



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

PROPAGACIÓN SEXUAL DE CUACHALALATE
(*Amphipterygium adstringens*), ESPECIE DE USO MEDICINAL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

KARLA SUSANA CID DE LA TORRE

DRA. ALICIA ENRIQUETA BRECHÚ FRANCO

2008





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de Datos del Jurado

Formato	Ejemplo
1. Datos del alumno Apellido paterno Apellido materno Nombre(s) Teléfono Universidad Nacional Autonoma de Mexico Facultad de Ciencias Carrera Número de cuenta	1. Datos del alumno Cid de la Torre Karla Susana 55 54 90 36 Universidad Nacional Autonoma de Mexico Facultad de Ciencias Biología 404051350
2. Datos del tutor Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	2. Datos del tutor Dra Alicia Enriqueta Brechú Franco
3. Datos del sinodal 1 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	3. Datos del sinodal 1 Dr Guillermo Laguna Hernández
4. Datos del sinodal 2 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	4. Datos del sinodal 2 Dr Angel Villegas Monter
5. Datos del sinodal 3 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	5. Datos del sinodal 3 M en C Armando Gómez Campos
6. Datos del sinodal 4 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	6. Datos del sinodal 4 M en C Ela Alcántara Flores
7. Datos del trabajo escrito. Título Número de páginas Año	7. Datos del trabajo escrito Propagación Sexual de Cuachalalate (Amphipterygium adstringens), especie de uso medicinal. 91 p 2008

La presente tesis se realizó en el laboratorio de Estructura y Fisiología de Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM, con la Dirección de la Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco, con el apoyo del Proyecto CONAFOR 41828 y sustentada ante el siguiente jurado:

Dr. Angel Villegas Monter

Dr. Guillermo Laguna Hernández

Dra. Alicia E. Brechú Franco

M. en C. Armando Gómez Campos

M. en C. Ela Alcántara Flores

Agradecimientos al CONAFOR

Se agradece al Consejo Nacional Forestal (CONAFOR) el apoyo para la realización del trabajo de investigación y con ello la elaboración de la presente tesis, que está incluida en el proyecto CONAFOR 41828 “Propagación de Especies Medicinales Explotadas en los Municipios Leonardo Bravo y Eduardo Neri en el Estado de Guerrero para el Establecimiento de Plantaciones Semicomerciales”. Las plantas derivadas de esta investigación se trasplantaron en Xochipala, Guerrero.

Dedicatoria

A mi familia: Papá, Mamá, Rodrigo y Jimena con todo mi cariño y esfuerzo.

A mis abuelos Pepe, Blanca y Chela por confiar en mi.

A mis amigos Tania Villarreal, Jorge Ivan por su incondicional apoyo

Agradecimientos

A la Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco por la dirección de este trabajo, así como por su amistad, enseñanzas y continuo apoyo.

Al Dr. Ángel Villegas Monter por sus enseñanzas, apoyo, amistad y ayuda en el laboratorio de Fruticultura del Colegio de Posgraduados.

Al Técnico Académico Guillermo Arellano por su apoyo y asesoría en el laboratorio de Fruticultura del Colegio de Posgraduados.

Al M. en C. Armando Gómez Campos, por compartir su conocimiento para este trabajo.

A la M. en C. Ela Alcántara Flores por sus consejos, conocimientos y sincera amistad.

Al Dr. Guillermo Laguna Hernández por su apoyo y asesoría.

A los integrantes del Jurado por enriquecer este trabajo con sus valiosas observaciones y sugerencias.

A la Dra. Helia Reyna Osuna Fernández por sus enseñanzas y sugerencias.

A la Dra. Martha Martínez Gordillo y al M. en C. Ramiro Cruz Durán por su ayuda y disponibilidad en el Herbario Nacional de la Facultad de Ciencias

A Don Gabriel Heredia y Don Fidel Heredia por su valioso apoyo como guías en Xochipala, Guerrero.

A mis amigos, P. de biol. Adriana Lizzette Luna Nieves, P. de biol. Jorge Iván Castillo Arellano, P. de biol. Tania Villarreal Barajas, Enrique Macias Martínez, P. de biol. Patricia

Pérez Belmont, P. de biol. Erika Guerra Flores, P. de biol. David Ortíz Salgado, P. de biol. Eliud Rodríguez, P. de biol. Carlos Omar Becerra Soria, P. de biol. Beatriz Eugenia González, Yvette Lelorier, María Fernanda Olvera, Rafael Shin, Juan Carlos Lombardo, María José Obregón Treviño, Valery Madero Mabama, Patricia Medina García-Diego, Valentina Olvera Lara, Hortensia Sierra, Elenita, Feli y Emmanuel, por su apoyo en todo momento.

CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS

- 1.0. RESUMEN
- 2.0. INTRODUCCIÓN
- 3.0. OBJETIVOS: GENERAL Y PARTICULARES
- 4.0. ANTECEDENTES
 - 4.1. Partenocarpia
 - 4.2. Germinación
 - 4.3. Viabilidad
 - 4.4. Latencia
 - 4.5. Efecto de los tratamientos
 - 4.5.1. Frutos completos y semillas aisladas
 - 4.5.2. Imbibición
 - 4.5.3. Temperatura
 - 4.5.4. Ácido giberélico
 - 4.5.5. Almacenamiento: ambiente y refrigeración
 - 4.6. Familia Julianiaceae: *Amphipterygium adstringens*
 - 4.6.1. Características generales
 - 4.6.2. Ubicación taxonómica (Cronquist, 1981)
 - 4.6.3. Descripción Botánica Específica (Pennington y Sarukhan, 1968)
 - 4.6.4. Descripción de la diáspora (Fruto) y semilla
 - 4.6.5. Distribución
 - 4.6.6. Importancia económica y aspectos generales
 - 4.6.7. Investigaciones realizadas
- 5.0. MATERIAL Y MÉTODO

- 5.1. Sitio y fecha de colecta
- 5.2. Sitio de trabajo
- 5.3. Material vegetal
- 5.4. Planeación de los experimentos
- 5.5. Experimento 1: Determinación de número de semillas por fruto y viabilidad
 - 5.5.1. Diseño experimental: localización de semillas por lóculos y cantidad en frutos
 - 5.5.2. Variables evaluadas
 - 5.5.3. Conducción del experimento
 - 5.5.4. Análisis de datos
 - 5.5.5. Diseño experimental: pruebas de viabilidad
 - 5.5.6. Variables evaluadas
 - 5.5.7. Conducción del experimento
 - 5.5.8. Análisis de datos
- 5.6. Experimento de germinación
 - 5.6.1. Sustrato
- 5.7. Experimento 2: Germinación de semillas en frutos completos y lóculos con 0, 3, 6 y 9 horas de imbibición
 - 5.7.1. Diseño experimental
 - 5.7.2. Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales
 - 5.7.3. Variables evaluadas
 - 5.7.4. Conducción del experimento
 - 5.7.5. Análisis de datos

- 5.8. Experimento 3: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate a 10 tiempos de imbibición desde 30 min. hasta 48 horas (2280 min.).
 - 5.8.1. Diseño experimental
 - 5.8.2. Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales
 - 5.8.3. Variables evaluadas
 - 5.8.4. Conducción del experimento
 - 5.8.5. Análisis de datos
- 5.9. Experimento 4: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate a 3 temperaturas de imbibición con 5 tiempos de exposición y el testigo.
 - 5.9.1. Diseño experimental
 - 5.9.2. Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales
 - 5.9.3. Variables evaluadas
 - 5.9.4. Conducción del experimento
 - 5.9.5. Análisis de datos
- 5.10. Experimento 5: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por dos horas en agua, tres concentraciones de ácido giberélico y el testigo.
 - 5.10.1. Diseño experimental
 - 5.10.2. Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales
 - 5.10.3. Variables evaluadas
 - 5.10.4. Conducción del experimento
 - 5.10.5. Análisis de datos

- 5.11. Experimento 6: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por dos horas en agua, tres concentraciones de ácido giberélico, con pH ajustado y el testigo.
 - 5.11.1. Diseño experimental
 - 5.11.2. Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales
 - 5.11.3. Variables evaluadas
 - 5.11.4. Conducción del experimento
 - 5.11.5. Análisis de datos

6.0. RESULTADOS

- 6.1. Experimento 1: Determinación de número de semillas por fruto y viabilidad
- 6.2. Experimento 2: Germinación de semillas en frutos completos y lóculos con 0, 3, 6 y 9 horas de imbibición
- 6.3. Experimento 3: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate a 10 tiempos de imbibición desde 30 min. hasta 48 horas (2280 min.).
- 6.4. Experimento 4: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate a 3 temperaturas de imbibición con 5 tiempos de exposición y el testigo
- 6.5. Experimento 5: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por dos horas en agua, tres concentraciones de ácido giberélico y el testigo.
- 6.6. Experimento 6: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por dos horas en agua, tres concentraciones de ácido giberélico, con pH ajustado y el testigo.

7.0. DISCUSION

7.1. Anatomía

7.2. Viabilidad

7.3. Latencia

7.4. Germinación

7.4.1. Frutos y lóculos e imbibición durante cuatro tiempos

7.4.2. Efecto del tiempo de imbibición en la germinación

7.4.3. Imbibición a altas temperaturas

7.4.4. Almacenamiento y ácido giberélico

8.0. CONCLUSIONES

8.1. Anatomía

8.2. Viabilidad

8.3. Latencia

8.4. Germinación

9.0. REFERENCIAS

INDICE DE FIGURAS

1. Corte transversal del fruto de Cuachalalate, colectado en Xochipala, Gro. para conteo de lóculos y semillas. El lóculo ubicado a la derecha corresponde al lóculo 1 y así sucesivamente.
2. Distribución de frutos de Cuachalalate en las macetas de siembra
3. Distribución de los lóculos centrales de Cuachalalate en las macetas de siembra.
4. Porcentaje de frutos de Cuachalalate con 2, 3 y 4 lóculos. Colectados en Xochipala, Gro. $N_{total} = 200$ frutos, media de 20 observaciones.
5. Porcentaje de frutos de Cuachalalate, con 0, 1, 2 y 3 semillas. Colectados en Xochipala, Gro. $N_{total} = 200$ frutos, media de 20 observaciones.
6. Número de semillas observadas por repetición de 20 frutos de Cuachalalate, colectados en Xochipala, Gro. $N_{total} = 200$ frutos, media de 20 observaciones.
7. Frecuencia de semillas en relación con la posición del lóculo en 200 frutos de Cuachalalate, colectados en Xochipala, Gro. $N_{total} = 200$ frutos, media de 20 observaciones.
8. Evaluación de semillas viables con TTC al 5% durante 12 horas, en frutos de Cuachalalate, colectados en Xochipala, Gro.
9. Porcentaje de viabilidad en semillas de Cuachalalate tratadas con Tricloruro de Tetrazolio al 5% durante 12 horas. Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 100$ frutos, media de 20 observaciones
10. Peso promedio (g) de frutos de Cuachalalate embebidos por 0, 3, 6 y 9 hrs. Colectados en Xochipala, Gro. $N_{total} = 400$, media de 100 observaciones. Edad: 4 días respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 18 de enero de 2006.
11. Dinámica de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate expuestas a 0, 3, 6, y 9 hrs de imbibición. Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 400$, media de 100

- observaciones, repeticiones de 10 frutos para cada uno de los 4 tratamientos. Edad: 4 días respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 18 de enero de 2006.
12. Dinámica de Germinación de semillas en lóculos de Cuachalalate expuestas a 0, 3, 6, y 9 hrs de imbibición. Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 200$, media de 50 observaciones. Edad: 4 días respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 18 de enero de 2006.
 13. Dinámica de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate embebidas por 10 tiempos, colectadas en Xochipala, Gro., $N_{total} = 500$, media de 50 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.
 14. Porcentaje de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate con 10 tiempos de imbibición, colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 500$, media de 50 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.
 15. Peso promedio (g) para grupos de 20 frutos de Cuachalalate, expuestos a 10 tiempos de imbibición y el testigo (50 frutos por tratamiento), colectados en Xochipala Gro. $N_{total} = 550$, media de 50 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.
 16. Dinámica de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate, colectadas en Xochipala, Gro., con cinco tiempos de imbibición y el testigo (0=testigo, 1=10 min, 2=20 min, 3=40 min, 4=80 min, 5=160 min) a 2 temperaturas (25°C y 60°C). $N_{total} = 640$ frutos, media de 40 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.
 17. Porcentaje de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate, con cinco tiempos de imbibición y el testigo 25°C (0=testigo, 1=10 min, 2=20 min, 3=40 min, 4=80

min, 5=160 min) a 2 temperaturas (25°C y 60°C), colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 640$ frutos, media de 40 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.

18. Dinámica de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, expuestas a 5 tratamientos durante 2 horas de imbibición (agua, solución de AG_3 [0.01M, 0.001M y 0.0001M] y el testigo). Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 500$ frutos, media de 50 observaciones. Edad: 4 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de mayo de 2006.
19. Porcentaje de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por 2 horas en 5 condiciones (agua, solución de AG_3 [0.01M, 0.001M y 0.0001M] y el testigo). Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 500$ frutos, media de 50 observaciones. Edad: 4 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de mayo de 2006.
20. Número de plantas obtenidas a partir de la germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas durante 2 horas en 5 tratamientos (agua, solución de AG_3 [0.01M, 0.001M y 0.0001M] ajustado a pH5 y el testigo). Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 500$ frutos, media de 50 observaciones. Edad: 7 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 21 de agosto de 2006.
21. Porcentaje de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, con 5 tratamientos por 2 horas de imbibición (agua, solución de AG_3 [0.01M, 0.001M y 0.0001M] ajustados a pH 5 y el testigo). Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 500$ frutos, media de 50

observaciones. Edad: 7 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 21 de agosto de 2006.

22. Corte sagital de fruto de Cuachalalate que muestra óvulo hemítropo y unitegumentado.
23. Embrión de Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*)

Propagación sexual del Cuachalalate**(*Amphipterygium adstringens*), especie de uso medicinal**

El Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*, Julianiaceae) es un árbol endémico de México reconocido en la herbolaria como una de las especies de mayor uso tradicional. Su corteza se comercializa en varias entidades del país para tratar más de 30 enfermedades diferentes, entre las que destacan: úlceras, gastritis, cáncer de estómago y lesiones cutáneas. El descortezamiento intensivo de esta especie destruye tejidos vitales del árbol provocándole la muerte y disminución de poblaciones naturales. El objetivo de esta investigación fue determinar los factores intrínsecos de las semillas y del ambiente que favorecen la germinación de *A. adstringens*. Se realizó un estudio anatómico preliminar de frutos en etapas tempranas de desarrollo donde se encontró un óvulo hemítropo y unitérmico. El análisis de frutos maduros mostró la presencia de dos a cuatro lóculos. El 50% de los frutos fue partenocárpico y el resto presentó de una a dos semillas con mayor frecuencia en el lóculo dos. La evaluación de la viabilidad con la prueba de tetrazolio fue variable, en promedio de 31%. Se evaluó el efecto de diferentes tiempos de imbibición en la germinación de semillas, los mejores resultados se obtuvieron con dos horas de imbibición. La aplicación de altas temperaturas (60° y 80°C) no mejoraron la germinación. El almacenamiento a temperatura ambiente mostró mejores resultados que en refrigeración. La exposición a tres concentraciones de ácido giberélico (0.01M, 0.001M y 0.0001M) no incrementaron el porcentaje de germinación. Los resultados de esta investigación permiten abordar de manera objetiva la propagación sexual de *A. adstringens* en su ambiente natural, selva baja caducifolia.

2.0.

INTRODUCCIÓN

Actualmente se sabe que aproximadamente 1500 millones de personas recurren a medicinas y terapias tradicionales, de las cuales 95 por ciento son de origen vegetal (Hersch, 1996).

En México, la práctica del uso de las plantas medicinales aún es vigente, y día con día adquiere mayor fuerza, debido a la pobreza y a la poca disponibilidad de servicios médicos en comunidades rurales. Ya que México tiene grandes problemas de deterioro ambiental, esta práctica es ampliamente utilizada por los habitantes y es por esto que el conocimiento del uso tradicional de plantas medicinales debe ser revalorizado (Monroy, Castillo, 2000)

Las plantas de uso medicinal casi no se cultivan en nuestro país; su origen silvestre y la creciente demanda que enfrenta generan desabasto y problemas ecológicos que son poco atendidos. Algunos de los productos que se colectan en México, solicitados en el extranjero en 1984 fueron el *áloe vera*, por holandeses; el llantén, la ortiga, la salvia, el romero y la quina, por venezolanos y el Cuachalalate por Japoneses. De estas plantas, la única endémica de México es el Cuachalalate. Las leyes japonesas imponían varias restricciones a los importadores mexicanos para su movimiento comercial, como la cuarentena de plantas, el control de sustancias tóxicas y deletéreas y la de asuntos farmacéuticos. Estos movimientos comerciales requieren estudios detallados, actualmente inexistentes (Hersch, 1996).

La corteza del árbol de Cuachalalate (*A. adstringens*) se ha utilizado en la medicina tradicional mexicana para atender diversas afecciones a la salud, desde tiempos muy remotos, como: úlceras gastrointestinales, enfermedades de la mujer, la piel, el sistema respiratorio, el digestivo, los riñones y para calmar los nervios, heridas, etc. (Monroy y Monroy, 2006).

Los resultados experimentados por los usuarios han permitido la difusión de sus bondades, lo que a su vez ha reclamado su comercialización en los mercados nacionales en primer término, no obstante éstos tradicionalmente han recibido el abasto por la labor de acopiadores realizadas en las regiones de su distribución natural. Estas personas hasta hace unos años realizaban su labor bajo los preceptos de su propia percepción cultural, cortando algunas porciones de corteza de cada árbol o bien dejando tocones de aproximadamente un metro de altura de los árboles tumbados, lo que permitía su regeneración. En tiempos más recientes la fama del Cuachalalate, ha rebasado nuestras fronteras provocando con ello una alta demanda que obliga a los acopiadores pasar por alto su patrón cultural de recolección. Los intermediarios exigen cubrir una cuota mayor, lo que hace que la técnica de recolecta ahora sea total, avanzando cada vez más sobre las poblaciones naturales de Cuachalalate, devastando no solo los árboles, sino también las poblaciones jóvenes, amenazando con ello su conservación. Esta situación aunque aun no es tan drástica por la amplia distribución de la planta, sí alerta sobre la necesidad de planear alternativas a su manejo, y para ello la urgencia de realizar investigaciones científicas en diversos campos, como el ecológico, agronómico, fitoquímico, anatómico y sobre todo el de su propagación (fisiológico), todos ellos como medidas preventivas para establecer a mediano plazo un manejo eficiente y sustentable.

El presente trabajo pretende contribuir en ese sentido a aportar conocimiento científico y tecnológico, al ensayar técnicas y modelos experimentales en vías de conocer de mejor manera las condiciones físicas y ambientales que garanticen la propagación del Cuachalalate, con base en lo cual se pueda lograr la producción sostenida y así disminuir el deterioro ambiental.

3.0.

OBJETIVOS: GENERAL Y PARTICULARES

El objetivo general de este trabajo fue conocer las condiciones controladas más favorables para la germinación de *Amphipterygium adstringens*.

Objetivos particulares:

Determinar la estructura anatómica de frutos en las primeras etapas del desarrollo

Analizar la morfología del fruto y semilla maduros.

Determinar la viabilidad de las semillas de Cuachalalate.

Identificar las restricciones para la germinación de semillas.

Evaluar la germinación de semillas dentro de frutos completos y lóculos separados.

Estudiar el efecto de diferentes tiempos de imbibición en la germinación.

Evaluar el efecto de temperaturas altas en el reblandecimiento de cubiertas y en la germinación de Cuachalalate.

Determinar el efecto del almacenamiento de frutos a temperatura ambiente y en refrigeración en la germinación de las semillas.

Evaluar el efecto del ácido giberélico en la germinación de Cuachalalate.

4.0.

ANTECEDENTES

4.1. Partenocarpia

Algunas plantas, producen frutos sin semilla de manera natural, o bien inducidos por tratamientos con auxinas. La producción de estos frutos se conoce como partenocarpia (Taiz y Zeiger, 2002). Este fenómeno es común en variedades hortícolas de banano, piña, pepino, tomates, higo, naranja, uva, kiwi, pimienta, etc. La partenocarpia es un rasgo genéticamente adquirido, y varía en individuos y ecotipos de la misma especie.

En poblaciones naturales, la partenocarpia puede resultar por una de tres causas: (i) falta de polinización, (ii) que la polinización ocurra, pero no la fertilización y (iii) que la fertilización ocurra y sea seguida del aborto del embrión. Las razones de este aborto aún desconocidas. Se sabe que las auxinas en plantas jóvenes de fresa, tomate, uva y naranja producen frutos partenocárpicos. Mientras que en *Arabidopsis*, chícharos, y zarzamora, el tratamiento con giberelinas produce el mismo efecto.

El hecho de que se presente variación entre cultivos en cuanto a la producción de dichos frutos, se puede deber a la diferencia en el contenido endógeno de estas hormonas en la placenta o los ovarios.

En estudios con dos variedades de mandarina, “Clementinas” y “Satsuma”, la primera presenta bajo contenido de frutos partenocárpicos y por consiguiente baja cantidad de ácido giberélico endógeno, en cambio; la variedad “Satsuma” contiene altas cantidades de ácido giberélico endógeno y presenta frutos partenocárpicos y esta variedad responde mal a tratamientos con AG_3 (Srivastava, 2002).

4.2. Germinación

La germinación se puede definir como el inicio o la reasunción del crecimiento del embrión de una semilla madura y es la suma de eventos que comienza con la hidratación

de las semillas y culmina con la emergencia del eje embrionario, usualmente la radícula a través de la cubierta seminal. (Taiz y Zeiger, 2002; Srivastava, 2002).

Para que se lleve a cabo dicho proceso debe de haber imbibición de la semilla. Las semillas con cubiertas permeables, generalmente exhiben un proceso trifásico en la toma de agua. Imbibición (I), germinación o activación del metabolismo (II) y fases del crecimiento (III). El rango inicial de imbibición estará determinado en primera instancia por la permeabilidad de su cubierta seminal, el área de contacto entre la semilla y el sustrato y la conductividad hidráulica del sustrato (Kigel y Galili, 1995).

Si las condiciones óptimas para la germinación se proveen por un largo tiempo, y este proceso no ocurre, se puede deber a dos factores: a que la semilla no es viable, o que es viable pero está latente (Kahn, 1982).

La germinación puede verse afectada por factores ambientales, la edad de la planta madre y la posición de las semillas en el fruto. En zanahoria y apio, se ha reportado que la posición en la que se producen las semillas en plantas madres puede afectar marcadamente su tamaño, las características de la germinación y el vigor de las plántulas (Thomas et al, 1978 en Zambrano, 1992).

Otra circunstancia que influye la germinación es el efecto materno el cual incluye al conjunto de influencias que tienen lugar antes de la dispersión de las semillas y está determinado por el genotipo, por el ambiente en que se encuentra, y también por la influencia que se ejerció sobre las semillas durante su desarrollo y maduración cuando todavía se encontraban unidas a la planta madre (Roach y Wulff ,1987 en Zambrano, 1992). Este efecto tiene relación con la germinación, ya que determina las características de una semilla y por lo tanto de su germinación.

Varios estudios han demostrado que cambios en el ambiente de la planta, como humedad, temperatura y nutrimentos, entre otros, presentan un efecto importante en el

tamaño y el peso de las semillas descendientes. Este hecho se ha correlacionado directamente con las características de su germinación (Zambrano, 1992).

Una semilla permite la dispersión, tanto en tiempo como en espacio. Durante este periodo, ataques por bacterias y hongos se ven frenados por el estado de desecación de las semillas, y también por su cubierta seminal. En muchas semillas la presencia de fenólicos, lectinas, glicósidos tóxicos e inhibidores enzimáticos, previenen la granivoría por insectos, roedores y herbívoros. La semilla normalmente viene con todo lo necesario para su germinación y para su crecimiento temprano, incluyendo reservas alimenticias y minerales. Lo único que necesita para disparar la germinación es la temperatura, agua y oxígeno del medio, y es el embrión quien determina cuando las condiciones ambientales son las correctas (Srivastava, 2002).

Los trabajos realizados en germinación son diversos, ya que prueban distintas condiciones y efectos que pudieran tener algunos factores en ésta.

4.3. Viabilidad

El 2,3,5-Trifenil-2H-Cloruro de Tetrazolio (TTC) es una sustancia que permite determinar la viabilidad de las semillas. En este método las semillas embebidas son disectadas, para que el embrión quede expuesto y posteriormente se colocan en la solución de TTC al 0.1%. Si las semillas no son disectadas, se recomienda utilizar una solución de TTC al 1%. Los embriones viables liberan iones de hidrógeno durante la respiración, que combinados con el TTC, causan pigmentación roja o rosa en el tejido. Este método para determinar viabilidad en semillas, funciona tanto en embriones latentes, como no latentes (Taiz y Zeiger, 2002).

Estudios como el de Gholami et al., (2007), prueban que la germinación de las semillas se puede ver afectada conforme avanza la edad de ésta. En cambio Kiyoshi et al.,

(2005), trabajaron con Litchi y no observaron modificaciones en la viabilidad y germinación por el corto tiempo de almacenamiento.

4.4. Latencia

En muchos casos una semilla viable, no germinará aunque tenga los elementos y las condiciones necesarias para hacerlo. Este fenómeno se conoce como latencia o letargo. La latencia introduce un retardo temporal en el proceso de germinación que provee de tiempo adicional para la dispersión de las semillas en mayores distancias geográficas. También maximiza la supervivencia de las semillas previniendo que germinen en condiciones poco favorables (Taiz y Zeiger, 2002; Baskin y Baskin, 1998).

La latencia tiene bases genéticas, pero su expresión y el grado en el que se presenta son afectados por señales del desarrollo y por factores ambientales. En algunos casos, una misma planta puede producir semillas no latentes al principio y altamente latentes al final de la temporada; las semillas del mismo genotipo que crecen en dos locaciones, pueden mostrar diferente grado de latencia. Esta variabilidad en la latencia le permite a las semillas asegurar la germinación en el sustrato y conferirle una ventaja adaptativa en la supervivencia de las especies a través de distintas condiciones ambientales (Srivastava, 2002).

Las semillas de especies ortodoxas, (aquellas que disminuyen su contenido de humedad hasta 5 a 7% y se mantienen viables) maduran y se tornan quiescentes, pero germinarán cuando las condiciones sean las adecuadas y los requerimientos necesarios se cumplan. Las semillas ortodoxas presentan latencia con mayor frecuencia, éstas requieren de estímulos como la temperatura o la luz para poder germinar (Srivastava, 2002).

Las semillas latentes, normalmente presentan embriones bien desarrollados, como ejemplo tenemos al frijol y al chícharo. En varias especies, las semillas son dispersadas con embriones inmaduros y el desarrollo de ellos continúa dentro de la semilla, utilizando

las reservas presentes en el endospermo. En estos casos la emergencia de la radícula se da mucho después. Estas semillas no germinarán hasta que maduren por completo (Srivastava, 2002).

Existen varias clasificaciones de la latencia:

Según Srivastava (2002) la latencia esta dividida en dos tipos básicos, la primaria, que es adquirida durante el desarrollo/maduración de la semilla y la secundaria, que resulta de factores posteriores a la dispersión. La primaria se puede deber a varias razones: si está impuesta por alguna estructura de cubierta en la semilla, se llamará latencia relacionada con la cubierta (exógena según Nikolaeva, 1969-1977 en Baskin y Baskin, 1998) e incluye estructuras como testa, pericarpio, restos del endospermo, restos de nucela o perispermo. En varias especies, la cubierta puede actuar como barrera a la entrada de agua y gases o bien es muy dura mecánicamente, como en el caso del Mesquite, una leguminosa y varias nueces, donde las semillas tienen testa tan dura y lignificada, que el embrión es incapaz de romperla. Estas estructuras se pueden remover mecánica o químicamente y de esta forma dejan libre al embrión para su emergencia. En el otro tipo de latencia primaria alguna característica del embrión previene la germinación (latencia endógena según Nikolaeva, 1969-1977 en Baskin y Baskin, 1998). Algunas semillas no logran su germinación debido a que cuando son dispersadas de la planta madre, tienen el embrión inmaduro. Por ejemplo, semillas de apio (*Apium graveolens*) y de ginseng (*Panax quinquefolius*), y la mayor parte de los miembros de la familia Orchidaceae, tienen embriones pequeños y rudimentarios, que requieren de un crecimiento y diferenciación de tejidos y órganos antes de su germinación. En apio son necesarias condiciones de luz y giberelinas para que la germinación se de, en cambio para ginseng, las semillas requieren de cambios de temperatura (calor y frío) por varios meses para poder germinar (Srivastava, 2002).

En especies de semillas sin endospermo, las características de la testa son las responsables del grado de latencia impuesta por la cubierta (Nicolás et al., 2002).

Las semillas requieren de señales ambientales específicas de luz y/o temperatura para poder germinar.

Zárate (1984) en su trabajo de germinación con Cuachalalate, menciona que no presenta latencia exógena, sin embargo no aporta la justificación con relación a la latencia encontrada.

4.5. Efecto de los tratamientos

4.5.1. Frutos completos y semillas aisladas

La germinación inicia con la imbibición, para que ello ocurra la cubierta seminal debe ser permeable. La remoción de estructuras de protección tales como cubierta seminal, pericarpio, endocarpo, etc. contribuye en algunos casos a una aceleración en la germinación. Experimentos con *Anemone coronaria*, *Zinnia violacea* y *Prunus campanulata*, cuyas estructuras protectoras en las semillas fueron removidas, obtuvieron mayores porcentajes de germinación al igual que una reducción en el tiempo de germinación (Chen et al., 2007; Baskin y Baskin, 1998; Miyajima, 1996)

4.5.2. Imbibición

En semillas secas, el índice de respiración y el metabolismo, son ambos extremadamente bajos. Las membranas y algunos organelos celulares están estructuralmente indefinidos y son bioquímicamente ineficientes. La hidratación en las semillas no solo restaura la actividad metabólica en los embriones quiescentes, también activa la maquinaria embrionaria para que pueda recibir señales como luz, frío, y alternancia de temperaturas, señales que son necesarias para romper algunos tipos de latencia en semillas (Srivatsava, 2002).

La entrada de agua a la semilla es la primera fase de la germinación y permite la difusión de sustratos hacia los sitios activos de las enzimas (Kigel y Galili, 1995). En la segunda fase, activación y germinación, a medida que incrementa el potencial hídrico en la semilla, el gradiente de imbibición disminuye. El contenido de agua en la semilla aumenta poco a poco, reactiva el metabolismo y continúa entrando hasta la emergencia de la radícula en donde se observa un aumento muy marcado. Las semillas que presentan latencia pueden mantener niveles muy bajos de actividad metabólica y pueden permanecer en esta fase durante meses o bien años antes de terminar por completo con la germinación. El crecimiento del embrión es la tercera fase y depende del potencial osmótico de las células y de las propiedades de las paredes celulares del embrión, así como de la presencia y fuerza de cualquier tejido externo que presente un impedimento para la expansión del embrión (Kigel y Galili, 1995).

Debido a que la imbibición es un requisito casi indispensable para la germinación en la mayoría de las semillas, es un tratamiento frecuentemente evaluado.

Los trabajos con *Passiflora edulis* (Sobreira et al., 2004) y *Myrciaria dubia* (Aparecida et al., 2006) evaluaron tiempos de imbibición y sus efectos en la germinación. Zárate (1984) en su trabajo con Cuachalalate prueba distintos tiempos de imbibición, y la relación con la germinación.

4.5.3. Temperatura

La temperatura es un requerimiento para la germinación. La germinación ocurre en un amplio rango de temperaturas, aunque hay algunas especies para las cuales existe una temperatura óptima para dicho proceso y la variación por debajo o por encima de ella, puede disminuir e incluso anular la germinación (Srivastava, 2002).

Se ha visto que la desecación puede actuar como un interruptor en el desarrollo de la semilla y para iniciar la germinación. En semillas ortodoxas, se ha sugerido que la

deshidratación en la maduración funciona como interruptor que hace que termine el desarrollo de la semilla, y enciende el programa germinativo para que se inicie en condiciones favorables (Srivastava, 2002).

Las altas temperaturas pueden reducir la estabilidad de la membrana, debido a la excesiva fluidez en los lípidos de ésta que genera fugas de iones. Esto provoca la pérdida de funcionalidad fisiológica de la membrana (Taiz y Zeiger 2002).

Estudios con varias especies como *Annona montana*, *Oxalis hirsutissima*, *Helianthus annuus* y *Delonix regia*, entre otras, prueban el efecto de las altas temperaturas en la germinación, factores como tiempo de imbibición, enfriamiento, edad de la semilla, etc. son importantes también en este tipo de estudios ya que pueden ser requisitos indispensables para que la germinación ocurra (Vilar et al., 2005; Corbineau et al., 2002; Demir, 2001; Coelho, 2000 y Wasuwanich, 2000).

4.5.4. Acido giberélico

El papel central de las giberelinas (GA) en promover la germinación fue sugerido hace décadas y confirmado con la identificación de semillas de *Arabidopsis* y tomate mutantes deficientes en GA, las cuales no germinaban a menos que se les aplicara exógenamente ácido giberélico. Se ha propuesto que el ácido giberélico endógeno controla la germinación a través de dos procesos: (i) la disminución en la resistencia de los tejidos que rodean al embrión y (ii) la promoción del potencial de crecimiento del embrión (Nicolás et al., 2002).

Las giberelinas pueden actuar en la germinación en alguno de los siguientes pasos: (a) en la activación del crecimiento vegetativo del embrión, (b) el debilitamiento de las capas que envuelven al embrión y (c) en la movilización de reservas alimenticias del endospermo. En las semillas con latencia, las giberelinas pueden sacarla de ésta e inducir la germinación (Taiz y Zeiger, 2002).

Esta hormona se encuentra relacionada con varias respuestas morfológicas y bioquímicas. Una respuesta muy común es la promoción a la elongación en órganos axiales, como tallos, peciolo, y pedicelos florales. En las semillas de muchas plantas se almacenan grandes cantidades de almidón, proteínas y lípidos, que son hidrolizados en la germinación para proveer energía al crecimiento. En algunas semillas de cereales como trigo, cebada y arroz, las giberelinas inducen la síntesis o la activación de ciertas enzimas para la hidrólisis de los productos de almacenamiento (Srivastava, 2002).

La exposición a este regulador, es un tratamiento frecuente en los experimentos de germinación. Los trabajos con *Amaranthus pumilus* (Norden et al., 2007) y con *Cercis siliquastrum* (Gebre y Karam, 2004), evalúan el efecto de distintas concentraciones de AG₃ y su relación con la germinación. Zárate (1984), en su trabajo con Cuachalalate, realiza pruebas preliminares con AG₃ y no obtiene resultados de germinación. Sin embargo no menciona las concentraciones utilizadas y el tiempo de exposición, datos importantes, ya que en trabajos anteriores, estos factores son los que influyen en el porcentaje de germinación.

4.5.5. Almacenamiento: ambiente y refrigeración.

El tiempo y las condiciones de almacenamiento influyen en el deterioro de la semilla. El almacenamiento puede provocar que macromoléculas como ácidos nucleicos, componentes de la membrana y enzimas, se dañen y con esto generar pérdida en la integridad estructural de la membrana y daño en los organelos o que no consigan diferenciarse en estructuras funcionales. Este proceso genera envejecimiento en algunas semillas y pérdida de viabilidad. Sin embargo, reducir el 1% en el contenido de humedad en la semilla, o en la temperatura (5°C), duplica el lapso de vida de las semillas almacenadas en seco (Baskin y Baskin, 1998).

Si en las semillas se alterna deshidratación e imbibición, el daño ocurrido durante la deshidratación se repara con la hidratación. Ya que en algunos casos las semillas mueren, se proponen varias explicaciones (Baskin et al., 2002): (1) Las reservas se agotan y las células no tienen energía para reparar los daños, (2) las reservas sufren alteraciones químicas y por lo tanto ya no son útiles para el embrión, (3) tantas lesiones se acumulan gradualmente en el ADN y la división celular y crecimiento subsecuente se vuelven imposibles, o bien (4) las membranas se tornan disfuncionales.

Un periodo de almacenamiento en seco y a temperatura ambiente por varios meses puede desactivar la latencia en semillas que la presentan (Nicolás et al., 2002).

Trabajos realizados por Pakkadb et al., (2003) y Prakash et al., (2005) con *Spondias axillaris* (Anacardiaceae) y especies medicinales alpinas respectivamente, prueban que las semillas al ser almacenadas por algunos meses, 5 a 7 pierden rápidamente la viabilidad y con ello su capacidad germinativa. Prakash et al., (2005), evaluaron temperaturas de almacenamiento [25°C (ambiente), 25°C en desecador y refrigeración] y observaron que la viabilidad permanece por mayor tiempo en semillas almacenadas en ambas condiciones. El porcentaje de viabilidad se ve afectado en ambos casos a medida que avanza el tiempo de almacenamiento. Además existen trabajos que evalúan el efecto del almacenamiento combinado con condiciones de temperatura, imbibición, deshidratación, entre otras, y su respuesta germinativa después de dichos tratamientos (Sharma et al., 2007; Talamini et al., 2007; Tommasi et al., 2006).

4.6. Familia Julianiaceae

4.6.1. Características generales

Según Cronquist (1981), *A. adstringens* pertenece a la familia Julianaceae y menciona gran similitud de ésta con la familia Anacardiaceae (*Rhus*), de hecho hay algunos autores que la consideran Anacardiaceae (Pennington y Sarukhan, 1968). Esta

similitud entre las familias se debe a su aspecto y características anatómicas, y también a algunos rasgos florales como el ovario unilocular, tricarpelado, con el óvulo posicionado en un obturador. También la química de los flavonoides que presentan ambas familias, favorece esta relación (Cronquist 1981)

4.6.2. Ubicación taxonómica (Cronquist, 1981)

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Sapindales

Familia: Julianiaceae (W.B. Hensley 1906 nom.)

Género: *Amphipterygium*

Especie: *adstringens*

4.6.3. Descripción Botánica Específica (Pennington y Sarukhan, 1968)

Amphipterygium adstringens Schiede ex Schltdl.

SINONIMIA. *Juliania adstringens* Schltdl.

NOMBRES COMUNES. Cuachalalá, Cuachalalate (del náhuatl cuauchalalatl, nombres más usados en toda su área de distribución); maitixeran (tarasco, Mich.); volador (Pue.); macerán (Gro.); yalaguitu (zapoteco, Oax.); muaxalaxlitli (náhuatl, Mor.)

FORMA. Árbol de hasta 8 m y d.a.p. de hasta 40 cm, con el tronco generalmente torcido, con pocas ramas gruesas, ascendentes y torcidas, de ramificación simpoidal (tipo *Tabebuia*), copa aplanada.

CORTEZA. Externa lisa con grandes escamas engrosadas y suberificadas, la parte lisa de la corteza moreno grisácea a gris plomiza, con numerosas lenticelas protuberantes, redondas y pálidas. Interna de color crema rosado a rosado, fibrosa, con exudado blanco

cremoso, extremadamente astringente y de olor picante. Grosor total de la corteza de 10 a 20 mm, sin incluir las escamas.

MADERA. Albura de color crema claro a crema rosado con olor picante y sabor astringente, vasos grandes, muy numerosos, dispuestos en líneas tangenciales. Madera esponjosa.

RAMAS JÓVENES. Ligeramente escamosas, con grandes cicatrices de hojas caídas, con abundantes lenticelas suberificadas y prominentes; pubescentes cuando jóvenes, glabras con la edad.

HOJAS. Yemas *ca.* 3 mm. de largo, obtusas, desnudas, amarillentas, muy pubescentes. Estípulas 2, *ca.* 5 mm de largo, lanceoladas. Hojas dispuestas en espiral, aglomeradas en la punta de las ramas, imparpinnadas, de 6 a 13 cm incluyendo el pecíolo, compuestas por 3-5 folíolos opuestos y sésiles de 2.5 x 1.3 a 7 x 4.5 cm, con el folíolo terminal más grande; ovados o elípticos, con el margen crenado, ápice agudo, base aguda u obtusa; verde opacos y amarillentos en la haz, verde grisáceos en el envés; raquis tomentoso y pulvinado en la base. Los árboles de esta especie pierden las hojas durante seis meses, desde noviembre hasta mayo.

FLORES. Especie dioica. Flores masculinas en panículas aglomeradas en las axilas de hojas nuevas, de hasta 15 cm de largo, tomentosas; flores sésiles o sobre pedicelos de hasta 3 mm de largo, actinomorfas, de 3 a 4 mm de diámetro; perianto de 5 a 7 segmentos, de 1.5 a 2 mm de largo, lineares, agudos, tomentosos; estambres 5-7, de 1 a 1.5 mm de largo, con el filamento muy corto, la antera oblonga y tomentosa; ovario ausente. Flores femeninas solitarias en las axilas de las hojas nuevas, en pedúnculos aplanados y alargados de 1 cm de largo y 3 a 4 mm de ancho, tomentosos; receptáculo globoso, *ca.* 3 mm de largo, con 5 dientecillos agudos, que contiene un ovario de 2 carpelos semiunidos, semiínferos,

uniloculares, pubescentes; estilo grueso de 2 mm de largo, con 3 ramas estigmáticas recurvadas *ca.* 3 mm de largo; estilo y estigmas pubescentes. Florece de mayo a julio.

FRUTOS. Nueces abultadas con estigmas persistentes, sobre los pedicelos aplanados y acrescentes hasta formar una especie de ala, de 3 a 4 cm, incluyendo el ala, moreno amarillentas o moreno rojizas, con nervación conspicua fina, glabras. Contienen 1 ó 2 semillas muy aplanadas de 5 mm de largo.

ECOLOGÍA Y DISTRIBUCIÓN. Especie restringida a la vertiente del Pacífico, desde Nayarit hasta Oaxaca, incluyendo la cuenca del río Balsas. Es especie dominante de las selvas bajas caducifolias, generalmente asociada con diversas especies de *Bursera* y *Pseudosmodingium perniciosum*. Puede progresar muy bien en zonas sujetas a incendios periódicos.

USOS. Su madera no tiene usos industriales. La corteza y las raíces han sido usadas tradicionalmente en la medicina casera.

4.6.4. Descripción de la diáspora (fruto) y semilla

El fruto alado de 2.5 a 5 cms. de largo es un sincarpo seco que consiste de un involucre subgloboso, acrecente y engrosado que contiene de 1-2 “lóculos” comprimidos y peludos, más o menos pegados a la pared (Cronquist, 1981).

Las semillas de Julianiaceas tienen su origen en los óvulos hemítropos y unitegmentados. Se desarrollan en el interior de nuececillas samaroides y en la madurez presentan las siguientes características estructurales:

Semillas con cubierta seminal membranosa; endospermo ausente; embrión grande llenando la cavidad seminal, provisto de dos cotiledones, plano-convexos, radícula acumbente, grande (Niembro, 1989). Muchos frutos debido a que son secos e indehiscentes son llamados semillas (Crocker y Barton, 1957). Sobre la semilla del Cuachalalate y su embriología no se han hecho estudios (Johri et al., 1992).

4.6.5. Distribución

A. adstrigens es un componente florístico de la Selva Baja Caducifolia de México, los cuales son bosques propios de regiones con climas cálidos dominados por especies arborescentes que pierden sus hojas en la época seca del año durante un lapso variable. El bosque tropical caducifolio se desarrolla en México entre 0 y 1900 m de altitud, la temperatura media anual es del orden de 20 a 29°C. En cuanto a la humedad, se observan dos estaciones bien marcadas: la de lluvias y la de secas. El número de meses secos consecutivos va de 5 a 8, siendo los de mayor aridez de diciembre a mayo (Rzedowski, 1994).

Los estados en los que se encuentra el Cuachalalate son Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Morelos, Mexico D.F. y la Cuenca del Balsas (Lara y Márquez, 1996; Hernández, 1959)

De acuerdo con la clasificación de Koeppen (1984), el clima correspondiente a esta formación vegetal es el Aw, aunque también hay algunos sitios con clima BS y Cw. El bosque tropical caducifolio se encuentra principalmente sobre suelos someros pedregosos y se localiza a menudo sobre laderas de cerros (Rzedowski, 1994).

4.6.6. Importancia económica y aspectos generales

En la herbolaria mexicana, es una de las especies de mayor uso tradicional, su corteza se comercializa en varias entidades del país para tratar más de 30 enfermedades. El estado de Morelos, parte de la cuenca del balsas, Guerrero y la Mixteca Poblana, integran la región que abastece de este producto natural al resto del país. Entre sus usos más comunes se reporta el cocimiento de unos 50 g de corteza para endurecer las encías y para lavar heridas. También se reporta efectividad contra el cáncer de estómago e intestinos, y para la tifoidea (Martínez, 1969).

La forma en que los colectores aprovechan este producto, es poco planificada y muy destructiva. El descortezamiento tradicional en más del 50% de las veces se hace en todo el fuste y a una profundidad tal, que deja al descubierto la madera o tejido xilemático. De esta manera, se destruyen tejidos vitales del árbol, como el floema que se encarga de conducir el alimento por toda la planta y el cambium vascular que es responsable de generar un nuevo anillo de crecimiento y al mismo floema. Estos dos factores han provocado que las poblaciones naturales, sean fuertemente impactadas a grado tal, que un 60% de los árboles mueren y el resto sobreviven sin que sea posible un segundo aprovechamiento (Hersch, 1996).

4.6.7. Investigaciones realizadas

Varios trabajos prueban la efectividad del Cuachalalate como planta medicinal por su alto contenido en metabolitos secundarios. En general los trabajos que se han realizado sobre dicha planta son de tipo fitoquímico, como el de Cortes (1979), que realizó el estudio bibliográfico del Cuachalalate desde el punto de vista toxicológico, en el que menciona la presencia del ácido tánico, siendo éste el que da la acción astringente.

Ortega et al., (1999), comprobaron que el ácido masticadienónico y a-hidroximasticadienónico encontrados en la resina del árbol son los compuestos encargados de la acción anti-inflamatoria.

Makino et al., (2004) aislaron 5 terpenos y cada compuesto exhibió actividad inhibitoria contra células de leucemia (L-1210). En estudios posteriores, Déciga et al., (2006) reportan que el Cuachalalate presenta actividades farmacológicas tales como: antimicrobiano, hipocolesterolémico, gastroprotector y anti-inflamatorio. Los agentes fitoquímicos presentes en la planta son: ácido anacárdico, aldehidos anacárdicos, alquil-naftalenos, triterpenos y esteroides.

Los trabajos sobre cultivo y propagación de esta planta medicinal son pocos. Uno de ellos es el estudio de Zárate (1984) en el cual realizó pruebas de germinación para dos especies medicinales Chaparro amargoso y Cuachalalate, para este último utilizó distintos tratamientos preliminares como: luz y oscuridad, alternancia de temperaturas, nitrato de potasio, ácido giberélico, bajas temperaturas, remojo en agua caliente y remojo en agua a temperatura ambiente. Los tratamientos elegidos finalmente fueron remojo de 24 a 96 horas a temperatura ambiente y alternancia de temperaturas.

El presente trabajo forma parte del proyecto CONAFOR 41828 “Propagación de Especies Medicinales Explotadas en los Municipios Leonardo Bravo y Eduardo Neri en el Estado de Guerrero para el Establecimiento de Plantaciones Semicomerciales” en el cual se hizo entrega de los árboles obtenidos en esta investigación a la comisaría de Xochipala, Gro. y los resultados obtenidos se utilizarán para la elaboración de un tríptico.

5.0. MATERIAL Y MÉTODO

5.1. Sitio y fecha de colecta

Los frutos de Cuachalalate que se utilizaron en los experimentos se colectaron el 14 de enero del 2006, en Xochipala, poblado perteneciente al municipio de Eduardo Neri, Guerrero, que está ubicado a 100 km de Chilpancingo y a 60 km de Iguala, con coordenadas N 17°44'353"; O99° 39'543" y a 1150 m de altitud.

5.2. Sitio de trabajo

Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Fisiología y Estructura de Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM y en el Laboratorio de Cultivo *in vitro*, Programa Fruticultura, IREGEP-Campus Montecillo.

5.3. Material vegetal

El árbol de Cuachalalate, mide aproximadamente 6 m de altura. Su corteza es de color grisáceo. Tiene hojas compuestas y su fruto es alado, de 2.5 a 5 cm de largo. En el interior del fruto se presentan en general de dos a cuatro lóculos, que pueden contener o no semilla. Florece de mayo a julio y fructifica de julio a septiembre, pierde sus hojas entre junio y octubre (Colin y Monroy, 1997; Monroy y Castillo, 2000). Crece en los lugares secos y rocosos del bosque tropical caducifolio. El principal uso que tiene es medicinal, para lo cual la corteza del tronco se hierve y se emplea para tratar úlceras, heridas, quemaduras, picaduras de animales, problemas renales, entre muchas otras afecciones.

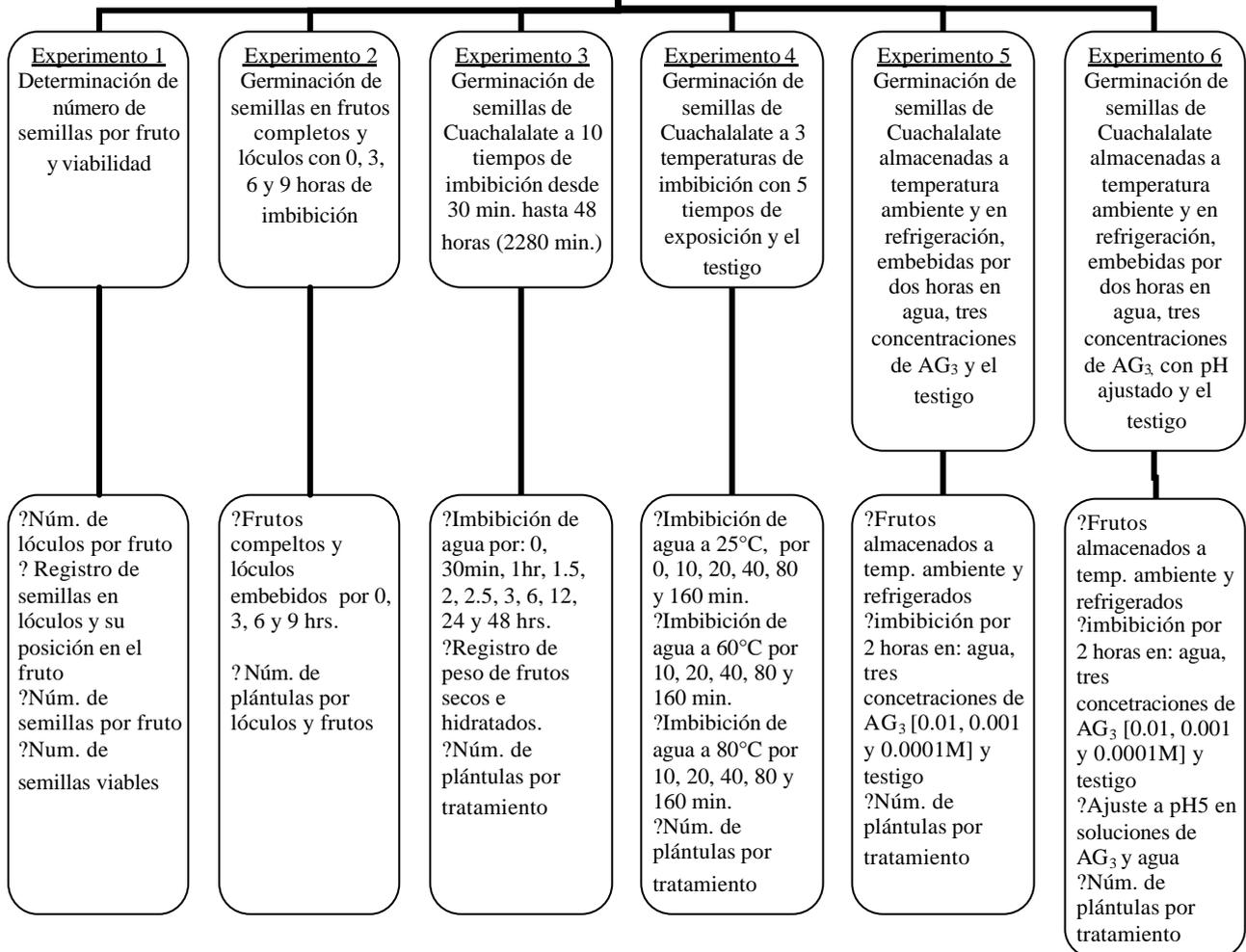
Los frutos se colectaron de 15 árboles de Cuachalalate aproximadamente, tanto del árbol, como del suelo.

5.4. Planeación de los experimentos

Se realizaron en total 6 experimentos, cinco con frutos completos y solamente en uno se emplearon las semillas de los lóculos centrales de los frutos de Cuachalalate.

Planeación de los Experimentos

Colecta de frutos
14 Enero 2006



5.5. EXPERIMENTO 1: Determinación de número de semillas por fruto y viabilidad

Con el fin de conocer la cantidad de semillas que existen por fruto de Cuachalalate, susceptibles de formar una planta, se evaluó el número de lóculos por fruto, la presencia de semillas en lóculos, así como la cantidad y localización de semillas por fruto y se aplicó la prueba de viabilidad con tetrazolio.

5.5.1. Diseño experimental

Localización de semillas por lóculos y cantidad en frutos – experimento unifactorial. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 10 repeticiones de 20 frutos, por lo que se evaluaron en total 200 frutos. Unidad experimental: grupo de 20 frutos.

5.5.2. Variables evaluadas

Registro del número de lóculos por fruto

Registro de semillas en lóculos y su posición en el fruto

Registro del número de semillas por fruto

Registro de semillas teñidas con tetrazolio por fruto.

5.5.3. Conducción del experimento

Los frutos se colocaron en agua a temperatura ambiente durante tres horas, con el fin de reblandecer sus capas y poder cortarlos transversalmente, a nivel de la nuececilla, para exponer sus lóculos y la presencia de semillas (Figura 1). En cada fruto se contó el número de lóculos, la ubicación de las semillas en ellos y el número de semillas por fruto. Se consideró como semilla desarrollada a aquella que llenaba por completo al lóculo.

Se estableció como referencia tomar los datos de cada fruto con la punta del ala dirigida a la izquierda; así se contó de derecha a izquierda y se consideró al lóculo 1 el primero a la derecha, no importando si fueron 4, 3 ó 2 lóculos (Figura 1).

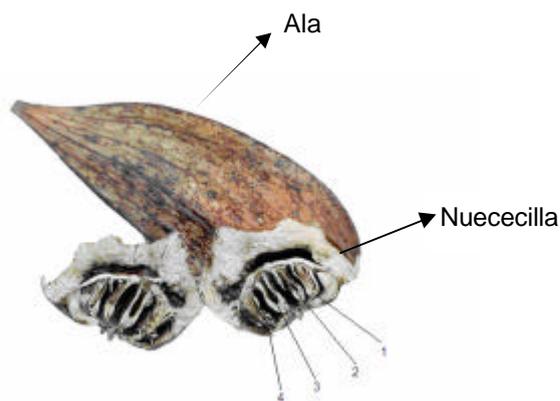


Figura 1. Corte transversal del fruto de Cuachalalate, colectado en Xochipala, Gro. para conteo de lóculos y semillas. El lóculo ubicado a la derecha corresponde al lóculo 1 y así sucesivamente.

5.5.4. Análisis de datos

Para determinar el número de lóculos y la presencia de semilla en cada uno de ellos, se contó el número de lóculos (2 a 4) considerando su posición 1, 2, 3 y 4 por fruto. La presencia de semilla se contó tomando en cuenta en qué lóculo se presentaba y cuántas semillas se encontraron por fruto.

Los datos se registraron en porcentajes y para su tratamiento estadístico se les aplicó una transformación arco-seno. Así, se hizo anova en Statgraphics plus con los datos de porcentaje transformados para evaluar en qué lóculo se presentaban semillas con mayor frecuencia.

5.5.5. Diseño experimental

Pruebas de viabilidad – experimento unifactorial. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 5 repeticiones de 20 frutos, por lo que se evaluaron en total 100 frutos. Unidad experimental: grupo de 20 frutos

5.5.6. Variables evaluadas

Se cuantificaron viables a las semillas que se tiñeron de rojo en 80% o más, incluyendo el eje hipocótilo - raíz.

5.5.7. Conducción del Experimento

De los 200 frutos utilizados en el experimento anterior (5.5.1), se eligieron 100 de ellos al azar. La edad de los frutos para esta prueba con respecto al día que fueron colectados fue de 47 días. Se les cortó el ala para reducir espacio y se formaron 5 repeticiones de 20 frutos que se colocaron en solución de Tricloruro de tetrazolio (TTC) al 5%. Se dejaron remojando en la solución por doce horas a temperatura ambiente. Después de cumplido el tiempo en la solución, se tomaron los datos de las observaciones.

5.5.8. Análisis de datos

Para determinar el porcentaje de viabilidad se contó el número de semillas que se tiñeron, sin considerar la posición de ellas dentro de los frutos. Los resultados se expresaron en porcentaje.

5.6. Experimentos de germinación

Todos los experimentos de germinación se realizaron en el invernadero del Programa de Fruticultura, IREGEP- Colegio de Posgraduados Campus Montecillo, Estado de México.

5.6.1. Sustrato

El sustrato que se utilizó se elaboró mezclando homogéneamente los siguientes materiales:

2 partes de Peat moss

1 parte de Tierra de monte

1 parte de Tepojal

1 parte de Agrolita

En todas las pruebas de germinación se utilizó el mismo sustrato.

5.7. EXPERIMENTO 2: Germinación de semillas en frutos completos y lóculos con 0, 3, 6, y 9 hrs de imbibición

Por la característica de que el Cuachalalate presenta sus semillas en lóculos, dentro del fruto, y dado que la imbibición es la etapa inicial requerida para que exista germinación, se decidió determinar el tiempo de imbibición que requerían las semillas, en condiciones de fruto completo y separando los lóculos centrales de los frutos.

5.7.1. Diseño experimental

Germinación de semillas en frutos y lóculos, embebidos durante 4 tiempos – experimento bifactorial. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 10 repeticiones de 10 frutos a cuatro tiempos de imbibición (400 frutos) y 5 repeticiones de 10 lóculos a cuatro tiempos de imbibición (200 lóculos).

5.7.2. Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales.

Tiempo de imbibición de frutos y lóculos.

Factor tiempo con cuatro niveles, testigo o tiempo cero, 3, 6 y 9 hrs. de imbibición. Factor semilla en fruto o en lóculo con dos niveles, fruto y lóculo.

Se utilizaron 10 repeticiones de 10 frutos para cada uno de los 4 tratamientos, tiempos de imbibición: 0, 3, 6 y 9 hrs y 5 repeticiones de 10 lóculos para los mismos cuatro tratamientos.

Frutos: $4 \times 10 \times 10 = 400$ frutos. Unidad experimental: maceta con 10 frutos

Lóculos: $4 \times 5 \times 10 = 200$ lóculos. Unidad experimental: maceta con 10 lóculos

5.7.3. Variables evaluadas

Emergencia de plántulas de lóculos y frutos

5.7.4. Conducción del experimento

Se trabajó con frutos de Cuachalalate, colectados en Xochipala, Gro. el 14 de enero del 2006. La fecha de siembra fue el 18 de enero del 2006, los frutos tenían 4 días de haber sido colectados.

Se realizó la imbibición de los frutos en grupos de 100 para cada tratamiento: 0, 3, 6 y 9 hrs. de imbibición. Cumplido su tratamiento se escurrieron, se les retiró el exceso de agua con toallas de papel y se pesaron 5 grupos de 20 frutos para cada tratamiento.

Luego de pesarlos se remojaron en captán al 1.5% durante diez minutos en agitación. Se cortó el ala a todos los frutos de todos los tratamientos y se sembraron en macetas de unicel de medio litro perforadas por debajo y por el costado (cuatro perforaciones en la base y cuatro en los costados). Se colocaron diez frutos por maceta en posición horizontal y se les agregó una capa delgada de sustrato para cubrirlos. Para cada tratamiento se procesaron diez macetas con 10 frutos cada una. (Figura 2).



Figura 2. Distribución de frutos de Cuachalalate en las macetas de siembra

Las macetas se colocaron en charolas con agua, para obtener un modelo de subirrigación y el orden de las macetas en las charolas fue aleatorio.

Para los lóculos, se cortaron los frutos longitudinalmente en la zona central de la nuececilla, donde se observó con mayor frecuencia la presencia de semillas. Se separaron

los lóculos centrales de los laterales. Únicamente los lóculos centrales se sometieron a tratamiento con base en los resultados obtenidos en el primer experimento.

Para los lóculos centrales se aplicaron los mismos tratamientos, 0, 3, 6 y 9 hrs. de imbibición y el método que se siguió fue el mismo que para los frutos, (Figura 3).

Se evaluó el porcentaje de germinación mensual durante tres meses, en frutos completos, y en lóculos separados.



Figura 3. Distribución de los lóculos centrales de Cuachalalate en las macetas de siembra.

5.7.5. Análisis de datos

Se registró el peso de los frutos de cada tratamiento, en tiempo cero y de los frutos embebidos. Se registró el porcentaje acumulativo de plantas emergidas de frutos completos y lóculos centrales, para los 4 tratamientos de imbibición.

Se hicieron análisis estadísticos con los resultados obtenidos por tratamiento con transformación de porcentajes, para determinar el mejor tiempo de imbibición en relación con la germinación y qué estructura convenía utilizar, si frutos o lóculos.

5.8. EXPERIMENTO 3: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate con 10 tiempos de imbibición desde 30 min hasta 48 horas (2280 min).

Con base en los resultados obtenidos en el experimento 2 (4 tiempos de imbibición: 0, 3, 6 y 9 hrs) y debido a que no se presentaron diferencias significativas entre los 4

tratamientos de imbibición, se decidió probar tiempos con intervalos más cortos y más largos, que fueron desde los 30 min hasta las 48 horas de imbibición.

5.8.1. Diseño experimental

Germinación de semillas con diferentes tiempos de imbibición – experimento unifactorial. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 5 repeticiones de 10 frutos por tratamiento (500 frutos).

5.8.2. Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales.

Factor tiempo de imbibición con diez niveles, : 30 minutos, 1 h, 1.5, 2, 2.5, 3, 6, 12, 24, 48 hrs.

Se utilizaron 5 repeticiones de 10 frutos para cada uno de los 10 tiempos de imbibición:

$10 \times 5 \times 10 = 500$ semillas. Unidad experimental: maceta con 10 frutos

5.8.3. Variables evaluadas

Emergencia de plántulas por cada tiempo de imbibición (30 minutos, 1 hr, 1.5, 2, 2.5, 3, 6, 12, 24, 48 hrs.)

5.8.4. Conducción del experimento

Para el experimento se utilizaron frutos completos de Cuachalalate, que se remojaron en agua durante los tiempos mencionados.

Se remojaron los frutos desde el día 11 al 13 de marzo de 2006, cada uno cumpliendo con su tiempo de imbibición (desde 30 min. hasta 48 hrs). Para cada tratamiento se utilizaron 50 frutos.

Cumplido el tiempo de imbibición se registró el peso de los frutos, de cada tratamiento (50 frutos por tratamiento). Se colocaron en sanitas húmedas dentro de bolsas de plástico y se mantuvieron en refrigeración durante dos días para evitar la contaminación por hongos.

La fecha de siembra fue el 15 de marzo de 2006, y por lo tanto los frutos tenían 2 meses con respecto al día de colecta. Se siguió el mismo procedimiento de siembra utilizado para los frutos del experimento de imbibición para frutos y lóculos. Se les cortó el ala, se sembraron en el sustrato utilizado para todos los experimentos, y se colocaron 10 frutos por maceta con 5 repeticiones por tratamiento, es decir 50 frutos por tratamiento. Ya sembrados, se colocaron las macetas en agua durante 10 min. para hacer un modelo de subirrigación.

5.8.5. Análisis de datos

Se registró el peso de los frutos para todos los tratamientos. Se registró el número de plantas obtenidas por tratamiento durante tres semanas y se expresó en porcentajes. Se hizo un anova con los porcentajes transformados, para determinar si existían diferencias significativas entre tratamientos.

5.9. EXPERIMENTO 4 Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate a 3 temperaturas de imbibición con 5 tiempos de exposición y el testigo.

Siendo la temperatura un disparador de la germinación para algunas especies, se decidió probar el efecto de temperaturas altas (60°C y 80°C) combinando el tiempo de imbibición en la germinación de las semillas de Cuachalalate.

5.9.1. Diseño experimental

Germinación de semillas en frutos: tiempo de imbibición + temperatura – experimento bifactorial. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 4 repeticiones de 10 frutos por tratamiento (640 frutos).

5.9.2. Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales.

Imbibición a temperaturas altas.

Primer factor: temperatura – Tres niveles, Testigo a temperatura ambiente (25°C), 60°C y 80°C;

Segundo factor: tiempo de imbibición - cinco niveles Testigo = 0 min. Solamente para temperatura ambiente y 10, 20, 40, 80, 160 min. de imbibición para todos los demás.

Se utilizaron 4 repeticiones de 10 frutos para cada tratamiento (25°C, 60°C y 80°C con 5 tiempos de imbibición y en el caso de 25°C se consideró el grupo testigo):

$(4 \times 10 \times 3 \times 5) + 40 = 640$ frutos. Unidad experimental: maceta con 10 frutos

5.9.3. Variables evaluadas

Emergencia de plantas por temperatura (25°C, 60°C y 80°C) y tiempo de imbibición [testigo (0 min) a 25°C y 10, 20, 40, 80 y 160 min para las 3 temperaturas]

5.9.4. Conducción del experimento

La fecha de siembra fue el 15 de marzo del 2006; así, los frutos tenían 2 meses después de la colecta. Se eligieron al azar los frutos de Cuachalalate, se les cortó el ala con el fin de reducir espacio. Posteriormente se colocaron en condiciones de imbibición en grupos de 40 frutos durante 10, 20, 40, 80 y 160 minutos respectivamente. Un tratamiento se remojó en agua a 60°C, otro a 80°C y por último el testigo, que se colocó en agua a temperatura ambiente (25°C). Únicamente el testigo se probó con tiempo cero de imbibición. Una vez cumplido el tiempo de imbibición se colocaron en sanitas, para retirar el exceso de agua y se sembraron, siguiendo el mismo método utilizado para los demás experimentos. Finalmente las macetas se colocaron 10 minutos en agua para hacer un modelo de subirrigación.

5.9.5. Análisis de datos

Se registró por cinco semanas y de forma acumulativa el porcentaje de plantas emergidas por tratamiento. Se hizo anova con los porcentajes transformados para determinar diferencias significativas entre tratamientos.

5.10. EXPERIMENTO 5: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por dos horas en agua, tres concentraciones de ácido giberélico y el testigo.

Con el propósito de determinar el efecto del ambiente de almacenamiento y del Ácido giberélico en la emergencia de plantas de Cuachalalate, se planteó trabajar con frutos almacenados en condiciones ambientales de laboratorio (25°C) y almacenados en refrigerador (5°C) y someterlos a distintas concentraciones de ácido giberélico

5.10.1. Diseño experimental

Germinación de semillas de frutos almacenados en ambiente/refrigerado + embebidos por 2 horas en agua, testigo y distintas concentraciones de Ácido giberélico – experimento bifactorial. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 5 repeticiones de 10 frutos por tratamiento (500 frutos).

5.10.2 Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales.

Germinación de semillas almacenadas en frío (5°C) y a temperatura ambiente (25°C); y estimuladas con distintas concentraciones de Ácido giberélico.

Primer factor almacenamiento: 2 niveles: ambiente 25°C y refrigerado 5°C

Segundo factor: 5 niveles: testigo (sin imbibición), agua, Ácido giberélico [0.01M, 0.001M, 0.0001 M]

Se utilizaron 5 repeticiones de 10 frutos para cada tratamiento [ambiente (25°C) y refrigerado (5°C), con tres concentraciones de ácido giberélico, agua y testigo]

$5 \times 10 \times 2 \times 5 = 500$ frutos. Unidad experimental: maceta con 10 frutos.

5.10.3. Variables evaluadas

Registro acumulativo de emergencia de plántulas de frutos almacenados en frío y a temperatura ambiente por tratamiento de imbibición.

5.10.4. Conducción del experimento

El día 15 de mayo del 2006, habiendo transcurrido 4 meses desde la fecha de colecta, se sacaron los frutos de Cuachalalate, almacenados en refrigeración y los conservados a temperatura ambiente y se formaron 5 grupos de 50 frutos de cada condición.

Se elaboraron las soluciones con ácido giberélico a diferentes concentraciones: Se pesó 0.692 g de ácido giberélico, se disolvió con 10 ml. de etanol y se aforó a 200 ml. con agua destilada y se obtuvo la primera concentración 0.01 M. Se tomaron 50 ml. de esta solución y se colocó en otro matraz, se aforó a 200 ml. con agua destilada y se obtuvo la segunda concentración de 0.001 M. De ésta se tomaron nuevamente 50 ml. y se colocaron en otro matraz y se aforó una vez más a 200 ml. con agua destilada, obteniendo la tercera concentración de ácido giberélico 0.0001M. Para todas las soluciones se midió el pH, antes y después de la imbibición. Ya teniendo las soluciones, se pusieron a embeber los frutos durante dos horas en los distintos tratamientos. La siembra se llevó a cabo de la misma manera que en los otros experimentos.

5.10.5. Análisis de datos

Se contó el número de plantas obtenidas por tratamiento y se registró en porcentajes. Se hizo anova (Statgraphics plus) con los porcentajes transformados para determinar si hubo diferencias significativas entre tratamientos.

5.11. EXPERIMENTO 6: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por dos horas en agua, tres concentraciones de ácido giberélico, con pH ajustado y el testigo.

Con el propósito de eliminar el factor de acidificación durante la imbibición, provocado por las concentraciones del ácido giberélico, se procedió a repetir el

experimento anterior, pero ajustando a pH 5 tanto las soluciones del ácido giberélico y el agua.

5.11.1. Diseño experimental

Germinación de semillas en frutos almacenados en ambiente y refrigeración y embebidos por 2 horas en agua, distintas concentraciones de ácido giberélico, ajustadas a pH 5 y el testigo – experimento bifactorial. El diseño experimental empleado fue completamente al azar con 5 repeticiones de 10 frutos por tratamiento (500 frutos).

5.11.2. Combinación de factores de variación y tratamientos. Unidades experimentales.

Germinación de semillas en frutos almacenadas en frío y al ambiente; y estimuladas con Ácido giberélico.

Primer factor almacenamiento – 2 niveles: ambiente 25°C y refrigerado 5°C

Segundo factor – 5 niveles, ácido giberélico [0.01M, 0.001M, 0.0001 M], agua y testigo todos ajustados a pH 5.

Se utilizaron 5 repeticiones de 10 frutos para cada tratamiento [ambiente (25°C) y refrigerado (5°C), con tres concentraciones de ácido giberélico, agua y testigo-sin imbibición], con ajuste a pH 5

$5 \times 10 \times 2 \times 5 = 500$ frutos. Unidad experimental: maceta con 10 frutos.

5.11.3. Variables evaluadas

Emergencia de plántulas de frutos almacenados en frío y estimulados con ácido giberélico

5.11.4. Conducción del experimento

El experimento se realizó de la misma manera que el anterior, únicamente se modificó el pH a 5 para todas las soluciones iniciales. Se midió el pH después de la imbibición y se registraron los datos.

Los frutos se sembraron el 21 de agosto del 2006, por lo que las semillas tenían 7 meses de almacenadas, con respecto al día de colecta. Para su siembra se siguió el mismo procedimiento que para el experimento anterior. Se elaboraron las soluciones con ácido giberélico a diferentes concentraciones y se ajustaron a pH 5. Se cortó el ala de los frutos para dejarlos embeber durante 2 horas en los tratamientos, el agua también se ajustó a pH 5. A todas las soluciones se les midió el pH, antes, se ajustó a pH 5 y se volvió a medir después de la imbibición. Habiendo cumplido con el tiempo de imbibición, se pesaron nuevamente y se registraron los datos. La siembra se llevó a cabo de la misma manera en la que se efectuó en los otros experimentos.

5.11.5. Análisis de datos

Se contó el número de plantas obtenidas por tratamiento y se registró en porcentajes.

6.0.

RESULTADOS

6.1. Experimento 1: Determinación de número de semillas por fruto y viabilidad.

Número de lóculos por fruto

Debido a que en la literatura consultada, no se encontró información en relación al número de lóculos y semillas por fruto, así como su ubicación en el mismo, se realizó este estudio que nos permitió conocer el promedio de lóculos y semillas por frutos y en qué lóculos se presentaban con mayor frecuencia semillas. El análisis de datos se realizó a partir de la observación de 200 frutos y se obtuvo que el 38.5% ,77 frutos presentaron 4 lóculos, el 31%, 62 frutos con tres y el 30.5%, 61 frutos tenían dos lóculos. El número promedio de lóculos por fruto fue de 3 (Figura 4).

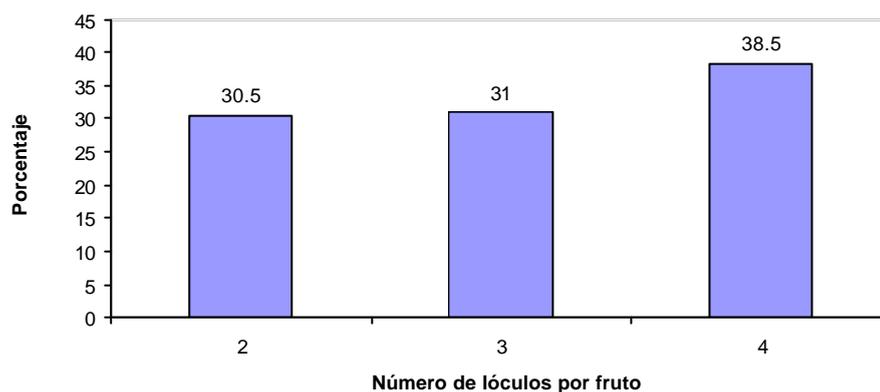


Figura 4. Porcentaje de frutos de Cuachalalate con 2, 3 y 4 lóculos. Colectados en Xochipala, Gro. Ntotal = 200 frutos, media de 20 observaciones.

Semillas por lóculo

En general se esperaba que todos los frutos tuvieran semilla, sin embargo, en Cuachalalate este supuesto no se cumplió porque sólo 90 frutos de 200 (45%) tenían semilla. Del total de frutos que contenían semilla, 78 (39%) presentaron una, 11 (5.5%) dos semillas y solamente un fruto (0.5%) presentó 3 semillas. El porcentaje más alto (55%) correspondió a frutos sin semilla (Figura 5). El hecho de que más del 50% de frutos

no tenga semillas puede explicar el bajo porcentaje de germinación en esta especie, cuando procede la germinación de las semillas dentro del pericarpio y sin considerar la viabilidad de la semilla. La media general fue de 0.515 semillas por fruto, esto es que solo la mitad de los frutos presenta al menos una semilla.

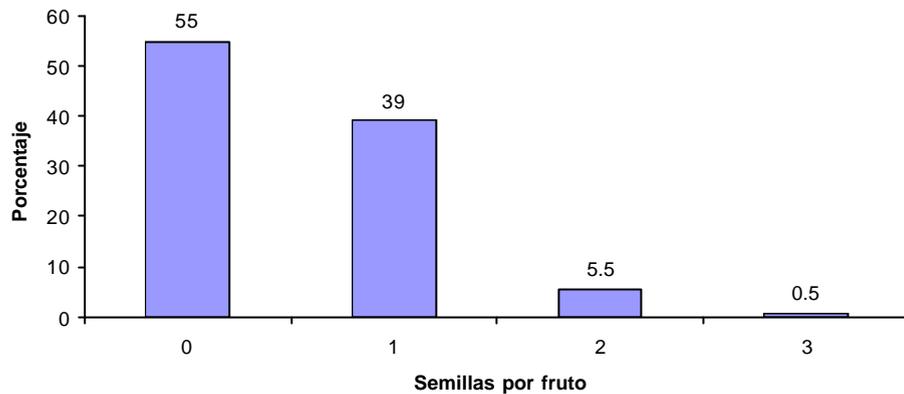


Figura 5. Porcentaje de frutos de Cuachalalate, con 0, 1, 2 y 3 semillas. Colectados en Xochipala, Gro. Ntotal = 200 frutos, media de 20 observaciones.

Considerando las 10 unidades experimentales (cada una con 20 frutos), se registraron desde 6 hasta 13 frutos con semilla, poniendo en evidencia la variabilidad que presenta el Cuachalalate. El resultado de presencia de semillas en fruto que se presentó con mayor frecuencia fue 12 frutos con semilla en tres unidades experimentales. La media fue 10.3 semillas por unidad (Figura 6).

Dado que el material es de origen silvestre, es de esperarse la variabilidad en la presencia de semillas, debido a que no han tenido un proceso de selección.

Con estos valores se logra tener una idea del número de plantas que se pueden obtener por lote, sin considerar su viabilidad.

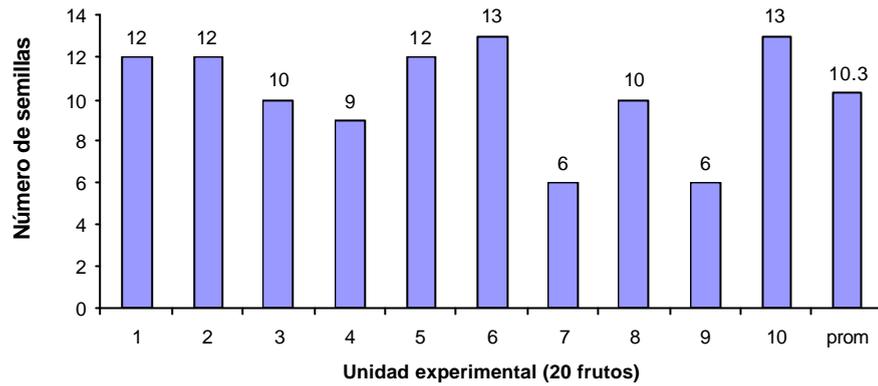


Figura 6. Número de semillas observadas por repetición de 20 frutos de Cuachalalate, colectados en Xochipala, Gro. $N_{total} = 200$ frutos, media de 20 observaciones.

Cuando se consideró en qué lóculo se ubicaban las semilla, se logró determinar que en el lóculo 2 se presentaron con mayor frecuencia, siendo superior estadísticamente a los lóculos 1 y 3, que no presentan diferencias entre ellos ($F = 19.126$ y $NS 0.00001$);. Esto sugiere que los lóculos centrales permiten un mejor desarrollo de la semilla (Figura 7).

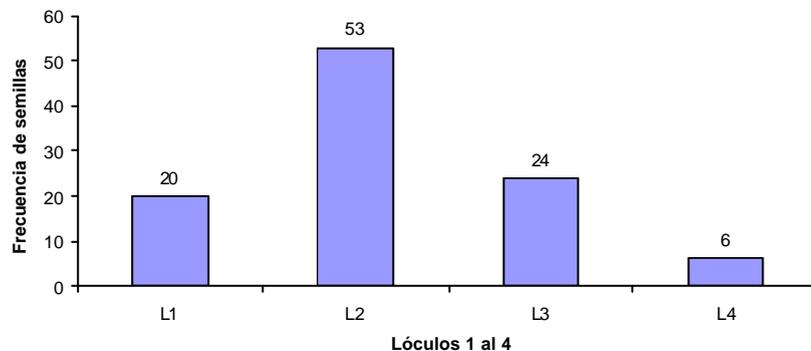


Figura 7. Frecuencia de semillas en relación con la posición del lóculo en 200 frutos de Cuachalalate, colectados en Xochipala, Gro. $N_{total} = 200$ frutos, media de 20 observaciones.

Viabilidad de semillas de Cuachalalate

El promedio general de semillas viables obtenido con la prueba de TTC fue de 31% (Figura 8). Pero se observó variabilidad en la respuesta entre los grupos, que fue desde el 10% (2 semillas viables), hasta el 50% (10 semillas viables en 20 frutos). En esta prueba nuevamente se evidencia la variabilidad que existe en los frutos utilizados. Con base en los resultados de viabilidad obtenidos se espera que la germinación promedio que se puede obtener es de 31% con máximo de 50% y mínimo de 10% (Figura 9), asumiendo que todas las semillas viables germinan.

Tomando en cuenta lo anterior, sería importante hacer experimentos de viabilidad con esta especie, incrementando el número de repeticiones para eliminar posibilidades de error debidos a muestreo. Por ejemplo, en estudios de viabilidad en otras especies como maíz, cebada y trigo, se utilizan dos repeticiones de 150 a 200 semillas (Moreno, 1996). Si utilizamos mayor número de repeticiones, esto contribuirá a tener menor variabilidad, por lo que se debe continuar trabajando para establecer porcentajes de viabilidad confiables. En casos donde es difícil conseguir las semillas, se pueden utilizar dos repeticiones de 50 o una de 100 semillas (Moreno, 1996). Para el caso del Cuachalalate, se emplearon 5 repeticiones de 20 frutos, de acuerdo al recomendado por Moreno (1996), sólo que en este caso se utilizaron 5 repeticiones con lo cual la confiabilidad se incremento.

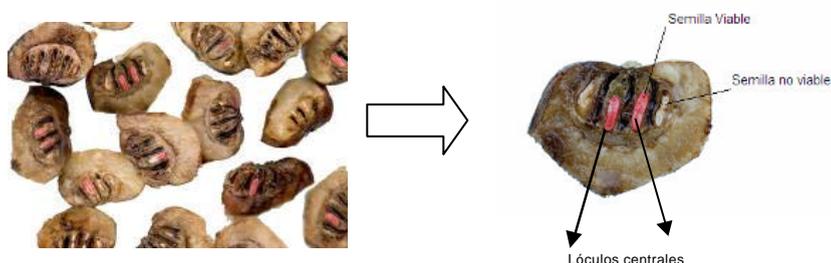


Figura 8. Evaluación de semillas viables con TTC al 5% durante 12 horas, en frutos de Cuachalalate, colectados en Xochipala, Gro.

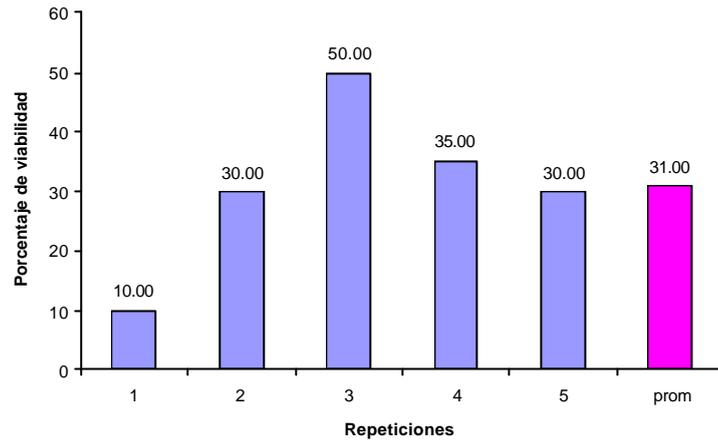


Figura 9. Porcentaje de viabilidad en semillas de Cuachalalate tratadas con Tricloruro de Tetrazolio al 5% durante 12 horas. Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 100$ frutos, media de 20 observaciones

6.2. Experimento 2: Germinación de semillas en frutos completos y lóculos con 0, 3, 6 y 9 horas de imbibición.

El peso inicial de los frutos secos, fue de 5.48 g en promedio con 0 hrs., a 3 hrs. de imbibición fue cuando se obtuvo el mayor incremento en el peso (15.12 g); posteriormente fue aumentando pero en menor escala (Figura 10).

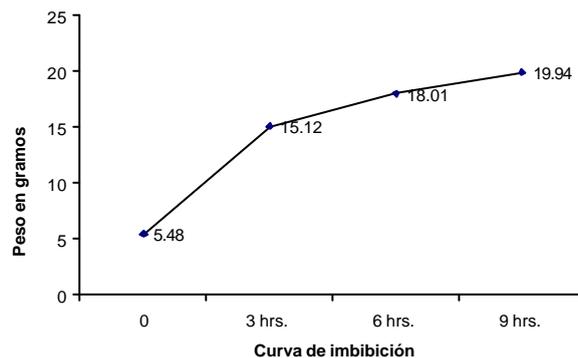


Figura 10. Peso promedio (g) de frutos de Cuachalalate embebidos por 0, 3, 6 y 9 hrs. Colectados en Xochipala, Gro. $N_{total} = 400$, media de 100 observaciones. Edad: 4 días respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 18 de enero de 2006.

La dinámica de germinación en las semillas de frutos de Cuachalalate, fue más lenta en comparación con las semillas de los lóculos. En los frutos, la emergencia de plántulas se observó hasta los 30 días aproximadamente, obteniendo mejores resultados con los tiempos 0 y 9 hrs de imbibición, sin presentar diferencias significativas entre ambos. Los resultados obtenidos para frutos, presentaron porcentajes de germinación por debajo de los valores esperados en las pruebas de viabilidad (Figura 11). El porcentaje de germinación para 0 y 9 hrs fue 8%, el mínimo esperado era de 10% y el máximo de 50%, según las pruebas de viabilidad. Para frutos los porcentajes de germinación fueron de 4% a 8%.

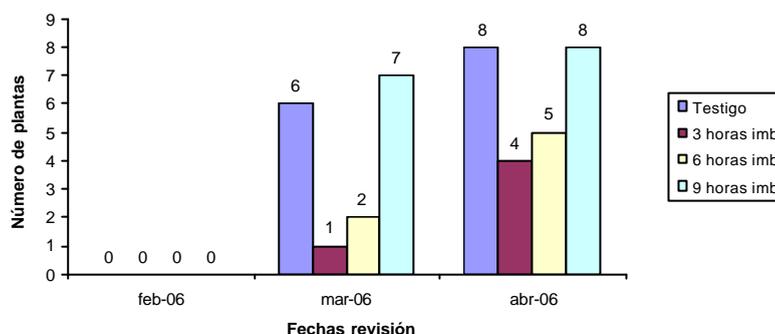


Figura 11. Dinámica de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate expuestas a 0, 3, 6, y 9 hrs. de imbibición. Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 400$, media de 100 observaciones, repeticiones de 10 frutos para cada uno de los 4 tratamientos. Edad: 4 días respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 18 de enero de 2006.

El anova para frutos y lóculos mostró diferencias significativas ($F=10.198$ y $NS=0.0023$), siendo mayor el porcentaje para lóculos, que para frutos. La mejor respuesta de germinación se obtuvo con lóculos, posiblemente se deba a que solamente se escogieron los centrales, descartando los laterales. El estudio anatómico mostró que los lóculos centrales presentaban con mayor frecuencia semillas y germinaron con mayor rapidez,

debido a que hubo mayor superficie de contacto con el agua y el sustrato y menor resistencia a estructuras protectoras.

Las semillas de los lóculos presentaron germinación más rápida que en los frutos, ya que desde el primer mes se obtuvieron plántulas (Figura 12). Aunque el anova para los tratamientos con lóculos no mostró diferencias significativas ($F = 0.66$ y $NS = 0.5893$) entre éstos, se observó la tendencia de mayores porcentajes de germinación con 3 hrs. de imbibición, 10 plantas = 20% germinación. En lóculos los porcentajes de germinación fueron más altos, 8% con 4 plantas, 12%, 16% y 20% con 10 plantas cada uno.

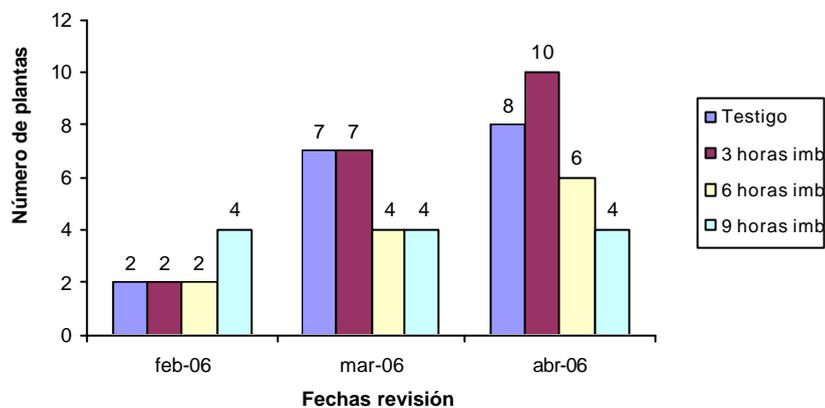


Figura 12. Dinámica de Germinación de semillas en lóculos de Cuachalalate expuestas a 0, 3, 6, y 9 hrs de imbibición. Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{\text{total}} = 200$, media de 50 observaciones. Edad: 4 días respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 18 de enero de 2006.

Aún sabiendo que con los lóculos se obtuvieron mejores porcentajes de germinación que con frutos, se decidió trabajar con frutos completos debido a que para la obtención de los lóculos se presentaron problemas técnicos que requerían de mayor tiempo por la dificultad para su extracción y la falta de homogeneidad en el tamaño de los mismos.

6.3. Experimento 3: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate a 10 tiempos de imbibición desde 30 min. Hasta 48 horas (2280 min).

Ya que en el experimento anterior no se observaron diferencias significativas entre tiempos de imbibición, en este experimento se utilizaron mayor número de tratamientos, con el fin de determinar si este parámetro ejerce algún efecto en la respuesta. Se evaluó la germinación para distintos tiempos de imbibición desde 30 min. hasta 48 hrs.

El anova mostró que no hubo diferencias significativas entre los tiempos de imbibición ($F= 0.46$ y $N.S.= 0.8904$), sin embargo, en la gráfica se observó la tendencia positiva a obtener mejores resultados entre 1 y 2 horas de imbibición (Figura 13).

En la mayoría de los tratamientos hubo germinación a partir de la segunda semana y solo con 180 min (3 hrs), 360 min (6 hrs) y 720 min (12 hrs) se presentó en la primera semana. Sin embargo, el mayor número de plantas (12 plantas) se obtuvo en los tratamientos de 60 min (1hr) y 120 min (2hrs), pero hubo resultados de germinación parecidos (10 plantas) a los 2880 min (48 hrs), lo que implica que los tiempos de imbibición no influyen en la germinación.

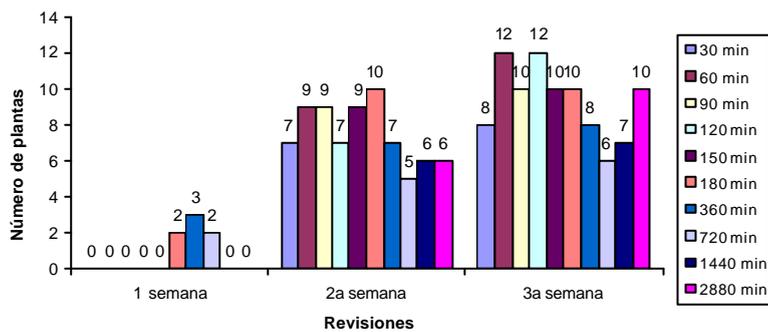


Figura 13. Dinámica de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate embebidas por 10 tiempos, colectadas en Xochipala, Gro., $N_{total} = 500$, media de 50 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.

Los porcentajes de germinación obtenidos fueron del 12% al 24%, los cuales corresponden con los resultados obtenidos en las pruebas de viabilidad, donde los porcentajes iban del 10% al 50% con promedio de 31%. Los tratamientos que presentaron mayor porcentaje de germinación fueron con 60 y 120 min, donde se logró el 24% (Figura 14).

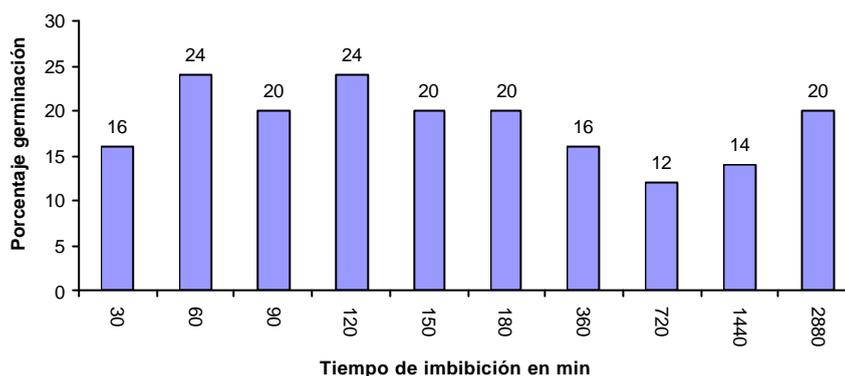


Figura 14. Porcentaje de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate con 10 tiempos de imbibición, colectadas en Xochipala, Gro. $N_{\text{total}} = 500$, media de 50 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.

El peso promedio de los frutos secos es 5.5 g y presenta incremento considerable a partir de los 30 min de imbibición, manteniéndose sin cambios considerables hasta los 720 min, cuando presenta mayor absorción de agua. Sin embargo, de acuerdo a los resultados de germinación, desde que inicia la imbibición las semillas logran su hidratación y desencadenan el metabolismo que las conducirá a la elongación y emergencia de la radícula (Figura 15).

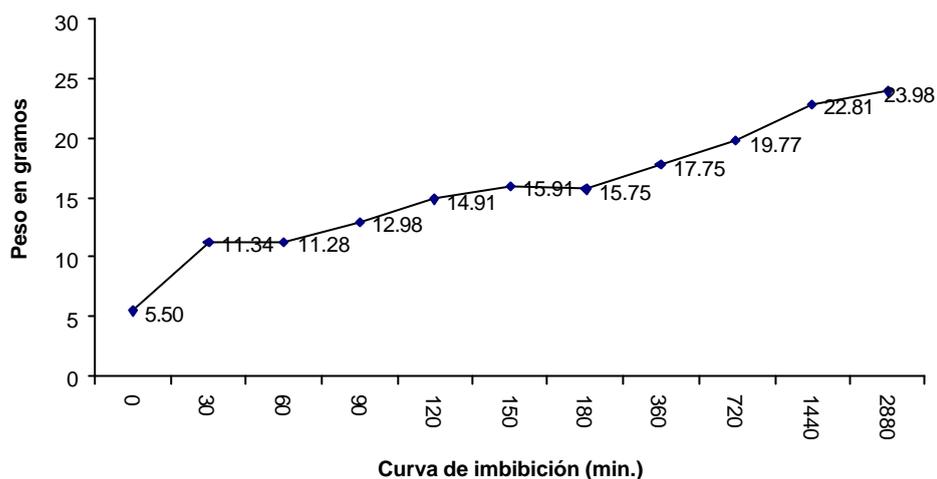


Figura 15. Peso promedio (g) para grupos de 20 frutos de Cuachalalate, expuestos a 10 tiempos de imbibición y el testigo (50 frutos por tratamiento), colectados en Xochipala Gro. $N_{\text{total}} = 550$, media de 50 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.

Por las características de los frutos, el comportamiento de la curva de imbibición puede indicar que el primer incremento en el peso puede corresponder a la absorción de agua por la pared del pericarpio y los incrementos subsecuentes a la imbibición de las semillas.

6.4. Experimento 4: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate a 3 temperaturas de imbibición y con 5 tiempos de exposición y el testigo.

Se hizo el análisis de varianza evaluando los tratamientos, que trataban de sembrar un golpe de calor con diferentes tiempos de imbibición. Para la temperatura sí se encontraron diferencias significativas ($F= 14.51$ y $NS= 0.0006$), siendo la temperatura ambiente (25°C) la que favoreció la germinación con 7 plantas por tratamiento (16.25%). La germinación a 60°C fue mínima, con promedio de 2 plantas por tratamiento (5.5%), mientras que para 80°C no se observó germinación (Figura 16). Para los tiempos de imbibición el anova no mostró diferencias significativas ($F= 1.13$ y $NS= 0.3609$).

En el análisis de rango múltiple para germinación por temperatura, se observó claramente que la temperatura ambiente (25°C) presentó mayor respuesta germinativa en comparación con 60°C y 80°C ($F= 14.51$ y $NS= 0.0006$); sin embargo, no hubo diferencia entre los tratamientos a 25°C. El tratamiento de 40 min, a temperatura ambiente (25°C) fue el que mostró el mayor número de plantas derivadas de la germinación.

El tratamiento de 80 °C no se incluyó en las pruebas estadísticas debido a que su porcentaje de germinación fue 0%.

La dinámica de germinación por semanas mostró que en temperatura ambiente se obtuvo el mayor porcentaje de germinación. En la primera semana se observó bajo porcentaje de germinación pero a partir de la tercera semana se obtuvo el máximo. El mejor resultado de germinación se obtuvo con el tratamiento de 40 min a temperatura ambiente (25°C) con 13 plántulas 32.5% (Figura 16).

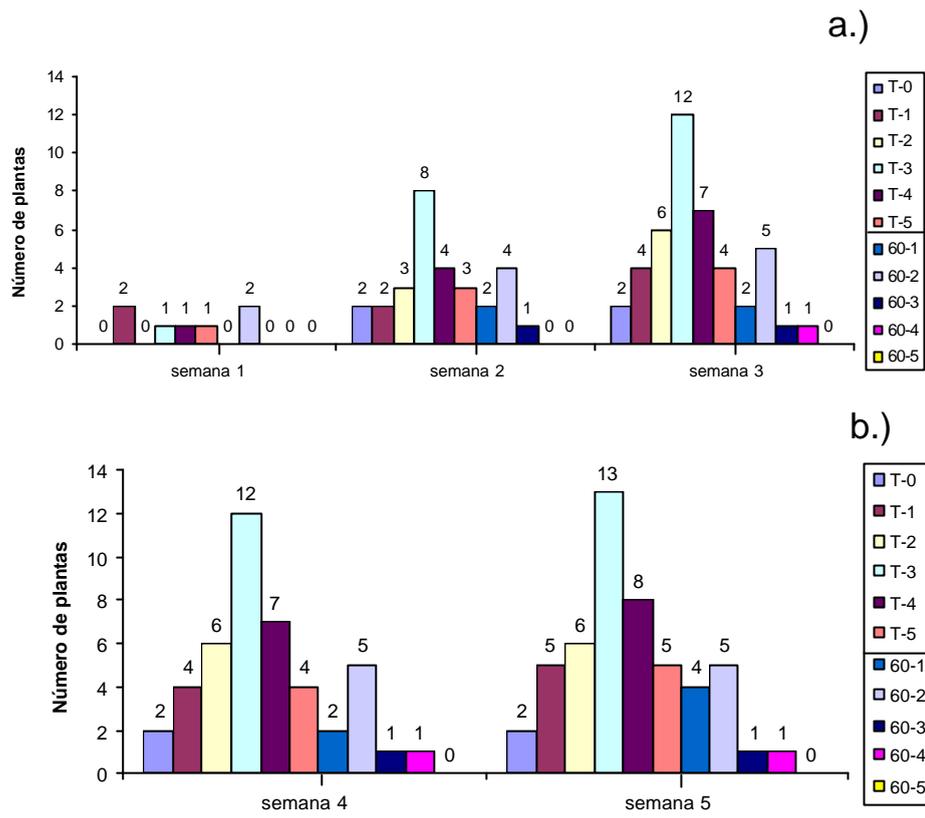


Figura 16. Dinámica de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate, colectadas en Xochipala, Gro., con cinco tiempos de imbibición y el testigo (0=testigo, 1=10 min, 2=20 min, 3=40 min, 4=80 min, 5=160 min) a 2 temperaturas (25°C y 60°C). $N_{total} = 640$ frutos, media de 40 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.

Los porcentajes de germinación para los tratamientos de 60°C en general fueron bajos, el mayor fue 12.5% y el menor 2.5%; en cambio para 25°C el porcentaje de germinación para todos los tratamientos incluyendo el testigo fue 16.25%. Mientras que para 80°C el porcentaje de germinación fue 0, por lo que no se incluyó en la gráfica (Figura 17).

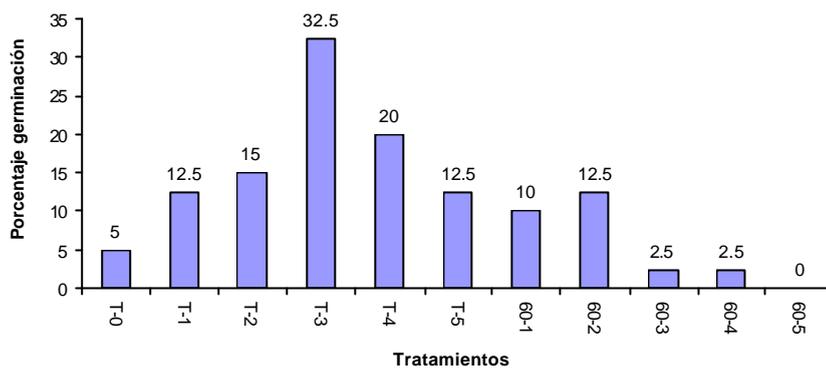


Figura 17. Porcentaje de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate, con cinco tiempos de imbibición y el testigo 25°C (0=testigo, 1=10 min, 2=20 min, 3=40 min, 4=80 min, 5=160 min) a 2 temperaturas (25°C y 60°C), colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 640$ frutos, media de 40 observaciones. Edad: 2 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de marzo de 2006.

6.5. Experimento 5: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por dos horas en agua, tres concentraciones de ácido giberélico y el testigo.

En la dinámica de germinación se observó que el tratamiento con mayor número de plantas obtenidas fue el de imbibición en agua por dos horas, de frutos almacenados a temperatura ambiente (10 plantas). El promedio de plantas obtenido por todos los tratamientos de frutos almacenados a temperatura ambiente fue mayor (6.8%) que el de frutos almacenados en refrigeración (3.8%). Los tratamientos que mostraron mejores resultados fueron el de imbibición de agua y el de ácido giberélico1 [0.01M] en frutos almacenados a temperatura ambiente, con 10 (20%) y 8 (16%) plantas, respectivamente (Figura 18).

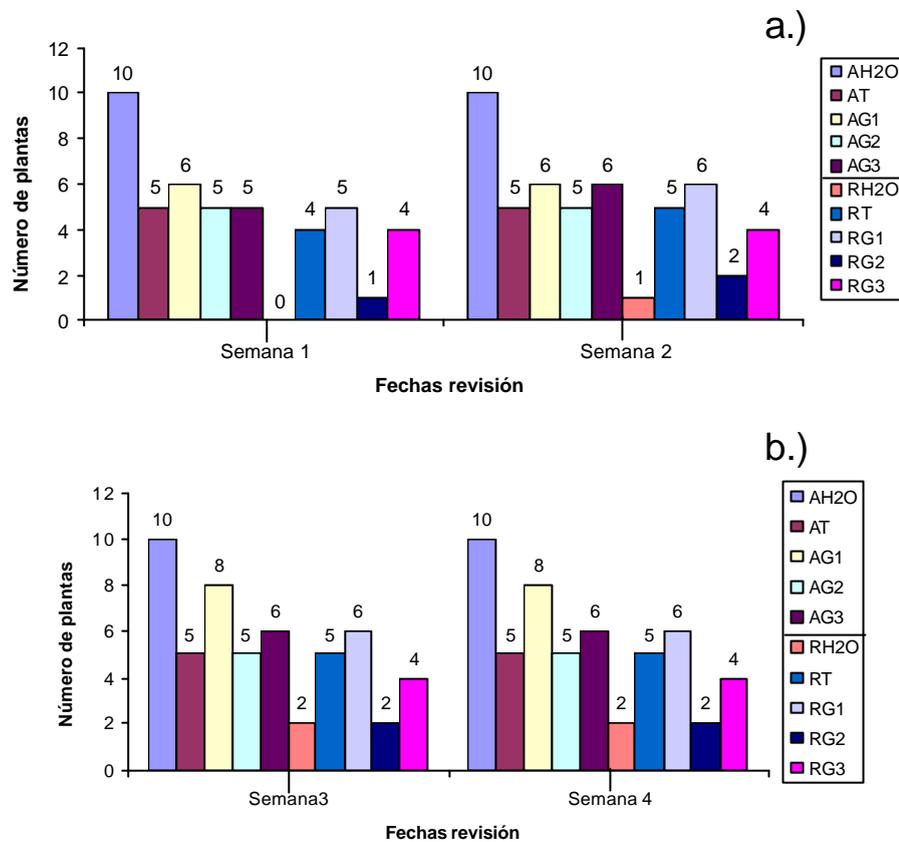


Figura 18. Dinámica de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, expuestas a 5 tratamientos durante 2 horas de imbibición (agua, solución de AG₃ [0.01M, 0.001M y 0.0001M] y el testigo). Colectadas en Xochipala, Gro. N_{total} = 500 frutos, media de 50 observaciones. Edad: 4 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de mayo de 2006.

El tratamiento que presentó mayor porcentaje de germinación fue el de frutos almacenados a temperatura ambiente embebidos en agua por dos horas (20%). Mientras que los tratamientos que presentaron menor porcentaje de germinación fueron frutos almacenados en refrigeración, embebidos en agua y solución de AG₃ [0.001M] (4%), todos por dos horas (Figura 19).

El anova mostró diferencias significativas entre frutos almacenados a temperatura ambiente y refrigerados, siendo mejores los conservados a temperatura ambiente ($F = 4.36$ y $NS = 0.0425$).

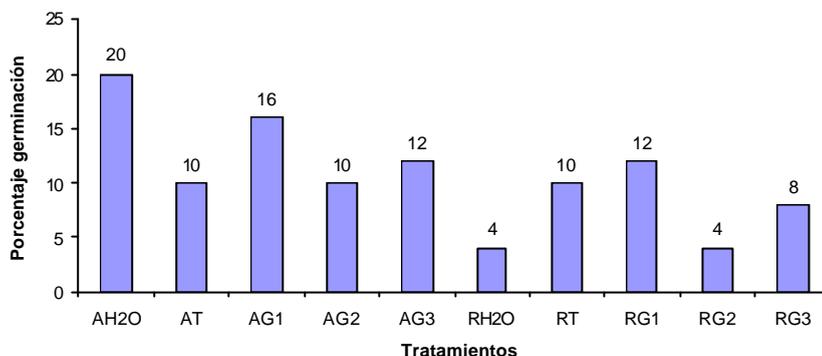


Figura 19. Porcentaje de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por 2 horas en 5 condiciones (agua, solución de AG_3 [0.01M, 0.001M y 0.0001M] y el testigo). Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 500$ frutos, media de 50 observaciones. Edad: 4 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 15 de mayo de 2006.

6.6. Experimento 6: Germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas por dos horas en agua, tres concentraciones de ácido giberélico, con pH ajustado a 5 y el testigo

El tratamiento que obtuvo mayor número de plantas (2 plantas), al igual que en el experimento anterior, fue en frutos almacenados a temperatura ambiente, embebidos en agua (Figura 20).

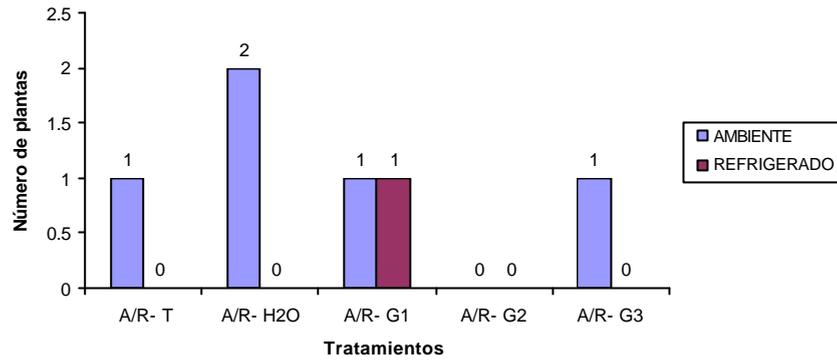


Figura 20. Número de plantas obtenidas a partir de la germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, embebidas durante 2 horas en 5 tratamientos (agua, solución de AG_3 [0.01M, 0.001M y 0.0001M] ajustados a pH5 y el testigo). Colectadas en Xochipala, Gro. $N_{total} = 500$ frutos, media de 50 observaciones. Edad: 7 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 21 de agosto de 2006.

Los porcentajes de germinación fueron de 0% para el 50% de los tratamientos y de 2% a 4% para los cinco tratamientos restantes (Figura 21). El tratamiento que presentó mejores resultados fue imbibición en agua de frutos almacenados a temperatura ambiente, sin embargo el número de plantas obtenidas fue muy bajo para todos los tratamientos.

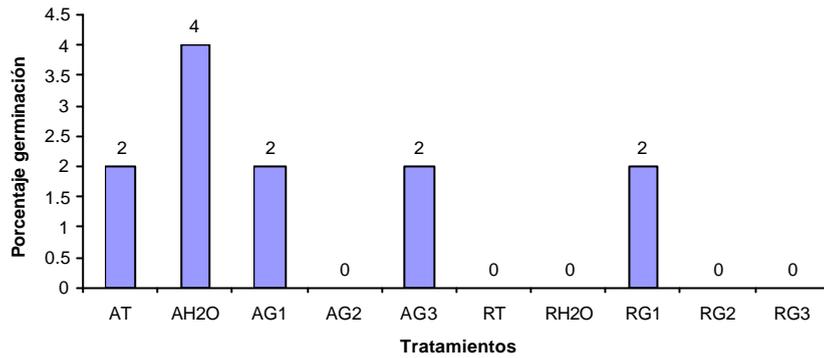


Figura 21. Porcentaje de germinación de semillas en frutos de Cuachalalate almacenadas a temperatura ambiente y en refrigeración, con 5 tratamientos por 2 horas de imbibición (agua, solución de AG_3 [0.01M, 0.001M y 0.0001M] ajustados a pH 5 y el testigo). Colectadas en Xochipala, Gro. Ntotal = 500 frutos, media de 50 observaciones. Edad: 7 meses respecto a la fecha de colecta 14/01/06. Siembra: 21 de agosto de 2006.

7.0.

DISCUSIÓN

El Cuachalalate que se desarrolla en Xochipala, Gro., se encuentra formando pequeños grupos de plantas dentro de la vegetación de Selva Baja Caducifolia, como lo mencionan Pennington y Sarukhan (1968). Los árboles de esta especie dioica florecen de mayo a julio y sus flores femeninas forman frutos abultados con estigmas persistentes, sobre los pedicelos aplanados y acrescentes, hasta formar una especie de ala, de 3 a 4 cm.

7.1. Anatomía

El estudio anatómico preliminar realizado a partir de frutos en desarrollo, permitió observar un óvulo hemítropo y unitégmico (Fig. 22), características que coinciden con la descripción de Niembro (1989).

De la anatomía del fruto y de la semilla poco se conoce y son escasos los libros y artículos que hablan de ésta. Bullock y Solis-Magallanes (en Briones et al., 1999) mencionan que el Cuachalalate contiene una semilla por fruto.

La disección de cien frutos maduros, mostró la presencia de 2 a 4 celdas o lóculos de consistencia fibrosa, donde se podían encontrar de una a tres semillas. Dentro de las celdas o lóculos se observó una capa gruesa, muy dura, lisa en su interior y rugosa en el exterior, de color marrón por fuera y amarilla al interior. Siendo la familia Julianiaceae cercana a la Anacardiaceae, se cuenta con reportes de que el endocarpo (esclerocarpo) de esta última, consiste de braquiesclereidas, fibras y elementos vasculares y se desarrolla de la epidermis interior y del tejido adyacente de la pared del ovario (Johri et al., 1992), lo cual se relaciona con la capa dura y gruesa mencionada anteriormente. En seguida se observó una capa delgada membranosa de color café rosada, que cubría al embrión; esta última fue descrita por Niembro (1989) como la cubierta seminal membranosa. Entre esta capa y el embrión no se presentó ningún material, denotando la ausencia de endospermo.

Este dato coincide con la descripción de Netolitzky (1926, en Corner, 1976), que señala a la semilla de la familia Julianiaceae, exalbuminosa (carente de endospermo).



Figura 22. Corte sagital de fruto de Cuachalalate que muestra óvulo hemítropo y unitegumentado.

Se observó que el embrión, de aproximadamente 5 mm de largo y que llenaba por completo este espacio, consta de dos cotiledones planos, de cuyos bordes surge la radícula grande y curvada (acumbente) (Fig. 23), dato que coincide con la descripción de Niembro (1989).

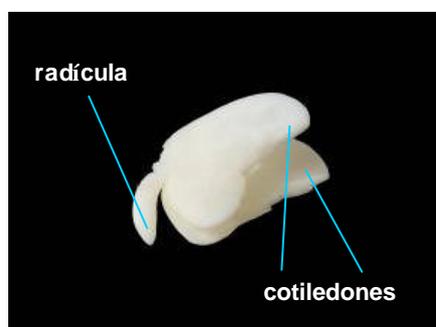


Figura 23. Embrión de Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*)

Zárate (1984) en su trabajo con Cuachalalate, menciona que todos los frutos tienen 2 semillas vanas y una viable. El análisis de cien frutos de Cuachalalate hidratados y disectados en este trabajo, mostró que el 55% no contenían semillas en sus lóculos; el 39% tenía una semilla, el 5.5% dos y el 0.5% (un fruto) tres semillas. Entre las alternativas para explicar el por qué el 45% de los frutos presentan de una a tres semillas se plantea:

? La compatibilidad de los granos de polen con el estigma de las flores femeninas, favorecería el desarrollo del tubo polínico sólo de algunos granos de polen.

Si los granos de polen logran germinar y formar su tubo polínico, se llevará a cabo la doble fecundación de los óvulos maduros, donde se tendrá el desarrollo del embrión con sus reservas y cubierta seminal. Es posible que haya una tendencia a fecundar al óvulo del lóculo dos, debido a su ubicación central.

? También cabe la posibilidad de que los óvulos inmaduros no sean fecundados y aborten o que alcancen posteriormente su madurez, sean fecundados y desarrollen una semilla desfasada.

Al tener varios óvulos fecundados en distintas etapas de desarrollo, los embriones pueden diferir en tamaño, capacidad de almacenamiento, potencial de crecimiento o nivel de latencia. Así, es posible que se tenga influencia diferencial de diversos factores, que favorezcan la formación de una semilla a partir del óvulo del lóculo dos.

Por ejemplo, Austin (1972) reportó que las deficiencias minerales en la planta madre afectan predominantemente el número de semillas producidas. Algunos minerales como el nitrógeno, pueden afectar la estructura de la cubierta seminal, el llenado de grano, el contenido de proteínas y hormonas en la semilla, con efectos subsecuentes en la germinación y vigor de las plántulas. Zinkerwicz y Skiba (1978, en Gray y Thomas, 1982) demostraron en trigo de primavera, que el movimiento de nutrientes asimilados desde las hojas hasta las semillas en desarrollo, depende de la disponibilidad de nitrógeno, la cual es particularmente crítica para la acumulación de carbohidratos, durante la fase de llenado de grano.

Así, el Cuachalalate que se desarrolla en Xochipala, Gro., podría contar con heterogeneidad en sus semillas, conocida también como polimorfismo (Silvertown, 1984), debido a diversos factores intrínsecos y ambientales que pueden ejercer su influencia desde

etapas tempranas hasta finales en el desarrollo seminal. Esto se podría corroborar comparando árboles de otras zonas.

7.2. Viabilidad

En el experimento de viabilidad, el anova no mostró diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo en el análisis de rango múltiple, se observaron diferencias entre los grupos 1 y 3, siendo el grupo 1 el menor con 10% de semillas viables y el grupo 3 el mayor, con 50% de semillas viables. Esto muestra la variabilidad de respuesta de la especie y da indicio de la poca homogeneidad germinativa.

Zárate (1984), reporta 80% de semillas viables en Cuachalalate, pero el porcentaje máximo de germinación en su trabajo fue de 37% para el tratamiento de luz constante durante 28 días a 25-27°C (reflejo de la viabilidad máxima), además no señala la presencia de frutos sin semilla. Desafortunadamente en su trabajo no se precisa como se procesaron los frutos y las semillas, por lo que no se puede referir nuestros resultados con los reportes en ese trabajo.

En el caso del Cuachalalate no se tiene conocimiento que sus frutos o semillas sean utilizados como alimento por animales granívoros. Estudios con relación a la dieta del ratón espinoso de abazones *Liomys pictus*, con 12 frutos o semillas encontradas en la región, mostraron que el Cuachalalate fue uno de los más bajos en consumo debido seguramente a los metabolitos secundarios que presenta (Briones-Salas et al., 2006; Briones-Salas y Sánchez-Cordero, 1999). Por lo que se puede decir que los frutos de Cuachalalate no se pierden por depredación.

Los supuestos para explicar el hecho de que el Cuachalalate genere gran cantidad de frutos sin semilla, aproximadamente el 50%, son varios, el primero es que los frutos de Cuachalalate utilizados en esta investigación, presentaban tamaño variable y se colectaron en enero, cuando habían transcurrido seis meses desde el periodo de floración (mayo a

julio). Para agosto y septiembre, aún en temporada de lluvias, algunos frutos habrían alcanzado la madurez y deshidratación paulatina; mientras que otros continuarían en desarrollo y pronto se encontrarían fuera de temporada de lluvias, en condiciones cada vez más drásticas, distintas a las que experimentaron los primeros frutos. Así, algunos de los frutos tendrían sus óvulos en desarrollo o sus embriones en etapas inmaduras, siendo en ambos casos, vulnerables a las condiciones ambientales adversas.

En segundo lugar, si los frutos de Cuachalalate presentaban tamaños distintos, aun cuando ya estaban secos y de color marrón, se podría pensar en un polimorfismo tanto estructural como fisiológico de los mismos, causado por factores ambientales (Silvertown 1984) y además se deberían considerar los polinizadores, su abundancia y frecuencia.

Aunado a ello, puede existir polimorfismo somático y fisiológico no sólo de los frutos, sino de las semillas en el fruto, por su posición. El polimorfismo somático se debe frecuentemente a cambios morfológicos y anatómicos en las cubiertas protectoras parentales que rodean a las semillas. En Cuachalalate, la capa gruesa y de consistencia muy dura, que rodea a cada semilla, podría tener diferentes grados de resistencia o variar en el contenido de inhibidores. A su vez, los embriones de cada semilla pueden tener polimorfismo fisiológico por factores ambientales que actúan durante el desarrollo, la maduración y la dispersión, afectando la latencia embrionaria o las propiedades reguladoras de las estructuras protectoras (Silvertown, 1984).

De acuerdo a Stebbins (1974; en Kigel, 1995), la heterogeneidad en el comportamiento de las semillas tiene valor de supervivencia en ambientes variables, pues magnifica las opciones para la germinación y el establecimiento exitoso de las plántulas.

En cuanto a la viabilidad de las semillas y a su porcentaje de germinación por el tiempo de almacenamiento de las mismas, se observó que no hubo diferencia en los primeros experimentos de 4 días a 2 meses, en comparación con los experimentos finales

(ácido giberélico) cuando tenían de 4 a 7 meses. Sin embargo, fue evidente el efecto inhibitor en la germinación debido al pH5, que afectó hasta a las semillas colocadas en agua.

En *Pistacia atlantica*, (Anacardiaceae), se analizaron tres fechas de siembra, separadas cada una por 20 días, se observó mayor germinación en aquellas semillas que se sembraron en la primera y segunda fecha (Gholami et al., 2007). Esto significa que las semillas que se sembraron primero con menor tiempo de secado, fueron las que sobrevivieron más. En Cuachalalate las semillas respondieron de igual forma hasta los 4 meses y no se pudo determinar si la viabilidad de las semillas se alteró con el avance del tiempo. En cambio en litchi se evaluaron 9 tiempos, de 0 a 15 días y el índice o porcentaje de germinación no se vio afectado (Kiyoshi et al., 2005). Esto podría deberse a que el lapso evaluado en litchi fue corto y demuestra que la capacidad de germinación permanece alta en las primeras fechas de siembra.

7.3. Latencia física

En muchos casos una semilla viable no germinará aunque tenga las condiciones ambientales necesarias para hacerlo debido a la latencia que presentan. De acuerdo con Baskin y Baskin (1998) existen dos tipos de latencia: exógena y endógena. En la primera, alguna característica de la estructura de la semilla incluyendo el endospermo, la testa, o las paredes del fruto, previene la germinación, ya sea por impermeabilidad, resistencia mecánica o presencia de inhibidor. En la segunda, son las condiciones intrínsecas del embrión las responsables de la latencia, como la presencia de inhibidores o la inmadurez del embrión. La latencia exógena puede ser física, por que las cubiertas seminales son impermeables al agua; química, por inhibidores de la germinación y mecánica, debida a estructuras leñosas o duras que restringen el crecimiento. Este tipo de latencia se rompe

por apertura de estructuras especializadas en latencia física, lixiviación en la química y remojo en agua caliente y estratificación en la mecánica.

En la disección de fruto realizada se observó la presencia de capas que protegían a la semilla, entre ellas una capa muy dura que pudiera imponer una resistencia mecánica fuerte al embrión en su proceso de germinación y ser la causante de una latencia exógena.

Turner et al., (2005) encontraron en su trabajo con seis géneros de Rhamnaceae que la latencia física se puede romper con tratamientos de imbibición y calor y depende de características presentes en las semillas como:

1. Características del embrión: mostraron que los embriones de los 6 géneros analizadas eran espatulados.
2. En experimentos de imbibición para determinar la cantidad de agua que toma la semilla, encontraron que los 6 géneros presentaban latencia física que se rompía con tratamiento de agua caliente.
3. Por último probaron el rango de temperaturas para la germinación y encontraron que a altas temperaturas la germinación se vio suprimida.

En el caso del Cuachalalate, las semillas presentaban un embrión grande. De acuerdo con Baskin y Baskin (1998) la latencia física basada en la morfología del embrión está relacionada con embriones grandes, doblados, espatulados, que contienen sus reservas nutritivas en el embrión más que en el endospermo. Dentro de las 15 familias que presentan este tipo de latencia se encuentra la familia *Anacardiaceae* que presenta estrecha relación con la *Julianiaceae*. De acuerdo a Corner (1976) la cubierta seminal de las *Anacardiaceae* no está bien diferenciada y el embrión está protegido por la pared del fruto. Los frutos de ciertos miembros de esta familia presentan latencia física. Por ejemplo: el endocarpo de *Rhus lancea* consiste de cuatro capas: macroesclereidas, osteoesclereidas, braquiesclereidas y células cristalinas que le confieren mucha dureza a esta capa. Estas

características coinciden con las observaciones de la capa dura del fruto del Cuachalalate (*Julianiaceae*) que está en contacto con la cubierta seminal membranosa.

El experimento de curvas de imbibición mostró que en 30 min el peso del fruto se duplicó reflejando la entrada de agua sin impedimento y la absorción de agua continuó hasta 48 hrs., sin embargo, la diferencia de peso más notoria fue en la primera hora. Por lo anterior, se puede concluir que la cubierta seminal de Cuachalalate no es impermeable al agua y que la absorción de agua corresponde en mayor proporción a la hidratación del pericarpio. Si las semillas presentaran latencia, se podría pensar que la restricción a la germinación se relaciona con la cubierta del fruto que está imponiendo resistencia a la expansión del embrión.

En *Empetrum hermaphroditum* se observó que la latencia no se debe a impermeabilidad del endocarpo duro que envuelve a la semilla, sino a la dureza que le impone restricción a la expansión del embrión, por lo que se observa el crecimiento de la radícula antes del crecimiento de los cotiledones (Baskin et al., 2002) En Cuachalalate se observó el crecimiento prolongado de la radícula que emergía del fruto antes que los cotiledones. Aunque en la mayoría de los casos la germinación generó plántulas en las que emergían los cotiledones, en algunos casos éstos últimos se quedaban atrapados dentro del fruto y la plántula moría debido a que no podía extender sus hojas.

Considerando el porcentaje de semillas viables en Cuachalalate, las capas duras podrían estar interviniendo en el bajo porcentaje de germinación, como sucede en *Rhus lancea* (Corner 1976).

Con el tratamiento de agua caliente (60°C y 80°C) en Cuachalalate, se esperaba que las temperaturas elevadas reblandecieran las capas duras y propiciaran mayor germinación, pero los resultados de este experimento mostraron que el porcentaje de germinación en ambos fue menor que en el testigo, por lo tanto el pericarpio del Cuachalalate no está

ejerciendo una resistencia que impida el proceso de emergencia de la radícula y la hipótesis planteada se rechaza.

Esto concuerda con Zárate (1984) quien concluye que el Cuachalalate no presenta latencia exógena, debido a que el lote testigo (25°C – 27°C, con luz y sin remojo) germina mejor que con alternancia de temperatura y remojo.

De acuerdo a los experimentos realizados, las semillas de Cuachalalate no presentaron latencia porque germinaron en todas las condiciones establecidas, excepto con imbibición de agua a 80°C, sin embargo no se puede asegurar que en condiciones naturales, de campo, las semillas presenten algún tipo de latencia.

7.4. Germinación

7.4.1. Frutos y lóculos e imbibición durante cuatro tiempos

En el experimento de germinación de lóculos y frutos, la velocidad de germinación fue más rápida en las semillas de los lóculos que en las de los frutos completos.

Para que la germinación ocurra, debe haber imbibición, el rango inicial de imbibición estará determinado primeramente por la permeabilidad de la cubierta seminal, en segundo lugar por el área de contacto entre semilla y sustrato y por último por la conductividad hidráulica del sustrato (Kigel y Galili, 1995).

Por lo anterior, las semillas en los lóculos presentaron germinación más rápida, debido a que se alteró la resistencia mecánica con el corte y separación de los lóculos, permitiendo que la semilla quedara más expuesta al agua y por lo tanto germinara con mayor rapidez. Baskin y Baskin (1998) mencionan que frutos de *Anemone coronaria*, a los que se les removieron pelos del pericarpo, reducen su tiempo de germinación por 1 ó 2 días.

En semillas de *Zinnia violacea* se estudió el efecto que produce la remoción del pericarpio en el porcentaje y velocidad de germinación, y se encontró que después de 120

horas de haber iniciado la imbibición alcanzaron casi el 100% de germinación. La imbibición y la absorción final de agua se vio acelerada al remover esta estructura, lo cual acortó el tiempo de germinación en relación a las semillas que aún tenían el pericarpio (Miyajima, 1996).

En semillas de *Prunus campanulata*, se evaluó la germinación de semillas intactas (semillas más endocarpo) y de semillas a las que se les removió el endocarpo y la testa. Se observó incremento en la germinación de las semillas a las que se les removió el endocarpo (Chen et al., 2007).

Los lóculos de Cuachalalate presentaban tres capas envolviendo a la semilla mientras que los frutos contenían toda la estructura samaroides, lo que representó mayor resistencia a la emergencia del embrión.

Al final del experimento, el porcentaje de germinación resultó ser mayor en las semillas de los lóculos que para las de los frutos, pero se optó por trabajar con frutos completos para los siguientes experimentos, debido a que la obtención de los lóculos era compleja y además se podían estar descartando algunas semillas presentes en lóculos laterales.

En cuanto a la imbibición por 0, 3, 6 y 9 hrs., no se observaron diferencias significativas, solamente se observó que el agua fue el disparador de la germinación en el Cuachalalate, y no importaba el tiempo de exposición, las semillas remojadas, germinaban en mayor porcentaje que aquellas que no fueron embebidas. En *Passiflora edulis*, el remojo a distintos tiempos no influye en el porcentaje de germinación, ni en la velocidad de emergencia de plántulas (Sobreira et al., 2004).

7.4.2. Efecto del tiempo de imbibición en la germinación

Como no se observaron diferencias significativas entre los cuatro tiempos de imbibición se propuso emplear intervalos desde 30 minutos hasta 48 horas, para encontrar el mejor tiempo de imbibición.

A partir de los 150 min (2.5 hrs.) hasta 2880 min. (48 hrs.), las semillas continuaban absorbiendo agua y considerando el porcentaje de germinación (20%) se puede inferir que no sufrieron daño.

Aparecida et al., (2006) trabajaron con Camu-Camu (*Myrciaria dubia*), y probaron seis tiempos de imbibición (0, 4, 8, 12, 24 y 36 horas). En sus resultados, obtuvieron que la germinación de Camu- Camu no es influenciada por el tiempo de imbibición.

Zárate (1984) en su trabajo con Cuachalalate reporta tiempos de imbibición con frutos completos de 24 a 96 horas, sin embargo, no incluye tiempos menores a 24 horas. Los porcentajes de germinación conseguidos en sus tratamientos fueron de 25% a 29% y no hubo diferencias significativas entre tratamientos.

Los porcentajes de 12% a 24% obtenidos en el presente trabajo de imbibición (30 min a 48 horas) apenas alcanzaron el mínimo que reporta Zárate (1984). En las pruebas de germinación, los resultados más bajos se observaron a 12 y 24 horas de imbibición. Los porcentajes más altos fueron para 60 y 120 min.

El anova no presentó diferencias significativas entre los tiempos de imbibición, la gráfica de germinación mostró valores altos tanto en las 3 primeras horas, como a las 48 horas de imbibición. Los valores de los tratamientos restantes fueron ligeramente mas bajos, lo que se puede deber a la falta de semillas en los frutos.

7.4.3. Imbibición a altas temperaturas

En el experimento de germinación a distintas temperaturas y tiempos de imbibición se escogieron 60°C y 80°C como altas temperaturas, porque en la región donde se colectaron los frutos, Xochipala, Guerrero, las capas superficiales del suelo tienen altas

temperaturas por la irradiación solar, lo que se trató de simular estas condiciones ambientales con un golpe de calor a las semillas.

Taiz y Zeiger (2002) reportan que semillas secas pueden soportar temperaturas hasta de 120°C; sin embargo, en Cuachalalate se observó baja respuesta para las altas temperaturas en remojo. Posiblemente esta respuesta se debió a que las temperaturas que se eligieron fueron demasiado altas o bien los tiempos de imbibición fueron largos, pudiendo desnaturalizar algunas proteínas estructurales o enzimas, por lo cual no se favoreció el proceso de germinación.

En semillas impermeables de algunas especies, la imbibición a altas temperaturas causa permeabilidad, sin embargo para el Cuachalalate se propuso para dar un golpe de calor como estímulo para la germinación. Imbibición de semillas de *Acacia falcata* a 80°C durante 10 min resultó en alto porcentaje de germinación. En otras especies como *A. terminalis* y *A. suaveolens*, Baskin y Baskin (1998) señalan que a 100°C por 20, 100 y 200 seg., los resultados de germinación se vieron afectados, indicando posible daño en los embriones. En trabajos anteriores con Cuachalalate, imbibición a 97 °C durante 5 y 10 minutos, no mostraron resultados positivos (Zárate, 1984), debido probablemente a que las altas temperaturas dañaron al embrión.

La temperatura es un factor determinante en la germinación, pues una variación de $\pm 5^{\circ}\text{C}$ podría afectar seriamente las condiciones para que ésta se lleve a cabo. En *Annona montana* se evaluó el efecto de cuatro temperaturas (20, 25, 30 y 35°C) en la germinación y se observó que a 25°C y a 30° se obtuvieron los mayores porcentajes de germinación, mientras que a 20° y a 35°C no se observó germinación (Vilar et al., 2005).

En *Oxalis hirsutissima* una planta medicinal brasileña, se probaron distintos tiempos de imbibición (20, 40, 120 y 300 seg) a 70, 85 y 100°C. Los tratamientos que favorecieron la germinación, fueron 300 segundos a 70°C y 40 segundos a 85°C con 89 y

92% de germinación respectivamente. Sin embargo, 300 segundos a 100°C afectaron la germinación, consiguiendo solamente el 4% (Coelho, 2000). Esto permite explicar cómo el cambio en la temperatura puede ser el disparador de la germinación o bien afectar las condiciones de la semilla y suprimir por completo la capacidad germinativa.

Corbineau et al., (2002), estudiaron la pérdida de viabilidad en semillas de girasol (*Helianthus annuus*) causada por altas temperaturas, relacionada con el metabolismo, daño en la membrana y composición lipídica. En su estudio encontraron que las semillas remojadas a 45°C, disminuían su capacidad de germinación a temperatura óptima para ello (25°C). Casi todas las semillas embebidas a 45°C por 72 horas murieron y no pudieron germinar a esta temperatura. Si el tratamiento a 45°C no excedía de 48 horas y las semillas posteriormente se transferían a 25°C, éstas recuperaban normalmente su metabolismo. La pérdida de viabilidad en las semillas se asoció a la degeneración en la membrana, causada por peroxidación de lípidos.

En Cuachalalate a 80°C no se presentó germinación, posiblemente debido a que el embrión sufrió daño térmico por desnaturalización de proteínas o por degeneración de sus membranas.

En semillas de okra (*Abelmoschus esculentus*) el tratamiento de calor a 50°C por dos días incrementó la germinación. Se encontró que a mayor madurez de las semillas mejor respuesta al tratamiento (Demir, 2001). Aunque en Cuachalalate, se presentó bajo porcentaje de germinación a 60°C (5.5% total), los tratamientos que mostraron más altos porcentajes, fueron imbibición a 10 y 20 min. Con esto podríamos suponer que las semillas que presentaban mayor madurez fueron las que soportaron la temperatura y respondieron. Los bajos porcentajes de germinación en esta prueba pueden estar relacionados también con el tiempo que se mantuvieron las semillas en almacenamiento (2 meses) ya que solamente el 16.25% es capaz de germinar a temperatura ambiente.

7.4.4. Almacenamiento y ácido giberélico

En Cuachalalate se observó una tendencia a obtener menores porcentajes de germinación con frutos almacenados por 7 meses. La misma respuesta se observó en frijol de soya, donde el porcentaje de germinación y el índice de vigor en semillas almacenadas por 180 días, disminuyó en este lapso (Sharma et al., 2007).

En cuanto a la temperatura de almacenamiento, el porcentaje de germinación de Cuachalalate fue mayor para frutos que permanecieron a temperatura ambiente, que para los refrigerados. Trabajos con piñones (*Araucaria angustifolia*) almacenados durante 26 días a 6 temperaturas distintas (2, 10, 20, 30, 40 y 50°C), mostraron que el porcentaje de germinación más alto, (55%) fue para los piñones almacenados a 20°C, en cambio para las altas y bajas temperaturas el porcentaje de germinación se vio reducido a 1% y 2% para 2°C, 40°C y 50°C (Talamini et al., 2007).

En Cuachalalate, la tendencia a obtener mejores resultados fue para frutos almacenados a temperatura ambiente. La refrigeración bajó considerablemente el porcentaje de germinación en esta planta a partir.

En semillas de seis especies alpinas con tres condiciones de almacenamiento (25°C, desecador (25°C) y refrigeración (4-6°C)), Prakash et al., (2005) encontraron reducción en el porcentaje de germinación conforme avanza el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, en condición de refrigeración y de desecador la viabilidad se extiende por más tiempo. En cinco de las seis especies evaluadas y almacenadas en refrigeración y en desecador a 25°C, (*Rheum emodi*, *Aconitum violaceum*, *Nardostachys jatamansi*, *Polygonum rumicifolium* y *Polygonum amplexicaule*), a partir de los cuatro meses de almacenamiento, se observa pérdida del 50% de viabilidad.

En *Gingko biloba*, se estudió el comportamiento de las semillas después de haber sido almacenadas a 25°C y a 4°C y se observó que las semillas almacenadas a 25 °C no

lograron sobrevivir más de 6 meses, mientras que las almacenadas a 4°C preservaban la viabilidad un año, pero no su capacidad de germinación, ya que esta capacidad disminuía a los 6 meses (Tommasi et al., 2006).

En Cuachalalate, no se evaluó la viabilidad después del almacenamiento, pero se observó una disminución evidente en el porcentaje de germinación a los 7 meses. Con los resultados obtenidos, podemos suponer que los frutos almacenados a temperatura ambiente más de 4 meses, sufren algún deterioro, lo que redujo el porcentaje de germinación, mientras que los frutos almacenados en refrigeración posiblemente sufrieron daño en el embrión o indujeron latencia secundaria.

Bidwell (1979) menciona que el frío es el requisito más importante para el rompimiento del letargo, sin embargo en el caso del Cuachalalate, la refrigeración de sus frutos no incrementó el porcentaje o la velocidad de germinación, sino al contrario. Esto sugiere que para Cuachalalate las bajas temperaturas no estimulan el rompimiento del letargo y se observó una pérdida casi total de viabilidad manifiesta en el porcentaje de germinación en el último experimento.

Varios trabajos han mostrado que algunas semillas pierden su viabilidad al ser almacenadas por varios meses. Por ejemplo el porcentaje de germinación de *Spondias axillaris* (*Anacardiaceae*) es en promedio 43% – 50% con condiciones de luz y riego constantes y altos niveles de humedad en el sustrato. También se ha visto que las semillas de esta especie pierden rápidamente su viabilidad al ser almacenadas por un largo período de tiempo, en un lapso de 5 a 7 meses de almacenamiento, el porcentaje de germinación se redujo a 16%-18.8% en condiciones de laboratorio y 1.7% a 6.7% en campo (Hau, 1999 en Pakkadb et al., 2003).

Ya que los porcentajes de germinación obtenidos en Cuachalalate después del almacenamiento, fueron menores a los alcanzados en los experimentos iniciales, cercanos a

la fecha de colecta, se infiere que la capacidad de germinación podría perderse por el tiempo de almacenamiento. Sería interesante realizar estudios sobre el almacenamiento de frutos de Cuachalalate y probar si la viabilidad de sus semillas se ve afectada con el tiempo y la temperatura.

El ácido giberélico, utilizado para desencadenar el metabolismo de germinación (Bewley y Black, 1978), no tuvo efecto positivo en Cuachalalate a pesar de que se usaron las concentraciones y los tiempos más comunes para estos tratamientos. Esta respuesta concuerda con la obtenida en pruebas preliminares de germinación, por Zárate (1984) quien evaluó el efecto del AG₃ y no obtuvo respuesta.

Existen estudios en amaranto (*Amaranthus pumilus*) que prueban la estimulación de la germinación por ácido giberélico. Las concentraciones utilizadas para este experimento fueron 100, 500 y 1000 mg/L (equivalentes a 0.00028M, 0.0014M y 0.002M respectivamente) con remojo de 24 horas en oscuridad. Los resultados mostraron que con la mayor concentración de AG₃ (0.002 M) se obtiene el porcentaje más alto de germinación (84%) (Norden et al., 2007).

En semillas de *Cercis siliquastrum* tratadas a altas temperaturas para lograr su imbibición, se les aplicó un tratamiento de AG₃ y el porcentaje de germinación obtenido fue 48% con la concentración de 1.4 mM. (Gebre y Karam, 2004). Cabe mencionar que las concentraciones utilizadas para este experimento fueron (AG₃) 0, 0.7, 1.4, 2.1 y 2.8 mM, cuyo equivalente es: 0, 0.0007, 0.0014, 0.0021 y 0.0028 M. Estas concentraciones son semejantes al rango utilizado en Cuachalalate (0.0001, 0.001 y 0.01 M) y sólo la más alta (0.01M) fue superior a las utilizadas por Norden et al., (2007) y Gebre y Karam (2004). Con la concentración de 0.01M se observó el mayor porcentaje de germinación en ambas condiciones de almacenamiento para los tratamientos de ácido giberélico. Sin embargo, los valores obtenidos con imbibición en agua, en frutos almacenados a

temperatura ambiente, fueron superiores a todos los demás, lo cual reveló que los tratamientos con ácido giberélico utilizados no favorecieron el proceso.

Los experimentos con AG₃ se llevaron a cabo a los 4 y 7 meses de almacenamiento de los frutos, a los 4 meses no se observó diferencia en el porcentaje de germinación en los tratados con ácido giberélico, pero si con respecto a la temperatura de almacenamiento. A los 7 meses desafortunadamente se observó una disminución general en el porcentaje de germinación que no permitió observar el efecto del ácido giberélico. Sin embargo la respuesta observada a los 4 meses permite afirmar que el AG₃ no modifica la germinación y los resultados a los 7 meses de almacenamiento indican que la viabilidad de las semillas disminuyó en las dos condiciones de almacenamiento.

Ya que de acuerdo con Khan (1982) las semillas que germinan cuando se les coloca en condiciones favorables de oxígeno, agua y temperatura son quiescentes, las semillas de Cuachalalate se pueden considerar de este tipo.

8.0.

CONCLUSIONES

8.1. Anatomía

El estudio de frutos inmaduros confirmó la presencia de un óvulo hemítropo y unitégmico.

Los frutos maduros presentan de dos a cuatro lóculos que pueden o no tener semillas.

La semilla es exalbuminosa con cubierta seminal membranosa, presenta un embrión con radícula acumbente que llena por completo el volumen del lóculo. Está rodeada por un pericarpio duro y fibroso.

El 55% de los frutos no tenían semilla, el 45% restante presentó de una a tres semillas y fue el lóculo dos, donde se presentaron con mayor frecuencia.

8.2. Viabilidad

La viabilidad de las semillas de Cuachalalate fue del 10% al 50%, con un promedio de 31% en frutos con tres semanas después de la colecta.

8.3. Latencia

Las semillas de Cuachalalate no presentaron restricción a la entrada de agua, por lo que no hay impermeabilidad por parte de la cubierta.

Las semillas reblandecidas con altas temperaturas, tuvieron menor porcentaje de germinación o nula, por lo que se afirma que el embrión es sensible a altas temperaturas.

Los experimentos de germinación indican que las semillas de Cuachalalate son quiescentes.

8.4. Germinación

Las semillas de los lóculos aislados presentaron mayor porcentaje de germinación, que las de frutos completos.

Se observó una tendencia a obtener mejores resultados con dos horas de imbibición.

El tratamiento de imbibición en agua presentó los mayores porcentajes de germinación en comparación con los tratamientos testigo y con diferentes concentraciones de ácido giberélico.

La imbibición a altas temperaturas afectó la germinación.

El porcentaje de germinación se redujo con el tiempo de almacenamiento.

La germinación de semillas almacenadas a temperatura ambiente fue mejor que las almacenadas en refrigeración (5°C) .

El bajo porcentaje de germinación en general, se debe por una parte al bajo porcentaje de semillas presentes en los frutos y también por los bajos porcentajes de viabilidad encontrados.

Los tratamientos con ácido giberélico no incrementaron el porcentaje de germinación.

Debido a la baja respuesta en la germinación se propone que la especie presenta polimorfismo estructural y funcional en sus frutos, ya que el 50% son partenocárpico.

La alta producción de frutos en cuachalalate contrarresta la partenocarpia, la baja producción de semillas y el bajo porcentaje de viabilidad, observados en esta investigación.

A partir de este trabajo se propone que las condiciones para obtener mejores resultados en la propagación sexual de la especie son: utilizar frutos recién cosechados, remojo en agua y mantenimiento continuo de un alto nivel de humedad.

- APARECIDA A. R., NATANEL J., MARTINS G., BALDO A. 2006. Embebicao e germinacao de sementes de Camu-Camu. *Acta Scientiarum Agronomy*, 28 (4):499-501.
- AUSTIN R.B. 1972 en ROBERTS E.H. 1972. *Viability of Seeds*. Vol 5:114-149. Chapman and Hall. London.
- BASKIN C. C. and BASKIN J. M. 1998. *Seeds Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, U.S.A. 666 p.
- BASKIN C. C., ZACKRISSON O., BASKIN J. M. 2002. Role of warm stratification in promoting germination of seeds of *Empetrum hermaphroditum* (Empetraceae), a circumboreal species with a stony endocarp. *American Journal of Botany*, 89 (3):486-493.
- BEWLEY J. D. and BLACK M. 1978. *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination*. Springer-Verlag U.S.A. 106-131.
- BIDWELL R. G. S. 1979. *Fisiología Vegetal*. AGT Editor, México 1° edición en español. 784 p.
- BRIONES-SALAS M; SÁNCHEZ-CORDERO V; SÁNCHEZ-ROJAS B. 2006. Multi-species fruit and seed removal in a tropical deciduous forest in Mexico. *Canadian Journal of Botany*, 84 (3):433-442, 2006.
- BRIONES-SALAS M. and SÁNCHEZ-CORDERO V. 1999. Dietary value of fruits and seeds to spiny pocket mice (*Liomys pictus*) in a tropical deciduous forest in Mexico. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 1999; 34(2): 65-71.
- BULLOCK S. H. y SOLIS-MAGALLANES J. 1990. Phenology of canopy tree of tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica*, 22: 22–35 en BRIONES-SALAS M. and SÁNCHEZ-CORDERO V. 1999. Dietary value of fruits and seeds to spiny pocket

- mice (*Liomys pictus*) in a tropical deciduous forest in Mexico. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 34(2):65-71.
- CHEN S. Y., CHIEN C. T., CHUNG J. D., YANG Y. S., KUO S. R. 2007. Dormancy-break and germination in seeds of *Prunus campanulata* (Rosaceae): role of covering layers and changes in concentration of abscisic acid and gibberellins. *Seed Science Research*, 17 (1): 21-32.
- COELHO M. F. B., ALBUQUERQUE M. C. F., DOMBROSKI J. L. D. 2000. Seed germination of *Oxalis hirsutissima*, medicinal plant of Mato Grosso, Brazil. *Acta Amazonica*, 30 (1): 3-8.
- COLÍN H. y MONROY R., *Prontuario de Árboles de Selva Baja Caducifolia*, SEMARNAP, Primera edición, 1997, México, 79 p.
- CORBINEAU F., GAY-MATHIEU C., VINEL D., COME D. 2002. Decrease in sunflower (*Helianthus annuus*) seed viability caused by high temperature as related to energy metabolism, membrane damage and lipid composition. France, *Physiologia Plantarum*, 116 (4):489-496.
- CORNER E. J. H. 1976. *The Seeds of Dicotyledons. Volume 1*. Cambridge University Press. Cambridge. 156 p.
- CORTES R. P. 1979. *Estudio Bibliográfico de la Planta Denominada Cuachalalate, desde el Punto de Vista de la Toxicología*. (Tesis de Licenciatura) UNAM. México.
- CROCKER W. and BARTON L. V. 1957. *Physiology of Seeds*, Chronica Botanica Waltham, Mass. U.S.A.
- CRONQUIST A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. Columbia University Press. U.S.A. 1262 p.
- DÉCIGA C. M., RIVERO C. I., ARRIAGA A. M., CASTAÑEDA C. G., ANGELES L. G. E., NAVARRETE A. and MATAB R. 2006. Acute toxicity and mutagenic activity

- of Mexican plants used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 110 (2007): 334-342.
- DEMIR I. 2001. The effects of heat treatment on hardseededness of serially harvested okra seed lots at optimum and low temperatures. *Scientia Horticulturae* (Amsterdam), 89(1):1-7.
- GEBRE G. H. and KARAM N. S. 2004. Germination of *Cercis siliquastrum* seeds in response to gibberellic acid and stratification. *Seed Science and Technology*, 32 (1): 255-260 2004.
- GHOLAMI S., HOSSEINI S. M., SAYAD E. 2007. Effect of soil, sowing depth and sowing date on growth and survival of *Pistacia atlantica* seedlings. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (2): 245-249.
- GRAY D. and THOMAS T.H. 1982. Seed germination and seedling emergence as influenced by the position of development of the seed on, and chemical applications to the parent plant. pp. 81-110. En KAHN A. A. 1982. *The Physiology and Biochemistry of seed development, Dormancy and Germination*. Elsevier Biomedical Press. USA. 547 p.
- HERNÁNDEZ F. 1959. *Historia de las Plantas de la Nueva España*. México.
- HAU C. H. 1999. *The Establishment and Survival of Native Trees on Degraded Hillsides in Hong Kong*. (Ph.D. tesis), The University of Hong Kong, Hong Kong, en
- PAKKADB G., TORREA F., ELLIOTTB S., BLAKESLEYA D. 2003. Selecting seed trees for a forest restoration program: a case study using *Spondias axillaris* Roxb. (Anacardiaceae). *Forest Ecology and Management* 182: 363–370.
- HERSCH P. 1996. *Destino Común: Los Recolectores y Su Flora Medicinal*. Colección Biblioteca del INAH. 1ª edición. México. 262 p.

- JOHRI B. M., AMBEGAOKAR K. B., SRIVASTAVA P. S. 1992. Embriología Comparada de Angiospermas. Springer-Verlag, Berlin, 830p.
- KAHN A. A. 1982. The Physiology and Biochemistry of seed development, Dormancy and Germination. 2a edicion. Elsevier Biomedical Press. USA. 547 p.
- KIGEL J. and GALILI G. 1995. Seed development and Germination. Marcel Dekker Inc. U.S.A. 852p.
- KIYOSHI Y. O., RODRIGUES F. G., MACHADO F. J. A., RODRIGUES S. S. 2005. Conservação das sementes de lichia (*Litchi chinensis*), Conservation of lychee (*Litchi chinensis*) seeds. Revista Brasileira de Fruticultura, vol.27 (1) 2005.
- LARA F. y MÁRQUEZ C. 1996. Plantas Medicinales de México Composición, Usos y Actividad Biológica. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- LÓPEZ M.L., MARQUEZ J., MURGUÍA G. et al., 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Las Prensas de Ciencias. 2ª edición. México 178 p.
- MAKINO M., MOTEGI T., FUJIMOTO Y. 2004. Tirucallane-type triterpenes from *Juliania adstringens*. Phytochemistry 65: 891–896.
- MARTÍNEZ M. 1969. Las Plantas Medicinales de México. Ediciones Botas. 5ª edición. México. 857p.
- MIYAJIMA D. 1996. Germination of *Zinnia* seed with and without pericarp. Seed Science and Technology (Switzerland), v. 24(3): 465-473.
- MONROY O.C. y CASTILLO P. 2000. Plantas Medicinales Utilizadas en el Estado de Morelos. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México 1ª edición. 400 p.
- MONROY O.C. y MONROY R. 2006. Las Plantas Compañeras de Siempre: La experiencia en Morelos. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. México 1ª edición. 582 p.

- MORENO E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. UNAM. México. 3ª edición. 393 p.
- NICOLÁS G., BRADFORD K. J., CÔME D., PRITCHARD H. W. 2002. The Biology of Seeds Recent Research Advances. 2003. CABI Publishing. UK. 472 p.
- NIEMBRO R. 1989. Semillas de Plantas Leñosas Morfología Comparada. Limusa Noriega. México.
- NORDEN D. S., BLAZICH F. A., WARREN S. L., NASH D. L. 2007. Seed germination of seabeach amaranth (*Amaranthus pumilus*) in response to temperature, light, and gibberellin A(3) treatments. Journal of Environmental Horticulture, 25 (2): 105-108.
- OLIVERA O. A. G., SOTO H. M., MARTÍNEZ V. M., TERRAZAS S. T., SOLARES A. F. 1999. Phytochemical Study of Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens*, Schiede ex Schlecht). Journal of Ethnopharmacology, 68: 109-113.
- PAKKADB G., TORREA F., ELLIOTTB S., BLAKESLEYA D. 2003. Selecting seed trees for a forest restoration program: a case study using *Spondias axillaris* Roxb. (Anacardiaceae). Forest Ecology and Management, 182: 363–370.
- PENNIGTON T. D. y SARUKHÁN J. 1968. Árboles Tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México. 623 p.
- PRAKASH V., BISHT H., NAUTIYAL B. P., CHAUHAN R. S., PUROHIT H., VASHISTHA R., NAUTIYAL M. C., NAUTIYAL A. R. 2005. Effect of storage conditions on germinability of seeds of some alpine medicinal plant species. Seed Research (Nueva Dehli), 33(2):165-168.
- ROACH D. A. and WULFF R. D. 1987. Maternal effects in Plants. Ann. Rev. Ecol. Syst. 18: 209-35. en ZAMBRANO L. 1992.

- RZEDOWSKI J. 1994. Vegetación de México. Limusa Noriega Editores. México. 6^a reimpresión. 432p.
- SHARMA S., GAMBHIR S., MUNSHI S. K. 2007. Changes in lipid and carbohydrate composition of germinating soybean seeds under different storage conditions. Asian Journal of Plant Sciences, 6 (3): 502-507.
- SILVERTOWN J. W. 1984. Phenotypic Variety in Seed Germination Behavior: The Ontogeny and Evolution of Somatic Polymorphism in Seeds. The American Naturalist 124: 1-16.
- SOBREIRA R., WAGNER A., RONDINELLI J., PARIZZOTTO A., HORST C. 2004. Germinação de sementes de genótipos de maracujazeiro, Seed germination of yellow passion fruit genotypes. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Vol. 39 (12) 2004.
- SRIVASTAVA L. M. 2002. Plant Growth and Development. Academic Press, Elsevier Science. 1^a edición. USA. 772 p.
- STEBBINS G.L. 1974. Flowering plants: evolution above the species level. Belknap, Cambridge, M.A. En KIGEL J. 1995. Seed germination in arid and semiarid regions pp. 645-699. KIGEL J. and GALILI G. 1995. Seed development and Germination. Marcel Dekker Inc. U.S.A. 852p.
- TAIZ L. and ZEIGER E. 2002. Plant Physiology. Sinauer Associates. Inc., Publishers. 3^a edición. U.S.A. 690 p.
- TALAMINI A. C. V., MOTA C. S., MEGGUER C. A., IDE G. M. 2007. Postharvest preservation of 'pinhoes' [seeds of *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze] stored at different temperatures. Ciencia Rural, 37 (2) 346-351.
- THOMAS T. H., GRAY D., BIDDINGTON N. L. 1978. The influence of the position of the seed on the mother plant on seed and seedling performance. Acta Horticultrae,

- 83:57-66 en ZAMBRANO L. 1992. Estructura y Respuesta Fisiológica de las Semillas Maduras de *Sicyos deppei* G. Don (Cucurbitaceae) influenciadas por la calidad de la luz durante su desarrollo. (Tesis de Maestría en Ciencias). Facultad de Ciencias, División de estudios de Posgrado, UNAM. México 142 p.
- TOMMASI F., PACIOLLA C., DE PINTO M. C., DE GARA L. 2006. Effects of storage temperature on viability, germination and antioxidant metabolism in *Ginkgo biloba* L. seeds. *Plant Physiology and Biochemistry (Paris)*, 44 (5-6):359-368.
- TURNER S. R., MERRITT D. J., BASKIN C. C., DIXON K. W., BASKIN J. M. 2005. Physical dormancy in seeds of six genera of Australian Rhamnaceae. *Seed Science Research* 15(1):51-58
- VILAR I., APARECIDA R., BALDO A. 2005. Influência da temperatura na germinação de sementes de *Annona montana*, Influence of the temperature on seed germination of *Annona montana*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, vol.27 (2) 2005.
- ZAMBRANO L. 1992. Estructura y Respuesta Fisiológica de las Semillas Maduras de *Sicyos deppei* G. Don (Cucurbitaceae) influenciadas por la calidad de la luz durante su desarrollo. (Tesis de Maestría en Ciencias). Facultad de Ciencias, División de estudios de Posgrado, UNAM. México 142 p.
- ZÁRATE A. M. A. 1984. Germinación de dos Especies Medicinales Cuachalalate (*Amphipterygium adstringens* Schiede ex Schlecht) y Chaparro Amargoso (*Castela tortuosa* Liebm), (Tesis Licenciatura) Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Mexico.
- ZINKERWICZ and SKIBA 1978, en GRAY D. and THOMAS T.H. 1982. Seed germination and seedling emergence as influenced by the position of development of the seed on, and chemical applications to the parent plant. pp. 81-110. En KAHN

A. A. 1982. *The Physiology and Biochemistry of seed development, Dormancy and Germination*. Elsevier Biomedical Press. USA. 547 p.