FAA y teñidas con Sudán III.

A los 10 días de deshidratación fue evidente la aparición del procambium (Fig.17). A los 15 días de deshidratación se observaron los primeros signos que se podrían asociar con el decaimiento de la viabilidad de las semillas al aparecer cúmulos de lo que podrían ser taninos, posiblemente condensados debido a la reacción negativa con vainillina, tanto en el embrión como en el endospermo (Fig.18).

Debido a que todas las muestras presentaron el mismo patrón morfológico, a continuación solo se presenta una fotografía del corte más representativo para cada observación descrita.

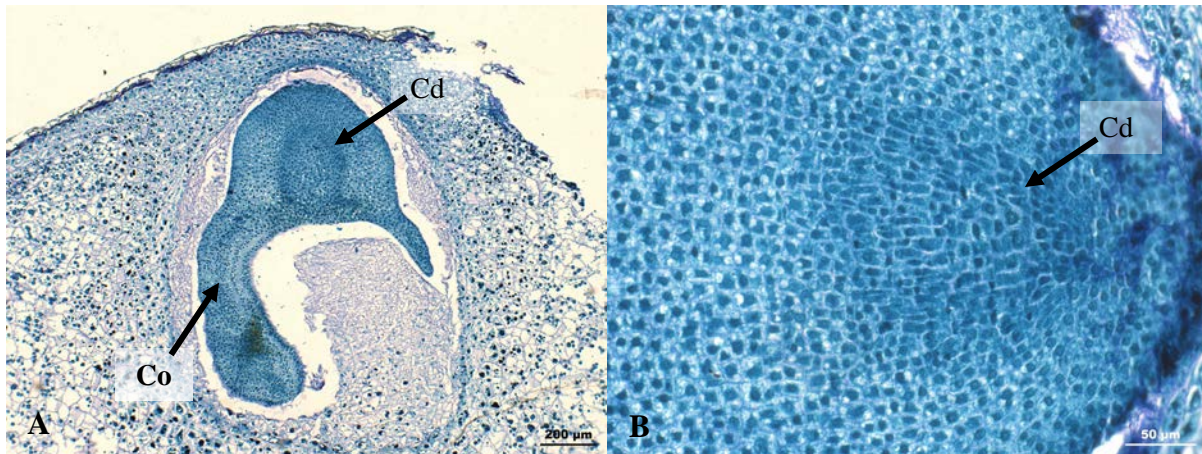


Fig.12. Corte longitudinal de embrión recién colectado de *Talauma mexicana*. A: embrión ubicado en el extremo micropilar de la semilla. Co: cotiledón; Cd: células en división. B: aumento de la región de células en división. Tinción Azul-Negro de Naftol, campo claro.

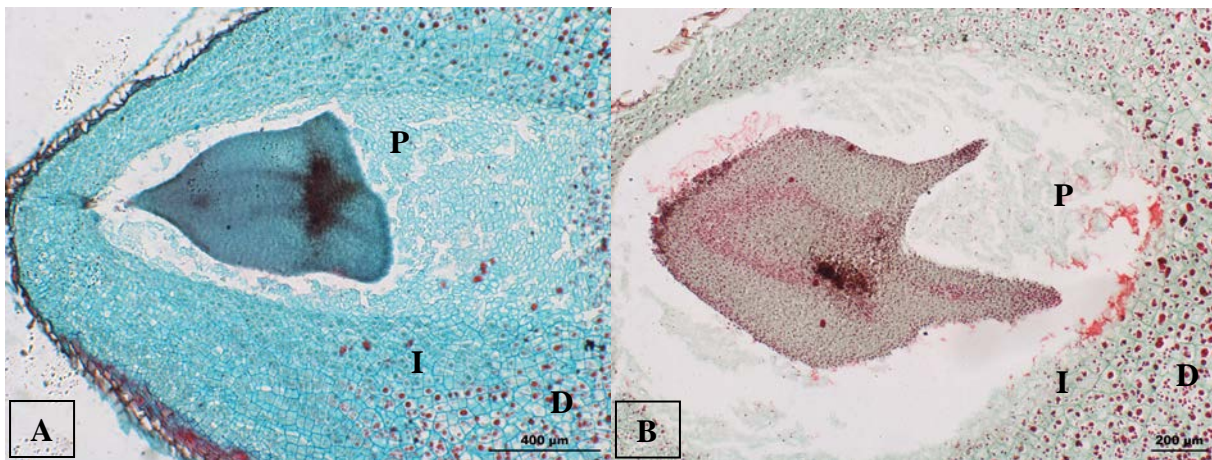


Fig.13. A: embrión recién colectado; B: embrión con 15 días de deshidratación en 26% HR. Tinción de Safranina-Verde rápido. Campo claro. Tres regiones del endospermo en relación al embrión: proximal (P), intermedia (I) y distal (D).



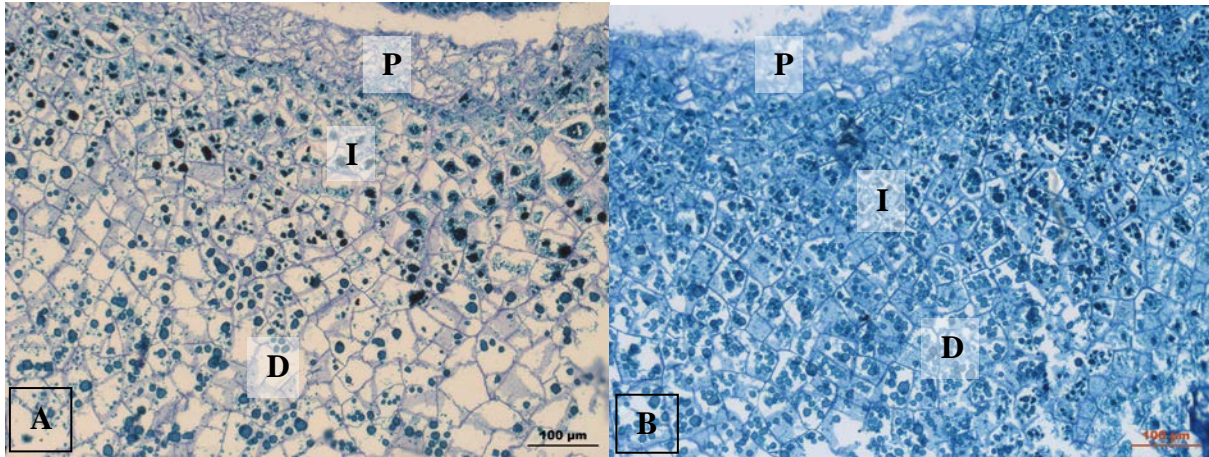


Fig.14. A: embrión recién colectado; B: Embrión deshidratado 15 días en 26% HR. Azul-Negro de Naftol. Campo claro. Células grandes y de núcleo prominente en la región intermedia (I), y abundantes cuerpos proteicos grandes en la distal (D).

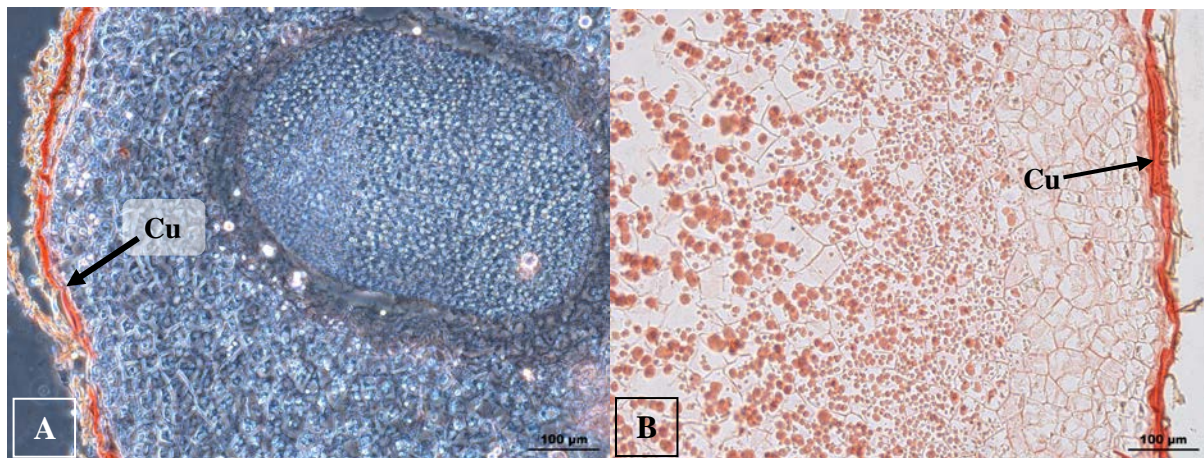


Fig.15. A: embrión recién colectado; contraste de fases. B) Embrión con 10 días de deshidratación en 84.5% HR. Campo claro. Ambas, tinción Rojo Oleoso. Cu: cutícula.



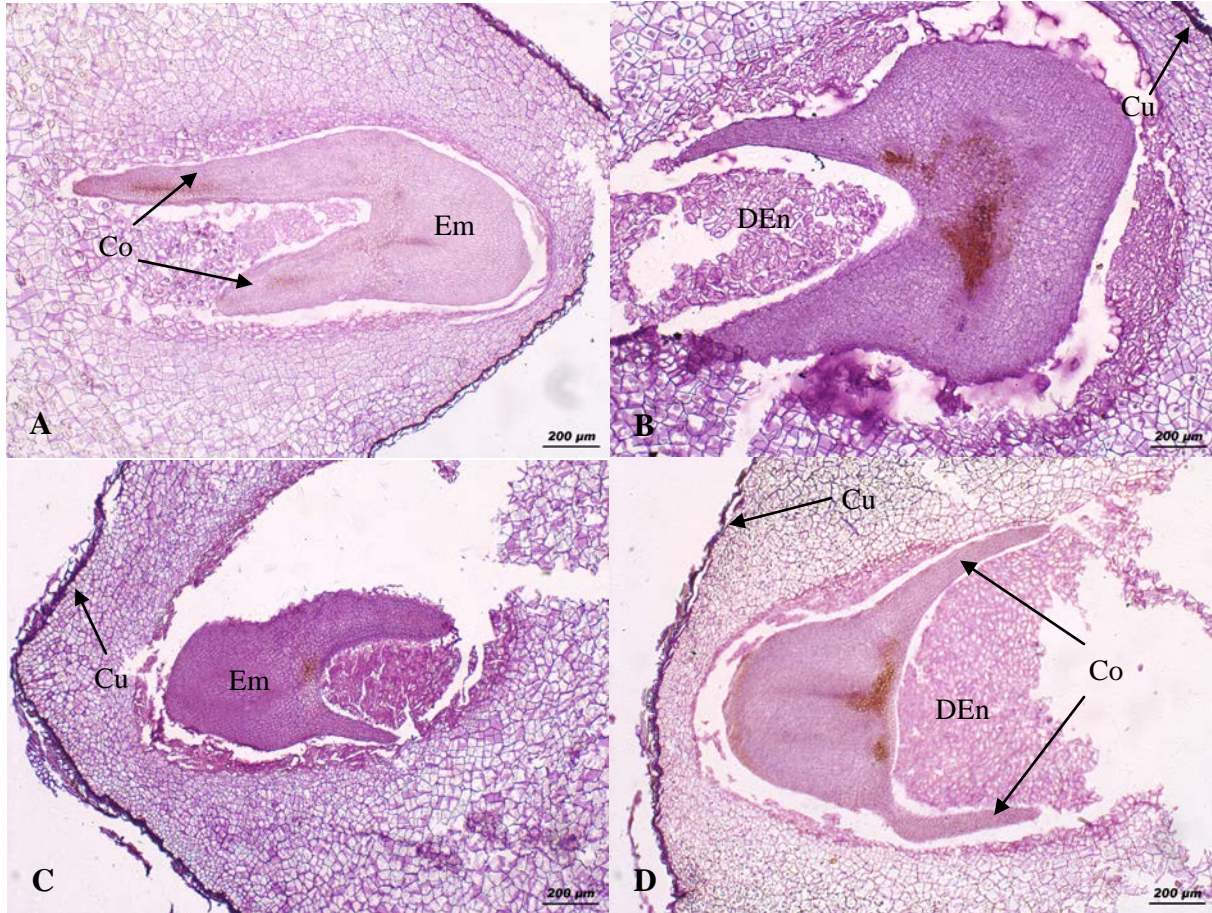


Fig.16. A: embrión recién colectado; B: embrión deshidratado 10 días en 26% HR; C: embrión deshidratado 10 días en 84.5%HR; D: embrión deshidratado 15 días en 84.5% HR. Em: embrión; Co: cotiledones; Cu: cutícula; DEn: degradación del endospermo. Tinción APS. Campo claro.

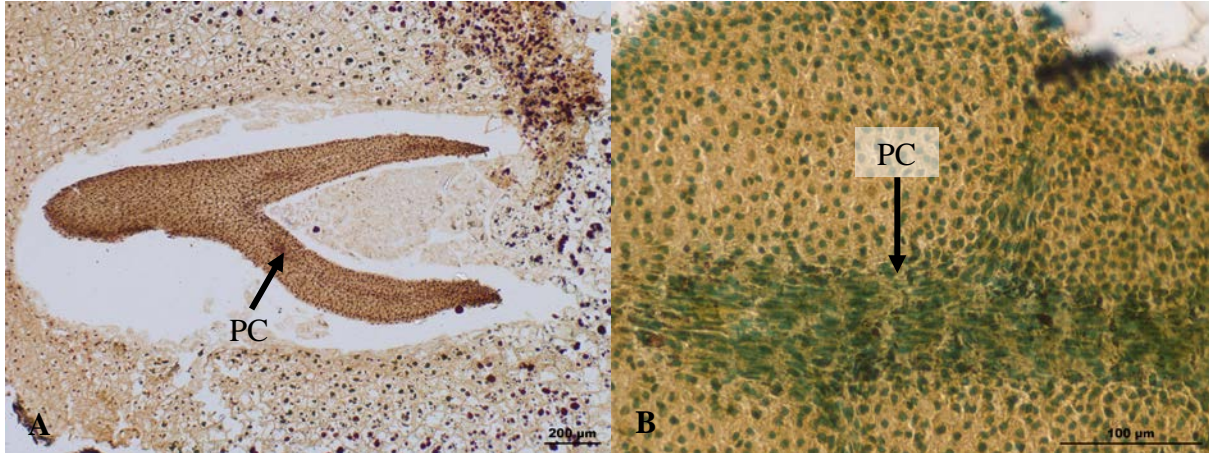


Fig.17. A: embrión con 10 días de deshidratación. PC: procámbium. B: Acercamiento hacia el procámbium. Tinción Cuádruple de Johansen. Campo claro.

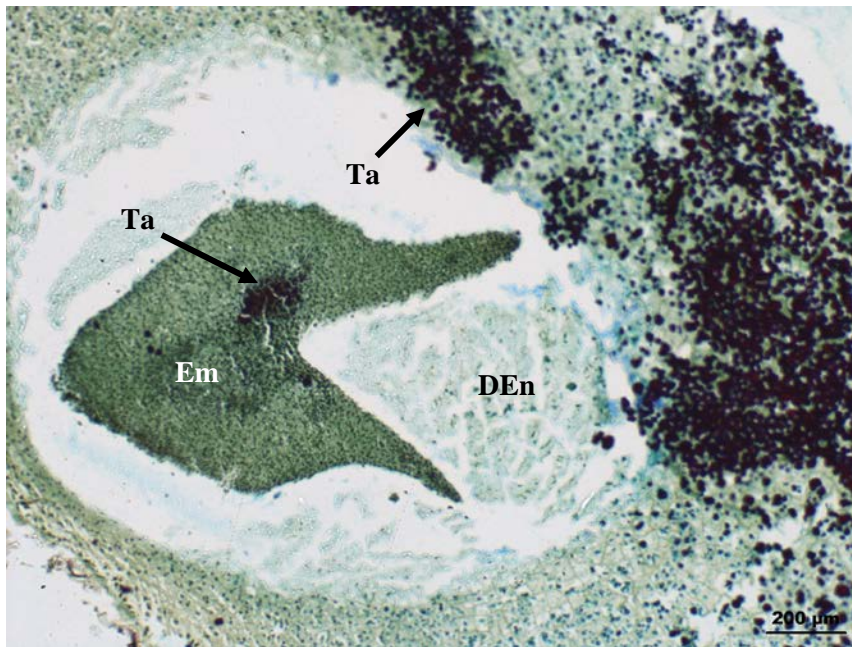


Fig.18. Embrión con 15 días de deshidratación. Ta: taninos; Em: embrión; DEn: degradación del endospermo. Tinción Azul-Negro de Naftol. Campo claro.



#### IV.DISCUSIÓN

En estudios previos Osuna *et al.* (2000) habían descrito a las semillas de *Talauma mexicana* como semillas intermedias debido a la pérdida de viabilidad durante el almacenamiento en frío, pero con capacidad de tolerar el proceso de deshidratación, por no más de 20 días, hasta un contenido de humedad relativamente bajo entre el 10 y 12%. Estos resultados concuerdan con el presente estudio, en donde al deshidratar las semillas del Rancho durante 10 y 15 días en dos condiciones de humedad relativa (26% y 84.5%) es evidente que la deshidratación reduce a la mitad el contenido de humedad y aún así se mantienen relativamente constantes los porcentajes de viabilidad de las semillas y aunque las diferencias en viabilidad entre los tratamientos del Rancho no fueron significativas, si se observa un ligero aumento de la viabilidad con los tratamientos de deshidratación (Fig. 11, Cuadro 2). Este comportamiento se ha reportado para otras especies, en especial para semillas ortodoxas donde se ha observado que un período de secado posterior a la maduración de las semillas en la planta madre incrementa la viabilidad de las mismas en almacenamiento, así como favorece la germinación y formación de plántulas normales. Se ha propuesto que este tipo de tratamiento ayuda a superar las restricciones impuestas en el embrión por las estructuras asociadas, endospermo y cubierta, como se ha observado en semillas de jitomate y alfalfa, o factores internos como podría ser la concentración de ABA (como se ha observado en mutantes vivíparos del jitomate y en semillas de *Arabidopsis thaliana*), (Bewley y Black, 1994; Kermodé y Finch-Savage, 2002).

Por otro lado, el estudio histológico de las semillas reveló que al momento de la dispersión de las semillas en la apertura de los frutos, el embrión todavía sigue en proceso de maduración, como se ha descrito para otras especies de la familia Magnoliaceae (Corner, 1976), al presentar un embrión rudimentario de ~1.2mm de longitud cuya maduración y crecimiento fue evidente en los tratamientos de deshidratación por la aparición del procambium a los 10 días, acompañada de una degradación del endospermo que se acentúa hacia el día 15. A los 15 días de deshidratación se hizo evidente la degeneración de los tejidos del embrión y del endospermo por la acumulación de posibles taninos no condensados



(Fig.18), que podrían estar asociados al decaimiento de la viabilidad durante el almacenamiento, sin embargo, esta acumulación no necesariamente es el único agente causal de deterioro de las semillas por lo que se propone hacer la comparación entre las semillas viables y no viables obtenidas en las pruebas con tetrazolio, con el objeto de identificar diferencias anatómicas entre ambas que puedan relacionarse con esta pérdida de viabilidad.

La tolerancia a la deshidratación está relacionada con la acumulación de ciertos compuestos como son los disacáridos, polisacáridos, antioxidantes y proteínas LEA, cuyas funciones principales son prevenir los daños a las membranas ocasionados por la separación de los componentes de las mismas entre la fase hidrofílica e hidrofóbica de la membrana, que traen consigo la inserción de moléculas anfifílicas y antioxidantes en la misma alterando su estructura; así mismo previenen la desnaturalización de proteínas, preservando así la actividad enzimática, evitan la vesicularización de las células por efecto de la disminución del volumen celular, entre otras funciones, que al momento de la rehidratación eviten disrupciones de la membrana y la fuga de solutos (Hoekstra *et al.*, 2003; Nicolás *et al.*, 2003). Aunque las semillas cuentan con mecanismos para protegerse de la desecación, se ha reportado que semillas de naturaleza recalcitrante pueden presentar varios de estos mecanismos y tolerar la desecación (permanecen viables), pero, al momento de ser rehidratadas las semillas mueren por la entrada acelerada del agua, impidiendo la reorganización de los tejidos. La rehidratación gradual de este tipo de semillas ha favorecido su sobrevivencia, empezando por la rehidratación con vapor de agua (Hoekstra *et al.*, 2003).

En función de lo antes expuesto, el deterioro estructural de las semillas producto de las modificaciones de la membrana y citoplasma, durante la desecación o la rehidratación, posiblemente solo puedan ser observables por medio de técnicas de microscopía electrónica que ofrezcan un nivel de resolución mucho más fino que la microscopía óptica, ya que en los cortes histológicos realizados no fue apreciable algún tipo de daño causado por los factores mencionados antes. Sin embargo puede que, de ser observados en estudios posteriores, no sean los únicos problemas a los que se enfrenten las semillas durante la deshidratación, sino también ocurra la acumulación de compuestos tóxicos, las especies reactivas de oxígeno

(ROS) y otros cambios a nivel bioquímico que causen otra problemática para la manipulación de las semillas.

Para el caso de la germinación se obtuvo un porcentaje muy bajo en los diferentes tratamientos. Destacaron las semillas deshidratadas durante 10 días que constituyen el 38.7% de las semillas que germinaron. Teniendo en cuenta los resultados de las pruebas de contenido de humedad, viabilidad y los cortes histológicos, este tratamiento parece ser el más adecuado ya que le proporciona más tiempo al embrión para continuar con su maduración sin llegar a presentar los primeros signos de deterioro y subsecuente pérdida de viabilidad. Así mismo, dentro del tratamiento de deshidratación durante 10 días se observó un ligero aumento en la germinación al aplicar GA o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sin embargo su efecto en la germinación no es suficiente para asegurar que son los tratamientos más adecuados para favorecer la germinación de *T. mexicana*. El ácido giberélico (GA) es un fitorregulador que aplicado exógenamente a las semillas, principalmente de cereales, induce el proceso de germinación al activar la hidrólisis de almidón por las enzimas  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasa, sobre las cuales las giberelinas ejercen principalmente su efecto (Bewley y Black, 1994; Taiz y Zeiger, 2007). En los cortes histológicos de las semillas de *T. mexicana* fue evidente la ausencia de almidón como reserva alimenticia en el endospermo, por lo cual el GA no está favoreciendo la germinación.

Por otro lado, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pertenece al grupo ROS, los cuales se ha observado que pueden tener tanto un efecto deletéreo en algunas semillas, como es el caso de *Helianthus annuus*, *Zinnia elegans* y *Hordeum vulgare* entre otros, al promover la oxidación de lípidos, ácidos nucleicos y proteínas; pero también pueden actuar como promotores de la germinación, en el caso específico del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> este puede fungir como mensajero de señales en distintos procesos, eliminar la inhibición de la germinación inducida por ABA, reblandecer las cubiertas para permitir la imbibición de la semilla y favorecer el rompimiento de la testa, la síntesis o activación de hidrolasas y otras enzimas así como la movilización de lípidos, los cuales son uno de las sustancias de reserva presentes en el endospermo de *T. mexicana*, como fue mostrado en el procesamiento histológico. El efecto que los ROS pueden tener en las semillas depende de lo que se ha denominado como un “umbral para la germinación” en el cual el balance de estos compuestos, una dosis adecuada, tiene un efecto positivo (Bailly *et al.*, 2008;

Cavusoglu y Kabar, 2010). Sin embargo, en el presente estudio no queda claro si el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tuvo un efecto positivo o no sobre la germinación de las semillas de *T. mexicana*, por lo cual se requieren más estudios variando el tiempo y concentración en el cual se aplique este pretratamiento con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para poder determinar un intervalo en el cual se ubica este “umbral par la germinación” de esta especie.

Por otro lado, estudios de germinación en el estado de Chiapas de Hernández-Najarro (2009) y Becerra-Vázquez (2010) hacen evidente la necesidad de continuar con los experimentos de germinación de las semillas del Yolojóchitl *in situ*, ya que hasta el momento no se ha logrado replicar las condiciones de humedad y temperatura del bosque mesófilo de montaña donde normalmente se distribuye. El régimen histórico de temperatura para el municipio de Zongolica, en el cual fueron colectados los frutos de *T. mexicana* muestra temperaturas mucho menos extremas que las registradas en el invernadero de la Facultad de Ciencias, principalmente respecto a la temperatura mínima, la cual es mucho más baja dentro del invernadero. Así mismo, el municipio carece de una estación seca marcada, siendo únicamente de enero a marzo cuando se presenta menor precipitación (de 44.2 a 51.5 mm promedio mensuales), y con una precipitación promedio anual de 2,913.6 mm, que implica una alta humedad relativa durante todo el año, la cual fue variable en las condiciones del invernadero y pudo afectar drásticamente la germinación de las semillas (SMN, 2010). De igual forma, convendría hacer más comparaciones entre semillas de diferentes árboles en la localidad para descartar la baja viabilidad de las semillas debida a características propias de la planta madre, tanto del Rancho como de la Quinta de donde se colectaron las semillas en este estudio.

Cabe señalar que incluso entre los dos estudios de Hernández-Najarro (2009) y Becerra-Vázquez (2010) hay una gran diferencia entre los porcentajes de germinación del 16.8% al 80.8% respectivamente, siendo que ambos estudios se realizaron en localidades cercanas dentro de la zona ejidal Ocuilapa de Juárez y con semillas recién colectadas. Las únicas diferencias entre las condiciones de germinación entre ambos estudios estarían relacionadas, por un lado, con las condiciones microambientales presentes en cada vivero, ya que Hernández-Najarro que obtuvo menor germinación, se localizaba en las instalaciones del

Instituto de Historia Natural del estado de Chiapas dentro de una matriz urbana y Becerra-Vázquez con mayor germinación, se encontraba en una zona cercana al sitio de colecta de frutos de *T. mexicana* y posiblemente más protegida de alteraciones antropogénicas (apéndice 3). Por otro lado, existe una diferencia metodológica en el estudio de Becerra-Vázquez que consiste en un pre-tratamiento de las semillas para remover más fácilmente la sarcotesta en el cual se dejaron en remojo durante 24h. Hernández-Najarro (2009) recomienda remover la sarcotesta antes de sembrar las semillas ya que impide la imbibición de la semilla, sin embargo, Osuna (1997) menciona que las semillas presentan una cubierta dura pero no impermeable, la cual constituye una barrera mecánica para la germinación, así mismo la sarcotesta no cubre totalmente a la semillas, sino que hay una abertura en donde se ubica el micrópilo, por tanto tampoco constituye una barrera que impida la imbibición. En el presente estudio se puede apreciar que las semillas recién colectadas sembradas con sarcotesta presentaron un mayor porcentaje de germinación que las semillas recién colectadas sin la misma (30% y 16% respectivamente, cuadro 3), por tanto, el pre-tratamiento de remoción de la sarcotesta podría estar evitando un proceso natural de reblandecimiento de las cubiertas por efecto de la fermentación de la sarcotesta causada por microorganismos y que permitiera el rompimiento de la barrera mecánica que constituye la testa. Así mismo, el pretratamiento de remojo de las semillas con todo y la sarcotesta realizado por Becerra-Vázquez (2010) podría estar favoreciendo el traslado de compuestos solubles en agua presentes en la sarcotesta hacia el interior de la semilla, que sean importantes para la germinación de estas semillas, simulando el proceso natural de imbibición de las semillas de *T. mexicana* en condiciones naturales, donde las semillas se ven expuestas a una precipitación constante y muy abundante. En este sentido, se propone la evaluación fitoquímica de los componentes tanto de la sarcotesta como del interior de la semilla para determinar si alguno de los procesos mencionados arriba está ocurriendo, y su posible aplicación para favorecer la germinación de las semillas con o sin tratamientos de deshidratación.

Por último, otro aspecto relevante en la germinación de esta especie, es el tiempo requerido de postmaduración de las semillas, para iniciar el proceso de germinación. En el presente estudio, desde la siembra (marzo, 2007) al inicio de la germinación (agosto, 2007),

transcurrieron seis meses, obteniendo el máximo de germinación ocho meses después de la siembra (octubre 2007). En los estudios de Hernández-Najarro (2009) y Becerra-Vázquez (2010) las primeras semillas germinaron alrededor de dos meses después de ser sembradas, 60 y 46 días después de la siembra respectivamente, con el máximo de germinación entre 15 y 63 días después del primer brote respectivamente. Así mismo se observó un crecimiento promedio mensual de las plántulas semejante entre estudios, de 1.2cm para el presente estudio, 1.1 a 1.2cm para Hernández-Najarro (2009) y de 1.7cm para Becerra-Vázquez (2010). Debido a que independientemente del sitio donde se germinen las semillas la tasa de crecimiento permanece similar, la supervivencia de las plántulas en etapas posteriores puede verse afectada, ya que las plántulas obtenidas en este estudio tenían una talla pequeña (~12cm de altura) al momento de la llegada del invierno y de las bajas temperaturas, después de las cuales se observó la mayor mortalidad de las plántulas.

Estas diferencias en el tiempo de germinación entre estudios refuerzan la necesidad de propagar la planta *in situ*, ya que las condiciones ambientales prevaletentes en la ciudad de México influyen de manera considerable sobre la maduración del embrión de las semillas de *T. mexicana*, retrasando su germinación y la supervivencia de las plántulas.

## V. CONCLUSIONES

- La deshidratación de las semillas de *T. mexicana* durante 10 días favoreció la germinación de las mismas, en comparación con la deshidratación durante 15 días.
- Se corroboró la condición de las semillas de *T. mexicana* como semillas intermedias ya que fueron capaces de resistir la deshidratación a bajos niveles de humedad relativa y germinar.
- El tratamiento con GA<sub>3</sub> 10<sup>-7</sup>M no favoreció la germinación de las semillas debido a la ausencia de almidón como sustancias de reserva en el endospermo de *T. mexicana*.
- El tratamiento de escarificación con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, no favoreció la germinación de semillas de *T. mexicana*.
- Durante el almacenamiento, el embrión de las semillas de *T. mexicana* continúa su crecimiento por la aparición del procambium y la degradación del endospermo, el cual está cubierto por una cutícula lipídica y con abundantes polisacáridos insolubles en paredes celulares.
- El endospermo de las semillas de *T. mexicana* es de naturaleza lipoprotéica.
- La acumulación de taninos durante la deshidratación es posiblemente uno de los signos de la pérdida de viabilidad de las semillas de *T. mexicana*.
- Se requiere realizar experimentos de germinación *in situ* ya que hasta el momento no se han logrado simular las condiciones adecuadas para la germinación de las semillas en el laboratorio o el invernadero.
- El estudio anatómico-histoquímico paralelo a las pruebas de deshidratación y germinación permitió interpretar con más bases los resultados obtenidos de germinación y viabilidad.

## LITERATURA CITADA

- Alcántara-Flores, E. 2002. Estructura e Histoquímica de las partes vegetales usadas en medicina tradicional de *Talauma mexicana*. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. 40pp.
- Angelovici, R., G. Galili, A.R. Fernie y A. Fait. 2010. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. *Trends in Plant Science*. 15(4): 211-218.
- Azcón-Bieto, J. y M. Talón. 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. 2°ed. McGraw-Hill Interamericana de España, China. 651pp.
- Bailly C., H. El-Maarouf-Bouteau y F. Corbineau. 2008. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. *Comptes rendus biologiques*. 331: 806-814.
- Baskin, C. y J.M. Baskin. 1998. *Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Academic Press, California, E.U.A. 666pp.
- Becerra-Vázquez, A.G. 2010. Germinación de semillas y crecimiento inicial de especies arbóreas del bosque seco en la Depresión Central de Chiapas. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México D.F. 110pp.
- Bewley, J.D. y M. Black. 1994. *Seeds, physiology of development and germination*. 2°ed. Plenum Press, Nueva York. 445pp.
- Callaway, D.J. 1994. *The world of magnolias*. Timber Press Inc., Oregon, E.U.A. 308pp.
- Cavusoglu K y Kabar K. 2010. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. *Eurasian journal of biosciences*. 4: 70-79.
- Chien, C.T. y P. Lin. 1994. Mechanism of hydrogen peroxide in improving the germination of *Cinnamomum camphora* seed. *Seed science and technology*. 22(2): 231-236.
- Corner, E.J.H. 1976. *The seeds of dicotyledons*, Volumen 2. Cambridge University Press. 305pp.

- Crocker W. y L.V. Barton, 1957. *Physiology of seeds, an introduction to the experimental study of seed and germination problems*. Chronica Botanica Company. E.U.A. 267pp.
- Cunha-Dias, D. 2005. Dormancia en semillas. *Seed news, la revista internacional de las semillas*. IX(4). Publicación en línea. Fecha de consulta: 26/04/2010 <http://www.seednews.inf.br>
- Dickie, J.B. y H.W. Pritchard. 2002. Systematic and evolutionary aspects of desiccation tolerance in seeds. *En: M. Black y H.W. Pritchard (eds.). Desiccation and survival in plants: drying without dying*. CABI Publishing, Londres. 412pp.
- Don, R. 2006. ISTA handbook on seedling evaluation. 3° edición. International Seed Testing Association (ISTA). Holanda. 232pp.
- Ellis, R.M., T.D. Hong y E.H. Roberts. 1990. An intermediate category of seed behaviour? I. Coffee. *Journal of experimental Botany* 41: 1167-1174.
- Esau, K. 1982. *Anatomy of seed plants*, 2°ed. John Wiley & Sons, Inc. Nueva York. 512pp.
- FAO. 2006. Food & agriculture statistics global outlook. Fecha de consulta: 26/04/2010. <http://www.fao.org>
- Fenner, M. y K. Thompson. 2005. *The ecology of seeds*. Cambridge University Press. 260 pp.
- Goedert, C. 2002. Germoplasma: ¿qué significa?. *Seed news, la revista internacional de las semillas*. VI(3). Publicación en línea. Fecha de consulta: 26/04/2010 <http://www.seednews.inf.br>
- Hartmann, H.T. y D.E. Kester. 1997. *Propagación de plantas, principios y prácticas*. 2°ed. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México. 760p.
- Hernández-Najarro, F. 2009. Germinación de Flor de Corazón (*Talauma mexicana* (DC.) Don). Tesis profesional. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 59pp.
- Hoekstra F.A., E.A. Golovina y J. Nijse. 2003. What do we really know about desiccation tolerance mechanisms? (pp. 259-270). *En: G. Nicolás, K.J. Bradford, D. Côme y H.W. Pritchard (eds.). The biology of seeds: recent research advances*. CAB International. <http://www.tupatrocinio.com/patrocinio.cfm/proyecto/83635070091368545656486954674553.html>



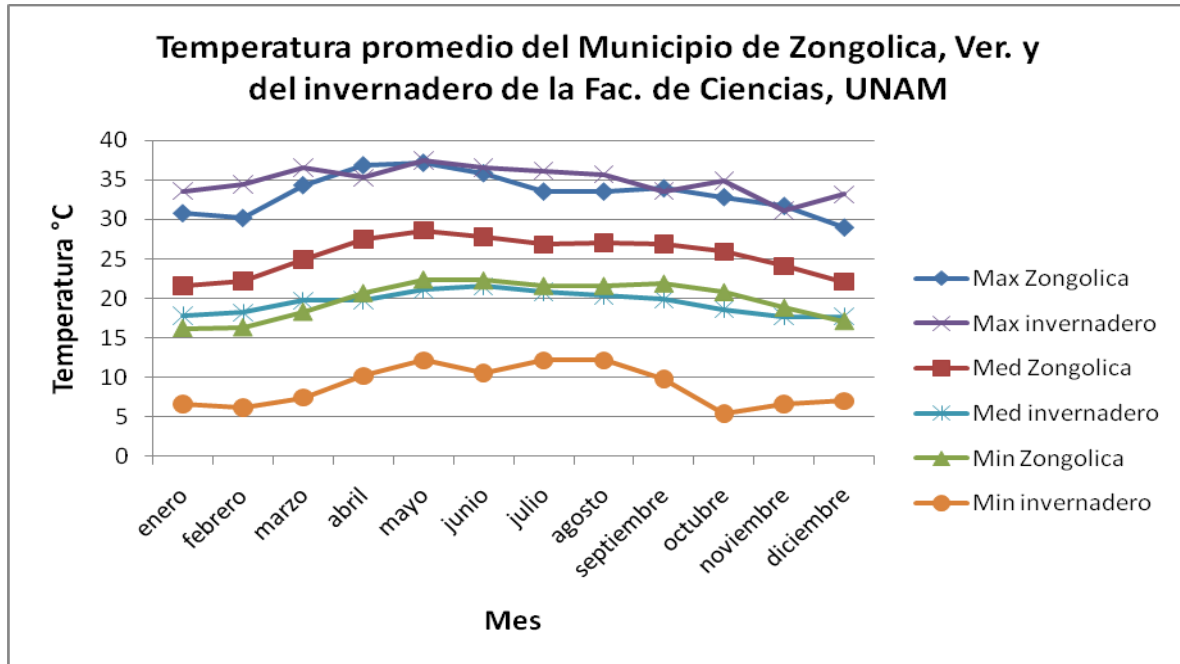
- Janick J., R.W. Schery, F.W. Woods y V.W. Ruttan. 1981. *Plant science, an introduction to world crops*. 3°ed. W.H. Freeman and Company, San Francisco, U.S.A. 868 p.
- Jann, R. C. y R. D. Amen. 1977. What is germination? (pp: 7-25). *En: Khan (ed). The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination*. Elsevier North Holland Biomedical Press.
- Kermode, A.R. y B.E. Finch-Savage. 2002. Desiccation Sensitivity on orthodox and recalcitrant seeds in relation to seed development (pp. 149-184). *En: M. Black y H.W. Pritchard (eds.). Desiccation and survival in plants: drying without dying*. CABI Publishing, Londres. 412pp.
- KEW. 2010. Portal del Royal Botanical Gardens, KEW. Fecha de consulta: 13/07/10 <http://www.kew.org>
- López-Curto, M. L., J. Márquez-Guzmán y G. Murguía-Sánchez. 2005. *Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas*. 2° ed. Facultad de Ciencias, UNAM. México, 178pp.
- Magnitskiy, S.V. y G.A. Plaza. 2007. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana*. 25(1): 96-103.
- Martínez, M. 1969. *Las plantas medicinales de México*. 5° ed. Ediciones Botas. México D.F. 655 pp.
- Medina, M.E. y M. Soto. 2003. Los sitios de colecta de las especies amenazadas o en peligro de extinción en el estado de Veracruz, México. *Foresta Veracruzana* 5(1): 7-14.
- Moreira de Carvahlo, N. y J. Nakagawa. 1988. *Semillas ciencia, tecnología y producción*. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur S. R. L., Uruguay. 406pp.
- Moreno, E. 1996. *Análisis físico y biológico de semillas agrícolas*. 3°ed. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 393pp.
- Moreno, P. 1996. *Vida y obra de granos y semillas*. Fondo de Cultura Económica. 205pp.
- Nicolás, G., K.J. Bradford, D. Côme y H.W. Pritchard. 2003. *The biology of seeds: recent research and advances*. CABI Publishing, Reino Unido. 472pp.

- Osuna, H. R. 1997. Estructura y respuesta germinativa de semillas de plantas medicinales: *Chiranthodendron pentadactylon* y *Talauma mexicana*. Tesis doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. 115pp.
- Osuna, H.R., J. Juárez, A. Brechú y G. Laguna. 2000. *Caracterización de semillas de Talauma mexicana (DC.) Don con base en su morfología y tolerancia a la deshidratación*. Memorias del 1er. Congreso Latinoamericano de Herbolaria. CIDNAT. México. Pp. 178-184.
- Palacios, E. 2006. Ficha técnica de *Talauma mexicana*. Cuarenta y ocho especies de la flora de Chiapas incluidas en el PROY-NOM-059-ECOL-2000. Instituto de Historia Natural y Ecología. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. W008. México D.F.
- <sup>a</sup>Pardo, E. 1956. Efectos del yolojóchitl [*Talauma mexicana* (D.C.) Don] sobre el músculo estriado isquémico. *Ciencia* 16:136-38.
- <sup>b</sup>Pardo, E. 1956. Efectos del Yolloxochitl, *Talauma mexicana*, (D.C.) Don sobre el electrocardiograma de gato. *Ciencia* 17: 15-16.
- Parker, R. 2000. *La ciencia de las plantas*. Paraninfo Thomson Learning, España. 628pp.
- Pastelín, G. 1993. Yolojóchitl (pp. 259-270). *En: La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana*. Edición conmemorativa 50 años Secretaría de salud, México.
- Pennington, T. D. y J. Sarukhán. 1998. *Árboles tropicales de México, manual para la identificación de las principales especies*. 2° ed. Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica. 542pp.
- Roberts E.H. y R.H. Ellis. 1989. Water and seed survival. *Annals of botany*. 63: 39-52.
- Roberts, E.H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology* 1: 499-514.
- SMN. 2010. Portal del Servicio Meteorológico Nacional, México. Fecha de consulta: 04/02/11  
<http://smn.cna.gob.mx>
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2006. *Plant physiology, fourth edition*. Sinauer Associates, Inc. 700pp.
- Tweddle, J.C., J.B. Dickie, C.C. Baskin y J.M. Baskin. 2003. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. *Journal of Ecology*. 91: 294-304.

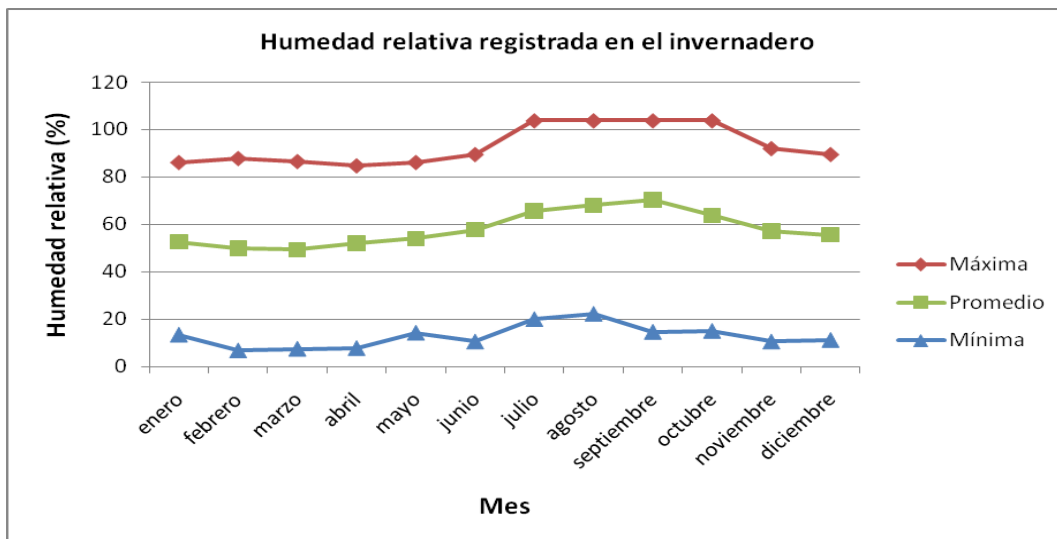
- Vleeshouwers, L.M., H.J. Boumeester y C.M. Karssen. 1995. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of ecology*, 83: 1031-1037.
- Waizel, B.J. 2002. Uso tradicional e investigación científica de *Talauma mexicana*. *Revista Mexicana de Cardiología*. 13(1): 31-38.
- Winston, P.W. y D.H. Bates. 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology*. 41(1): 232-237.
- Zulueta R.R. y M. Soto. 1993. *Bioclimatología de la flora de Veracruz, No. 6 Magnoliaceae*. Instituto de Ecología A.C. Xalapa Ver., University of California, Riverside CA., México. 38pp.

## APÉNDICES

**Apéndice 1.** Temperatura promedio registrada en Zongolica, Ver. del año 1971 al 2000 y temperatura promedio registrada dentro del invernadero de la Facultad de Ciencias, en el año 2007 (SMN, 2010).



**Apéndice 2.** Humedad relativa promedio registrada dentro del invernadero de la Facultad de Ciencias, en el año 2007.



**Apéndice 4.** A) Ubicación de los sitios de colecta e invernaderos de Hernández-Najarro (2009) y Becerra-Vázquez (2010) en el estado de Chiapas; B) Acercamiento del sitio de colecta dentro del Ejido de Ocuilapa de Juárez, Chiapas.

