



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Propagación sexual y anatomía de la semilla  
de *Swietenia humilis* Zucc. (Zopilote)**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER DE TÍTULO DE:**

**B I Ó L O G A**

**P R E S E N T A:**

**Guzmán Jacobo María Guadalupe**

**Directora de Tesis**

**Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco**

**Ciudad Universitaria, México, D.F. 2015**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## Hoja de datos del Jurado

### 1. Datos del alumno

Guzmán  
Jacobó  
María Guadalupe  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
304048604

### 2. Datos del tutor

Dra.  
Alicia Enriqueta  
Brechú  
Franco

### 3. Datos del sinodal 1

Dra.  
Sonia  
Vázquez  
Santana

### 4. Datos del sinodal 2

Dra.  
María del Consuelo  
Bonfil  
Sanders

### 5. Datos del sinodal 3

Dra.  
Guillermina  
Murguía  
Sánchez

### 6. Datos del sinodal 4

M. en C.  
Rosa María  
Fonseca  
Juárez

### 7. Datos del trabajo escrito

Propagación sexual y anatomía  
de la semilla de *Swietenia humilis* Zucc. (Zopilote)  
70 p  
2015

Me permito extender un agradecimiento a:

La UNAM y a su vez la facultad de Ciencias por haberme acogido en sus aulas, en donde se transmite el conocimiento y que a través de los profesores me fue contado.

A la Dra. Alicia Brechú Franco, Ali eres una gran persona, has sido para mí no solo una guía sino también amiga, que en todo momento me oriento y me apoyo en el desarrollo de este trabajo y también en lo personal.

Al Dr. Guillermo Laguna Hernández, muchas gracias por haberme guiado y orientado en la teoría y práctica en la parte de histoquímica.

A la M. en C. Laura Patricia Olguín Santos. Técnica Académica Asociado C, Área de Biología, por el uso del Invernadero en los años 2011 y 2012

Agradecimiento a M. en C. María Eugenia Muñiz Díaz de León. Técnica Académica Titular B, Departamento de Biología Comparada, por el apoyo técnico con el uso de la incubadora.

Al M. en C. Armando Gómez Campos por la asesoría sobre la especie a estudiar y el apoyo en colecta en campo.

A la comunidad de Xochipala, Municipio Eduardo Neri, Guerrero, por haber facilitado la colecta y por haber recibido los arbolitos generados en este experimento para su siembra.

A todas y cada una de las personas que me ayudaron en algún momento de mi trabajo.

Creo que una hoja de hierba no es menos que el trabajo realizado por las estrellas,  
Y que la hormiga es igualmente perfecta, y un grano de arena, y el huevo del chochín,  
Y que la rana de san Antonio es una obra maestra entre las más grandes,  
Y que la articulación menor de mi mano puede humillar a todas las máquinas...

Todas las verdades esperan en todas las cosas,

Ni se apresuran a pronunciarse ni se demoran,

Lo insignificante es tan importante para mí como lo demás...

Walt Whitman

Hojas de hierba

## Dedicatorias.

Este trabajo está dedicado a mi familia que amo, los que a base de trabajo hicieron posible que yo estudiara, ellos son mis padres: Carolina Jacobo Hernández, porque eres una mujer admirable, llena de nobleza, fuerza y calma, gracias a tu dedicación de madre me he convertido en lo que soy y José Narciso Guzmán Cruz porque de ti he aprendido entre muchas otras cosas el valor del trabajo, que es lo que define nuestro paso por este mundo.

Y mis hermanos: Lore, Betty, Mimi, Quique, Paty, Nar, Angie, Miguel, Cesar, Juan y Carlitos<sup>t</sup>, me han enseñado cosas muy positivas y hemos pasado las cosas más alegres y más tristes juntos, en parte soy cada uno de ustedes, me han ayudado en todos los aspectos de mi vida y sé que siempre lo harán sin importar las circunstancias en que nos ponga la vida, todos son mis mejores amigos y aunque no siempre podamos estar juntos físicamente lo estaremos en mente. Claro está que también a sus retoños, que son como mis hijos también.

A Rodrigo Suárez Diosdado, me has apoyado en cada paso del desarrollo de este trabajo, a regar las plantas, a desvelarte acompañándome, como siempre a ingeniártelas para resolver problemas, a ilustrar la tesis, a brindarme todo el apoyo moral e impulsándome para terminar este trabajo y otros más, a creer en mí, tal vez más que yo misma, y a tantas y tantas cosas más. A dios agradezco por haberte puesto en mi camino y le pido que no te aparte de él.

A todos mis amigos de la prepa, la carrera, de la sala de evolución (los evos), de los cactófilos, de Taxco y de Jalisco, de todos ustedes he aprendido muchas cosas, y me han brindado mucha ayuda: Luz Michel, Janet Ríos, Amanda Alcántara, Sandra Albor, Dulce Yehimi López, Karina Ramírez, Yoali Hernández, Carmina de la Luz, Graciela Hernández, Gisel, Alejandra Márquez, Jocelyn Chacón, Mike Hernández, Ulises Cano, Néstor Chavarría, Romano, Miguel Hernández Alva, Marisol Encarnación, Claudia Figueroa, Laura, Edgardo, Cesar Miguel, Antonio, Rene, Yolanda, Carmina Hernández, Héctor Perdomo, Erli Hernández, Monic, y a todas y cada una de las personas que han estado acompañándome en esta etapa, y que de alguna u otra forma me han enseñado o han dado lecciones de vida. Gracias.

## Índice

Índice de figuras.....	8
Índice de cuadros.....	9
Abreviaturas.....	11
Resumen.....	10
1. Introducción.....	12
2. Antecedentes.....	13
2.1. Selva Baja Caducifolia, hogar de <i>Swietenia humilis</i> : ecosistema altamente biodiverso en peligro.....	13
2.2. Ubicación taxonómica de <i>Swietenia humilis</i> .....	15
2.3. Descripción biológica de <i>Swietenia humilis</i> .....	16
2.4. Usos tradicionales e industriales.....	17
2.5. Propiedades de la madera de <i>S. humilis</i> .....	18
2.6. Uso no sustentable de la madera de <i>S. humilis</i> .....	19
2.7. Programas de reforestación para el uso comercial de la madera del género <i>Swietenia</i> .....	19
2.8. Generalidades sobre manejo de almacenamiento y germinación de las semillas de <i>S. humilis</i> .....	21
2.9. Imbibición.....	21
2.10. Descripciones anatómicas de las semillas en la Familia Meliaceae.....	22
2.11. Anatomía e Histoquímica del Género <i>Swietenia</i> como herramienta para definir y describir una especie y para interpretar la respuesta de germinación..	22
3. Justificación.....	27
4. Objetivos.....	28
5. Materiales y Métodos.....	29

<b>6. Resultados.....</b>	<b>37</b>
<b>7. Discusión.....</b>	<b>54</b>
<b>8. Conclusiones.....</b>	<b>63</b>
<b>9. Bibliografía citada.....</b>	<b>65</b>
<b>10. Anexo.....</b>	<b>70</b>



## Índice de Figuras

Fig. 1. Mapa del estatus de conservación del bosque tropical caducifolio.....	14
Fig.2. Mapa de distribución de las 3 especies del género <i>Swietenia</i> en el Neotrópico.....	15
Fig. 3. Fruto con y sin valvas, flor y follaje de <i>Swietenia humilis</i> .....	16
Fig.4. Mapa del sitio de colecta.....	29
Fig. 5. Esquema de semillas con ala, sin testa y con testa de <i>S. humilis</i> .....	31
Fig. 6. Fotografías de germinación de semillas con y sin testa en semilleros translúcidos.....	34
Fig. 7. Metodología unificada de la anatomía-histoquímica y propagación de <i>S. humilis</i> .....	36
Fig. 8. Esquema de estructura de la semilla madura de <i>S. humilis</i> .....	37
Fig. 9. Histología de semilla madura de <i>S. humilis</i> .....	38
Fig. 10. Exotesta de la semilla de <i>S. humilis</i> .....	39
Fig. 11. Mesotesta de la semilla de <i>S. humilis</i> .....	40
Fig. 12. Endotesta de la semilla de <i>S. humilis</i> .....	41
Fig. 13. Exotegmen de la semilla de <i>S. humilis</i> .....	42
Fig. 14. Mesotegmen de <i>S. humilis</i> . Cortes transversales.....	43
Fig. 15. Endotegmen en <i>S. humilis</i> . Cortes transversales.....	44
Fig. 16. Endospermo en <i>S. humilis</i> . Cortes transversales.....	45
Fig. 17. Cotiledones en <i>S. humilis</i> . Cortes transversales.....	46
Fig. 18. Eje embrionario de <i>S. humilis</i> . Cortes transversales.....	47
Fig. 19. Imbibición de semillas sin testa y con testa de <i>S. humilis</i> .....	48
Fig. 20. Emergencia de semillas sin testa y con testa en TN/TZ y TN/AR.....	49

Fig. 21. Longitud del tallo de plántulas obtenidas de semillas sin testa.....	50
Fig. 22. Longitud del tallo de plántulas obtenidas de semillas con testa.....	51
Fig. 23. Germinación y supervivencia de semilla sin testa y con testa.....	52
Fig. 24. Variación en altura final (3 meses) promedio de las plántulas de <i>S. humilis</i> .....	53

Índice de cuadros:

Cuadro 1. Descripción de las semillas de <i>Swietenia</i> .....	25
Cuadro 2. Imbibición de semillas sin testa y con testa.....	48
Cuadro 3. Análisis de varianza de medidas repetidas de la longitud del tallo de las plántulas de <i>S. humilis</i> obtenidas a partir de semillas con y sin testa.....	53

## Abreviaturas

ANN	Tinción Azul Negro de Naftol
CJH	Tinción Cuádruple de Johansen
Co	Cofia
Cot	Cotiledón del embrión
Cr	Cristales
Cse	Cámara subestomática
Ctc	Cutícula
dds	Días después de siembra
En	Endospermo
Eng	Endotegmen
Ent	Endotesta
Ep	Engrosamientos de pared con punteaduras
Epi	Epicótilo
Es	Estoma
Etg	Exotegmen
Ext	Exotesta
Fbr	Fibras punteadas
Gp	Gránulos de proteína
Hv	Haz vascular
Mst	Mesotesta
Mtg	Mesotegmen
Pcm	Procambium
Rad	Radícula
R-ala	Región del ala
R-Em	Región del embrión
ROA	Tinción Rojo "O" de Aceite
SCH	Tinción con Reactivo de Schiff
Te	Testa
Tg	Tegmen

## Resumen

*Swietenia humilis*, conocida como caobilla del Pacífico o zopilote, se encuentra actualmente en el apéndice II de CITES. Tiene amplios usos en la medicina tradicional en el tratamiento contra afecciones en el sistema digestivo y hemorragias post-parto. También de sus semillas y corteza se obtienen compuestos con acción insecticida. Su madera es considerada de muy buena calidad y es utilizada para elaborar muebles e instrumentos musicales. Son pocos los trabajos de investigación en México sobre la germinación de sus semillas y aspectos básicos de su cultivo, por lo que en el presente trabajo se planteó relacionar los requerimientos para la germinación de la semilla y crecimiento de la plántula de *Swietenia humilis*, con la anatomía e histoquímica de la semilla. Para ello se estudió la imbibición, el porcentaje de emergencia, el crecimiento y la supervivencia de semilla sin testa y con testa, en dos sustratos: Tierra Negra con Tezontle 1:1 (TN/TZ) y Tierra Negra con Arena 1:1 (TN/AR). Así mismo, se realizaron pruebas histoquímicas para apoyar y sustentar los resultados de propagación de esta especie. Las semillas con testa absorbieron un mayor volumen de agua (6.5 g de agua absorbida) en los primeros 15 minutos, pasado este tiempo la absorción de agua se tornó lenta y constante (9.6 g de agua en 480 minutos = 8 horas). La semilla sin testa absorbió 1.54 g de agua durante las 8 horas de imbibición, en este tratamiento el proceso fue pausado y lento. El agua absorbida en ambas condiciones de las semillas, se relaciona con la naturaleza estructural de la cubierta seminal, que permite la absorción de agua del medio y funge como depósito de reserva que el embrión va absorbiendo según sus necesidades fisiológicas durante la germinación. Los mayores porcentajes de emergencia y supervivencia se presentaron en las semillas sembradas con testa en ambos sustratos TN/TZ y TN/AR. Las semillas sin testa tuvieron altos porcentajes de mortandad y bajos índices de germinación, pero las que germinaron, crecieron a una tasa más rápida y homogénea. La estructura de la semilla de *S. humilis* es semejante a la de *S. macrophylla*. Las semillas provienen de óvulos anátropos y bitégmicos de los que deriva la testa y el tegmen. Estos últimos se subdividen en: capa exterior, media e interior, con la única diferencia de que el endotegmen presenta una capa de cutícula. El embrión está formado por dos cotiledones muy amplios y un eje embrionario bien definido con epicótilo y radícula. También se lograron mostrar estructuras que no se habían descrito para este género, como: las proteínas tipo extensina de las paredes celulares del exotegmen y el endotegmen con la cutícula que se observó como una monocapa. En la prueba de imbibición, el tratamiento que absorbió más agua fue el de semillas con testa, debido a la presencia del tejido de la mesotesta compuesto por células sin protoplasto, con paredes delgadas y espacios intercelulares abundantes que absorbían agua, el mesotegmen por su tejido de consistencia esponjosa y presencia de estomas en la epidermis. Estas características harían fungir a estas capas como reguladoras de la humedad que el embrión necesita para germinar. En los cotiledones se encontraron cuerpos proteicos y lípidos como principal contenido de reserva.

## 1.- Introducción

Las culturas del pasado y las presentes han estado ligadas a sus recursos vegetales y sus costumbres han sido influenciadas por éstos. Las civilizaciones que florecieron en el área que ahora constituye la República Mexicana, desarrollaron un gran saber, producto de siglos de acumulación de experiencia y conocimiento de su entorno. Así, las plantas han sido utilizadas por el ser humano en diferentes aspectos como combustible, forestal, artesanal y medicinal entre muchos otros. Todos estos usos culturales han estado ligados a la diversidad biológica que posee México a través de su territorio. Sin embargo, el crecimiento de la población y los medios para sustentarla han causado la pérdida de grandes áreas de vegetación. Uno de los mayores retos que enfrenta la humanidad es detener y revertir la pérdida de biodiversidad vegetal, por los servicios ecosistémicos que brinda y que nos permiten sobrevivir como seres humanos en un contexto ambiental sano.

Una de las vías para restablecer áreas perturbadas e impulsar la preservación de los recursos vegetales, es a través de la propagación de especies nativas o locales, ya sea a partir de semillas, conocida como propagación sexual, o a partir de fragmentos vegetales, conocida como propagación vegetativa.

En particular, la propagación sexual involucra la polinización de las flores, formación de frutos, dispersión de las semillas y germinación, por medio de la cual se logra la permanencia y supervivencia de la especie. Este importante proceso inicia cuando la semilla absorbe agua (imbibición) y termina cuando da inicio el alargamiento del eje embrionario, usualmente la radícula (Bewley et al., 1985); la imbibición por tanto es una etapa determinante de la que depende la reactivación de la maquinaria metabólica de la semilla, que conduce a la emergencia de la radícula y de la plúmula.

El género *Swietenia* (mahogonies o caobas) consta de tres especies fuertemente relacionadas (*S. humilis*, *S. mahagoni* y *S. macrophylla*); sus distribuciones naturales son en gran parte alopátricas y se concentran en bosques húmedos y secos, en tierras bajas neotropicales (Cornelius et al., 2004).

*Swietenia humilis* Zucc., conocida como caobilla, caoba del Pacífico o zopilote, es originaria de la vertiente del Pacífico y se distribuye desde el sur de Sinaloa hasta la provincia de Guanacaste en Costa Rica. En México se extiende hacia el interior del país a lo largo de la cuenca del Balsas hasta el suroeste de Puebla (Chacalo et al., 2009).

La desaparición de áreas de bosque por la agricultura, la ganadería y la sobreexplotación por su madera, han puesto en peligro la conservación de esta especie en México y Centroamérica. Debido a esto actualmente se encuentra en el apéndice II de las CITES, por lo tanto su comercialización está regulada. En este contexto, adquieren importancia los estudios sobre su propagación, así como de la estructura e histoquímica de la semilla, órgano fundamental para su reproducción.

Los ecosistemas en donde crece la especie, son los más generalizados de los bosques tropicales de México, los cuales son: bosques tropicales caducifolios (BTC) o selva baja caducifolia (SBC), subcaducifolios y subperennifolios. Originalmente cubrían un estimado de 60% de la superficie total del territorio mexicano, pero el 70% de esta área se perdió entre 1980 y 2002, principalmente por el cambio de uso de suelo convirtiendo la SBC en tierras para la ganadería y la agricultura (Trejo y Dirzo., 2000).

La recuperación de la composición, estructura y funcionamiento ecológico de los bosques en tierras degradadas, por lo general se ha obstaculizado por la falta de fuentes de semillas cercanas, la pérdida de la fauna nativa, frecuentes incendios y el deterioro del suelo. En este contexto, la reintroducción de una amplia gama de variedad de especies para la restauración ecológica del BTC debe ser un foco de preocupación, así como la mejora de la biodiversidad y los servicios que brindan (Rey Benayas et al., 2009). Sin embargo el conocimiento sobre la propagación de especies nativas es aún muy restringido (Bonfil y Trejo, 2010)

La anatomía y ecología de *S. humilis*, en general se conoce poco y también es de gran importancia hacer estudios sobre esta materia, ya que complementarían en gran medida los estudios de propagación.

Dada la importancia comercial y cultural de esta especie y el riesgo de perder sus poblaciones, este estudio busca brindar información básica sobre la germinación, crecimiento de las plántulas y la estructura de la semilla.

## **2. Antecedentes**

### **2.1. Selva baja caducifolia, hogar de *Swietenia humilis*: ecosistema altamente biodiverso en peligro de desaparecer**

México posee una de las floras más variadas de América, debido a que su territorio está situado entre la zona templada del Norte y la zona tropical del Sur con una considerable extensión de zona subtropical. La variedad de la flora mexicana refleja en cierto modo la increíble diversidad de climas y suelos, causada por la accidentada topografía y la compleja estructura geológica de su suelo (Miranda y Hernández, 1963).

En el país el bosque tropical caducifolio (BTC), selva baja caducifolia (SBC) o bosque tropical seco (BS) (Miranda y Hernández–X, 1963; Rzedowski, 1978; Challenger, 1998) es una densa comunidad dominada por árboles de tamaño mediano que pierden sus hojas durante la estación seca (Trejo y Dirzo, 2000). Se distribuyen principalmente a lo largo de la vertiente del Pacífico, de manera discontinua hacia la región central del país y por la vertiente del Golfo de México; prácticamente cubría el 17% del territorio (Rzedowski, 1978).

Cerca del 42% de los bosques tropicales alrededor del mundo son BTC (Murphy and Lugo, 1986). De acuerdo con algunos autores la degradación del BTC es equiparable

a la de los bosques tropicales lluviosos, y sólo una pequeña región permanece intacta (Janzen, 1988; Gentry, 1995; Murphy y Lugo, 1995)

La tasa de deforestación anual para el BTC, entre 1.4% y 2%, es alta, estimándose que sólo 72,900 km<sup>2</sup> (3.7%) permanece sin alteración notoria, respecto al 17% que cubriría inicialmente (Masera et al., 1997; Trejo y Dirzo, 2000). Lo anterior es preocupante si se considera que es un tipo de vegetación con un notable legado biótico, ya que constituye el cuarto tipo de vegetación de más relevancia por su extensión en México (Bullock et al., 1995; Fig. 1).

La provincia florística Cuenca del Balsas (Rzedowski, 1978) es un área que destaca por la riqueza y grado de endemismo de su flora (Rzedowski, 1991; Challenger, 1998). Esta región se encuentra predominantemente cubierta por BTC.

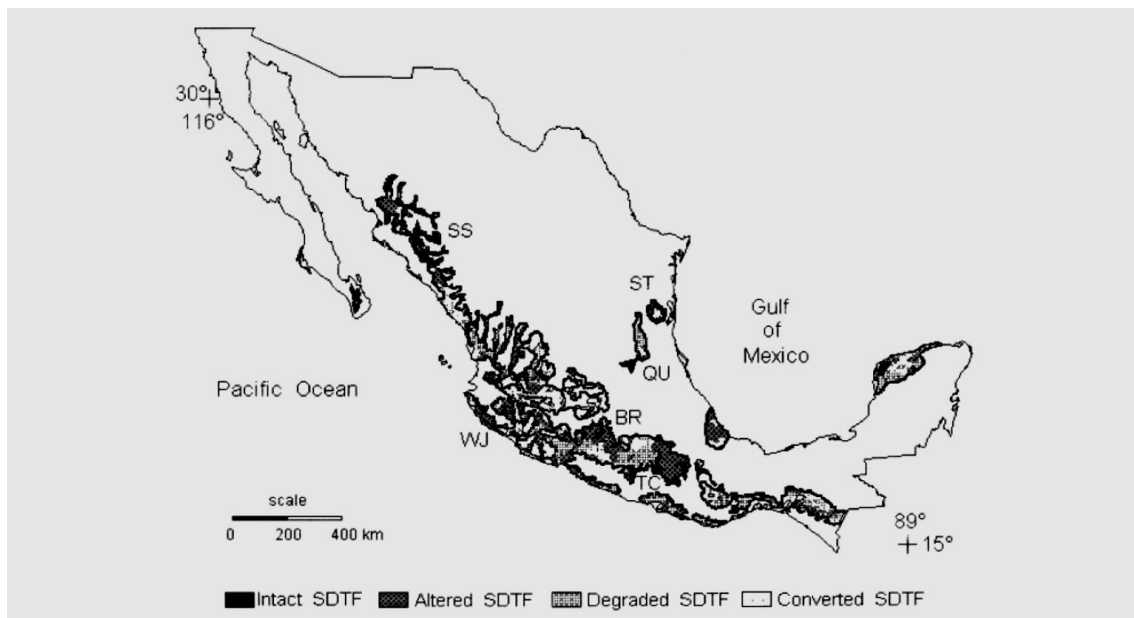


Fig. 1. Estatus de la conservación del bosque tropical caducifolio o seasonally dry tropical forest (SDTF) (*sensu* Oropeza et al., 1995) en relación a su área potencial de distribución (*sensu* Rzedowski, 1990). Tomado de Trejo y Dirzo, 2000)

Estos bosques han sido el lugar donde se domesticaron plantas como el maíz, frijol y papa, así como el sitio para el desarrollo de las antiguas civilizaciones (Challenger, 1998), las cuales hacen uso de sus recursos forestales como *Swietenia humilis*.

En el estado de Guerrero existen diversas zonas degradadas que presentan fragmentación de las áreas naturales de distribución de la caobilla, debido principalmente a la apertura de áreas para la agricultura y ganadería la y la sobreexplotación de su madera.

## 2.2.-Ubicación taxonómica de la caobilla

([www.tropicos.org](http://www.tropicos.org) consultada 29-07-14)

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Rosanae Takht.

Orden: Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Meliaceae Juss.

Género: *Swietenia* Jacq.

Especie: *Swietenia humilis* Zucc.

Nombres comunes: Caobilla, Caoba del Pacífico, Zopilote, gateado, venadillo y cobano (Márquez et al., 1999).

La familia de las meliáceas está constituida por 50 géneros y 650 especies de árboles o arbustos tropicales y subtropicales (Mabberley, 2008).

Ya que las caobas tienen distribuciones naturales en gran parte alopátricas (Fig. 2) llegan a hibridizar. Se concentran en bosques secos, en tierras bajas neotropicales (Cornelius et al., 2004).

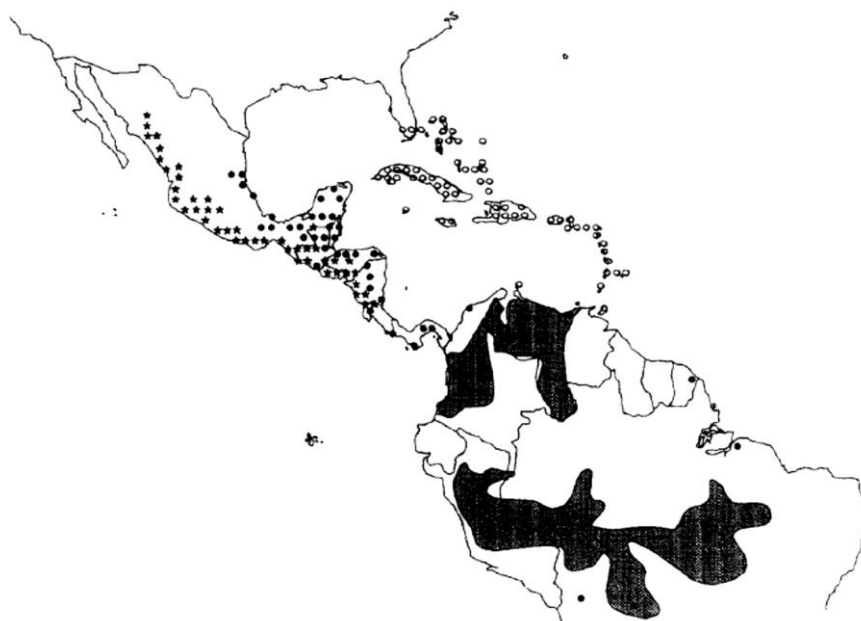


Fig. 2. Distribución de las tres especies del género *Swietenia* en el Neotrópico. Sombreado y ● -*S. macrophylla*; ○- *S. mahogany*; ■ *S. humilis* (Pennington, 1981). Tomado de Helgason et al., 1996.

Aún existe información incompleta sobre las tres especies de *Swietenia*; por lo que no es fácil distinguir las con base en la morfología de las hojas y flores, pero algunos



investigadores proponen considerar a las características de los frutos y semillas como claves para identificar una especie de otra (Corner, 1976).

Aguirre (1963) señala que generalmente *S. humilis* es un árbol más pequeño que *S. macrophylla* debido probablemente a que crece en ambientes más secos.

### 2.3.- Descripción biológica de *Swietenia humilis* Zucc.

**Forma del árbol:** árbol con fuste muy recto y ligeramente acanalado, hasta 20 m de altura y 80 cm de d.a.p. Copa redondeada, abierta; ramas gruesas y ascendentes (Pérez y Barajas, 2011) Fig. 3A.

**Corteza:** Fisurada a escamosa y compacta; fisuras longitudinales más o menos profundas que dejan entre ellas algunas piezas alargadas como listones irregulares en forma de cuña, coriáceas y de estructura laminar; en el interior de las fisuras se observan hileras de lenticelas de color café-rojizo. La corteza es de color gris plomo (Fig. 3A) o café claro amarillento muy homogénea de grosor medio (10m) y sabor astringente (Pérez y Barajas, 2011).

**Frutos:** Cápsulas leñosas erectas y ovoides, algunas veces largamente -ovoide, pardo-grisáceo, lisa o diminutamente perforada, 8-20 cm de largo y 10-12 cm de ancho, formada por 4-5 valvas leñosas, de 5-7 mm de grueso (Fig. 3C); semillas pálidas, pardo amarillentas (Fig. 3D), 6-9 cm de largo incluyendo el ala. Cada fruto tiene entre 40-55 semillas (Arana, 2001) Fig 3C. Los frutos maduran de noviembre a enero (Pennington y Sarukan, 2005). Las semillas son sumamente amargas y astringentes.

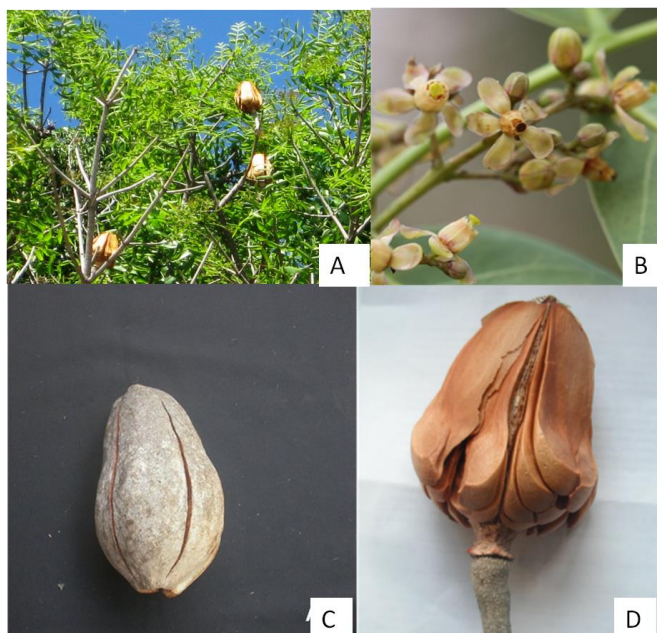


Fig. 3. A, Copa del árbol de *S. humilis*. B, Flores de *S. humilis*. C, Fruto capsular con 4 valvas semiabiertas. D, Fruto con valvas retiradas mostrando las semillas aladas unidas a un eje central.

**Hojas:** Yemas de 2-5 mm de largo, anchas y abiertas, rodeadas por muchas escamas ovadas, agudas. Estípulas ausentes. Hojas dispuestas en espiral, paripinnadas o a veces imparipinnadas, de 12-40cm de largo incluyendo el peciolo; foliólos sésiles 3-5 pares, de 5x2 a 12x5 cm, lanceoladas y ovados, muy asimétricos, con el margen entero, ápice agudo hasta finamente acuminado, base asimétrica, generalmente aguda, raras veces obtusa; de color verde amarillento a verde oscuro en el haz y verde pálido en el envés, glabros en ambas superficies; coriáceos; peciolos pulvinados, de 3-9 mm, glabros (Pennington y Sarukan, 2005) (Fig 3A).

**Flores:** Especie monoica. Flores de ambos sexos en la misma inflorescencia, las masculinas más abundantes que las femeninas, con aroma dulce. Panículas axilares de hasta 15 cm de largo, glabras. Flores masculinas actinomorfas, de 6-8 mm de diámetro; cáliz verde amarillento muy pequeño, cortamente cupular, con 5 lóbulos redondeados; pétalos verde amarillentos (Fig 3B), 5, de 6-7.5 mm de largo, oblongos, y oblongoobovados, con el ápice redondeado; estambres de color crema, 10 mm de largo, los filamentos unidos en un tubo estaminal campanulado, con el margen agudamente 10-lobado; anteras incluidas en el cuello del tubo; nectario anaranjado, pateliforme lobado, que rodea la base del ovario; ovario rudimentario, 5-6 locular, cada lóculo con numerosos óvulos muy pequeños; estilo grueso que llega al ápice del tubo estaminal, terminando por un gran estigma peltado. Flores femeninas muy parecidas a las masculinas, pero con las anteras muy pequeñas, indehiscentes y sin polen y un ovario muy grande y ovoide que llena el tubo estaminal, con óvulos bien desarrollados; toda la flor excepto el nectario es glabra en ambos sexos (Fig. 3B).

Florece de Abril a Junio y cuando son polinizadas alcanzan su maduración a fruto de noviembre a enero (Pennington y Sarukhan, 2005)

#### **2.4.- Usos tradicionales e industriales**

La planta se usa en general, para tratar trastornos del aparato digestivo, músculo esquelético y sistema renal urinario. La semilla de *S. humilis* se usa contra el empacho, dolor de estómago, disentería amibiana, diarrea y como depurativo de la sangre. Se recomienda cuando hay inflamación de intestinos y riñones, para cortar la hemorragia abundante en el post-parto y piquetes de animales ponzoñosos. En Guerrero se le reporta como cicatrizante en animales (<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>). Otras fuentes refieren que tiene acción antimalárica, anticancerígena, inmunoestimulante, antihelmintica, antifúngica, antibacteriana, antiviral, antiprotozoaria y antifitotóxica. En particular las semillas se emplean para el tratamiento de la amibiasis y la helmintiasis en México (Jiménez, 1997).

En la mayoría de las meliáceas, familia a la que pertenece *S. humilis*, es muy común que se produzcan sustancias llamadas limonoides. Estas moléculas destacan por sus propiedades biológicas y por su actividad insecticida. Los limonoides son metabolitos secundarios, altamente oxidados, que derivan biogénicamente de los triterpenoides tetracíclicos. Las moléculas se extraen comercialmente de meliáceas, a partir de las especies asiáticas *Azadirachta indica* y *Melia azederach*; de estas, dos limonoides se han comercializado: *azadarichtin* en los EE.UU. y *toosendanin* en China. Se ha

demostrado que los extractos de varias especies de los géneros *Cedrela*, *Trichilia*, *Swietenia* y *Guarea*, reducen la actividad del barrenador del maíz europeo, *Ostrinia nubilalis*. Por consiguiente, algunas de estas especies han sido objeto de estudios bioquímicos para aislar nuevos agentes insecticidas y bactericidas (Jiménez et al., 1998).

Los limonoides se acumulan en todas las partes vegetales de las plantas que los biosintetizan, pero principalmente se localizan en las semillas de las meliáceas. (Jiménez, 1997).

Jiménez y colaboradores (1998) encontraron en las semillas de *S. humilis* dos nuevos limonoides, humilínolidas E y F. En suma, los compuestos totales de interés comercial que contiene son: humilínolidas A-D, humilina B, swietenina C, metil-2-hidroxi-3- $\beta$ -isobutiroxi-1-oxomeliac-8, metil-2-hidroxi-3- $\beta$ -tigloiloxi-1-oxomeliac-8 y swietemahonin C, todos los anteriores son conocidos como triterpenos limonoides, biológicamente activos contra los insectos.

La actividad insecticida de estos compuestos afecta el desarrollo y/o crecimiento de aproximadamente 200 especies de insectos y aradores, que atacan principalmente a los cultivos de importancia económica (agrícola, forestal). Estos compuestos actúan como repelentes, inhibidores o retardadores del crecimiento del insecto. Todos estos efectos provocan el desbalance de algunos procesos fisiológicos vitales para el insecto tales como: caminar, volar, brincar, comer, ovipositar y copular (Jiménez, 1997).

## **2.5.- Propiedades de la madera de *S. humilis***

La gran demanda de madera de las caobas se debe a su estabilidad, durabilidad, fácil trabajo y belleza de su madera. Se usan principalmente en la manufactura de muebles de alta calidad, pisos, puertas, ventanas, marcos, chapas (Cornelius et al., 2004). La madera de las especies de Meliaceae tiene tonos que van del rojo, marrón rojizo, con menor frecuencia de chocolate marrón a blanco, y muestran todos los grados de brillo, de lustroso a mate.

La madera con mayor producción forestal es la de *S. macrophylla*, pero la variedad más dura y de mejor color se cree que es la de *S. humilis*. Sin embargo es difícil distinguir anatómicamente las maderas de las especies de *Swietenia*, aunque, de acuerdo con Record y Mell (1924), existe una variación considerable en sus propiedades mecánicas y físicas, dependiendo de la naturaleza del suelo y las condiciones generales de donde crece cada especie. Según estos autores, las diferencias son tan grandes que los expertos pueden distinguir caobas de diversas regiones a simple vista (Panshin, 1932).

*S. humilis* tiene una madera que va de liviana a moderadamente pesada, con la albura de color pardo-grisáceo a pardo-pálido y duramen pardo-rojizo, con un peso específico entre 0.4-0.75. kg. La madera es fina y durable (Arana, 2001).

## **2.6.- Uso no sustentable de la madera de *S. humilis***

Debido a su desmedida comercialización, *S. humilis* se encuentra incluida en el apéndice II de CITES desde 1975, por lo que el comercio de todas sus partes y sus derivados, excepto semillas, polen, plántulas o cultivo de tejidos, están regulados en su comercio (Cornelius et al., 2004).

En América se están incrementando las plantaciones de *S. macrophylla* dentro de las zonas de su distribución natural, principalmente en el sureste de México y Guatemala (Cornelius et al., 2004), pero en México no hay registros de plantaciones de *S. humilis*, por lo cual no figura en la escala comercial y se puede pensar que no se hace un uso sostenible de su madera. Ante tal panorama en la presente tesis se planteó, estudiar la propagación a través de la semilla por vía sexual y anatomía de la semilla de *S. humilis*.

## **2.7.- Programas de reforestación para el uso comercial de la madera del género *Swietenia***

Se han hecho varios esfuerzos en Asia tropical y Oceanía para impulsar programas de reforestación a partir de la propagación de árboles, dirigida principalmente a la obtención de madera de *S. macrophylla*, por lo que es la principal especie que aún se explota comercialmente con poblaciones naturales (Cornelius et al., 2004)

*Swietenia macrophylla* y en menor grado *S. mahogani*, se distribuyen de manera silvestre fuera de sus zonas nativas, particularmente en el sudeste de Asia y Oceanía; existen otras plantaciones establecidas en Fiji, Indonesia, Filipinas, las islas Salomón y Sri Lanka, dando un total de 190,000 ha. En contraparte Mayhew y Newton (1998) estiman que existe un total de 200 000 ha. de caobas sembradas alrededor del mundo; se desconoce qué porcentaje pertenece a la *S. humilis*.

En México, Niembro (1995) analizó el rendimiento y la calidad biológica de las semillas de *S. macrophylla* procedentes de una plantación en el estado de Campeche, México. Sus resultados mostraron que los frutos de la caoba producen en promedio 49 semillas desarrolladas, de las cuales germinaron en promedio 39 bajo condiciones de laboratorio.

En un estudio de germinación con *S. macrophylla* en bosques semi-perennes, caducifolios y pastizales (Gerhardt, 1996) demostró que tiene índices de germinación ligeramente mayores en bosques semi-perennes, pero la variación es tan pequeña que se considera insensible a la variación de los micrositios de vegetación secundaria para su establecimiento. Enfocando la atención en el sustrato, en una mezcla de tierra más arena, en surcos, cubiertas sub-superficialmente por el sustrato (semilla apenas cubierta 1 cm) colocadas en forma vertical, se logró establecer un rango de germinación de semillas del 60% al 84%, en un lapso de 40 a 78 días (Rojas y Torres, 2008).

Los factores edáficos e hídricos determinan los patrones de distribución de las caobas, las cuales toleran diferentes tipos de suelos (aluviales, volcánicos, metamórficos y calcáreos) y condiciones de acidez o alcalinidad, así como buen drenaje (Cornelius et al., 2004).

En un estudio comparativo de propagación vegetativa por estacas y sexual a partir de semillas de *S. mahogani* y *S. macrophylla*, Howard y colaboradores (1988) encontraron un alto porcentaje de enraizamiento en plántulas de *S. mahogani* (67.7%) y *S. macrophylla* así como alto porcentaje de germinación de semillas (96-100%), sin embargo las plántulas obtenidas a partir de semillas crecieron más rápido que las derivadas de estacas.

Como se observa los estudios se han centrado en *S. macrophylla*, siendo escasos en *S. humilis*. Uno de ellos es acerca de la producción de semillas de árboles silvestres de *S. macrophylla*, en Quintana Roo, con el propósito de planear la regeneración de la especie (Snook et al., 2005). Otro estudio más en Quintana Roo fue el de Negreros-Castillo y colaboradores. (2003), donde se compara la regeneración del establecimiento de plántulas con diferentes técnicas de aclareado, resultando más efectivo el método tradicional de roza, tumba y quema.

Las pocas investigaciones realizadas sobre el crecimiento y comportamiento en plantaciones *ex situ* de *S. humilis*, han sido en zonas de Centroamérica y el Caribe, como Costa Rica, Cuba y Honduras, en donde se encuentran plantaciones combinadas de *S. humilis* y *S. macrophylla* (Aguirre, 1963):

Arana (2001) demostró en tres sitios de Zamorano, Honduras, que la Caoba del Pacífico (*S. humilis*), tiene grandes incrementos en tamaño cuando se le asocia con cultivos básicos como frijol o maíz en su fase inicial de establecimiento; a este sistema se le llama Taungya. En algunas plantaciones en sistema Taungya, las plantas de *S. humilis* alcanzaron alturas superiores a 1 metro, en menos de cuatro meses, durante la temporada de lluvias. El nivel de daño en la madera causado por barrenadores y otros insectos disminuyeron drásticamente cuando la caoba se asoció con maíz y frijol. Esta madera tiene crecimientos superiores al pino y su valor en el mercado es mucho mayor. Además, es una forma provechosa de utilizar aquellos terrenos que se encuentran en desuso o que son de baja productividad. Aguirre (1963), utilizando el sistema Taungya, combinó 3 especies de árboles, a una distancia entre ellos de 3x3 m y en la zona donde se sembró *S. humilis* se alternó con maíz; encontrando que la supervivencia de la Caoba fue de 89.1%. El resultado se explica proponiendo que la caoba necesite un poco de sombra en sus primeros meses de ser plantada.

Se sabe que *S. humilis* muestra un comportamiento en plantación similar al de *S. macrophylla*, con la ventaja de que tiene una mayor resistencia a la sequía (Arana, 2001)

## **2.8.- Generalidades sobre manejo de almacenamiento y germinación de las semillas de *S. humilis***

En estudios realizados por Vega y colaboradores (1981) y Betancourt (1981) se demuestra que las semillas, una vez cosechadas alcanzan altos porcentajes de germinación (95%), pasado este tiempo su viabilidad se pierde rápidamente en los primeros cuatro meses. Los contenidos de humedad de las semillas frescas oscilan entre 10 y 12%. Para su almacenamiento se recomienda que a partir del sexto mes se refrigeren entre 0 y 5°C en recipientes herméticamente sellados, manteniendo un contenido de humedad de 4 a 5%, así pueden mantenerse hasta 30 meses con un 24-34% de germinación (Méndez, 2000). Cornelius (2004) la refiere a las semillas del género *Swietenia* como ortodoxas, aunque la mayoría de los autores las citan como recalcitrante, requiriendo ciertas condiciones especiales para su almacenamiento y conservación (Gómez et al., 2006; FAO).

La semilla fresca de *S. humilis* generalmente no necesita pre-tratamiento, pero si la semilla ha sido almacenada a un bajo contenido de humedad, puede ser conveniente sumergirla en agua fresca por 12 horas, alcanzando hasta 91% de germinación entre 10 a 12 días, germinando mejor a 30°C. Para la germinación de semillas frescas de *S. humilis*, estas se colocan en una posición vertical, con el ala hacia arriba, en una caja germinadora, con una mezcla de tierra suelta y arena, a una profundidad de 3 a 7 cm o directamente en bolsas. Una vez germinadas y cuando alcancen entre 5 y 10 cm, deben ser trasplantadas y utilizar sombra temporal (Méndez, 2010).

La germinación en *S. macrophylla* es hipogea y criptocotilar y cuando la semilla ha germinado, los cotiledones desarrollan estructuras peciolares por crecimiento intercalar en la base. Más tarde, los peciolo se extienden longitudinalmente y se arquean hacia afuera, permitiendo el alargamiento y emergencia del epicótilo, manteniendo los cotiledones adentro de la semilla (Alvarenga y Flores, 1988).

## **2.9.- Imbibición**

Un elemento importante para la imbibición de *S. humilis* es que posee estomas en la testa de sus semillas, lo cual promueve que absorba de manera efectiva agua del medio. Se piensa también que éstos estomas, tienen un papel importante en el intercambio de gases durante el desarrollo de la semilla, en favorecer la respiración del embrión. Paiva y colaboradores (2006) señalan que la velocidad de imbibición está relacionada con la densidad de estomas, lo que sugiere que los estomas actúan como lugares preferentes para la entrada de agua en las semillas de *S. macrophylla*. Sus resultados demuestran que el inicio de la imbibición es rápido, y la entrada de agua en las semillas comienza después de 30 minutos después de su inmersión en agua. El volumen de agua absorbida por la cubierta de la semilla fue mayor para las semillas con la región del embrión expuesta al agua, en todos los tiempos estudiados, seguido de aquellos con la región media e hilar expuesta, respectivamente. (Paiva et al., 2006). En este estudio también se compararon las velocidades de imbibición de semillas con y sin testa y se observó que en las primeras 24 horas la velocidad de imbibición de ambas semillas fue similar, pero rebasado este tiempo las tasas de imbibición fueron mayores para las semillas con testa.

## **2.10.- Descripciones anatómicas de las semillas en el género *Swietenia***

Werker (1997) señala la presencia de estomas sólo en los géneros *Melia* y *Swietenia*. Paiva et al., (2006) observan que los estomas en *S. macrophylla* presentan un poro grande y carecen de movimiento y encuentran una relación positiva entre el espesor de la cubierta seminal y la densidad de estomas: en gran número en la región del embrión y con menor frecuencia hacia el ala; (Paiva et al., 2006).

Las semillas de *S. macrophylla* son prácticamente exalbuminosas o carentes de endospermo, con un ala prominente. El tegumento exterior o testa, es variable en espesor, siendo más grueso en la región que contiene el embrión y la parte más delgada en el ala (Corner, 1976). Debido a la naturaleza esponjosa de la testa, Alvarenga y Flores (1988) señalan que las semillas de la caoba son anemocóricas.

Aún no se ha determinado la función exacta de los estomas en las semillas. Tampoco está claro si los estomas son funcionales en las semillas inmaduras, con capas de células vivas en la testa, o en semillas maduras secas, con células muertas en su mayoría, o ambos, y con una función diferente en cada etapa (Werker, 1997). Una de las principales funciones de los estomas parece ser la de facilitar el intercambio de gases (Flint y Moreland, 1943; Jernstedt y Clark, 1979). Werker (1997) sugieren que los estomas también facilitan la absorción de agua durante la imbibición.

## **2.11.- Anatomía e Histoquímica del Género *Swietenia* como herramienta para definir y describir una especie y para interpretar la respuesta de germinación.**

La Histoquímica es la ciencia que se encarga del estudio de la composición química de los tejidos. Sin embargo, tradicionalmente se ha considerado a esta disciplina como la ciencia que se ocupa de la localización topográfica de sustancias químicas y actividades metabólicas en el ámbito estructural y ultraestructural, es decir a nivel tejidos, células y orgánulos que conservan su estructura lo más íntegra posible (Martínez y Groguera, 2008). La histoquímica reúne todas las técnicas para conocer posibles contenidos celulares (Sandoval, 2005).

En el caso de las semillas, es relevante conocer la composición química, no sólo de la distribución de las reservas nutritivas, sino de las diferentes estructuras, ya que esa información podría ser útil en la identificación taxonómica y en la interpretación del proceso de germinación (Shepherd et al., 2005)

No se cuenta con estudios histoquímicos de *Swietenia humilis*, pero se tiene la información de la especie *S. macrophylla* perteneciente al mismo género. Es por ello que a continuación se muestra un cuadro comparativo de los estudios anatómicos-histoquímicos realizados en esta última, por Paiva y colaboradores (2006) y Alvarenga y Flores (1988), así como la descripción del género *Swietenia* por Corner (1976):

La descripción histoquímica más completa se basa en el género *Swietenia* y fue hecha por Corner (1976); en ella se describe de manera general a la semilla dentro del fruto, como numerosas y biseriadas en cada lóculo, imbricadas y colgando de la parte final del ala (extensión rafe-exostoma) con el cuerpo de la semilla alargada hacia la base de la capsula del fruto, exarilada, prácticamente exalbuminosa.

Descripciones más particulares sobre la especie *S. macrophylla* son las de Alvarenga y Flores (1988) y Paiva y colaboradores. (2006). Los estudios de estos autores, aunque se enfocan a describir los cambios que presentan la radícula y el brote durante el proceso de germinación, aporta información estructural sobre algunos tejidos de la semilla como el ala, el tegmen y el embrión (Cuadro 1).

Por su parte, Paiva y colaboradores (2006) puntualizan aspectos estructurales referentes a la cubierta seminal.



Tejido/Fuente	Paiva et al., (2006)	Alvarenga y Flores (1988)	Corner (1976)
	<i>Swietenia macrophylla</i>		Género <i>Swietenia</i>
<b>Testa</b>			De 12 - 15 células de espesor a los lados del cuerpo de la semilla, capa más gruesa en el extremo basal, mucho más delgada en el ala, todo el tejido con paredes lignificadas, ligeramente engrosadas.
<b>Exotesta (Ext) o epidermis externa de la testa</b>	Presenta estomas con voluminosas células guarda, y sus poros con contorno elíptico a circular. La composición química de su cutícula está impregnada con sustancias fenólicas, las células guarda presentan paredes pecto-celulósicas		Como una capa uniforme de células, en su mayoría con paredes perforadas o con punteaduras, algunas sin perforaciones, , con estomas frecuentes.
<b>Mesotesta (Mst) o mesófilo de la testa</b>	Células globosas que mueren en la madurez. Las células de la pared están lignificadas con refuerzos reticulados y los espacios intercelulares son grandes confiriéndole baja densidad y aspecto esponjoso al tejido.		Compuesto de células grandes subglobosas, con brazos muy cortos; las paredes más bien con punteaduras amplias y superficiales.
<b>Endotesta (Ent) o epidermis interna de la testa</b>			Como una capa de células pequeñas cuboides, con 1 – 2 cristales en cada una.
<b>Tegmen</b>	Pocas capas de células de parénquima, de naturaleza y aspecto suelto y se limita a la	Delgado, pocas capas celulares (muy unida a los cotiledones	De 5 - 6 células de grosor, unido a todo lo largo de la pericalaza.

---

región que rodea al embrión.

grandes)

**Exotegmen (Etg)  
o epidermis  
externa del  
tegmen o**

Capa compacta de fibras lignificadas, oblicuamente longitudinales, finamente punteadas, apenas alargadas radialmente.

**Mesotegmen  
(Mtg) o mesófilo  
del tegmen**

De 2 – 3 células de grueso; varias de las células externas como células escleróticas poco alargadas longitudinalmente, ampliamente punteadas, más bien con paredes delgadas (no en una capa continua), las células internas de paredes delgadas, agrandadas, no lignificadas, no aerenquimatosas.

**Endotegmen  
(Eng) o  
epidermis interna  
del tegmen**

Células pequeñas con taninos, no lignificadas.

**Haces vasculares**

Como un conjunto concéntrico grueso en la rafe-exostoma alargada alada, curvándose en su descenso y dividiéndose en 3 - 4 paquetes (más o menos concéntricos) en la pericalaza alargada a lo largo de un lado de la semilla, que termina ciegamente en el extremo inferior, sin ramificarse a los lados de la semilla.

**Hipostasis**

Como una capa de células pequeñas de color marrón a lo largo de la pericalaza, de paredes finas.

---

<b>Ala</b>	El tegmen está ausente y el grosor de la testa es muy pequeño, decreciendo hacia la región hilar (proximal) y el rafe hacia la cara opuesta.	Constituida por tejido parenquimatoso, de origen tegumentario (proliferación del tejido del tegumento externo, cerca de la calaza).
<b>Hilo</b>		De color pardo oscuro, prominente, cubierto de tricomas vellosos
<b>Micrópilo</b>		En un extremo del hilo
<b>Endospermo (En)</b>		El endospermo esta reducido a 1-2 capas de células pequeñas oleosas.
<b>Embrión</b>	Presenta 2 cotiledones grandes y carnosos, de nervadura reticulada y forma elíptica, estos están fusionados (gamocotilia) adaxialmente en los 2/3 superiores distales.	El embrión con los cotiledones en el plano grueso de la semilla. Plúmula y radícula diminuta, inmersa en los cotiledones en la porción lateral.

Cuadro 1. Comparación de las descripciones anatómicas de la semilla de la especie *Swietenia macrophylla* realizadas por Paiva et al., (2006) y por Alvarencia y Flores (1988) y del género *Swietenia* realizada por Corner (1976).

### 3.- Justificación

Dado su uso maderable y su uso medicinal como parte del patrimonio cultural de los pueblos de la región de la cuenca del Balsas, es importante la conservación de esta especie cuyas poblaciones presentan fragmentación de sus áreas naturales, por la sobreexplotación de su madera con la apertura de áreas para la agricultura y la ganadería. Debido a la magnitud del problema se encuentra en el Apéndice II de la CITES y se regula su comercialización (UNEP WCMC, 2003).

A pesar de que se han hecho varios esfuerzos para impulsar programas de reforestación a partir de la propagación de árboles, dirigida principalmente a la obtención de madera de *S. macrophyla*, en el caso de *S. humilis* son pocas las investigaciones sobre su ecología, propagación, crecimiento y comportamiento en plantaciones *ex situ* e *in situ*.

En el estado de Guerrero existen diversas zonas con la misma problemática, donde la explotación de estos árboles ya sea por las propiedades medicinales de su semilla o por la valiosa calidad de su madera, no es sustentable. Es por ello que se pretende contribuir con información básica de la estructura de la semilla, su germinación y crecimiento de la plántula, que podría utilizarse para establecer programas de reforestación.

#### **4.- Objetivos**

##### **Objetivo general.**

Relacionar los requerimientos para la germinación de la semilla y crecimiento de la plántula de *Swietenia humilis*, con la anatomía e histoquímica de la semilla.

##### **Objetivos particulares:**

- Describir la anatomía e histoquímica de la semilla.
- Establecer la capacidad de imbibición de las semillas de *S. humilis* con testa y sin testa
- Evaluar la emergencia y supervivencia de plántulas provenientes de semillas sin testa y con testa, sembradas en dos tipos de sustratos.
- Evaluar el crecimiento de plántulas provenientes de semillas sin testa y con testa.

## 5. Materiales y métodos

### Sitio de Colecta

Se realizaron 3 recolecciones de frutos de *S. humilis*, en el paraje denominado Sabana Grande, Municipio de Tepecoacuilco de Trujano, Guerrero, al borde de la carretera federal No. 95 Iguala – Chilpancingo ( $18^{\circ} 09' N$ ;  $99^{\circ} 33' O$ ), la primera en abril del 2010, la segunda en marzo del 2011 y la tercera marzo del 2012 (Fig.4).

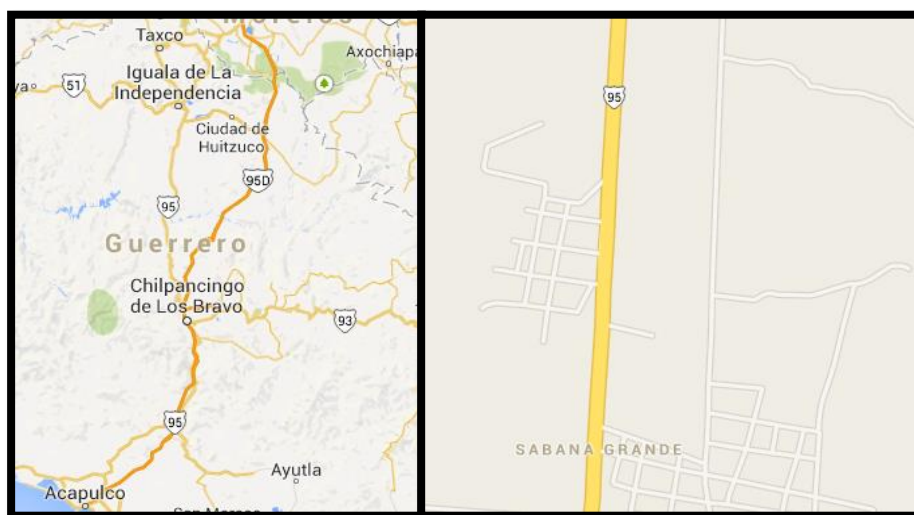


Fig. 4. Mapa de sitio de colecta en Sabana Grande, carretera federal No. 95 Iguala – Chilpancingo de los Bravo. Coordenadas:  $18^{\circ} 09' N$ ;  $99^{\circ} 33' O$ .

### Sitios de trabajo

Los experimentos y observaciones de imbibición e histoquímica de las semillas se realizaron en el Laboratorio de Estructura y Fisiología de Plantas de las Facultad de Ciencias de la UNAM. Los experimentos y observaciones referentes a la propagación de plántulas se realizaron en el Invernadero de la misma Facultad.

El método que se describe a continuación se resume en la Figura 8.

### Análisis anatómico-histoquímico de la semilla de *S. humilis*

El estudio anatómico e histoquímico se centró en la porción de mayor grosor, sin considerar el ala. En esta zona se incluye el embrión, rodeado por el endospermo y la cubierta seminal. Así, para las semillas sin testa, se les eliminó todo el tejido blando de la cubierta seminal y para las semillas con testa se mantuvo sin cambios.

Aunque las semillas se disectaron longitudinal y transversalmente, se utilizaron cortes transversales para la descripción, para fijarlas en FAA (Formaldehído, Ácido Acético y Alcohol) durante 72 horas. Transcurrido este tiempo se lavaron en agua corriente para eliminar el fijador. Posteriormente se sometieron a una deshidratación con etanoles graduales a las siguientes concentraciones: 30, 50, 70, 85, 96 y 100%. El material

vegetal se mantuvo en cada cambio por 15 minutos. Después se sumergieron en una mezcla Etanol Absoluto-Xilol 1:1 por una hora, seguida de Xilol puro por 30 minutos.

Los siguientes pasos se llevaron a cabo en una estufa a 48°C, colocando el material biológico en una mezcla de Xilol-Paraplast 1:1 por 12 horas e incluyéndolo posteriormente en Paraplast puro por 24 horas.

Cada muestra de material biológico se depositó en un cubo pequeño de cartulina, conteniendo parafina fundida, se orientó con aguja de disección caliente, de acuerdo al plano de corte requerido. Se mantuvieron los cubos a temperatura ambiente (25°C) por 48 horas.

Posteriormente se extrajeron del recipiente los bloques de Paraplast sólido con el tejido, y, con micrótopo de rotación American Optical Modelo 820, se obtuvieron de dos a cinco cortes de la parte anterior, media y posterior del bloque. Para cada tipo de material se obtuvieron cortes transversales de 10 a 15 µm de grosor.

Para desparafinar los portaobjetos se introdujeron a la estufa (56°C-58°C) durante 20-30 minutos, se hicieron 3 cambios en Xilol, luego en Xilol-Etanol al 100% y se hidrataron con una serie de alcoholes del 100%, 96%, 85%, 70%, 50%, 30% y agua, hasta llegar a la concentración del solvente en que esté preparado el colorante.

Se aplicaron las tinciones Azul Negro de Naftol (ANN), Reactivo de Schiff (SCH), Cuádruple de Johansen (CJH) y Rojo O de Aceite (ROA) y Sudan III. Los cortes teñidos se observaron al microscopio óptico American Optical para su interpretación (López Curto et al., 2005) y se tomaron fotografías con cámara Canon® acoplada al Sistema Axion Vision de Karl Zeiss® versión 4.7, para su registro.

## Experimentos de propagación

### Experimento 1: Imbibición de las semillas con y sin testa

Las semillas con testa fácilmente perdían su ala, por lo que se decidió unificar esta condición cortando el ala a todas las semillas utilizadas para este tratamiento, manteniendo el tejido blando de la cubierta seminal que rodea al embrión (Fig. 5). A partir de 100 semillas sin ala de la colecta de Abril del 2010, se formaron dos grupos de 50 semillas, uno denominado sin testa, al que se le eliminó todo el tejido blando de la cubierta seminal y el otro denominado con testa, que permaneció sin cambio.

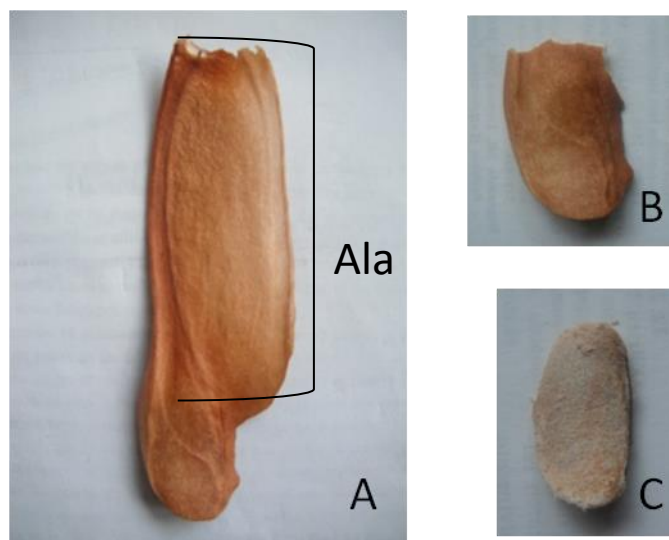


Fig. 5. (A) Semillas de *S. humilis* con ala. (B) Semilla con testa: porción engrosada de la semilla con la cubierta seminal. (C). Semilla sin testa: porción engrosada de la semilla a la que se le removió la testa.

Cada grupo se subdividió en cinco réplicas de 10 semillas cada uno: A cada replica se le aplicó un diseño experimental bifactorial completamente al azar con cinco repeticiones de 10 semillas cada uno, donde los factores fueron: semillas sin testa y con testa y tiempo de imbibición (catorce tiempos: a partir del tiempo cero correspondiente al peso de las semillas secas, seguido de la evaluación de la imbibición cada 15 minutos durante las primeras 2 horas, después cada media hora hasta cumplir las 4 horas y por último a las 8 horas).

#### *Conducción del experimento*

Se obtuvo el peso seco de cada lote, en balanza analítica (SCIENTECH SA 120), considerando esta condición como tiempo cero; posteriormente, cada lote se sumergió en agua, para determinar si se presentaba imbibición. Se dejó transcurrir el primer tiempo, se extrajeron las semillas de cada lote y se eliminó el exceso de agua con papel absorbente; se pesaron en balanza analítica y se volvieron a sumergir en agua hasta completar el segundo tiempo, y así sucesivamente. Los tiempos evaluados fueron en minutos: 15, 30, 45, 60 (1 h), 75 (1:15 h), 90 (1:30 h), 105 (1:45 h), 120 (2 h), 150 (2:30 h), 180 (3 h), 120 (3:30 h), 240 (4 h) y 480 (8 h).



Para determinar la cantidad de agua que absorbieron las semillas sin testa y con testa, se le restó el peso del tiempo de 15 minutos, al obtenido en cada tiempo evaluado.

Se hizo el registro gráfico del incremento en peso de las semillas a través del tiempo y se aplicaron ANOVAS (Statgraphics Plus) para establecer si hubo diferencias significativas entre tratamientos y Análisis de Rango Múltiple (Tukey) para reconocer aquellos tratamientos que eran diferentes (Fig. 8)

Se optó por la propagación sexual sobre la vegetativa por los beneficios genéticos para la especie que puede brindar la carga de variabilidad de la semilla, por la disponibilidad de frutos con semillas y porque la literatura cita que especies del mismo género presentaban un alto porcentaje de germinación.

### **Experimento 2: Emergencia y supervivencia de plantas provenientes de semillas sin testa y con testa, sembradas en dos sustratos.**

Se planteó establecer la influencia de la testa en la respuesta de emergencia, crecimiento y supervivencia de las plantas, combinando con el efecto que pudiera ejercer el tipo de sustrato.

Las diferentes características del suelo como textura y retención de agua, pueden ser determinantes para desencadenar la respuesta de germinación, promover la emergencia de plántulas y mantener la sobrevivencia de las mismas. De acuerdo a Méndez (2010) *S. humilis* prefiere suelos ligeros, profundos, bien drenados, como ocurre en la cuenca del Balsas donde crece la especie. Considerando lo anterior se escogieron 2 tipos de sustratos: Tierra negra con tezontle tamaño grava (TN/TZ) y Tierra negra con Arena fina (TN/AR), ambos a una proporción 1:1. El tezontle y la arena para proporcionarle textura mineral y buen drenaje, y la característica de la ligereza sería dada por el tezontle. Por su parte la tierra negra sería el elemento orgánico-mineral y nutricional, tan importante para la germinación y crecimiento de especies vegetales.

Se sembraron las semillas de *S. humilis* en forma vertical atendiendo la recomendación de Rojas y Torres (2008) quienes obtuvieron altos porcentajes de germinación para *S. macrophylla*.

Conducción del experimento.

Se utilizaron las semillas sin testa y con testa del experimento de imbibición, las cuales, después de las 8 horas de evaluación, se mantuvieron en agua hasta completar 12 horas de imbibición.

Con cada lote de 50 semillas sin testa y con testa, se formaron dos grupos de 25 semillas cada uno, para sembrar las semillas de forma individual, verticalmente y cerca de la superficie, en macetas de 11 cm de diámetro x 9 cm de alto, conteniendo una de las dos mezclas de sustrato seleccionados.

La siembra se realizó el 16 de agosto del 2011 (semillas con 4 meses desde su colecta).

El diseño experimental fue completamente al azar, bifactorial, donde los factores fueron: a) condición de la cubierta seminal: semillas sin testa y con testa, y b) sustrato: con tezontle (TN/TZ) y con arena (TN/AR).

Los tratamientos que se derivaron de este diseño fueron:

- Semillas sin testa sembradas en sustrato con tezontle.
- Semillas sin testa sembradas en sustrato con arena.
- Semillas con testa sembradas en sustrato con tezontle.
- Semillas con testa sembradas en sustrato con arena.

Cada tercer día se registró la emergencia de plántulas y se midió, en su caso, la longitud su tallo. Se registró la germinación y muerte de semillas 2 veces por semana, así como el crecimiento de plántulas.

A los 80 días después de la siembra (dds) se obtuvo el porcentaje acumulado de plántulas que emergieron, la supervivencia y la dinámica de crecimiento del tallo en cada tratamiento.

Para establecer si existían diferencias significativas en el porcentaje de emergencia de plántulas y la supervivencia entre los distintos tratamientos, los resultados se sometieron a una transformación arcossénica y se analizaron por medio de ANOVA (Statgraphics Plus). Los tratamientos que mostraban diferencias se reconocieron por medio del Análisis de Rango Múltiple (Tukey).

### **Experimento 3: Germinación y crecimiento de plántulas provenientes de semillas sin testa y con testa en sustrato de tierra negra con tezontle.**

Para establecer si la presencia o ausencia de cubierta seminal es determinante para la germinación y supervivencia de plantas, se procedió a evaluar la germinación de las semillas sin testa y con testa en condiciones controladas de humedad en cajas de plástico transparentes, a temperatura de laboratorio (Fig. 6). Se recuerda que el tratamiento con testa no incluye el ala.



Fig. 6. Condiciones de germinación de semillas de *S. humilis* (A) sin testa y (B) con testa pero sin ala, en cajas de plástico con papel absorbente húmedo y temperatura de laboratorio.

Una vez germinadas las semillas, se procedió a determinar si la presencia o ausencia de la testa, favorecía el establecimiento y crecimiento de las plántulas a los 30, 60 y 90 días dds. Se eligió el sustrato de tierra negra con tezontle, donde los fragmentos de tezontle, llamados granillo, eran de aproximadamente 1 cm de diámetro, para lograr su integración con la tierra negra y permitir un drenaje adecuado. La prueba se inició el 24 de mayo del 2012.

#### **Conducción del experimento**

Se utilizaron 50 semillas sin testa y 50 semillas con testa, las cuales se embebieron por 24 horas en agua y se enjuagaron con una solución fungicida de Captán al 0.2%.

Después se colocaron entre 2 capas de papel absorbente húmedo, dentro de cajas de plástico transparente (22 cm x 15 cm). Así se prepararon 5 lotes de semillas sin testa y 5 de semillas con testa, que se colocaron en una mesa con luz indirecta del sol a temperatura de laboratorio. Cada tercer día se revisó la germinación de las semillas y la humedad del papel, hasta obtener el registro máximo de germinación.

Transcurridos 16 días, las semillas que germinaron se sembraron en macetas con Tierra Negra con Tezontle granillo TN/TZ 1:1, así como aquellas semillas que aún no germinaban, cuyas macetas se monitorearon para determinar si emergían y considerarlas en el recuento de máxima germinación a los tres meses.

Para medir el crecimiento de las plántulas, se registró la longitud del tallo de las plántulas emergidas en tres tiempos: a los 30, 60 y 90 días después de siembra.

El diseño experimental fue completamente al azar, unifactorial para la germinación de las semillas sin testa y con testa.

Los variables registradas para la germinación fueron:

- Germinación máxima de semillas sin testa
- Germinación máxima de semillas con testa

Los tratamientos que se derivaron para el crecimiento de plántulas fueron:

- Longitud del tallo de plántulas de semillas sin testa a lo largo de 3 meses.
- Longitud del tallo de plántulas de semillas con testa a lo largo de 3 meses.

Los resultados se analizaron por medio de ANOVA de medidas repetidas (Statistica). Los porcentajes de germinación se sometieron a una transformación arcossénica previa al análisis. Los tratamientos que mostraban diferencias se reconocieron por medio del Análisis de Rango Múltiple (Tukey (Statgraphics Plus)). Los datos se registraron gráficamente.

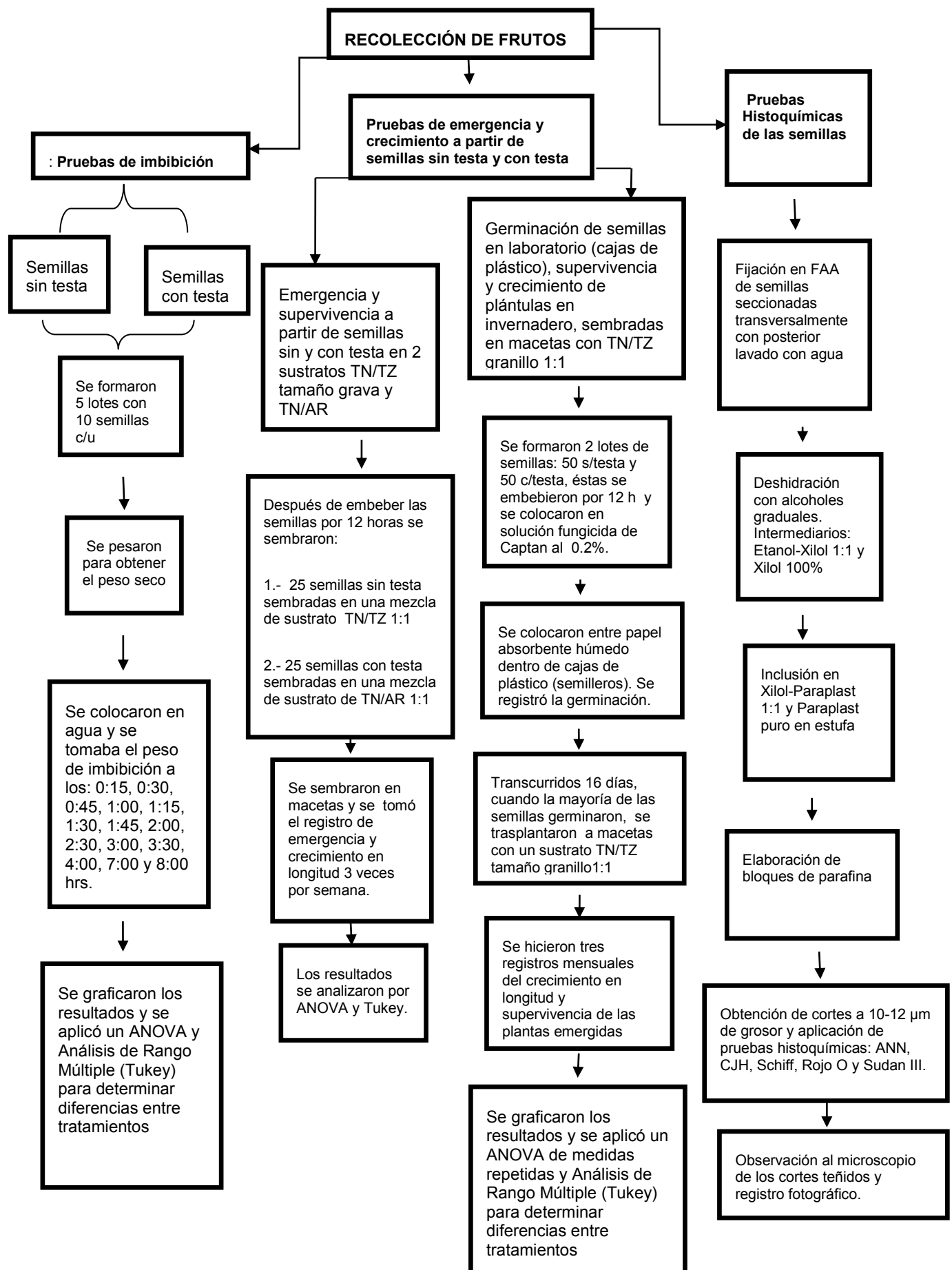


Fig. 7.- Diagrama de flujo de los métodos

## 6. Resultados

### Estructura de la semilla de *Swietenia humilis*

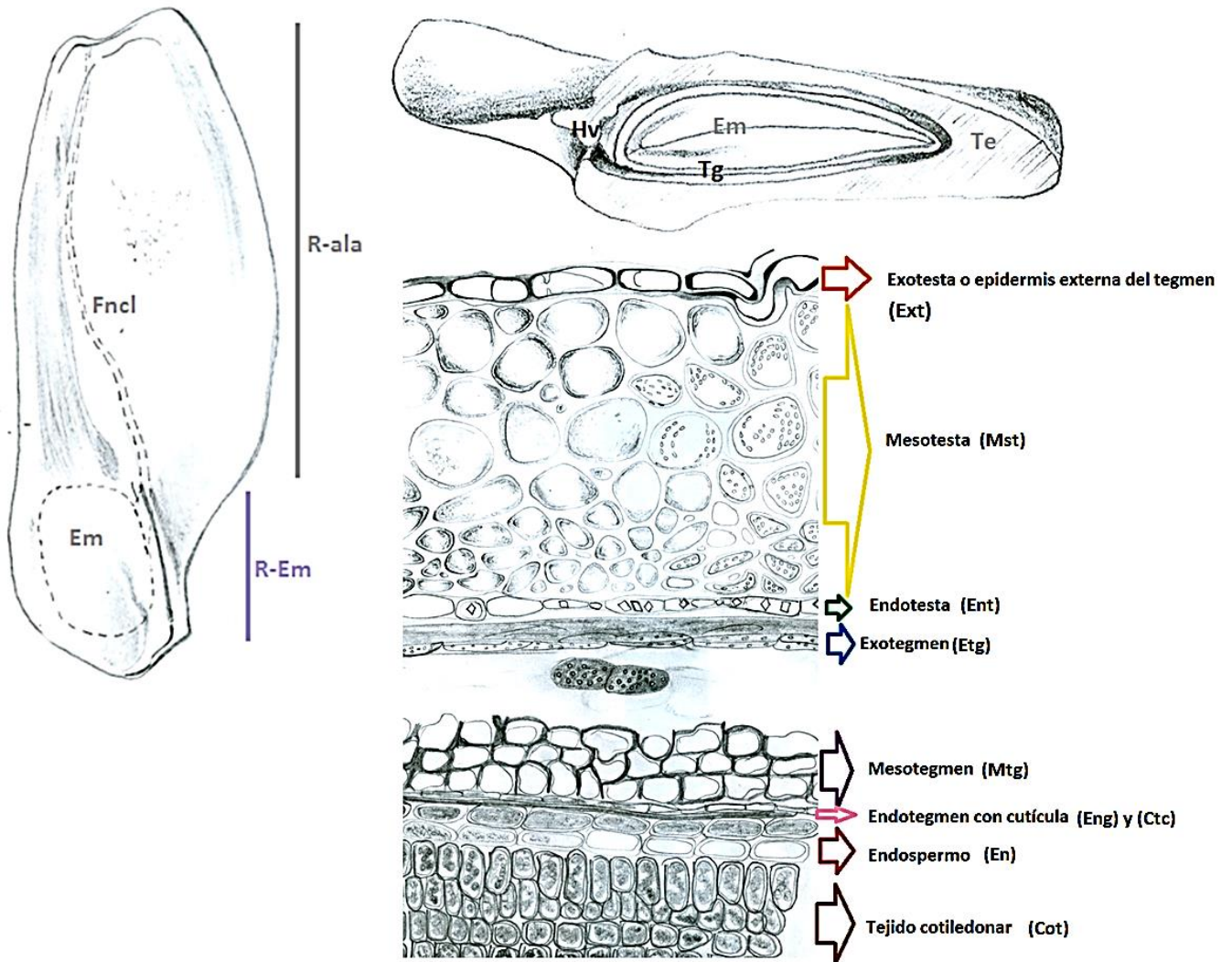


Fig. 8. Esquema de estructura de la semilla madura de *S. humilis* así como de las capas de su cubierta seminal. (A) Principales regiones de la semilla, R-Em: Región del embrión, R-Ala: Región del ala en la que se observa el funículo (Fncl) a todo lo largo. (B) Vista transversal de la semilla, cotiledón, endospermo y capas constituyentes de la cubierta seminal.

## Anatomía de la semilla de *Swietenia humilis*

Las semillas de *Swietenia humilis* presentan dos porciones: una delgada y alargada denominada la Región del ala (R-ala) y el cuerpo de la semilla engrosado hacia la base o Región del embrión (R-Em) (Figura 9). En corte transversal de la semilla de *S. humilis*, con la tinción Cuádruple de Johansen (CJH), se observaron tres componentes principales: la cubierta seminal formada por testa y tegmen, el endospermo reducido a una capa de células y el embrión que ocupa la mayor parte de la semilla con sus cotiledones (Figura 10).

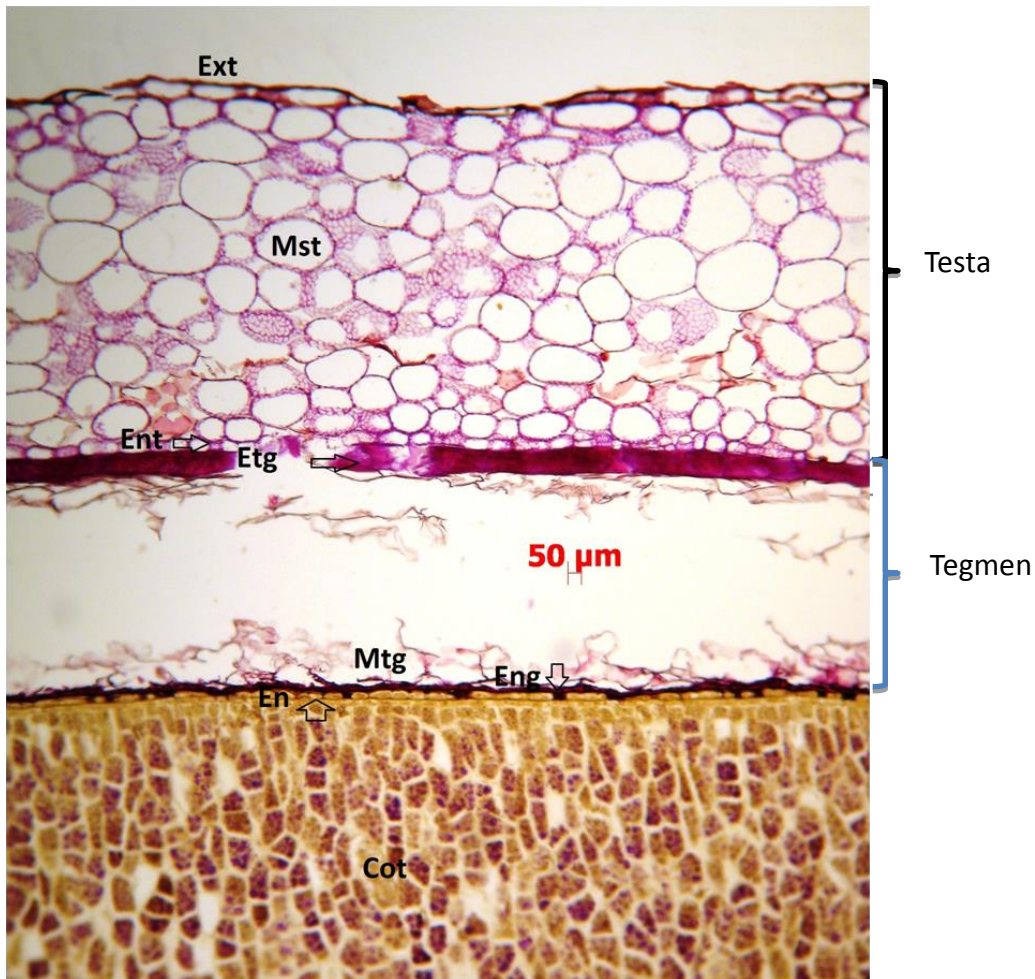


Fig. 9. Histología de semilla madura de *S. humilis*. Tinción CJH. Testa compuesta de: Exotesta (Ext), Mesotesta (Mst), Endotesta (Ent). Tegmen compuesto de: Exotegmen (Etg), Mesotegmen (Mtg), Endotegmen (Eng), Endospermo (En), Cotiledón del embrión (Cot).

**Cubierta seminal.** Dado que las semillas de las meliáceas, familia a la que pertenece *S. humilis*, derivan de un óvulo bitégmico (Corner, 1976; Niembro, 1989), los tejidos que proceden del tegumento externo forman la testa y los que provienen del tegumento interno constituyen el tegmen. En *S. humilis*, tanto la testa como el tegmen están constituidos por tres capas: una externa, una media y una interna, que Corner (1976) nombra como: epidermis externa, mesófilo y epidermis interna y que en este trabajo se denominan exo-, meso- y endo- testa o tegmen, de acuerdo a Kigel y Galili (1995) (Fig.11)

### A) Testa

Ubicación: Exotesta

**Exotesta (Ext).** Capa de células epidérmicas que están elongadas de forma paralela a la superficie y en algunas de ellas se observaron punteaduras (Fig. 11). Esta capa presentó células estomáticas, debajo de éste se observó un hueco correspondiente a la cámara subestomática (Figs. 10A y 10B). Sus paredes celulares se tiñeron de rojo púrpura con CJH, lo que demostró que están cutinizadas, revelando la presencia de una cutícula impermeable al agua.

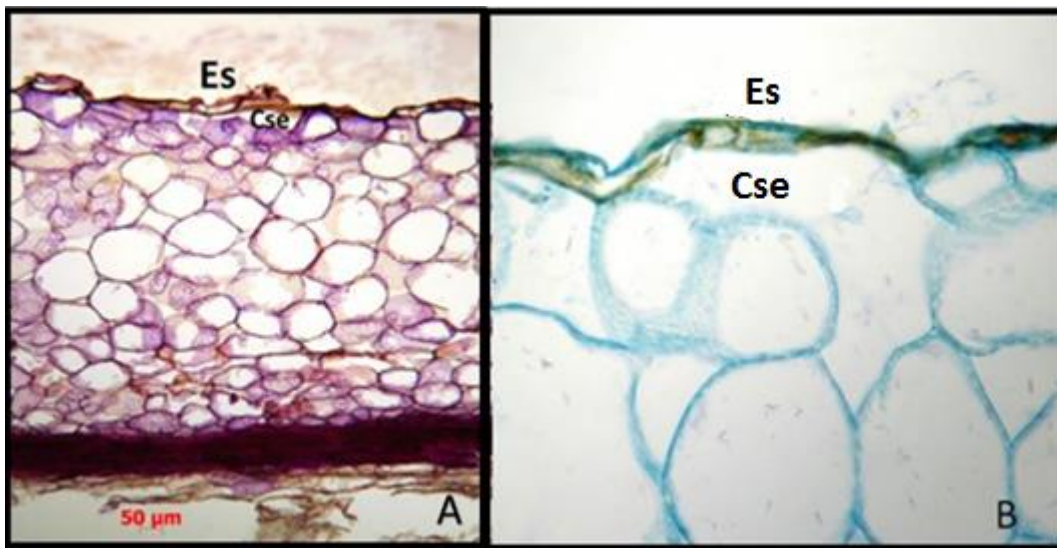
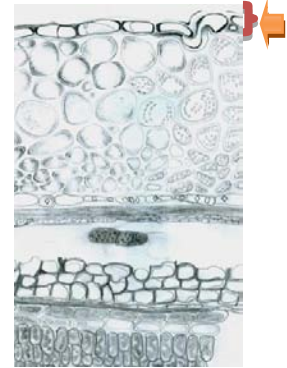


Fig.10. Exotesta de la semilla de *S. humilis*. Tinciones CJH (A). Se observan estomas (Es) con paredes teñidas de Rojo púrpura y cámara subestomática (Cse). Tinción ANN (B).



**Mesotesta (Mst).** Esclerenquima compuesto por células sin protoplasto, con abundantes espacios intercelulares y paredes delgadas), de aproximadamente 12 a 19 células de espesor (Fig. 11 A, B y C) en su parte más gruesa, correspondiente a la parte basal de la semilla a la altura del embrión, y adelgazándose en la parte hacia el ala de la semilla. Sus células grandes casi esféricas (subglobosas) y sin contenido celular, mostraron paredes lignificadas y con presencia de proteínas estructurales, de acuerdo a la reacción positiva con las tinciones CJH y Azul Negro de Naftol (ANN), respectivamente. Con ambas tinciones se observaron paredes con punteaduras.

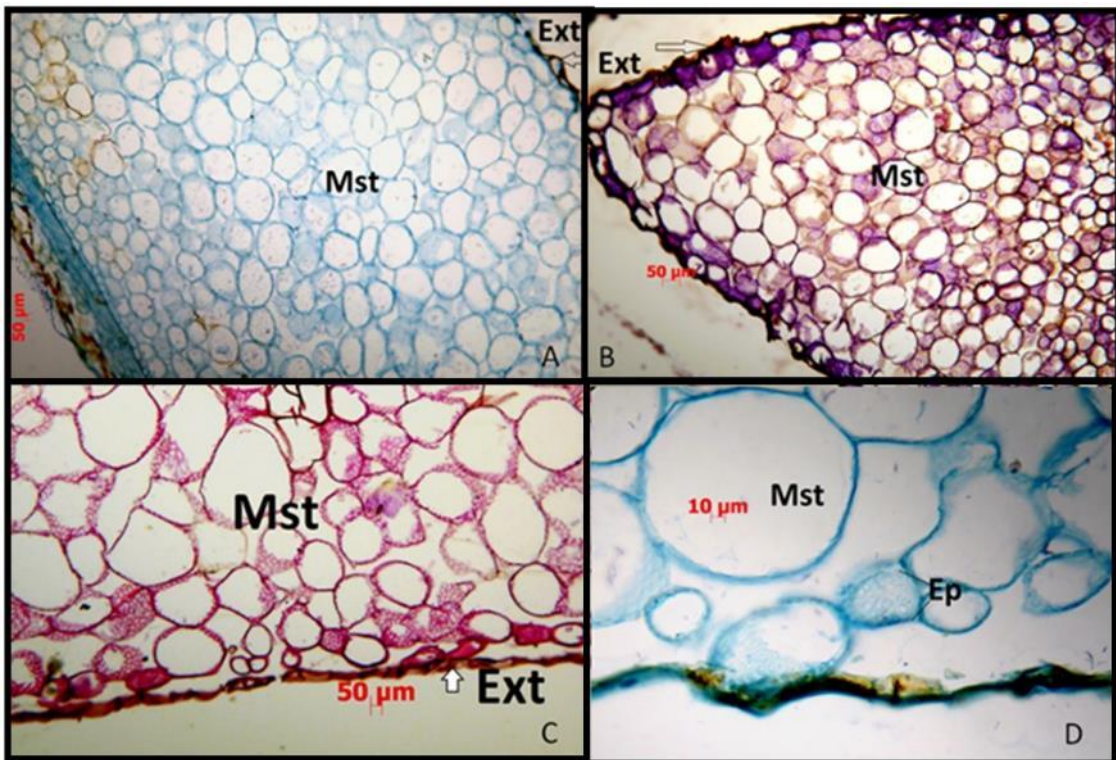
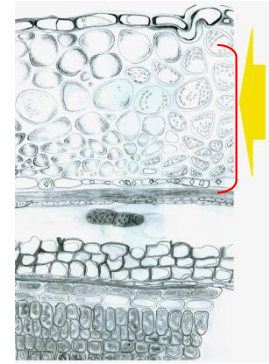


Fig. 11. Mesotesta de la semilla de *S. humilis*. Mesotesta (Mst). Tinción ANN (A, D). (A) Engrosamientos de pared con punteaduras (D). Detalle de la mesotesta con células subglobosas con punteaduras (Ep) y espacios intercelulares. Tinción CJH (B, C). (B) Tejido de la Mesotesta correspondiente a la zona del embrión. (C) Tejido de la Mesotesta correspondiente a la zona del ala.

Ubicación: Endotesta

**Endotesta (Ent):** Esclerénquima con células de forma rectangular a aproximadamente cubicas, donde es común observar cristales de oxalato de calcio. Las paredes celulares se tiñeron de color rojo brillante con la tinción CJH y de color azul con ANN, indicando que están lignificadas y contienen proteínas estructurales (Fig. 12).

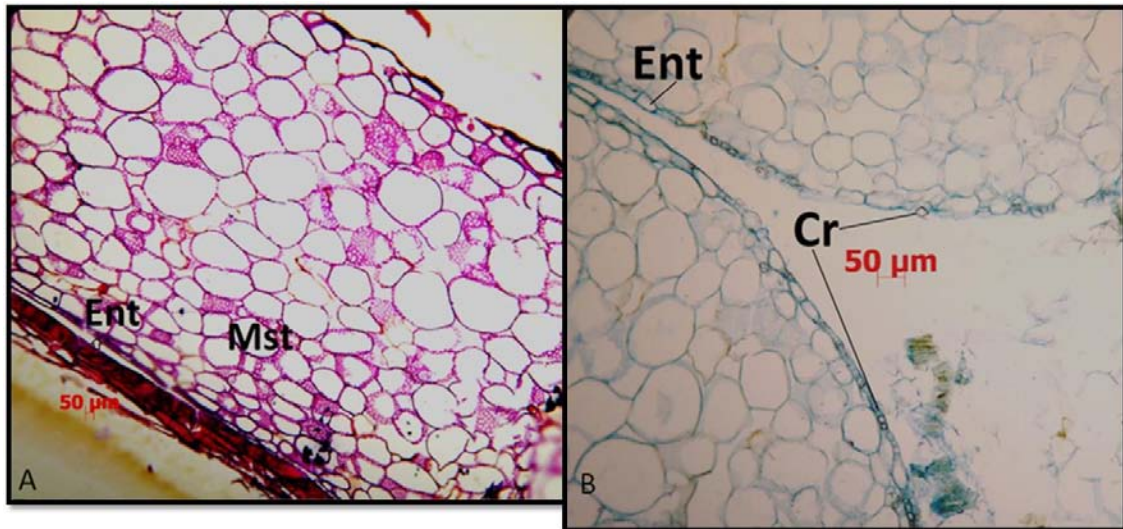
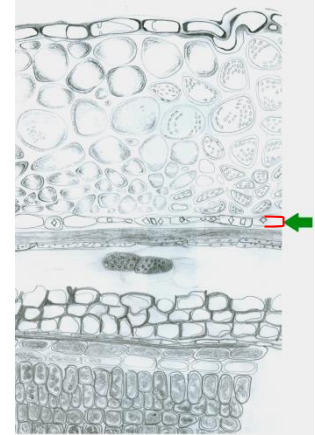


Fig. 12. Endotesta de la semilla de *S. humilis*. Tinción CJH (A). Tinción ANN (B). Porción media de la semilla del lado donde se comienza a formar y extender el ala. Se observaron cristales de oxalato de calcio de forma cúbica (Cr) dentro de las células.

## B) Tegmen

Ubicación: Exotegmen

**Exotegmen (Etg).** No se presentó como la típica capa de células rectangulares o cúbicas, sino que se observó como una acumulación de células compactas, de naturaleza esclerenquimática. Algunas células que se desprendieron, permitieron observar que está compuesto por fibras, ya que las células están alargadas longitudinalmente, con gran cantidad de punteaduras. Sus paredes engrosadas se tiñeron de color azul con ANN y de rojo con CJH, revelando la presencia de proteínas estructurales y lignina, respectivamente. Al parecer presentan crecimiento tangencial, por lo que no se observan claramente en los cortes transversales.

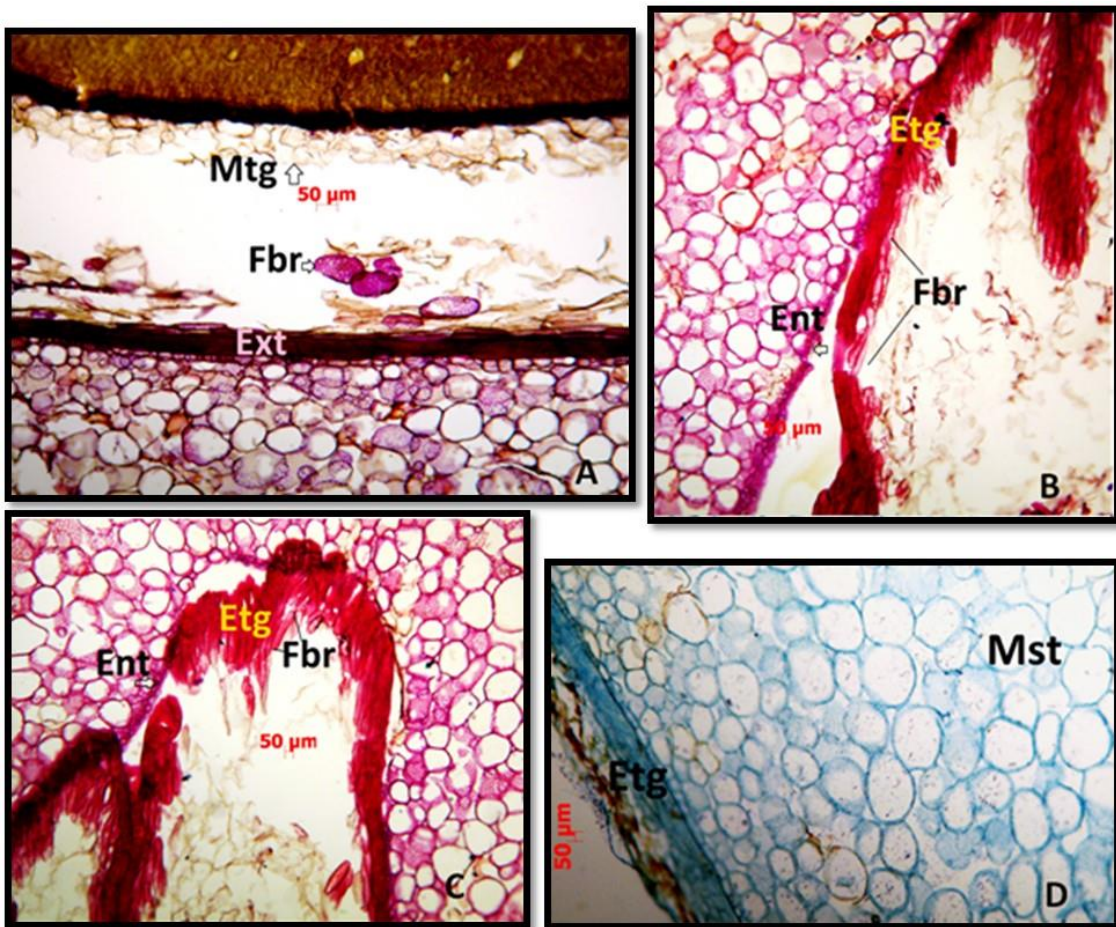
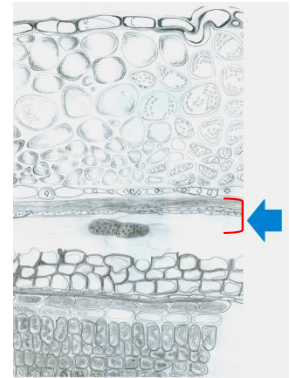


Fig. 13. Exotegmen de la semilla de *S. humilis*. Tinciones CJH (A, B y C) y ANN (D). (A)

Ubicación: Mesotegmen

**Mesotegmen (Mtg):** Esclerénquima de células grandes y sin protoplasto de paredes delgadas y con punteaduras. Tiene más de 5 células de grosor. Con la tinción de CJH reaccionaron positivamente tiñéndose de color púrpura (Fig. 14), lo que indica que las paredes están lignificadas, y para la tinción de ANN se tiñeron de azul, indicando que poseen proteínas estructurales.

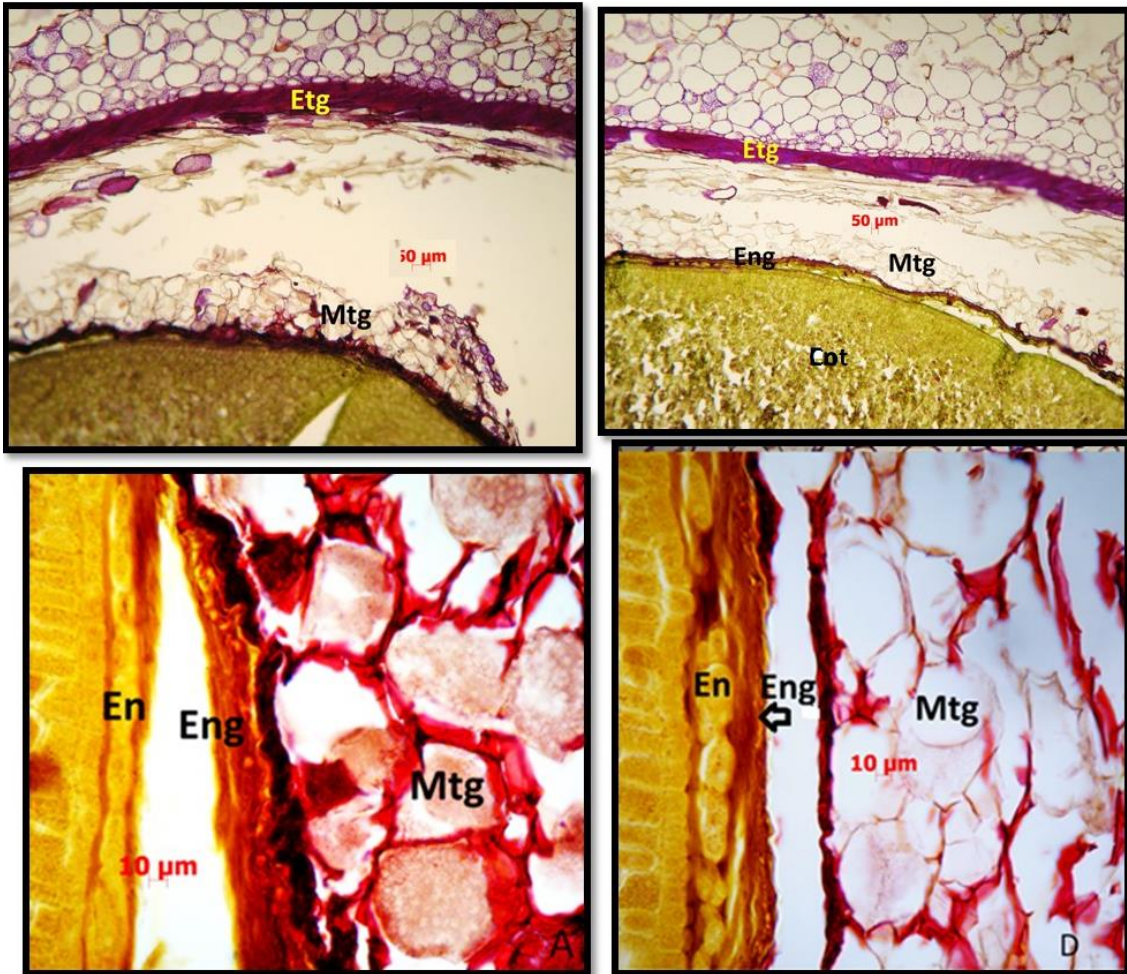
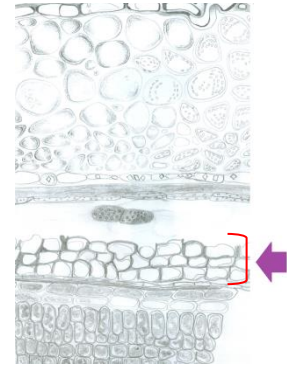


Fig. 14. Mesotegmen de la semilla de *S. humilis*. (A, B, C y D). Tinción CJH. Mesotegmen (Mst) al interior del Exotegmen (Etg). El Endospermo (En) como una sola capa de células.

**Endotegmen (Eng):** Esclerenquima uniestratificado compuesto por células continuas de color café, la cual no presentó reacción con ninguna de las tinciones aplicadas y que Corner (1976) describe con contenido de taninos. Adjunta a esta capa se encontró una cutícula (Ctc) que reaccionó positivamente a la tinción de Rojo "O" de Aceite (ROA) evidenciándola con un color naranja rojizo, con lo que se demostró su contenido rico en cutina.

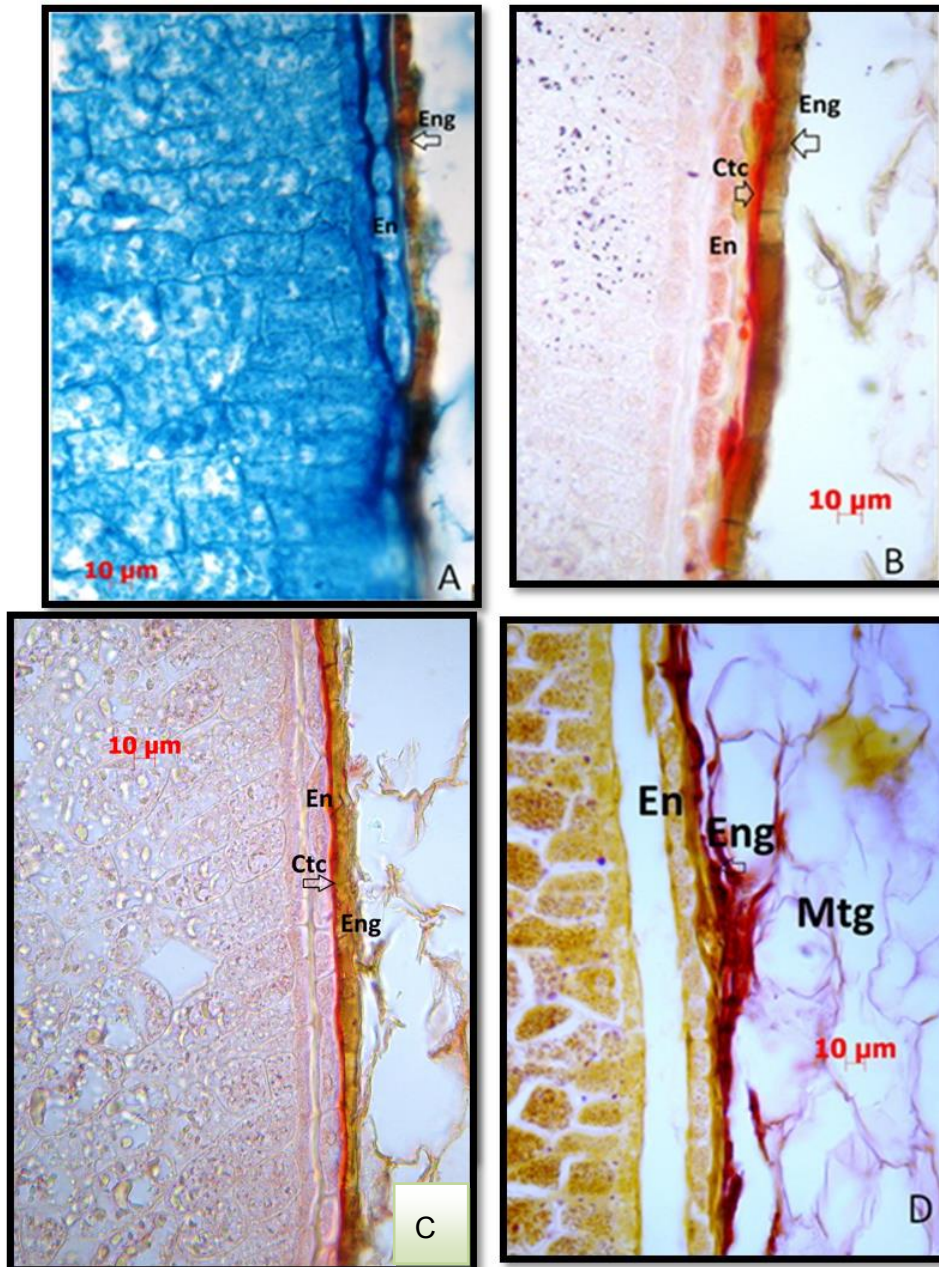
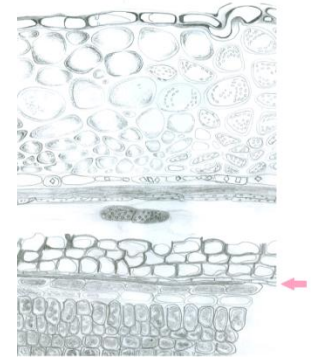


Fig. 15. Endotegmen de la semilla de *S. humilis*. Tinciones ANN (A), ROA (B y C) y CJH (D). (A) Con CJH el Endotegmen (Eng) no presenta ninguna reacción y no se observa la cutícula. (B y C) Con ROA se hizo evidente la presencia de la cutícula (Ctc) de color rojo, y el Endotegmen (Eng) se distinguió como una línea marrón, señalada por Corner (1976) con contenido de taninos que no reaccionó con el colorante. (D) Con CJH se contrasta la presencia de taninos, que no se tiñen, en el Endotegmen (Eng). Endospermo (En).

## Endospermo

El Endospermo (En) consiste en un tejido parenquimático que dependiendo de su posición en la semilla contiene de 1 a 3 células. Es un tejido rico en lípidos solubles e insolubles evidenciados en las tinciones de Sudan III y ROA, respectivamente. También reaccionó positivamente a la tinción ANN, demostrando que contiene cuerpos proteicos. Con la tinción CJH no hay reacción evidente del tejido, por lo tanto no contiene almidones.

Ubicación: Endospermo

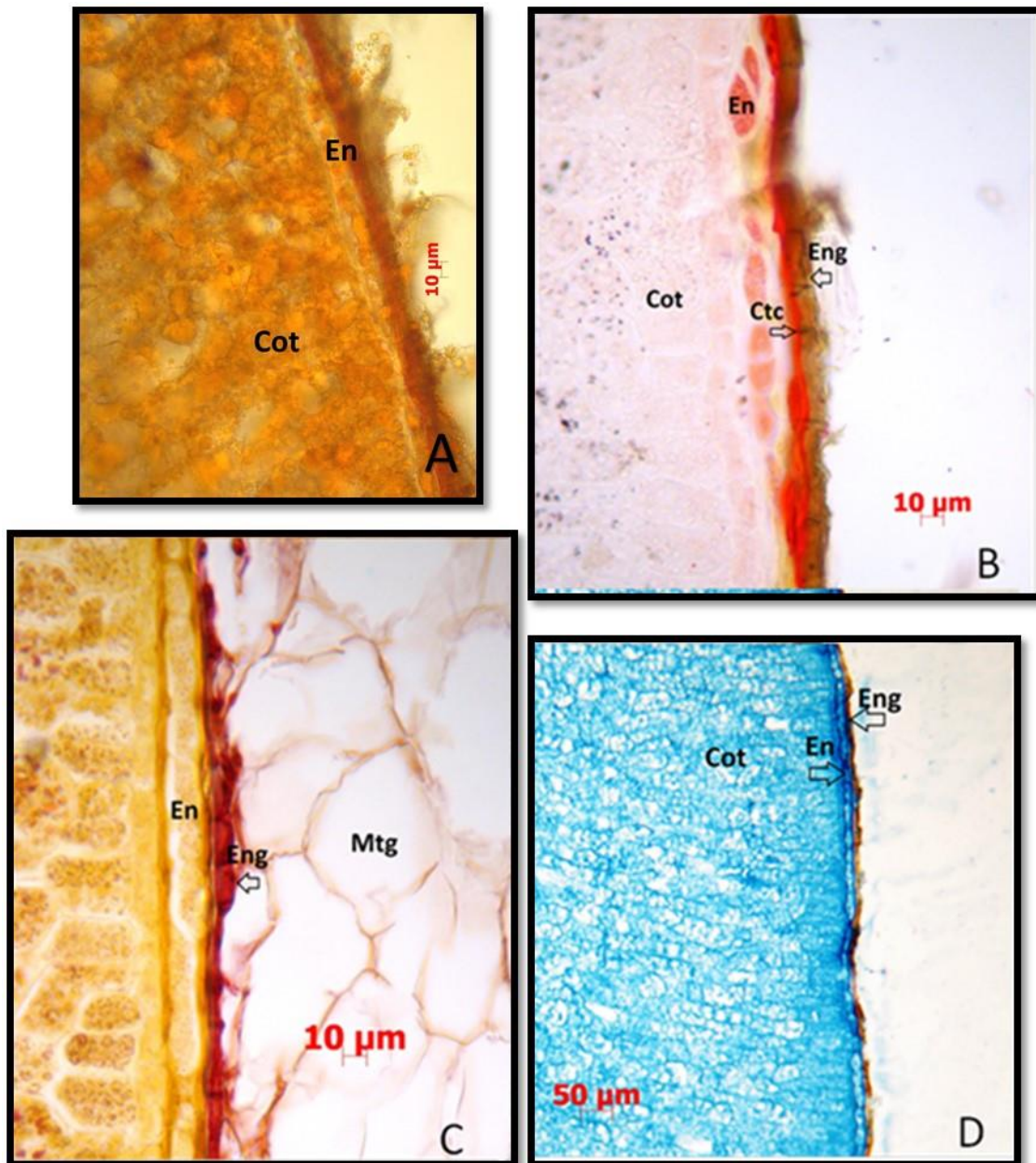
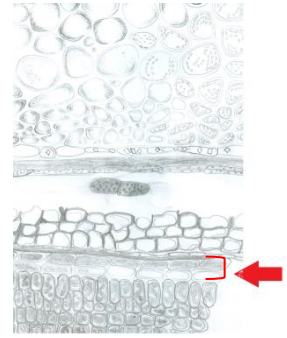


Fig. 16. Endospermo de la semilla de *S. humilis*. Tinciones Sudán III (A), ROA (B), CJH (C) y ANN (D). Cotiledón (Cot), endospermo (En), mesotegmen Mtg, endotegmen (Eng)

## Embrión

## Cotiledones

El tejido parenquimático que conforma a los cotiledones ocupa la mayor parte de la semilla; la separación de éstos en la parte media de la semilla se hace evidente por su epidermis. El tejido tuvo una reacción positiva azul con la tinción de ANN, lo que demuestra que contiene cuerpos proteicos. No hubo reacción evidente con el reactivo SCH, mostrando que tiene poco o nulo contenido de polisacáridos insolubles y almidones. La tinción con ROA y Sudan III fueron positivas, observándose lípidos insolubles y solubles, respectivamente.

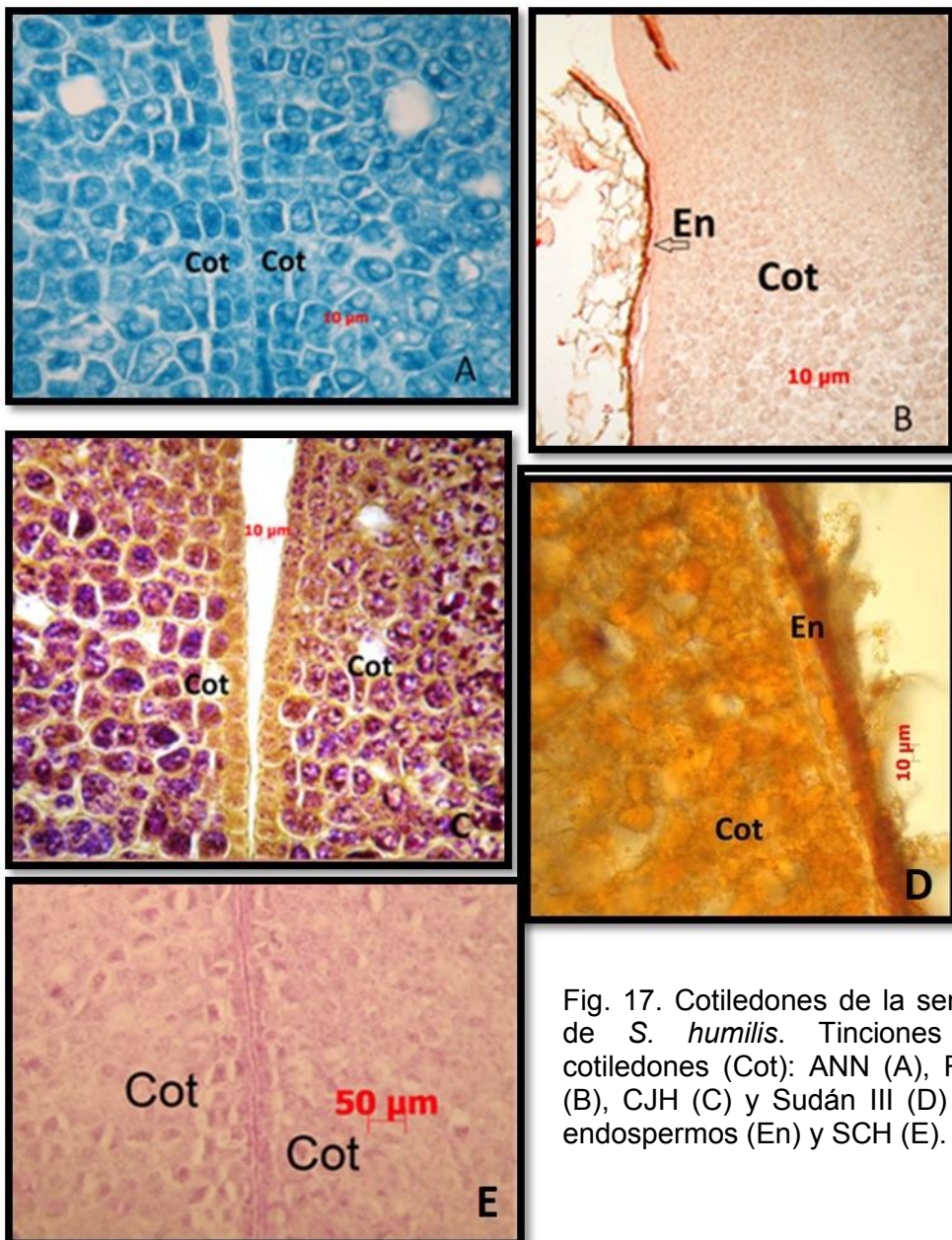


Fig. 17. Cotiledones de la semilla de *S. humilis*. Tinciones de cotiledones (Cot): ANN (A), ROA (B), CJH (C) y Sudán III (D) con endospermos (En) y SCH (E).

## Eje embrionario

El eje embrionario consta de: radícula (Rad), hipocótilo y epicótilo (Epi).

El eje embrionario se sitúa en el lado opuesto del rafe, a la misma altura de ésta. El epicótilo se encuentra en la parte más interna, rodeado por los cotiledones y hacia el exterior se presenta el hipocótilo y la radícula que se encuentra recubierta por la cofia. En el surgimiento y a lo largo de los cotiledones se observó la presencia del procambium con la tinción CJH, con una coloración rojo marrón. En la radícula se observó un alto contenido proteico con la tinción ANN, presentándose con más intensidad en el ápice de la radícula y debido a que es una zona meristemática. (Fig. 18).

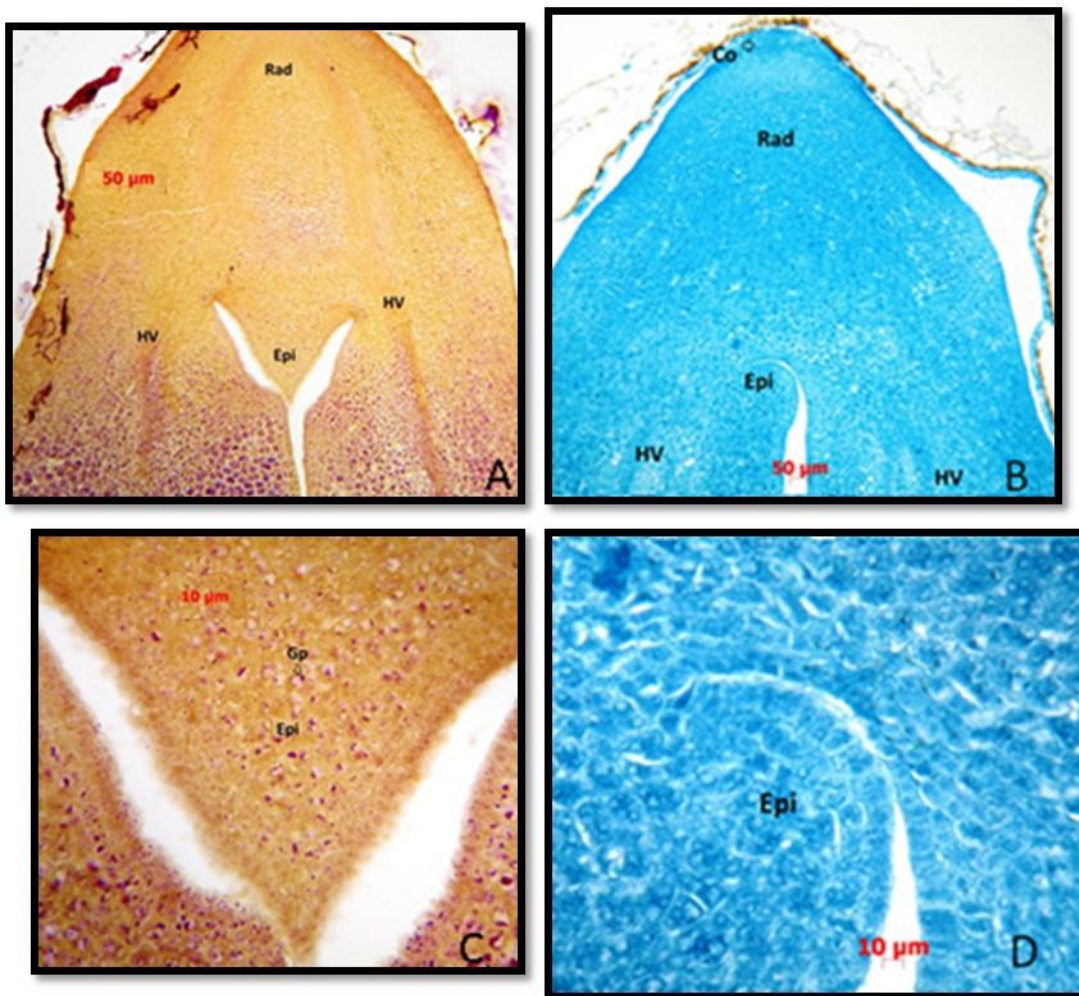


Fig. 18. Embrión ubicado en la parte media de la semilla de *S. humilis* mostrando el eje embrionario. Tinciones, CJH (A, C), ANN (B). Haces vasculares (HV), Epicótilo (Epi), Radícula (Rad), Cofia (Co).



## Experimento 1: Imbibición de semillas sin testa y con testa

Semillas sin testa. La imbibición de semillas sin testa fue paulatina absorbiendo 0.17 g de agua del tiempo cero a los 15 minutos, hasta 1.54 g de agua absorbida al cabo de 480 min (8 h) (Cuadro 2, Fig. 19).

Semillas con testa. En el lapso de cero a 15 minutos de imbibición se presentó un incremento considerable de 6.5 g en la absorción de agua. A partir de este momento, las semillas de este tratamiento absorbieron agua de manera paulatina, alcanzando 9.6 g de agua para los 480 minutos (8 horas) de imbibición, lo que corresponde a 3.1 g en este lapso (Cuadro 2, Fig. 19).

Cuadro 2. Comparación del peso del agua absorbida por semillas de *S. humilis* sin testa y con testa, durante los tiempos de imbibición cero, 15 minutos y 480 min (8 h).

	Agua embebida en 15 min (g).	Agua embebida entre minutos 15 y minutos 480 (g)	Agua embebida en total en 480 minutos (g)
<b>Semillas sin testa</b>	0.17	1.33	1.5
<b>Semillas con testa</b>	6.5	3.1	9.6

Dado que a los 15 minutos de imbibición se presentó un gran incremento del peso de las semillas con testa, se prefirió restar los pesos de agua absorbida a los 480 minutos (8 horas) de los obtenidos a los 15 minutos y comparar los resultados en los tratamientos sin testa y con testa.

El ANOVA simple de la absorción de agua a los 480 minutos (8 horas) de semillas sin testa y con testa, mostró que existen diferencias significativas en el peso de agua absorbida ( $F= 30.74$ ,  $P= 0.0005$ ), siendo mayor el peso de agua en semillas con testa, de acuerdo al análisis de Rango Múltiple (Tukey) (Anexo).

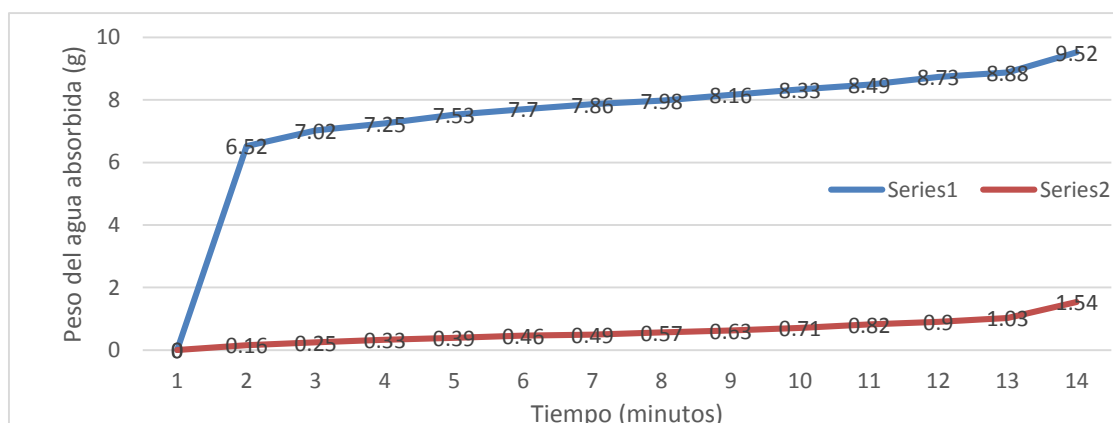


Figura 19. Peso del agua absorbida por las semillas con testa (series 1) y sin testa (series 2). Incremento en peso en los diferentes tiempos evaluados (minutos):  $t_1$ = Peso semillas secas,  $t_2$ = 15,  $t_3$ = 30,  $t_4$ = 45,  $t_5$ = 60,  $t_6$ = 75,  $t_7$ = 90,  $t_8$ = 105,  $t_9$ = 120,  $t_{10}$ = 150,  $T_{11}$ = 180,  $T_{12}$ = 210,  $T_{13}$ = 240 y  $T_{14}$ = 480.

## Experimento 2. Emergencia y supervivencia de plantas provenientes de semillas sin testa y con testa, sembradas en dos sustratos

El sustrato con tezontle, originalmente homogéneo, se fue separando en 2 capas a consecuencia del riego: la del fondo como una capa compacta que se mantenía húmeda, formada principalmente por la tierra negra, y la superior, formada por el tezontle en grava, que fácilmente perdía agua por falta de retención.

En estas condiciones las semillas sembradas superficialmente se desecaba o si había logrado germinar, lo mismo pasaba con la radícula cuyo crecimiento se deterioraba y moría.

En el sustrato con arena, la arena fina se precipitó a causa del riego, creando un ambiente anegado, que sometía a la semilla y en su caso a la radícula, a condiciones anóxicas desfavorables para la germinación y crecimiento, así como al ataque de hongos.

Las plántulas de semillas sin testa tuvieron porcentajes de emergencia cercanos o inferiores al 50%, con un 48% en tezontle y 36% en arena; la supervivencia de plantas a los 2 meses dds fue de 40% en tezontle y 8% en arena. (Fig. 20)

En cambio las plántulas provenientes de semillas con testa mostraron porcentajes de emergencia superiores al 90%, (96% en tezontle y 92% en arena), cuya supervivencia de plantas que se mantuvo a los 2 meses dds (Fig. 20).

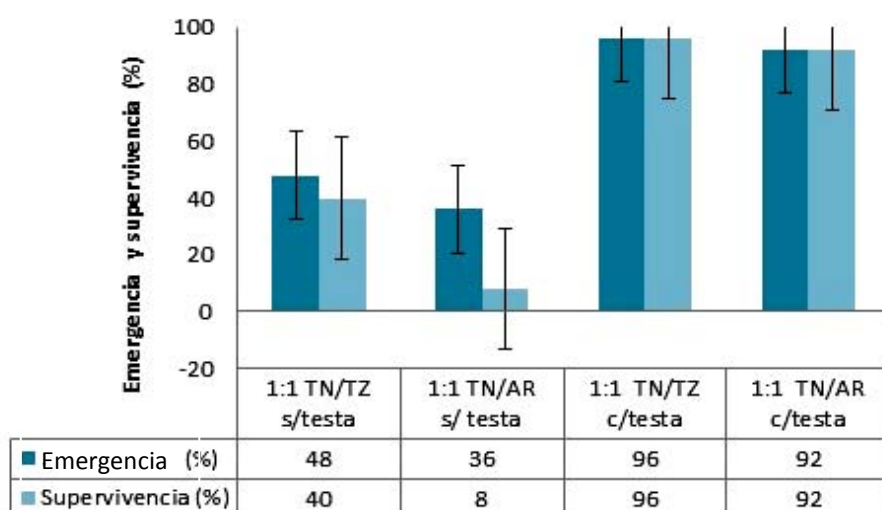


Fig. 20. Emergencia máxima de plántulas a dos meses después de su siembra, provenientes de semillas sin testa y con testa, en dos diferentes sustratos. TN/TZ y TN/AR.

## Crecimiento de plántulas provenientes de semillas sin testa, en dos sustratos

**Sustrato con tezontle.** Se inició la evaluación del crecimiento de plántulas en este tratamiento, a partir del día 29 después de siembra (dds). La altura promedio fue de 3.75 cm. Las plántulas mostraron un incremento paulatino hasta los 44 dds con 14.5 cm promedio. Para el día 55 dds, las plántulas alcanzaron una altura máxima de 20 cm, pasado este tiempo, las que sobrevivieron mantuvieron un crecimiento muy lento hasta el día 81 dds, con una altura promedio de 15.4 cm.

**Sustrato con arena.** En el día 29 dds, las plántulas presentaron una altura promedio de 1.75 cm, que se fue incrementando hasta un valor máximo de 16.5 cm promedio en el día 55 dds. Al igual que las plántulas del sustrato con tezontle, después de este pico de crecimiento, hubo poca sobrevivencia, que mantuvo un promedio de altura entre 11 cm y 13.6 cm promedio. Fig. 21.

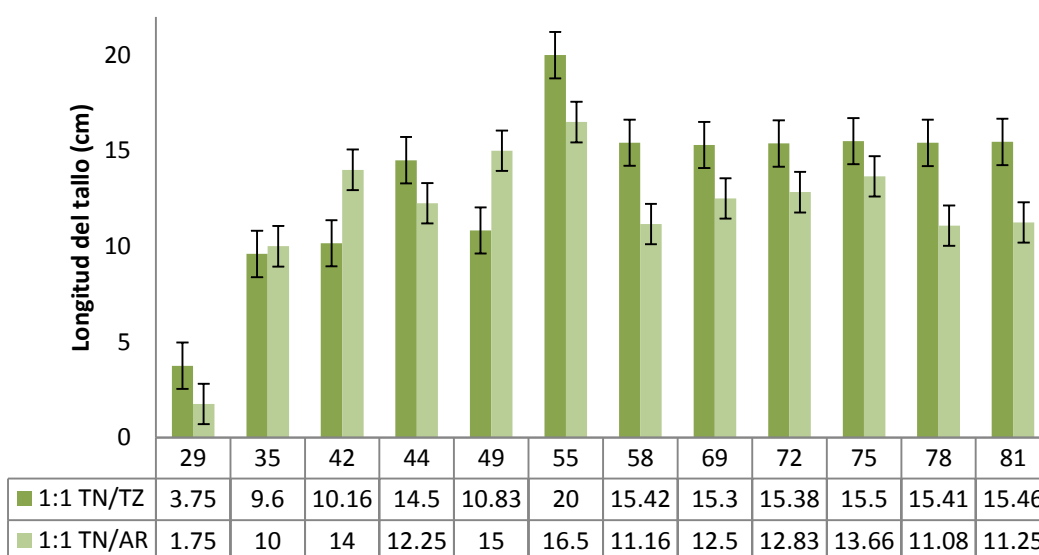


Fig. 21. Longitud del tallo de plántulas de caobilla obtenidas de semillas sin testa sembradas en dos sustratos.

**Dinámica de crecimiento en dos sustratos, de plántulas provenientes de semillas con testa.**

**Sustrato con tezontle.** En este tratamiento se inició la evaluación del crecimiento de plántulas, a partir del día 32 dds. La altura promedio fue de 2.5 cm. Para el día 70 dds, alcanzaron una altura promedio de 18.5 cm, que sufrió un decremento a 16.7 cm. El decremento en las alturas promedio fue a causa de la emergencia en tiempos diferentes

**Sustrato con arena.** La emergencia de las plántulas también se presentó a los 32 dds, con una altura de 2.5 cm promedio. En este tratamiento se registraron disparidades en los valores, debido a la muerte de algunos organismos, pero los individuos sobrevivientes igualaron la altura promedio a la registradas en el sustrato con tezontle en los días 60, 66 y 70 dds, alcanzando de 15.5 cm, 16.8 cm y 18.5 cm promedio, respectivamente. Fig. 22.

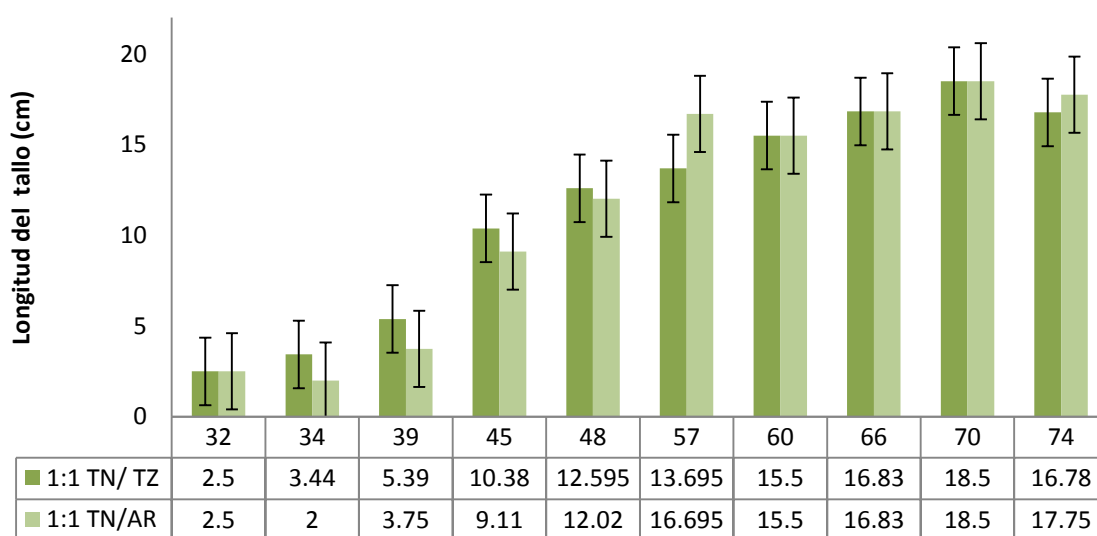


Fig. 22. Longitud del tallo de plántulas de caobilla obtenidas de semillas con testa sembradas en dos sustratos.

El ANOVA mostró que no hubo diferencias significativas ( $F=1.34$ ;  $P=0.271$ ) entre el crecimiento de los tratamientos provenientes de semillas sin testa y con testa, en ambos sustratos. Sin embargo, se observó una tendencia de una mejor respuesta de emergencia y crecimiento en los tratamientos de semilla sembradas con testa en ambos sustratos.

### Experimento 3: Germinación y crecimiento de plántulas provenientes de semillas sin testa y con testa en tierra negra con tezontle.

En semillas sin testa se registró un 80% de germinación, a partir de los 10 días dds en cajas de plástico. Después del trasplante a macetas con sustrato de tierra negra con tezontle en granillo, se presentó la muerte de varios individuos, con un 58% de supervivencia de plántulas a los 3 meses dds.

En las semillas con testa sólo había germinado el 20%, a los 10 días dds en cajas de plástico, pero se alcanzó una germinación del 92% a los 16 dds. Este porcentaje de supervivencia se mantuvo a los 3 meses dds (Fig.23)

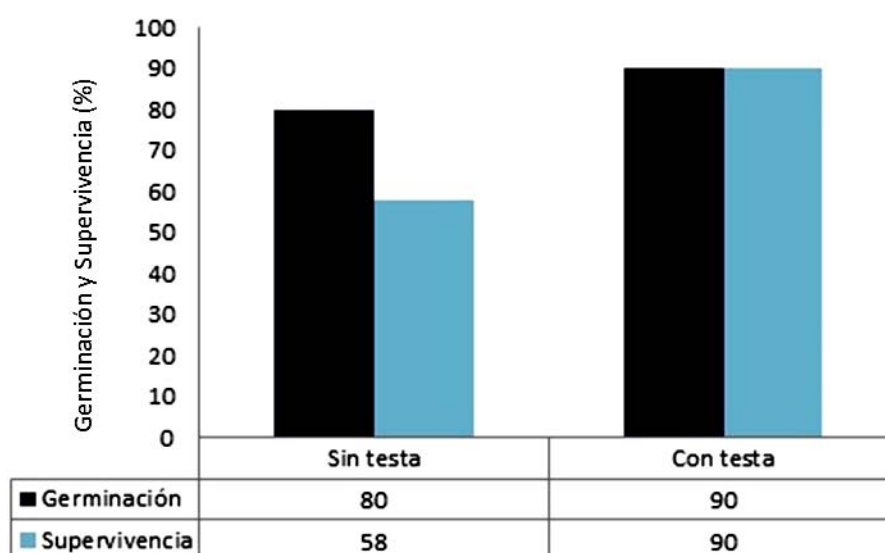


Fig 23. Porcentaje de germinación y supervivencia de semillas sin testa y con testa a los tres meses dds.

Al comparar los datos máximos de germinación de ambos tratamientos a los 3 meses dds, se observaron diferencias significativas ( $P=6.95$ ,  $F=0.0299$ ), siendo mayor el valor de germinación en semillas con testa respecto al de las semillas sin testa.

De igual manera en los resultados de supervivencia de plántulas se encontraron diferencias significativas ( $P=0.0012$ ,  $F=23.84$ ), siendo mayor el valor de supervivencia en semillas con testa.

Para analizar el efecto de la presencia o ausencia de testa en el crecimiento de las plántulas, se realizó un ANOVA de medidas repetidas, ya que se hicieron medidas

repetidas de la altura sobre los mismos individuos. Los resultados mostraron que el efecto del tratamiento (con/sin testa) no fue significativo ( $F = 1.751$ , g.l. 1,  $P=0.19$ ). La variable altura si fue significativa ( $F=7.842$ , g.l. 2,  $P=0.0006$ ), debido a que cambió a lo largo del tiempo, lo cual era de esperarse (Cuadro 3). La interacción entre ambos no fue significativa ( $F = 1.086$ , g.l. 2,  $P=0.34$ ). Como se observa en la figura 24 la variación en la altura final promedio fue de alrededor de un centímetro, y el intervalo de variación es muy amplio.

Cuadro.3. Análisis ANOVA de medidas repetidas de la longitud del tallo de plántulas de *S. humilis* obtenidas a partir de semillas con y sin testa.  $F(1,68)=1.7513$ ,  $P=19015$

	SS	Degr. of	MS	F	p
<b>Intercept</b>	33878.95	1	33878.95	1386.375	0.000000
<b>tratamiento</b>	42.80	1	42.80	1.751	0.190150
<b>Error</b>	1661.72	68	24.44		
<b>ALTURA</b>	166.20	2	83.10	7.842	0.000598
<b>ALTURA*tratamiento</b>	23.03	2	11.51	1.086	0.340327
<b>Error</b>	1441.27	136	10.60		

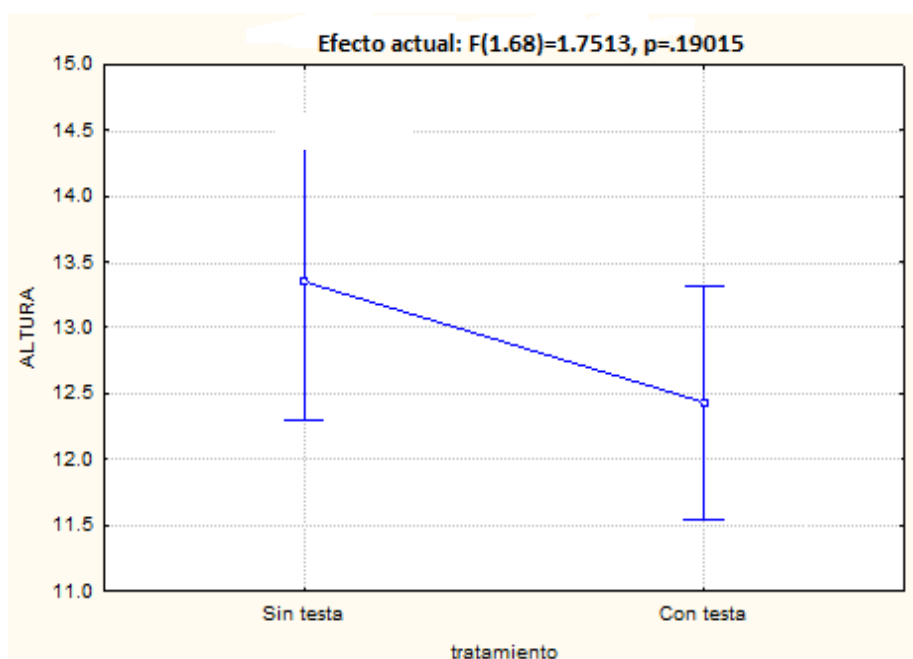


Fig. 24. Variación en la altura final (3 meses) promedio de las plántulas de *S. humilis*. Las barras verticales indican intervalos de confianza del 95%.

## 7. Discusión

Las localidades guerrerenses de Xochipala, municipio de Eduardo Neri, y de Sabana Grande, municipio de Tepecoacuilco, en la cuenca del río Balsas, presentan una vegetación predominantemente de bosque tropical caducifolio o selva baja caducifolia, que se caracteriza por una alta diversidad de especies vegetales, en un clima cálido con un periodo seco de entre cinco y nueve meses del año.

Las condiciones de orografía, clima y edafología del área, reducen drásticamente las tierras aptas para cultivos y dificultan el desarrollo de una agricultura altamente redituable.

En cambio, la gran diversidad biológica representa un recurso estratégico en el desarrollo de la sociedad local, ya que es fundamental para obtener tanto productos forestales maderables, para la construcción, ornato y textiles, como un amplio espectro de productos no maderables y de servicios para la subsistencia y mercados informales de las comunidades, por ejemplo los comestibles o los usados para remedios de la medicina tradicional que pueden derivar en fármacos o biocidas, entre otros.

Sin embargo, con frecuencia, el uso de la diversidad vegetal no es sustentable, ya que muchas especies con características adecuadas para su comercialización, han sido sobreexplotadas, mermando sus poblaciones.

Un ejemplo de ello es *Swietenia humilis*, cuya madera ha sido explotada excesivamente y en menor grado por su uso terapéutico en la medicina tradicional, poniendo en peligro la conservación de la misma en México y Centroamérica, por lo cual, actualmente se encuentra en el apéndice II de las CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres) y se prohíbe su comercialización (<http://www.cites.org/esp/disc/species.php>)

La caobilla en Guerrero es un árbol difícil de encontrar en el bosque natural, ya que no se ha explotado sustentablemente. Sin embargo, aún se encuentran ejemplares en algunas zonas de la selva baja caducifolia de Guerrero, como en Sabana Grande y Xochipala, donde es posible encontrar a la especie como árbol aislado en potreros o lindero de terrenos de cultivo o de hogares o como árbol de sombra para el ganado.

La presente tesis logró resultados que se discuten a continuación, sobre la propagación de la especie por semillas y aportó información sobre anatomía e

histoquímica de la semilla, lo que permite explicar algunas respuestas fisiológicas durante la germinación y las etapas tempranas en el desarrollo de la plántula. Estos hallazgos aportan elementos fundamentales para aquellos proyectos enfocados a establecer plantaciones de caobilla que tendrían un gran potencial para el desarrollo socio-económico y ambiental de la región.

### **Anatomía de la semilla**

El análisis anatómico e histoquímico aportó información para comprender la relación que guarda la estructura de la semilla con los procesos de germinación de la misma y el crecimiento de la plántula.

La estructura de la semilla de *S. humilis* se ajusta en general a la descripción de Corner (1976) para el género *Swietenia*. Es una semilla bitégmica con testa y tegmen, en la que se distinguen 2 regiones principales: a) el ala, que ocupa 2/3 del largo de la semilla y contiene a los haces vasculares del funículo que une a la semilla al eje central del fruto, y b) una parte ensanchada correspondiente al último tercio, que contiene al embrión en su interior, donde la cubierta seminal se caracteriza por ser crustácea, es decir, gruesa, endurecida y esponjosa, como lo describen Corner (1976) y Niembro (1989).

Dado que los experimentos de germinación y crecimiento utilizaron semillas sin ala, los resultados anatómicos se centraron en la región ensanchada de la misma.

### **Histología e histoquímica de la semilla**

#### **Cubierta seminal**

##### Tejidos relacionados con la regulación de la entrada de agua a la semilla

Se comprobó la presencia de testa y tegmen, con tres capas cada una de acuerdo a lo señalado por Corner (1976). La exotesta mostró la presencia de cutina, constituida por compuestos fenólicos que le dan cierta impermeabilidad, pero a su vez presenta estomas, como lo refiere Corner (1976), que permiten la entrada de agua durante la imbibición. En los cortes obtenidos no se pudo distinguir si los estomas estaban abiertos o cerrados, aunque Paiva et al., (2006) señalan que en *S. macrophylla* siempre se encuentran abiertos.



Otro tejido impermeable puede ser el endotegmen donde se evidenció un estrato celular con contenido de taninos, los cuales no reaccionan con ningún colorante, sino que por sí mismos presentan un color ámbar. Entre las funciones de los taninos se encuentra la de obstaculizar el flujo de gas, lo que restringe la germinación (Kigel y Galili, 1995). En el mismo endotegmen se presenta una cutícula con la reacción ROD, que a su vez impide el paso del agua y gases.

La mesotesta aerenquimatosa le permite a la semilla ser liviana cuando está seca, pero en presencia de agua, le confieren una mayor capacidad de absorción durante la imbibición de la semilla. Estos resultados son comparables con los obtenidos en *S. macrophylla* (Paiva et al., 2006), donde esta porción de la cubierta seminal posee células sin protoplasto, paredes celulares delgadas y muchos espacios intercelulares, lo que le confiera alta permeabilidad al agua.

El mesotegmen, aunque no es aerenquimatoso por no presentar espacios intercelulares, también es un tejido de consistencia esponjosa y de poca resistencia mecánica, ya que es un tejido compuesto por células muertas, grandes, la mayoría sin contenido celular y algunas con restos celulares, con paredes celulares primarias de celulosa, hemicelulosa, sustancias pécticas y proteína (CJH y ANN). Estas características permiten explicar por qué algunos segmentos aparecen fragmentados, con las células que se desprenden fácilmente unas de otras.

#### Tejidos relacionados con resistencia

La presencia de cristales en la endotesta podría estar relacionada con la resistencia mecánica de la cubierta seminal o al ataque de depredadores, en algunos otros grupos como Commelinaceae, Marantaceae, Malvaceae, etc. ha sido encontrado en las líneas de la endotesta como elementos de resistencia a la compresión y dando protección mecánica y resistencia al ataque de depredadores y patógenos (Kigel y Galili, 1995).

El exotegmen participar en la resistencia mecánica por presentar fibras lignificadas, reveladas por su reacción a CJH. En las semillas de *Cuphea glutinosa* el exotegmen se presenta como un tejido esclerenquimático, los autores proponen que éstas capas de células de paredes fuertemente engrosadas que incluye la presencia de lignina, le confieren resistencia mecánica y ejercen el control sobre la velocidad de hidratación fundamental para una adecuada germinación (Cardinali, 2004).

En las células del endotegmen se observó contenido de taninos relacionado con resistencia, ya que los taninos son sustancias que proporcionan a las células defensas químicas contra los depredadores de semillas, que van desde grandes vertebrados e insectos a los hongos y bacterias, no tienen acción tóxica directa, sino que hacen que ciertas partes de la planta sean difíciles de metabolizar. Otras funciones probables de los taninos son la protección contra la luz, y la demora de la descomposición de las cubiertas de las semillas en el suelo (Kigel y Galili, 1995).

Llama la atención que el exotegmen no corresponda a un tejido de una monocapa de células que envuelva al cuerpo del tegumento, sino a una capa de esclerénquima, de células punteadas, engrosadas debido a la acumulación de proteínas tipo extensina, por su reacción con ANN y su tinción púrpura con la técnica CJH.

Corner (1976) menciona que la epidermis externa del tegmen o exotegmen, es una capa de fibras punteadas, lignificadas y longitudinales, que coincide con observaciones realizadas en el presente trabajo. Estas características son equiparables con las del estrato periférico del mesotegmen que describe Corner (1976) como células esclerenquimáticas, muy punteadas.

### **Endospermo**

El endospermo es un tejido escaso en la semilla madura, se observó como una monocapa de células, sin embargo en la zona de la calaza se observaron hasta tres capas de células ricas en lípidos solubles e insolubles, por las reacciones de ROA y Sudan III, y contiene también cuerpos proteicos (ANN). Este hallazgo de la composición de lípidos y proteínas es una aportación que no se encuentra documentado por Corner (1976).

### **Embrión**

El embrión está formado por 2 grandes cotiledones, que ocupan el mayor porcentaje de masa en la semilla, y que entre ellos se encuentra el eje embrionario en la parte lateral media, en el lado opuesto de la calaza. Hacia dentro de la semilla se encuentra el hipocótilo, más al centro se encuentra el epicótilo. El procambium se distribuye desde la radícula hasta el extremo apical de los cotiledones.

En el presente trabajo se observó en los cotiledones, una fuerte reacción para lípidos y proteínas como contenido de reservas. Estos resultados concuerdan con el estudio realizado por Soriano y colaboradores (2011), quienes demuestran, mediante extracciones y técnicas histoquímicas, la presencia del 40% de lípidos del contenido seco de la semilla de *S. humilis*, así como abundantes cuerpos proteicos.

Los resultados obtenidos en este estudio del análisis anatómico e histoquímico, constituyen la base para interpretar algunas de las respuestas de la semilla y la plántula de la especie. Con el estudio anatómico se reconoció la presencia de taninos y con las técnicas histoquímicas, las proteínas tipo extensina en paredes celulares del exotegmen y la cutícula en el endotegmen, estructuras que no fueron reportadas por Corner (1976) en su descripción de las semillas del género *Swietenia*.

### **Experimentos de propagación**

En el tratamiento denominado “semillas sin testa” se lograban remover los tres estratos de la testa, exo-, meso- y endotesta, así como el exo- y mesotegmen, debido a la consistencia esponjosa de este último, cuyas paredes celulares compuestas de celulosa y sin depósitos que la fortalezcan, son susceptibles a la ruptura al ejercer fuerza mecánica. Sin embargo, la capa del endotegmen, con presencia de taninos y cutícula, se mantuvo fuertemente adherida, constituyendo una barrera semipermeable para la entrada del agua al embrión.

#### **Experimento 1: Imbibición de las semillas con y sin testa**

Las pruebas de imbibición mostraron que las semillas sin testa presentaron un incremento paulatino en el peso, debido a la absorción de 1.3 g de agua. En este caso sólo permaneció la parte más interna del mesotegmen, de característica más lisa, que redujo la retención o absorción de agua hacia el embrión, la capa más impermeable se considera que es la cutícula del endotegmen. En tales condiciones, pudo haber penetrado a través de la zona del micropilo, logrando así, la hidratación del embrión en menor tiempo que las semillas con testa. Se propone que la principal vía de entrada de agua al embrión es a través del micropilo como de la rafe, como se evidenció en semillas intactas y escarificadas de *Ribes multiflorum* Kit ex Roem et Schult., (Grossulariaceae), donde se mostró que la rafe es la vía preferencial para la entrada de agua al usar una tinción de azul de metileno (0.5%) (Mattana et al., 2012)

En cambio la imbibición de las semillas con testa, que fue significativamente más alta que en semillas sin testa, mostró una absorción de 6.5 g de agua en los primeros 15 minutos; pasado este primer lapso, la imbibición de agua se volvió progresiva, hidratándose de los 15 minutos a las 8 hrs, con 3.1 g de agua, dando un total de 9.6 g de agua absorbida. En este caso de semillas con testa, la impermeabilidad al agua por parte de las células cutinizadas de la exotesta, se contrarrestó por la presencia de estomas en la misma capa, por lo que el agua pudo haber penetrado a través de éstos hasta la mesotesta aerenquimatosa y difundir a través de endotesta y exotegmen, hasta el mesotegmen, también de consistencia esponjosa, creando un microambiente de humedad. Es posible que este reservorio de agua pueda ser un recurso que amortigüe las situaciones de estrés hídrico para la semilla, regulando la entrada de agua hacia el embrión, por la zona del micrópilo. Dado que existe un mayor volumen de tejidos a hidratar, la imbibición de semillas con testa transcurrió en un tiempo mayor que en las semillas sin testa.

### **Experimento 2: Emergencia y supervivencia de plantas provenientes de semillas sin testa y con testa, sembradas en dos sustratos.**

La mezcla de sustrato de tezontle y tierra negra, inicialmente uniforme, con el riego precipitó y compactó la tierra negra al fondo, dejando el tezontle en grava al descubierto. Este último se secaba fácilmente, por lo que las semillas, sembradas superficialmente, quedaron expuestas a periodos prolongados de sequedad, que frenaban el proceso de germinación o el crecimiento de la radícula que se desecaba y moría.

Por su parte, el sustrato con arena tuvo un drenaje muy pobre, por lo que las semillas o las radículas en su caso se encontraban con un exceso de agua, provocando su pudrición y el ataque de hongos. En varias especies de: *Quercus* (*Quercus canariensis*, *Q. suber* y *Q. pirenaica*, el anegamiento por periodos prolongados (30 días) disminuye el porcentaje de germinación (Pérez y Marañón, 2009). Los efectos del exceso de agua sobre el poder germinativo de las semillas dependen, entre otros factores, de la duración del anegamiento, la temperatura del agua, el poder germinativo inicial de las semillas y la integridad de su cubierta seminal (Takeda y Fukuyama 1987, Hou y Thseng 1992, Martin et al., 1991), del genotipo y la profundidad a la cual se siembran. (Kozlowski 1984, VanToai et al., 1988, Martin et al., 1991).

Teniendo en cuenta las condiciones de estrés mencionadas, los porcentajes de emergencia, supervivencia y crecimiento difieren entre semillas con y sin testa.

Las semillas sin testa presentaron una emergencia y crecimiento más uniforme en un lapso más corto, alcanzando una longitud promedio de tallo de 20 cm en tezontle y 16 cm en arena, a los 55 dds.

En contraste las semillas con testa mostraron una emergencia desincronizada, con un crecimiento paulatino, que se retardó respecto a las semillas sin testa, alcanzando 18.5 cm en ambos sustratos, a los 70 dds. Este retraso no perjudicó la supervivencia de las plántulas de semillas con testa, cuyo porcentaje de supervivencia fue mayor.

A pesar de que las plántulas de semillas sin testa crecieron en un tiempo más corto, respecto a las plántulas de semillas con testa, los mayores porcentajes de emergencia y supervivencia se presentaron en las semillas con testa, superiores al 90% en ambos sustratos, que aquellas sin testa (48% y 40% en tezontle y 36% y 8% en arena).

Se ha reportado que la eliminación de la testa resulta en un incremento de la velocidad de germinación, como en *Citrus cinensis*. Sin embargo, en otras especies como *Malpighia emarginata*, aunque la escarificación promueve que la germinación tienda a ser más rápida en relación a las semillas no escarificadas, los resultados para la sobrevivencia no se beneficiaron, ya que fue menor en las plantas de semillas escarificadas (Laskowski y Damaso, 2002).

De esta forma los resultados muestran que la testa fue el factor determinante para amortiguar las condiciones adversas de cada sustrato y permitir a la semilla germinar, y a la plántula sobrevivir y crecer.

La protección de la cubierta seminal en *S. humilis* es tan efectiva, que algunos autores como Alvarenga y Flores (1988) y Pennington et al., (1981) proponen que les permite ser dispersadas por el agua o establecerse en suelos muy secos. Señalan también, que las semillas de caoba son anemócoras, pero la baja densidad y alta capacidad de reservas de aire, sugieren que puede dispersarse por hidrocória. Una observación para reforzar este hecho es que estas especies se pueden encontrar en una gran variedad de suelos bien drenados o sujetos a corrientes de agua.

En el presente caso, la cubierta seminal fungió como depósito de agua en semillas sembradas con testa, pero en las semillas sin testa la desecación fue considerable por

el área expuesta y porque los restos de tejido del tegmen no absorbieron el agua suficiente para revertir procesos negativos en la germinación.

La presencia de la testa es importante en la germinación y crecimiento de la plántula. Por lo tanto es recomendable que en un plan de reforestación en campo, se embeban las semillas eliminando la parte del ala y se mantenga el resto del tejido (testa) para su posterior siembra en el sustrato.

### **Experimento 3: Germinación y crecimiento de plántulas provenientes de semillas sin testa y con testa en sustrato de tierra negra con tezontle.**

La germinación en cajas de plástico (semilleros) permitió reconocer una respuesta más rápida y sincrónica de las semillas sin testa a partir de los 10 días dds, comparada con la de semillas con testa, fue espaciada obteniendo la germinación máxima seis días después.

Para las semillas sembradas en un sustrato de tezontle en granillo los resultados fueron favorables por la retención de agua y buen drenaje debido al contenido mineral y tamaño del tezontle, permitiendo evaluar la emergencia y supervivencia de plántulas respecto a la presencia o ausencia de testa en la semilla. Se vigilaron de manera más rigurosa, las condiciones de humedad del sustrato, para evitar el estrés hídrico.

Al igual que en el experimento con dos sustratos, se comprobó un tiempo más corto de germinación en semillas sin testa, con un crecimiento más homogéneo y en menor tiempo, pero con una menor supervivencia de plántulas en comparación de las plántulas a partir de semillas con testa, las cuales retrasaron su máximo de germinación, pero superaron la longitud máxima del tallo alcanzada y presentaron mayores porcentajes de supervivencia. La eliminación de la cubierta seminal ha sido un método utilizado para aumentar el porcentaje de germinación de semillas con cubiertas impermeables como *Lupinus diffusus*, en la que se incrementa de 5% a 41% la germinación con escarificación química, sin embargo no se logran buenos resultados con escarificación mecánica (Dehgan et al., 2003).

Las semillas germinadas con testa, lograron una hidratación diferenciada de acuerdo al tejido de la cubierta seminal e iniciaron el proceso de germinación a diferentes tiempos, lo que llevó a la germinación paulatina de sus semillas, con una mayor capacidad de resistencia por parte de las plántulas a cambios ambientales estresantes. En cambio, las semillas sin testa se hidrataron más rápidamente y

desencadenaron el proceso de germinación casi simultáneamente, promoviendo la emergencia más homogénea de las plántulas; sin embargo, la ausencia de capas de la cubierta seminal, las volvió más susceptibles a daño por factores externos como el exceso de humedad en el sustrato y la falta de retención del agua por el mismo, dando por resultado una menor supervivencia. Este comportamiento, en el caso de exceso de agua se podría atribuir a una fuga de electrolitos, como en el caso de las especies *Desmanthus illinoensis*, *Pisum sativum* y *Glycyrrhiza uralensi*, donde se ha reportado daño por escarificación ya que se forman grietas en la cubierta seminal y en algunas variedades se ha registrado el aumento en conductividad eléctrica que refleja un incremento en la fuga de electrolitos, lo que da como resultado un decremento en el vigor de la semilla (Olszewski et al., 2010).

La semilla de *S. humilis* se caracteriza por ser grande y por poseer cubiertas seminales prominentes a simple vista. Esta proporción de la masa total invertida en los tejidos de la cubierta seminal y del embrión, representan la importancia que tiene para la especie invertir en la protección y dispersión, así como en el proceso de germinación, dando capacidad de absorción de agua que favorecen los procesos de imbibición y germinación. En el caso del embrión que también corresponde a una proporción de la masa importante de la semilla, se relaciona con la estrategia de originar plántulas vigorosas capaces de competir desde los primeros estadios (Foster, 1986), como en el caso de *Prunus occidentalis* (Muñoz et al., 2001).

## 8. Conclusiones

La anatomía de la semilla de *S. humilis* concuerda con la descripción hecha por Corner (1976) para el género *Swietenia*. La histoquímica del presente trabajo contribuyó en evidenciar estructuras no reportadas como el exotegmen, la cutícula del endotegmen de naturaleza lipídica, y la composición química de otras capas ya descritas, como: cutina en exotesta, proteínas tipo extensina en paredes celulares del exotegmen.

Las técnicas de tinción permitieron reconocer la composición química de los distintos tejidos de la semilla de *S. humilis*, permitiendo relacionar la estructura seminal con las funciones que realizan cada una de las capas en la respuesta de germinación y crecimiento ante diferentes factores.

A continuación se desglosa la relación entre forma y función de la cubierta seminal:

Las capas involucradas con la regulación de entrada de agua son: exotesta cutinizada, el endotegmen con taninos y cutícula con cutina.

Las capas involucradas en imbibición son: exotesta con estomas, mesotesta aerenquimatosa y mesotegmen de consistencia esponjosa. Esta característica le permite absorber y almacenar agua creando un ambiente húmedo favorable para la germinación

Las capas involucradas en resistencia mecánica son: la endotesta con cristales, el endotegmen con taninos y el exotegmen por presentar fibras lignificadas que ejercen resistencia mecánica y regulan la velocidad de hidratación.

En los cotiledones se encontraron cuerpos proteicos y grasas como principal contenido de reserva

Las semillas de *S. humilis* son permeables por la capacidad de absorción de agua desde los 15 y 30 minutos de imbibición.

Debido a sus características celulares, la testa absorbe más agua que el tegmen, y gracias a las condiciones físicas de humedad que le proporciona la testa al embrión,



se amortiguan los cambios estresantes del medio, favoreciendo la germinación y crecimiento de plántulas.

Debido a las diferentes barreras de impermeabilidad de la cubierta seminal, se propone que las principales vías de entrada de agua sean: el micrópilo y los estomas de la exotesta.

Aunque las semillas con testa retardaron sus tiempos de germinación y el crecimiento de sus plántulas fue asincrónico, regularon más eficientemente las condiciones de humedad logrando mayores porcentajes de germinación y supervivencia de plántulas.

### **Propuesta para obtener mayor supervivencia.**

Cuando se pretenda realizar un programa de reforestación a gran escala, se recomendaría la siembra, en charolas con pozos de 15 a 20 cm de profundidad, de semillas con testa (previamente embebidas por alrededor de 20 a 24 horas y tratadas con fungicida) que lograría soportar variaciones ambientales estresantes y altos porcentajes de supervivencia en un lapso de 2 a 3 meses. Al cabo de ese periodo es recomendable trasplantarlas a suelo, permitiendo un mejor desarrollo en las condiciones ambientales naturales, coincidiendo el trasplante, con la temporada de lluvias ya establecida.

## 9. Bibliografía citada

1. Aguirre Corral A. 1963. Estudio Silvicultural y económico del sistema Taungya en condiciones de Turrialba. Tesis para obtener el título de Magister Agriculturae en el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A. Centro Tropical de Investigación y Enseñanza para Graduados Turrialba, Costa Rica. Biblioteca conmemorativa ORTON.  
<http://books.google.es/books?id=byEOAQAAIAAJ&pg=PA28&dq=Swietenia&hl=es&sa=X&ei=xB8vUvaDOXn2wWSm4CADw&ved=0CGMQ6wEwCDgU#v=onepage&q=Swietenia&f=false>
2. Alvarenga, S. y Flores, E. 1988. Morfología y germinación de la semilla de la caoba *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae). Rev. Biol. Trop., 36 (2A): 261-267.
3. Arana, J.P. 2001. Evaluación del crecimiento de Caoba del Pacífico (*Swietenia humilis*) en tres sitios de Zamorano, Honduras. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Zamorano, Honduras.
4. Betancurt, B. A. 1987. Silvicultura especial de árboles maderables tropicales. Edit. Científico Técnica. La Habana, Cuba. Pp. 333-341.
5. Bewley, J. y Black. 1985. Seeds: physiology of development and germination. New York : Plenum.
6. Bullock, S.H., Mooney, H.A. Medina, E. 1995. (Eds.), Seasonally Dry Tropical Forests. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 146±194.
7. Challenger, A., 1998. Utilización y Conservación de los Ecosistemas Terrestres de México. Pasado, Presente y Futuro. CONABIO. IBUNAM. ASM, SC, México.
8. Cardinali, F. J. 2004. Fundamentos Fisiológicos de la Germinación. Aspectos Morfológicos de las Semillas. Departamento de Servicios Gráficos, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata
9. Cardinali, F.J. Thevenon, M.A. Arias, M.E. 2010. Estudio morfoanatómico de la semilla y de las reservas proteícas y lipídicas en tejidos cotiledonales de *Cuphea glutinosa* (Lythraceae). Bol. Soc. Argent. Bot. 45 (1-2): 47-55.
10. Cornelius, J.P., Wingham, K.E., Grogan J.E. y Ward S.E. 2004. *Swietenia* (American mahogany). Tropical Ecosystems. Elsevier.
11. Corner, E.J.H. 1976. The seeds of dicotyledons, Vol. 1. Cambridge: Cambridge University Press
12. Dehgan, B., Norcini, J.G., Kabat, S.M. y Pérez, H.E. 2003. Effect of Seed Scarification and Gibberellic Acid Treatment on Seedling Emergence of Sky-Blue Lupine (*Lupinus diffusus*). Journal of Environmental Horticulture 21(2):64-67
- Flint L.H., Moreland C.F. 1943. Note on photosynthetic activity in seeds of the spider lily. American Journal of Botany 30: 315–317.
13. Gentry, A.H., 1995. Diversity and Floristic composition of neotropical dry forests. In: Bullock, S.H., Mooney, H.A., Medina, E. (Eds.), Seasonally Dry Tropical Forests. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 146±194.

14. Gerhardt, K. 1996. Germination and development of sown mahogany (*Swietenia macrophylla* King) in secondary tropical dry forest habitats in Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology* 12:275-289.
15. Gómez, T.J., Jasso, M.J., Vargas H.J. y Soto, H.R. 2006. Deterioro de semilla de dos procedencias de *Swietenia macrophylla* King, bajo distintos métodos de almacenamiento. *Ra Ximhai*. 2(001): 223-239.
16. Harper, J.L. y Benton, R.A. 1966. The behavior of seeds in soil. The germination of seeds on the surface of a water supplying substrate. *Journal of Ecology* 54: 151–166.
17. Helgason, T., Russell, S.J., Monro, A.K., Vogt y J.C. 1996. What is mahogany? The importance of a taxonomic framework for conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 122: 47-59.
18. Howard, F.W., Verkade, S.D., y Defilippis, J.D. 1988. Propagation of west indies, Honduran and hybrid mahoganies by cuttings, compared with seed propagation. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 101:296-298.
19. Janzen, D., 1988. Tropical dry forests: The most endangered major tropical ecosystems. In: Wilson, E.O. (Ed.), *Biodiversity*. National Academy Press, pp. 130±137.
20. Jernstedt, J.A., Clark C. 1979. Stomata on the fruits and seeds of *Eschscholzia* (Papaveraceae). *American Journal of Botany* 66: 586–590.
21. Jiménez, A.M.A. 1997. *Swietenia humilis* (Meliaceae) y *Malmea depressa* (Annonaceae) como fuentes potenciales de agentes pesticidas. Tesis para obtener Doctorado en Ciencias Químicas. UNAM.
22. Jiménez, A., Villareal, C., Toscano R.A., Cook J.M., Bye, R. y Mata, R. 1998. Limonoids from *Swietenia humilis* and *Guarea grandiflora* (Meliaceae). *Phytochemistry* Vol. 49, No. 7.
23. Kigel, J. y Galili, G. 1995. *Seed development and germination*. Marcel Dekker, Inc. New York. Pag 8, 13.
24. Laskowski, L. y Bautista, D. 2002. Efecto de la escarificación y profundidad de siembra sobre la germinación y emergencia. *Bioagro* 14(2):77-83.
25. López, C.M.L., Guzmán, M.J. y Murguía, S.G. 2005. *Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas*. Facultad de ciencias, las prensas de ciencias. 2ª edición.
26. Mabberley, D.J. 2008 *Mabberley's Plant-book. A portable dictionary of plants, their classifications, and uses*. Editorial Cambridge. 3a ed. 1040 pp.
27. Márquez, A.C., Lora, F., Esquivel, B. y Mata, R. 1999. *Plantas Medicinales de México II. Composición, usos y actividad Biológica*. UNAM. Dirección general de publicaciones y fomento Editorial. Pp. 29-30.
28. Martínez R. y Grogueira M., 2008. *Fundamentos teóricos y prácticos de la Hisquímica*. Textos Universitarios.

29. Márquez, G.J., Collazo, O., Martínez, G., Orozco, M. Segovia y A. Vazquez, S. 2013. Capítulo: Biología de Angiospermas. Las prensas de ciencias.
30. Maser, O., Ordoñez, M.J., Dirzo, R., 1997. Carbon emissions from mexican forests: current situation and long-term scenarios. *Climatic Change* 35, 256±295.
31. Mattana, E. Pritchard., HW. Porceddu., M. Stuppy, WH., Bacchetta, G. 2012 Interchangeable effects of gibberellic acid and temperature on embryo growth, seed germination and epicotyl emergence in *Ribes multiflorum* ssp. *sandaliticum* (Grossulariaceae). *Plant Biol*;14(1):77-87
32. Mayhew, J.; Newton, A. 1998. *The Silviculture of Mahogany*. CABI Publishing. 226 p.
33. Méndez, J.M. 2000 Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina. Turrialba, Costa Rica: CATIE. Proyecto de semillas forestales: Danida Forest Seeds Centre
34. Miranda, F., Hernández-X, E., 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 23 (8), 29±47.
35. Murphy, P.G., Lugo, A.E., 1986. Ecology of tropical dry forest. *Annual Review Ecology and Systematic* 17, 67-88.
36. Murphy, P.G., Lugo, A.E., 1995. Dry forest of Central America and the Caribbean. In: Bullock, S.H., Mooney, H.A., Medina, E. (Eds.), *Seasonally Dry Tropical Forests*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 9±34.
37. Negreros-Castillo, P., Snook, K.A., Mize W.C. 2003. Regenerating mahogany (*Swietenia mahogany*) from seed in Quintana Roo, México: the effects of sowing method and clearing treatment. *Forest Ecology and Management* 183:351-362.
38. Niembro, R.A., 1989. *Semillas de Plantas Leñosas. Morfología comparada*. Noriega Editores.
39. Niembro, R.A. 1995. Producción de semillas de caoba *Swietenia macrophylla* King bajo condiciones naturales en Campeche, México, In: *Memorias del Simposio Avances en la Producción de Semillas Forestales en América Latina*. Rodolfo Salazar (Editor Técnico). Centro Agrónomo Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Pp. 249-263.
40. Okorie, D.A. y Taylor D.A.H. 1971. Meliaceae, Limonoids from *Swietenia humilis*. *Phytochemistry*, Vol. 10. Pp 469-470.
41. Olszewski, W. M. Courtney A. Y. y Sheffield, J. B. . 2010 Germination and Seedling Growth of *Desmanthus illinoensis* and *Desmodium canadense* in Response to Mechanical Scarification. *HortScience* 45( 10): 1554-1558  
<http://hortsci.ashspublications.org/content/45/10/1554.full>
42. Oropeza, O., Hernández, M.E., Zárate, R., Alfaro, G., Orozco, F., Mitre, L.M., Valdés, G. y Torres, L.A., 1995. Mapa de Geosistemas. II Informe de Actividades correspondiente a enero-junio de 1995. Subarea: Vulnerabilidad a la desertificación y a la sequía. UNAM, INE, EPA, Estudio de País: México.

43. Paiva, S.E., Lemos-Filho, P., Oliveira T.M. 2006. *Imbibition of Swietenia macrophylla (Meliaceae) Seeds: The role of Stomata*. *Annals of Botany* 98:213-217.
44. Panshin, A.J. 1932. Comparative Anatomy of the Woods of the Meliaceae, Sub-Family Swietenioideae. *American Journal of Botany*, Vol. 20, No. 10 (Dec., 1933), pp. 638-668
45. Pennington, Terence D. y José Sarukhán. 2005. Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales species. 3a Ed. Fondo de Cultra Económica.
46. Pérez-Jiménez L.A. y Barajas-Morales, J. 2011. Árboles de Selvas Secas de México.
47. Pérez, R.I. y Marañón, T. 2009. Effects of waterlogging on seed germination of three Mediterranean oak species: Ecological implications. *Acta Oecológica* (35): 422-428.
48. Record, S.J. y Mell, C.D. 1924. *Timbers of tropical America*. Yale Univ. Press, New Haven.
49. Rey Benayas, J.M.R., Newton, A.C., Diaz, A. y Bullock, J.M.. 2009. Enhancement of biodiversity and ecosystem services by ecological restoration: A meta-analysis. *Science* 325:1121–1124.
50. Rojas R.F. y Torres C.G. 2008. Árboles del Valle Central de Costa Rica: Reproducción de la Caoba. *Kurú: Revista Forestal (Costa Rica)* 5(14).
51. Rzedowski, J., 1978. *Vegetación de México*. Ed. Limusa, México.
52. Rzedowski, J., 1990. *Vegetación Potencial*. Atlas Nacional de México, Sección Naturaleza. Hoja IV.8.2, Vol II. Mapa escala:1:4,000 000. Instituto de Geografía, UNAM, México
53. Rzedowski, J., 1991a. Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana* 14, 3±21.
54. Saldoval, E. Z., 2005, *Técnicas aplicadas a la anatomía vegetal*. Cuadernos del Instituto de Biología 38. UNAM.
55. Shepherd, K.A., Macfarlane TD, Colmer TD. 2005. Morphology, anatomy and histochemistry of Salicornioideae (Chenopodiaceae) fruits and seeds. *Annals of Botany* 95: 917–933.
56. Snook, L.K., Cámara-Cabrales, L. Kelty, J.M. 2005. Six years of fruit production by mahogany trees (*Swietenia macrophylla* King): patterns of variation and implications for sustainability. *Forest Ecology and Management* 206:221-235.
57. Soriano, D., Orozco-Segovia, A., Márquez-Guzmán, J., Kitajima, K., Gamboa-de Buen, A. Huante, P. 2011. Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduos forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Annals of Botany* 107: 939-351.
58. Trejo, I. y Dirzo, R. 2000. Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological Conservation*, Vol. 94, pp: 133-142.

59. UNEP WCMC. 2003. Checkl. CITES Sp. 1–339. UNEP World Conservation Monitoring Centre, Cambridge
60. Vega, E., Patiño, C.F. y Rodríguez, P.L. 1981. Viabilidad de semillas en 72 especies forestales tropicales almacenadas al medio ambiente. In: Memoria Reunión sobre problemas en semillas forestales Tropicales, Inst. Nal de Invest. For. México. Pub. Esp. No. 35. Tomo I. pp. 325-352.
61. Werker, E. 1997. Seed anatomy. Berlin: Gebru“der Borntraeger (Handbuch der Pflanzenanatomie).
62. FAO: <http://www.fao.org/docrep/006/ad111s/AD111S02.htm> (Consultado el 23 de septiembre del 2013).  
<http://www.cites.org/esp/disc/species.php>  
[http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Swietenia\\_humilis&id=7041](http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Swietenia_humilis&id=7041)

## 10. Anexo

ANOVA que compara la imbibición de semillas sin y con testa, los valores que se comparan son la resta de pesos de semillas embebidas en el tiempo 480 minutos = 8 horas, menos el peso obtenido a los 15 minutos.

**Tabla de ANOVA**

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón F	Valor P
Entre grupos	6.52993	1	6.52993	30.74	0.0005
Intra grupos	1.69917	8	0.2123397		
Total (Corr.)	8.22911	9			

Análisis de rango múltiple (Tukey) de imbibición entre semillas con y sin testa.

Nivel	Casos	Media	Grupos homogéneos
Sin testa	5	1.3762	X
Con testa	5	2.9924	X

Contraste	Significancia	Diferencia	+/- Limites
Sin testa-Con testa	*	-1.6161	0.672148

\*: Indica una diferencia significativa.

