

00345

3



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO ANATÓMICO Y MORFOLÓGICO
DE LAS SEMILLAS DE *Datura* spp. EN MÉXICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS (BIOLOGÍA VEGETAL)

P R E S E N T A :

MARIA DE LOURDES CARMONA JIMÉNEZ

DIRECTORES DE TESIS: DR. ROBERT ARTHUR BYE BOETTLER
Y DR. EMIL MARK ENGLEMAN CLARK



MÉXICO, D. F.

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

NOMBRE: Ma. de Lourdes
Carmona Jiménez

FECHA: 30-01-03

FIRMA: Carmona Jiménez Ma. de Lourdes ENERO 2003

TESIS CON
FALLA EN ORIGEN

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A Ti que renuevas cada día a la Tierra, con la presencia de la vida.
Que das sabiduría a quien la busca.

A las personas que de alguna manera contribuyeron en la realización de este trabajo.

Al Dr. Robert Bye por sugerir el tema, por proveer del material de estudio, por el apoyo y guía durante el desarrollo del presente trabajo.

Al Dr. Mark Engleman por su asesoría en el estudio embriológico, anatómico y morfológico, por compartir su conocimiento y valor humano.

A la M. en C. Guillermina Murgía por sus sugerencias y comentarios en la parte embriológica. Al Dr. José Luis Villaseñor por su valiosa enseñanza y comentarios especialmente en el análisis numérico. Al Dr. Mario Luna por su apoyo en los análisis numéricos y conocimiento del grupo estudiado. A todos ellos agradezco su valiosa disposición en la revisión del manuscrito, sus acertados comentarios y su confianza.

A la Dra. Sonia Vázquez y al Dr. Alejandro Novelo por sus sugerencias, estímulo y confianza.

A la Biól. Sara Fuentes por su asesoría en el microscopio electrónico de Barrido, comentarios y amistad.

Quiero agradecer especialmente a Salvador Arias, Alicia Rojas y Carmen Cecilia Hernández por la lectura, comentarios su amistad durante el desarrollo de este trabajo. A Darisol Pacheco por su apoyo en la realización de los análisis numéricos. A Ernesto Navarrete en la impresión de fotografías.

A la M. en C. Esthela Sandoval y al Dr. Víctor Chávez, del Jardín Botánico del Instituto de Biología, por las facilidades de laboratorio para realizar el trabajo anatómico, morfológico y fotográfico.

Al Jardín Botánico y al Instituto de Biología por las facilidades para la impresión de este trabajo.

A los compañeros y amigos que de alguna manera colaboraron para que este trabajo tuviera un buen fin: Ezequiel Vázquez, Guadalupe, Miguel Ordóñez, Rigoberto Romero, Alberto, Ulises Guzmán, Concepción Guzmán, Rosa María Cid, Bárbara Estrada, Gabriel Olalde, Marina Meza, Calixto León, Ileana y Jaime Bonilla

A mis padres José y Ma. Isabel C. por su entrega incondicional. A mis hermanos Sergio, Leticia, Estela, Josefina, Ernesto, Miguel y en especial a Enrique por su apoyo en cibernética. A Mónica por su amistad especialmente en los momentos más difíciles. A Diana por compartir su admiración por la naturaleza.

TESIS CON
FALLA DE CRUCEN

CONTENIDO

| | Página |
|--|--------|
| Resumen | 1 |
| 1 Introducción | 1 |
| 2 Antecedentes | 3 |
| 2.1 Generalidades | 3 |
| 2.1.1 Descripción botánica de <i>Datura sensu lato</i> | 3 |
| 2.1.2 Aspectos etnobotánicos | 4 |
| 2.1.3 Aspectos químicos y farmacológicos | 5 |
| 2.1.4 Taxonomía de <i>Datura L.</i> | 6 |
| 2.1.5 Distribución | 9 |
| 2.2 La anatomía de la semilla como apoyo a la Taxonomía | 11 |
| 2.2.1 Semilla y Taxonomía | 11 |
| 2.2.2 Morfología y anatomía del óvulo y de la semilla de <i>Datura</i> | 15 |
| Óvulo | 15 |
| Semilla madura | 15 |
| 2.2.3 Desarrollo del óvulo y de la semilla de <i>Datura</i> | 16 |
| Óvulo | 16 |
| Semilla | 19 |
| Hipótesis | 21 |
| 3 Objetivos | 22 |
| 4 Material y método | 23 |
| 4.1 Preparación de material para el estudio embriológico | |
| de <i>D. stramonium</i> | 23 |
| 4.1.1 Botones florales y frutos | 23 |
| 4.1.2 Semillas maduras | 25 |
| Detección de mucilago en la testa de semilla madura | 25 |
| Disociados de la testa | 26 |
| Análisis con microscopio electrónico de barrido | 26 |

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



| | |
|---|----|
| 4.2 Pruebas histoquímicas en la carúncula | 27 |
| 4.3 Caracteres de la semilla, descripción y estados de carácter utilizados en el análisis fenético | 29 |
| 4.4 Análisis fenético | 39 |
| 5 Resultados | 41 |
| 5.1 Embriología de <i>Datura stramonium</i> | 41 |
| 5.1.1 Desarrollo del óvulo | 41 |
| . Ontogenia del óvulo (megasporangio) | 41 |
| Desarrollo del gametofito femenino (saco embrionario) | 42 |
| 5.1.2 Desarrollo de la semilla | 43 |
| Fecundación | 43 |
| Embrión y endospermo | 44 |
| Desarrollo de la testa | 45 |
| 5.2 Descripción morfológica, anatómica y micromorfológica de las semillas maduras de <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 56 |
| 5.2.1 Descripción anatómica de la semilla de <i>Datura</i> | 56 |
| Microestructura de la epidermis externa de las semillas | 57 |
| Anatomía de la semilla y microestructura de la epidermis externa de <i>Brugmansia sanguinea</i> | 60 |
| 5.2.2 Descripción morfológica de las semillas maduras de <i>Datura</i> <i>sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 67 |
| Topografía de la taza del hilo | 69 |
| Relieve de la testa | 72 |
| Morfología de la carúncula | 73 |
| 5.3 Análisis fenético | 84 |
| 5.3.1 Análisis de conglomerados para <i>Datura</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 84 |
| 5.3.2 Análisis de componentes principales para <i>Datura</i> y <i>Brugmansia</i> <i>sanguinea</i> | 85 |

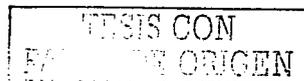
| | |
|--|-----|
| 5.3.3 Análisis de conglomerados para <i>Datura</i> | 87 |
| 5.3.4 Análisis de componentes principales para <i>Datura</i> | 89 |
| 6 Discusión | 92 |
| 7 Conclusiones | 103 |
| Recomendaciones | 106 |
| 8 Glosario | 107 |
| 9 Bibliografía | 110 |
| Anexo I | 117 |
| Anexo II | 118 |
| Anexo III | 119 |
| Anexo IV | 121 |

| | Página |
|--|--------|
| Índice de cuadros | |
| 1 Caracteres morfológicos y ecológicos de las secciones de <i>Datura sensu lato</i> | 7 |
| 2 Clasificación de <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 9 |
| 3 Principales partes del óvulo y la semilla de <i>Datura stramonium</i> | 19 |
| 4 Especies de <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> que se utilizaron para este estudio | 24 |
| 5 <i>Datura stramonium</i> . Exotesta: grosor de mucilago y altura de las esclereidas | 46 |
| 6 Características de la testa de semilla madura de <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 58 |
| 7 Forma de la semilla de <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 67 |
| 8 Color de la testa de semillas de <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 68 |
| 9 Forma de la taza del hilo y caracteres del surco micropilar <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 69 |
| 10 Características de la taza del hilo de <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 71 |
| 11 Características de la superficie de las semillas de <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 73 |
| 12 Características de la carúncula de las semillas de <i>Datura</i> | 74 |
| 13 Color de la carúncula de semillas secas de <i>Datura</i> | 75 |
| 14 Determinación de contenidos en carúncula o en el parénquima de la taza del hilo en <i>Datura sensu stricto</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 77 |
| 15 Características de las semillas de <i>Datura</i> por sección y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 78 |
| 16 Vectores característicos de los caracteres con mayor carga en el análisis de componentes principales de <i>Datura</i> y <i>Brugmansia sanguinea</i> | 86 |
| 17 Vectores característicos de los caracteres con mayor carga en el análisis de componentes principales de <i>Datura sensu stricto</i> | 91 |

Índice de figuras

| | | |
|---------|--|----|
| 1 | <i>Datura stramonium</i> semilla en plano mediano | 17 |
| 2 | <i>Datura stramonium</i> óvulo maduro plano mediano | 17 |
| 3 a – h | Posición de las semillas utilizadas para las fotomicrografías en MEB | 27 |
| 4 a – d | Topografía de la semilla | 30 |
| 5 | Vista lateral de ángulos entre taza del hilo, giba y micrópilo | 31 |

F



| | | |
|---------|---|----|
| 6 – 11 | Desarrollo del óvulo (<i>D. stramonium</i>) | 49 |
| 12 – 17 | Desarrollo del saco embrionario (<i>D. stramonium</i>) | 50 |
| 18 – 21 | Saco embrionario, óvulo maduro y fecundación (<i>D. stramonium</i>) | 51 |
| 22 – 27 | Fecundación y desarrollo del embrión (<i>D. stramonium</i>) | 52 |
| 28 – 31 | Esquema del desarrollo de la testa de la semilla (<i>D. stramonium</i>) | 53 |
| 32 – 35 | Desarrollo de la testa de la semilla (<i>D. stramonium</i>) | 54 |
| 36 – 37 | Sección longitudinal, corte mediano de semilla de <i>D. stramonium</i> y <i>D. kymatocarpa</i> | 55 |
| 38 – 44 | Células epidérmicas de la testa <i>D. stramonium</i> y <i>D. kymatocarpa</i> | 62 |
| 45 | Testa sección perpendicular a la semilla con rojo O | 63 |
| 46 – 47 | Testa y semilla madura de <i>Brugmansia sanguinea</i> | 63 |
| 48 – 54 | Testa sección perpendicular de la semilla madura | 64 |
| 55 – 59 | Testa sección perpendicular de la semilla madura | 65 |
| 60 – 65 | Esclereidas, parénquima de la taza del hilo y carúncula | 66 |
| 66 – 71 | Fotomicrografías de semillas en MEB | 79 |
| 72 – 77 | Fotomicrografías de semillas en MEB | 80 |
| 78 | Fotomicrografía de semilla en MEB de <i>D. discolor</i> | 81 |
| 79 | Esquema de la forma de la taza del hilo | 82 |
| 80 – 84 | Forma de la taza del hilo, surco micropilar, lóbulos y carúncula laminar en <i>D. kymatocarpa</i> | 83 |
| 85 | | 83 |
| 86 | Dendrograma del resultado del análisis de Distancia de 13 OTU's | 84 |
| 87 | Representación de 13 OTU's en espacio bidimensional de un análisis de componentes principales 1 vs 2 | 86 |
| 88 | Dendrograma del resultado del análisis de Distancia de 12 OTU's | 87 |
| 89 | Representación de 12 OTU's en un espacio bidimensional de un análisis de componentes principales 1 vs 2 | 89 |
| 90 | Representación de 12 OTU's en un espacio bidimensional de un análisis de componentes principales 1 vs 3 | 90 |
| 91 | Forma de la taza del hilo | 96 |

G

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

El género *Datura* tiene una amplia distribución mundial, se le encuentra en regiones tropicales y subtropicales de ambos hemisferios. El país con mayor diversidad es México. En la literatura se reconocen de 10 a 14 especies agrupadas en tres secciones.

En el presente trabajo, se realizó un estudio morfológico y anatómico de 11 especies de *Datura* con distribución natural en México, un híbrido putativo y una especie de *Brugmansia*, para definir caracteres que contribuyan a delimitar taxonómicamente a estos géneros y a las especies de *Datura*. Se describió el desarrollo del óvulo, embrión y testa de *D. stramonium*, así como la anatomía y morfología de la testa de las semillas de las especies estudiadas. Se hizo un estudio morfológico de las semillas maduras con la ayuda del microscopio electrónico de barrido.

Los caracteres más representativos son los que se encuentran en la zona de la taza del hilo y en la superficie de la semilla. Con los datos obtenidos, se seleccionaron 39 caracteres, para realizar un análisis de conglomerados y de componentes principales. Se efectuaron dos análisis. El primero incluyó a todos los taxa e indicó que *Brugmansia* es distinto del grupo *Datura*, especialmente por el tamaño de sus semillas. El segundo análisis incluyó solo a *Datura* y esto coincide con las tres secciones del género: a) *Datura* con tres especies (de semillas negras, reticuladas, taza del hilo triangular y surco micropilar corto); b) *Datura* con siete especies (de semillas principalmente pardas, con tres lóbulos definidos, taza del hilo ovada y elíptica, con carúncula); y c) *Ceratocaulis* (semilla parda, con carúncula y caracteres de adaptación al medio acuático). La semilla del híbrido putativo *D. quercifolia* X *D. stramonium* es conespecífica con *D. quercifolia* mientras que *D. metel* lo es con *D. inoxia*. A diferencia de lo consignado por otros autores *D. discolor* es más similar a los taxa de la sección *Datura*.

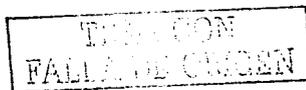
1 INTRODUCCIÓN

El género *Datura* pertenece a la familia Solanaceae, la cual incluye especies de importancia para el hombre, ya que muchas de ellas son comestibles y otras tienen uso medicinal. El género *Datura* es de amplia distribución mundial y, en algunos lugares, se le considera como una maleza (Holm *et al.*, 1979). En México, a las especies de *Datura* se les da el nombre de "toloache", estas tienen uso medicinal, aunque se debe tener cuidado porque *Datura* es tóxica, especialmente las semillas (Buxbaum, 1950; Martínez, 1969; García-Barriga, 1992). En México, *Datura metel* se utiliza como ornamental, mientras que las otras especies silvestres son aprovechadas únicamente como medicinales.

Brugmansia, otro género de Solanaceae, está muy relacionado con el género *Datura*. Las especies de *Brugmansia* son utilizadas como ornamentales en regiones templadas y cálidas húmedas. También se les emplea en la medicina regional y se les da el nombre común de "borracheros" o "floripondios". Su uso medicinal y psicotrópico es muy similar al uso que se le da a *Datura*. Las propiedades químicas entre *Datura* y *Brugmansia* son semejantes (Matuda, 1952; Lockwood, 1979; García-Barriga, 1992).

El interés por estudios en distintos aspectos de *Datura* se inicia desde fines del siglo XIX (Avery, 1959), pero se ha enfocado principalmente a las especies más conocidas, como *D. stramonium*, *D. metel* y *D. inoxia*. *Datura* ha motivado a numerosos científicos para entender su taxonomía y la relación entre las especies que lo forman. Así, Bernhardt (1833) propuso cuatro secciones dentro del género *Datura*, incluyendo a *Brugmansia*; posteriormente otros autores, entre ellos Lockwood (1973) consideraron tres secciones dentro de *Datura* y a *Brugmansia* como un género distinto.

El presente trabajo aborda algunos aspectos anatómicos y morfológicos de las semillas de *Datura*, como una fuente potencial de caracteres que complementen los empleados en trabajos sistemáticos del grupo.



Se han realizado estudios anatómicos y del desarrollo embrionario en semilla de daturas cultivadas en otras regiones del mundo (Souegès, 1907, 1922; Satina, 1959), pero aún es necesario conocer algunos aspectos del desarrollo de la testa y las características de la carúncula. Aún cuando nuestro país es importante en la dispersión y radiación del género *Datura*, no existen estudios de morfología y anatomía de semillas de las especies mexicanas. En este trabajo se tomó como referencia a *D. stramonium*, por su naturaleza herbácea, rápido crecimiento y su amplia distribución en el Distrito Federal, para establecer las bases ontogenéticas y de la estructura seminal. Con base en los antecedentes, es evidente que no existe un consenso en la definición de los términos de la estructura de la testa, especialmente en la descripción de la epidermis interna y de la epidermis externa, así, fue necesario elaborar un glosario de los términos considerados en este trabajo.

La información que proporciona el microscopio electrónico de barrido (MEB) en la obtención de caracteres micromorfológicos es muy valiosa. El uso del MEB ha venido a proporcionar información de la superficie y el relieve de frutos y semillas, como fuente de caracteres taxonómicos (Bracamontes, 1982; Elizondo, et al. 1994). Para describir las cubiertas seminales existe una terminología característica (Barthlott, 1984; Stuessy, 1990). Todo estudio micromorfológico necesariamente debe ser acompañado por estudios anatómicos que correlacionen la estructura de las superficies con la arquitectura interna (Stuessy, 1990).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2 ANTECEDENTES

2.1 Generalidades.

El género *Datura* tiene una amplia distribución mundial, se le encuentra en regiones tropicales y subtropicales de ambos hemisferios. Tiene un gran potencial adaptativo, por lo que se le considera como una maleza mundial. (Holm et al., 1979; Symon y Haegi, 1991).

Datura, según Safford (1922), deriva de la palabra árabe “Tatorah”. Linneo latinizó el nombre indio “Dhatura” o “Dutra” y lo utilizó por primera vez como nombre genérico en su obra *Hortus Cliffortianus* (1738). El género *Datura* se ubica dentro de la familia Solanaceae Jussieu y se incluye en la tribu *Datureae*. Algunos autores consideran que *Datura* y *Brugmansia* representan un sólo género y otros consideran que son dos géneros. *Datura* incluye especies de hábito herbáceo y *Brugmansia* de hábito arbóreo o arbustivo. Las diferencias entre las características de las semillas de estos dos géneros también son muy evidentes. El género *Datura sensu stricto* comprende tres secciones *Datura* (o *Stramonium* Bernhardt) con tres especies, *Dutra* Bernhardt con cinco especies y *Ceratocaulis* (Spac.) Bernhardt una especie (Hammer et al., 1983).

2.1.1 Descripción Botánica de *Datura sensu lato*.

En este trabajo se siguió la descripción de Azcárraga (2001).

Hierbas o arbustos pequeños, pubescentes, farinosos o glabros; ramificados simpódialmente. Hojas alternas, peciolo delgados; margen entero, angulado o sinuoso dentado; pelos glandulares o no. Flores solitarias, axilares, vistosas, pediceladas, erectas, o colgantes, gamopétalas, actinomorfas; cáliz largo, tubular, pentalobado o algunas veces espatáceo y con hendidura o grieta longitudinal en un costado, con frecuencia es circuncisil cerca de la base del fruto; corola infundibuliforme con el tubo largo y delgado, limbo abierto, pentalobado con 10 dientes, lóbulos largamente acuminados, plegados en el botón, glabra o casi glabra;

TESIS
FALLA DE ORIGEN

estambres 5, filamentos adnados cerca de la mitad del tubo de la corola, anteras lineares, dehiscentes longitudinalmente; ovario súpero, bilocular, a veces falsamente 4 locular en la mitad inferior, placentación parietal con numerosos óvulos, estilo filiforme, simple, no exerto, estigma bilobado. Fruto una cápsula ovoide o globosa, puede ser una baya ovoide subglobosa, superficie lisa o con agujijones delgados o robustos, dehiscentes en 4 valvas, en algunas especies es irregular. Semillas numerosas, comprimidas lateralmente, en forma de D, arriñonadas o irregulares, superficie finamente punteada, ocasionalmente con una apariencia rugosa, embrión curvado dentro del endospermo.

2.1.2 Aspectos etnobotánicos.

Actualmente son tres usos fundamentales que se le dan a las especies de *Datura*: medicinal, psicotrópico y ornamental. En la medicina tradicional se utilizan todas las partes de la planta, la especie más usada es *D. stramonium*. Su administración es externa, debido a que se le considera como una planta tóxica y por lo tanto se aplica en forma de cataplasma, vapor de la infusión, lavados o aplicaciones de sus cenizas. Las semillas son consideradas como las estructuras más tóxicas (Martínez, 1969; Bye, 1979; García-Barriga, 1992). Las preparaciones de *Datura* se utilizan para aliviar infecciones de la piel y los dolores de diversas partes del cuerpo, contra el asma, tos ferina, hemorroides, para bajar la fiebre, várices, inflamación y reumas (Martínez, 1969; Lockwood, 1979; Bye *et al.*, 1991). Estas plantas han sido utilizadas por grupos indígenas americanos desde antes de la conquista (Lockwood, 1979; Fuentes, 1980b); en México han sido empleadas con fines medicinales, rituales y ceremoniales.

El uso medicinal que se le da a *Brugmansia* es muy similar al de *Datura* (Matuda, 1952; Lockwood, 1979; García-Barriga, 1992). Especies como *D. metel* y *D. stramonium* son ampliamente reconocidas como ornamentales en varios países o son cultivadas con fines medicinales (Fassina, 1961 y Lu An-Ming, 1986). *D. metel* se utiliza en México como ornamental en lugares cálido húmedos. Las especies de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Brugmansia son nativas de América del Sur; además son cultivadas y utilizadas en la medicina regional y en las prácticas religiosas de diferentes pueblos indígenas americanos. En México se encuentran en solares y huertos en diferentes climas (Lockwood, 1979; Matuda, 1952).

2.1.3 Aspectos químicos y farmacológicos.

En *Datura* y *Brugmansia* existen numerosos estudios químicos, fitoquímicos y farmacológicos en los cuales se reconoce la presencia de alcaloides derivados del tropano. Los principales son hioscina, hiosciamina y atropina. En el género *Datura* se han encontrado hasta 31 alcaloides distintos; además de los ya mencionados se reportan meteloidina, apohioscina, apoatropina, tropina, tiglidina, norhiosciamina y norscopolamina; entre otros no derivados del tropano se mencionan cuscohigrina y nicotina (Leete, 1959; Schultes y Hofmann, 1980; Bye et al., 1991). Existe variación en la concentración de los alcaloides, dependiendo de la especie y de la estructura de la planta. La variación también está dada por las condiciones ambientales donde crece la planta, tales como luz, humedad, temperatura y disponibilidad de nitrógeno (Weaver y Warwick, 1984). La hioscina, la hiosciamina y la atropina son ampliamente utilizadas por sus efectos en el sistema nervioso central y sistema nervioso periférico. La hioscina es el principal componente activo.

En estudios de la retina, dichos alcaloides se aplican como midriáticos (provocan dilatación de la pupila, paralizan el iris y el músculo ciliar). Se usan además como hipnóticos y en general como antiespasmódicos (Leete, 1959; Martínez, 1969; Bye et al., 1991; García-Barriga, 1992). La hioscina produce efectos drásticos sobre la corteza cerebral, es depresor del sistema nervioso central y se utiliza como anestésico local. La hiosciamina se aplica contra la tosferina, el enfisema pulmonar y en particular para controlar el asma (Leete, 1959; Font Quer, 1953; Mata, 1987; Bye et al., 1991; García-Barriga, 1992).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.1.4 Taxonomía de *Datura* L.

En su obra *Species Plantarum*, Linneaus (1753) describió tres especies bajo el género *Datura*: *D. metel*, *D. stramonium* y *D. arborea* (= *Brugmansia candida* Persoon) (Hadkins et al., 1997). En el mismo año Linneo describió *D. ferox* en su obra *Demonstrationes Plantarum*. Persoon (1805) utilizó el nombre genérico *Brugmansia*, reconociendo a ciertas especies como distintas de *Datura*. En 1833, con el antecedente de la descripción de otras especies, Bernhardt separó el género *Datura* en cuatro secciones: I *Brugmansia*, II *Stramonium*, III *Dutra* y IV *Ceratocaulis*. Posteriormente Lagerheim (1895) publicó un estudio muy completo sobre las brugmansias. Safford (1921) reconoció las cuatro secciones, pero en el siguiente orden: I *Stramonium* (con tres especies), II *Dutra* (con seis especies), III *Ceratocaulis* (una sola especie) y IV *Brugmansia* (con catorce especies arbustivas): Barclay (1959) consideró a *Brugmansia* como un subgénero de *Datura*. Con 33 caracteres estudiados Lockwood (1973) reconoció a *Brugmansia* como género distinto de *Datura*. Hammer et al. (1983) presentan una clasificación de *Datura* L. reconociendo cuatro secciones: *Brugmansia* Bernh., *Ceratocaulis* (Spach.) Bernh. (una especie), *Datura* (= *Stramonium* Bernh.) (tres especies) y *Dutra* Bernh. (cinco especies), considerando otras dos especies como sinónimos en *D. discolor*. Fuentes (1980a) y Bye (1986) adicionan dos especies más a esta última sección. Symon y Haegi (1991) consideraron tres secciones dentro de *Datura*: *Datura*, *Dutra* y *Ceratocaulis*. Trabajos recientes de Persson et al. (1999) y Jiao et al. (2002) encontraron diferencias entre *Datura* y *Brugmansia* basadas en polen e isoenzimas respectivamente.

Fuentes et al. (1986) realizaron un análisis multivariado del género *Datura*, con el fin de esclarecer su taxonomía. Sus resultados muestran separación de dos subgéneros: subgénero *Brugmansia*, que comprende las especies arbustivas y el subgénero *Datura*, formado por las especies herbáceas, con las secciones *Datura* (= *Stramonium*), *Dutra* y *Ceratocaulis*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En el Cuadro 1 se presentan los caracteres morfológicos y ecológicos que se han empleado en la descripción y clasificación de *Datura*.

Cuadro 1. Caracteres morfológicos y ecológicos de las secciones de *Datura sensu lato*.
(Modificado de Safford, 1921)

| Sección / Caracteres | I <i>Datura</i> | II <i>Dutra</i> | III <i>Ceratocaulis</i> | IV <i>Brugmansia</i> |
|-----------------------------|--|---|--|------------------------------------|
| HABITAT | terrestres | terrestres | acuáticas y subacuáticas | terrestres |
| FORMA DE VIDA | herbáceas | herbáceas lignificadas | herbáceas | árboles pequeños o arbustos |
| LONGEVIDAD | anuales | perennes, ocasionalmente anuales | anuales | perennes |
| FLORES: | | | | |
| corola | simple | simple o doble | simple | simple o doble |
| posición | flores erectas | flores erectas | flores erectas | flores colgantes |
| CALIZ : | | | | |
| tipo | circuncisil cerca de la base | circuncisil cerca de la base | circuncisil en la base | no circuncisil |
| persistencia | deciduo | generalmente deciduo | deciduo | persistente |
| base | persistente y expandida a modo de escudo rígido o copa | persistente y expandida como escudo rizado | cae con la corola, como un pequeño disco o copa, se abre longitudinalmente | persiste a modo de cáliz espatáceo |
| FRUTO: | | | | |
| tipo | cápsula | cápsula | baya verde ovoide subglobosa | baya |
| posición | erecta | inclinada | inclinada | inclinada |
| dehiscencia | regular longitudinal en 4 valvas | irregular | irregular | indehisciente o irregular |
| consistencia del pericarpio | duro | duro | blando y esponjoso | blando |
| ornamentación | con acúleos rígidos o rara vez liso | aculeado o tuberculado, acúleos a veces flexibles y no ásperos, pubescentes en algunas especies | liso | liso |
| SEMILLAS : | | | | |
| forma | reniforme | reniforme | reniforme | triangular |
| color | negra | negra o parda | parda | parda |
| carúncula | ausente | presente | presente | ausente |

TEMAS CON
FALLA DE ORIGEN

Como se puede ver en la literatura, el género *Datura* ha motivado a numerosos taxónomos a entender la relación entre sus especies, para lo cual se han considerado aspectos ecológicos, morfológicos, anatómicos, genéticos y químicos, entre otros.

Existen dos criterios en la clasificación del género *Datura* L. Uno considera a *Brugmansia* dentro del género *Datura* como una sección aparte (Benhardi, 1833; Dunal, 1852; Safford, 1921; Hammer et al., 1983). Un segundo criterio estima a *Brugmansia* como un género distinto, pero muy cercano a *Datura* (Persoon, 1805; Lockwood, 1973); estos autores piensan que las especies herbáceas son distintas morfológicamente de las especies arbustivas. Siguiendo esta idea, numerosos trabajos han apoyado esta propuesta Fuentes et al. (1986); Xiqués, et al. (1986); Symon y Haegi (1991); Persson et al. (1999); Mace et al. (1999) y Jiao et al. (2002).

En este estudio, se siguió la clasificación del género *Datura* propuesta por Jiao et al., 2002. (Cuadro 2B). En esta propuesta se considera a *Datura* con tres secciones: *Datura* (= *Stramonium*) con dos especies (sin incluir a *D. ferox*, por no pertenecer a las especies de México), *Dutra* con ocho especies y *Ceratocaulis* con una sola especie, y a *Brugmansia sanguinea* como representante del género *Brugmansia*. A diferencia, con la clasificación de Hammer et al., 1983, (Cuadro 2 A), en donde se considera a *Brugmansia* como una sección dentro de *Datura*; la sección *Dutra* con cinco especies en donde se incluye a *D. kymatocarpa* y *D. reburra* como variedades de *D. discolor*; *D. leichhardtii* (= *D. pruinosa*), y no se considera a *D. lanosa*, la cual fue descrita posteriormente a este trabajo. Las secciones *Ceratocaulis* y *Datura* permanecen como lo proponen Hammer et al. (1983).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 2. Clasificación de *Datura sensu lato*, propuesta por (A) Hammer *et al.* (1983) y la clasificación propuesta por (B) Jiao *et al.* (2002).

| A | B |
|---|--|
| <p>Género: <i>Datura</i></p> <p>Sección I: <i>Brugmansia</i> Bernhardi:</p> <p>Sección II: <i>Ceratocaulis</i> (Spach.) Bernhardi: <i>D. ceratocaula</i> Willd.</p> <p>Sección III: <i>Dutra</i> Bernhardi: <i>D. discolor</i> Bernh. (<i>D. kymatocarpa</i>, <i>D. reburra</i>) <i>D. inoxia</i> Mill. <i>D. metel</i> L. <i>D. leichhardtii</i> F. Muell. (<i>D. pruinosa</i> Greenm.) <i>D. wrightii</i> Regel</p> <p>Sección IV: <i>Datura</i> (=Stramonium Bernhardi): <i>D. ferox</i> L. <i>D. stramonium</i> L. <i>D. quercifolia</i> Kunth</p> | <p>Género: <i>Datura</i></p> <p>Sección I: <i>Datura</i> (=Stramonium Bernhardi): <i>D. quercifolia</i> Kunth <i>D. stramonium</i> L.</p> <p>Sección II: <i>Dutra</i> Bernhardi: <i>D. inoxia</i> Mill. <i>D. lanosa</i> A.S. Barclay ex Bye <i>D. metel</i> L. <i>D. wrightii</i> Regel <i>D. discolor</i> Bernh. <i>D. kymatocarpa</i> A.S. Barclay <i>D. pruinosa</i> Greenm. <i>D. reburra</i> A.S. Barclay</p> <p>Sección III: <i>Ceratocaulis</i> (Spach.) Bernhardi: <i>D. ceratocaula</i> Willd.</p> <p>Género: <i>Brugmansia</i> Persoon: <i>B. sanguinea</i> D. Don.</p> |

2.1.5 Distribución.

El género *Datura* se distribuye a nivel mundial en zonas tropicales y templadas. En la literatura se reconocen de 10 a 14 especies, de las cuales la mayoría se encuentra en forma natural en el continente americano desde el suroeste de los Estados Unidos, México a Centro América y las islas del Caribe. Lockwood (1973) estima que durante el Terciario, las especies de *Datura* sufrieron radiación adaptativa en respuesta a un ambiente desértico, por lo que considera a México y la región suroeste de los Estados Unidos (Megaméxico, Rzedowski, 1993) como el centro de origen y evolución de las daturas. Así, *D. ceratocaula*, *D. discolor*, *D.*

TEMA CON
FALLA DE ORIGEN

inoxia, *D. kymatocarpa*, *D. lanosa*, *D. metel*, *D. pruinosa*, *D. quercifolia*, *D. stramonium*, *D. reburra* y *D. wrightii* son consideradas como nativas de esa región y cinco de éstas como endémicas de México. En Cuba se reporta a *D. velutinosa* como endémica (Fuentes, 1980a). Numerosos estudios han tratado de esclarecer el origen de este género que, al parecer, es en el Nuevo Mundo. Estudios biogeográficos demuestran que las tres secciones de *Datura* se encuentran representadas en el Nuevo Mundo y que en el Viejo Mundo no representan una unidad taxonómica (Symon y Haegi, 1991). En Europa, Asia y otros lugares, este género se dispersó rápidamente después del descubrimiento de América; esto fue principalmente en los lugares en donde florecieron las primeras colonias españolas y portuguesas como India, China, norte de África y Australia (Symon y Haegi, 1991).

México es el lugar en donde se encuentran distribuidas naturalmente once especies, representativas de las tres secciones del género. De ellas, cinco son endémicas a México: *D. ceratocaula*, *D. kymatocarpa*, *D. lanosa*, *D. pruinosa* y *D. reburra*. Existen numerosas fuentes históricas, las cuales indican que desde tiempos muy remotos varias especies de *Datura* eran utilizadas por los grupos indígenas de México. Ahí se menciona el "toloatzin" (cabeza inclinada), ahora llamado "toloache". Escritos más recientes, como la obra de Martínez (1969), mencionan varias especies, sus usos, distribución, datos químicos y peligros. El conocimiento y uso de las daturas en nuestro país, apoyan la hipótesis de que México es el lugar de distribución natural de la mayoría de las especies del género *Datura*.

Las especies de *Brugmansia*, los llamados "floripondios", son conocidas y utilizadas en países sudamericanos y se considera su origen natural en esta región. Probablemente *Brugmansia* y *Datura* tienen un ancestro común; por un lado, las especies del primer grupo evolucionaron y se distribuyen en las regiones cálidas húmedas de América del Sur y las del segundo grupo se dispersaron por las Antillas y Centroamérica hasta llegar a México, así evolucionaron en regiones templadas y áridas dando origen a los taxa actuales de *Datura*. Así, estos datos apoyan la hipótesis del origen de *Datura* en América (Lockwood, 1979). De ahí la importancia

TIENE CON
FALLA DE ORIGEN

del estudio de las especies en México, ya que es la región en donde se encuentra el mayor número de ellas, probablemente por su gran diversidad geográfica, climatológica y ecológica, favoreciendo la diversidad biológica que caracteriza a nuestro país.

Datura pruinosa es considerada como endémica de México, pero esta especie es morfológicamente semejante a *D. leichhardtii* que se distribuye en Australia; de acuerdo con Avery (1959), estas son especies distintas, pero Hammer et al. (1983) las consideran una misma especie, *D. leichhardtii*, con dos subespecies *leichhardtii* y *pruinosa*; por esta razón, es necesario realizar estudios biogeográficos de este complejo como apoyo a la taxonomía de este grupo. En el caso de *D. quercifolia*, su mayor área de distribución se encuentra en el territorio mexicano y sólo algunas poblaciones se encuentran en el suroeste de los Estados Unidos. Con *D. wrightii* ocurre lo contrario.

Al parecer, el género *Datura* ha evolucionado para adaptarse a las zonas áridas y *Brugmansia* a las zonas húmedas (Lockwood, 1973). Los caracteres que pueden indicar la adaptación a un medio árido de la mayoría de las daturas son: a) el desarrollo de estructuras que protegen de la depredación, principalmente de ratones que consumen sus semillas, b) el desarrollo de la carúncula, como alimento para las hormigas que favorecen la dispersión, lo cual asegura un mayor porcentaje de viabilidad de las semillas, gracias a la mirmecocoria y brindan un sustrato rico en nutrimentos (O' Dowd y Hay, 1980; Baskin y Baskin, 1998).

2.2 La Anatomía de la semilla como apoyo a la Taxonomía.

2.2.1 Semilla y Taxonomía.

Anatomía y morfología de la semilla.

La testa de la semilla brinda protección contra los animales que ingieren los frutos, así como al ataque de microorganismos y otros daños, durante el periodo de latencia. También, la testa puede impedir la entrada de agua, inhibiendo la germinación. El color negro de las semillas probablemente es producido por los

UNAS CON
FALLA DE ORIGEN

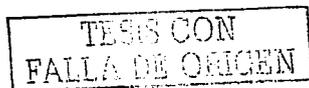
taninos incrustados en las paredes de la exotesta (Suárez-Ramos y Engleman, 1980; Carrillo-Ocampo y Engleman, 1994). De acuerdo a lo propuesto por Barthlott (1984), la superficie de la testa presenta un arreglo que se puede agrupar en cuatro categorías: a) patrón de arreglo celular (proyecciones, costillas, lóbulos, retículos); b) forma de la célula (contorno, límites de la pared anticlinal); c) relieve de las paredes periclinales (tricomas, pliegues, protuberancias) y d) secreciones epicuticulares (ceras, mucílago).

El funículo es una estructura que une a la semilla con la placenta, es de tejido suave y se separa en la semilla madura. La expansión del funículo cerca de la zona calazal, causa que algunas semillas presenten un hilo grande; el micrópilo es una pequeña abertura que, al desarrollarse la semilla, puede mantenerse como un poro ocluido o quedar completamente obliterado cercano o no al hilo; dichas modificaciones pueden ser características en ciertos grupos (Esau, 1976; Espinosa y Engleman, 1998).

La carúncula es una excrescencia blanquecina, dura o carmosa, que se sitúa en el extremo micropilar de la semilla, como consecuencia de una proliferación de las células del tegumento externo (Bhojwani y Bhathnagar, 1981). En regiones de bosque templado, bosque deciduo o en el desierto, a cambio del alimento que puede proporcionar la carúncula o eleosoma de la semilla a las hormigas, éstas aseguran su dispersión y reducen la depredación; además, las hormigas brindan a la planta un sustrato rico en potasio, fosfato y nitrato (Fahn, 1974; Marshall, *et al.* 1979; Symon y Haegi, 1991; Baskin y Baskin, 1998). La carúncula también puede tener las siguientes funciones: facilitar la hidratación y deshidratación de la semilla, inducir la latencia de la semilla y guardar una reserva de agua para la germinación (Lisci *et al.*, 1996).

Importancia taxonómica.

La importancia taxonómica que tienen las semillas en la sistemática de las angiospermas ha sido demostrada por diversos autores, quienes han propuesto

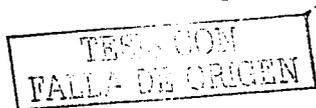


clasificaciones basadas principalmente en caracteres de la semilla. Corner (1976) describió la morfología de semillas de varias familias de dicotiledóneas; Bahadur y Farooqui (1986) utilizaron caracteres de semilla y de la testa para clasificar 20 especies de *Nicotiana*; Bonilla et al. (2000) mediante un estudio de morfología comparada de semillas de especies de *Nymphaea* de México, pudieron distinguir tres subgéneros.

La taxonomía numérica es una herramienta importante para la clasificación biológica ya que por medio de evaluaciones estadísticas o numéricas de la afinidad o similitud entre Unidades Taxonómicas Operativas (OTU's) puede inferirse el agrupamiento de estas unidades en taxa, basándose en el estado de sus caracteres (Sokal y Sneath, 1963). Se han realizado varios estudios de taxonomía numérica en solanáceas en los cuales se han considerado muy pocos caracteres de semillas, tales como el número de semillas por fruto, el tamaño (largo, ancho, diámetro), la forma, color, posición del hilo y la superficie de la testa (retículo, lamelas, tipo de punta, contorno celular y tubérculos) (Soria y Heiser, 1961, Heiser et al., 1965, Bahadur y Farooqui, 1986)

Las características externas de la semilla, como tamaño, forma, color de la testa, hilo, micrópilo, funículo, presencia o ausencia de carúncula y otras estructuras son de valor taxonómico. Semillas y frutos pequeños presentan una alta y compleja diversidad morfológica y micromorfológica, que proveen información de valor taxonómico. En la semilla el hilo es la cicatriz que señala el sitio de unión a la placenta o el funículo. Su posición, forma y estructuras que lo rodean pueden ser de valor taxonómico.

Por otra parte, la anatomía de la testa ha sido de gran valor taxonómico a nivel de familia, género y especie. En la testa madura, las características morfológicas, anatómicas e histoquímicas varían notablemente entre las especies. Por lo tanto, la testa puede ser útil en la clasificación e identificación de las plantas (Corner, 1976; Benson, 1962; Edmonds, 1983; Barthlott, 1984; Mauseth, 1988). Entre las características internas de la semilla con valor diagnóstico están el número



de estratos que componen la testa, sus formas celulares y los componentes histoquímicos; la cálaza, el tejido vascular, la estructura del embrión y su relación con el endospermo, las cuales son de importancia taxonómica (Vaughan, 1970; Cutter, 1971; Fahn, 1974; Barthlott, 1984; Esau, 1985).

Como la semilla es un órgano de almacenamiento de reservas nutritivas, en el endospermo y también en el embrión se pueden encontrar sustancias, como granos de aleurona, aceites y granos de almidón. Las proteínas en forma de granos de aleurona, de cristales y globoides, son de poco valor taxonómico por ser muy comunes. Los aceites, en comparación, podrían servir para delimitar grupos de plantas por el lugar en donde se depositan, o por las estructuras que forman. En contraste, la presencia de los granos de almidón, así como su ubicación, su forma y su tamaño, pueden ser de gran valor taxonómico (Vaughan, 1970). Por lo tanto, la histoquímica aporta datos importantes en la descripción de las semillas (Wellendorf, 1962; Maldonado y Lott, 1990). También, es importante tomar en cuenta las estructuras relacionadas con el origen y desarrollo del óvulo y la semilla en angiospermas ya que son importantes para determinar relaciones taxonómicas (Fahn, 1974; Esau, 1985; Stuessy, 1990).

Estudios en *Datura*.

Fuentes et al. (1986) y Xiqués et al. (1986) efectuaron análisis numéricos en *Datura*, donde tomaron en cuenta caracteres de semilla; entre ellos carúncula (presencia, ausencia), color de la semilla (negra, parda) y testa (suberificada, no suberificada). En ambos estudios se diferenciaron dos grupos: *Brugmansia* (especies arbustivas) y *Datura* (especies herbáceas).

Existen estudios de *Datura* que tratan la revisión taxonómica del grupo, y se fundamentan en aspectos morfológicos de la planta y variación genética. Sin embargo, a pesar del interés por el estudio de este género, la situación taxonómica no se ha logrado aclarar totalmente, por lo que es necesario utilizar otras herramientas como morfología y anatomía de la semilla, así como su desarrollo

embrionario y composición química, para ayudar a entender la clasificación de *Datura* y aclarar algunos aspectos evolutivos y adaptativos de las semillas.

2.2.2 Morfología y anatomía del óvulo y de la semilla de *Datura*.

A fines del siglo XIX y principios del siglo XX, se efectuaron estudios que muestran el interés por el análisis de las semillas de las diferentes especies de *Datura*. En relación a la anatomía de *Datura*, han sido estudiadas comparativamente varias especies de valor comercial (Timmerman, 1927). También fue estudiado el desarrollo, desde óvulo hasta semilla madura, de varias especies de *Datura* (Planchon y Collin, 1895; Souèges, 1907, 1922; Satina y Avery, 1959). A continuación se presenta una síntesis de la anatomía, la morfología y el desarrollo de las semillas de *Datura* y *Brugmansia*.

Óvulo. El óvulo es el megasporangio rodeado por sus tegumentos protectores antes de la polinización; cuando esta ocurre, se produce la semilla (Engleman, 1960; Espinosa y Engleman, 1998). Comúnmente, el óvulo se diferencia en las siguientes partes: la nucela, uno o dos tegumentos, el funículo y el saco embrionario. La cálaza es la región en donde la nucela y los tegumentos confluyen (Engleman, 1960; Esau, 1976).

El óvulo de *Datura*, en estadios tempranos es ortótropo, pero se curva durante su desarrollo hasta llegar a ser campilótropo en la semilla madura (Satina, 1959). En *Datura* la nucela es curva, el hilo está cercano al micrópilo, la rafe es muy corta y en semilla madura no se ve, el óvulo es sésil. El óvulo de *D. stramonium* es tenuinucelado y unitégmico; el micrópilo está delimitado por la epidermis interna de la testa, a la cual se le denomina endotelio. Los óvulos pueden tener carúncula y la mayoría de las semillas de *Datura* la presentan como *D. ceratocaula*, *D. discolor*, *D. inoxia*, *D. kymatocarpa*, *D. lanosa*, *D. metel*, *D. pruinosa*, *D. reburra*, y *D. wrightii*.

Semilla madura. Se encuentra formada por embrión, endospermo, testa, hilo, micrópilo y carúncula. El embrión está bien desarrollado, curvado y lo envuelve el endospermo (Fig. 1). Presenta radícula, plúmula, dos cotiledones y abundantes

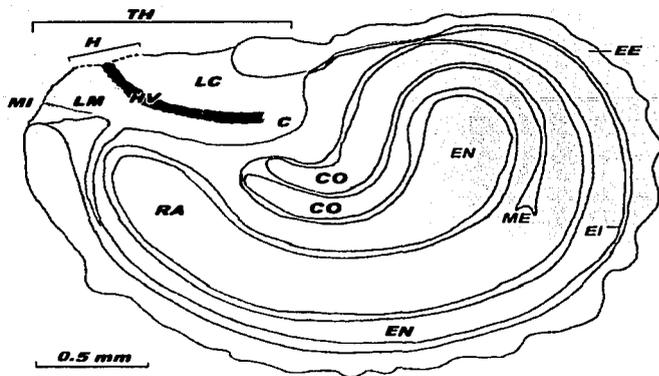
reservas de proteínas y aceites. Tejidos de reserva se presentan en embrión y endospermo. La cubierta seminal o testa proviene del tegumento del óvulo. La cálaza está muy cercana al hilo y al micrópilo. En *Datura* el hilo es amplio y circunda la zona del micrópilo y del funículo, y el tegumento externo se desarrolla en testa dura, formando una pared alrededor del hilo, lo que constituye la taza del hilo (término utilizado por Buxbaum, 1955). La carúncula es una estructura característica de las secciones *Dutra* y *Ceratocaulis*, la sección *Datura* no la presenta. Este punto se tratará con detalle en los resultados. Algunos trabajos de *Datura* se han realizado para describir la carúncula; así, para *D. discolor* se menciona que la carúncula es un cuerpo que proporciona comida, y se le relaciona con la dispersión de la semilla por medio de hormigas (mirmecocoria) y que al mismo tiempo, protegen la semilla de los depredadores (O'Dowd, 1980). En otro estudio se observó que algunos roedores consumen las semillas de diversas especies y entre las favoritas se encuentran *D. meteloides* (= *D. inoxia*) y *D. discolor* (Hay y Fuller, 1981).

2.2.3 Desarrollo del óvulo y de la semilla de *Datura*.

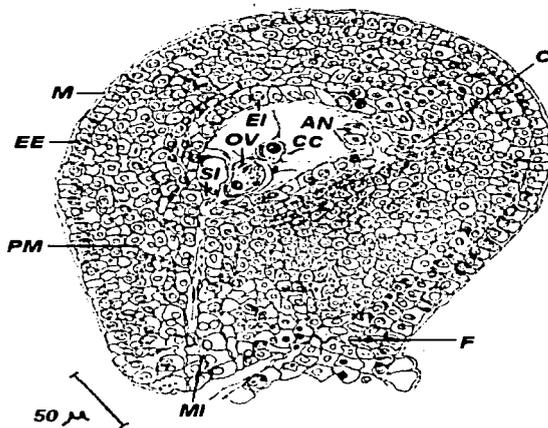
Óvulo. En el primordio del óvulo o nucela la formación del tegumento se inicia antes de la diferenciación de la célula arquesporial. La célula arquesporial funciona directamente como célula madre de la megaspora. Como resultado de la meiosis se forma una tétrada lineal de cuatro megasporas. las tres micropilares se desintegran tempranamente y la megaspora funcional está situada en la zona calazal. Por medio de tres divisiones mitóticas la megaspora funcional forma un saco embrionario octanucleado con siete células. Este tipo de desarrollo es normal o de tipo Polygonum (Stuessy, 1990).

En un saco embrionario maduro, se encuentran tres antípodas hacia la zona calazal, una célula central con dos núcleos polares y el aparato ovocelular ubicado en la zona micropilar. se constituye por dos sinérgidas y la ovocélula (Fig. 2). La

TEMA CON
FALLA DE ORIGEN



1



2

Figura 1 - 2. *Datura stramonium*. 1 - Semilla en corte mediano. 2 - Óvulo maduro en corte mediano. AN - antípodas, C - cálaza, CC - célula central, CO - cotiledón, EE - epidermis externa del tegumento, EI - epidermis interna del tegumento, EN - endospermo, F - funículo, H - hilo, HV - haz vascular, LC - lado calazal del parénquima de la taza del hilo, LM - lado micropilar del mismo, M - mucílago, ME - meristemo apical del vástago, MI - micrópilo, PM - parénquima de la mesotesta del tegumento, SI - sinérgida, RA - radícula, TH - taza del hilo.

fusión de los núcleos polares en *Datura* casi siempre ocurre antes de la fertilización (Satina, 1959).

Cubierta del óvulo. En el inicio del óvulo *Datura stramonium* presenta tres estratos externo, medio e interno. El estrato externo inicia la formación del tegumento, el siguiente estrato forma a la protodermis de la nucela y el estrato interno da origen a la célula madre de la megaspora (Satina, 1959). Las células nucelares localizadas entre las células madre de la megaspora y el tegumento, desaparecen después de la división meiótica y el saco embrionario maduro queda en contacto con el tegumento interno. El tegumento de las especies de *Datura* es de origen epidérmico (Sanders y Burkholder, 1948; Satina, 1959 y Esau, 1985), y se forma por divisiones de la protodermis, semejante a un anillo que envuelve a la nucela (Espinosa y Engleman, 1998).

En *Datura*, el tegumento está constituido por tres estratos: la epidermis externa y la epidermis interna están formadas por un solo estrato de células; entre estos estratos se encuentra una capa media o mesotesta, formada por numerosos estratos de parénquima (Souèges, 1907; Wellendorf, 1962).

La función de la epidermis externa es de protección. La mesotesta permite la nutrición y sus células contienen gran cantidad de almidón. El papel de la epidermis interna varía de acuerdo a los estadios de desarrollo. En los estadios tempranos cuando la nucela se desintegra, la epidermis interna sirve como protección del saco embrionario, al cual rodea casi por completo, interrumpiéndose en la zona calazal y en el micrópilo; posteriormente a la fertilización, su función puede ser digestiva, y en la semilla madura actúa como protección pues sus paredes se hacen más gruesas. Las células de la epidermis interna se diferencian, en las distintas etapas del desarrollo, por su forma rectangular, su afinidad a la safranina y su arreglo alrededor del endospermo.

Semilla. Las estructuras que constituyen la semilla madura son: embrión, endospermo y testa en la cual se observan estructuras como el hilo, el micrópilo, la carúncula y la taza del hilo (Fig. 1). Las estructuras del óvulo o rudimento seminal que dan origen a una semilla madura son las siguientes estructuras: (Cuadro 3)

Cuadro 3. Principales partes del óvulo y la semilla de *Datura stramonium*.
Modificado de Espinosa-Osornio y Engleman (1998)

| ÓVULO | SEMILLA |
|------------------|--|
| Saco embrionario | |
| Ovocélula | Embrión |
| Célula central | Endospermo |
| Nucela | Se desintegra a edad muy temprana del desarrollo |
| Tegumento | Testa y carúncula |
| Hilo | Hilo |
| Rafe | Rafe |
| Cálaza | Cálaza |
| Micrópilo | Micrópilo |

a) Embrión. Después de la fecundación, en el saco embrionario se forma una tétrada lineal en la cual la célula distal tiene dos células hermanas. Siguen varios estadios de proembrión y embrión. Después de 7 a 9 días el proembrión tiene forma oval; a los 10 días el embrión tiene forma globular (en esta etapa aparecen los tejidos que darán origen a la protodermis); alrededor de los 12 a 13 días tiene forma acorazonada (formación de tejidos provasculares y los cotiledones); después de 15 días adquiere forma cilíndrica (presencia de los promeristemos radicular y epicotilar, los cotiledones crecen y se curvan) (Satina y Rietsema, 1959). En sus tejidos el embrión almacena aceites y proteínas.

b) Endospermo. Como en la mayoría de las angiospermas, el endospermo se forma de la fusión de dos núcleos polares y un gameto masculino, por lo tanto es una estructura triploide. El desarrollo del endospermo en *Datura* es de tipo celular. En la

madurez, el endospermo rodea el embrión, es un tejido rico en aceites y proteínas, y tiene una capa de aleurona bien delimitada (Satina y Rietsema, 1959).

c) Testa. La testa o cubierta seminal corresponde al tegumento del rudimento seminal. Después de la fecundación del óvulo, la epidermis externa sufre un notable cambio. En la epidermis externa se depositan taninos en estratos concéntricos en las paredes anticlinales y en la pared periclinal interna. Sobre la epidermis externa se encuentra una cubierta de mucílago (Timmerman, 1927). La epidermis interna protege el saco embrionario y rodea el canal micropilar. El parénquima de la mesotesta, al inicio del desarrollo de la semilla, está formado por numerosos estratos ricos en almidón que se van consumiendo a medida que el embrión y el endospermo se desarrollan, hasta que desaparece (Wellendorf, 1962).

d) Hilo. Es una cicatriz producida por el desprendimiento de la semilla. En *Datura*, el micrópilo es perceptible y se encuentra en uno de los extremos del hilo.

e) Carúncula. Es una protuberancia situada encima de la taza del hilo, al lado opuesto del micrópilo y junto al hilo. Se presenta solo en algunas especies de *Datura*. En las especies sin carúncula, esta es sustituida por un tejido parenquimático. Reisman-Berman, et al. (1989) describieron dicho tejido, que ocupa la taza del hilo de *D. ferox* y *D. stramonium*, como no permeable al agua.

Existen ciertas similitudes estructurales en las semillas de *D. stramonium* y de las brugmansias. Los óvulos de ambas son unitégmicos, y la testa tiene tres estratos; el embrión bien desarrollado está inmerso en un endospermo rico en aceites y proteínas. Pero *Brugmansia* se distingue por presentar 1) células epidérmicas de la testa grandes y con paredes internas delgadas; 2) en la testa de las semillas se encuentra una capa gruesa de parénquima "esponjoso (Wellendorf, 1962).

Sin embargo, aún existe confusión con respecto al origen de ciertas estructuras de la testa. Por ejemplo: en semilla madura, a la epidermis interna y a la cutícula que separa la testa del endospermo se les considera como reminiscencias de la nucela (Timmerman, 1927; Reisman-Berman et al., 1989). Timmerman (1927) y

Wellendorf (1962) no tienen claro si las proyecciones redondeadas sobre las células de la epidermis externa son células pequeñas o son estructuras subcelulares.

Con base en lo anterior, en el presente trabajo, se planteó la necesidad de realizar un estudio embriológico, morfológico y anatómico de semillas de *Datura* cuyo propósito fue esclarecer el origen de la cutícula que separa a la testa del endospermo, las estructuras sobre las células de la epidermis externa, origen y estructura de la testa, así como utilizar los caracteres analizados, para efectuar un análisis de similitud entre las especies de *Datura*.

Hipótesis:

a) Si la clasificación propuesta por Hammer et al. (1983) para las especies de *Datura*, con base en caracteres morfológicos de la planta refleja la relación de similitud entre las especies, entonces la clasificación basada en los caracteres de semilla será igual y por lo tanto apoyarán la inclusión de *Brugmansia* como un subgrupo del género *Datura*.

b) Si la clasificación propuesta por Jiao et al. (2002) para las especies de *Datura*, con base en marcadores genéticos, refleja la relación de similitud entre las especies, entonces la clasificación basada en los caracteres de semilla será igual.

3 OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio anatómico y morfológico de las semillas del género *Datura* que se distribuyen en forma natural en México.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Describir el desarrollo embrionario de las semillas de *Datura stramonium*.
- 2.- Describir la estructura de la testa, la morfología y la anatomía de semillas maduras de las especies de *Datura* (*D. ceratocaula*, *D. discolor*, *D. quercifolia* X *D. stramonium*, *D. kymatocarpa*, *D. lanosa*, *D. metel*, *D. pruinosa*, *D. quercifolia*, *D. reburra*, *D. stramonium*, *D. wrightii*) y de *Brugmansia sanguinea*.
- 3.- Describir nuevos caracteres de semilla que ayuden en la diferenciación de las especies de *Datura*.
- 4.- Realizar un análisis fenético, entre *Brugmansia sanguinea* y *Datura*.
- 5.- Realizar un análisis fenético de los taxa de *Datura* basados en los caracteres de la semilla.

4 MATERIAL Y MÉTODO

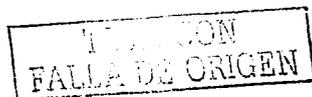
En este trabajo se realizaron los siguientes estudios: a) embriológico para *Datura stramonium*; b) morfológico, anatómico, histoquímico, de microscopía electrónica y de análisis numérico de semillas maduras para 11 especies de *Datura*, un híbrido putativo y una especie de *Brugmansia*, las localidades de las colectas se presentan en el Cuadro 4 y en el Anexo IV. El material proviene de la Colección de Semillas del Jardín Botánico del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las especies fueron determinadas por el Dr. Robert Bye. Se utilizaron 50 semillas secas para cada especie, de por lo menos dos muestras distintas.

4.1 Preparación de material para el estudio embriológico de *Datura stramonium*.

4.1.1 Botones florales y frutos.

Se recolectaron botones florales en distintas etapas de desarrollo. flores en antesis, frutos en diferentes niveles de madurez y semillas maduras. La recolección se realizó únicamente de *D. stramonium*, en el Pedregal de San Ángel, México, D. F., 24 septiembre de 1997 (L. Carmona 184. MEXU), Los botones se separaron por tamaños y se cortaron en fragmentos pequeños, los frutos inmaduros se seccionaron transversalmente. los frutos de edad mediana se cortaron transversalmente retirando parte del tejido del ovario y los frutos de mayor tamaño se abrieron para desprender las semillas de la placenta. El material se fijó en FAA durante 48 horas, se lavó con agua corriente durante 2 horas, se ablandó y conservó en solución de GAA (glicerol-agua-etanol) al 1:2:3.

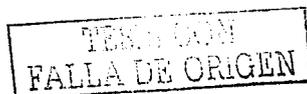
Los botones florales y frutos inmaduros se incluyeron en parafina y Paraplast (Johansen, 1940). Para esto, se lavaron con agua destilada durante una hora haciendo varios cambios para retirar el GAA, posteriormente se deshidrataron en cambios de etanol, de xileno-Paraplast (1:1) y de Paraplast puro en una estufa a 58°C.



Cuadro 4. Especies de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea* que se utilizaron para este estudio. EUA = Estados Unidos de América, MX = México.

| Género: | Sección: | Especie | Colector/número | País: | Estado: | Municipio | Abreviaturas |
|-----------------------------|-----------------|-------------------------|--------------------------------------|--------------|------------------------|-----------------------|---------------------|
| <i>Datura</i> | | | | | | | |
| <i>Datura:</i> | | | | | | | |
| | | <i>D. quercifolia</i> x | R. Bye 20569 | MX: | San Luis Potosí: | San Luis Potosí | DH |
| | | <i>D. stramonium</i> | R. Bye 14370 | MX: | San Luis Potosí: | Santa María del Río | DQ |
| | | <i>D. quercifolia</i> | R. Bye 27931 | MX: | Chihuahua: | Parral | |
| | | <i>D. stramonium</i> | R. Bye 15197 | MX: | Distrito Federal: | Coyoacán | DS |
| | | | L. Carmona 184 | MX: | Distrito Federal: | Coyoacán | |
| | | | R. Bye 15865 | MX: | Jalisco: | Zapopan | |
| <i>Dutra:</i> | | | | | | | |
| | | <i>D. discolor</i> | R. Bye 13375 | MX: | Sinaloa: | Guasave | DD |
| | | | R. Bye 19032 | MX: | Querétaro: | Arroyo seco | |
| | | | R. Bye 26732 | MX: | Sonora: | Magdalena de Kino | |
| | | <i>D. inoxia</i> | R. Bye 13270 | MX: | San Luis Potosí: | Santa María del Río. | DI |
| | | | R. Bye 18363 | MX: | Nuevo León: | Sabinas Hidalgo | |
| | | | R. Bye 19374 | MX: | Chihuahua: | Casas Grandes | |
| | | <i>D. kymatocarpa</i> | R. Bye 15819 | MX: | Guerrero: | Iguala | DK |
| | | | R. Bye 19306 | MX: | Guerrero: | Iguala | |
| | | <i>D. lanosa</i> | R. Bye 15275 | MX: | Chihuahua: | Batopilas | DL |
| | | | R. Bye 16163 | MX: | Sonora: | Hermosillo | |
| | | <i>D. metel</i> | J. Arellano y M.A. Martínez A5485 | MX: | Oaxaca: | Oaxaca | DM |
| | | | M. Luna 1026 | MX: | Oaxaca: | San Mateo del Mar | |
| | | | M. Luna 1001 | MX: | Yucatán: | Izamal | |
| | | | M. Luna 1004 | MX: | Quintana Roo: | Chetumal | |
| | | | M. Luna 1006 | MX: | Quintana Roo: | Chetumal | |
| | | <i>D. pruinosa</i> | R. Bye 14388 | MX: | Puebla: | Tehuacán | DP |
| | | | R. Bye 20902 | MX: | Puebla: | Tehuacán | |
| | | | R. Bye 17057 | MX: | Morcles: | Tlaltizapán | |
| | | <i>D. reburra</i> | R. Bye 13332 | MX: | Sinaloa: | Mocorito | DR |
| | | | R. Bye 20625 | MX: | Sinaloa: | Culiacán | |
| | | | R. Bye 20642 | MX: | Sinaloa: | Culiacán | |
| | | <i>D. wrightii</i> | R. Bye 14384 | EUA: | Arizona | | DW |
| | | | R. Bye 26809 | MX: | Sonora: | San Luis Río Colorado | |
| | | | R. Bye 26820 | MX: | Baja California Norte: | Tecate | |
| | | | R. Bye 20881 | EUA: | California | | |
| <i>Ceratocaulis:</i> | | | | | | | |
| | | <i>D. ceratocaula</i> | R. Bye 15632 | MX: | Zacatecas: | Pánfilo Nátera | DC |
| | | | R. Bye 15072 | MX: | Zacatecas: | Pánfilo Nátera | |
| <i>Brugmansia</i> | | | | | | | |
| | | <i>B. sanguinea</i> | R. Bye 20880 | EUA: | San Francisco | | BC |

Los cortes se realizaron en un micrótopo de rotación American Optical 820, a un grosor de 4 a 5 µm. La orientación de los cortes fue: mediano y transversal (con



respecto a la parte media del hipocótilo). Los cortes se desparafinaron, se hidrataron y se tiñeron con safranina-verde fijo con 3 h en safranina y 30 s en verde fijo; luego se lavaron con xileno y se montaron en resina sintética.

Los frutos y semillas inmaduras, se lavaron con agua corriente para retirar el ablandador (GAA). Se hicieron dos cambios en alcoholes graduales hasta etanol 100% y posteriormente etanol 100%-xileno 2:1; etanol 100%-xileno 1:1; xileno 100%; xileno-parafina 2:1; xileno-parafina 1:1; parafina 100%, se hicieron bloques orientandos de acuerdo al corte necesario. Cada cambio tuvo una duración de 24 horas y en xileno-parafina 48 horas. Los cambios a partir de xileno-parafina se realizaron a temperatura constante de 58°C, en una estufa. Los cortes fueron de 6 a 10 μm , dependiendo de la edad de la semilla.

4.1.2 Semillas maduras.

Las semillas se ablandaron hirviéndolas en agua durante media hora. Para incluirlas en parafina se siguió la técnica antes mencionada, únicamente teniendo en cuenta que los cambios a partir de xileno 100% se hicieron a temperatura constante de 58° C en una estufa, después se agregaron poco a poco escamas de parafina, permitiendo que ésta penetrara al interior de la semilla, efectuando cada cambio de 48 a 72 horas: xileno 100%; xileno-parafina 1:1; xileno-parafina 2:1; parafina pura. Los cortes transversal y mediano se hicieron en un micrótomo de rotación de 6 a 9 μm de grosor. Los cortes se desparafinaron e hidrataron y se aplicaron las técnicas de tinción de safranina y verde-fijo.

Detección de mucílago en la testa de semilla madura.

Las semillas fueron colocadas en bloques de parafina sin tratamiento previo. después se seccionaron en un micrótomo de rotación en secciones transversales de 15 a 17 μm de grosor, y con la ayuda de un pincel de cerdas suaves se aplicó a la “cara” del bloque una capa de agua-gelatina (30 ml + gelatina 0.04 g) a 40° C. Posteriormente se obtuvieron los cortes, los cuales fueron adheridos al portaobjetos con una gota de la solución mencionada, y con ayuda de una aguja se orientaron los

cortes. Se colocaron los portaobjetos a la estufa para evaporar la solución. Para realizar las preparaciones fijas sin tinción, estas se deshidrataron en etanol, aceite de clavo, xileno y se montaron en resina. Esta técnica evita la disolución del mucílago en agua.

Disociados de la testa en semilla madura.

Se realizaron mediante dos técnicas distintas: a) Ácido acético-agua oxigenada (13 volúmenes) (2:1) (Kraus y Arduin, 1997); inicialmente se separaron las testas de tres semillas y se dejaron en la mezcla durante 48 h, luego se lavaron con agua destilada y se hicieron preparaciones fijas. b) Etilendiamina al 2% (Kukachka, 1977, modificado por Calixto León Gómez, comunicación personal) con un tiempo de ablandamiento de 2 horas. Se retiró el ablandador y se elaboraron preparaciones fijas.

Se hicieron dibujos con la ayuda de la cámara lúcida del microscopio Carl Zeiss Axioscop. Se tomaron fotomicrografías a color, en papel y en diapositivas con película Velvia ISO 50.

Análisis con Microscopio Electrónico de Barrido.

Se escogieron nueve semillas maduras, representativas de 2 a 3 poblaciones de cada especie. Se remojaron en agua destilada-jabón biológico (4:1) durante 18 horas y posteriormente se limpiaron con un pincel de cerdas suaves, luego se lavaron con agua destilada y se secaron a temperatura ambiente. Las semillas fueron montadas en un portamuestras de aluminio con una cinta de carbón de doble adhesivo, enseguida se bañaron con oro en una ionizadora modelo 550 Emitech durante 90 s con una corriente de 15 miliamperios (mA). El estudio se realizó en un microscopio electrónico de barrido Hitachi S-2460 N a 10 kV. Las fotomicrografías fueron tomadas con una cámara Pentax Z 10 con película Ilford PanF 50 e impresiones en papel térmico. Las observaciones y toma de fotomicrografías se realizaron en el Laboratorio de Microscopía Electrónica del Instituto de Biología, UNAM.

En el microscopio electrónico de barrido (MEB) se tomaron fotomicrografías completas de las semillas mostrando distintas posiciones: (a y b) lateral de ambos lados, (c) apical, (d) dorsal, (e) ventral, (f y g) acercamiento de la taza del hilo y del micrópilo. (h) lateral de la carúncula (Fig. 3). Además, se tomaron acercamientos de la superficie externa de *D. stramonium*, *D. kymatocarpa* y *D. reburra*.

Para la descripción de la anatomía de la semilla y la microestructura de la superficie de la testa, se siguió la terminología sugerida por Barthlott y Voit (1979) y Barthlott (1984). Para entender la microestructura fue necesario, además de fotomicrografías en MEB, hacer observaciones en los microscopios estereoscópico y compuesto.

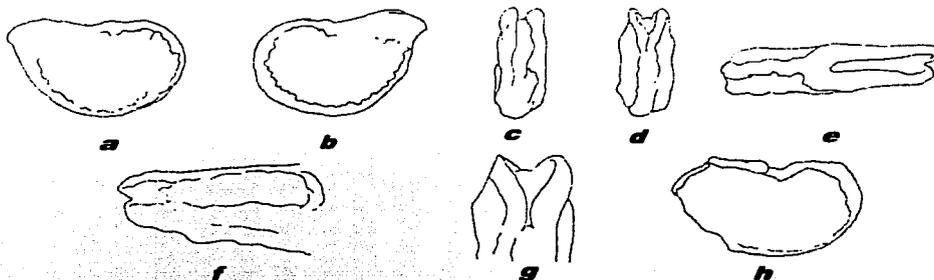


Figura 3. *Datura wrightii*. Posición de las semillas utilizadas para las fotomicrografías tomadas en MEB: a y b - lateral; c - apical y d - dorsal; e - ventral; f y g - acercamiento de la taza del hilo y micrópilo; h - lateral con carúncula.

4.2 Pruebas histoquímicas en la carúncula.

1) Aceites. Se hizo la prueba de rojo O de aceite, la cual tiñe de rojo (Carrillo y Engleman, 1994). Con una pinza de punta fina se desprendieron las carúnculas de 10 semillas maduras, en seco, y se les agregó directamente el rojo O de aceite saturado, durante 30 min a 3 horas; algunas carúnculas se lavaron en 2 propanol (60%) por 0.5 a 1 min y posteriormente en 2 propanol (50%) por 3 a 5 min y luego

se montaron en glicerol puro; otras carúnculas fueron lavadas directamente con agua destilada y se montaron en gelatina glicerizada.

2) Proteínas y polisacáridos. Se utilizó la doble tinción de ácido peryódico + reactivo de Schiff (APS) + azul negro de naftol (Engleman comunicación personal). Las carúnculas enteras se colocaron en un portaobjetos y fueron procesadas de la siguiente manera: 1) se colocó una gota de agua destilada; 2) se aplicó ácido peryódico durante 15 min; 3) se lavaron con agua (durante 10 a 20 seg); 4) se aplicó reactivo de Schiff durante 15 min; 5) se lavaron con agua; 6) se deshidrataron hasta etanol 50%; 7) se aplicaron unas gotas de azul negro de naftol durante 10 min; 8) se lavaron con butanol al 95% y se siguió con butanol al 100%; 9) se les transfirió a xileno durante 3 min y 10) se montaron en resina sintética.

3) Proteínas. Se utilizó el azul negro de naftol. Se tomaron las carúnculas enteras, se colocaron en un disco de Siracusa; enseguida 1) se inició el proceso con etanol 30%, 50% (dos cambios de 5 min cada uno); 2) se aplicó una gota de azul negro de naftol (1:1) durante 10 min; 3) se lavaron con etanol 70% (dos cambios de 5 min cada uno); 4) se continuó la deshidratación con etanol al 95% y 5) etanol absoluto; 6) se pasó a xileno (dos cambios de 3 min) y 7) se montaron en resina sintética.

4) Taninos o contenidos fenólicos en la testa de la semilla madura. Se aplicó la prueba de permanganato de potasio ($KMnO_4$), tiñéndolos de color café (Suárez-Ramos y Engleman, 1980).

5) Almidón. Se utilizó yodo-yoduro de potasio (12 KI, solución de Lugol) (Johansen, 1940). La carúncula de la semilla seca se colocó en un portaobjetos con una gota de agua y Lugol, obteniendo un color azul o pardo cuando el almidón presente.

Otro método para identificar el almidón fue a través de luz polarizada, la cual produce la cruz oscura en los granos de almidón. Esta misma técnica microscópica permitió identificar la arena cristalina, las paredes celulares de la exotesta y el parénquima debido a la birrefringencia de estas estructuras.



Las preparaciones se realizaron en el Laboratorio de Apoyo a la Investigación del Instituto de Biología, UNAM. Las preparaciones fijas se depositaron en la colección científica de ésta Institución.

4.3 Caracteres de la semilla, descripción y estados de carácter utilizados en el análisis fenético.

Se utilizaron 50 semillas para cada especie. Fueron evaluados 39 caracteres, los cuales se describen a continuación. Los primeros 12 caracteres son cuantitativos (Anexo II); se midieron con un calibrador digital (modelo Mitutoyo 500-422). Para obtener la forma de la semilla (13) y la de la taza del hilo (20), se hizo la razón entre largo y ancho. La forma de la taza del hilo (20) y el reborde de la taza del hilo (21) en la zona micropilar, fueron fotografiadas en el MEB.

Los caracteres cuantitativos son:

1.- Largo de la semilla (mm).

2.- Ancho de la semilla (mm).

Los caracteres 1 y 2 fueron tomados en la vista lateral de la semilla (Fig. 4a) de acuerdo a las formas propuestas por el Systematic Association Committee (1962, modificado por Radford et al. (1974) y tomado de Stuessy, 1990).

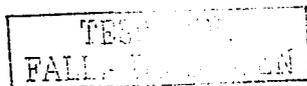
3.- Grosor dorsal (mm). El grosor en el lado opuesto al hilo.

4.- Grosor en la zona del hilo (mm).

5.- Peso seco (mg). Se pesaron 50 semillas en una balanza (Mettler PM 1 200) y se obtuvo el promedio.

6.- Largo de la taza del hilo (mm).

7.- Ángulo entre la taza del hilo y la giba (grados). Se obtuvo tomando como referencia un punto O que es la parte de la orilla de la taza del hilo más cercana al centro de la semilla. El plano GG' pasa por el punto O y el punto más alto de la giba. El plano HH' pasa por el punto O, con dirección al hilo, y es tangente a la orilla endurecida de la taza del hilo en la zona más cercana al punto O. Estos dos planos forman un ángulo (HOG) medido en vista lateral de la semilla (Fig. 5).



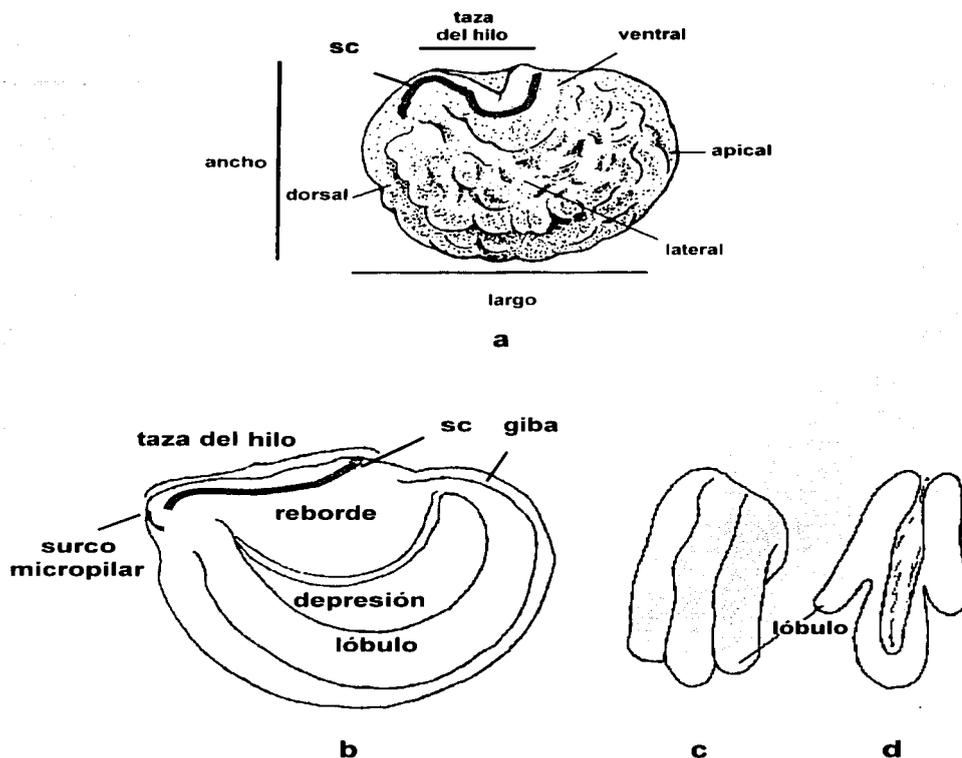


Figura 4. Topografía de la semilla. a - *Datura quercifolia*, topografía de la semilla (modificado de Barthlott, 1979); b - d - *Datura reburra* ubicación o forma de las principales características micromorfológicas de una semilla. b - vista lateral, c - vista apical y d - corte transversal con respecto al eje del embrión. sc - reborde de la taza del hilo con curvatura en forma de "S" en a - cerrada S y en b - abierta f.

8.- Ángulo entre la taza del hilo y el micrópilo (grados). Se obtuvo tomando como referencia el plano HH' y un plano MM' el cual es tangente a la orilla endurecida de la taza del hilo alrededor de la zona micropilar. Estos dos planos forman un ángulo (HDM) (Fig. 5).

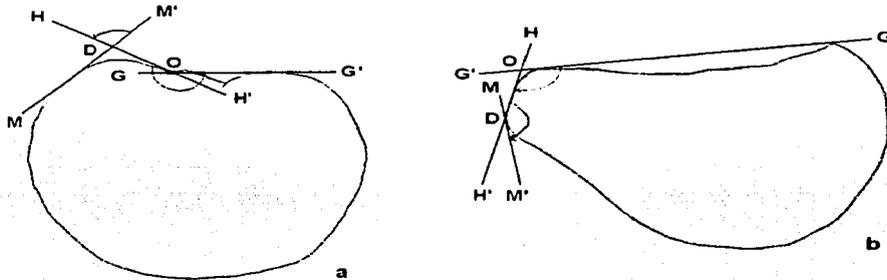


Figura 5. a - *Datura stramonium* y b - *Brugmansia sanguinea*. Vista lateral que muestra el ángulo entre la taza del hilo y la giba (HOG) y el ángulo entre la taza del hilo y el micrópilo (HDM).

9.- Razón entre ancho / largo de la semilla, medidos en vista lateral. La razón permitió definir la forma de la semilla (Fig. 4a):

- a) comprimida ovada (1:2 - 2:3) = 0.50 - 0.75
- b) ampliamente comprimida ovada (5:6) = 0.76 - 0.95

10.- Razón entre largo de la taza del hilo / largo de semilla.

11.- Razón entre largo / ancho de la taza del hilo, en vista ventral de la semilla. Se obtuvo de los promedios, tomando como base la zona calazal que es la zona más amplia. Así, las formas pueden ser:

- a) elíptica y ovada (3:2 - 2:1) = 1.30 - 2.40
- b) triangular (3:2 - 2:1) = 1.30 - 2.40
- c) lineal (12:1) = 10 o más

12.- Ancho de la taza del hilo (mm). Medición tomada en la base de la taza del hilo, incluyendo el borde de la taza del hilo.

Los caracteres cualitativos son:

13.- Forma de la semilla, fue obtenida de la vista lateral de acuerdo a las formas propuestas por el Systematic Association Committee (1962, modificado por Radford et al. (1974) y tomado de Stuessy, 1990). Se presentan dos estados:

- a) 0 – comprimida obovada
- b) 1 – ampliamente comprimida obovada

14.- Color de la semilla seca se describió con base en las tablas Color Fan (Nickerson, 1957). Es de carácter binario:

- a) 0 – parda
- b) 1 – negra

15.- Giba (joroba). Es la parte de la testa donde los cotiledones se doblan. En algunas especies, corresponde a un abultamiento de la testa (Fig. 2 y 4b). Es de carácter binario:

- a) 0 – ausente
- b) 1 – presente

16.- Depresión lateral de la semilla, es el hundimiento curvo en los dos lados, equidistante entre la taza del hilo y la orilla opuesta. Corresponde a la parte central del endospermo (Fig. 4b). Es un carácter de doble estado:

- a) 0 – ausente
- b) 1 – presente

17.- Lóbulos. Pliegues de la exotesta siguiendo el contorno de la semilla en uno o dos lados del plano mediano, separados por dos surcos periféricos (hundimientos curvados en la exotesta e inclusive dentro del tejido interno) (Fig. 4b-d). Es un carácter multiestado:

- a) 0 – ausente
- b) 1 – tres lóbulos poco definidos
- c) 2 – tres lóbulos bien definidos
- d) 3 – siete lóbulos poco definidos

18.- Reticulo en la superficie de la semilla, formado por células más bajas en areolas incluidas en una red de células más altas. Es un carácter de doble estado:

- a) 0 – ausente
- b) 1 – presente

19.- Proyecciones en la superficie de la semilla, dadas por grupos de células más altas en la exotesta, que están separados por surcos irregulares. Es de carácter binario:

- a) 0 – ausente
- b) 1 – presente

20.- Forma de la taza del hilo. De acuerdo a las formas propuestas por Systematic Association Committee (1962, modificado por Radford et al. (1974) y tomado de Stuessy, 1990). Se tomaron en fotomicrografías de MEB y de observaciones en el microscopio estereoscópico. Presentando un carácter multiestado:

- a) 0 – irregular
- b) 1 – elíptica
- c) 2 – ovada
- d) 3 – triangular
- e) 4 – linear

21.- Reborde de la taza del hilo en la zona micropilar. Se tomó en fotomicrografías de MEB y de observaciones en el microscopio estereoscópico. Es un carácter binario.

- a) 0 – abierto
- b) 1 – cerrado

22.- Abertura del espacio de la taza del hilo. Es el ancho del espacio incluido en la taza del hilo, sin considerar el borde y la base de la taza del hilo considerada en el carácter 12. Presenta dos estados:

- a) 0 – ancha
- b) 1 – angosta

23.- Curvatura de la taza del hilo en forma de S. En la semilla en vista lateral se puede observar una curvatura formada por células de la exotesta que va de la zona del surco micropilar (dorsal), a la zona del hilo e incluso por encima de la zona calazal bordeando la zona denominada taza del hilo (Fig. 4a. b). Se presentan tres

estados: una recta, una curva en forma de S abierta (f) y una curva en forma de S cerrada (S).

- a) 0 – recta
- b) 1 – curva en forma de S abierta (f)
- c) 2 – curva en forma de S cerrada (S)

24.- Reborde engrosado, principalmente alrededor de la taza del hilo. El reborde se eleva de la superficie general de la semilla y puede presentar células diferenciadas, con protuberancias más bajas que dan una apariencia lisa de la testa en esta zona, dando un aspecto distinto del resto de la superficie de la semilla (Fig. 4b). Este reborde puede presentarse o no en las semillas, pero cuando se presenta puede ser corto o extendido, por lo que al tomar este carácter son tres estados:

- a) 0 – ausente
- b) 1 – corto
- c) 2 – extendido

25.- Reborde de la taza del hilo con o sin protuberancias subcelulares más bajas que el resto de la semilla.

- a) 0 – ausente
- b) 1 – presente

26.- Tamaño del surco micropilar, para este carácter no se tomaron mediciones ya que se requiere el uso del microscopio electrónico de barrido para un mayor número de semillas. El surco micropilar es corto o largo, la diferencia entre ambos estados es muy evidente en semillas secas y en una de ellas no se presenta, por lo que se tomó como multiestado.

- a) 0 – ausente
- b) 1 – corto
- c) 2 – largo

27.- Pliegue micropilar convexo. Estructura formada por células delgadas de la exotesta que sobresalen en la región del micrópilo, en la zona dorsal de la semilla

(Fig. 4a). Es característico de una especie por lo que se consideró como de doble estado.

a) 0 – ausente

b) 1 – presente

28.- Proyección en la taza del hilo. La taza del hilo es alargada y estrecha, como un tubo sobresaliente del cuerpo de la semilla. Sólo se presenta en las semillas de una de las especies por lo que se consideró como un carácter de doble estado.

a) 0 – ausente

b) 1 – presente

29.- Carúncula. Es una protuberancia situada encima de la taza del hilo, al lado opuesto del micrópilo y junto al hilo. Se presentan dos estados:

a) 0 – ausente

b) 1 – presente

30.- Forma de la carúncula en semilla seca: puede ser de forma deprimida obovada o laminar. Deprimida obovada cuando la carúncula está por encima de la taza del hilo y sobresale del cuerpo de la semilla como una masa de tejido de forma generalmente irregular o puede ser esferoide, elipsoide, escutiforme, pero difícilmente se puede definir la forma, sobre todo en semillas secas; por lo que se consideró como deprimida obovada para las formas anteriores y laminar cuando la carúncula es delgada y cubre en un 20 - 30% a la semilla por debajo del plano de la semilla en la zona de la taza del hilo, como un velo. Se consideran tres estados para el género que son: ausencia de carúncula y dos de la forma.

a) 0 – ausente

b) 1 – laminar

c) 2 – deprimida obovada

31.- Persistencia de la carúncula. En las semillas maduras la carúncula puede persistir, aún cuando esté seca o a pesar de la manipulación de las semillas (durante la separación del fruto, secado, etc.); en algunos casos la carúncula no se desprende sin romper la exotesta y en otros se desprende con facilidad (puede dar la apariencia

de que no se presenta). Se consideraron tres estados: ausencia de carúncula y presencia de carúncula si es persistente o es caediza.

- a) 0 – ausente
- b) 1 – caediza
- c) 2 – persistente

32.- Consistencia de la carúncula húmeda. Cuando la carúncula está húmeda, el tejido tegumentario puede ser de aspecto frágil o resistente. Se consideraron ausencia de carúncula, carúncula de aspecto frágil en la mayoría de las especies y resistente para un de ellas.

- a) 0 – ausente
- b) 1 – frágil
- c) 2 – resistente

Para la obtención de los caracteres de contenidos en la carúncula y en el parénquima de la taza del hilo, y sus estados de carácter, en este trabajo se tomaron los intervalos que se aplican en el Laboratorio de Desarrollo de Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM (no evidente, escaso, frecuente, abundante, muy abundante). Al realizar el análisis de este tipo de estados, es un tanto relativo ya que la variabilidad depende de varios factores incluso de la misma percepción del investigador. Pero, se trató de realizar en una sesión la observación y evaluación de los contenidos de la carúncula de las semillas de todas las especies, en las mismas condiciones y con las mismas técnicas, considerando un orden de evaluación de menor a mayor cantidad de contenidos en un campo del microscopio de luz, la observación y decisión fue tomada por dos personas.

33.- Abundancia de aceite en la carúncula o en el parénquima de la taza del hilo de las especies que no presentan carúncula. El aceite se presenta en eleosferas pequeñas, medianas y grandes, dentro de las células o formando parte de la pared celular de la carúncula. El aceite es escaso cuando se presentan eleosferas pequeñas y son muy pocas en cada célula del tejido de reserva; frecuente, cuando las eleosferas son pequeñas y medianas, pero se observan con facilidad: abundante.

cuando fácilmente se observan las eleosferas de tamaño pequeño y mediano, y muy abundante al observarse una gran cantidad de eleosferas que son de mayor tamaño comparadas con los rangos menores y, en la mayoría de las células de la carúncula, ocupan más del 50% del lumen. Es un carácter de tipo multiestado.

- a) 0 – escasa
- b) 1 – frecuente
- c) 2 – abundante
- d) 3 – muy abundante

34.- Abundancia de arena cristalina. Evidentes bajo luz polarizada, en la carúncula o en el parénquima de la taza del hilo. Este carácter puede presentarse o no. La abundancia varía en las distintas especies y es característica en algunas de ellas. La arena cristalina no se apreció en la carúncula de algunas especies, es escasa cuando con dificultad se pueden observar unos cuantos cristales en cada célula, frecuente cuando no es difícil observar los cristales, abundante cuando con facilidad se observan y muy abundante en donde los cristales ocupan un alto porcentaje del lumen celular. Los estados de carácter multiestado fueron:

- a) 0 – no evidente
- b) 1 – escasa
- c) 2 – frecuente
- d) 3 – abundante
- e) 4 – muy abundante

35.- Abundancia de almidón, en la carúncula o en el parénquima de la taza del hilo, observado en el microscopio con luz polarizada o con Lugol. En algunas carúnculas es fácil la observación de almidón con la luz polarizada, pero en otros casos es necesario corroborarlo con Lugol. Si la carúncula no ha sido bien secada y conservada, es difícil observar el almidón, el cual, fácilmente puede ser digerido por hongos. Es muy abundante cuando el porcentaje mayor del 50 % del lumen celular se encuentra ocupado por almidón. Los estados de carácter multiestado fueron:

- a) 0 – escasa
- b) 1 – frecuente
- c) 2 – abundante
- d) 3 – muy abundante

36.- Abundancia de proteínas, en la carúncula o en el parénquima de la taza del hilo. Teñidas con negro de naftol. Se observa en esferas azules o de tipo protoplásmico (como una mancha de color azul). Es uno de los contenidos difíciles de apreciar, pero es muy evidente en la carúncula de algunas de las especies. Los estados de carácter fueron multiestado:

- a) 0 – escasa
- b) 1 – frecuente
- c) 2 – abundante

37.- Grosor de la pared periclinal externa de las esclereidas. En la cubierta tegumentaria observada en cortes perpendiculares a la testa; el registro fue únicamente cualitativo. Es decir, no se hicieron mediciones, pero se aprecian dos estados de carácter: delgadas y gruesas. Las paredes periclinales externas son transparentes y frágiles, al manipular a la semilla la mayoría se rompen y las paredes periclinales gruesas son resistentes y no se rompen. Se observaron dos estados.

- a) 0 – delgada
- b) 1 – gruesa

38.- Lumen de las esclereidas. Observado en cortes perpendiculares a la testa en semillas maduras. El lumen de las esclereidas puede ser: estrecho, apenas perceptible en un con espacio de un 5%; amplio, donde se observa con facilidad un espacio celular de un 25% y grande, cuando más del 50% está hueco. Se observaron tres estados.

- a) 0 – estrecho
- b) 1 – amplio
- c) 2 – grande

39.- Número de estratos de células de parénquima en mesotesta de semillas maduras. Se consideraron tres estados

- a) 0 – (0 – 3) estratos
- b) 1 – (4) estratos
- c) 2 – (5 - 20) estratos

4.4 Análisis Fenético.

En este trabajo se aplicaron dos tipos de análisis numéricos complementarios: el análisis de conglomerados y la ordenación mediante análisis de componentes principales. Estos se realizaron mediante el programa "Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System" (NTSYS-pc), versión 2.02 (Rohlf, J.F., 1993; Exeter Software, 1997).

Se utilizaron 39 caracteres (Anexo II y Anexo III): 9 cuantitativos continuos (representados por su valor promedio), 3 de razón entre dos caracteres, 8 caracteres cualitativos de doble estado, 5 de doble estado excluyente y 14 multiestado con secuencia lógica.

Se construyeron dos matrices básicas de datos (MBD); una de 39 hileras por 13 columnas y otra de 39 hileras por 12 columnas, en donde las columnas corresponden con las especies (OTU's) y las hileras con los caracteres o variables (Anexo I). En la primer matriz se incluye a *Datura* y *B. sanguinea*, con lo que se pretende conocer la relación entre los dos géneros, y en la segunda únicamente se incluyen a las especies de *Datura* para analizar la similitud entre ellas.

Análisis de conglomerados.

Las MBD se estandarizaron debido a la presencia de caracteres con diferentes escalas y distintos tipos de variables. La estandarización se realizó utilizando el programa STAND, incluyendo los parámetros \bar{Y} y Std para las operaciones de sustracción y división respectivamente. La estandarización se realiza con el fin de que todos los atributos contribuyan de igual manera en la similitud global. Posteriormente, se calculó el coeficiente de similitud entre OTU's mediante el programa SIMINT, y con el método de coeficiente de distancia taxonómica promedio (DIS), recomendado para datos mixtos. La matriz obtenida indica la similitud entre cada par de OTU's. A la matriz resultante se le aplicó un análisis de conglomerados, siguiendo el método secuencial, aglomerativo, jerárquico y anidado (SAHN), para lo cual se empleó la técnica de ligamiento promedio de la media aritmética no ponderada (UPGMA). El agrupamiento derivado de este análisis, se

representó en un dendrograma. Luego se calculó el coeficiente de correlación cofenética, así, a partir del dendrograma se construyó una matriz cofenética, con el programa Cophenetic Values, la cual se comparó con la matriz de similitud a través del programa Matrix Comparison, y se obtuvo el índice o coeficiente de correlación (r), el cual, si es mayor a 0.8, indica una buena representación de la matriz de similitud en el dendrograma (Sneath y Sokal, 1973).

Método de ordenación.

El análisis de componentes principales (ACP) es una técnica que permite determinar dos aspectos básicos del grupo en estudio: las relaciones entre las OTU's por medio del arreglo de las mismas en una gráfica, y la importancia de las variables en cada componente principal. En primer término, se estandarizó la MBD, luego se calculó el coeficiente de correlación entre caracteres (modo R). A la matriz obtenida (CORR) se le aplicó el doble centrado y se analizó mediante el programa EIGEN, que calcula las matrices de vectores y de valores característicos en tres dimensiones o componentes principales. Con este análisis se producen dos matrices, una de eigenvalores que explica la carga acumulada de cada componente y otra de eigenvectores la cual contiene el "peso" de cada carácter en cada uno de los tres componentes principales. Luego, la matriz de eigenvectores fue multiplicada por la matriz estandarizada para proyectar a las OTU's en el espacio de los caracteres, con el programa PROJECTION. Esta matriz fue graficada con el programa MATRIX-PLOT y así se representaron a las OTU's en un espacio bidimensional tanto para el primer y segundo componentes, así como el primer y tercer componentes principales.

5 RESULTADOS

Tres aspectos fueron considerados en el estudio de las semillas del género *Datura*: a) El desarrollo de la semilla de *D. stramonium*, en donde se describieron estructuras, tejidos de óvulo y semilla, que permitieron entender principalmente el desarrollo de la testa y la estructura de la semilla madura. b) Anatomía, micromorfología y morfología de las semillas maduras de 12 especies del género *Datura*, con lo cual se obtuvieron esquemas y fotomicrografías. c) Un análisis fenético basado en los caracteres de la semilla.

5.1 Embriología de *Datura stramonium*.

Para entender la estructura de la testa de las semillas maduras de *Datura* se estudió la ontogenia del óvulo, el desarrollo del gametofito femenino y el desarrollo de la semilla. Se escogió a *D. stramonium* por ser una especie disponible y representativa del género.

Las flores de *D. stramonium* son hermafroditas, gamopétalas, actinomorfas. Presentan un gineceo imperfectamente tetralocular en la base (Fig. 6) y bilocular en el ápice (Fig. 7) y hay numerosos óvulos por lóculo (Figs. 6 - 8).

5.1.1 Desarrollo del óvulo.

Ontogenia del óvulo (megasporangio). La placenta joven se diferencia en varios primordios de óvulo que constan de una protodermis bien definida, la cual rodea una masa celular (Fig. 8). El óvulo sigue creciendo y cuando alcanza una inclinación de 60°, una célula situada inmediatamente por debajo de la protodermis (posición hipodérmica) se hace más evidente con respecto a las células adyacentes esto debido a su mayor tamaño, a su citoplasma denso y a un núcleo muy prominente (Fig. 9); dicha célula no sufre divisiones mitóticas y funciona directamente como célula madre de la megaspora (Figs. 10 y 11). La célula madre de la megaspora es rodeada por un estrato de células nucelares alargadas y de

paredes delgadas. La nucela sigue curvándose y aparece por debajo de ésta el único tegumento del óvulo (primordio tegumentario) (Fig. 9). El primordio crece diferencialmente hasta cubrir a la nucela, dejando abierto el pequeño canal del micrópilo (Figs. 10, 11 y 15). La nucela se va desintegrando conforme avanza el desarrollo, y en el óvulo maduro ésta ya no existe (Figs. 14 - 20).

Al inicio, el primordio tegumentario muestra pocos estratos: una protodermis interna, dos estratos en el centro y una protodermis externa (Fig. 11). Conforme se desarrolla el óvulo, los estratos intermedios se incrementan hasta 7 - 9. Hasta el momento de la ántesis, todas las células se mantienen isodiamétricas y con poca diferenciación en tamaño. El óvulo presenta un funículo muy corto o es casi sésil (Fig. 15 y 19).

Desarrollo del gametofito femenino (saco embrionario). Antes del inicio de la meiosis, la célula madre de la megaspora es notablemente grande, de protoplasma vacuolado, con núcleo y nucléolo grandes, que se encuentra rodeada por células nucelares dentro del primordio tegumentario (Fig. 12). Se divide meióticamente, formando una tétrada lineal de megasporas. En la meiosis I, la célula madre se divide en dos células del mismo tamaño (Fig. 13). El citoplasma de la célula calazal es granuloso, su núcleo y nucléolo son grandes y se ubican hacia la zona micropilar. El citoplasma de la célula micropilar es vacuolado y su núcleo es grande, el nucléolo se ubica hacia la zona micropilar (Fig. 13). La célula micropilar inicia la meiosis II formando dos megasporas que degeneran rápidamente; posteriormente, la célula calazal se divide en dos megasporas grandes y vacuoladas (Fig. 14); luego la célula calazal funcional origina el saco embrionario monospórico (Figs. 15 y 16). En esta fase, la nucela es poco conspicua, y el óvulo ha alcanzado más curvatura y es campilótropo (Fig. 15).

En la megaspora funcional ocurren tres eventos mitóticos hasta formar un saco octanucleado (Figs. 17 y 18), que da origen a un saco embrionario (o gametofito femenino) heptacelular de tipo Polygonum (en donde se encuentran ocho núcleos que se organizan bipolarmente) (Fig. 18).

Óvulo maduro. El saco embrionario maduro tiene tres antípodas. En la célula central se fusionan los dos núcleos antes de la ántesis (Fig. 19). La ovocélula se distingue por su gran tamaño, su núcleo conspicuo ubicado hacia la célula central y una vacuola grande hacia la zona micropilar. Dos sinérgidas, de forma casi cónica, acompañan la ovocélula; sus núcleos son más pequeños y ubicados hacia la zona micropilar junto con una masa de protoplasma denso; una vacuola grande se ubica hacia la célula central (Fig. 20).

Recapitulando, el óvulo de *D. stramonium* es unitégmico, tenuinucelado con un funículo muy corto o ausente, presenta un saco embrionario octanucleado y heptacelular (Fig. 19). La nucela ha degenerado y el saco embrionario está en contacto directo con la epidermis interna del tegumento (Figs. 19 y 20). En el óvulo maduro, el tegumento se encuentra diferenciado en tres estratos: a) una epidermis externa con células ligeramente más largas en dirección perpendicular a la superficie del óvulo, con núcleos grandes, con paredes periclinales externas ligeramente más gruesas, con una delgada cubierta de mucílago (5 μm); b) una epidermis interna uniestratificada de células cúbicas; c) entre las dos epidermis del tegumento se encuentran ocho estratos o más de células de parénquima.

El micrópilo está delimitado por un estrato de células bien definidas, de forma alargada, está cercano y paralelo al funículo. Los elementos traqueales del haz vascular entran hasta unos tres cuartos de la distancia entre la placenta y la cálaza (Fig. 19).

5.1.2 Desarrollo de la semilla.

Fecundación. En la fecundación del óvulo de *Datura stramonium*, el tubo polínico pasa por el micrópilo y entra al saco embrionario maduro por una de las sinérgidas (Figs. 21 y 22), donde descarga los dos núcleos espermáticos, uno de los cuales se une a la ovocélula para formar el cigoto y el otro se une con los núcleos fusionados de la célula central (triple fusión); así se origina el núcleo primario del endospermo.

Embrión y endospermo. El cigoto se divide después de que el endospermo ha iniciado su desarrollo. En etapas tempranas, el endospermo se encuentra delimitado por un estrato de células pequeñas con protoplasma denso (estrato de aleurona). Por abajo de este estrato se encuentra un tejido laxo con células de vacuolas y núcleos grandes (Figs. 23 y 29) y uno o dos nucléolos en cada núcleo. Conforme la semilla crece, el estrato de aleurona se distingue cada vez más de las células internas: el protoplasma es más denso (Fig. 23, 25 y 26) y las células son más numerosas y pequeñas (Fig. 26). En etapas cercanas a la madurez, el estrato de aleurona va perdiendo su diferenciación; sus contenidos son muy similares a los de las células internas del endospermo y su tamaño es irregular. La pared periclinal externa del estrato de aleurona es más gruesa que las paredes anticlinales, y sobre ella se encuentra una cutícula (Figs. 31 y 35).

Durante el desarrollo, el embrión presenta varias formas; así, un proembrión lineal da origen a un **embrión ovalado** (Fig. 23 y 24), con suspensor bien definido ubicado en la zona micropilar (Fig. 23 - 27). El cuerpo del embrión está formado por células pequeñas y protoplasma denso. En esta etapa se observa un endospermo con células de paredes delgadas y núcleos grandes. El estrato de aleurona está en contacto con la testa, en su pared periclinal externa el protoplasma es denso. Durante la etapa de **embrión globular** (Fig. 25), éste se encuentra formado por un mayor número de células, de protoplasma denso y de mayor tamaño. El estrato de aleurona se observa bien definido, con núcleos grandes y protoplasma muy denso y granuloso (Figs. 24 y 25). En la etapa de **embrión acorazonado** se observan los primordios de los cotiledones, el procámbium y en el centro, a los meristemos apicales del vástago y de la radícula. El endospermo presenta células con protoplasma denso (Fig. 26). En el **embrión de forma cilíndrica** se observa el desarrollo marcado de los cotiledones (Fig. 27). El endospermo aún no presenta sustancias de reserva de forma esférica y va siendo digerido al entrar en contacto con el embrión. El **embrión casi maduro** se encuentra bien desarrollado, es curvo, con radícula, hipocótilo y dos

cotiledones (Fig. 36). El endospermo rodea el embrión y ambos contienen abundantes reservas protéicas y lipídicas en forma de esferas.

Desarrollo de la testa. Después de la fecundación, los cambios que sufre la testa son muy evidentes. Se encuentra diferenciada en tres estratos bien definidos: epidermis externa, parénquima de mesotesta y epidermis interna. Para ilustrar el desarrollo de la testa se realizaron esquemas (Figs. 28 - 31) a partir de de las figuras 32 - 35.

En etapas del desarrollo temprano, las células de la **epidermis externa** son notablemente más grandes en sentido perpendicular a la superficie de la semilla; cada lumen es abultado en varios lugares hacia afuera, dando ondulaciones que se convertirán en protuberancias en las paredes periclinales externas; sus núcleos son grandes (Figs. 29 y 33). En la zona de la taza del hilo, las células de la epidermis externa son alargadas. En una etapa avanzada, las paredes periclinales de la epidermis externa presentan protuberancias y son más delgadas que las paredes internas (Figs. 30 y 34). Las paredes periclinales internas y las anticlinales son gruesas, presentan una gran cantidad de compuestos fenólicos depositados en forma concéntrica. (Figs. 30, 31, 34 y 35). Las paredes anticlinales de la epidermis externa presentan engrosamientos y adelgazamientos, que semejan a las punteaduras escalariformes de las traqueidas (Figs. 31, 34 y 38).

Las células de la testa de la semilla casi madura aún presentan núcleos grandes, la pared periclinal externa tiene protuberancias más desarrolladas y de paredes delgadas (Figs. 30 y 34). En la semilla madura, las células no presentan núcleo, las paredes celulares son gruesas, el lumen es pequeño y las paredes periclinales externas muestran protuberancias engrosadas. En algunas zonas las células son más altas, dando como resultado una superficie reticular (Fig. 31).

En la pared periclinal externa del óvulo maduro se deposita una capa de **mucilago**, la cual es muy tenue y delgada alrededor de 5 μm (Figs. 28 y 32). En las etapas sucesivas de desarrollo de la semilla, el mucilago aumenta en grosor y en las etapas intermedias es donde alcanza su mayor dimensión que puede ser de 25 - 50

μm (Figs. 30 y 34). Cuando la semilla está madura, la cubierta de mucilago es delgada de unas 3.5 μm . Al comparar el tamaño de las células de la epidermis externa, puede decirse que la capa de mucilago es delgada en etapas tempranas, posteriormente, con la maduración las células, el grosor del mucilago aumenta; pero, en la semilla madura las células son más altas y la cubierta de mucilago es delgada (Cuadro 5) (Figs. 28 a 35).

Cuadro 5. *Datura stramonium*. Exotesta: grosor de mucilago y altura de las esclereidas en distintas etapas de desarrollo. M – mucilago; EE – epidermis externa. Unidades en μm .

| Óvulo maduro | | Embrión oval | | Embrión acorazonado | | Embrión cilíndrico | | Embrión casi maduro | | Semilla madura | |
|--------------|----|--------------|----|---------------------|----|--------------------|----|---------------------|-----|----------------|-----|
| M | EE | M | EE | M | EE | M | EE | M | EE | M | EE |
| 5 | 25 | 14 | 31 | 30 | 59 | 42 | 83 | 28 | 117 | 3.5 | 116 |

Cuando el embrión es oval, la **epidermis interna** se ha diferenciado de las células de la mesotesta, contiene células de forma rectangular, de núcleos grandes y de protoplasma denso que se encuentra en contacto con el endospermo (Fig. 23). Una cutícula muy tenue la separa del estrato de aleurona (cutícula “nucelar”). La cutícula se interrumpe en la zona cálazal y en la zona del micrópilo. En las etapas sucesivas, estas células de la endotesta son largas en sentido longitudinal, delgadas, contienen protoplasma muy denso y núcleos grandes. Cuando el embrión está casi maduro, la epidermis interna se mantiene como un estrato bien definido pero con poco contenido. En la semilla madura, la epidermis interna es de paredes gruesas y sin contenidos celulares; la cutícula “nucelar” es gruesa (Figs. 31 y 35).

La **mesotesta** está formada por numerosos estratos de células parenquimáticas (8 a 20), pero al madurar la semilla, quedan sólo tres o ningún estrato de estas. En etapas tempranas, la mesotesta se puede dividir en dos zonas, la externa que contiene abundante almidón y la zona interna con poco contenido de almidón (Figs. 29 y 33). Un estrato amorfo de parénquima colapsado rodea a la epidermis interna (Figs. 31 y 35). Cuando la semilla está casi madura, los estratos de parénquima cercanos a la exotesta aún presentan abundante almidón (Figs. 30 y 34).

En semilla madura el almidón se observó únicamente en el parénquima de la taza del hilo.

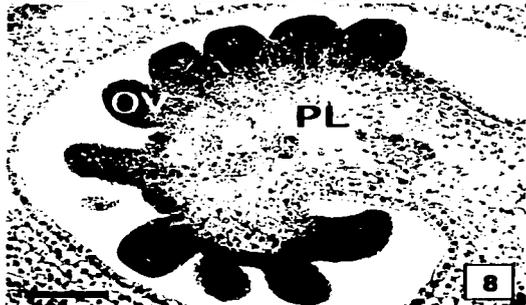
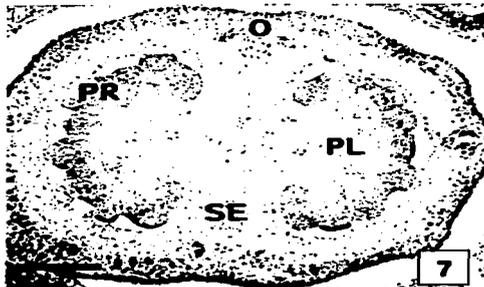
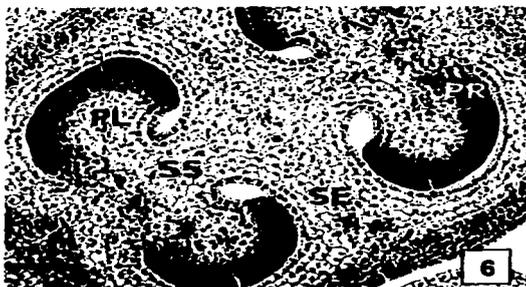
La **taza del hilo**, en *Datura*, es una zona de la semilla delimitada por cuatro estructuras: a) una capa de esclerénquima al fondo de la taza en contacto con el endospermo, b) la exotesta (grupo de células altas y engrosadas) a los lados de la taza, c) una epidermis de paredes delgadas alrededor del hilo, del micrópilo y en la superficie de la carúncula y d) el hilo, la cicatriz resultante de la separación de la placenta (Figs. 36 y 37). En el lado micropilar, la exotesta puede formar un surco o grieta (sin células esclerosadas) que puede considerarse como continuación de la taza del hilo. En *D. stramonium* el surco micropilar es corto.

La semilla madura de *D. stramonium* es sésil, sin funículo, el tejido vascular se presenta como reminiscencia en aproximadamente un cuarto del ancho de la semilla y se localiza entre el parénquima de la taza del hilo (Fig. 36) y la cálaza. La cálaza se encuentra muy cercana al micrópilo. Al madurar, ésta se desprende fácilmente del fruto. En otras especies de *Datura* se puede formar una carúncula que se sitúa sobre la taza del hilo (Figs. 37 y 65), sin embargo, en *D. stramonium* no se forma carúncula, pero en esta zona se encuentra un parénquima que contiene lípidos, proteínas, almidón y arena cristalina (Fig. 64).

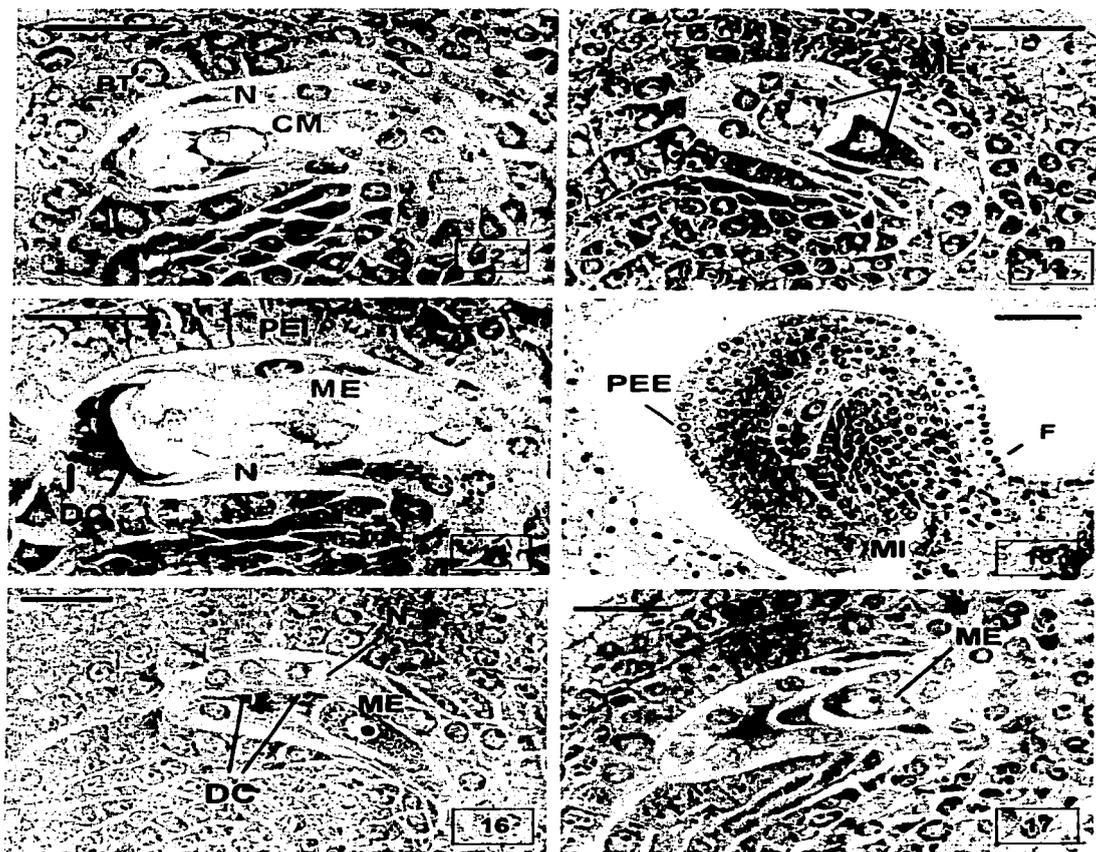
La figura que se presenta para *D. stramonium*, corresponde con el corte de una semilla casi madura (Fig. 36), que presenta las mismas estructuras, pero completas, ya que en una semilla madura los tejidos se desprenden con facilidad y la imagen no es adecuada.

En resumen, la semilla de *Datura stramonium*, es sésil, se desprende fácilmente de la placenta y no presenta carúncula. La cálaza se encuentra cerca del micrópilo. El hilo está rodeado por una parte de la taza del hilo; además presenta un parénquima que contiene sustancias de reserva como en las especies con carúncula, aunque en menor cantidad. Presenta un surco micropilar corto como continuación de la taza del hilo. La testa es unitégmica y se encuentra formada por tres estratos:

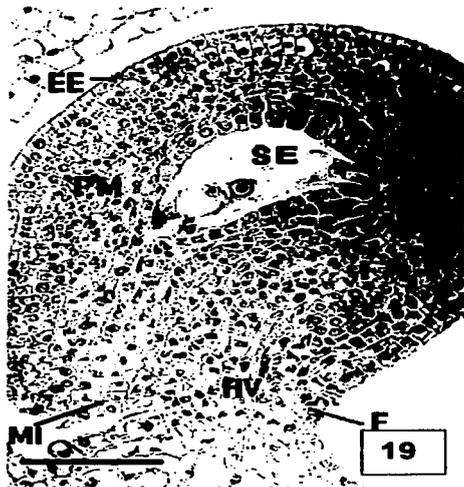
epidermis interna, de un solo estrato de células de paredes gruesas y de forma rectangular y sin contenidos; **epidermis externa**, con un estrato de células de paredes gruesas y entre ambas, una capa de la **mesotesta de parénquima desintegrado** o formado hasta por tres estratos de células. Por encima de la epidermis externa se encuentra una capa delgada de mucilago.



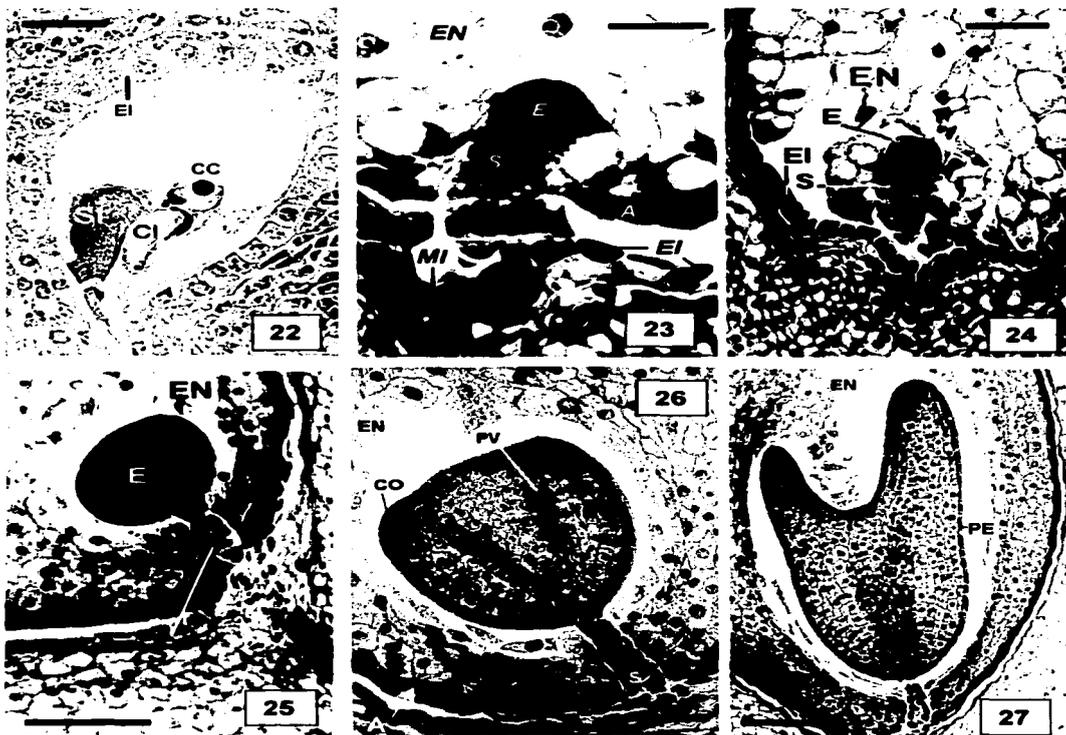
Figuras 6 - 11. *Datura stramonium*. Desarrollo del óvulo. 6 - corte transversal de ovario imperfectamente tetralocular (nivel basal); 7 - corte transversal de ovario bilocular (nivel apical); 8 - placenta con primordios de óvulos; 9 - 11 - Óvulos jóvenes, aparición y crecimiento de los primordios tegumentarios y curvatura del óvulo. CM - célula madre, N - nucela, O - ovario, OV - óvulo, PL - placenta, PR - precursor del óvulo, PT - primordio tegumentario, SE - septo y SS - pseudosepto. (Escala: 6 - 8 = 100 μ m; 9 - 11 = 20 μ m).



Figuras 12 - 17. *Datura stramonium*. Desarrollo del saco embrionario (12-16 megasporogénesis, 17 megagametogénesis). 12 - célula madre de la megaspora, 13 - dos megasporas (meiosis I), 14 - triada con dos megasporas (meiosis II), 15 - corte mediano del óvulo y desintegración de la nucela 16 - megaspora funcional y tres megasporas pignóticas, 17 - Inicio de la división de la megaspora con dos núcleos (meiosis I). CM - célula madre de la megaspora, DC - células degeneradas, F - funículo, ME - megaspora, MI - micrópilo, N - nucela, PEE - protodermis externa, PEI - protodermis interna, PT - primordio tegumentario. (Escala: 12 - 14, 16, 17 = 20 μm y 15 = 100 μm).

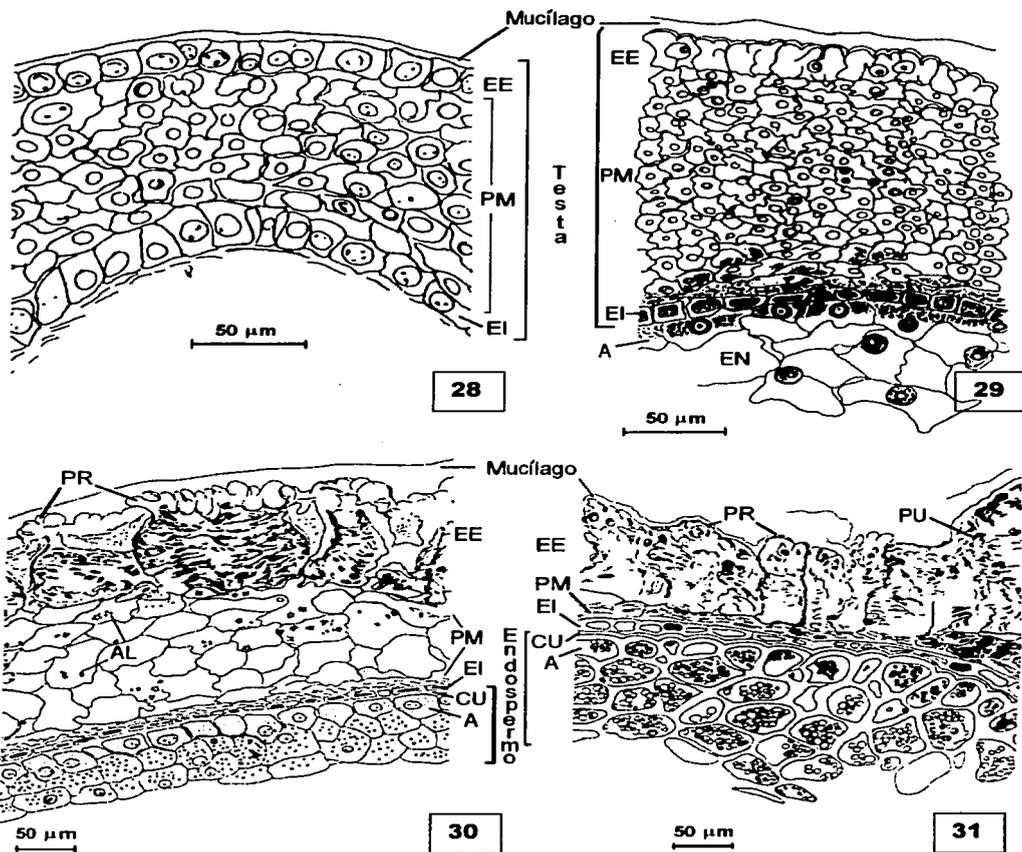


Figuras 18 - 21. *Datura stramonium*. 18 - saco embrionario en donde se ven siete núcleos, 19 - corte mediano de óvulo maduro, 20 - acercamiento de saco embrionario maduro con siete células 21 - fecundación. AN - antípodas, CC - célula central, CI - cigoto, EE - epidermis externa, EI - epidermis interna, ES - espermia, F - funículo, HV - haz vascular, MI - micrópilo, OV - ovocélula, PM - parénquima de la mesotesta, SE - saco embrionario, SI - sinérgidas y TP - tubo polínico. (Escala: 18 y 20 = 20 μ m; 19 y 21 = 50 μ m).

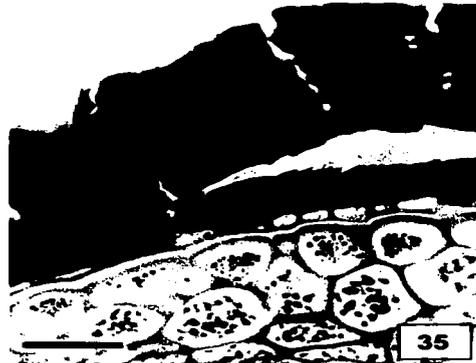
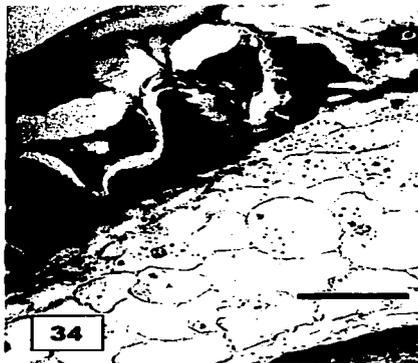
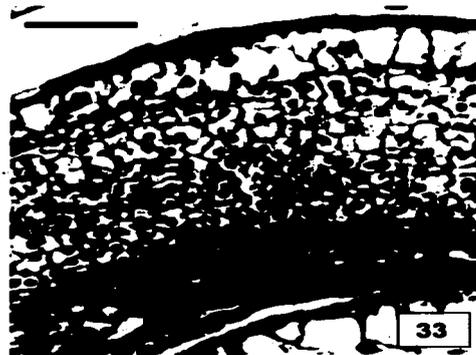
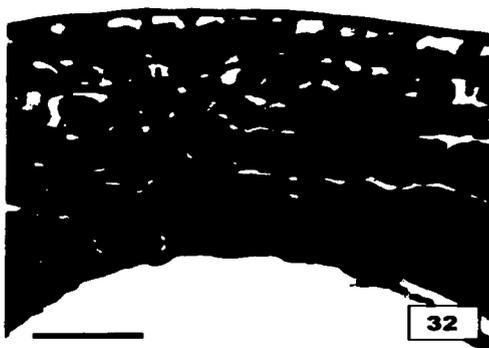


Figuras 22 - 27. *Datura stramonium*. Desarrollo del embrión. 22 - fecundación, 23 - embrión ovalado, 24 y 25 - embrión globular, 26 - embrión acorazonado, 27 - embrión cilíndrico. A - capa de aleurona, CC - célula central, CI - cigoto, CO - cotiledón, E - embrión, EI - epidermis interna, EN - endospermo, MI - micrópilo, PE - protodermis, PV - primordio vascular (procambium), S - suspensor, SI - sinérgida. (Escala: 22 = 20 μ m; 23 = 25 μ m; 24, 26 y 27 = 50 μ m; 25 = 100 μ m).

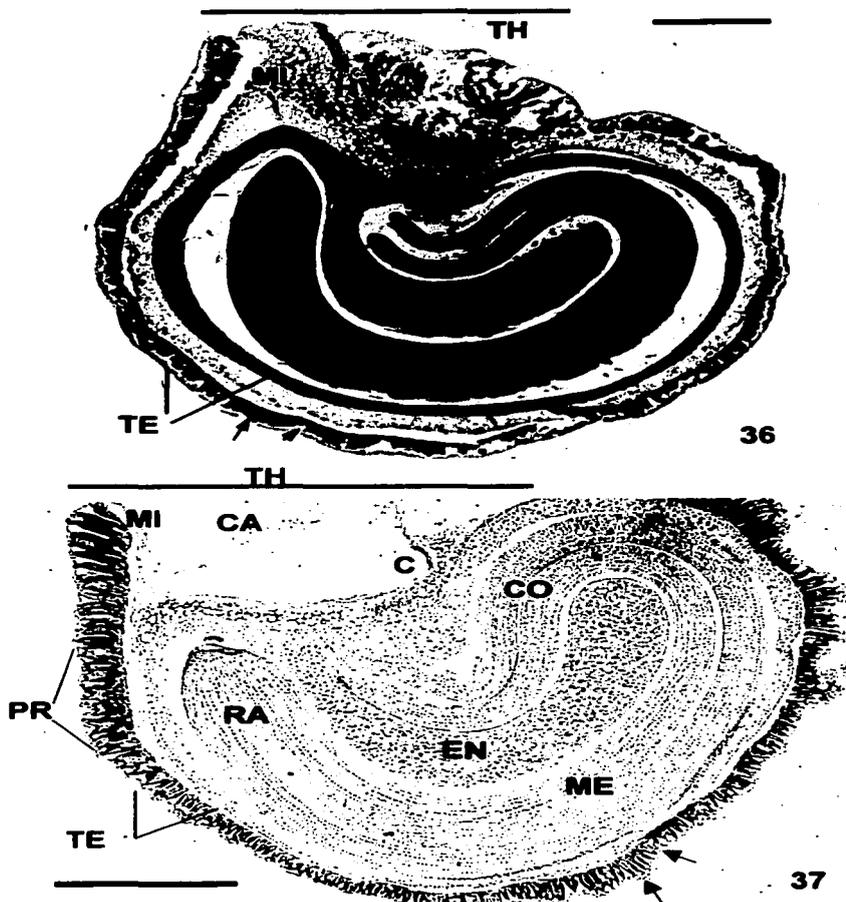
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figuras 28 - 31. *Datura stramonium*. Desarrollo de la testa. 28 - óvulo maduro, 29 - semilla, desarrollo temprano, 30 - semilla casi madura, 31 - semilla madura. A - estrato de aleurona, AL - almidón, CU - cutícula, EE - epidermis externa, EI - epidermis interna, EN - endospermo, PM - parénquima de mesotesta, PR - protuberancia y PU - punteadura.



Figuras 32-35. *Datura stramonium*. Desarrollo de la testa de la semilla. 32 – óvulo maduro; 33 – semilla desarrollo temprano; 34 – semilla casi madura; 35 – semilla madura. (Escala: = 50 μ m), (ver Fig. 28 - 31).



Figuras 36 y 37. Sección longitudinal, corte mediano. Comparación de semilla casi madura y semilla madura. 36 - *Datura stramonium*, 37 - *D. kymatocarpa*. CA - carúncula, C - cálaza, CO - cotiledones, EN - endospermo. HV - haz vascular, ME- meristemo apical, MI - micrópilo, RA - radícula, PR - protuberancia, TE - tegumento, TH - taza del hilo; las flechas indican células altas y bajas del retículo o proyecciones de la epidermis externa. (Escala 36 = 0.5 mm, 37 = 1 mm)

TESIS DE GRADO
FALLA DE 1968

5.2 Descripción morfológica, anatómica y micromorfológica de las semillas maduras de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.

Se presenta la descripción anatómica y de la exotesta de la semilla madura de *Datura* y *Brugmansia sanguinea*. Posteriormente se presenta la morfología de las semillas maduras.

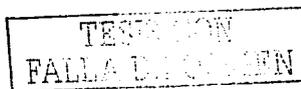
5.2.1 Descripción anatómica de la semilla de *Datura*.

El **embrión** en *Datura* es cilíndrico y de tipo anular. Cuando el embrión está bien desarrollado y curvado, este contiene abundantes reservas de aceites y de proteínas, y está formado por radícula, hipocotilo y dos cotiledones que se curvan, presenta caliptra, protodermis, procambium vascular y meristemo apical (Figs. 36 y 37).

El **endospermo** presenta células de paredes gruesas y hialinas, con abundantes reservas de aceites y proteínas en cuerpos esféricos. El endospermo se encuentra delimitado por un estrato de aleurona que rodea completamente el embrión. En la parte externa, una capa de 4 a 5 estratos de células endospermicas separa el embrión de la testa.

Las semillas son unitégmicas. Sus células se encuentran formando tres estratos: epidermis externa, mesotesta y epidermis interna. Sobre la epidermis externa se encuentra una delgada cubierta de mucílago. La testa se encuentra bien delimitada del endospermo por una cutícula (Fig. 31, 35, 48 - 59); por debajo de la taza del hilo la epidermis interna y la cutícula son onduladas.

La **epidermis externa** o exotesta está constituida por un solo estrato de células esclerenquimáticas, de forma ligeramente alargada y con paredes anticlinales sinuosas (Fig. 60) o muy sinuosas (42 y 61). La pared periclinal externa, en la zona de unión de las paredes anticlinales, es más alta que la zona central lo cual forma una concavidad (Figs. 38 - 44). La pared periclinal externa presenta protuberancias que pueden variar en tamaño, número y altura. La variación se presenta en zonas de



una misma semilla y entre especies. Como una estructura adicional, la epidermis externa presenta una cubierta delgada de mucílago de unos 3.5 μm de alto.

La **mesotesta** está formada por parénquima, de 1 a 4 estratos de células o se desintegra y se observa como un estrato colapsado (Figs. 31, 35, 48 - 59); por debajo de la zona de los lóbulos, los estratos de parénquima pueden ser más numerosos (Figs. 57 y 58).

La **epidermis interna** es un estrato celular que rodea casi por completo el saco embrionario, interrumpiéndose en la zona calazal. En la semilla madura, la epidermis interna ha perdido sus contenidos celulares y las paredes se han engrosado.

En la semilla madura de *Datura*, el tejido vascular se puede observar únicamente como reminiscencias en aproximadamente un cuarto del ancho de la semilla madura, y este puede quedar unido a la semilla como en *D. stramonium* (Figs. 36 y 64) o se desprende, dejando un hueco, como en *D. kymatocarpa* (Fig. 37). La cálaza se encuentra muy cercana al micrópilo y al hilo por lo que es semilla campilótropa.

La mayoría de las especies de *Datura* estudiadas (*D. ceratocaula*, *D. discolor*, *D. inoxia*, *D. kymatocarpa*, *D. lanosa*, *D. metel*, *D. pruinosa*, *D. reburra* y *D. wrightii*) presentan carúncula (Figs. 37 y 65). Sin embargo, en *D. stramonium*, *D. quercifolia* X *D. stramonium* y *D. quercifolia*, esta no se presenta. En cambio, dentro de la taza del hilo en el lado calazal hay un tejido parenquimático, que contiene arena cristalina, aceites, proteínas y almidón (Figs. 36 y 64).

Microestructura de la epidermis externa de las semillas.

Vista en corte perpendicular a la superficie, la **epidermis externa** está formada por un estrato de células esclerenquimatosas, de forma oblonga cóncava y otras pueden ser de forma ampliamente oblonga cóncava (Figs. 30, 34, 38 - 41, 49 - 59). Las paredes anticlinales son más engrosadas que las periclinales externa e interna, y el engrosamiento tiende a reducirse hacia la pared periclinal externa, lo

cual ocasiona que el lumen tenga forma de un cono muy irregular. Además, en las semillas de algunas especies, la pared lateral se reduce también hacia la pared periclinal interna y el lumen adquiere forma de reloj de arena (Figs. 51 y 56); este lumen es estrecho en semillas negras (Figs. 48 - 51, Cuadro 6) y amplio en semillas pardas (Figs. 52 - 59). Las paredes celulares contienen capas concéntricas de compuestos fenólicos (Figs. 48 - 59 y 63) de color pardo a amarillo. Además, en el lumen de las células se depositan compuestos fenólicos, especialmente en las especies de semillas negras. En las tres especies de la sección *Datura*, al igual que en *D. discolor* y *D. reburra* de la sección *Dutra*, las paredes periclinales son gruesas y oscuras (Fig. 48 - 51, 57; Cuadro 6). En las otras especies de la sección *Dutra*, se presentan paredes periclinales de color claro y su aspecto es homogéneo (Figs. 52 - 56, 58; Cuadro 6). En *D. ceratocaula*, las paredes periclinales externas de la testa son muy delgadas y se pierden fácilmente (Fig. 59 y 60; Cuadro 6).

Cuadro 6. Características de la testa de semilla madura de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.

| Género Especies | Epidermis externa | | Lumen celular | Mesotesta estratos |
|---|-------------------|-------------|---------------|--------------------|
| | color | grosor | | |
| <i>D. quercifolia</i> x <i>D. stramonium</i> | parda | gruesa | estrecho | 2 a 3 |
| <i>D. quercifolia</i> <i>D. stramonium</i> | parda | gruesa | estrecho | 4 |
| | parda | gruesa | estrecho | 0 a 3 |
| <i>D. discolor</i> | parda | gruesa | estrecho | 4 |
| <i>D. inoxia</i> | amarilla | delgada | amplio | 3 |
| <i>D. kymatocarpa</i> | amarilla | delgada | amplio | 1 a 4 |
| <i>D. lanosa</i> | amarilla | delgada | amplio | 4 |
| <i>D. metel</i> | amarilla | delgada | amplio | 2 |
| <i>D. pruinosa</i> | amarilla | delgada | amplio | 3 |
| <i>D. reburra</i> | parda | gruesa | amplio | 1 a 2 |
| <i>D. wrightii</i> | amarilla | delgada | amplio | 2 a 3 |
| <i>D. ceratocaula</i> | amarilla clara | muy delgada | amplio | 3 |
| <i>B. sanguinea</i> | amarilla | delgada | grande | 10 a 20 |

Al engrosar, en la pared periclinal interna secundaria, se forman punteaduras redondeadas y ramificadas que unen el lumen celular con la pared primaria

periclinal interna (Fig. 62). El lumen de las protuberancias externas son extensiones del lumen principal de la célula, pero aparentemente no coinciden con protuberancias de otras células para formar pares de punteaduras (Figs. 62). En la pared anticlinal secundaria se forman punteaduras escalariformes (Figs. 38 - 40 y 63).

En algunas zonas de la superficie de la semilla, las células de la testa son más altas, dando como resultado un retículo en la superficie externa, con varias células incluidas en cada malla (Figs. 67, 72, 74, 76 y 78); y en algunas especies se pueden formar lóbulos (Figs. 69, 70, 71, 73 y 75) o bien proyecciones como en *D. ceratocaula* y *D. kymatocarpa* (Figs. 68 y 77). Las paredes periclinales externas e internas de una célula presentan protuberancias, que se entrelazan con las de otras células y sobresalen; así, la pared periclinal externa forma una cavidad central (Figs. 38 - 44) que puede dar un aspecto punteado (Figs. 67 - 78). En el reborde de la taza del hilo, las protuberancias pueden ser más cortas y las paredes anticlinales menos onduladas, dando el aspecto de una superficie más lisa en esta zona en *D. stramonium*, *D. quercifolia*, *D. quercifolia* X *D. stramonium*, *D. kymatocarpa*, y *D. discolor* (Figs. 72, 74, 76, 77 y 78).

La **mesotesta** puede estar formada por una capa de parénquima, de células con paredes delgadas y forma transversalmente elíptica. En las partes más levantadas de la testa, la mesotesta presenta hasta cuatro estratos de células (Figs. 48 - 59, Cuadro 6), pero en las especies con lóbulos pueden ser aun más numerosas por debajo de éstos.

La **epidermis interna**, en todas las especies de *Datura*, esta formada de un solo estrato de células de paredes gruesas, dispuestas transversalmente y de forma estrechamente oblonga (Figs. 31, 35, 48 - 59), y ondulado en la zona cercana a la taza del hilo.

La **carúncula** se desprende con facilidad en la mayoría de las especies de la sección *Dutra*. Se observaron cortes de carúncula en semillas maduras de tres especies: *D. discolor*, *D. kymatocarpa* y *D. lanosa*, en donde se aprecia que su tejido

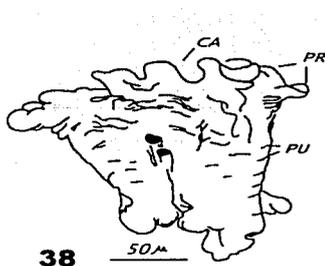
se origina de la epidermis que se encuentra entre el hilo y la curvatura del haz vascular que se dirige hacia la cálaza (LC - lado calazal de la taza del hilo) (Fig. 37 y 65). La carúncula de *D. ceratocaula* es más resistente que en los otros taxa; en esta especie, las células de la exotesta y la carúncula presentan una disminución en el grosor y consistencia de las paredes celulares (Fig. 60) y se observan espacios intercelulares grandes.

Anatomía de la semilla y microestructura de la epidermis externa de *Brugmansia sanguinea*.

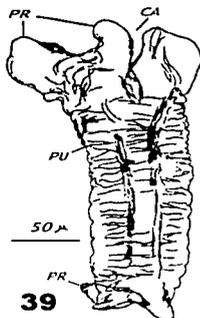
Brugmansia sanguinea difiere de las especies de *Datura* por lo siguiente: a) un endospermo delimitado por un estrato de aleurona bien definido y diferenciado en células largas, angostas y de paredes gruesas, de núcleos pequeños y con abundantes reservas de aceites y proteínas, b) un endospermo que rodea el embrión, formado por 10 a 11 estratos de células, c) las células de la exotesta pueden formar hasta siete lóbulos (Fig. 47 y 66), d) la mesotesta tiene parénquima formado por 10 - 20 estratos y e) las células epidérmicas de la exotesta son alargadas, las paredes anticlinales son muy sinuosas, con numerosas protuberancias pequeñas.

La testa de *B. sanguinea* es unitégmica y se separa del endospermo por una cutícula delgada. Igual que en *Datura*, la testa se forma de tres estratos: epidermis externa, mesotesta y epidermis interna. En corte perpendicular a la testa, se observa que la epidermis externa está formada por células grandes, esclerenquimatosas, de forma angostamente elípticas, con paredes delgadas en toda la célula y protuberancias muy cortas que se entrelazan unas con otras; además presentan un lumen muy amplio (Fig. 46). En la zona media, los engrosamientos de las paredes anticlinales presentan punteaduras angosta y estrechamente elípticas. Las células de la epidermis externa tienen pocos compuestos fenólicos, que forman una pared celular delgada (Fig. 46 y 47). Sobre la epidermis externa se encuentra una capa muy delgada de mucilago, de unos 7.6 μm , en relación al tamaño de las células que en promedio miden alrededor de 216 μm .

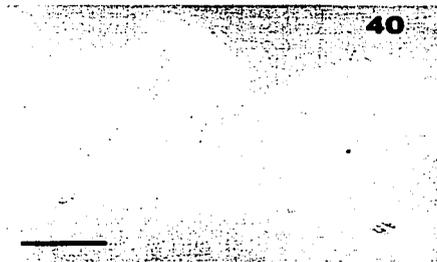
La mesotesta está constituida por numerosos estratos de células de parénquima, de paredes gruesas y dividida en tres zonas: un estrato formado por células colapsadas cercanas a la epidermis interna, con numerosos filamentos safraninófilos; le sigue una capa formada por 10 estratos de células de forma elíptica dispuestas transversalmente y una zona de células de la misma forma cercanas o debajo de los lóbulos (Figs. 46 y 47). En *B. sanguinea* la mesotesta no se colapsa completamente, como en las especies de *Datura* estudiadas, en donde quedan únicamente de 1 - 4 estratos de parénquima. La epidermis interna está formada por un estrato de células, de paredes gruesas, dispuestas transversalmente con forma estrechamente oblonga (Fig. 46).



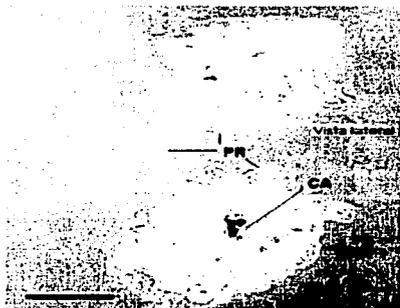
38



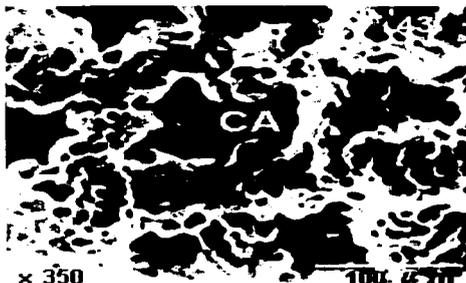
39



40



42



x 350

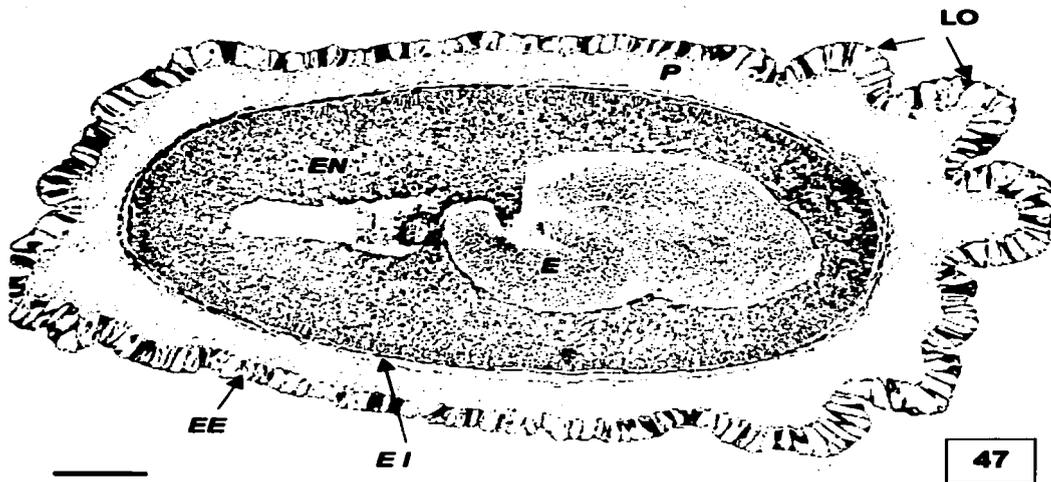
100 μm



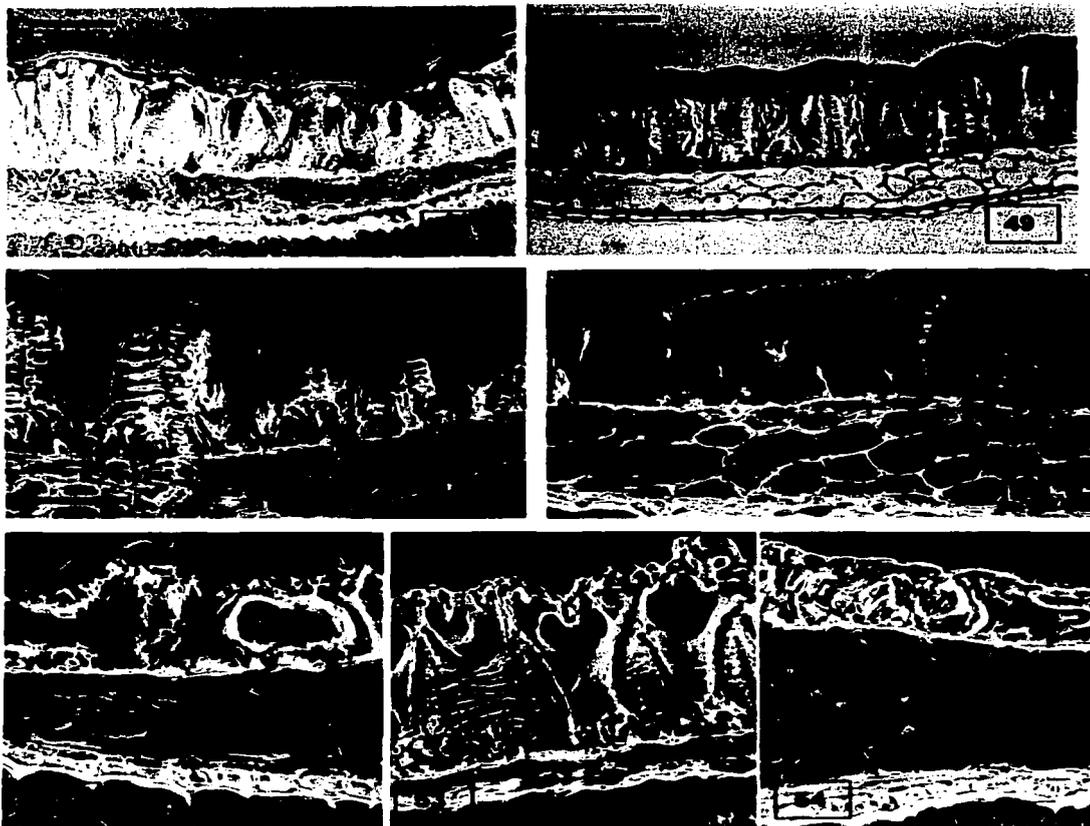
x 350

100 μm

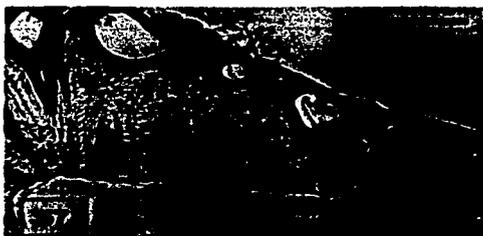
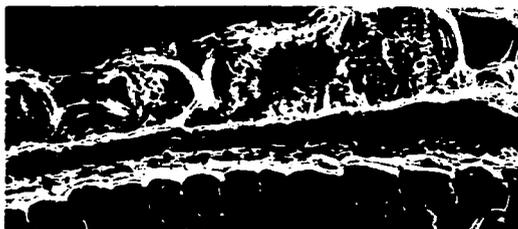
Figuras 38 - 44. *Datura stramonium* (38, 41, 42 y 43) y *Datura kymatocarpa* (39, 40 y 44). Células epidérmicas de la testa. 38 y 39 - esquemas de esclereidas en vista lateral; 40, 41 vista lateral y superficial (ML); 42 - vista superficial (ML); 43 y 44 - vista superficial (MEB); CA - cavidad. PR - protuberancia. PU - puntadura. 40 - 42 (Escala = 100 μm)



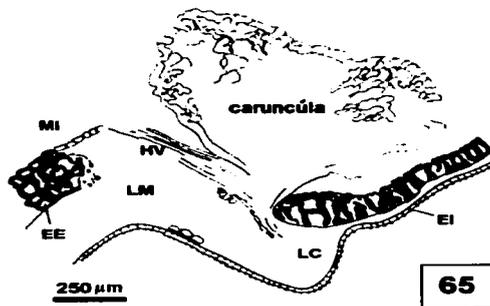
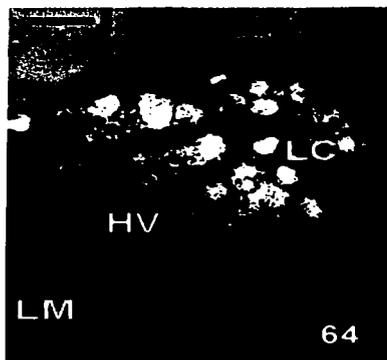
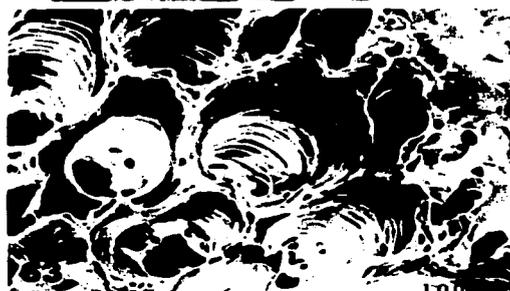
Figuras 45 - 47. 45 - *D. stramonium*, testa sección perpendicular (tinción rojo "O" y contraste de fases); 46 - *Brugmansia sanguinea*, testa sección perpendicular, 47 - semilla corte transversal con respecto al eje del embrión. CU - cutícula, E - embrión, EE - epidermis externa, EI - epidermis interna, EN - endospermo, LO - lóbulos, LU - lumen celular, M - mucílago y P - parénquima de la mesotesta. (Escala: 45 = 50 μ m, 46 = 100 μ m y 47 = 0.5mm).



Figuras 48 - 54. Sección perpendicular a la testa de semilla madura de: **48** - *D. quercifolia* X *D. stramonium*, **49** - *D. quercifolia*, **50** - *D. stramonium*, **51** - *D. discolor*, **52** - *D. inoxia*, **53** - *D. kymatocarpa*, **54** - *D. lanosa*. Ordenadas de acuerdo a la sección *Datura* (40 - 51), sección *Dutra* (52- 54) (Escala: 48, 49, 50, 53, 57, 59 = 100 μ m; 51, 52, 54 - 56 = 50 μ m y 58 = 200 μ m).



Figuras 55 - 59. Sección perpendicular a la testa de semilla madura: **55** - *D. metel*, **56** - *D. pruinosa*, **57** - *D. reburra*, **58** - *D. wrightii* (tres lóbulos formados por células más altas y más bajas que el resto de la testa) y **59** - *D. ceratocaulis* (pared periclinal externa muy delgada). Ordenadas de acuerdo a la sección *Dutra* (55 - 58) y sección *Ceratocaulis* (59) (Escala: 57, 59 = 100 μm ; 55, 56 = 50 μm y 58 = 200 μm).



Figuras 60 - 65. 60 - *D. ceratocaula* vista superficial de epidermis externa y carúncula; 61 - *D. reburra* vista superficial de epidermis externa, 62 - *D. stramonium* esclereida, 63 - *D. reburra* epidermis externa (MEB), 64 - *D. stramonium* parénquima de la taza del hilo; 65 - *D. discolor* carúncula. C - carúncula, EE - epidermis externa, EI - epidermis interna, HV - haz vascular, LC - lado calazal, LM - lado micropilar, MI - micropilo, PU - protuberancias con punteaduras de ramificaciones redondeadas. (Escala: 60, 61 y 64 = 100 μ m, 62 = 50 μ m).

5.2.2 Descripción morfológica de las semillas maduras de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.

De acuerdo con las formas propuestas por el Systematic Association Committee (1962, modificado por Radford et al. (1974) y tomado de Stuessy, 1990), Figs. 66 - 78, Cuadro 7, en *Datura*, las especies *D. pruinosa*, *D. wrightii*, *D. ceratocaula* y *B. sanguinea* presentan semillas de forma comprimida obovada, mientras que en las otras especies incluidas en el presente estudio, la semilla es ampliamente comprimida obovada.

Cuadro 7. Forma de la semilla de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.

| Especies | Forma de la semilla | Razón largo/ancho de semilla |
|--|--------------------------------|------------------------------|
| <i>D. quercifolia</i> X <i>D. stramonium</i> | ampliamente comprimida obovada | 0.84 |
| <i>D. quercifolia</i> | ampliamente comprimida obovada | 0.81 |
| <i>D. stramonium</i> | ampliamente comprimida obovada | 0.77 |
| <i>D. discolor</i> | ampliamente comprimida obovada | 0.89 |
| <i>D. inoxia</i> | ampliamente comprimida obovada | 0.82 |
| <i>D. kymatocarpa</i> | ampliamente comprimida obovada | 0.87 |
| <i>D. lanosa</i> | ampliamente comprimida obovada | 0.80 |
| <i>D. metel</i> | ampliamente comprimida obovada | 0.80 |
| <i>D. pruinosa</i> | comprimida obovada | 0.78 |
| <i>D. reburra</i> | ampliamente comprimida obovada | 0.71 |
| <i>D. wrightii</i> | comprimida obovada | 0.76 |
| <i>D. ceratocaula</i> | comprimida obovada | 0.74 |
| <i>B. sanguinea</i> | comprimida obovada | 0.63 |

El color de las semillas de *Datura* varía de pardo claro a pardo oscuro y negro (Cuadro 8). En este estudio las semillas se clasificaron en dos colores: pardo y negro. El negro es característico de las especies de la sección *Datura*; el pardo, con distintos tonos, se presenta en la mayoría de las especies de la sección *Dutra*, con excepción de *D. discolor* y *D. reburra*, cuyas semillas son de color negro; en *D. ceratocaula*, única especie de la sección *Ceratocaulis*, las semillas son de color pardo claro.

CUADRO 8. Color de la testa de semillas de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.
Las claves de color corresponden al abanico de Nickerson (1957).

| Género: <i>Datura</i> | Color |
|--------------------------------------|---|
| Secc. I <i>Datura</i> | |
| <i>D. quercifolia</i> X | |
| <i>D. stramonium</i> | - negro |
| <i>D. quercifolia</i> | - negro |
| <i>D. stramonium</i> | - negro |
| Secc. II <i>Dutra</i> | |
| <i>D. discolor</i> | - negro |
| <i>D. inoxia</i> | - en el centro pardo claro 7.5 YR 4/5 parte del margen pardo amarillento oscuro 7.5 YR 5/7 |
| <i>D. kymatocarpa</i> | - pardo amarillento claro 10 YR 4/4 - amarillo - rojo 7.5 |
| <i>D. lanosa</i> | - margen pardo moderado 7.5 YR 4/5 centro pardo grisáceo 7.5 YR 3/2 |
| <i>D. metel</i> | - pardo oscuro 5 YR 4/5 |
| <i>D. pruinosa</i> | - pardo fuerte 5 YR 4/5 - amarillo naranja oscuro 10 YR 7/10 |
| <i>D. reburra</i> | - negro - pardo amarillento oscuro 7.5 YR 5/7 - pardo grisáceo 7.5 YR 3/2 - pardo claro 7.5 YR 4/5 |
| <i>D. wrightii</i> | - margen pardo claro 7.5 YR 4/5 centro pardo grisáceo 7.5 YR 3/2 |
| Secc. III <i>Ceratocaulis</i> | |
| <i>D. ceratocaula</i> | - pardo olivo claro 2.5 Y 5/5 - olivo claro 5 Y 4/3 - gris olivo 5 Y 3/1 |
| Género: <i>Brugmansia</i> | |
| <i>B. sanguinea</i> | - pardo claro 5 YR 3/3 |

El tamaño de las semillas en *Datura* es variable. La sección *Datura* tiene las semillas más pequeñas, en comparación con las otras secciones. Sin embargo, en la sección *Dutra*, se encontraron las semillas más pequeñas en *D. pruinosa* y las semillas más grandes en *D. reburra*.

El largo de la semillas en *Datura* presenta un rango de 3.13 - 5.80 mm; el ancho va de 2.22 - 4.41 mm; el grosor dorsal con una variación de 0.81 - 1.80 mm;

el grosor a nivel del hilo fluctúa de 0.92 - 1.80 mm. La proporción entre el ancho y el largo de la semilla presenta un rango de 0.71 en *D. pruinosa* y 0.89 en *D. discolor*. El peso de las semillas tiene una variación de 3.46 - 20.44 mg (Anexo II).

Topografía de la taza del hilo.

La **taza del hilo** es la zona que presenta el mayor número de caracteres que permiten la comparación entre las especies (Figs. 2 y 4). La **forma de la taza del hilo** es muy variable, ya que en *Datura* puede ser elíptica, ovada, triangular o linear, mientras que en *B. sanguinea* es de forma irregular y puede ser más ancha que larga o más larga que ancha y de contorno ondulado (Figs. 79 - 82, Cuadro 9). * Razón entre el largo y el ancho de la taza del hilo, tomando como referencia las formas propuestas por el Systematic Association Committee (1962, modificado por Radford *et al.* (1974) y tomado de Stuessy, 1990). La zona de la taza del hilo puede ser cerrada o abierta, continuándose en el surco micropilar (Figs. 79 - 83).

Cuadro 9. Forma de la taza del hilo y caracteres del surco micropilar de *Datura* sensu stricto y *Brugmansia sanguinea*.

| Especies | Forma de la taza del hilo * | Reborde micropilar | Prolongación de la taza del hilo | Surco tamaño | Plegue micropilar |
|--|-----------------------------|--------------------|----------------------------------|--------------|-------------------|
| <i>D. quercifolia</i> x <i>D. stramonium</i> | triangular 1.51 | cerrado | ausente | muy corto | ausente |
| <i>D. quercifolia</i> | triangular 1.36 | cerrado | ausente | corto | ausente |
| <i>D. stramonium</i> | triangular 1.54 | cerrado | ausente | muy corto | ausente |
| <i>D. discolor</i> | triangular 1.73 | cerrado | ausente | corto | ausente |
| <i>D. innoxia</i> | elíptica 2.22 | abierto | ausente | muy largo | ausente |
| <i>D. kymatocarpa</i> | ovada 1.55 | abierto | ausente | muy largo | ausente |
| <i>D. lanosa</i> | ovada 1.68 | abierto | ausente | largo | ausente |
| <i>D. metel</i> | elíptica 2.53 | abierto | ausente | largo | ausente |
| <i>D. pruinosa</i> | elíptica 2.65 | abierto | presente | muy largo | ausente |
| <i>D. reburra</i> | ovada 1.99 | abierto | ausente | largo | ausente |
| <i>D. wrightii</i> | elíptica 2.20 | abierto | ausente | largo | ausente |
| <i>D. ceratocaula</i> | linear 15.00 | cerrado | ausente | ausente | presente |
| <i>B. sanguinea</i> | irregular 0.97 | abierto | presente | largo curvo | ausente |

La **abertura del espacio** de la taza del hilo es angosta en las especies de la sección *Datura*, ancha para la sección *Dutra*, excepto en *D. discolor*. donde es

angosta y angosta en la sección *Ceratocaulis*. En *B. sanguinea* la abertura de la taza del hilo es ancha (Figs. 79 - 82).

El largo de la taza del hilo menor es de 1.44 mm (*D. discolor*) y el mayor es de 3.32 mm (*D. reburra*). El ancho de la taza del hilo en la zona basal, incluyendo el reborde de la taza del hilo menor es de 0.18 (*D. ceratocaula*) y el mayor de 1.68 (*D. reburra*). La razón entre el largo y el ancho de la taza del hilo es de 1.36 en *D. quercifolia* y 15 en *D. ceratocaula* (Anexo II).

Existen dos ángulos que son importantes para caracterizar la forma de las semillas maduras de *Datura* (Fig. 5). El ángulo que forma la taza del hilo y la giba va de 90° en *D. reburra* a 250° en *D. discolor* (100° en *B. sanguinea*). El ángulo entre la taza del hilo y el micrópilo va de 40° en *D. pruinosa* a 100° en *D. stramonium* (140° en *B. sanguinea*) (Anexo II).

Vista la semilla lateralmente, la taza del hilo puede presentar una curvatura en forma de S o ser recta (Figs. 4a y b). Las especies de la sección *Datura* y *D. discolor* presentan curvatura pronunciada en forma de S cerrada (S) (Figs. 72, 74, 76, y 78). Las otras especies de la sección *Dutra* presentan curvatura mediana en forma de S abierta (J), con excepción de *D. reburra*, donde la taza del hilo, en vista lateral, es recta al igual que *D. ceratocaula* y *B. sanguinea* (Figs. 66, 68, 70 y Cuadro 10).

La taza del hilo puede presentar un reborde, el cual se eleva del plano general de la semilla y puede presentar células diferenciadas. En todas las especies de la sección *Datura*, el reborde puede extenderse hacia el centro de la semilla (Figs. 72, 74, 76 y 78). *Datura reburra* y *D. lanosa* presentan el reborde extendido. El reborde puede estar formado por células con protuberancias más bajas que el resto de la superficie de la exotesta, dando un aspecto liso en las semillas de las especies de la sección *Datura*, así como en *D. discolor* y *D. kymatocarpa*. Las otras especies de la sección *Dutra* no presentan el reborde, pues la zona que rodea a la taza del hilo no se diferencia del resto de la superficie. En *B. sanguinea*, el reborde presenta pliegues grandes (Fig. 82, Cuadro 10).

TRABAJO CON
FALLA DE ORIGEN

**Cuadro 10. Características de la taza del hilo de
Datura sensu stricto y *Brugmansia sanguinea*.**

| Especies | Forma de curvatura en vista lateral | Reborde | |
|--|-------------------------------------|-----------------|------------------|
| | | Características | Protuberancias |
| <i>D. quercifolia</i> x <i>D. stramonium</i> | S cerrada | extendido | más bajas |
| <i>D. quercifolia</i> | S cerrada | extendido | más bajas |
| <i>D. stramonium</i> | S cerrada | extendido | más bajas |
| <i>D. discolor</i> | S cerrada | corto | más bajas |
| <i>D. inoxia</i> | ¡abierta | ausente | ausentes |
| <i>D. kymatocarpa</i> | ¡abierta | corto | más bajas |
| <i>D. lanosa</i> | ¡abierta | extendido | ausentes |
| <i>D. metel</i> | ¡abierta | ausente | ausentes |
| <i>D. pruinosa</i> | ¡abierta | ausente | ausentes |
| <i>D. reburra</i> | recta | extendido | ausentes |
| <i>D. wrightii</i> | ¡abierta | corto | ausentes |
| <i>D. ceratocaula</i> | recta | ausente | ausentes |
| <i>B. sanguinea</i> | recta | corto | pliegues grandes |

En la zona del hilo algunas semillas presentan, una **proyección en forma de tubo** que sobresale del cuerpo de la semilla, tal como en *B. sanguinea* y en *D. pruinosa* (Figs. 66 y 67). En contraste, en *D. discolor* la zona del hilo gira hacia el centro de la semilla, dándole una forma casi circular (Fig. 78). En *B. sanguinea* la taza del hilo sube o se continúa hasta el tubo, y en *D. pruinosa* la taza del hilo baja en esa zona.

El **surco micropilar** es recto, se encuentra cercano a la taza del hilo y es opuesto a la zona de la cálaza. La altura del surco micropilar puede ser corta o larga, pero esto no se evaluó cuantitativamente. El surco micropilar es corto en las especies de la sección *Datura* y en *D. discolor*. En las demás especies de la sección *Dutra*, el surco es largo (Figs. 80, 81 y 83). En *D. ceratocaula* no hay surco micropilar, pero presenta un **pliegue micropilar** de color claro (Fig. 68). El surco micropilar en *B. sanguinea* es largo y curvo (Fig. 82, Cuadro 10).

Algunas semillas de las especies de la sección *Dutra* presentan una **giba** (Figs. 71 y 77), en donde los cotiledones se doblan y se asocian con una

protuberancia que sobresale del contorno de la semilla. En *D. kymatocarpa* y *B. sanguinea* la giba es pronunciada (Figs. 66, 77 y Cuadro 11).

La mayoría de las semillas de las especies de *Datura* presentan una **depresión lateral**, localizada por encima de la zona del endospermo, la cual está rodeada por el embrión; sólo no se presenta en *D. stramonium* (Figs. 4, 70, 72 y Cuadro 11).

Relieve de la testa.

En la **superficie de la testa** se presentan las típicas protuberancias (Figs. 38-44) de la orilla de la pared periclinal externa. El conjunto de protuberancias levanta la superficie sobre las paredes anticlinales, y la pared periclinal queda más abajo, dando un aspecto finamente punteado de las semillas de las secciones *Dutra* y *Datura* (Figs. 67 – 76). En *B. sanguinea* las protuberancias se levantan poco de la superficie, y no se forma el aspecto punteado (Fig. 66). En *D. ceratocaula*, las protuberancias y el resto de la pared periclinal son delgadas y se colapsan hacia el lumen de la célula. Las paredes anticlinales gruesas mantienen su posición y dan a la superficie un aspecto de panal (Fig. 68). Otros tipos de relieve en la superficie puede ser **retículo**, **proyecciones** o **lóbulos**, dados por células altas de algunas zonas de la superficie de la semilla y que se apoyan por debajo en 2 o más células del parénquima. El **retículo** es característico de las semillas de las especies de la sección *Datura* y en *D. discolor* y *D. pruinosa* de la sección *Dutra*. Cada malla del retículo consta de varias células, rodeadas por otras células de la exotesta que son más altas (Fig. 66, 72, 74, 76 y 78), los otros miembros de la sección *Dutra* y *D. ceratocaula* no lo presentan (Cuadro 11). Las **proyecciones** son grupos de células altas que se localizan especialmente en regiones laterales de la exotesta de *D. kymatocarpa* y *D. ceratocaula* (Figs. 68 y 77). Las especies de la sección *Dutra* presentan, como carácter de la superficie de la testa, tres **lóbulos** o pliegues de la exotesta siguiendo el contorno de la semilla en uno o dos lados, que pueden estar bien definidos o poco definidos, excepto en *D. discolor* y *D. pruinosa* en donde no se presentan lóbulos.

Estos lóbulos están formados por células más altas y posteriormente otras más bajas que forman surcos entre ellos (Figs. 58, 69, 70, 71, 73, 75, 77 y 84). *Brugmansia sanguinea* presenta varios lóbulos irregulares (Figs. 47, 66 y Cuadro 11).

Cuadro 11. Características de la superficie de las semillas de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.

| Especies | Giba | Depresión | Superficie | Lóbulos |
|---|-------------|------------------|--------------------|---------------------|
| <i>D. quercifolia</i> x <i>D. stramonium</i> | presente | presente | retículo | ausentes |
| <i>D. quercifolia</i> | ausente | presente | retículo | ausentes |
| <i>D. stramonium</i> | presente | ausente | retículo | ausentes |
| <i>D. discolor</i> | ausente | presente | retículo | ausentes |
| <i>D. innoxia</i> | presente | presente | finamente punteado | 3 bien definidos |
| <i>D. kymatocarpa</i> | presente | presente | proyecciones | 3 poco definidos |
| <i>D. lanosa</i> | presente | presente | finamente punteado | 3 bien definidos |
| <i>D. metel</i> | presente | presente | finamente punteado | 3 poco definidos |
| <i>D. pruinosa</i> | presente | presente | retículo | ausentes |
| <i>D. reburra</i> | presente | presente | aspecto liso | 3 bien definidos |
| <i>D. wrightii</i> | ausente | presente | finamente punteado | 3 bien definidos |
| <i>D. ceratocaula</i> | ausente | presente | proyecciones | ausentes |
| <i>B. sanguinea</i> | presente | ausente | rugosa | hasta 7 irregulares |

Morfología de la carúncula.

La carúncula es un abultamiento tegumentario en la zona calazal, que contiene sustancias alimenticias para las hormigas, como almidón, aceites y proteínas. La presencia de carúncula es una característica importante en las semillas de las especies de las secciones *Dutra* y *Ceratocaulis*, pero en la sección *Datura* y en *Brugmansia sanguinea* no se presenta, en su lugar se observa un tejido laxo en el espacio delimitado por la taza del hilo (Fig. 64). La forma de la carúncula en semillas secas es difícil de apreciar ya que en la mayoría de las especies ésta se desprende fácilmente, y al deshidratarse, la forma es muy irregular, pero se pueden distinguir dos caracteres: una masa celular casi esferoide como en *D. discolor*, elipsoide o escutiforme. En este trabajo a la carúncula se le consideró como deprimida obovada y laminar cuando es una estructura delgada que recubre la zona

de la taza del hilo. La **carúncula** es deprimida obovada en las especies de las secciones *Dutra* y *Ceratocaulis*; sin embargo, en *D. kymatocarpa* es laminar (Figs. 67, 68, 71, 73 y Cuadro 12).

Cuadro 12. Características de la carúncula de las semillas de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.

| Especies | Presencia | Forma | Persistencia | Aspecto |
|---|------------------|----------------------|---------------------|----------------|
| <i>D. quercifolia</i> x <i>D. stramonium</i> | ausente | ausente | ausente | ausente |
| <i>D. quercifolia</i> | ausente | ausente | ausente | ausente |
| <i>D. stramonium</i> | ausente | ausente | ausente | ausente |
| <i>D. discolor</i> | presente | deprimida obovada | persistente | suave |
| <i>D. inoxia</i> | presente | deprimida obovada | caediza | suave |
| <i>D. kymatocarpa</i> | presente | laminar | persistente | suave |
| <i>D. lanosa</i> | presente | deprimida obovada | caediza | suave |
| <i>D. metel</i> | presente | deprimida obovada | caediza | suave |
| <i>D. pruinosa</i> | presente | deprimida obovada | persistente | suave |
| <i>D. reburra</i> | presente | deprimida obovada | caediza | suave |
| <i>D. wrightii</i> | presente | deprimida obovada | caediza | suave |
| <i>D. ceratocaula</i> | presente | deprimida obovada | persistente | resistente |
| <i>B. sanguinea</i> | ausente | ausente | ausente | ausente |

El color de la **carúncula** en las semillas secas es variable (Cuadro 13): blanco (puede indicar presencia de almidones o arena cristalina), pardo muy claro, pardo rojizo o amarillo y naranja pálido (podrían indicar presencia de aceites). La carúncula puede sufrir cambios de color dados por la etapa de madurez de la semilla, en el momento del corte, el proceso de secado y la conservación de las semillas; por esta razón, se registró su variabilidad pero el carácter no fue considerado en el análisis numérico. No obstante, se pudo observar que el color claro persiste en las carúnculas de las semillas inmaduras, aun después de secar, mientras que en semillas

completamente maduras, el color es más oscuro en la mayoría de las especies, no así en *D. discolor* donde todas sus carúnculas quedan blancas.

Cuadro 13. Color de la carúncula de semillas secas de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.
Las claves de color corresponden al abanico de Nickerson (1957).

| Género: <i>Datura</i> | Color |
|--------------------------------------|---|
| Secc. I <i>Datura</i> | |
| <i>D. quercifolia</i> x | |
| <i>D. stramonium</i> | - ausente |
| <i>D. quercifolia</i> | - ausente |
| <i>D. stramonium</i> | - ausente |
| Secc. II <i>Dutra</i> | |
| <i>D. discolor</i> | - blanco |
| <i>D. inoxia</i> | - amarillo naranja moderado 7.5 YR 9/4 |
| <i>D. kymatocarpa</i> | - blanco |
| <i>D. lanosa</i> | - blanco – amarillo naranja pálido 7.5 YR 9/4 |
| <i>D. metel</i> | - pardo moderado 7.5 YR 4/5 |
| <i>D. pruinosa</i> | - blanco – amarillo naranja pálido 7.5YR 9/4 |
| | - pardo moderado 7.5 YR 4/5 |
| <i>D. reburra</i> | - amarillo naranja pálido 7.5 YR9/4 |
| | - naranja pardo 5 YR 5/8 |
| <i>D. wrightii</i> | - naranja parduzco 7.5 YR 9/4 |
| | - blanco – amarillo naranja pálido 7.5 YR 9/4 |
| Secc. III <i>Ceratocaulis</i> | |
| <i>D. ceratocaula</i> | - amarillo naranja pálido 7.5 YR 9/4 |
| Género <i>Brugmansia</i> | |
| <i>B. sanguinea</i> | - ausente |

En semillas secas, la carúncula puede ser considerada como **persistente**, cuando permanece unida a la semilla, o **caediza**, cuando se desprende con facilidad. En *D. ceratocaula*, la carúncula es persistente y no se puede separar sin romper la exotesta (Cuadro 12). El tejido de la carúncula presenta paredes delgadas de **polisacáridos**, en cuyo interior se encuentran contenidos de oferta alimenticia para las hormigas (Cuadro 14). En las especies que no presentan carúncula (Cuadro 12)

se realizó la determinación de contenidos en el parénquima de la taza del hilo (Cuadro 14). El **almidón** se encuentra en la carúncula de las especies de las secciones *Dutra* y *Ceratocaulis*. La abundancia relativa del almidón puede ser de escaso a muy abundante (Cuadro 14). Otros contenidos importantes en la carúncula, que requieren mayor gasto de energía para su producción, son los **aceites** y **proteínas**. El **aceite** se presenta en algunas especies como eleosferas muy pequeñas y escasas, mientras que en otras especies éstas son muy grandes y abundantes. En las especies de las secciones *Datura* y *Ceratocaulis* el aceite de la carúncula es escaso; en las especies de la sección *Dutra*, pueden ser escasas como en *D. discolor*, *D. lamosa* y *D. kymatocarpa*, o muy abundantes como en *D. inoxia* y *D. pruinosa* (Cuadro 14). Las **proteínas** se presentan en forma esférica o protoplásmica, éstas son escasas en *D. ceratocaulis*, frecuentes en las especies de la sección *Datura* y abundantes en *D. inoxia* y *D. discolor*, de la sección *Dutra*.

En los frutos de *Datura* se encuentran abundantes contenidos de **arena cristalina**, que probablemente son de oxalato de calcio. Algunas especies presentan arena cristalina en la carúncula; por ejemplo en *D. discolor* son muy abundantes, también puede presentarse en el parénquima de la taza del hilo y en las especies de la sección *Datura* son abundantes, en *D. stramonium* son grandes y muy abundantes (Cuadro 14). En *B. sanguinea*, el parénquima de la taza del hilo presenta almidón, aceites y proteínas escasas y la arena cristalina es abundante.

Al realizar este tipo de estudios deben considerarse que la presencia y abundancia relativa de arena cristalina y contenidos de la carúncula puede variar debido a las condiciones ambientales, a la etapa de desarrollo de la semilla, la manipulación de la semilla, a las técnicas histológicas y a la percepción del investigador.

Las semillas del híbrido putativo entre *D. quercifolia* X *D. stramonium*, son morfológicamente muy similares a las de los progenitores. En las semillas del híbrido, el ángulo entre la taza del hilo y la giba es igual al de *D. stramonium*; la

abundancia de arena cristalina y almidón es similar a la que presenta *D. quercifolia*. Sin embargo, los caracteres por los cuales difieren las semillas del híbrido respecto a sus progenitores, en especial con *D. stramonium*, son el peso y el tamaño. El peso promedio en la semilla del híbrido fue de 12.08 mg, mientras que en los progenitores este varía de 9.44 y 6.30 mg respectivamente; el tamaño de la semilla del híbrido es ligeramente mayor que en *D. quercifolia*.

Cuadro 14. Determinación de contenidos en carúncula o en el parénquima de la taza del hilo de semillas de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*. Escala de abundancia: * escaso; ** frecuente; * abundante; **** muy abundante; — no evidente.**
La arena cristalina puede ser de oxalato de calcio.

| Género <i>Datura</i> | Arena | | | | |
|---|---------------|---------|------------|---------|-----------|
| | Polisacáridos | Aceites | cristalina | Almidón | Proteínas |
| Secc. I <i>Datura</i> | | | | | |
| <i>D. quercifolia</i> x <i>D. stramonium</i> | **** | * | *** | ** | ** |
| <i>D. quercifolia</i> | **** | * | *** | ** | ** |
| <i>D. stramonium</i> | **** | * | **** | * | ** |
| Secc. II <i>Dutra</i> | | | | | |
| <i>D. discolor</i> | **** | * | **** | * | *** |
| <i>D. inoxia</i> | **** | **** | ** | *** | *** |
| <i>D. kymatocarpa</i> | **** | * | — | **** | ** |
| <i>D. lanosa</i> | **** | * | — | *** | ** |
| <i>D. metel</i> | **** | *** | — | ** | ** |
| <i>D. pruinosa</i> | **** | **** | * | **** | ** |
| <i>D. reburra</i> | **** | ** | *** | *** | ** |
| <i>D. wrightii</i> | **** | *** | *** | **** | ** |
| Secc. III <i>Ceratocaulis</i> | | | | | |
| <i>D. ceratocaula</i> | **** | * | * | ** | * |
| Género <i>Brugmansia</i> | | | | | |
| <i>B. sanguinea</i> | **** | * | *** | * | * |

En el Cuadro 15 se presenta un resumen de las características de las semillas para cada sección de *Datura* y para *Brugmansia sanguinea*.

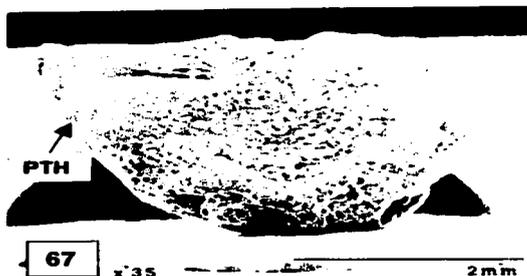
Cuadro 15. Características representativas de las semillas de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.

| Caracteres / Sección | <i>Datura</i> | <i>Dutra</i> | <i>Ceratocaulis</i> | <i>B. sanguinea</i> |
|---------------------------------------|---|--|--|--|
| Forma | ampliamente comprimida obovada | ampliamente comprimida obovada o comprimida obovada | comprimida obovada | comprimida obovada |
| Tamaño: largo | 3.46 – 3.91 mm | 3.13 – 5.80 mm | 4.51 mm | 8.10 mm |
| ancho | 2.75 – 3.23 mm | 2.22 – 4.41 mm | 3.34 mm | 5.10 mm |
| Peso | 6.38 – 12.08 mg | 3.46 – 20.44 mg | 7.98 mg | 34.84 mg |
| Color | negra | parda o negra | parda | parda |
| Superficie: | sin lóbulos, reticulada | con tres lóbulos o proyecciones | sin lóbulos, con proyecciones | con varios lóbulos, rugosa |
| Depresión lateral | presente | presente | presente | ausente |
| Carúncula | ausente, pero tiene parénquima en la taza del hilo | presente, de consistencia delicada, persistente o caediza | presente de consistencia resistente, persistente | ausente, pero tiene parénquima en la taza del hilo |
| Taza del hilo: forma | triangular | ovada o elíptica | linear | irregular |
| curvatura vista en perfil | pronunciada con reborde, extendido y protuberancias más bajas | mediana, la mayoría sin reborde y sin protuberancias bajas | recta y sin reborde | recta, reborde con protuberancias más bajas |
| reborde en la zona micropilar | cerrado | abierto | cerrado | abierto |
| prolongación en forma de tubo | ausente | ausente (presente en <i>D. pruinosa</i>) | ausente | presente |
| Surco micropilar | corto | largo | ausente | largo y curvado |
| Esclereidas de la testa: forma | oblongo cóncavo o ampliamente oblongo cóncavo | oblongo cóncavo o ampliamente oblongo cóncavo | oblongo cóncavo o ampliamente oblongo cóncavo | angostamente elípticas |
| protuberancias lumen | grandes | grandes | grandes | pequeñas |
| pared periclinal externa | estrecho | amplio | amplio | grande |
| pared periclinal externa | gruesa | delgada | muy delgada | delgada |
| Pliegue micropilar convexo | ausente | ausente | presente | ausente |
| Número estratos de mesotesta | 0 – 4 | 1 – 4 | 3 | 10 – 20 |

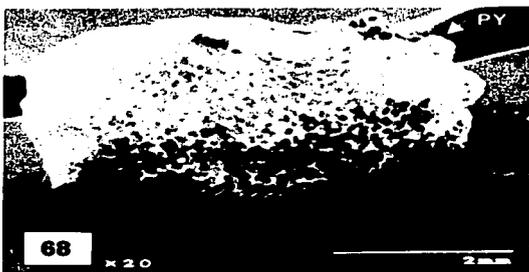
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



66



67



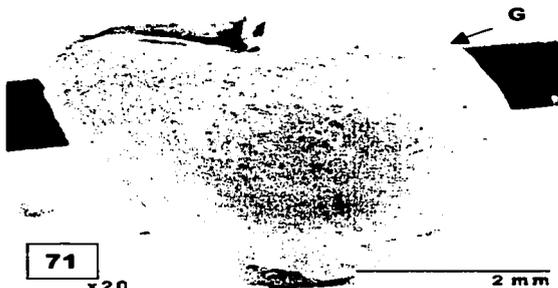
68



69



70

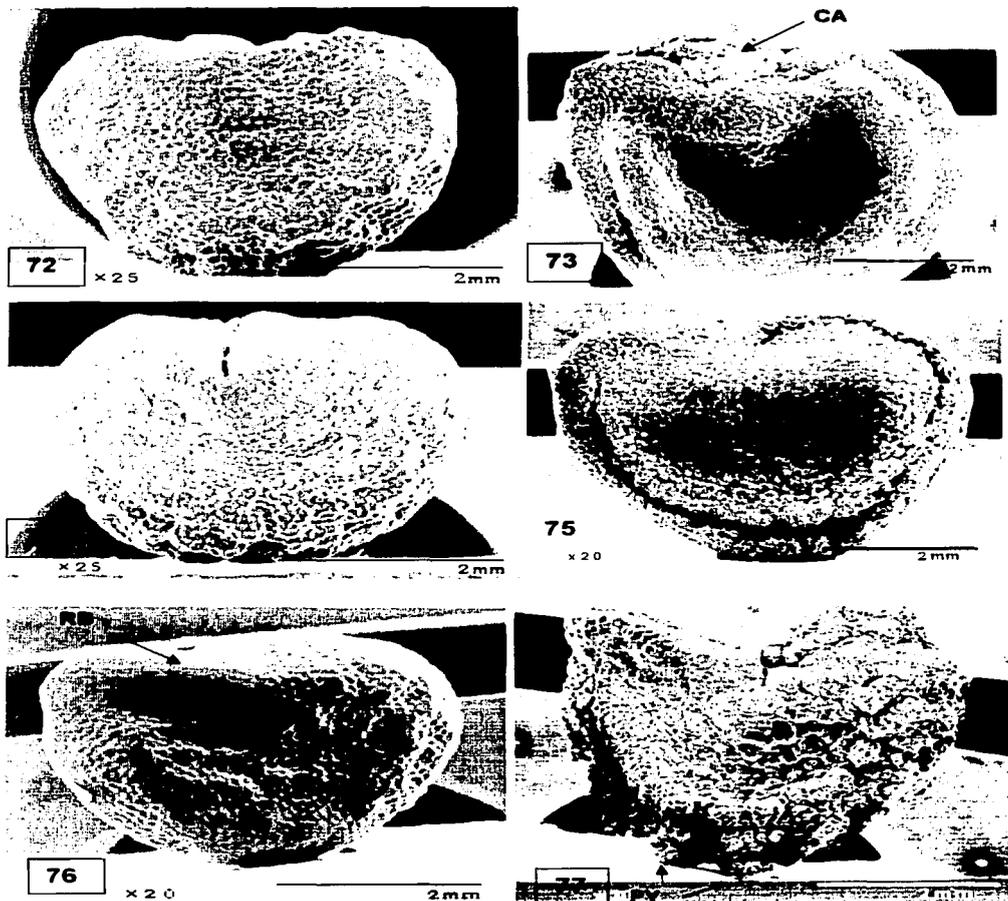


71

Figuras 66 - 71. Fotomicrografías de semillas en MEB. Ordenadas de acuerdo a la tendencia de la forma de la semilla: comprimida obovada: 66 - *Brugmansia sanguinea*, 67 - *D. pruinosa*, 68 - *D. ceratocaula* y 69 - *D. wrightii*; ampliamente comprimida obovada: 70 - *D. reburra*, 71 - *D. metel*. Se retiró la carúncula a 69, 70. DL - depresión lateral, G - giba, LO - lóbulos, PLM - pliegue micropilar, PTH - prolongación de la taza del hilo, PY - proyección.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS NO SALE
DE BIBLIOTECA



Figuras 72 - 77. Fotomicrografías de semillas en MEB. Ordenadas de acuerdo a la tendencia de la forma de la semilla: ampliamente comprimida obovada 72 - *D. stramonium*, 73 - *D. lanosa*, 74 - *D. quercifolia*, 75 - *D. innoxia*, 76 - *D. quercifolia* X *D. stramonium* y 77 - *D. kymatocarpa*. Se retiró la carúncula a 75 y 77. CA - carúncula, RB - reborde engrosado en forma de S cerrada y PY - proyecciones.

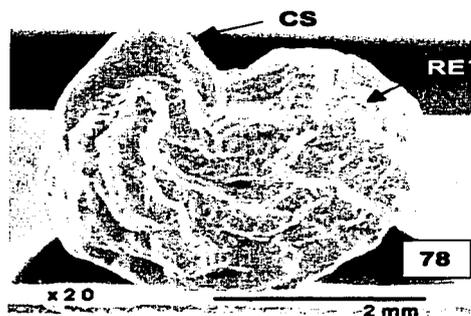


Figura 78. Fotomicrografías de semilla en MEB. Ordenadas de acuerdo a la tendencia de la forma de la semilla: **ampliamente comprimida obovada 78 - *D. discolor*.** Se le retiró la carúncula. CS - curvatura de la taza del hilo en forma de S cerrada (Fig. 5) y RE - retículo.

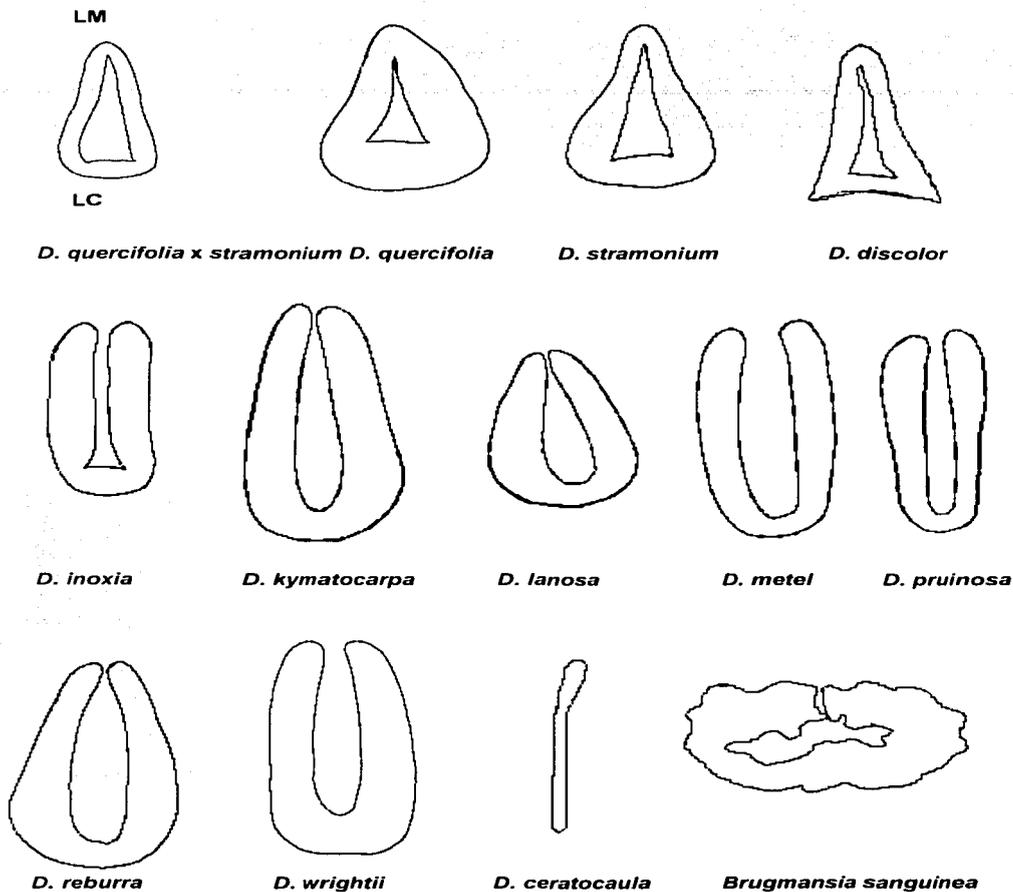
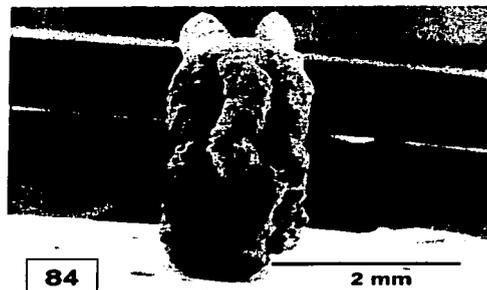


Figura 79. *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*. Forma de la taza del hilo: Triangular (*D. quercifolia* X *stramonium*, *D. quercifolia*, *D. stramonium*, *D. discolor*); ovada (*D. kymatocarpa*, *D. lanosa*, *D. reburra*); elíptico (*D. inoxia*, *D. metel*, *D. pruinosa*, *D. wrightii*); linear *D. ceratocaula* e irregular *Brugmansia sanguinea*. La base corresponde al lado calazal y el lado opuesto al lado micropilar. LC – lado calazal y LM – lado micropilar.



Figuras 80 - 85. Forma de la taza del hilo, surco micropilar y lóbulos. 80 - *D. quercifolia* taza del hilo de forma triangular, surco micropilar corto y taza del hilo cerrada; 81, 83, 84 - *D. wrightii* taza del hilo de forma elíptica, surco micropilar largo y taza del hilo abierta; 83 - vista dorsal, 84 vista apical, en donde se observan dos lóbulos laterales y uno central, separados por surcos; 82 - *Brugmansia sanguinea* taza del hilo de forma irregular, surco micropilar largo y curvo, y taza del hilo abierta y 85 - *D. kymatocarpa* carúncula laminar. (Escala 85 = 1 mm).

5.3 Análisis Fenético.

En los análisis numéricos que se mencionan a continuación, es importante señalar que en el primero de ellos se están contrastando los géneros *Brugmansia* y *Datura*; y con el segundo se pretende conocer la relación que existe entre las especies de *Datura* encontradas en México.

5.3.1 Análisis de conglomerados para *Datura* y *Brugmansia sanguinea*.

En la Figura 86 se muestran los resultados del análisis de conglomerados, con base en los caracteres anatómicos y morfológicos de semillas. Se observa que al nivel 2.00 se da la separación de dos grupos, que corresponden a la especie arbustiva *B. sanguinea* (A) y a las especies herbáceas de *Datura* (H).

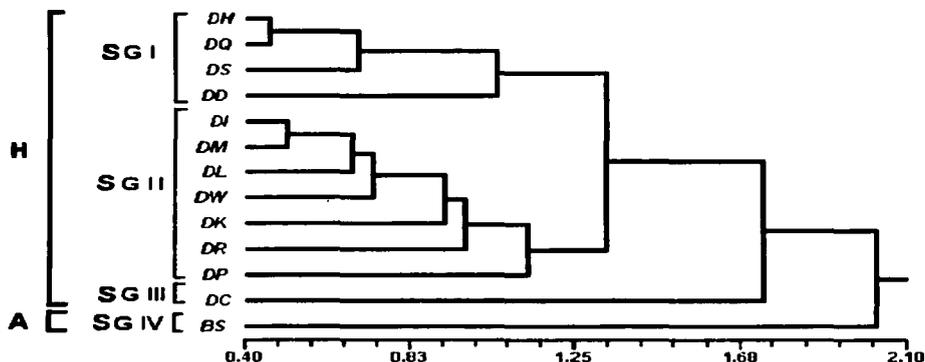


Figura 86. Dendrograma que muestra el agrupamiento de 13 OTU's, resultado del análisis de conglomerados (UPGMA) a partir de una matriz de coeficiente de Distancia Taxonómica Promedio (Coeficiente de Correlación Cofenética = 0.9578).

El grupo H, a un nivel de 1.25 se encuentra conformado por tres subgrupos (SG). El SG I está definido a una distancia de 1.00 e incluye a *D. discolor*, *D. quercifolia* X *D. stramonium*, *D. quercifolia* y *D. stramonium*; el SG II se separa a

una distancia de 1.12, y agrupa a *D. inoxia*, *D. metel*, *D. lanosa*, *D. wrightii*, *D. kymatocarpa*, *D. reburra* y *D. pruinosa*, el SG III, diferenciado a una distancia de similitud de 1.73 con *D. ceratocaula*.

5.3.2 Análisis de componentes principales para *Datura* y *Brugmansia sanguinea*.

A partir del análisis de componentes principales se definieron los caracteres de las semillas que permiten agrupar a las especies del grupo H, éstas son: el largo de la semilla de 3.13 - 5.80 mm, el peso de 3.46 - 20.44 mg, el ancho de la taza del hilo 0.18 - 1.68 mm, el ángulo entre taza del hilo y giba 190° - 250°, el ancho de semilla 2.22 - 4.41 mm, largo de la taza del hilo 1.44 - 3.32 mm, presencia de tres lóbulos y carúncula. La especie del grupo A presenta las siguientes características: las semillas más grandes (largo 8.10 mm, ancho 5.10 mm) y de mayor peso (34.84 mg), mayor anchura de la taza del hilo 5.10 mm, el menor ángulo entre la taza del hilo y la giba (110°), la taza del hilo más larga (3.62 mm), con siete lóbulos irregulares y ausencia de carúncula.

La Figura 87 muestra la ubicación de los OTU's en la gráfica derivada de los componentes principales uno y dos; en esta se observa que el componente uno separa a las OTU's en dos grupos el A (*B. sanguinea*) y el H (*Datura*) los cuales coinciden con los resultados del análisis de conglomerados. Así, los resultados apoyan la propuesta de Lockwood (1973) quien considera a *Brugmansia* como un género distinto de *Datura*. También, se puede observar que el componente dos separa al grupo H (*Datura*) en dos subgrupos. Un primer subgrupo con *D. discolor*, *D. quercifolia* X *D. stramonium*, *D. quercifolia* y *D. stramonium* y un segundo subgrupo con *D. inoxia*, *D. metel*, *D. wrightii*, *D. lanosa*, *D. kymatocarpa*, *D. reburra*, *D. pruinosa* y *D. ceratocaula*.

En el Cuadro 15 se observa que los tres primeros componentes principales explican el 74 % de la variabilidad total.

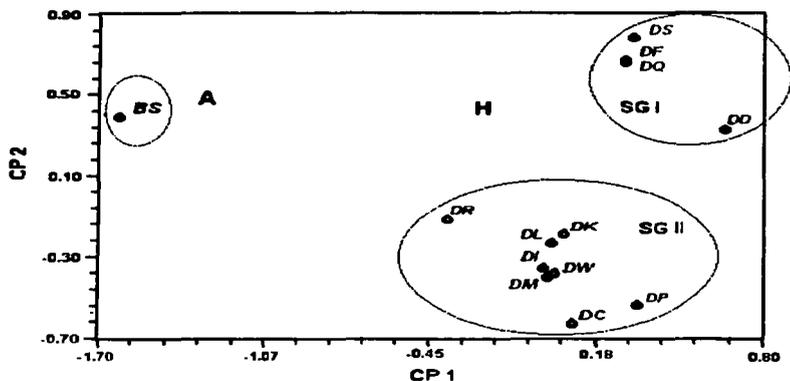


Figura 87. Representación de 13 OTUs en un espacio bidimensional, dado por los dos primeros componentes principales (CP 1 vs CP 2). A = especie arbustiva y H = especies herbáceas.

Cuadro 16. Vectores característicos de los caracteres con mayor carga en el análisis de componentes principales de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.

| Componentes Principales | Variación Explicada (%) | Valor Eigen | Caracteres | Vectores |
|-------------------------|-------------------------|-------------|---|----------|
| 1 | 30.56 | 10.74 | 1 Largo de la semilla | 0.9620 |
| | | | 5 Peso | 0.9250 |
| | | | 12 Ancho de la taza del hilo | 0.8698 |
| | | | 7 Angulo entre taza del hilo y giba | -0.8514 |
| | | | 2 Ancho semilla | 0.8367 |
| | | | 6 Largo de de la taza del hilo | 0.8329 |
| | | | 17 Lóbulos | 0.7793 |
| 2 | 25.58 | 8.99 | 32 Consistencia de carúncula | 0.8410 |
| | | | 29 Presencia de carúncula | 0.8397 |
| | | | 30 Forma de la carúncula | 0.8188 |
| | | | 25 Reborde de la taza del hilo con protuberancias más bajas | -0.8182 |
| 3 | 18.29 | 6.43 | 26 Tamaño del surco micropilar | 0.8563 |
| | | | 27 Pliegue micropilar | -0.8384 |
| | | | 11 Razón entre largo y ancho de la taza del hilo | -0.7915 |
| Total Acumulado | 74.43 | | | |

5.3.3 Análisis de conglomerados para *Datura*.

Un segundo análisis de conglomerados fue realizado únicamente para las especies de *Datura*, de México, con la finalidad de definir nuevos caracteres que ayuden a la circunscripción de los taxa. Se emplearon caracteres anatómicos, micromorfológicos y morfológicos de semillas secas.

La figura 88 muestra el dendrograma resultado del análisis de conglomerados. A una distancia de 1.87 se observa un conglomerado que incluye a todas las OTU's excepto *D. ceratocaula*, la cual forma un simple grupo. Pero puede ser observado que a una distancia de 1.48 el fenograma muestra la separación de los OTU's en tres grupos: G I, G II y G III.

Al comparar este dendrograma con el anterior (Fig. 86) se puede observar que las agrupaciones de las OTU's son similares, únicamente se observa que en el grupo II *D. wrightii* y *D. lanosa* cambian de posición. En la figura 88 *D. lanosa* es más cercano a *D. metel* y *D. inoxia* y en la figura 86 el más cercano a estos es *D. wrightii*.

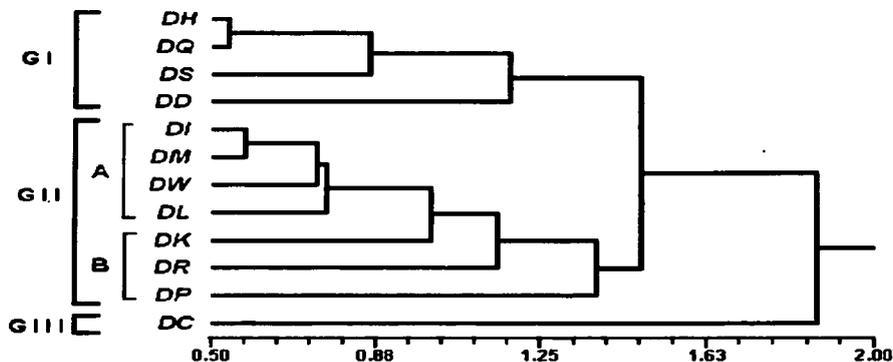


Figura 88. Dendrograma que muestra el agrupamiento de 12 OTU's resultado del análisis de conglomerados, UPGMA (ligamiento promedio) a partir de una matriz de coeficiente de Distancia Taxonómica Promedio (Coeficiente de Correlación Cofenética = 0.92236).

El grupo I se define a una distancia de 1.18 e incluye a *D. discolor*, *D. quercifolia* X *D. stramonium*, *D. quercifolia* y *D. stramonium*. Los taxa del grupo I comparten los siguientes caracteres: semillas sin carúncula, de color negro, con las esclereidas de lumen estrecho, la superficie de las semillas con retículo; la taza del hilo de forma triangular, cerrada, la curvatura de la taza del hilo en perfil pronunciada en forma de S y el surco micropilar corto. Dentro de este grupo, e incluso de todas las OTU's las especies más similares son *D. quercifolia* X *D. stramonium* y *D. quercifolia*, unidas a una distancia de 0.53. Las diferencias entre estas dos especies son el mayor tamaño y peso de las semillas en *D. quercifolia* X *D. stramonium* (Fig. 87). Por otro lado, *D. discolor* difiere de las otras especies que forman el grupo I porque presenta carúncula.

El grupo II se separa a una distancia de 1.38 y está formado por *D. inoxia*, *D. metel*, *D. wrightii*, *D. lanosa*, *D. kymatocarpa*, *D. reburra* y *D. pruinosa*. Este grupo se divide en un subgrupo (A) y tres OTU's anidadas secuencialmente (B). El subgrupo A se define a una distancia de 0.76, las otras OTU's se encuentran a una distancia de 1.37. El grupo II se caracteriza porque todos los taxa presentan semillas con carúncula; las semillas son de color pardo (excepto *D. reburra* que son negras), las esclereidas con lumen amplio, la taza del hilo oval o elíptica, abierta, el surco micropilar largo, la curvatura de la taza del hilo en perfil en forma de S abierta (J). El par más similar en este segundo grupo está dado por *D. inoxia* y *D. metel*, que se unen a una distancia de 0.58. En el grupo II, las OTU's anidadas secuencialmente (B) son OTU's que presentan menor similitud y se encuentran a una distancia de 1.37; así, a un nivel de 1.0 *D. kymatocarpa* se integra al subgrupo A y se caracteriza por su carúncula de forma laminar que es delgada y cubre a la semilla como un velo, además por las proyecciones de la exotesta dadas por células más altas. En un nivel de 1.15 se encuentra *D. reburra*; ésta tiene semillas negras y las de mayor tamaño de todas las del grupo e incluso de las OTU's estudiadas; por último, a un nivel de similitud de 1.38 se une *D. pruinosa*, la cual se caracteriza por presentar semillas

cuya superficie tiene retículo, ausencia de lóbulos y el tamaño más pequeño de todas las OTU's. A un nivel de similitud de 1.48 se unen el grupo I y el grupo II.

El grupo III incluye solo a *D. ceratocaula*, la cual se separa de los otros dos grupos a una distancia de 1.87. Este grupo se define por las siguientes características: una carúncula persistente y de aspecto resistente cuando está húmeda, la taza del hilo en forma recta, angosta, con pliegue micropilar convexo, el lumen de las esclereidas amplio y las esclereidas con pared periclinal muy delgada.

5.3.4 Análisis de componentes principales para *Datura*.

La gráfica de los componentes principales uno y dos muestra la disposición de las OTU's en tres grupos, que coinciden con los del análisis de conglomerados (Fig. 89). Los primeros tres componentes principales explican el 73 % de la variabilidad total (Cuadro 15).

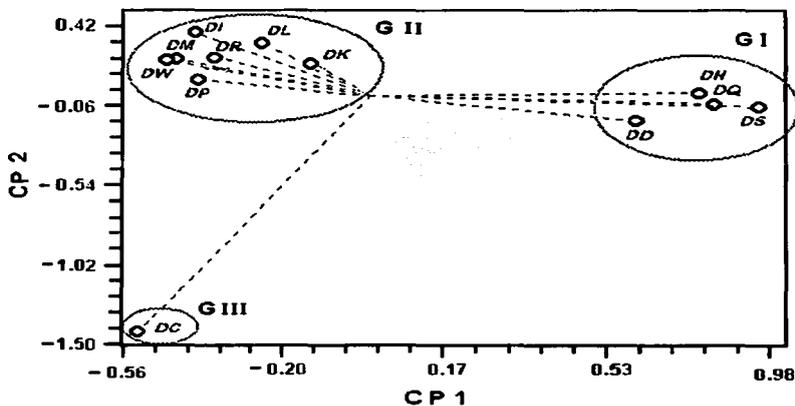


Figura 89. Representación de 12 OTUs en un espacio bidimensional dada por los dos primeros componentes principales (CP 1 vs CP 2).

El componente principal uno explica el 34 % de la variación; las variables con mayor peso son: la consistencia de la carúncula, la presencia o ausencia de la carúncula, el lumen de las esclereidas, la forma de la carúncula, la curvatura de la taza del hilo, el reborde de la taza del hilo, la superficie de la semilla, el color de la semilla, el largo de la taza del hilo, la abundancia de almidón, la arena cristalina presente en la carúncula o en el parénquima de la taza del hilo y el largo de la semilla.

El segundo componente principal contribuye con el 23 % de la variación total y son cinco los caracteres con mayor importancia: el grosor de la pared periclinal externa de las esclereidas, el ancho de la taza del hilo, la presencia o ausencia del pliegue micropilar, el tamaño del surco micropilar y la relación entre el largo y el ancho de la taza del hilo. El grupo III formado por *D. ceratocaula* es el OTU con caracteres de semilla particulares que la separan de los otros dos grupos.

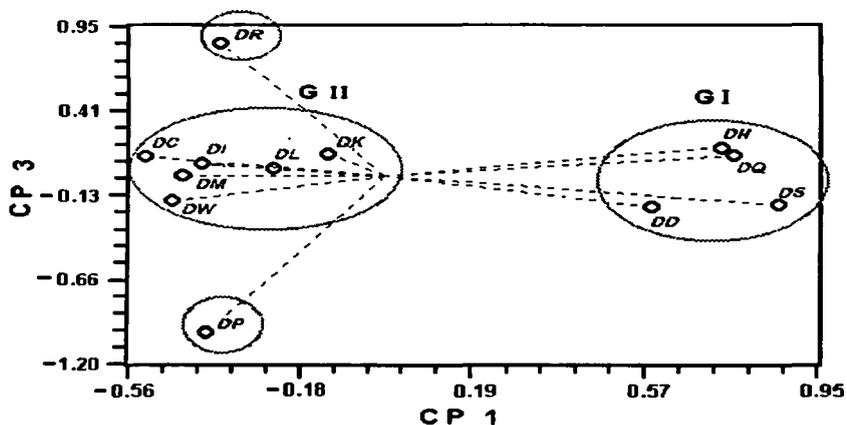


Figura 90. Representación de 12 OTU's en un espacio bidimensional dada por el primer y tercer componentes principales (CP 1 vs CP 3).

El tercer componente principal representa el 16 % de la variación total (Cuadro 17). se define por cuatro caracteres que son: el ángulo entre la taza del hilo

y la giba, el grosor dorsal de la semilla a nivel del hilo, la persistencia de carúncula y la abundancia de aceites en la carúncula.

La gráfica de los componentes principales uno y tres muestra la disposición de las OTU's en dos grupos (Fig. 90). Además, se puede observar que el componente tres separa a *D. pruïnosa* y *D. reburra* del grupo II; éstas presentan las semillas más pequeñas y las más grandes del género, respectivamente. *Datura ceratocaula* queda dentro del grupo II.

Cuadro 17. Vectores característicos de los caracteres con mayor carga en el análisis de componentes principales de *Datura sensu stricto*.

| Componentes principales | Variación explicada (%) | Valor Eigen | Caracteres | Vectores |
|--|-------------------------|-------------|---|----------|
| 1er | 33.76 | 12.35 | 32 Consistencia de la carúncula | 0.9116 |
| | | | 29 Presencia de la carúncula | 0.9110 |
| | | | 38 Lumen de las esclereidas | -0.9076 |
| | | | 30 Forma de la carúncula | 0.8871 |
| | | | 23 Curvatura de la taza del hilo | -0.8454 |
| | | | 25 Reborde de la taza del hilo con protuberancias bajas | -0.8167 |
| | | | 18 Superficie reticulada | -0.7720 |
| | | | 14 Color de la semilla | -0.7388 |
| | | | 6 Largo de la taza del hilo | 0.7136 |
| | | | 35 Abundancia de almidón | 0.6873 |
| | | | 34 Abundancia de arena cristalina | -0.6797 |
| | | | 1 Largo de la semilla | -0.6638 |
| | | | 2do | 23.11 |
| 12 Ancho de la taza del hilo | 0.8506 | | | |
| 27 Pliegue micropilar | -0.8115 | | | |
| 26 Tamaño del surco micropilar | -0.7969 | | | |
| 11 Razón entre largo y ancho de la taza del hilo | -0.7958 | | | |
| 3er | 15.74 | 5.76 | 7 Angulo entre la taza del hilo y la giba | -0.7109 |
| | | | 3 Grosor dorsal | 0.6283 |
| | | | 31 Persistencia de carúncula | -0.5860 |
| | | | 33 Abundancia de aceites | -0.5810 |
| Total Acumulado | 72.61 | | | |

6 DISCUSION

El género *Datura* ha sido estudiado durante mucho tiempo por diferentes autores en distintos aspectos ya sea, taxonómicos por Persoon, 1805 y Bernhardt, 1833; distribución y origen por Safford, 1921; morfológicos y ecológicos por Lockwood, 1973; aspectos taxonómicos basados en material de banco de semillas Hammer et al. 1983; análisis numérico tomando en cuenta aspectos morfológicos en los cuales se incluyen algunos de semillas por Fuentes et al., 1986; biogeográficos por Symon y Haegi, 1991; morfología de polen por Persson et al., 1999 e isoenzimas por Jiao et al. 2002. Aún así, con los diversos estudios su clasificación aún es incierta, por lo que este estudio aporta nuevos elementos que pueden ayudar para su definición.

Desarrollo embrionario para *Datura stramonium*.

Estudios sobre el desarrollo embrionario fueron realizados anteriormente por Reisman-Berman et al. (1989) los cuales resaltan la presencia de la nucela en semilla madura de *D. ferox* y *D. stramonium*. Sin embargo, en este trabajo se observó que en *D. stramonium* la nucela se desintegra conforme se desarrolla el gametofito femenino, antes de que se forme completamente el saco embrionario; por lo tanto en el óvulo maduro dicha nucela ya no existe. Una situación similar es la que Edmons (1983) consignó para varias especies de *Solanum*, donde la nucela se desintegra.

También, se han realizado estudios sobre la cutícula de la semilla, que separa el tegumento del endospermo, es con interrupción ya que deja una pequeña abertura tanto en la zona micropilar como en la zona calazal; por lo tanto, se esperaría que la cutícula fuera continua si su origen proviniera de la nucela. Wellendorf (1962) la describe como una epidermis interna, relacionada con la nucela. La confusión radica primordialmente al denominar a esta cutícula como "cutícula nuclear", aun sabiendo que su origen no es nucelar.

Los resultados obtenidos sobre la diferenciación del tegumento, coinciden con las observaciones de Souèges (1907) y Satina (1959). De acuerdo a lo observado.

puede decirse que la epidermis interna no corresponde a un remanente de la nucela, como señaló Timmerman (1927).

En el desarrollo de la testa, se observó que las paredes periclinales de la epidermis externa sufren ondulaciones y, conforme se desarrollan, forman protuberancias y se entrelazan con las de las células vecinas. Estas estructuras celulares fueron denominadas por Timmerman (1927) y Wellendorf (1962) como "processes" como pequeñas células.

Respecto al desarrollo del embrión, los resultados de este trabajo coinciden con lo previamente descrito por Satina (1959). Después de la fecundación se desarrolla un embrión linear, el cual posteriormente adquiere forma globular, luego acorazonada y finalmente una forma cilíndrica.

Aún cuando no se observó el desarrollo de la carúncula, se puede deducir que es una estructura de origen tegumentaria, que se origina de la epidermis externa de la taza del hilo, ya que se observó la continuidad que existe entre la epidermis externa y el tejido que forma a la carúncula de *D. ceratocaula*. Bohjwani y Bhathnagar (1979) señalan que la carúncula es una proliferación de las células del tegumento externo. *Datura stramonium* no presenta carúncula, pero se observó la división de células tegumentarias, que dan origen a un parénquima de la taza del hilo, lo cual confirma lo establecido por Reisman-Berman et al. (1989). Además, se observó que el parénquima es rico en almidón y arena cristalina, que también se pueden presentar en la carúncula.

Anatomía de semillas.

La testa es un estructura importante para la semilla y se observó que su estructura en semillas maduras del género *Datura* y *B. sanguinea* esta es muy similar. Anteriormente Wellendorf (1962) señaló que la testa de *D. cornigera* (*Brugmansia*) era parecida a la de *D. stramonium*. En este trabajo se pudo observar que la testa en *Datura* y *Brugmansia* se encuentra delimitada del endospermo por una cutícula, y su estructura consta de una epidermis externa (un estrato), una mesotesta (parénquima colapsado y varios estratos), y una epidermis interna (un estrato). Las células de la epidermis

externa en *B. sanguinea* presentan protuberancias muy pequeñas en comparación con las especies de *Datura*, en donde son de mayor tamaño. Las células de la epidermis externa se distinguen entre *Datura* y *Brugmansia* debido a que, en los taxa sección *Datura* junto con *D. discolor* y *D. reburra*, las células de la epidermis externa de las semillas tienen las siguientes características: forma oblonga cóncava, paredes periclinales gruesas, lumen estrecho y color pardo oscuras (semillas negras). En las semillas de la sección *Dutra* las células de la epidermis externa son de forma oblonga cóncava o ampliamente oblonga cóncava, paredes periclinales delgadas, lumen amplio, homogéneas, claras y de color amarillo (semillas pardas). En la sección *Ceratocaulis* las células de la epidermis externa son de forma oblonga cóncava similares a las de la sección anterior, pero en el centro se encuentra depositado mayor cantidad de compuestos fenólicos y las paredes periclinales externas son muy delgadas. En *B. sanguinea* las células de la epidermis externa son de forma angostamente elípticas, las paredes celulares son delgadas, lumen muy grande, de color amarillo (semillas pardas) y son más altas por lo que difieren de las células de la testa de *Datura*.

También hay diferencias entre *Brugmansia* y *Datura* con respecto de la mesotesta de la semilla madura de *Datura*. La mesotesta de *Datura* tiene pocos estratos de células de parénquima y coincide con lo reportado por Timmerman (1927). En *Brugmansia* el parénquima de la mesotesta no colapsado puede ser de 10 - 20 estratos de espesor; esta disposición del parénquima fue reportada por Wellendorf (1962) para *D. cornigera* Hook., ahora considerada en *Brugmansia*.

Morfología de Semilla.

- El género *Datura* puede presentar dos formas de la semilla: comprimida obovada y ampliamente comprimida obovada, pero existe la tendencia en *D. discolor* a ser circular. La taza del hilo sufre un giro hacia el centro y la distancia entre la cálaza e hilo es menor en *D. discolor* (1.44 mm) que en las otras especies. La forma de la semilla en *B. sanguinea* es comprimida obovada.

- La taza del hilo fue la región que permitió encontrar el mayor número de caracteres distintos para las semillas del género *Datura*. No se encontraron trabajos previos relacionados con esta estructura, por lo que cabe señalar que los caracteres aquí descritos son reportados por primera vez para el género, destacando los siguientes:

* La curvatura de la taza del hilo, vista en perfil, tiene una variabilidad en la forma; así, puede ser recta en la sección *Ceratocaulis*, en forma de S abierta (J) en la sección *Dutra*, hasta la forma de S cerrada en la sección *Datura*.

* La taza del hilo puede presentar un reborde, el cual puede ser corto o extendido; muy evidente y puede presentar protuberancias reducidas, con respecto a la superficie de la semilla, como en la sección *Datura*.

* El reborde de la taza del hilo puede ser abierto o cerrado.

* La prolongación de la taza del hilo en forma de tubo, es un carácter que comparten *D. pruinosa* y *B. sanguinea*.

* El surco micropilar puede ser corto o largo.

* La taza del hilo es cerrada en las semillas de las secciones *Datura* (surco micropilar corto) y *Ceratocaulis* (en donde no hay surco micropilar) y abierta en la sección *Dutra* (surco micropilar largo). En *B. sanguinea* la taza del hilo es abierta y el surco micropilar es largo y sinuoso.

* El pliegue micropilar en *D. ceratocaula* es una estructura que se encuentra en la zona del micrópilo, en donde las especies de la sección *Dutra* presentan un surco. Está formado por células epidérmicas de paredes delgadas, que forman un pliegue convexo y con aire en la parte interna, lo cual al parecer es una adaptación especial para su dispersión en el medio acuático. El pliegue micropilar no se había reportado anteriormente.

* La forma de la taza del hilo, coincide con algunas de las formas del hilo en semillas de solanáceas estudiadas por Gunn y Gaffney (1974) (linear, elíptica, oblonga y triangular). que utilizó entre otros caracteres para distinguir morfología de semillas en Solanáceas. La forma de la taza del hilo varía según la clasificación del género *Datura*: obovada y elíptica en la sección *Dutra*, triangular en la sección *Datura* y *D.*

discolor y linear en la sección *Ceratocaulis*. En *B. sanguinea* es de forma irregular; sin embargo, puede decirse que parece que en el género *Datura* existir una tendencia a la reducción del hueco de la taza del hilo.



Figura 91. Forma de la taza del hilo de *Brugmansia sanguinea* y *Datura*.

- En el género *Datura* la carúncula se encuentra únicamente en las especies de las secciones *Dutra* y *Ceratocaulis*. En la sección *Dutra*, al parecer, facilita la dispersión de la semilla por medio de hormigas, tal como señalaron O'Down y Hay (1980). A través del estudio histoquímico de esta estructura se observó la presencia de sustancias de reserva como almidón, aceites y proteínas. Es importante señalar que en *D. kymatocarpa*, la forma de la carúncula es laminar y en las demás especies es de forma deprimida obovada. En la sección *Ceratocaulis* las paredes celulares de la carúncula parecen ser más resistentes que en las otras especies; además, la carúncula es persistente, es hidrófila y está unida a la epidermis externa de la testa de la semilla y se rompe al retirarla. El protoplasma presenta pocos contenidos de reserva. La carúncula en la sección *Ceratocaulis* puede ser una adaptación para la dispersión en un medio acuático, ya que la estructura es distinta a la de las otras especies. En *B. sanguinea* no hay carúncula, se presenta un parénquima similar al de la sección *Datura* Wellendorf (1962) lo reporta en *D. cornigera*.

- La superficie de la semilla puede estar ornamentada y presentarse en forma de retículo, característico de la sección *Datura* y en *D. pruinosa* y anteriormente mencionado para *D. stramonium* por Timerman (1927). Otro tipo de ornamentaciones que se observaron y se describieron en este trabajo fueron las proyecciones que se

presentan en *D. kymatocarpa* y la sección *Ceratocaulis*. En *B. sanguinea* la superficie de la semilla presenta un relieve rugoso.

- La mayoría de las especies de la sección *Dutra* (excepto *D. pruinosa*) presentan tres pliegues bien definidos denominados lóbulos, a los cuales Barclay (1959) y Timerman (1927) denominaron como cordoncillos; *B. sanguinea* presenta varios pliegues irregulares, especialmente en la zona cercana a la taza del hilo.

- La depresión lateral se presenta en la mayoría de las semillas de *Datura*, excepto en *D. stramonium* y *B. sanguinea*. Barclay (1959) denomina a esta depresión como laguna de media luna, específicamente en *D. reburra*.

- La giba no fue un carácter constante entre las especies; sin embargo, fue muy evidente o pronunciada en *D. kymatocarpa* y *B. sanguinea*.

Análisis numérico.

En anteriores análisis numéricos realizados para *Datura*, se han considerado caracteres morfológicos, vegetativos, ecológicos y genéticos. Sin embargo, muy pocos caracteres de semilla han sido estudiados en este tipo de análisis. En un primer análisis del presente trabajo, se consideraron tanto a las especies herbáceas de *Datura* como a *Brugmansia sanguinea*. En el dendrograma obtenido (Fig. 86) se observan cuatro grupos, que representan a las tres secciones de *Datura* y el cuarto a *Brugmansia sanguinea*. En la gráfica de componentes principales, en donde se graficaron los componentes uno y dos, se observa la formación de dos grupos en donde claramente *B. sanguinea* se separa de las otras especies. Los caracteres que distinguen a *Brugmansia* son: semillas de mayor tamaño (largo 8.10 mm, ancho 5.10 mm); mayor peso, 34.84 mg; ancho de la taza del hilo, 3.94 mm; el ángulo entre la taza del hilo y la giba es menor, 110°; largo de la taza del hilo, 3.62 mm; siete lóbulos irregulares y no presenta carúncula; la mesotesta es de numerosos estratos y la epidermis externa presenta células muy altas con paredes delgadas, lumen muy grande y protuberancias muy pequeñas.

Los caracteres de las semillas indicaron, tanto en el análisis de conglomerados como en el de componentes principales, que *Datura* y *Brugmansia* deben considerarse como géneros distintos, lo cual apoya lo propuesto por (Persoon, 1805; Barclay, 1959; Fuentes et al., 1986; Xiqués et al., 1986; Persson et al., 1999; Mace et al., 1999; Jiao et al., 2002) y contrasta con la clasificación de Hammer et al. (1983) en donde a *Brugmasia* se le considera dentro del género *Datura*.

En los análisis fenéticos realizados en este trabajo, se muestra la formación de tres grupos que coinciden con las tres secciones del género *Datura*: grupo I (*Datura*), grupo II (*Dutra*) y grupo III (*Ceratocaulis*), tal como lo propuesto por Lockwood (1973), Symon y Haegi (1991) y Hammer et al. (1983). El grupo I o sección *Datura*, incluye a *D. discolor*, *D. quercifolia*, *D. stramonium* y *D. quercifolia* X *D. stramonium*. Las semillas de este grupo se caracterizan por: ausencia de carúncula, con excepción de *D. discolor*; semillas negras, las semillas pequeñas (3.52 - 3.91 mm), la superficie reticulada; taza del hilo de forma triangular, la curvatura de la taza del hilo en forma de S cerrada, la taza del hilo cerrada, el reborde de la taza del hilo con protuberancias más bajas, el largo de la taza del hilo (1.53 - 2.10 mm), surco micropilar corto, pared celular de esclereidas gruesa con lumen estrecho. Aunque en el análisis de componentes principales la forma de la taza del hilo no se consideró como uno de los caracteres de mayor peso, es sin embargo característico para este grupo la forma triangular.

Es importante resaltar la inclusión de dos especies en el grupo I debido a su posición taxonómica: *D. discolor* y el híbrido putativo entre *D. quercifolia* X *D. stramonium*. La semilla de *D. discolor* se distingue dentro del género porque su forma tiende a ser circular, por presentar carúncula con abundante arena cristalina; porque sus semillas presentan el menor valor respecto al largo de la taza del hilo (1.44 mm), el mayor ángulo entre la taza del hilo y la giba (250°) y la menor anchura de la taza del hilo (0.83 mm); los caracteres de semilla que comparte *D. discolor* con las otras especies de la sección *Datura* ya se mencionaron. También, es importante resaltar la discrepancia entre los resultados obtenidos para *D. discolor* con respecto a la sección

Datura, realizados recientemente por Luna-Cavazos et al. (2000); dichos autores utilizaron caracteres morfológicos e incluyeron este taxon en la sección *Dutra*; también Jiao et al. (2002) mencionan que *D. discolor* pertenece a la sección *Dutra*, junto con *D. kymatocarpa*, *D. pruinosa* y *D. reburra*. Ahora bien, cruza realizadas entre las especies de la sección *Datura* y *D. discolor* han producido híbridos viables (Satina, 1959), por lo que puede existir una cierta relación entre *D. discolor* y las especies de la sección *Datura*. Fuentes (1980b) indicó la posición taxonómica incierta de *D. discolor* dentro de la sección *Dutra*. *Datura discolor* comparte caracteres morfológicos con la sección *Dutra* como son el fruto inclinado y semilla con carúncula, pero con base en los resultados del presente trabajo, *D. discolor* comparte la mayoría de los caracteres de la semilla con la sección *Datura*. Desde 1833 Bernhardi incluye a *D. discolor* dentro de la sección *Stramonium* (= *Datura*) pero Safford en 1921, al tomar únicamente caracteres reproductivos de flor y fruto, la coloca dentro de la sección *Dutra*. También, es importante considerar, que la diferencia en la tasa evolutiva de las estructuras de un organismo es distinta para cada una de ellas; por ello, si una de las especies de *Datura* presenta mayor especialización en semillas, puede no presentar el mismo grado de evolución en su fruto. Los resultados obtenidos con el análisis de los caracteres de semillas señalan que *D. discolor* pertenece a la sección *Datura*, apoyando así la propuesta de Bernhardi. Por lo tanto, se debe reconsiderar a *D. discolor* dentro de la sección *Datura*.

Es importante señalar que al inicio de este trabajo, las semillas estudiadas de una colecta de San Luis Potosí, fueron consideradas como *D. ferox*; pero esta especie no se encuentra distribuida en forma natural en México. Es probable que se trate de un híbrido entre *D. quercifolia* y *D. stramonium* ya que la colecta se obtuvo en una zona de simpatria entre estas dos especies. En este trabajo se incluyeron las semillas de esta colecta para compararlas con los caracteres de *D. quercifolia* y *D. stramonium*. En el análisis fenético, dicho híbrido putativo se agrupa en la sección *Datura* junto con *D. quercifolia* y *D. stramonium*; morfológicamente las semillas de esta colecta son similares a las especies propuestas como progenitoras putativas. Los caracteres que

diferencian este taxon son el mayor peso y tamaño de sus semillas. Por otro lado en el dendrograma (Fig. 87) se observa que este supuesto híbrido es más similar a *D. quercifolia*, es el par más similar del género y esto puede interpretarse como que *D. quercifolia* y el híbrido son conespecíficas, es decir que son dos taxa cercanamente emparentados. La pregunta es ¿realmente es un híbrido? O es ¿*Datura quercifolia* con semillas de mayor tamaño? ¿Se trata de una nueva especie? Para dar una respuesta más acertada son necesarios estudios que den un seguimiento a esta población y otras de las especies consideradas como las progenitoras. Al comparar las semillas del híbrido con una colecta de *D. ferox* de Argentina, se observó que la semilla estudiada es muy parecida a la de *D. ferox*, pero de menor tamaño. Esta comparación se realizó ya que esta colecta presenta caracteres morfológicos que la relacionan con *D. ferox* (Robert Bye comunicación personal), lo cual es de esperarse porque *D. ferox* pertenece a la sección *Datura*.

En el análisis de conglomerados, el grupo II está integrado por las especies de la sección *Dutra* (*D. inoxia*, *D. kymatocarpa*, *D. lanosa*, *D. metel*, *D. pruinosa*, *D. reburra* y *D. wrightii*), las cuales se caracterizan por presentar semillas de color pardo (con la excepción de *D. reburra* que tiene semillas negras), largo de semilla (3.13 - 5.80 mm), con carúncula, la taza del hilo oval o elíptica, abierta, largo de la taza del hilo (1.62 - 3.30 mm), surco micropilar largo y la testa de la semilla con esclereidas de lumen amplio, la mayoría presenta superficie con tres lóbulos, los contenidos de la carúncula son almidón, aceites y proteínas. En el grupo II, se distinguen dos subgrupos. El subgrupo A incluye a *D. inoxia*, *D. lanosa*, *D. metel* y *D. wrightii*, que son las especies más similares de la sección *Dutra*, lo cual coincide con el agrupamiento mostrado por Luna-Cavazos et al. (2000) cuando analizaron la taxonomía de la sección *Dutra* con base en caracteres morfológicos. Jiao et al. (2002) consideran a este subgrupo como un primer grupo de la sección *Dutra*. Es importante señalar que en este grupo *D. inoxia* y *D. metel* son las especies más cercanas lo cual apoya los resultados obtenidos por Luna-Cavazos et al. (2000), en donde proponen que *D. inoxia* es la

progenitora de *D. metel* la cual es una especie cultivada; de allí que se consideren conespecíficas. En B se encuentran anidadas secuencialmente *D. kymatocarpa*, *D. pruinosa*, y *D. reburra*. Los resultados coinciden en parte con lo obtenido por Jiao et al. (2002) cuando estudiaron a las especies de *Datura*, mediante un análisis de isoenzimas. En dicho estudio *D. discolor* es más similar genéticamente a *D. kymatocarpa*, *D. pruinosa* y *D. reburra*, que a *D. stramonium* y *D. quercifolia*, lo cual contrasta con los resultados encontrados en el presente trabajo.

Los análisis realizados en este trabajo reafirman la observación de Luna-Cavazos et al. (2000), quienes consideran que *D. kymatocarpa* y *D. reburra* son especies distintas, y no sinónimos de *D. discolor* como así lo señalaron Hammer et al. (1983) Las semillas de *D. kymatocarpa* se caracterizan por la carúncula de forma laminar, que cubre a la semilla como un velo, las proyecciones de la exotesta dadas por células más altas y la giba pronunciada. *Datura reburra* presenta semillas de color negro, con el mayor tamaño para la sección e incluso de todo el género, taza del hilo con reborde extendido y la taza del hilo en perfil es recta, y *D. pruinosa* se caracteriza por presentar semillas con superficie reticulada, no presenta lóbulos, presenta una proyección de la taza del hilo en forma de tubo y es la semilla más pequeña de la sección y del género (Fig. 90). Se puede observar que estas especies presentan dificultad para ser agrupadas en una sección. Por lo que será necesario reconsiderar los últimos estudios y ver si es posible proponer una clasificación del género en donde se pueda reagrupar la sección *Dutra*.

El grupo III se encuentra formado por la sección *Caratocaulis* e incluye a *D. ceratocaula*. Los caracteres que definen a esta especie son las semillas con carúncula persistente y de aspecto resistente cuando está húmeda; la taza del hilo es de forma recta, abertura de la taza del hilo angosta, con pliegue micropilar, el lumen de las esclereidas es amplio, la pared periclinal de las esclereidas es muy delgada, relación entre el largo y ancho del hilo mucho mayor que en las otras especies y no presenta surco micropilar.

Datura ceratocaula es una especie que se adaptó a un medio acuático, por lo cual difiere de todas las demás especies, que son terrestres, pero mantiene las características propias del género. Los caracteres morfológicos de esta especie han sido descritos anteriormente por Lockwood (1973) quien señala las adaptaciones de la planta al medio acuático, especialmente del sistema radicular y vascular. Además, sus estructuras morfológicas presentan una alta especialización, como la abscisión del fruto irregular, el pericarpo blando y esponjoso, el sistema radicular delicado, el tejido vascular reducido y los tallos huecos.

En este trabajo se reportan por primera vez las adaptaciones de las semillas de *D. ceratocaula* al medio acuático, como son las esclereidas con pared periclinal externa muy delgada, con la pared anticlinal resistente, pocos compuestos fenólicos y el lumen grande; la forma de la taza del hilo es linear y muy angosta; el pliegue micropilares convexo y presenta células de paredes periclinales muy delgadas y con aire; la carúncula es persistente, resistente, hidrófila, deprimida obovada, ligera y con contenidos escasos. Probablemente estos caracteres le permiten flotar en el agua, lo que facilita su dispersión.

7 CONCLUSIONES

1.- Los caracteres anatómicos, morfológicos y del desarrollo de las semillas del género *Datura* son importantes para entender la estructura de las semillas de *Datura* y *B. sanguinea*. De los caracteres morfológicos analizados, los más importantes son aquellos que se encuentran en la zona denominada taza del hilo.

2.- *Datura stramonium* presenta un gradiente de placentación que va de tipo laminar a tipo axial. La nucela se desintegra conforme se desarrolla el gametofito femenino, y no existe en el óvulo maduro. El óvulo de *D. stramonium* es unitégmico, tenuinucelado, con un saco embrionario campilótropo, octanucleado y heptacelular, con un funículo muy corto o sésil. La cubierta de la semilla se encuentra separada del endospermo por una cutícula. La testa está formada por tres estratos: epidermis interna (un solo estrato), mesotesta (cero a cuatro estratos de células parenquimáticas) y epidermis externa (un solo estrato). Con el desarrollo de la epidermis externa, las paredes periclinales sufren ondulaciones que dan origen a estructuras celulares llamadas protuberancias.

3.- Se describen por vez primera para el género *Datura*, algunos caracteres de la zona de la taza del hilo de las semillas como son: largo de la taza del hilo, ángulo entre taza del hilo y giba, ángulo entre la taza del hilo y el micrópilo, razón entre ancho y largo de semilla, razón entre largo de la taza del hilo y largo de semilla, razón entre largo y ancho de la taza del hilo, ancho de la taza del hilo, forma de la semilla, giba, depresión lateral, forma de la taza del hilo, abertura de la taza del hilo (ancha o angosta) y reborde de la taza del hilo en la zona micropilar (abierta o cerrada), forma de la curvatura de la taza del hilo vista en perfil, reborde de la taza del hilo engrosado (extendido, con o sin protuberancias más bajas), tamaño del surco micropilar, pliegue micropilar y proyección de la taza del hilo en forma de tubo. Se consignan otros caracteres importantes de la carúncula, como forma, persistencia, consistencia, abundancia de almidón, aceites, proteínas y presencia de arena cristalina. También se evaluó el grosor de la pared periclinal externa de las esclereidas de la epidermis

externa, el lumen de las esclereidas y el número de hileras de parénquima en la mesotesta.

4.- Los caracteres morfológicos y anatómicos de semillas, utilizados en el análisis de conglomerados y componentes principales, mostraron que el género *Brugmansia* es distinto del género *Datura*. La separación está dada por el tamaño y peso de la semilla, la forma de la taza del hilo irregular, el surco micropilar sinuoso, la capa de parénquima formada por numerosos estratos, las células de la epidermis externa que difieren en la forma, tamaño, lumen más grande y protuberancias más pequeñas.

5.- Las semillas de *D. ceratocaula* presentan caracteres de adaptación al medio acuático como son: esclereidas con pared periclinal externa muy delgada, paredes anticlinales resistentes, pocos compuestos fenólicos, el lumen grande; la forma de la taza del hilo linear y angosta; el pliegue micropilar convexo; con carúncula resistente, persistente, hidrófila, deprimida obovada, ligera y con escasos contenidos.

6.- Las semillas de *D. quercifolia* X *D. stramonium* son morfológicamente muy similares a las de *D. quercifolia* y *D. stramonium*, pero se observaron diferencias en el peso y el tamaño. Su parecido es mayor con las semillas de *D. quercifolia* por lo cual se puede decir que son conespecíficas.

7.- Las secciones que integran al género *Datura* se caracterizan por presentar semillas con las características resumidas en el Cuadro 15. Entre las cuales se presentan para la sección *Datura* semillas negras, superficie reticulada, taza del hilo de forma triangular y surco micropilar corto; en la sección *Dutra* semillas pardas, con carúncula, la mayoría presenta tres lóbulos bien definidos, taza del hilo ovada o elíptica y surco micropilar largo, y la sección *Ceratocaulis* semillas pardas, con carúncula, la superficie con proyecciones, taza del hilo de forma linear y presenta pliegue micropilar.

8.- Este trabajo es el primero en considerar caracteres morfológicos y anatómicos de semillas de *Datura* para un análisis fenético.

9.- De acuerdo con los análisis fenéticos efectuados, el género *Datura* consta de tres secciones: 1) *Datura*: *D. discolor*, *D. quercifolia* y *D. stramonium*; 2) *Dutra*: *D. inoxia*, *D. kymatocarpa*, *D. lanosa*, *D. metel*, *D. pruinosa*, *D. reburra* y *D. wrightii* y 3)

Ceratocaulis: *D. ceratocaula*. Los resultados difieren de lo encontrado por Luna-Cavazos et al. (2000) y Jiao et al. (2002) ya que sus resultados indican que *D. discolor* pertenece a la sección *Dutra* y no a la sección *Datura*.

10.- Los caracteres anatómicos y morfológicos de las semillas muestran que las secciones *Datura* y *Ceratocaulis* son dos grupos bien definidos. Sin embargo, la sección *Dutra* está integrada por un grupo bien definido *D. inoxia*, *D. metel*, *D. wrightii* y *D. lanosa*, y tres especies que presentan una agrupación secuencial *D. kymatocarpa*, *D. reburra* y *D. pruinosa*. Por medio de los caracteres de la semilla se apoya la propuesta de que *D. ceratocaula* es la especie única de la sección *Ceratocaulis*.

Las aportaciones de este trabajo son:

1) Descripción del desarrollo embriológico en una especie mexicana (*D. stramonium*) colectada en su área de distribución natural, enfocado principalmente al desarrollo de la nucela y la testa.

2) Se aclaró el desarrollo de ciertas estructuras en *D. stramonium*, lo cual era confuso en trabajos anteriores, como el origen de la estructura de la testa, la cutícula que separa al endospermo del embrión y las protuberancias de la pared periclinal externa de las esclereidas.

3) Descripción de caracteres de semilla antes no descritos, especialmente con la ayuda del microscopio electrónico de barrido, como taza del hilo, el surco micropilar, pliegue micropilar.

4) Descripción anatómica y morfológica de semillas de 11 especies mexicanas del género *Datura*, de una colecta al parecer de un híbrido (*D. quercifolia* X *D. stramonium*) y *Brugmansia sanguinea*.

5) Descripción de caracteres de adaptación al medio acuático de las semillas de *D. ceratocaula*.

6) Un análisis fenético de las especies de *Datura* distribuidas en México, con el uso de caracteres anatómicos y morfológicos de semillas.

7) Elaboración de un glosario con términos propios de las semillas, observadas con microscopio electrónico de barrido y microscopio estereoscópico.

RECOMENDACIONES

Debido a la importancia del género en México, y con base en los resultados obtenidos, se plantean las siguientes propuestas:

1.- Realizar estudios ecológicos, anatómicos, morfológicos, ontogenéticos e histoquímicos de la carúncula de semillas frescas, con el fin de evitar errores ocasionados por los daños causados por el almacenamiento de las semillas, especialmente en su color, forma y en la composición química de sus contenidos. Con ello se podrá definir si el desarrollo de la carúncula es similar en todas las especies que la presentan.

2.- Efectuar un estudio monográfico de *D. ceratocaula* y *D. discolor*.

a) *Datura ceratocaula* es una especie que se ha adaptado a un medio acuático, se encuentra en cuerpos de agua temporales y debido a que este hábitat está desapareciendo cada vez más rápido, pronto estará en peligro de extinción.

b) En *D. discolor*, es necesario definir su posición taxonómica dentro del género, debido a que es una especie que se agrupa distintamente dependiendo de los caracteres utilizados.

3.- Efectuar un estudio similar en el género *Brugmansia*, ya que es un grupo muy cercano a *Datura*, lo cual ayudaría a entender mejor la relación entre ambos grupos taxonómica y evolutivamente.

4.- Realizar un análisis cladístico, sumando los caracteres obtenidos en este trabajo y los más recientes realizados por Luna-Cavazos *et al.* (2000) y Jiao *et al.* (2002), con el fin de conocer las relaciones taxonómicas del género *Datura*, y proponer una clasificación taxonómica más consistente que la actual.

8 GLOSARIO

Arena cristalina. Cristales diminutos constituidos casi siempre por oxalato de calcio, característicos en las Solanáceas. Con polarización refringen.

Borde de la taza hilo. Esclereidas en el borde de la taza del hilo. Con respecto a la superficie de la semilla en general son células de mayor altura y con protuberancias más bajas. Pueden agruparse formando un borde característico. (Figs. 37 y 76)

Carúncula. Una excrescencia blanquecina, dura o carnosa, que se sitúa sobre la taza del hilo, en el extremo micropilar de la semilla. Se forma por una proliferación de las células del tegumento externo y de la cálaza. Puede ser rica en azúcares, grasas o proteínas, lo que favorece la dispersión por hormigas.

Cicatriz hilar. Hueco que se forma en la epidermis cercana al hilo no se endurece y se colapsa. El hueco puede estar cubierto por la carúncula en especies que la presenten.

Comprimido, da. En semillas las que tienen el hilo en el borde de la misma, por oposición a las deprimidas, que lo muestran en una de sus caras.

Depresión lateral. Hundimiento curvo en los lados de la semilla equidistante, de la taza del hilo y de la orilla opuesta. Corresponde a la parte central del endospermo.

Eleoplasto. Nombre que se da a cada gota oleaginosa que se encuentra en las células.

Eleosfera. Esferas pequeñas de aceite denominadas eleoplastos. Son redondas que se presentan como reserva alimenticia de aceite en algunas células de los vegetales.

Esclereida. Célula de esclerenquima con paredes secundarias gruesas, lignificadas con punteaduras.

Giba (joroba). Es un lóbulo o proyección redondeada en el contorno de la semilla en donde los cotiledones se doblan.

Hilo. Cicatriz dejada por el funículo al separarse de la semilla.

Lóbulos. Tres pliegues de la exotesta siguiendo el contorno de la semilla en uno o dos lados del plano mediano, separados por dos surcos periféricos (Ver surcos periféricos, Fig. 5).

Micrópilo. Abertura que permite el paso del tubo polínico por el ápice del tegumento o los tegumentos.

Nucela. Parte interna de un óvulo dentro de la cual se desarrolla el saco embrionario. El megasporangio, rodeado por el o los tegumentos.

Óvulo tenuinucelado. Nucela delgada con la célula madre de la megáspora cubierta únicamente por la epidermis.

Óvulo campilótropo. Óvulo en donde la nucela o el saco embrionario son curvos, la distancia del micrópilo hasta el hilo varía de corta a casi nula. La rafe es corta o nula.

Plano mediano (sinónimo de plano sagital en semillas no ortótropas). Es un plano que divide el óvulo o la semilla en dos partes iguales. Para la posición ortótropa, hay dos o más posibles planos medianos. Para otras posiciones, solamente hay uno (Espinosa y Engleman, 1998).

Pliegue micropilar. Pliegue formado por el adelgazamiento de las células de la epidermis externa cercanas a la zona micropilar, que sobresale del cuerpo de la semilla en forma convexa (Fig. 68).

Prolongación de la zona del hilo. Proyección en forma de tubo en la zona de la taza del hilo que sobresale del cuerpo de la semilla.

Protuberancia. Proyecciones redondeadas en las paredes periclinales de la esclereida. Se encuentran en la periferia de la pared periclinal externa cerca de la unión con las paredes anticlinales. Las protuberancias de una y otra célula se entrelazan y forman una red y en el centro de la célula se forma una concavidad (Figs. 38 - 44).

Proyección. Grupo de células más altas en la exotesta. A diferencia de la protuberancia, la proyección es multicelular. Entre proyecciones puede haber surcos irregulares formados por esclereidas bajas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Punteaduras escalariformes. Espacios que quedan en las paredes anticlinales de las esclereidas cuando se forma la pared secundaria. En las paredes anticlinales de la exotesta de *Datura*, los espacios son transversalmente lineares y agudos, en *Brugmansia* son angosta y estrechamente elípticos.

Punteaduras redondeadas y ramificadas. Canales redondeados y ramificados que unen el lumen de las células de la exotesta con la pared periclinal externa y con la pared primaria de la pared periclinal interna (Fig. 62).

Reborde engrosado. Es un reborde que, siguiendo el contorno de la taza del hilo, se eleva del plano general de la semilla y que puede presentar células diferenciadas. En algunas especies se extiende en una forma característica hacia el centro de la semilla.

Reticulo: superficie reticulada en la superficie de la exotesta formada por una red de células más altas.

Surco micropilar. Grieta en la testa en donde no hay células esclerosadas y puede ser continuación de la taza del hilo y del micrópilo.

Surcos periféricos. Hundimientos curvados en la exotesta e inclusive dentro del tejido interno, dados por células más bajas que a su lado presentan células más altas que forman cordones característicos en algunas semillas.

Taza del hilo. Estructura que forma el tegumento externo (testa dura) alrededor del hilo, dejando un hueco en ausencia de epidermis esclerosada. Hueco limitado por el borde de la taza del hilo en los lados, y esclerénquima de la cálaza en el fondo (Buxbaum, 1955; Engleman, 1960).

Testa. Cubierta externa de la semilla, que tuvo su origen del tegumento externo o tegumento único del óvulo. Puede tener tres estratos: epidermis interna, mesotesta y epidermis externa.

9 BIBLIOGRAFIA

Avery, A.G. 1959. Historical review. En: Avery A.G., S. Satina y J. Rietsema (Eds.). *Blakeslee: The Genus Datura*. *Chronica Botanica* No. 20. Ronald Press Company. New York. pp. 3-15.

Azcárraga R., M.R. 2001. *Datura*. En: Rzedowski G.C. y J. Rzedowski. (Eds.). *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Centro Regional del Bajío. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro Michoacán. pp. 653-655.

Bahadur, B. y S.M. Farooqui. 1986. Seed and seed coat in Australian *Nicotiana*. En: William G. D'Arcy (Ed.). *Solanaceae: Biology and Systematics*. Columbia University Press. New York. pp. 114-137.

Barclay, A. S. 1959. New considerations in an old genus: *Datura*. *Botanical Museum Leaflets* (Harvard University) 18: 245-272.

Barthlott, W. 1984. Microstructural features of seed surfaces. En: Heywood V.H. y D.M. Moore. (Eds.). *Current concepts in plant taxonomy*. Systematic Association and Academic Press. London. pp. 95-105.

Barthlott, W., G.Voit. 1979. Mikromorfologie der semenschalen un taxonomie der Cactaceae. *Plant Systematics and Evolution* 132: 205-229.

Baskin, C.C. y J.M. Baskin. 1998. *Seeds. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. Academic Press. London. 450 p.

Benson, L. 1962. *Plant Taxonomy. Method and principles*. John Wiley & Sons. New York. 494 p.

Bernhardi, J.J. 1833. Über die Arten der Gattung *Datura*. *Trommsdorf Neus Journal Pharmacie*. 26: 118-158; reproduced in *Linnaea*. VIII Lit. Ver. 115-144.

Bhojwani, S.S. y S.P. Bhatnagar. 1981. *The embryology of angiosperms*. 3^a Edition. Vikas Publishing House. New Delhi, India. 280 p.

Bonilla-Barbosa, J., A. Novelo, Y. Hornelas y J. Márquez. 2000. Comparative seed morphology of Mexican *Nymphaea* species. *Aquatic Botany* 68: 189-204.

Bracamontes, R.M. 1982. El microscopio electrónico de barrido como herramienta para el estudio de las cactáceas. *Cactáceas y Suculentas de México* 27: 36 - 41.

Buxbaum, F. 1950. Morphology of cacti. Section II. Morphology of the seeds. Abbey Garden Press. California. pp.196-223.

Buxbaum, F. 1955. Morphology of cacti. Section III. Fruits and seeds. Abbey Garden Press. California. 223 p.

Bye, R.A. 1979. Hallucinogenic plants of the Tarahumara. *Journal of Ethnopharmacology* 1: 23-48.

Bye, R.A. 1986. *Datura lanosa*, a new species of *Datura* from Mexico. *Phytologia* 61: 204-206.

Bye, R.A., R. Mata y J. Pimentel. 1991. Botany, ethnobotany and chemistry of *Datura lanosa* (SOLANACEAE) in Mexico. *Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica* 61: 21-42.

Bye, R.A. 1995. Biodiversidad de *Datura* (Solanaceae) en México. Reporte del Proyecto P088. México, D.F. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.

Carrillo-Ocampo, A. y E.M. Engleman. 1994. Anatomía de la semilla de *Chenopodium berlandieri* ssp. *nuttalliae* (Chenopodiaceae) "huauzontle". *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 54: 17-34.

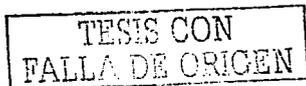
Corner, E.J.H. 1976. The seeds of dicotyledons. Vol. 1. Cambridge. Univ. Pres. Cambridge. 311 p.

Crisci, J.V. y M.F. López. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. O.E.A. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D.C. 132 p.

Cutter, E.G. 1971. Plant anatomy: experiment and interpretation. Part. 2. Addison-Wesley Publishing Company. London. 341 p.

Dunal, M.F. 1852. *Solanaceae*. En: A.P. de Candolle (Ed.) *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*. Paris. 13: 538-690.

Edmonds, J.M. 1983. Seed coat structure and development in *Solanum* L. section *Solanum* (Solanaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 87: 229-246.



Elizondo, E.J., J. Valdés, S. Arias y S. Hatch. 1994. Micromorfología de semillas de algunas especies de la tribu Cactaceae (Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas de México* 49: 59-67.

Engleman, E. M. 1960. Ovule and seed development in certain cacti. *American Journal Botany* 47: 460-467.

Esau, K. 1976. Anatomía vegetal. (Traducción del inglés). Omega. Barcelona. 779 p.

Espinosa-Osornio, G. y E.M. Engleman. 1998. Breve recopilación de Anatomía de Semillas. (Notas de curso). Colegio de Posgraduados. México. 45 p.

Fahn, A. 1974. Anatomía vegetal. (Traducción del inglés). H. Blume. Ediciones España. Madrid. 643 p.

Fassina, G. 1961. Farmacognosia comparata delle *Dature*. Tomo CXIX Atti dell' Instituto di Veneto di *Scienze, Let. Scienze, Lettere et Arti*. pp. 451-505.

Font Quer, P. 1953. Diccionario de Botánica. Ed. Labor. Barcelona. 1244 p.

Fuentes, V. 1980a. *Datura velutinosa*: una nueva especie de Solanaceae para Cuba. *Revista del Jardín Botánico Nacional (Cuba)* 1: 53-60.

Fuentes, V. 1980b. Solanaceas de Cuba 1. *Datura L.* *Revista del Jardín Botánico Nacional* 1: 61-81.

Fuentes, V., X. Niques, J. Sánchez, L. Lera, M.T. Cornide, H. Lima y M. Alvarez. 1986. Análisis multivariado en especies del género *Datura L.* *Revista del Jardín Botánico Nacional (Cuba)* 7: 19-29.

García-Barriga, H. 1992. Flora medicinal de Colombia. *Botánica Médica*. Tomo tercero. Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional. Colombia. pp.56-77.

Gunn C.R. y F.B. Gaffney. 1974. Seed characteristics of 42 economically important species of Solanaceae in the United States. Technical Bulletin 1471, U.S. Department of Agriculture. 1-33 p.

Hadkins, E.S., R. Bye, W.A. Brandenburg y C.E. Jarvis. 1997. Typification of Linnaean *Datura* names (Solanaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 125: 295-308.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Hammer, K., A. Romeike y C. Tittel. 1983. Vorarbeiten zur monographischen Darstellung von Wildpflanzensortimenten: *Datura* L., sections *Dutra* Bernh., *Ceratocaulis* Bernh. et *Datura*. *Kulturpflanze* 31:13-75.

Hay, M.E. y P.J. Fuller. 1981. Seed escape from *Heteromyid* rodents: The importance of microhabitat and seed preference. *Ecology* 62: 1395-1399.

Heiser, C.B., J. Soria y D.L. Burton. 1965. A numerical taxonomic study of *Solanum* species and hybrids. *The American Naturalist* 99: 471-488.

Holm, L., J.V. Pacheco, J.P. Herberger y D.L. Plucknett. 1979. A Geographical Atlas of World Weeds. John Wiley and Sons. New York. pp. 120-121.

Jiao, M., M. Luna-Cavazos y R. Bye. 2002. Allozyme Variation in Mexican species and classification of *Datura* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* 232 (3-4): 155-166.

Johansen, D.A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw-Hill, New York. 523 p.

Kraus, J.E. y M. Arduin. 1997. Manual básico de métodos en morfología vegetal. EDUR. 198 p.

Kukachka, B.F. 1977. Sectioning refractory woods for anatomical studies. USDA. *Forest Service Research Note* FLP-0236: 1-9 (also *Microscopica Acta* 80: 301-307, 1978).

Leete, E. 1959. The alkaloids of *Datura*. En: Avery. A.G., S. Satina y J. Rietsema. (Eds). *Blakeslee: The genus Datura*. Ronald Press Company. New York. pp. 48-56.

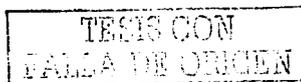
Linneaus, C. 1753. *Species Plantarum*. L. Salvius, Stockholm. 1: 179.

Lisci, M., M. Bianchini y E. Pacini. 1996. Structure and function of the elaiosome in some angiosperm species. *Flora*. 191: 131-141.

Lockwood, T.E. 1973. Generic recognition of *Brugmansia*. *Botanical Museum Leaflets* (Harvard University) 23: 273-284.

Lockwood, T.E. 1979. The ethnobotany of *Brugmansia*. *Journal of Ethnopharmacology* 1: 147-164.

Lu An-Ming. 1986. Solanaceae in China. En: D'Arcy, W. G. (Ed.). *Solanaceae: Biology and Systematics*. Columbia University Press. New York. pp. 79-85.



Luna-Cavazos M., M. Jiao, R. Bye. 2000. Phenetic análisis of *Datura* section *Dutra* (Solanaceae) in Mexico. *Botanical Journal of the Linnean Society* 133: 493-507.

Mace, E.S., C.G. Gebhardt y R. N. Lester. 1999. AFLP analysis of genetic relationships in the tribe *Datureae* (Solanaceae). *Theoretical Applied Genetics* 99: 634-641.

Maldonado, S. y J. Lott. 1990. Protein bodies in *Datura stramonium* seeds: structure and mineral nutrient composition. *Canadian Journal of Botany* 69: 2545-2554.

Marshall D.L., A.J. Beattie y W.E. Bollenbacher. 1979. Evidence for diglycerides as attractants in ant-seed interaction. *Journal Chemical Ecology* 5: 335-344.

Martínez, M. 1969. Las plantas medicinales de México. 5ª Ed. México. Ed. Botas. 656 p.

Mata, R.E. 1987. Curso teórico de farmacognosia. Material didáctico. UNAM. Facultad de Química. 255 pp.

Matuda, E. 1952. El género *Datura* en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 14: 1-13.

Mauseth, J. 1988. Plant anatomy. Benjamin Cummings. California. 506 p.

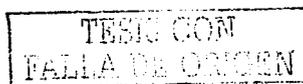
Nickerson, D. 1957. Nickerson Color Fan. Maximum Chrom 40 Hues. Munsell Color Company. Baltimore 2, Maryland.

O'Dowd D.J. y M.E. Hay. 1980. Mutualism between harvester ants and a desert ephemeral: Seed escape from rodents. *Ecology* 61:531:540.

Persoon, C.H. 1805. Synopsis Plantarum C.F. Cramer, Paris. 1: 216-217.

Persson, V., S. Knapp y S. Blackmore. 1999. Pollen morphology and the phylogenetic analysis of *Datura* L. and *Brugmansia* Pears. En: Nee M., D.E. Symon, R. N. Lester and J. P. Jessop (editors). Solanaceae IV. Royal Botanic Garden, Kew. 171-187.

Planchon, G. y E. Collin. 1895. Les Drogues Simples d'Origine Vegetable. Vol. 1 octave Doin. Paris.



Radford, A.E., W.C. Dickison, J.R. Massey y C.R. Bell. 1974. Vascular Plant Systematics. Harper and Row, Publishers. New York. 891 p.

Rohlf, J.F. 1993. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 1.80. Exeter Software. New York. 223 p.

Reisman-Berman, O., J. Kigel y B. Rubin. 1989. Short soaking in water inhibits germination of *Datura ferox* L. and *Datura stramonium* L. seeds. *Weed Research*. 29: 359-363.

Rzedowski, J. 1993. Diversity and Origins of the Phanerogamic Flora of Mexico. En: Ramamoorthy T.P., R. Bye, A. Lot y J. Fa (Eds.). Biological diversity of Mexico. Origins and distribution. Oxford University Press. New York. pp. 129-144.

Safford, W.E. 1921. Synopsis of the genus *Datura*. *Journal of the Washington Academy of Sciences* 11: 173-189.

Safford, W.E. 1922. *Datura* of the Old World and New World. Smithsonian Institution. *Annual Report* 18: 245-272.

Sanders, M.E. y P.R. Burkholder. 1948. Influence of amino acids on growth of *Datura* embryos in culture. *Proceedings of the National Academy of Science* 34: 516-526.

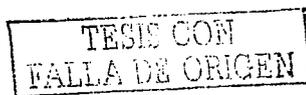
Satina, S. 1959. Sporophytes and Gametophytes. En: Avery A.G., S. Satina y J. Rietsema (Eds.). Blakeslee: The genus *Datura*. Ronald Press Company. New York. pp. 168-180.

Satina, S., y A.G. Avery. 1959. A review of the taxonomic history of *Datura*. En: Avery A.G., S. Satina y J. Rietsema (Eds.). Blakeslee: The genus *Datura*. Ronald Press Company. New York. pp. 16-47.

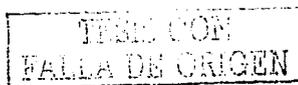
Satina, S., y J. Rietsema. 1959. Seed Development. En: Avery A.G., S. Satina y J. Rietsema (Eds.). Blakeslee: The genus *Datura*. Ronald Press Company. New York. pp. 181-195.

Schultes, R.E. y A. Hofmann. 1980. The botany and chemistry of hallucinogens. 2ª Ed. Publisher Charles C. Thomas. U.S.A. pp. 283-288.

Sneath, P.H. y R.R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman & Co. San Francisco. 573 p.



- Sokal, R.R. y P.H. Sneath.** 1963. Principles of numerical taxonomy. W.H. Freeman & Co. San Francisco. 359 p.
- Soria, J. y C.B. Heiser.** 1961. A statistical study of relationships of certain species of the *Solanum nigrum* complex. *Economic Botany* 15: 245-255.
- Souegès, R.** 1907. Développement et structure du tégument séminal chez les Solanacées. *Annales des Sciences Natureles, Series 9, Botanique* 6: 1-124.
- Souegès, R.** 1922. Recherches sur l'embriogénie des Solanacées. *Bulletin de la Société Botanique de France* 69: 163-178, 236-241, 352-365, 555-585.
- Stuessy, T.F.** 1990. Plant Taxonomy. The systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press. New York. 514 p.
- Suárez-Ramos, G. y E.M. Engleman.** 1980. Depósito de taninos en la testa de *Amaranthus hypocondriacus* L. (alegría). *Agrociencia* 42: 35-50.
- Symon, D.E. y L.A.R. Haegi.** 1991. *Datura*. (Solanaceae) is a New World genus. En: Hawkes J.G., R.N. Lester, M. Nee y M. Estrada (Eds.). *Solanaceae III: Taxonomy, chemistry, evolution*. Royal Botanic Garden Kew and Linnean Society of London. pp. 197-210.
- Timmerman, H.A.** 1927. *Stramonium* and other species of *Datura*: a comparative study of the structure of their seeds. *Pharmaceutical Journal and Pharmacist* 118: 742-746.
- Vaughan, J.G.** 1970. The structure and utilization of oil seeds. Chapman and Hall. London. 274 p.
- Weaver, S.E. y S.I. Warwick.** 1984. The biology of Canadian weeds. *Datura stramonium* L. *Canadian Journal Plant Science* 64: 979-991.
- Wellendorf, M.** 1962. The morphology and histology of seeds of *Datura cornigera* Hook. *Journal Pharmacy Pharmacology* 14: 157-160.
- Xiqués X., V. Fuentes, L. Lera, J. Sánchez, M.T. Cornide, H. Lima y M. Alvarez.** 1986. Análisis multivariado en híbridos y progenitores del género *Datura* L. *Revista del Jardín Botánico Nacional* 7: 81-92.



ANEXO-I

**Matriz Básica de Datos. Análisis de semillas de *Datura*
y *Brugmansia sanguinea*.**

Hileras = caracteres, Columnas = OTUs.

| | DH | DQ | DS | DD | DI | DK | DL | DM | DP | DR | DW | DC | BS |
|----|-------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 3.85 | 3.91 | 3.52 | 3.46 | 4.96 | 4.45 | 4.69 | 4.77 | 3.13 | 5.80 | 4.50 | 4.51 | 8.10 |
| 2 | 3.23 | 3.18 | 2.75 | 3.08 | 4.05 | 3.87 | 3.75 | 3.72 | 2.22 | 4.41 | 3.33 | 3.34 | 5.10 |
| 3 | 1.48 | 1.35 | 1.08 | 1.34 | 1.12 | 1.37 | 1.05 | 1.26 | 0.81 | 1.80 | 1.19 | 1.34 | 2.00 |
| 4 | 1.63 | 1.48 | 1.28 | 1.41 | 1.18 | 1.65 | 1.08 | 1.10 | 0.92 | 1.80 | 1.23 | 1.50 | 1.84 |
| 5 | 12.08 | 9.44 | 6.38 | 9.20 | 14.30 | 11.00 | 10.66 | 14.04 | 3.46 | 20.44 | 11.10 | 7.90 | 34.84 |
| 6 | 1.87 | 2.10 | 1.53 | 1.44 | 2.31 | 2.09 | 2.19 | 2.53 | 1.62 | 3.32 | 2.14 | 3.03 | 3.62 |
| 7 | 210 | 220 | 210 | 250 | 200 | 245 | 225 | 215 | 220 | 190 | 210 | 200 | 110 |
| 8 | 70 | 80 | 100 | 60 | 75 | 55 | 60 | 50 | 40 | 70 | 40 | 85 | 140 |
| 9 | 0.84 | 0.81 | 0.77 | 0.89 | 0.82 | 0.87 | 0.80 | 0.78 | 0.71 | 0.76 | 0.74 | 0.74 | 0.63 |
| 10 | 0.49 | 0.54 | 0.43 | 0.42 | 0.47 | 0.47 | 0.47 | 0.53 | 0.52 | 0.57 | 0.48 | 0.67 | 0.45 |
| 11 | 1.51 | 1.36 | 1.54 | 1.73 | 2.22 | 1.55 | 1.68 | 2.53 | 2.65 | 1.99 | 2.20 | 15.00 | 0.97 |
| 12 | 1.24 | 1.49 | 0.99 | 0.83 | 1.04 | 1.35 | 1.30 | 0.98 | 0.61 | 1.68 | 0.99 | 0.18 | 3.94 |
| 13 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 14 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 16 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 2 | 2 | 0 | 3 |
| 18 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 20 | 3 | 3 | 3 | 3 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 4 | 0 |
| 21 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 22 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 23 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| 24 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 25 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 28 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 29 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| 31 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 32 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 |
| 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 2 | 3 | 1 | 2 | 0 | 1 |
| 34 | 3 | 3 | 4 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 1 | 0 |
| 35 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 3 | 2 | 1 | 3 | 2 | 3 | 1 | 0 |
| 36 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 37 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 38 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| 39 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 |

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO II

Caracteres cuantitativos de semillas maduras de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*.
Intervalos mínimo-máximo y promedio (en negritas). *D. q x s* = *D. quercifolia* x *D. stramonium* y TH = taza del hilo.

| No. Carácter | 1 Largo mm N = 50 | 2 Ancho mm N = 50 | 3 Grosor dorsal mm N = 20 | 4 Grosor en hilo mm N = 20 | 5 Peso mg N = 50 | 6 Largo de la taza del hilo mm N = 20 |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------------|----------------------------------|------------------------|---|
| <i>D. q x s</i> | 3.50 - 3.85 - 4.60 | 3.00 - 3.23 - 3.50 | 1.32 - 1.48 - 1.70 | 1.48 - 1.63 - 1.74 | 12.08 | 1.60 - 1.87 - 2.20 |
| <i>D. quercifolia</i> | 3.40 - 3.91 - 4.50 | 2.75 - 3.18 - 3.50 | 1.12 - 1.35 - 1.51 | 1.30 - 1.48 - 1.56 | 9.44 | 1.60 - 2.10 - 2.30 |
| <i>D. stramonium</i> | 2.72 - 3.52 - 3.90 | 2.27 - 2.75 - 3.00 | 0.90 - 1.08 - 1.25 | 1.06 - 1.28 - 1.44 | 6.38 | 1.20 - 1.53 - 1.80 |
| <i>D. discolor</i> | 3.20 - 3.46 - 3.90 | 2.80 - 3.08 - 3.58 | 1.19 - 1.34 - 1.45 | 1.32 - 1.41 - 1.46 | 9.20 | 1.30 - 1.44 - 1.80 |
| <i>D. innoxia</i> | 4.30 - 4.96 - 5.20 | 3.30 - 4.05 - 4.20 | 1.00 - 1.12 - 1.34 | 1.16 - 1.18 - 1.24 | 14.30 | 1.60 - 2.31 - 2.49 |
| <i>D. kymatocarpa</i> | 4.00 - 4.45 - 5.10 | 3.32 - 3.87 - 4.50 | 1.04 - 1.37 - 1.63 | 1.49 - 1.65 - 1.49 | 11.00 | 1.83 - 2.09 - 2.49 |
| <i>D. lanosa</i> | 4.10 - 4.69 - 5.30 | 3.46 - 3.75 - 4.10 | 0.95 - 1.05 - 1.15 | 1.03 - 1.08 - 1.17 | 10.66 | 1.10 - 2.19 - 2.60 |
| <i>D. metel</i> | 4.10 - 4.77 - 5.10 | 3.30 - 3.72 - 4.37 | 1.05 - 1.26 - 1.46 | 1.03 - 1.10 - 1.26 | 14.04 | 1.83 - 2.53 - 2.49 |
| <i>D. pruinosa</i> | 2.80 - 3.13 - 3.50 | 1.93 - 2.22 - 2.50 | 0.65 - 0.81 - 0.91 | 0.79 - 0.92 - 1.01 | 3.46 | 1.60 - 1.62 - 2.00 |
| <i>D. reburra</i> | 5.40 - 5.80 - 6.50 | 3.84 - 4.41 - 4.70 | 1.64 - 1.80 - 2.05 | 1.59 - 1.80 - 2.07 | 20.44 | 2.90 - 3.32 - 3.50 |
| <i>D. wrightii</i> | 3.65 - 4.50 - 5.70 | 2.80 - 3.33 - 4.60 | 1.09 - 1.19 - 1.29 | 1.13 - 1.23 - 1.30 | 11.10 | 1.83 - 2.14 - 2.49 |
| <i>D. ceratocaula</i> | 3.65 - 4.51 - 5.20 | 2.98 - 3.34 - 3.80 | 1.23 - 1.34 - 1.54 | 1.23 - 1.50 - 1.68 | 7.90 | 2.80 - 3.03 - 3.16 |
| <i>B. sanguinea</i> | 7.11 - 8.10 - 9.50 | 3.80 - 5.10 - 5.25 | 1.68 - 2.00 - 2.50 | 1.57 - 1.84 - 2.56 | 34.84 | 1.50 - 3.62 - 5.00 |

| No. Carácter | 7 Angulo taza hilo/giba (°) | 8 Angulo taza hilo/micrópilo (°) | 9 Razón ancho/largo sem. N = 50 | 10 Razón largo hilo/semilla mm N = 20 | 11 Razón TH largo/ancho mm N = 20 | 12 Ancho taza del hilo mm N = 20 |
|-----------------------|-----------------------------------|--|---------------------------------------|---|---|--|
| <i>D. q x s</i> | 210 | 70 | 0.84 | 0.49 | 1.51 | 1.24 |
| <i>D. quercifolia</i> | 220 | 80 | 0.81 | 0.54 | 1.36 | 1.49 |
| <i>D. stramonium</i> | 210 | 100 | 0.77 | 0.43 | 1.54 | 0.99 |
| <i>D. discolor</i> | 250 | 60 | 0.89 | 0.42 | 1.73 | 0.83 |
| <i>D. innoxia</i> | 200 | 75 | 0.82 | 0.47 | 2.22 | 1.04 |
| <i>D. kymatocarpa</i> | 245 | 55 | 0.87 | 0.47 | 1.55 | 1.35 |
| <i>D. lanosa</i> | 225 | 60 | 0.80 | 0.47 | 1.68 | 1.30 |
| <i>D. metel</i> | 215 | 50 | 0.78 | 0.53 | 2.53 | 0.98 |
| <i>D. pruinosa</i> | 220 | 40 | 0.71 | 0.52 | 2.65 | 0.61 |
| <i>D. reburra</i> | 190 | 70 | 0.76 | 0.57 | 1.99 | 1.68 |
| <i>D. wrightii</i> | 210 | 40 | 0.74 | 0.48 | 2.20 | 0.99 |
| <i>D. ceratocaula</i> | 200 | 85 | 0.74 | 0.67 | 15.00 | 0.18 |
| <i>B. sanguinea</i> | 110 | 140 | 0.63 | 0.45 | 0.97 | 3.94 |

TRES
 FALLA DE
 N. 118

ANEXO III

Caracteres cualitativos de semillas de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguinea*. * no tienen carúncula

| Género especie | <i>Datura quercifolia x stramonium</i> | <i>Datura quercifolia</i> | <i>Datura stramonium</i> | <i>Datura discolor</i> | <i>Datura innoxia</i> | <i>Datura kymatocarpa</i> |
|---|--|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Carácter | | | | | | |
| 13 Forma | ampliamente comprimida obovada | ampliamente comprimida obovada | ampliamente comprimida obovada | ampliamente comprimida obovada | ampliamente comprimida obovada | ampliamente comprimida obovada |
| 14 Color | negra | negra | negra | negra | parda | parda |
| 15 Giba | presente | ausente | presente | ausente | presente | presente |
| 16 Depresión lateral | presente | presente | ausente | presente | presente | presente |
| 17 Lóbulos | ausentes | ausente | ausente | ausentes | 3 bien definidos | 3 poco definidos |
| 18 Superficie con retículo | presente | presente | presente | presente | ausente | ausente |
| 19 Superficie con proyecciones | ausente | ausente | ausente | ausentes | ausente | presente |
| 20 Forma de la taza del hilo | triangular | triangular | triangular | triangular | elíptica | ovada |
| 21 Reborde de taza del hilo | cerrado | cerrado | cerrado | cerrado | abierto | abierto |
| 22 Abertura de taza del hilo | ancha | ancha | ancha | angosta | ancha | ancha |
| 23 Curvatura taza del hilo | S cerrada | S cerrada | S cerrada | S cerrada | abierta | abierta |
| 24 Reborde engrosado | extendido | extendido | extendido | corto | ausente | corto |
| 25 Proluberancias más bajas | presentes | presentes | presentes | presentes | ausentes | presentes |
| 26 Tamaño surco micropilar | corto | corto | corto | corto | largo | largo |
| 27 Pliegue micropilar | ausente | ausente | ausente | ausentes | ausente | ausente |
| 28 Proyección de taza del hilo | ausente | ausente | ausente | ausente | ausente | ausente |
| 29 Carúncula | ausente | ausente | ausente | presente | presente | presente |
| 30 Forma de carúncula seca | * | * | * | deprimida obovada | deprimida obovada | laminar |
| 31 Persistencia de carúncula | * | * | * | persistente | caediza | persistente |
| 32 Consistencia de carúncula | * | * | * | frágil | frágil | frágil |
| 33 Abundancia de aceite | escasa | escasa | escasa | escasa | muy abundantes | escasa |
| 34 Arena cristalina | abundante | abundante | frecuente | muy abundante | frecuente | ausente |
| 35 Abundancia de almidón | frecuente | frecuente | escasa | escasa | abundante | muy abundante |
| 36 Presencia de proteínas | frecuente | frecuente | frecuente | abundante | abundante | frecuente |
| 37 Grosor de pared periclinal externa de esclereidas | gruesa | gruesa | gruesa | gruesa | gruesa | gruesa |
| 38 Lumen de esclereidas | estrecho | estrecho | estrecho | estrecho | amplio | amplio |
| 39 No. de estratos en mesotesta | 2 a 3 | 4 | 0 a 3 | 4 | 3 | 1 a 4 |

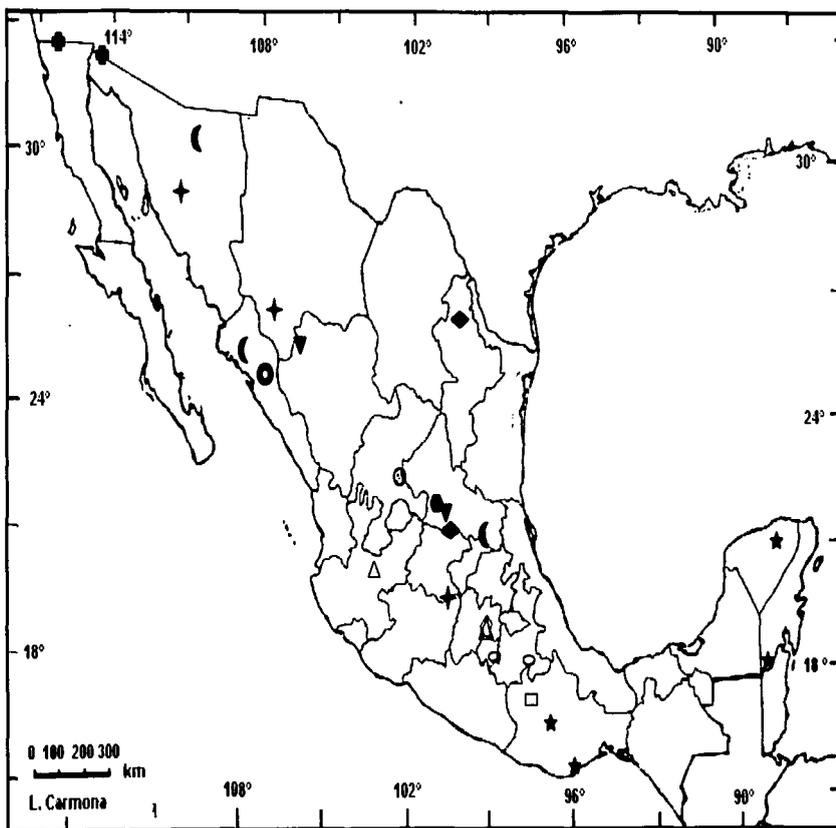
TESIS COM.
 FALTA DE CUBIERTA

CONTINUACIÓN ANEXO III

Caracteres cualitativos de semillas de *Datura sensu stricto* y *Brugmansia sanguin* * no tienen carúncula

| Género especie | <i>Datura lanosa</i> | <i>Datura metel</i> | <i>Datura pruinosa</i> | <i>Datura reburra</i> | <i>Datura wrightii</i> | <i>Datura ceratocaula</i> | <i>Brugmansia sanguinea</i> |
|--|--------------------------------|--------------------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Carácter | | | | | | | |
| 13 Forma | ampliamente comprimida obovada | ampliamente comprimida obovada | comprimida obovada | ampliamente comprimida obovada | comprimida obovada | comprimida obovada | comprimida obovada |
| 14 Color | parda | parda | parda | negra | parda | parda | parda |
| 15 Giba | presente | presente | presente | presente | ausente | ausente | presente |
| 16 Depresión lateral | presente | presente | presente | presente | presente | presente | ausente |
| 17 Lóbulos | 3 bien definidos | 3 poco definidos | ausentes | 3 bien definidos | 3 bien definidos | ausentes | hasta 7 |
| 18 Superficie con retículo | ausente | ausente | presente | ausente | ausente | ausente | ausente |
| 19 Superficie con proyecciones | ausente | ausente | ausentes | ausente | ausente | presente | ausente |
| 20 Forma de la taza del hilo | ovada | elíptica | elíptica | ovada | elíptica | linear | irregular |
| 21 Borde de taza del hilo | abierto | abierto | abierto | abierto | abierto | cerrado | abierto |
| 22 Abertura de taza del hilo | ancha | ancha | ancha | ancha | ancha | angosta | ancha |
| 23 Curvatura taza del hilo | abierta | abierta | abierta | recta | abierta | recta | recta |
| 24 Borde engrosado | extendido | ausente | ausente | extendido | corto | ausente | corto |
| 25 Protuberancias más bajas | ausentes | ausentes | ausentes | ausentes | ausentes | ausentes | presentes |
| 26 Tamaño surco micropilar | largo | largo | largo | largo | largo | ausente | largo |
| 27 Plegue micropilar | ausente | ausente | ausentes | ausente | ausente | presente | ausente |
| 28 Proyección de taza del hilo | ausente | ausente | presente | ausente | ausente | ausente | presente |
| 29 Carúncula | presente | presente | presente | presente | presente | presente | ausente |
| 30 Forma de carúncula seca | deprimida obovada | deprimida obovada | deprimida obovada | deprimida obovada | deprimida obovada | deprimida obovada | * |
| 31 Persistencia de carúncula | caediza | caediza | persistente | caediza | caediza | persistente | * |
| 32 Consistencia de carúncula | frágil | frágil | frágil | frágil | frágil | resistente | * |
| 33 Abundancia de aceite | escasa | abundante | muy abundante | frecuente | abundante | escasa | escasa |
| 34 Arena cristalina | ausente | ausente | escasa | abundante | escasa | escasa | escasa |
| 35 Abundancia de almidón | abundante | frecuente | muy abundante | abundante | muy abundante | frecuente | escasa |
| 36 Presencia de proteínas | frecuente | frecuente | frecuente | frecuente | frecuente | escasa | escasa |
| 37 Grosor de pared periclinal externa de esclereidas | gruesa | gruesa | gruesa | gruesa | gruesa | delgada | delgada |
| 38 Lumen de esclereidas | amplio | amplio | amplio | amplio | amplio | amplio | grande |
| 39 No. de estratos en mesostea | 4 | 2 | 3 | 1 a 2 | 2 a 3 | 3 | 10 a 20 |

TESIS CON
 FALTA DE ORIGEN



APENDICE IV. Mapa de la colectas en México de las semillas de *Datura sensu stricto*.

- *D. ceratocaula* ☾ *D. discolor* ◆ *D. inoxia* □ *D. kymatocarpa* † *D. lanosa* ★ *D. metel*
 ◌ *D. pruinosa* ▼ *D. quercifolia* ● *D. reburra* △ *D. stramonium* ● *D. wrightii*
 ● *D. Quercifolia X D. stramonium*