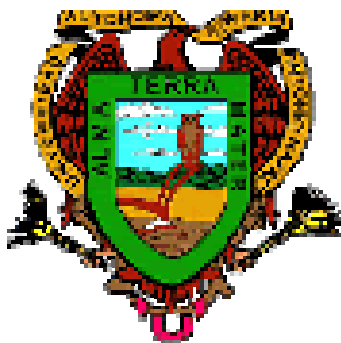


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



**DIFERENCIACIÓN HISTOLÓGICA DE FOLIOLOS MADUROS E INMADUROS
EN PLANTAS DEL SEXO FEMENINO Y MASCULINO DE *Ceratonia siliqua* L.
(Algarrobo).**

Por

Aracely García Alvarado.

TESIS

Presentada como Requisito para Obtener el Título de:

Ingeniero en Agrobiología.

Buenavista, Saltillo; Coahuila, México.

Noviembre del 2010.

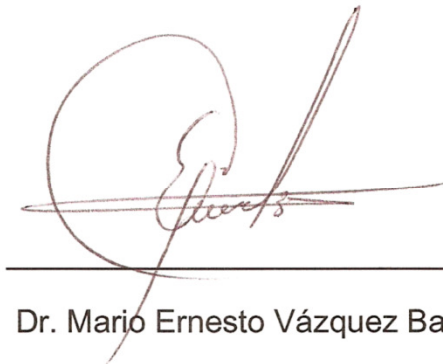
DIFERENCIACIÓN HISTOLÓGICA DE FOLIOLOS MADUROS E INMADUROS
EN PLANTAS DEL SEXO FEMENINO Y MASCULINO DE *Ceratonia siliqua* L.
(Algarrobo).

Por:

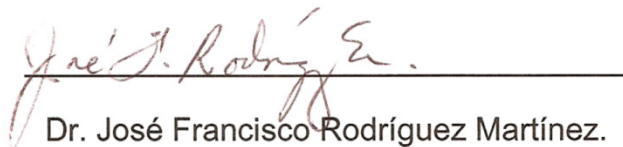
ARACELY GARCÍA ALVARADO

Tesis realizada bajo la dirección del Comité Particular de Asesoría y ha sido aprobada y aceptada por el Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA



Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo.
Coordinador de la División de Agronomía.



Dr. José Francisco Rodríguez Martínez.
Presidente del Jurado Examinador.

DIFERENCIACIÓN HISTOLÓGICA DE FOLIOLOS MADUROS E INMADUROS
EN PLANTAS DEL SEXO FEMENINO Y MASCULINO DE *Ceratonia siliqua* L.
(Algarrobo).

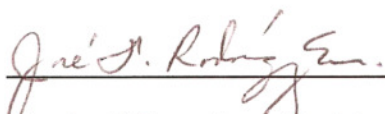
Por:

ARACELY GARCÍA ALVARADO

Tesis realizada bajo la dirección del Comité Particular de Asesoría y ha sido
aprobada y aceptada por el Jurado Examinador como requisito parcial para
obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

JURADO EXAMINADOR:



Dr. José Francisco Rodríguez Martínez.

Presidente



M.C. Laura María González Méndez.

Vocal



Dra. Silvia Yudith Martínez Amador.

Vocal



Biol. Sergio Antonio Pérez Mata.

Suplente

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Francisco Rodríguez Martínez por su asesoría en la realización de esta investigación, por todas las facilidades didácticas, apoyo de materiales, por la confianza para que esta investigación concluyera con el presente trabajo.

A la M.C. Laura María González Méndez por todas las aportaciones en la investigación, su colaboración y asesoría, por orientarme y apoyarme en la toma de decisiones.

A la Dra. Silvia Yudith Martínez Amador por su amabilidad, asesoría, observaciones y por tomar parte en el jurado examinador.

Al Biol. Sergio Antonio Pérez Mata por formar parte del jurado examinador y por su amabilidad.

Al Dr. Mario Cantú Sifuentes por su valiosa asesoría en el trabajo estadístico y por el tiempo que nos dedicó.

Al Ing. Fidel Maximiano Peña Ramos por realizar el trabajo estadístico, por su tiempo, paciencia y consejos pero sobre todo por la amistad.

A la T.A. Angélica Martínez Ortiz por su invaluable colaboración en el trabajo del laboratorio, por su paciencia, amabilidad, ayuda incondicional, palabras de aliento, por brindarme todo ese ánimo y entusiasmo, por escucharme, en fin por convivir día a día y enseñarme a disfrutar del trabajo durante todo el proceso del laboratorio.

A todo el Personal Académico y Administrativo del Depto. de Botánica, con los que conviví día tras día, por sus enseñanzas, ejemplos y amabilidad, por los bonitos recuerdos que me llevo, a todos y cada uno de ellos muchas gracias.

DEDICATORIAS

A mis padres y hermanas con muchísimo cariño, agradezco enormemente todo el apoyo brindado para poder realizar y terminar este trabajo.

A mi hijo a quien dedico el presente trabajo, gracias mi amor por darme fortaleza y energía para demostrarte y darte el ejemplo, que las cosas se pueden hacer, por entender el tiempo que no te dediqué mientras trabajaba en esta investigación y por tu amor incondicional.

A mi esposo por su amor, paciencia y comprensión.

A mis amigos; Verenice, José David y Arturo, por su valiosa amistad incondicional y cariño, por estar siempre conmigo en todo momento y cuando más apoyo necesité. Por sus grandes consejos y por confiar en mi. Por demostrarme que la verdadera amistad perdura a través de los años, cerca y a distancia.

A mis compañeros de carrera a quienes recuerdo con mucho cariño.

A mis cuñados y concuñas, por sus palabras de aliento, por levantarme la moral y por todos sus consejos, por estar ahí en tiempos difíciles y por su apoyo.

A una persona muy especial, Zul a quien agradezco enormemente toda la ayuda, paciencia y consejos

A todas las personas que formaron parte de alguna manera contribuyendo a mi formación, al estar cerca de mí, con su apoyo, confianza y ánimos cuando los necesité.

A la vida por esta experiencia y la oportunidad de cerrar un círculo en mi vida.

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos.....	i
Dedicatorias.....	ii
Índice General.....	iii
Índice de Cuadros.....	iv
Índice de Graficas.....	v
Índice de Figuras.....	vi
Índice de Apéndices.....	vii
Resumen.....	viii
Abstract.....	xi
Introducción.....	1
Objetivos.....	2
Hipótesis.....	2
Revisión de Literatura.....	3
Clasificación Taxonómica.....	3
Descripción Morfológica.....	4
Ecología.....	7
Importancia Económica.....	9

Materiales y Métodos.....	11
Colecta de Material Vegetal.....	11
Información General de los Sitios de Colecta.....	11
Procedimiento.....	12
Toma de Datos.....	13
Resultados y Discusión.....	15
Espesor del parénquima en empalizada.....	15
Espesor del parénquima esponjoso.....	19
Grosor del floema completo.....	24
Grosor del limbo.....	28
Diámetro del vaso mayor del xilema.....	30
Diámetro del vaso menor del xilema.....	32
Conclusiones.....	42
Literatura Citada.....	44
Apéndice 1.....	48
Apéndice 2.....	61

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de <i>Ceratonia siliqua</i> L. obtenida en diversas fuentes.....	3
Cuadro 2. Variables consideradas y medidas de foliolos, en su parte apical, media y basal.....	14
Cuadro 3. Análisis de varianza para la variable espesor del parénquima en empalizada (EPEmp).....	16
Cuadro 4. Análisis de varianza para la variable espesor del parénquima esponjoso.....	19
Cuadro 5. Análisis de varianza para la variable grosor del floema completo.....	24
Cuadro 6. Análisis de varianza para la variable grosor del limbo.....	28
Cuadro 7. Análisis de varianza para la variable diámetro del vaso mayor del xilema en la nervadura central.....	30
Cuadro 8. Análisis de varianza para la variable diámetro del vaso menor del xilema en la nervadura central.....	33

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Ceratonia siliqua</i> L. (algarrobo) observado en campo.....	4
Figura 2. Inflorescencias masculinas de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	5
Figura 3. Inflorescencias femeninas de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	6
Figura 4. Semillas y frutos de <i>Ceratonia siliqua</i> L.....	7
Figura 5. Mapa de ubicación del sitio donde se realizó la colecta del material vegetal.....	12
Figura 6. Micrografía de corte transversal de foliolos de <i>Ceratonia siliqua</i> L. donde se observan a 40x, las capas del parénquima en empalizada.....	18
Figura 7. Micrografía de corte transversal de foliolos inmaduros de <i>Ceratonia siliqua</i> L. donde se observan a 40x, las capas de parénquima esponjoso.....	22
Figura 8. Micrografía de corte transversal de foliolos maduros de <i>Ceratonia siliqua</i> L. donde se observan a 40x, las capas de parénquima esponjoso.....	23
Figura 9. Micrografía de corte transversal de foliolos inmaduros de <i>Ceratonia siliqua</i> L. donde se observan a 40x el floema.....	27
Figura 10. Micrografías a 10x de secciones transversales de foliolos inmaduros.....	35
Figura 11. Micrografía de corte transversal de foliolos de <i>Ceratonia siliqua</i> L. donde se observa a 100x, la Epidermis abaxial.....	36
Figura 12. Micrografías de secciones transversales a 40x donde se observan estomas.....	37

Figura 13. Micrografía de corte transversal de folíolos de <i>Ceratonia siliqua L.</i> donde se observan a 40x cristales de oxalato de calcio y drusas.....	39
Figura 14. Micrografía de corte transversal de folíolos de <i>Ceratonia siliqua L.</i> vistos a 40x, donde se observan haces vasculares.....	40
Figura 16. Micrografía de corte transversal de folíolos maduros de <i>Ceratonia siliqua L.</i> donde se observa a 40x la nervadura central.....	41

ÍNDICE DE GRAFICAS

Grafica 1. Variable espesor del parénquima en empalizada.....	17
Grafica 2. Variable espesor del parénquima esponjoso.....	21
Grafica 3. Variable grosor del floema completo.....	25
Grafica 4. Variable grosor del limbo.....	29
Grafica 5. Variable diámetro del vaso mayor del xilema en la nervadura central.....	32
Grafica 6. Variable diámetro del vaso menor del xilema en la nervadura central.....	34

ÍNDICE DE APÉNDICES

APÉNDICE 1. Técnica Histológica utilizada en la elaboración de preparaciones permanentes de cortes transversales de foliolos de <i>Ceratonia siliqua L.</i>	48
Figura 1. Muestras de foliolos de <i>Ceratonia siliqua L.</i> en fijador.....	48
Figura 2. Muestras de <i>Ceratonia siliqua L.</i> en alcohol y eosina.....	49
Figura 3. Estufa bacteriológica a 35°C.....	50
Figura 4. Muestras de <i>Ceratonia siliqua L.</i>	51
Figura 5. Muestras de <i>Ceratonia siliqua L.</i> en xilol y parafina histológica.....	51
Figura 6. Muestras de <i>Ceratonia siliqua L.</i> en cápsulas de porcelana y parafina histológica listas para la segunda etapa.....	52
Figura 7. Moldes de aluminio listos para la inclusión en parafina histológica...52	
Figura 8. Muestras de <i>Ceratonia siliqua L.</i> orientadas para el corte transversal.....	53
Figura 9. Torre de parafina con las muestras de <i>Ceratonia siliqua L.</i> montada en la platina de micrótopo.....	54
Figura10. Micrótopo rotatorio utilizado para obtener los cortes transversales de <i>Ceratonia siliqua L.</i>	54
Figura 11. Muestras de las cintas de cortes de <i>Ceratonia siliqua L.</i>	55
Figura 12. Canastilla con xilol.....	56
Figura 13. Canastilla con Safranina O y frascos con alcohol.....	57

Figura 14. Frascos con Fast – Green y alcoholes.....	57
Figura 15. Proceso de sellado con bálsamo de Canadá.....	58
Figura 16. Micrografía de corte transversal de foliolos maduros de <i>Ceratonia siliqua</i> L. (algarrobo)	58
Figura 17. Esquema que representa el protocolo de la deshidratación e inclusión.....	59
Figura 18. Esquema de tinción y montaje.....	60

APÉNDICE 2

APÉNDICE 2. Comparación de medias prueba de Tukey cuadros y graficas...	61
Cuadro 1. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Espesor del Parénquima en Empalizada (EPEmp).....	61
Grafica 1. Comparación de medias por estadios en la variable Espesor del parénquima en empalizada (EPEmp).....	62
Cuadro 2. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Espesor del Parénquima Esponjoso (EPEsp).....	63
Grafica 2. Comparación de medias por estadios en la variable Espesor del Parénquima Esponjoso (EPEsp).....	64
Cuadro 3. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Grosor del Floema Completo (GFC).....	65
Grafica 3. Comparación de medias por estadios en la variable Grosor del Floema (GFC).....	66
Cuadro 4. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Grosor del Limbo (GLim).....	67
Grafica 4. Comparación de medias por estadio en la variable Grosor Limbo (GLim).....	68
Cuadro 5. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Diámetro del vaso mayor del Xilema (DVXma).....	69
Grafica 5. Comparación de medias por estadios en la variable Diámetro del vaso mayor del Xilema (DVXma).....	70

Cuadro 6. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Diámetro del vaso menor del Xilema (DVXme).....71

Grafica 6. Comparación de medias por estadios en la variable Diámetro del vaso menor del Xilema (DVXme).....72

RESUMEN

El presente trabajo planteó un estudio de folíolos maduros e inmaduros de *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo) de plantas del sexo femenino y masculino, provenientes de Lampazos de Naranjo, N.L.; mediante la comparación de cortes histológicos transversales a nivel apical, medio y basal, de cada folíolo. El objetivo del estudio fue generar información histológica e indagar si existe diferencia a nivel histológico, en folíolos de ambos sexos.

El diseño experimental utilizado fue un factorial simple, donde las variables se analizaron por separado, en el programa R donde se obtuvieron los análisis de varianza y los gráficos. El análisis se hizo con un nivel de significancia de 0.05 y la comparación de medias con la prueba de Tukey. Los resultados arrojados fueron los siguientes: los folíolos femeninos y masculinos presentan diferencias estadísticas altamente significativas en el espesor del parénquima en empalizada, en el grosor del floema completo y en el grosor del limbo; el diámetro del vaso mayor del xilema presenta diferencias significativas; mientras que para el espesor del parénquima esponjoso y diámetro del vaso menor del xilema no presentan diferencias significativas; sus hojas presentan cierto grado de plasticidad. Se realizó un análisis descriptivo para la epidermis, cutícula, estomas, cristales de oxalato y nervadura central.

PALABRAS CLAVE: cortes histológicos, apical, medio, basal, parénquima en empalizada, esponjoso, grosor del floema, del limbo, diámetro del vaso mayor y menor del xilema, epidermis, cutícula, estomas, cristales de oxalato y nervadura central.

ABSTRACT

The aim of the present research was to discover or find out possible differences between mature and immature follicles of *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo) of male and female individuals obtained from Lampazos de Naranjo, N.L. México through histological comparison of longitudinal and transversally sections of leaves at the apical, medium part and basal level. Experimental design applied to data was the factorial ANOVA. This was run by means of the R program. The significance level selected was 0.05 and mean differences were tested by the Tukey test.

Male and female follicles showed statistical differences highly significant in thickness of the palisade parenchyma, whole phloem and limbo. Vessel of greater diameter in the xylem showed statistical difference between follicles of both sexes, whereas no statistical difference was found in spongy parenchyma of follicles of both other tissues like dermis, cuticle, stomata, oxalate crystals and central nervadure were just described.

KEY WORDS. Histological cult, apical, medial and base, palisade parenchyma, spongy parenchyma, phloem's stick, limbo's grosser, mayor diameter minest xylems glass, epidermis, cuticle, stomata, oxalate crystals and nervadure.

INTRODUCCIÓN

El algarrobo (*Ceratonia siliqua L*) en el norte de México, forma parte del paisaje local en estado de cultivo y ornato. Es una especie xerofita que por su rusticidad, se adapta fácilmente a condiciones de elevadas temperaturas, suelos con pocos nutrientes y donde el agua es escasa. La importancia económica de esta especie radica en la industria alimentaria debido al contenido de nutrientes que su fruto posee, tanto en la alimentación para el ganado, como del hombre.

Con el propósito de presentar información histológica a nivel foliar de *Ceratonia siliqua L.* (algarrobo) para tener un conocimiento más claro respecto a la histología foliar en ambos sexos también debido a la importancia económica de esta especie que es fuente de un sucedáneo del chocolate llamado carob, utilizado en alimentos dietéticos, y por la variedad de sustancias químicas y agregados, como los taninos presentes en sus hojas y corteza los cuales son utilizados para el curtido de pieles; en la herbolaria y la medicina tradicional, de sus frutos (algarrobas) para el tratamiento de afecciones respiratorias, entre muchas otras; así como también el uso de la madera del algarrobo en la fabricación de muebles y elaboración de carbón vegetal; la extracción de la semilla de una goma de garrofín, de gran interés para la industria agroalimentaria por ser un producto espesante, emulsificante, gelificante de muchos productos.

Se pretende indagar con el presente estudio si existe diferencia histológica en foliolos de ambos sexos; mediante la comparación de cortes histológicos.

OBJETIVOS

1. Determinar y comparar las variaciones histológicas en plantas de ambos sexos de *Ceratonia siliqua L.*
2. Generar información histológica del tejido foliar a nivel apical, medio y basal de *Ceratonia siliqua L.*

HIPÓTESIS

Ha: Los individuos femeninos y masculinos de la especie *Ceratonia siliqua L.* presentan diferencia histológica en sus tejidos foliares inmaduros y maduros.

Ho: Los individuos femeninos y masculinos de la especie *Ceratonia siliqua L.* no presentan diferencias histológica en sus tejidos foliares inmaduros y maduros.

REVISIÓN DE LITERATURA

Clasificación Taxonómica

La clasificación taxonómica de *Ceratonia siliqua* L. se presenta en el Cuadro 1 conformado de diferentes fuentes.

Cuadro 1 Clasificación Taxonómica de *Ceratonia siliqua* L.

Reino	Plantae ¹
Subreino	Tracheobionta ¹
División	Magnoliophyta ¹
Clase	Magnoliopsida ¹
Subclase	Rosidae ¹
Orden	Fabales ¹
Familia	Fabaceae ¹
Subfamilia	Caesalpinoideae ²
Genero	<i>Ceratonia</i> ¹
Especie	<i>Ceratonia siliqua</i> L. ¹
Autor	C. Von Lineé ²
Sinónimos	algarrobo, algarrobera, garrofer, garrofera. ² guapinol, garrofero, guarango, huaranca, huarancu, tacco, thacco, caroubier (en francés). ⁴
Nombre común en México	Algarrobo ³
Nombre común en E.U.A.	St. John's bread ¹ , Carob tree o St ³ . John's tree ³

1) Natural Resources Conservation Service (2010); 2) Estrada y Marroquín (1992); 3) Spina (1989); 4) Cazabonne (2008).

Descripción Morfológica

El algarrobo *Ceratonia siliqua* L. es un árbol muy longevo de gran talla puede superar 10 a 12 m (figura 1), su altura media es de 5 a 6 m (Spina, 1989).

Altura de 5 a 8 m, dioicos (aunque existen ejemplares hermafroditas) y siempre verdes; hojas alternas, pinnado compuestas, 5 a 18 cm de largo, con 3 a 6 pares de folíolos, opuestos o subopuestos, coriáceos, 2 a 6 cm de largo, 1.8 a 5 cm de ancho, elíptico ovals a suborviculares, emarginados apicalmente, base ligeramente cuneada o subredondeada, brillantes en el haz, más opacas en el envés, (Estrada – Marroquín1992). Las hojas se insertan en las ramas mediante un peciolo de unos 3 cm (Spina, 1989).



Figura 1 *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo) observado en campo.

El tronco que tiene una corteza áspera rosada, grisácea, es más o menos asurcado, de gran resistencia, hace al algarrobo un árbol muy robusto, grande y tortuoso. Su diámetro alcanza de 1 m e incluso 3 m. (Spina, 1989).

La raíz es penetrante, robusta, rica de raíces laterales (Daris Olms, 1964). Adquieren gran desarrollo y se alargan más allá de la proyección de la copa alcanzando más de 20 m (Spina 1989).

Inflorescencias dispuestas en racimos fasciculados de 2 a 4.5 cm de largo, disco del receptáculo bien desarrollado; sin corola, Cáliz 5 lobulado (Estrada – Marroquín, 1992). Tienen una longitud de 6 a 11 cm y llevan unas 40 a 60 flores, con cáliz rojo a verdoso. (Spina, 1989).

Las flores masculinas con 5 estambres libres, con el ovario rudimentario. (Estrada – Marroquín, 1992). La inflorescencia masculina (figura 2) es de color rojo cuando brota y amarillenta y rojiza en su madurez (Spina, 1989).



Figura 2 Inflorescencias masculinas de *Ceratonia siliqua* L.

Las flores femeninas provistas de 5 estaminodios, pequeños; ovario estipitado, pubescente, con varios óvulos, estilo diminuto, estigma peltado y bilobado.

(Estrada – Marroquín, 1992). La inflorescencia femenina (figura 3) es al principio de color rojo carmín oscuro y después verdoso amarillento (Spina, 1989).



Figura 3 Inflorescencias femeninas de *Ceratonia siliqua* L.

Las flores hermafroditas contienen estambres y pistilos completamente desarrollados como en las flores unisexuales normales (Spina, 1989).

El fruto una vaina linear, comprimida, gruesa indehiscente, coriácea, negro – rojiza, 8 a 14 cm de largo, 10 a 15 mm de ancho, recta o ligeramente curvada (figura 4), internamente pulposa. (Estrada – Marroquín, 1992). De 2 a 4 cm de ancho y de 5 a 15 mm de espesor, de color verde claro antes de madurar, con mas o menos estrías rojizas, de color castaño claro a chocolate a medida que madura, con superficie sinuosa, comprimido en el centro y algo engrosado a lo largo de las suturas y junto a las semillas. (Spina, 1989). El epicarpio es coriáceo, negro algo brillante; el mesocarpio es carnoso y azucarado, de color amarillo miel, el endocarpio, del mismo color envuelve, las semillas casi completamente. (Spina, 1989).

Las semillas tienen 8 mm de largo y 6 mm de ancho, son muy duras, de forma elíptica casi obovadas, cordiformes, aplastadas en el ápice y un poco agudas en la base, de color rojizo, muy brillante (figura 4), con albumen compacto y abundante, con embrión y cotiledones aplanados de un color más bien claro; mientras el endospermo es duro, blanco sucio y rico en sustancias gomosas. (Spina, 1989). Un fruto contienen de 4 a 8 semillas y pesa entre 25 a 40 gramos. (Spina, 1989).



Figura 4 Semillas y frutos de *Ceratonia siliqua* L.

Ecología

Clima

El algarrobo es una planta de hoja perenne xerofita, uno de los factores fundamentales condicionantes de la distribución del algarrobo es la temperatura, se trata de una especie que vegeta y fructifica bien en regiones

donde la temperatura media invernal esté alrededor de los 10°C y la temperatura media estival no sea inferior a los 20 °C, durante al menos cuatro meses al año y con un régimen térmico más o menos moderado. (Spina, 1989).

Para la fructificación el algarrobo necesita la suma de 6,000 grados de calor, siempre que la media no sea inferior a los 9 - 10°C (Spina, 1989).

Suelos

Se localiza en terrenos calcáreos superficiales, o en los que afloran las rocas, en cuyas hendiduras profundizan las raíces. Tiene la posibilidad de adaptarse a diferentes tipos de suelos aunque prefiere los calizos de constitución media o suelta permeables, que tiene buen contenido de potasio y calcio, también se adapta a los arenosos. (Spina, 1989).

Distribución

Es originario del Mediterráneo y ampliamente distribuida a nivel mundial (Estrada y Martínez, 2004). En Estados Unidos se localiza en California, Pennsylvania, Arizona, Texas, (Natural Resources Conservation Service, 2010). También en México, Chile, Argentina, Sudáfrica y Australia. (Spina, 1989).

Importancia Económica

Ceratonia siliqua L. es una especie de gran utilización industrial, forrajera, forestal e industrial por los diversos productos que se obtienen de sus frutos y semillas; de la simple utilización para la alimentación de animales, producción de alcohol, y un extracto de color claro que se obtiene de la corteza y hojas, el cual se utiliza para el curtido de pieles, se ha pasado a una multitud de usos alimentarios, industriales, pastelería, heladería, veterinaria, farmacéutica, química, textil, dietética. (Spina, 1989).

La algarroba, además de ser empleada como buen alimento, en forma natural o en mermeladas, extractos, jarabes y otros, se emplea con éxito en el tratamiento y curación de la debilidad de los nervios y el decaimiento general; en la curación de la anemia, raquitismo, estreñimiento, tos y otras afecciones de las vías respiratorias; en las dolencias de tubo digestivo, tales como: diarreas, disenterías, cólicos del vientre, entre otros. El algarrobo sirve también para curar ciertas enfermedades de la vista; extrae la nube y carnosidades de los ojos, desinflama los párpados. Igualmente sirve para desinflamar los oídos, para curar y fortificar las encías y para combatir el asma (Cazabonne, 2008).

Se emplea también para curar la nerviosidad, la anemia, el raquitismo, la debilidad general, el estreñimiento, la tos y la bronquitis; se toma una cucharada antes de las comidas de un jarabe preparado con una libra de algarrobas picadas que se hacen hervir en dos litros de agua hasta que tome la consistencia de jarabe; se cuele, se endulza bien con miel y se guarda en un frasco o botella bien tapada. Para combatir el asma, se secan bien los frutos del algarrobo, se muelen, se echan en brasa y el humo que sale se inhala dos o tres veces por día (Cazabonne, 2008).

Su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico en el suelo, y hacerlo aprovechable por otras plantas, permite utilizarlo como fertilizador de pasturas para el ganado. Su efecto benéfico continúa: su copa protege al ganado del calor estival, aumentando su productividad (bajo su sombra los pastos crecen más tiernos y sufren menos el rigor del invierno) y sus frutos de alto valor proteico complementan la dieta ideal para el ganado (Gil, 1998).

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta del Material Vegetal.

El material vegetal fue recolectado durante el verano del 2009. Se colectaron hojas compuestas de *Ceratonia siliqua L.* en terrenos de la cabecera municipal de Lampazos de Naranjo N.L. donde el suelo es compacto con abundancia de arcilla (comunicación personal Rodríguez-Martínez, 2009).

Información General del Sitio de la Colecta.

La cabecera municipal de Lampazos de Naranjo, se encuentra dentro de la subprovincia fisiográfica Llanuras de Coahuila y Nuevo León, pertenece a la cuenca hidrológica P. Falcón Río Salado. Se ubica geográficamente al norte 27°49', y al sur 23° 11' de latitud norte, al este 98°26' y al oeste 101°31' de longitud oeste (INEGI, 1995) y a 325 msnm. El clima predominante BSh (seco estepario cálido), su temperatura media anual es de 23°C, su precipitación media anual es de 450 mm y la dirección de los vientos es del sur buena parte del año.

Entre 1972 y 2006 la temperatura media fue de 31.7°C en mayo y 29.6°C en junio; mientras que la precipitación total fue de 37.8 mm en mayo y 35.1 mm en junio (INEGI, 2007).



Figura 5 Mapa del estado de Nuevo León mostrando la ubicación del municipio de Lampazos de Naranjo N.L. donde se realizó la colecta del material vegetal.

PROCEDIMIENTO

La técnica histológica fue realizada en el Laboratorio de Anatomía e Histología Vegetal del departamento de Botánica en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; ubicada en Saltillo, Coahuila, México, durante el año 2009 de acuerdo a la metodología de Johansen (1940) con adaptación para el caso en particular (Apéndice 1).

Toma de Datos

Con la ayuda de un microscopio compuesto de la marca Carl Zeiss estándar 16, se realizaron las observaciones a 10x y 40x para seleccionar 10 preparaciones en sus niveles apical, medio y basal de los folíolos para cada sexo.

Posteriormente, con el microscopio con cámara LABOMED DIGI 2 1500, se efectuó la descripción cualitativa de los cortes de tejido foliar y la obtención de datos cuantitativos de las estructuras observadas; la toma de micrografías con el software digi pro 4.0, a 10x, 40x y 100x, para determinar la disposición celular en cada tejido; en sus niveles apical, medio y basal, considerando los tres sistemas fundamentales: epidérmico, fundamental y vascular. Para concluir con la medición de las variables cuantitativas las cuales se enlistan en el cuadro 2, se efectuaron 10 medidas en las preparaciones; con la ayuda de un micrómetro ocular o reglilla micrométrica instalada en el ocular del microscopio compuesto, para calcular posteriormente los promedios.

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un diseño factorial simple con tres repeticiones, las variables se analizaron por separado, en el programa R y se obtuvieron los análisis de varianza y los gráficos. El análisis de significancia seleccionado fue de 0.05 y la comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey. Se realizó un análisis descriptivo para la epidermis, cutícula, estomas, cristales de oxalato y nervadura central.

Cuadro 2 Variables consideradas y medidas en la parte apical, medio y basal, de los foliolos maduros e inmaduros de *Ceratonia siliqua L.* en plantas de ambos sexos.

Espesor del Parénquima en Empalizada. (EPEmp)

Espesor del Parénquima Esponjoso. (EPEsp)

Grosor del Floema Completo en el Haz Central. (GFC)

Grosor del Limbo. (GLim)

Diámetro del Vaso Mayor del Xilema en el Haz Central.

Diámetro del Vaso Menor del Xilema en el Haz Central.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Información General

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico se muestran a continuación para cada una de las variables evaluadas en los folíolos; así como la información del análisis descriptivo.

Espesor del Parénquima en Empalizada.

El análisis de varianza (cuadro 3) muestra que en la comparación entre sexos presentó diferencia altamente significativa ($P \leq 0.001$), a favor de folíolos femeninos lo mismo se encontró cuando se analizaron los diferentes estadios y finalmente el resultado fue el mismo en la interacción sexo – estadio con un coeficiente de variación de 6.3%.

La gráfica 1 muestra una tendencia marcada por sexos, donde las muestras de EPEmp obtenidas de folíolos femeninos siempre mostraron valores más altos en cada uno de los estadios señalados.

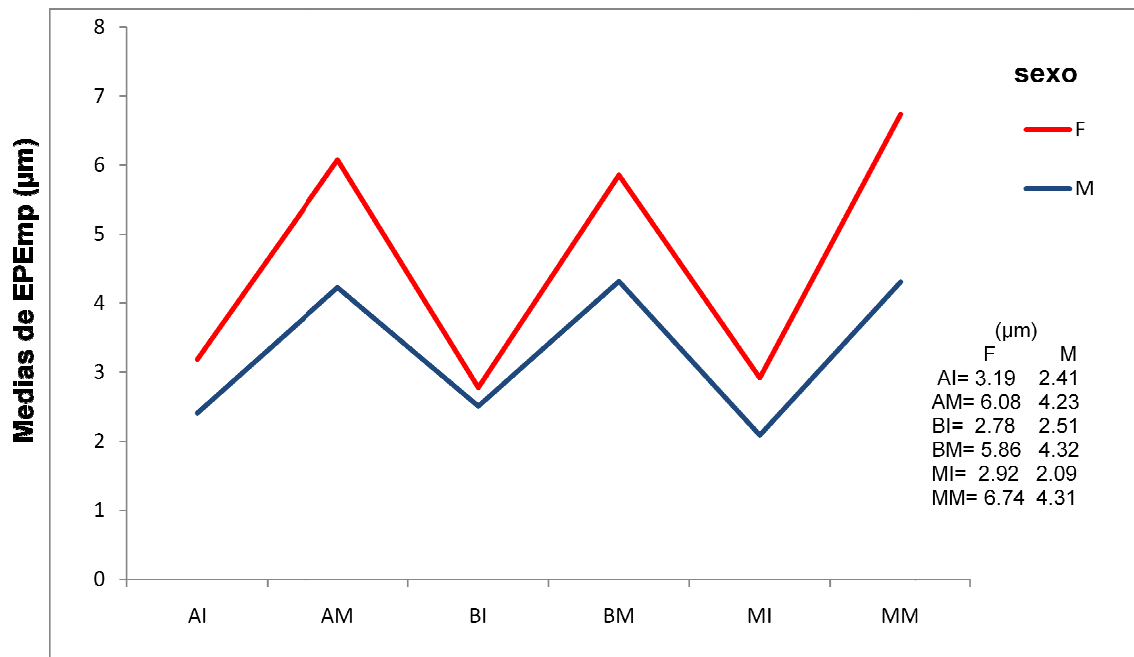
CUADRO 3. Análisis de varianza para la variable Espesor del Parénquima en Empalizada (PEmp) a nivel apical, medio y basal de folíolos inmaduros y maduros en plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua L.* (algarrobo).

	GL	SUMA CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	Pr(>F)
Sexo	1	5.2125	5.2125	188.864	7.186e-13 ***
Estadio	5	22.8712	4.5742	165.739	< 2.2e-16 ***
Sexo:estadio	5	1.4292	0.2858	10.357	2.198e-05 ***
Residuales	24	0.6624	0.0276		

COEFICIENTE DE VARIACION (CV)= 6.3%

El mayor espesor de este tejido entre folíolos femeninos y masculinos maduros se encuentra en la parte media (MM) con un valor de 6.74 μm para las muestras femeninas y de 4.31 μm para los folíolos masculinos; seguida de la parte apical (AM) con un valor de 6.08 μm para las muestras femeninas y de 4.23 μm para los folíolos masculino y la parte basal (BM) con un valor de 5.86 μm en las muestras femeninas y 4.32 μm para folíolos masculinos; de los folíolos inmaduros el espesor mayor se presentó en la parte apical (AI) con un valor de 3.19 μm para las muestras femeninas y 2.41 μm para los folíolos masculinos, seguida de la parte media (MI) con un valor de 2.92 μm en muestras femeninas y 2.09 μm para folíolos masculinos y la parte basal (BI) con un valor de 2.78 μm para las muestras femeninas y 2.51 μm para folíolos masculinos.

Se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey (Apéndice 2; cuadro 1) para los estadios, y se encontró que no existe diferencia significativa, por lo que la parte apical, medio y basal estadísticamente son iguales.



GRAFICA 1. Variable Espesor del Parénquima en Empalizada (EPEmp) a nivel apical, medio y basal de folíolos inmaduros y maduros en plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua L.* (algarrobo). (Apical inmaduro (AI), Apical maduro (AM), Basal inmaduro (BI), Basal maduro (BM), Media inmadura (MI), Media madura (MM)).

En las observaciones realizadas al microscopio a 40x, los folíolos inmaduros en ambos sexos presentan dos estratos de parénquima en empalizada. Los folíolos femeninos maduros presentan tres estratos mientras que los folíolos masculinos, solo presentan dos (figura 6). Metcalfe (1979) indica que el número de capas de parénquima en empalizada puede variar entre distintos ejemplares de una misma especie y aún en diferentes hojas de la misma planta. Pero para el caso de *Ceratonia siliqua L.* solo en los folíolos femeninos se observaron tres estratos de este tejido.

Markesteyjn *et al.* (2007) encontraron que la plasticidad de la anatomía foliar en respuesta a la radiación solar está asociada a cambios en el grosor y/o número de capas del parénquima en empalizada. En este sentido, diversos autores (Boardman 1977; Strauss – Debenedetti y Berlyn 1994; García y Lapp 2001) han señalado que un mayor número de capas de parénquima en empalizada

está asociado a hojas expuestas a una alta radiación solar; lo cual se considera un mecanismo que permite aumentar la capacidad fotosintética de las mismas. (Evans 1999).

La plasticidad fenotípica es la capacidad que tiene un genotipo para alterar su fisiología y morfología en respuesta a cambios en las condiciones ambientales. Bradshaw (1965), Sultán (1995) y Schlichting (2002), señalaron a la plasticidad fenotípica como uno de los mecanismos desarrollados por las plantas para sobrevivir en condiciones ambientales diversas.

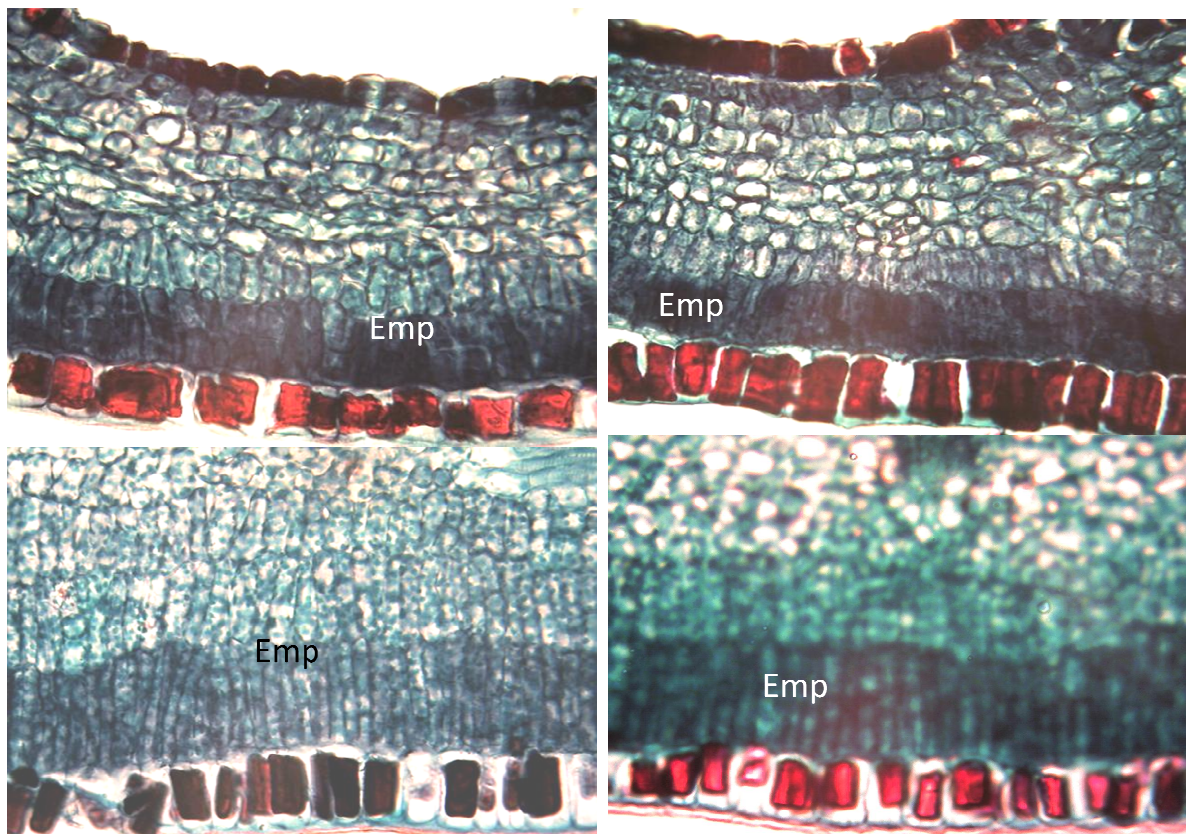


Figura 6. Micrografía de corte transversal de folíolos de *Ceratonia siliqua L.* donde se observa a 40x, las capas del parénquima en empalizada. En la parte superior aparecen los folíolos inmaduros, donde se observan dos estratos, a la izquierda el femenino y a la derecha el masculino; la parte inferior corresponde a folíolos maduros, el izquierdo corresponde al femenino donde se aprecian tres estratos, el derecho representa el folíolo masculino con dos estratos.

Espesor del Parénquima Esponjoso.

El análisis de varianza (cuadro 4), en la comparación por sexos, no presenta diferencia significativa; mientras que en la interacción por estadios se encontró diferencia altamente significativa ($P \leq 0.001$) para las muestras de folíolos masculinos y en la interacción sexo - estadio la diferencia es muy significativa ($P \leq 0.01$), con un coeficiente de variación de 9.9%.

CUADRO 4. Análisis de varianza para la variable Espesor del Parénquima Esponjoso (EPEsp) a nivel apical, medio y basal en folíolos inmaduros y maduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo).

	GL	SUMA CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	Pr(>F)
Sexo	1	0.1108	0.1108	2.2312	0.148284 NS
Estadio	5	17.2332	3.4466	69.4321	1.767e-13 ***
Sexo:estadio	5	1.4184	0.2837	5.7145	0.001309 **
Residuales	24	1.1914	0.0496		

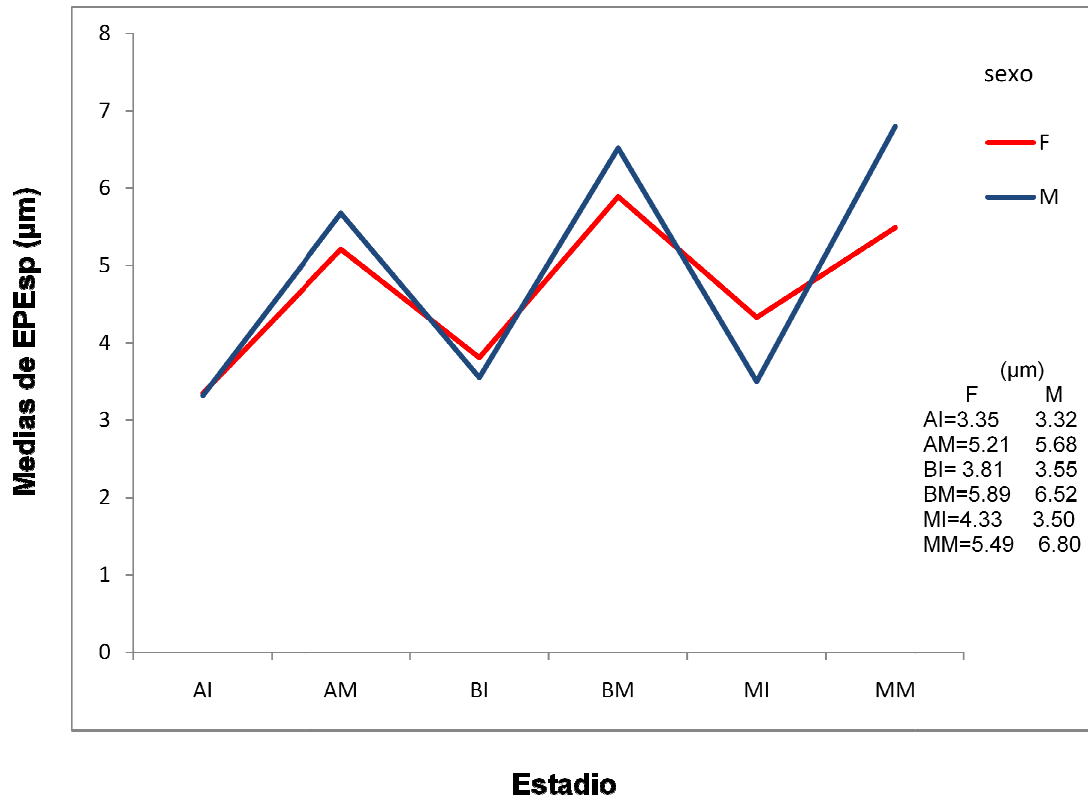
COEFICIENTE DE VARIACION (CV) = 9.9%

La gráfica 2 presenta una tendencia muy similar para ambos sexos, donde las muestras de folíolos masculinos maduros mostraron valores más altos, en la parte media (MM) con un valor de 6.80 μm para las muestras de folíolos masculinos y 5.49 μm para los folíolos femeninos, seguida de la parte basal (BM) con un valor de 6.52 μm para las muestras de folíolos masculinos y 5.89 μm para los folíolos femeninos y la parte apical (AM) con un valor de 5.68 μm para las muestras de folíolos masculinos y 5.21 μm para folíolos femeninos. En

foliolos inmaduros su mayor espesor se mostró en la parte media (MI) de las muestras de foliolos femeninos con un valor de 4.33 μm y 3.50 μm para los foliolos masculinos, seguida de la parte basal (BI) con un valor de 3.81 μm para las muestras de foliolos femeninos y 3.55 μm para los masculinos y la parte apical (AI) con un valor de 3.35 μm para las muestras de foliolos femeninos y 3.32 μm para los foliolos masculinos.

La prueba de comparación de medias de Tukey por estadio (Apéndice 2; cuadro 2) señala que no existe diferencia significativa entre medias, por lo que la parte apical, medio y basal son estadísticamente iguales.

En las observaciones realizadas al microscopio a 40x, respecto al parénquima esponjoso se encontró que en los foliolos inmaduros se observan de seis a siete capas en la parte apical y media en ambos sexos; se encontraron muestras que en la parte basal de siete a ocho capas en los foliolos femeninos y siete en los masculinos, además se observan más espacios de aire en foliolos femeninos (figura 7). En las muestras de foliolos maduros se observan de ocho a nueve capas en los foliolos femeninos en la parte apical y media, las muestras de los foliolos masculinos presentan ocho capas en la parte apical y media y marcados los espacios de aire; la parte basal de siete a ocho capas para ambos sexos, siendo mas evidentes los espacios de aire en los masculinos (figura 8). Dichos espacios sirven para que circule el aire necesario para el intercambio de gases, la respiración y transpiración (Fahn, 1978).



GRAFICA 2. Espesor del Parénquima Esponjoso (EPEsp) a nivel apical, medio y basal en folíolos inmaduros y maduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua L.* (algarrobo). (Apical inmaduro (AI), Apical maduro (AM), Basal inmaduro (BI), Basal maduro (BM), Media inmadura (MI), Media madura (MM)).

Los folíolos masculinos maduros de *Ceratonia siliqua L.* presentan más desarrollado el espesor del parénquima esponjoso, lo cual sugiere mayor espacio para (CO₂ y H₂O).

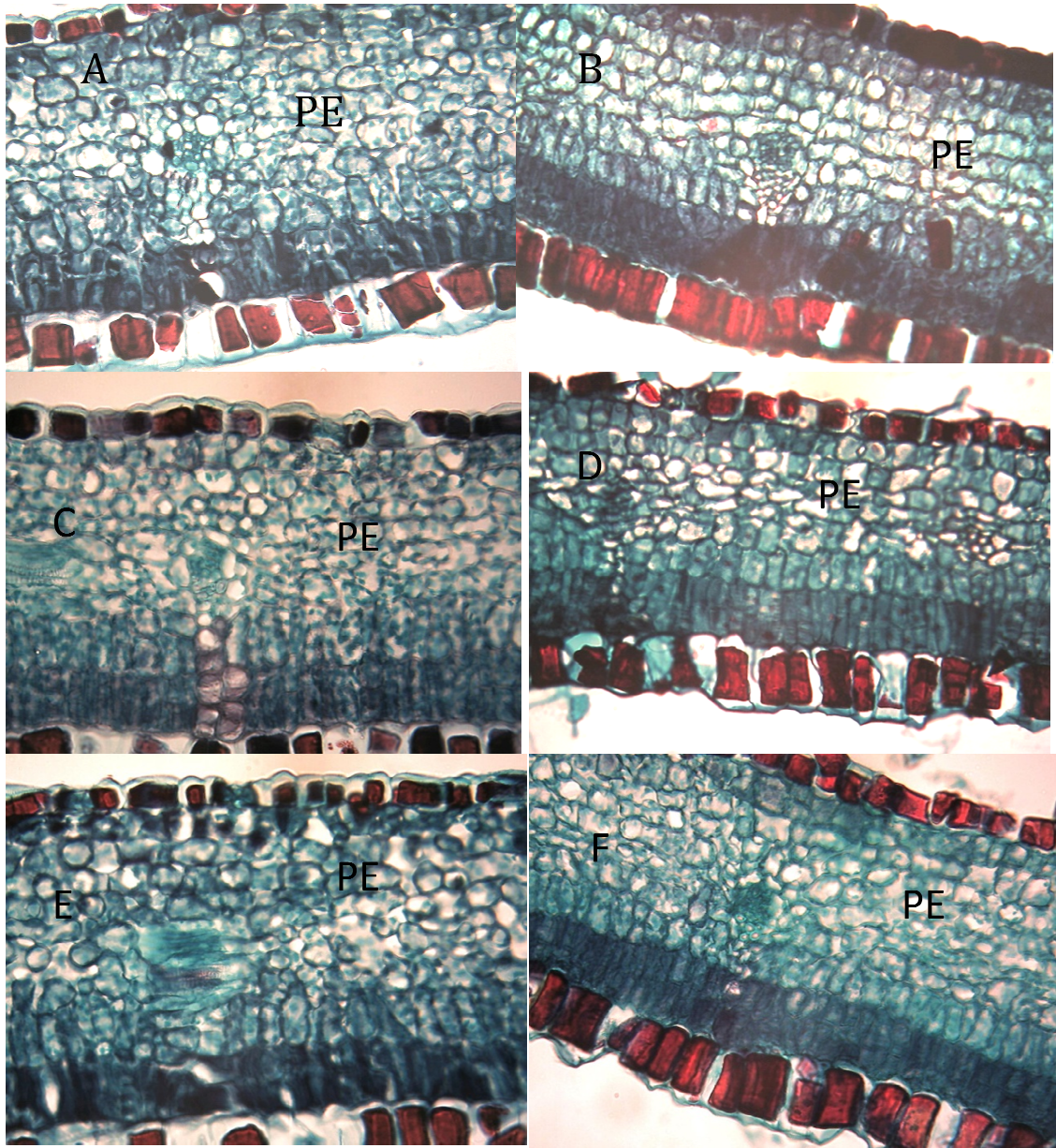


Figura 7. Micrografías de cortes transversales de folíolos inmaduros de *Ceratonia siliqua L.* donde se observan a 40x, las capas de parénquima esponjoso (PE); en A y B parte apical; en C y D parte media; en E y F parte basal. Las del lado izquierdo corresponden a los femeninos y los del lado derecho a los masculinos.

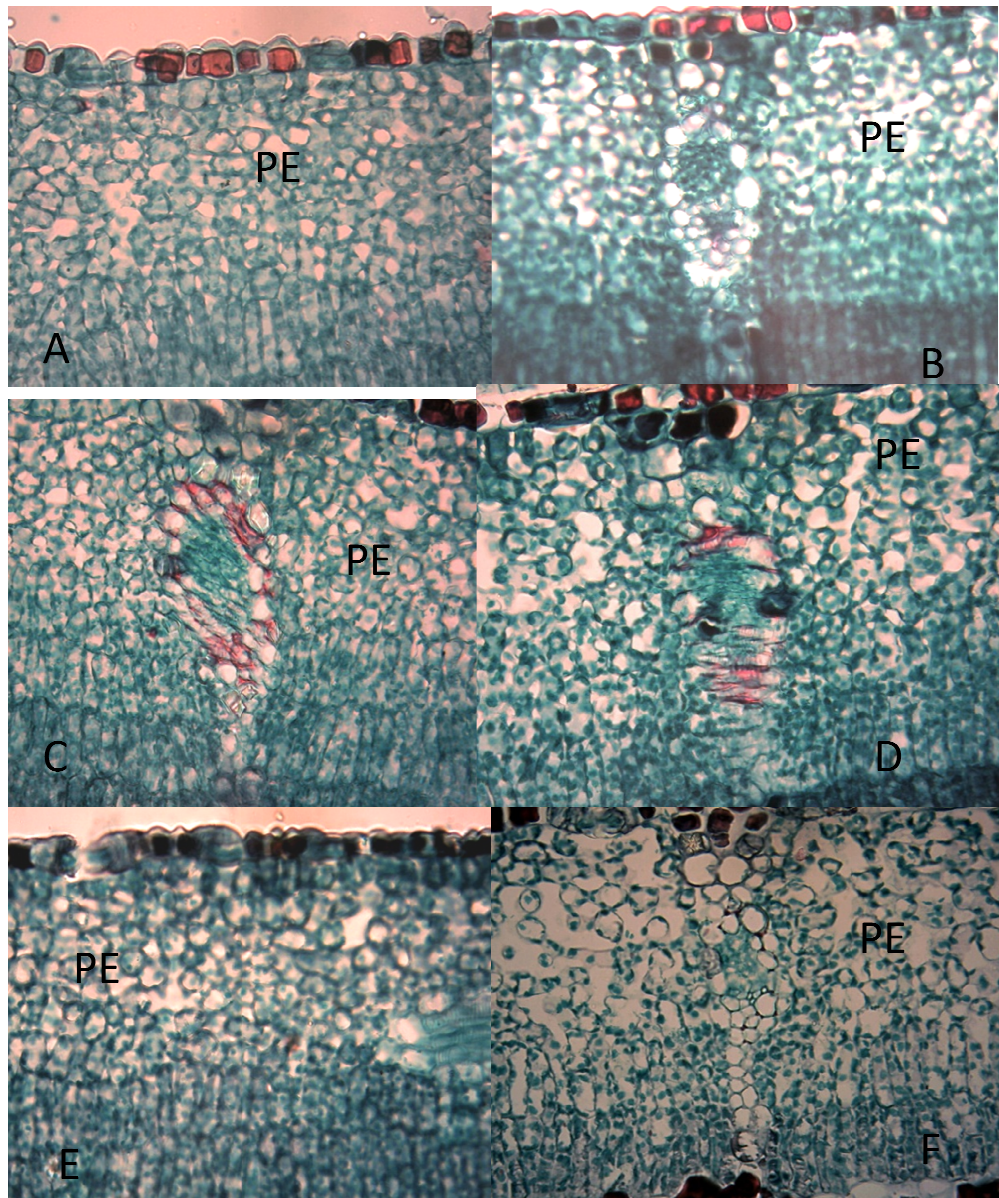


Figura 8. Micrografías de cortes transversales de folíolos maduros de *Ceratonia siliqua* L. donde se observan a 40x, las capas de parénquima esponjoso (PE) en A y B parte apical; en C y D parte media; en E y F parte basal. Las de lado izquierdo corresponden a femeninos y las del lado derecho a masculinos.

Grosor del Floema Completo.

De acuerdo al análisis de varianza (Cuadro 5); en la comparación por sexos se observó que la diferencia fue altamente significativa para las muestras de los folíolos masculinos, lo mismo se encontró en la comparación por estadios y finalmente en la interacción sexo – estadio el resultado fue el mismo ($P \leq 0.001$), con un coeficiente de variación de 1.82%.

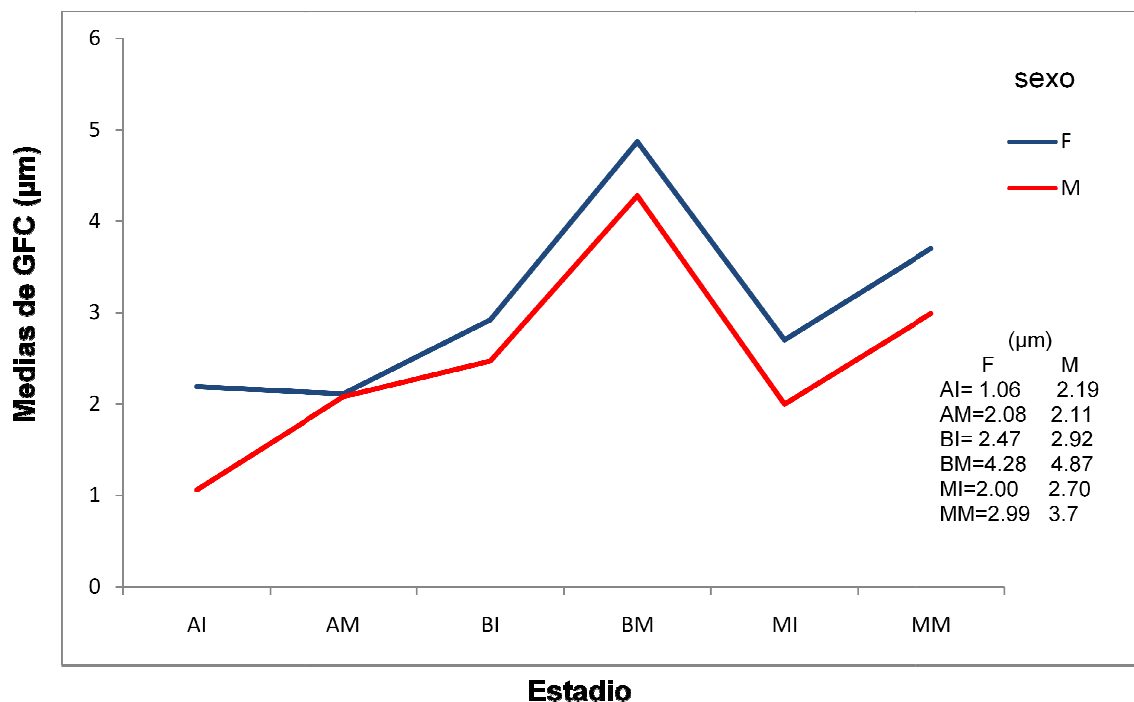
CUADRO 5. Análisis de varianza para la variable Grosor del Floema Completo (GFC) a nivel apical, medio y basal en folíolos inmaduros y maduros del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo).

	GL	SUMA CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	Pr(>F)
Sexo	1	0.12302	0.12302	47.486	3.980e-07 ***
Estadio	5	0.73406	0.14681	56.669	1.666e-12 ***
Sexo:estadio	5	0.18323	0.03665	14.145	1.702e-06 ***
Residuals	24	0.06218	0.00259		

COEFICIENTE DE VARIACION (CV) = 1.82%

La gráfica 3 presenta una tendencia por sexos donde las muestras obtenidas de folíolos masculinos, siempre fueron más altas en cada uno de los estadios señalados. La diferencia se encuentra en la parte basal madura (BM) con un valor de 4.87 μm en las muestras de folíolos masculinos y 4.28 μm para folíolos femeninos, seguida por la parte media (MM) con un valor de 3.7 μm en muestras de folíolos masculinos y 2.99 μm para los folíolos femeninos y la parte apical (AM) con un valor de 2.11 μm en las muestras de folíolos masculinos y

2.08 μm para los folíolos femeninos. Lo mismo ocurre en folíolos inmaduros la parte de mayor grosor es la basal (BI) con un valor de 2.92 μm para las muestras de folíolos masculinos y 2.47 μm para los folíolos femeninos, seguida por la parte media (MI) con un valor de 2.70 μm para las muestras de los folíolos masculinos y 2.00 μm para los folíolos femeninos y la apical (AI) con un valor de 2.19 μm para las muestras de los folíolos masculinos y 1.06 μm en los folíolos femeninos.



GRAFICA 3. Grosor del Floema Completo (GFC) a nivel apical, medio y basal en folíolos inmaduros y maduros de plantas del sexo femenino y masculino. de *Ceratonia siliqua L.* (algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

La prueba de comparación de medias de Tukey por estadio, (Apéndice 2; cuadro 3) señala que los folíolos maduros en la parte basal (BM) muestran diferencia con respecto a la parte apical (AM); la parte media (MM) muestra diferencia con la parte apical; la parte basal (BM) muestra diferencia con la

parte media (MM); los folíolos inmaduros en la parte basal (BI) muestran diferencia con respecto a la parte apical (AI), la parte media (MI) muestra diferencia con la parte apical. Existe diferencia en el grosor del floema en estas partes, pero la parte basal (BI) con la parte media (MI) estadísticamente son iguales.

La función del floema es la conducción de la savia elaborada y en los folíolos masculinos de *Ceratonia siliqua* L. se encuentra más desarrollado este tejido (figura 9), esto sugiere que dicho folíolo tiene mayor capacidad para conducir los fotosintatos.

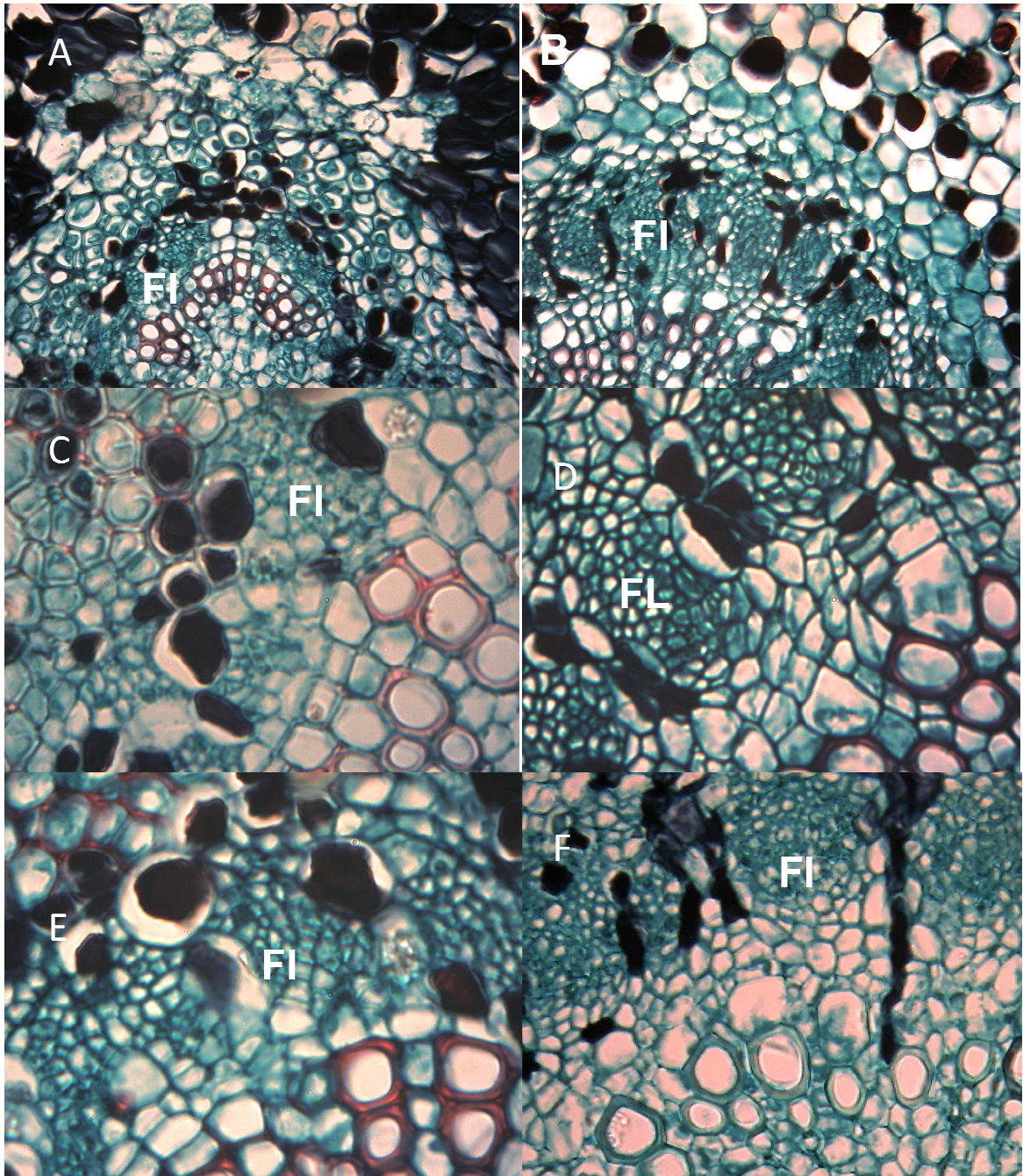


Figura 9. Micrografías de cortes transversales de folíolos inmaduros de *Ceratonia siliqua* L. donde se observan a 40x el floema (FI), en A y B parte apical; en C y D parte media; en E y F parte basal. Los del lado izquierdo corresponden a folíolos femeninos y los del lado derecho corresponden a los masculinos.

Grosor del Limbo.

Se encontró con el análisis de varianza (cuadro 6), en la comparación por sexos, que existen diferencias altamente significativas ($P \leq 0.001$) para las muestras de los folíolos femeninos, lo mismo se encontró cuando se analizaron los diferentes estadios y en la interacción sexo – estadio resultó significativa, ($P \leq 0.05$) con un coeficiente de variación de 2.17%.

CUADRO 6. Análisis de varianza para la variable Grosor del Limbo (GLim) a nivel apical, medio y basal en folíolos inmaduros y maduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo).

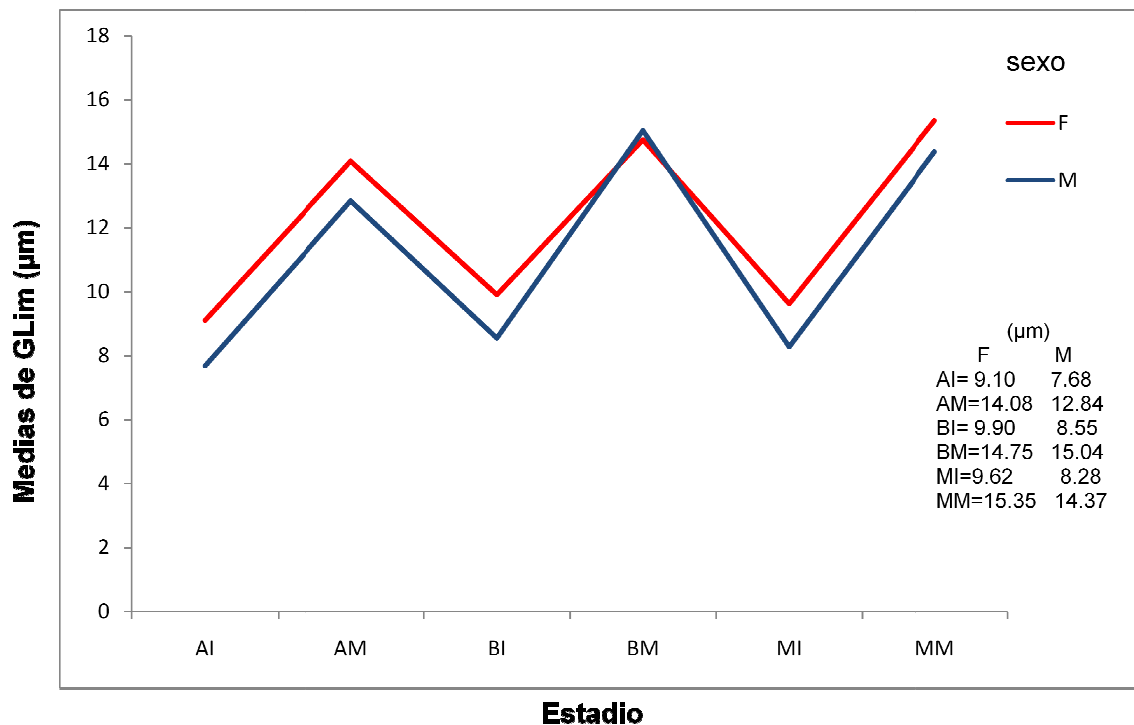
	GL	SUMA CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	Pr(>F)
Sexo	1	0.0015774	0.0015774	35.7264	3.604e-06 ***
Estadio	5	0.0304849	0.0060970	138.0944	< 2.2e-16 ***
Sexo:estadio	5	0.0007974	0.0001595	3.6123	0.01410 *
Residuals	24	0.0010596	0.0000442		

COEFICIENTE DE VARIACION (CV)= 2.17%

En la gráfica 4 se observa la tendencia por sexos donde el grosor del limbo es mayor para los folíolos femeninos, en la parte media (MM) con un valor de 15.35 μm para las muestras de los folíolos femeninos y 14.37 μm para los folíolos masculinos, seguida de la parte basal (BM) con un valor de 14.75 μm para las muestras de los folíolos femeninos y 15.04 μm para los folíolos masculinos, solo en esta parte los folíolos masculinos dominan; la parte apical (AM) con un valor de 14.08 μm para muestras de folíolos femeninos y 12.34 μm para folíolos masculino; en los folíolos femeninos inmaduros el mayor grosor se presenta en la parte basal (BI) con un valor 9.90 μm para las muestras de

foliolos femeninos y 8.55 μm para los foliolos masculinos, seguida de la parte media (MI) con un valor de 9.62 μm para muestras de foliolos femeninos y 8.28 μm para los foliolos masculinos y la parte apical (AI) con un valor de 9.10 μm para foliolos femeninos y 7.68 μm los foliolos masculinos.

La prueba de comparación de medias de Tukey por estadio (Apéndice 2; cuadro 4) indica que para los foliolos maduros la parte basal (BM) y la parte media (MM) son iguales. Al comparar la parte basal (BM) muestra diferencia respecto a la apical (AM), en los foliolos inmaduros la parte apical (AI), media (MI) y basal (BI) estadísticamente son iguales.



GRAFICA 4. Variable Grosor del Limbo (GLim) a nivel apical, medio y basal en foliolos inmaduros y maduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua L.* (algarrobo) (Apical inmaduro (AI), Apical maduro (AM), Basal inmaduro (BI), Basal maduro (BM), Media inmadura (MI), Media madura (MM)).

En foliolos femeninos de *Ceratonia siliqua L.* el grosor del limbo es mayor y esto se debe a la mayor cantidad de capas de parénquima en empalizada presentes en dichos foliolos.

Diámetro del Vaso Mayor del Xilema en la Nervadura Central.

En el análisis de varianza (cuadro 7) en la comparación por sexos resultó muy significativa ($P \leq 0.01$), para las muestras de folíolos masculinos, la comparación por estadios es altamente significativa ($P \leq 0.001$), mientras que la interacción sexo - estadio no resultó significancia estadística, con un coeficiente de variación del 9%.

CUADRO 7. Análisis de varianza para la variable Diámetro del vaso mayor del xilema en la nervadura central (DVXma) a nivel apical, medio y basal en folíolos inmaduros y maduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo).

	GL	SUMA CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	Pr(>F)
Sexo	1	0.04551	0.04551	8.4280	0.007803 **
Estadio	5	0.93699	0.18740	34.7033	3.143e-10 ***
Sexo:estadio	5	0.02389	0.00478	0.8848	0.506447NS
Residuals	24	0.12960	0.00540		

COEFICIENTE DE VARIACION (CV) = 9%

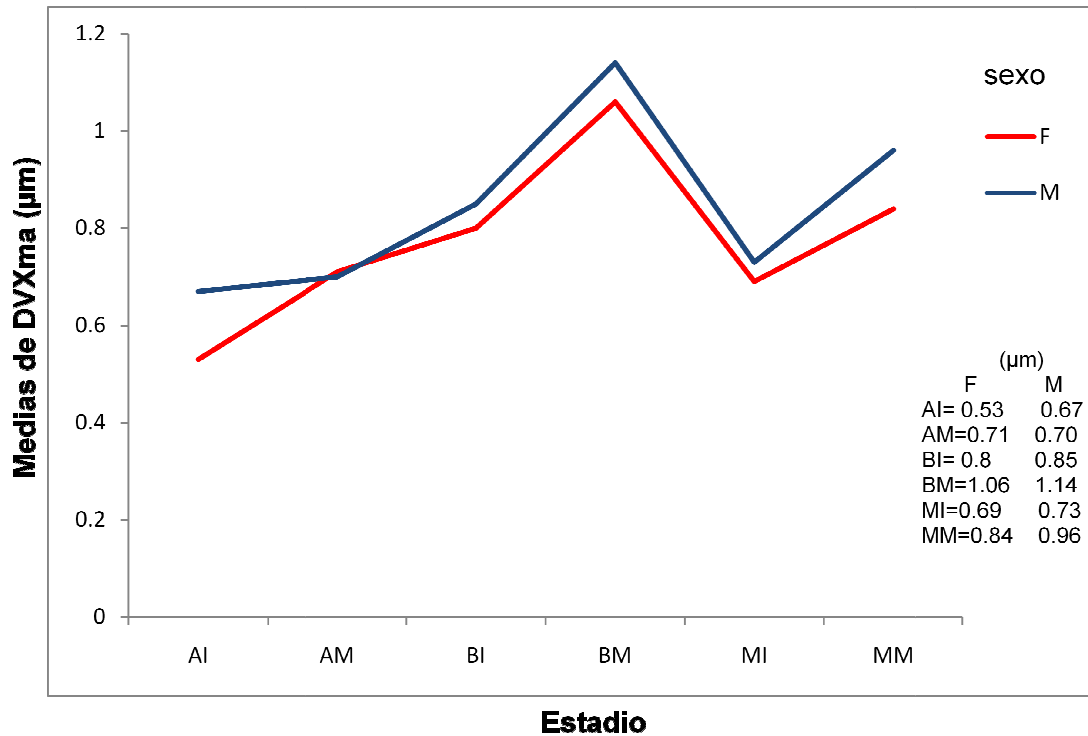
En la grafica 5 se muestra que la tendencia es mayor para los folíolos masculinos maduros en la parte basal (BM) con un diámetro de 1.14 μm para las muestras de los folíolos masculinos y 1.06 μm para los folíolos femeninos, seguida por la parte media (MM) con un valor de 0.96 μm para las muestras de los folíolos masculinos y 0.84 μm para los folíolos femeninos, la parte apical (AM) con un valor de 0.70 μm para los folíolos masculinos y 0.71 μm para folíolos femeninos; los folíolos masculinos inmaduros presentan también el diámetro mayor en la parte basal (BI) con un diámetro de 0.85 μm para los folíolos masculinos y 0.8 μm para los folíolos femeninos, seguida la parte media

(MI) con un valor de 0.73 μm para folíolos masculinos y 0.69 μm para los folíolos femeninos y la parte apical (AI) con un valor de 0.67 μm para los folíolos masculinos y 0.53 μm para folíolos femeninos.

La prueba de comparación de medias de Tukey por estadio, (Apéndice 2; cuadro 5) indica que en los folíolos maduros la parte apical (AM), media (MM) y basal (BM) presentan diferencias, se encontró para folíolos inmaduros la parte basal (BI) presenta diferencia con la apical (AI); la parte basal (BI) y la parte media (MI) no hay diferencia estadística, sus medias son iguales.

El xilema, además de la función de soporte mecánico, tiene también un papel importante en la regulación de la economía hídrica (Aston y Lawlor, 1979; Nobel, 1991). En *Ceratonia siliqua L.* los folíolos masculinos que presentan diámetros de mayor tamaño en los vasos, sugieren que es mayor el transporte de agua y sales minerales que en los femeninos.

Los vasos anchos permiten tasas mayores de flujo de agua y son más vulnerables a la cavitación por sequía (Yang y Tyree, 1992; Gibson 1996); por lo que su mayor diámetro podría presentar una desventaja para las plantas que crecen en ambientes que experimentan frecuentemente estrés por la escasez de agua (Gibson 1986).



GRAFICA 5. Diámetro del vaso mayor del xilema en la nervadura central(DVXma) a nivel apical, medio y basal en folíolos inmaduros y maduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua L.* (algarrobo). (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Diámetro del Vaso Menor del Xilema en la Nervadura Central

En el análisis de varianza (cuadro 8) en la comparación por sexos no presenta diferencia significativa, en estadios la diferencia es altamente significativa ($P \leq 0.001$) y en la interacción sexo- estadio es significativa ($P \leq 0.05$) con un coeficiente de variación de 10.6%.

CUADRO 8. Análisis de varianza para la variable Diámetro del Vaso menor del Xilema en la nervadura central (DVXme) a nivel apical, medio y basal en folíolos inmaduros y maduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo).

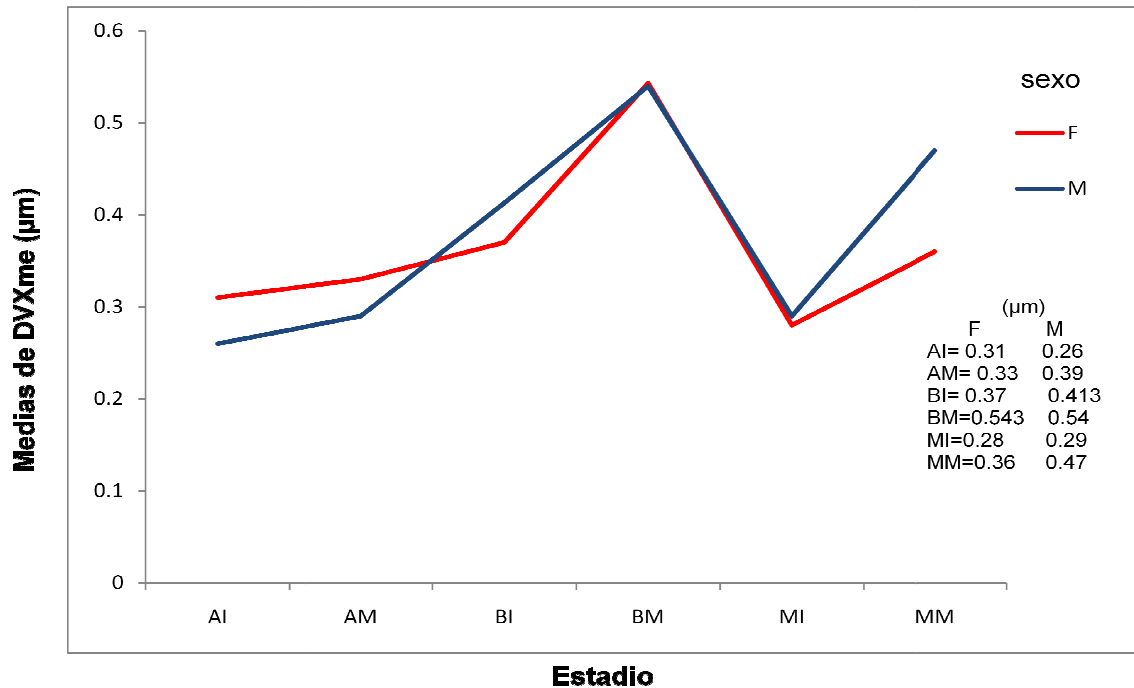
	GL	SUMA CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	VALOR DE F	Pr(>F)
Sexo	1	0.002669	0.002669	1.6484	0.21144 NS
Estadio	5	0.283014	0.056603	34.9520	2.918e-10 ***
Sexo:estadio	5	0.022414	0.004483	2.7681	0.04119 *
Residuals	24	0.038867	0.001619		

COEFICIENTE DE VARIACION (CV)=10.6%

La grafica 6 muestra que los folíolos maduros de ambos sexos en la parte basal (BM) no presentan diferencias, el diámetro menor es de 0.543 μm para folíolos femeninos y 0.54 μm para folíolos masculino, la diferencia se hace más notoria en la parte media (MM) donde el diámetro de los folíolos masculinos es de 0.47 μm y 0.36 μm para folíolos femeninos. En folíolos inmaduros el diámetro del vaso menor del xilema en la parte basal (BI) fue 0.413 μm para folíolos masculinos y 0.37 μm para folíolos femeninos; en la parte media (MI) su diámetro fue de 0.29 μm para folíolos masculinos y 0.28 μm para folíolos femeninos, en la parte apical (AI) el diámetro fue de 0.26 μm en folíolos masculinos y 0.31 μm para folíolos femeninos.

La prueba de comparación de medias de Tukey por estadio (Apéndice 2; cuadro 6) indica que folíolos maduro en la parte apical (AM), media (MM) y basal (BM) presentaron diferencia entre medias; para los folíolos inmaduros se encontró diferencia en la parte basal (BI) con la parte apical (AI), en la media (MI) con la basal (BI) y la parte media (MI) con la apical (AI) estadísticamente son iguales.

Los vasos estrechos son considerados como una ventaja adaptativa en hábitats secos, ya que son menos vulnerables a la cavitación, (Carlquist, 1988; Yang y Tyree, 1992; Gibson 1986; Mauseth y Plemons-Rodríguez, 1998).



GRAFICA 6. Diámetro del vaso menor del xilema en la nervadura central (DVXme) a nivel apical, medio y basal en folíolos inmaduros y maduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo). (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Para los folíolos maduros los vasos de menor diámetro los encontramos en la parte apical (AM); donde su diámetro fue de 0.26 μm para los folíolos masculinos y 0.31 μm para los folíolos femeninos; en los folíolos inmaduros el diámetro menor fue de 0.26 μm en la parte apical (AI) para los folíolos masculinos y 0.28 μm para folíolos femeninos en la parte media (MI).

La epidermis tanto en la cara abaxial como en la adaxial se presenta de forma uniestratificada. La epidermis abaxial presenta de contorno cuadrangular, pequeñas, de pared primaria recta y un tanto engrosada en el interior de cada una de ellas agregados; las células de la epidermis adaxial son de mayor

tamaño, de forma tabular y sus paredes rectas en folíolos maduros e inmaduros, para ambos sexos (figura 10).

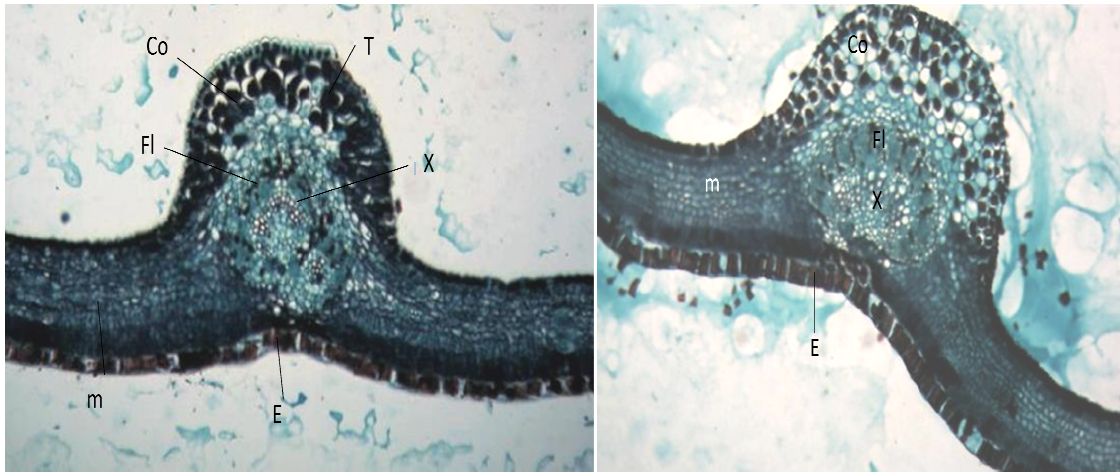


Figura 10. Micrografías a 10x de secciones transversales de folíolos inmaduros. La izquierda corresponde a la parte apical femenina y la derecha a la parte apical masculina.

La epidermis presenta cutinización (figura 11). La cutícula engrosada particularmente en la superficie adaxial, se asocia a condiciones de aridez, como una acción mecánica para evitar que los tejidos foliares colapsen cuando el déficit hídrico es marcado (Pyykkö1966, Roth 1992). Está característica podría estar asociada a la condición siempre verde de *Ceratonia siliqua L.* La cutícula muy desarrollada posiblemente le brinde resistencia mecánica durante la época de sequía. El grosor de la cutícula no se pudo determinar debido a que gran parte de las muestras se desgarraron durante el proceso de microtomía y tinción.

Se observó que los estomas sólo están presentes en el envés de la hoja, por lo que se determina que es hoja hipostomática (Fahn, 1978). Se observaron estomas hundidos abiertos y cerrados en ambos sexos (figura 12).

La ubicación de los estomas se ha indicado como un carácter de gran valor para el diagnóstico de separación de especies dentro de un mismo género (Solereder, 1908).

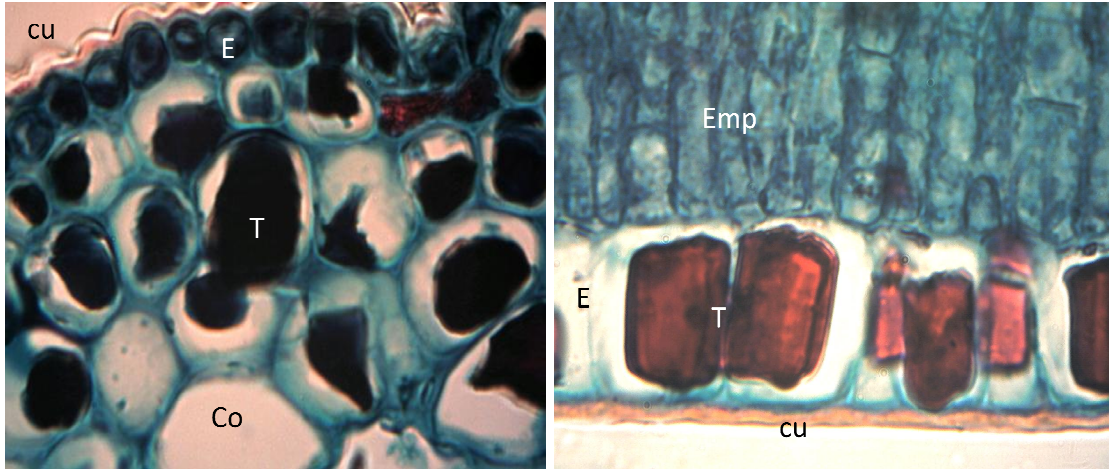


Figura 11. Micrografías de cortes transversales de foliolos de *Ceratonia siliqua* L. donde se observa a 100x, la Epidermis abaxial (E), Cutícula (cu), Taninos (T), Colénquima (Co), en la nervadura central a la izquierda y a la derecha la epidermis abaxial (E), parénquima en empalizada (Emp).

Se observó mayor cantidad de estomas en foliolos femeninos maduros. Su promedio total por unidad de superficie a nivel apical, medio y basal fue de 9.13 para foliolos femeninos y 7.13 para los foliolos masculinos, en foliolos femeninos inmaduros fue de 7.86 para foliolos femeninos y 4.35 para los masculinos; los cortes de foliolos masculinos no permitieron que estos se apreciaran con claridad, debido a la gran cantidad de agregados por lo que es recomendable realizar un estudio de densidad estomática.

La variabilidad en el número de estomas por unidad de superficie depende de diferentes factores ambientales y estos pueden afectar de distinta manera incluso a individuos de la misma especie, a hojas de la misma planta y a sectores de la misma hoja (Esau, 1977). En base a esto, estudios realizados bajo condiciones de invernadero han demostrado cierta uniformidad, tal es el caso de la intensidad de la luz en *Pinsettia* (Kuiper, 1963) y la cantidad de agua disponible en *Poa annua* (Meusell, 1963), para el caso de *Ceratonia siliqua* L. los foliolos femeninos presentaron mayor número de estomas por unidad de superficie.

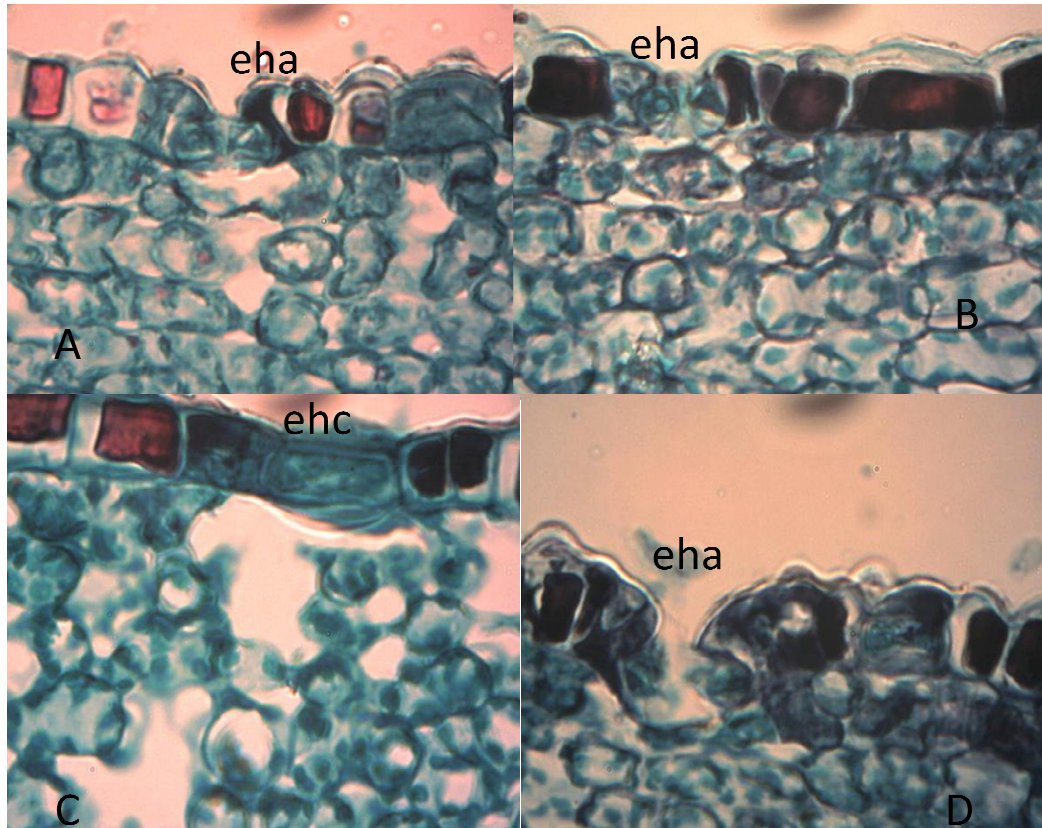


Figura 12. Micrografías de cortes transversales de folíolos de *Ceratonia siliqua* L. donde se observan a 40x en A, B y D estomas hundidos abiertos (eha) y en C estoma hundido cerrado (ehc).

Se observaron cristales prismáticos y en forma de drusa en la nervadura central y en el mesofilo; siendo más abundantes en folíolos femeninos que en los masculinos. En la parte apical, media y basal de los folíolos femeninos inmaduros se aprecian, pero en masculinos no se observaron, por tal motivo no se hizo el conteo de estos cristales (figura 13).

En relación a la función de los cristales de oxalato de calcio, Franceschi y Horner (1980) indican que se han atribuido varias funciones a los mismos, tales como mecanismos de inmovilización del calcio (Ca) en la planta a fin de regular las funciones osmóticas, mecanismos de defensa contra la herbivoría o para el almacenamiento de Ca, que la planta es capaz de utilizar cuando hay déficit de este elemento. Se ha comprobado que la cantidad de cristales de oxalato de

calcio puede ser proporcional a la cantidad de calcio disponible en el medio y que las células cristalíferas pueden funcionar como sumideros para la acumulación del mismo en algunas plantas (Kostman y Franceschi, 2000).

La presencia de cristales observados posiblemente esta asociada a las condiciones edáficas donde *Ceratonia siliqua L.* se desarrolla. Sería recomendable hacer estudios más detallados de los contenidos de Ca en el suelo a fin de determinar su función.

El sistema vascular de la lamina está formado por haces colaterales; los mas grandes, envueltos en un casquete de esclereidas y los más pequeños, solo envueltos en una vaina, en ambos sexos en su estado de madurez (figura 14).

En la nervadura central, debajo de la epidermis abaxial se presentan capas de células de colénquima y esclerénquima; el floema se encuentra segmentado por idioblastos conteniendo en su interior agregados; a continuación el xilema en posición central; hacia la epidermis adaxial nuevamente capas de colénquima, dichas capas de colénquima contienen en su interior agregados. Se desarrollan en la parte adaxial, dos pequeños radios de floema y xilema. Esto en folíolos maduros para ambos sexos, en la parte basal y media (figura 15). En folíolos inmaduros aun no se desarrollan las esclereidas, ni se presentan radios de floema y xilema.

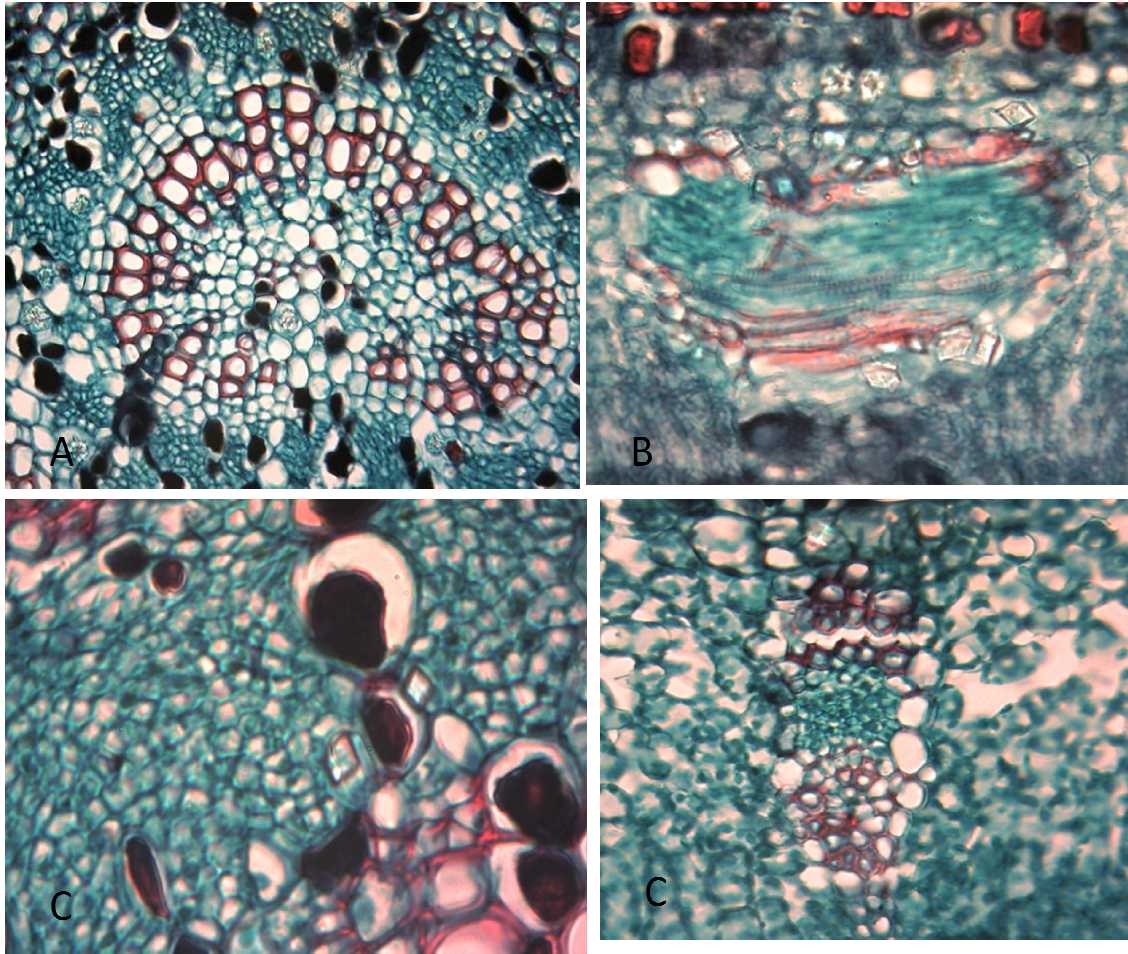


Figura 13. Micrografías de cortes transversales de foliolos de *Ceratonia siliqua* L. donde se observan a 40x cristales de oxalato de calcio y drusas, A y B foliolo femenino maduro, C y D foliolo masculino maduro.

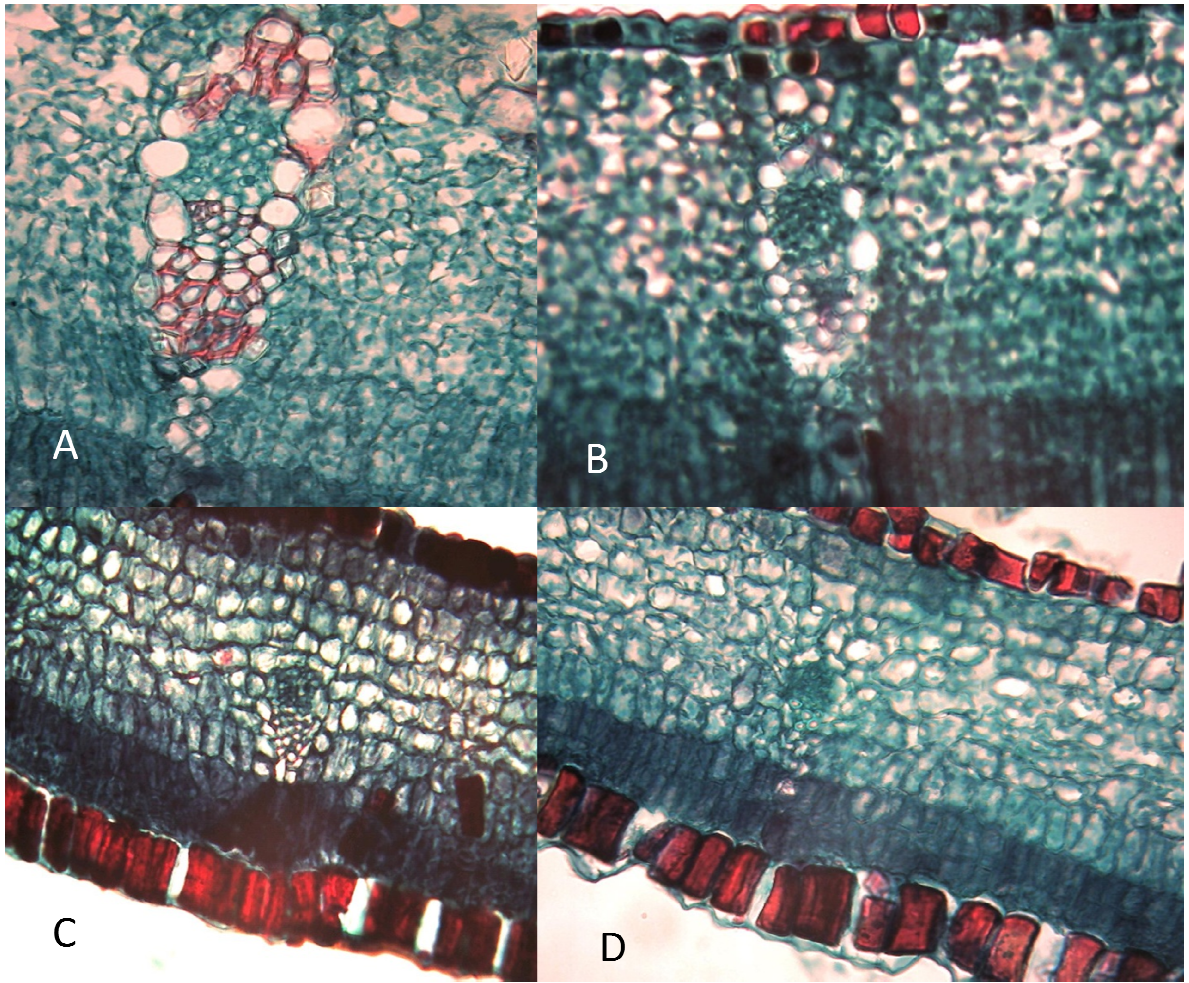


Figura 14. Micrografías de cortes transversales de foliolos de *Ceratonia siliqua* L. vistos a 40x, donde se observan haces vasculares colaterales A y B foliolo maduro, C y D foliolo inmaduro; izquierda femeninos y derecha masculinos.

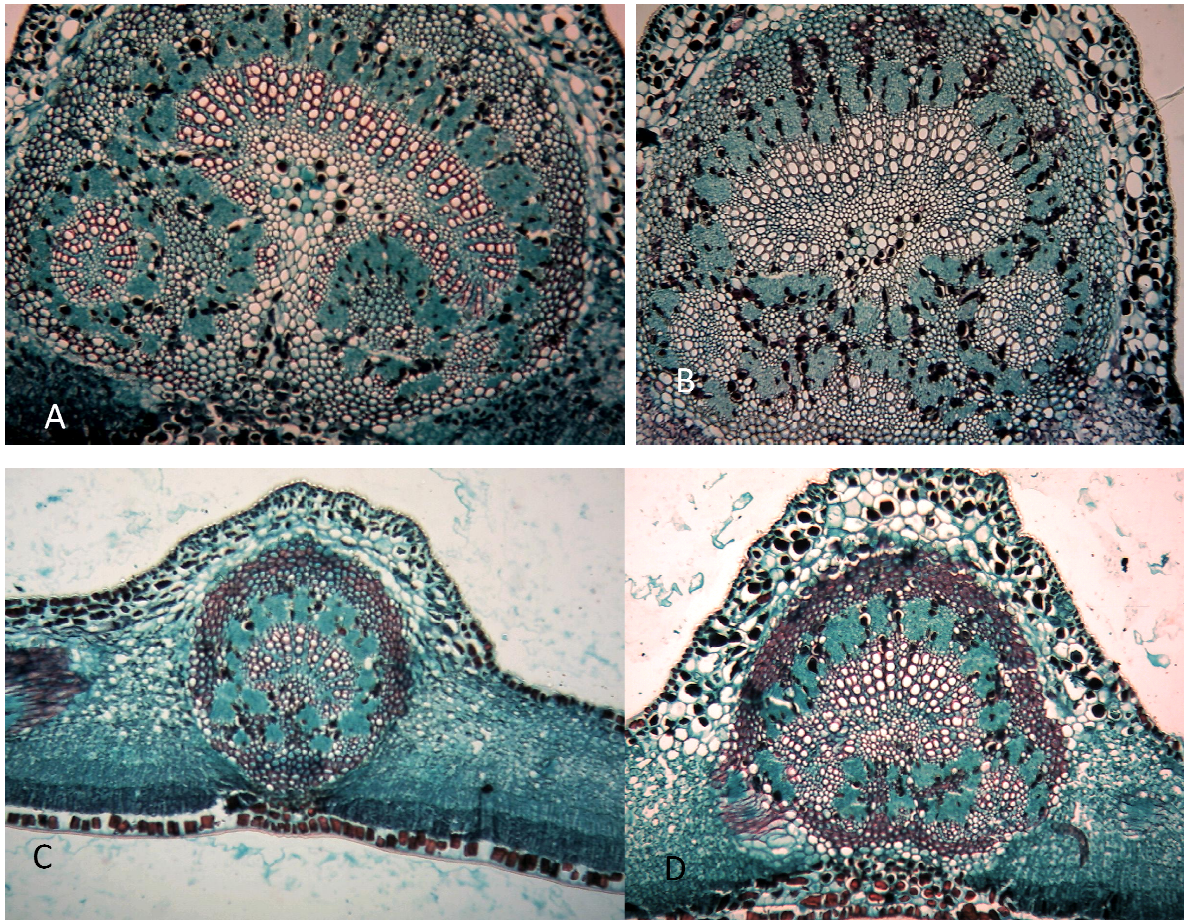


Figura 15. Micrografías de cortes transversales de folíolos maduros de *Ceratonia siliqua* L. donde se observa a 40x la nervadura central, A y B parte basal, C y D parte media; izquierda femeninos y derecha masculinos.

CONCLUSIONES

Los cortes histológicos de folíolos de *Ceratonia siliqua L.* femeninos y masculinos presentan variaciones en sus tejidos; la principal diferencia se presentó en el parénquima empalizada el cual presentó diferencia altamente significativa entre folíolos de diferentes sexos, en el grosor para folíolos femeninos se observaron tres estratos del tejido.

El parénquima esponjoso no presentó diferencia significativa por sexos y al comparar medias fueron estadísticamente iguales en la parte apical, media y basal.

El grosor del floema completo en la nervadura central presenta diferencia altamente significativa por sexos presentándose más desarrollado en los folíolos masculinos en la parte basal, la prueba de comparación de medias de Tukey dio como resultado que la parte media y basal fueron estadísticamente iguales.

El grosor del limbo resultó mayor para los folíolos femeninos, la comparación entre medias no arrojó diferencia significativa; la comparación entre la parte basal y media resultó estadísticamente igual.

El diámetro del vaso mayor del xilema presentó diferencia significativa entre sexos. Los folíolos masculinos presentan vasos más grandes en la parte basal y sus medias a nivel apical, medio y basal estadísticamente son diferentes. Los folíolos inmaduros presentan diferencia la parte basal con respecto a la apical, pero la parte basal y la parte media son estadísticamente iguales.

El diámetro del vaso menor del xilema no presentó diferencia significativa entre sexos, mientras que en la comparación de medias en folíolos maduros la parte apical, media y basal presentan diferencias; en folíolos inmaduros se

encontró diferencia en la parte basal y apical, pero la parte media y la apical estadísticamente son iguales.

Se detectaron cristales de oxalato y en forma de drusa en la nervadura central y en el mesofilo; los cuales fueron más abundantes en folíolos femeninos que en los masculinos.

Las diferencias en folíolos maduros e inmaduros de plantas masculinas y femeninas de *Ceratonia siliqua L.* podrían ser el resultado de las adaptaciones al medio en el cual se desarrollan, como elevadas temperaturas, suelo con pocos nutrientes y agua escasa, presentando sus folíolos cierto grado de plasticidad.

LITERATURA CITADA.

Aston, M. J. y D.W.Lawlor. 1979. The relationship between transpiration, root wáter uptake and leaf wáter potential. J. Exp. Bot. 30: 169-181.

Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. Advances Genet. 13: 115 - 155.

Carlquist, S. 1988. Near-vessellessness in Ephedra and its significance. Amer.J. Bot. 79:660-672.

Cazabonne, C. 2008. [En línea] El Algarrobo (*Ceratonia Siliqua* L.) [Fecha de consulta: junio del 2010] Disponible en: <
http://www.freshplaza.es/news_detail.asp?id=9252>

Daris Olms, M. 1964. Cultivo del Algarrobo. Editorial Sintes. Barcelona. 170pp.

Esau, K. 1997. Anatomy of Seed Plants, John Wiley & Sons. E.U.A. 550 pp.

Estrada C. E. y Martínez A. 2004. Los Géneros de Leguminosas del Norte de México. Brit press. Sida Botanical Mycellany, No. 25. 28 -31pp.

Estrada C.E. y Marroquín de la F, J. 1992. Leguminosas en el Centro – Sur de Nuevo León. Reporte Científico Número Especial 10. Facultad de Ciencias – forestales. U. A. N. L. 15 – 16 pp.

Fahn, A. 1978. Anatomía Vegetal. H. Blume Ediciones. Madrid. 643pp.

Franceschi, V. and H. Horner. 1980. Calcium oxalate crystals in plants. Bot. Rew. 46:361 – 427.

Gaviño de la Torre G., Juárez López C., Figueroa Tapia H. 1979. Técnicas Biológicas Selectas de Laboratorio y de Campo. Editorial Limusa México. pp. 57-79.

Gibson, A.C. 1996. Structure- function relations of warm desert plants. Springer-Verlag. Heidelberg. 215 pp.

Gibson, A.C. y P.S. Nobel. 1986. The cactus primer. Harvard University Press. Cambridge, Mass. 286 pp.

Gil de R, I. 1998. Reflexiones sobre el Algarrobo. Revista Tarjeta Naranja. [Fecha de consulta: Junio del 2010] Disponible en: <<http://www.oni.escuelas.edu.ar/olimpi98/Algarrobo/p19ae.htm>>

INEGI.1995. Ubicación Geográfica. [Fecha de consulta: junio 2010] Disponible en: < http://www.ni.gob.mx/?P=ubicacion_geografica >

INEGI. 2007. Anuario Estadístico. Nuevo León. [En línea] Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. [Fecha de consulta: junio de 2008] Disponible en:

<http://www.inwgi.gob.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/Aee07/inf/nln/c19_01.xls>

Johansen, D. A.1940. Plant Microtechnique. Mc Grawll Hill Book Company. E.U.A. 523 pp.

Kostman, T. and V. Franceschi. 2000. Cell and calcium oxalate crystals growth is coordinate to archiver high – capacity calcium regulation in plants. *Protoplasma* 214: 166 – 179.

Kuiper, P.J.C. 1963. Citado por Zelitch, I. (1963) en *Stomata and Water Relations in Plants*. The Connecticut Agricultural Experiment Station. E.U.A. 116 pp.

Mauseth, J. D. y J. Plemons-Rodriguez. 1998. Evolution of extreme xeromorphic characters in wood: a study of nine evolutionary lines in Cactaceae. *Amer. J. Bot.* 85:209-218

Metcalf, C. 1979. The left: general topography and ontogeny of the tissues. In Metcalfe, C. and L. Chalk (Eds.). *Anatomy of the dicotyledons*. Vol. I. 2nd ed. Clarendon Press. Oxford. p: 63 – 75.

Meusell, H.W. 1963. Citado por Zelitch, I. (1963) en *Stomata and Water Relations in Plants*. The Connecticut Agricultural Experiment Station. E.U.A. 550 pp.

Natural Resource Conservation Service. *Ceratonia siliqua* L.[En línea] United States Department of Agriculture. [Fecha de consulta: junio del 2010] Disponible en: < <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=CESI3> >

Nobel, P.S. 1991. *Physicochemical and environmental plant physiology*. Academic Press. San Diego. 635 pp.

Pyykkö, M. 1966. The left anatomy of east Patagonia xeromorphic plants. *Ann. Bot. Fenn.* 3:453 – 662.

Rodríguez-Martínez, J.F. 2010. *Comunicación personal*. Departamento de Botánica. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México.

Roth, 1992. Left structure: coastal vegetation and mangroves of Venezuela. Gebr. Borntraeger, Berlin, Germany. 172 p.

Schlichting, C. 2002. Phenotypic plasticity in plants. *Pl. Spec. Biol.* 17: 85 – 88.

Solereder, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. Vol. I y II. Clarendon Press. Oxford. 1183 p.

Spina, P. 1989. El Algarrobo. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid. 155 pp.

Sultan, S. 1995. Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Botanica Neerl.* 44: 363 – 383.

Yang, S. y M. T. Tyree. 1992. A theoretical model of hydraulic conductivity recovery from embolism with comparison to experimental data on *Acer saccharum*. *Plant cell Environ.* 15: 633-643.

APÉNDICE

APÉNDICE 1. Técnica Histológica utilizada en la elaboración de preparaciones permanentes de cortes transversales de folíolos de *Ceratonia siliqua L.*

1. Fijación.

Este paso tiene la finalidad de asegurar la muerte y preservación de los tejidos manteniendo sus estructuras originales. Las muestras permanecieron en este líquido por 13 días (figura 1) la formula fue descrita por Gaviño *et al* (1979).

Fijador FAA.

Alcohol 96°.....50 cc
Formol comercial.....100 cc
Ácido Acético Glacial...5 cc
Agua destilada.....35 cc



Figura 1. Muestras de folíolos de *Ceratonia siliqua L.* izquierda; en fijador de FAA derecha.

2. Deshidratación.

Ya fijado el material se deshidrata de acuerdo a la metodología de Johansen (1940). Con las modificaciones adaptadas de la T. A. Angélica Martínez Ortiz (2010). (figura 17).

La deshidratación consiste en dos etapas:

- a) Primera etapa; consiste en la inmersión de las muestras en soluciones de alcohol etílico al 70%, 80%, 96% + eosina (con la finalidad de resaltar las estructuras transparentes), 96%, 100%; mediante el proceso de decantación, en un lapso de 1 hora para cada cambio de alcohol, al llegar al alcohol del 100%, permanecen ahí hasta el día siguiente (figura 2).



Figura 2. Muestras de *Ceratonia siliqua* L. en alcohol y eosina.

- b) Segunda etapa; nuevamente por decantación y por un lapso de 2 horas en cada concentración se sumergen en alcohol absoluto + xilol en proporciones 3:1, 1:1, 1:3 y xilol puro, permaneciendo ahí indefinidamente.

Inclusión en Parafina.

- a) Primera etapa. Se colocaron las muestras en la estufa a 35°C (figura 3).



Figura 3. Estufa bacteriológica a 35°C.

A las muestras en xilol puro se incorporan escamas de parafina histológica Merck (figura 4).

Los frascos abiertos se llevan a la estufa por un lapso de 4 horas (figura 5).



Figura 4. Muestras de *Ceratonia siliqua* L.



Figura 5. Muestras de *Ceratonia siliqua* L. en xilol y parafina histológica.

Transcurrido el tiempo, se incorporan más escamas de parafina a una temperatura de 45°C en un lapso de 2 horas con la finalidad de que el xilol se evapore y la parafina vaya penetrando en los tejidos.

A una temperatura de 55°C las muestras se cambian a cápsulas de porcelana y se les incorporan más escamas de parafina quedándose así por el resto del día y estando listas para la inclusión al día siguiente (figura 6).



Figura 6. Muestras de *Ceratonía siliqua* L. en cápsulas de porcelana y parafina histológica listas para la segunda etapa.

- b) La segunda etapa; consiste en la orientación de las muestras en los moldes de aluminio para formar bloques de parafina para lo cual se elaboraron pequeños moldes rectangulares de aluminio de 5 por 7 cm se colocaron en cajas Petri con un poco de agua (para ayudar a solidificar la parafina); enseguida se colocan los moldes de aluminio y se incorpora la parafina para formar una pequeña capa sólida en el fondo, se coloca la etiqueta indicando el nombre a lápiz, en un borde del molde y se sopletea con la ayuda de un mechero Bunsen para evitar que se endurezca la parte de arriba de la parafina (figura 7).



Figura 7. Moldes de aluminio listos para la inclusión en parafina histológica.

Se colocan las muestras con la ayuda de una aguja de disección orientándolas transversalmente y se continúa sopleteando por las orillas para evitar la formación de burbujas (Figura 8).



Figura 8. Muestras de *Ceratonia siliqua L.* orientadas para el corte transversal.

Se dejó reposar hasta que se solidificaran, formando bloques uniformes de parafina.

Durante todo el proceso se utilizó el mechero Bunsen y un soplete, para evitar burbujas y la solidificación de la parafina.

3. Corte

De los bloques obtenidos en el paso atrás se obtienen torres y se montan en la platina del micrótopo asegurándose de que queden bien fijas (figura 9).



Figura 9. Torre de parafina con las muestras de *Ceratonia siliqua L.* montada en la platina de micrótopo.

4. Microtomía

Con un micrótopo rotatorio American Optical modelo 820 ajustado a cortes de 15 μm de grosor, se obtienen cortes transversales (figura10).



Figura10. Micrótopo rotatorio utilizado para obtener los cortes transversales de *Ceratonia siliqua L.*

Los cortes se extienden en un portaobjetos con vaho, adhesivo de Haupt y una gota de formalina, calentándolos al mechero antes de colocar la muestra; para fijar los cortes (figura 11). Una vez extendidas las cintas de los cortes, se retiró el exceso de la formalina absorbiéndola con una franela y eliminando todo el contenido de humedad de los cortes, la muestra se pasa por la flama del mechero y se frota con la mano hasta que quede completamente seca. Las laminillas se dejan secar por 2 ó 3 semanas para evitar el desprendimiento de las muestras en el procedimiento de la tinción.

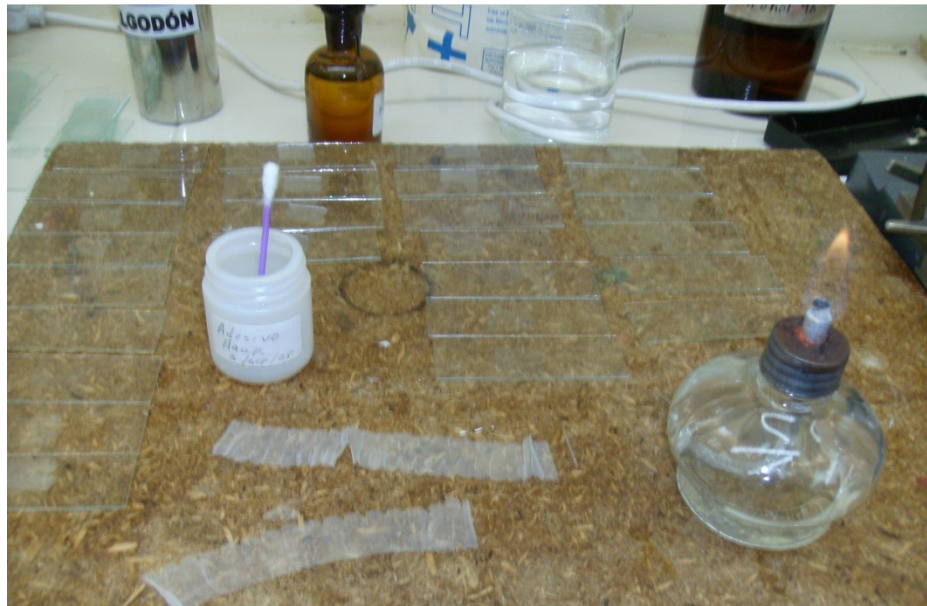


Figura 11. Muestras de las cintas de cortes de *Ceratonia siliqua* L.

5. Tinción

En este procedimiento se utilizó la tinción diferencial Safranina O – Fast Green (Johansen, 1940). La safranina tiñe de rojo las paredes lignificadas, núcleos y taninos condensados, mientras que el Fast Green proporciona un verde azulado a las paredes no lignificadas (figura 18).

Para la desparafinación de las muestras, se colocan las laminillas en una canastilla de inmersión en xilol por 30 minutos, posteriormente se pasaron a frascos con alcohol absoluto, alcohol al 96°, alcohol al 85°, alcohol al 70° y agua destilada, 5 minutos en cada uno y enjuagues en agua destilada (Figura 12).



Figura 12. Canastilla con xilol.

Para la coloración de los cortes se sumergieron en una canastilla con Safranina O al 1% durante 12 horas, posteriormente se sometieron a enjuague de agua corriente, agua destilada, alcohol al 70°, alcohol al 85°, alcohol al 96° (figura 13), hasta llegar al Fast- Green donde se dejaron de 15 a 30 segundos y se enjuagaron en alcohol al 96°, alcohol absoluto I, alcohol absoluto II (figura 14).

Las muestras fueron observadas al microscopio y si los tejidos estaban coloreados, se transfieren a xilol, se retiró el exceso de colorante con algodón y para evitar la deshidratación se sumergieron en xilol.



Figura 13. Canastilla con Safranina O y frascos con alcohol.



Figura 14. Frascos con Fast – Green y alcoholes.

Si falta tiempo para la coloración, se regresan las muestras al Fast Green. Si la coloración es adecuada se sellan con una gota de bálsamo de Canadá y se coloca el cubreobjetos (figura 15). Por último se retira el exceso del bálsamo con trozos de cartulina.

Una vez listas las laminillas se colocaron en la estufa para acelerar el proceso de secado. El exceso del bálsamo se retiró con navajas de un solo filo y se limpiaron con un algodón impregnado con xilol. Al final se etiquetaron y observaron al microscopio (figura 16).



Figura 15. Proceso de sellado con bálsamo de Canadá.

**FOLIOLO FEMENINO MADURO
PARTE BASAL**

**FOLIOLO MASCULINO MADURO
PARTE BASAL**

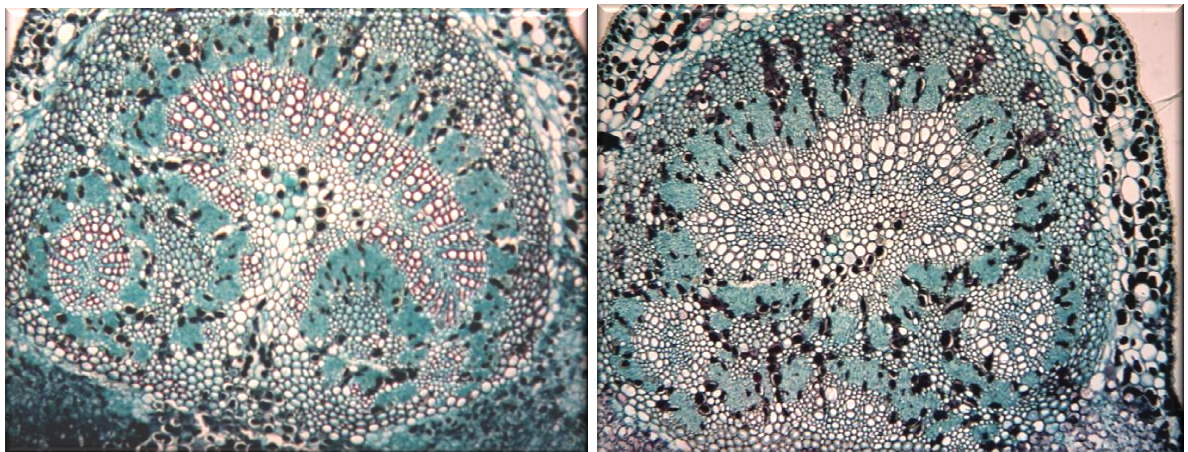


Figura 16. Micrografía de corte transversal de folíolos maduros de *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo) parte basal donde se observan a 10x, en la nervadura central, células de Colénquima (Co), esclerénquima (Es), floema (Fl) y xilema (Xi), presenta dos radios laterales de floema y xilema (R).

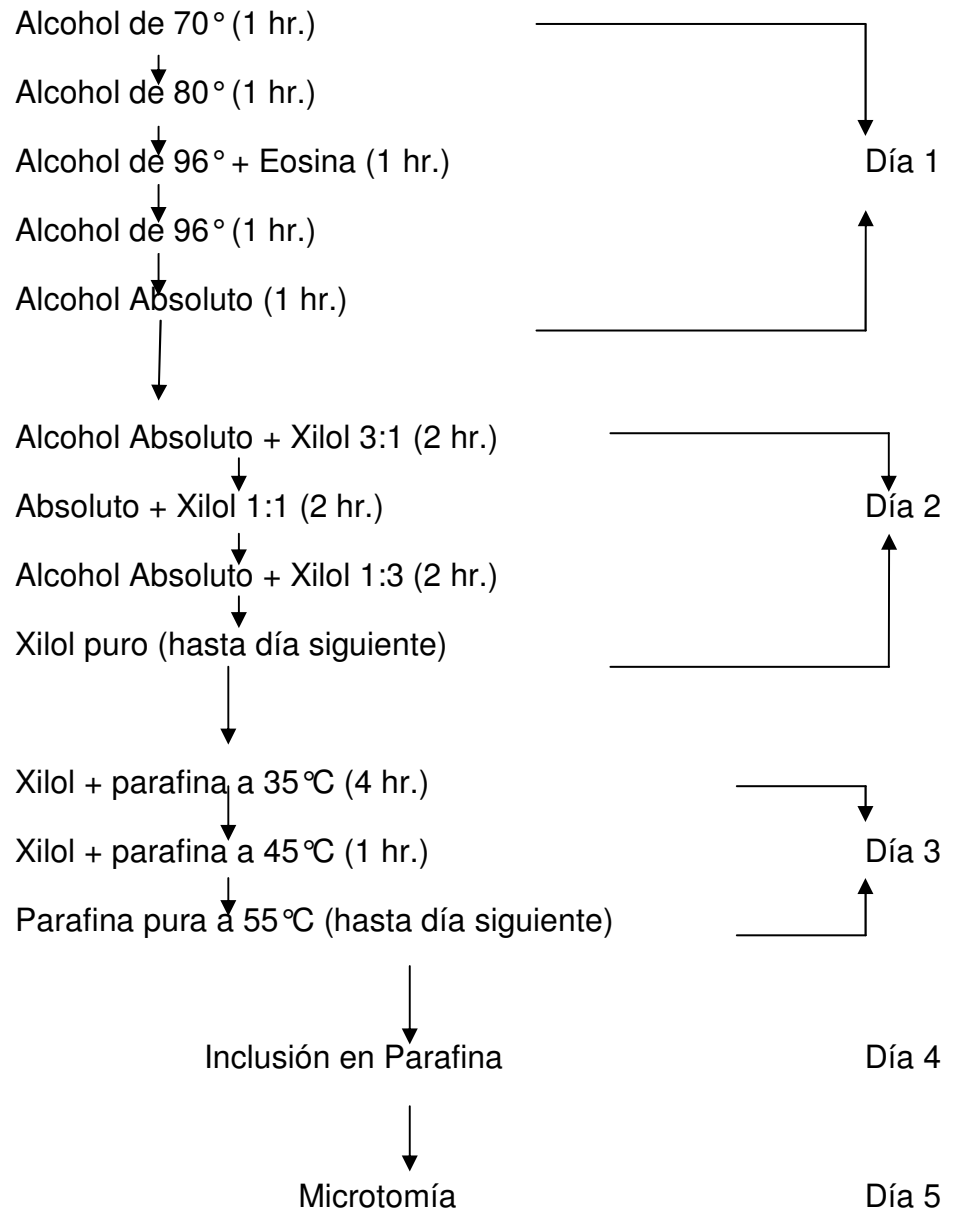


Figura 17. Esquema que representa el protocolo de la deshidratación e inclusión en parafina según la metodología de Johansen (1940), con adaptación al caso particular en el trabajo realizado en laboratorio de Anatomía e Histología de la UAAAN (2010).

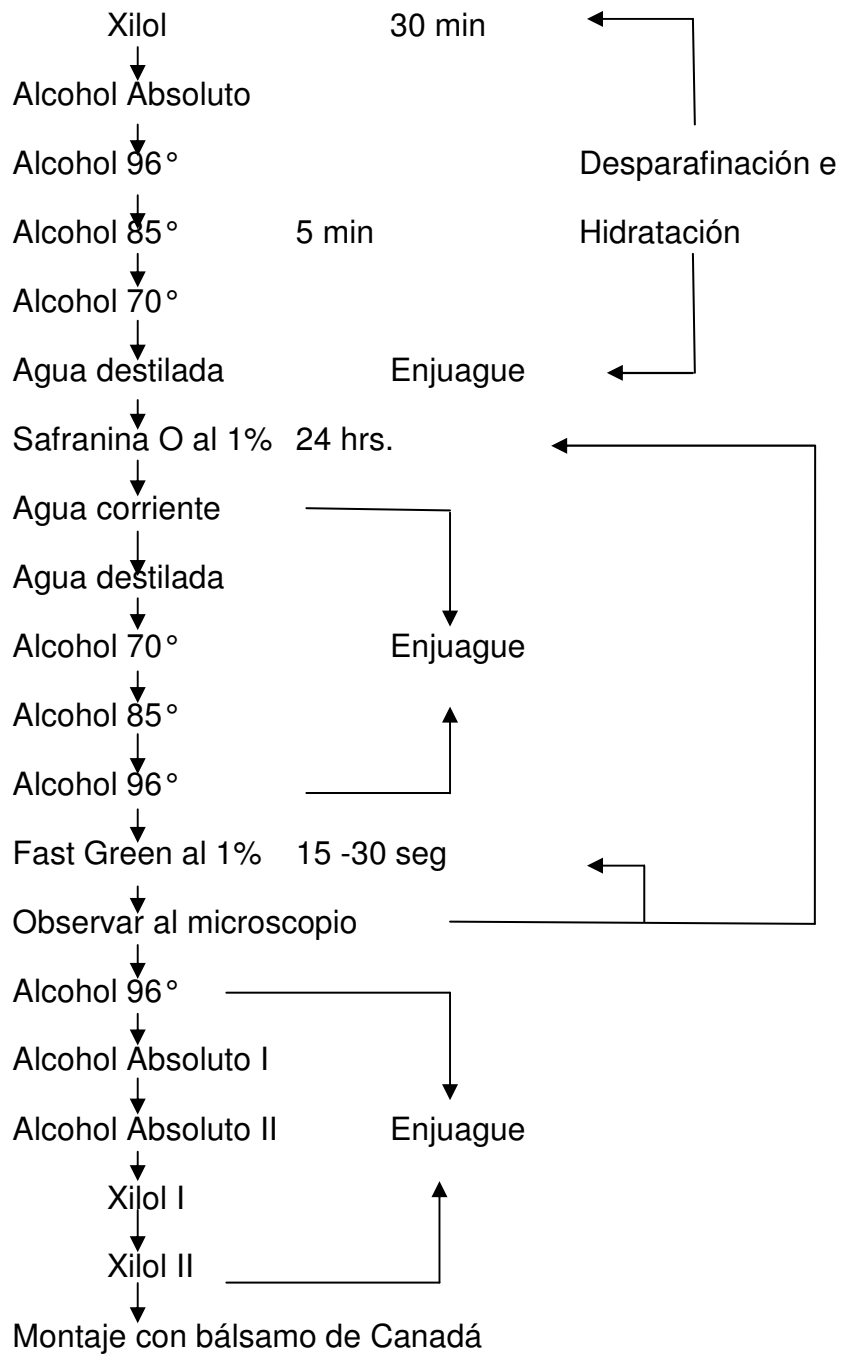


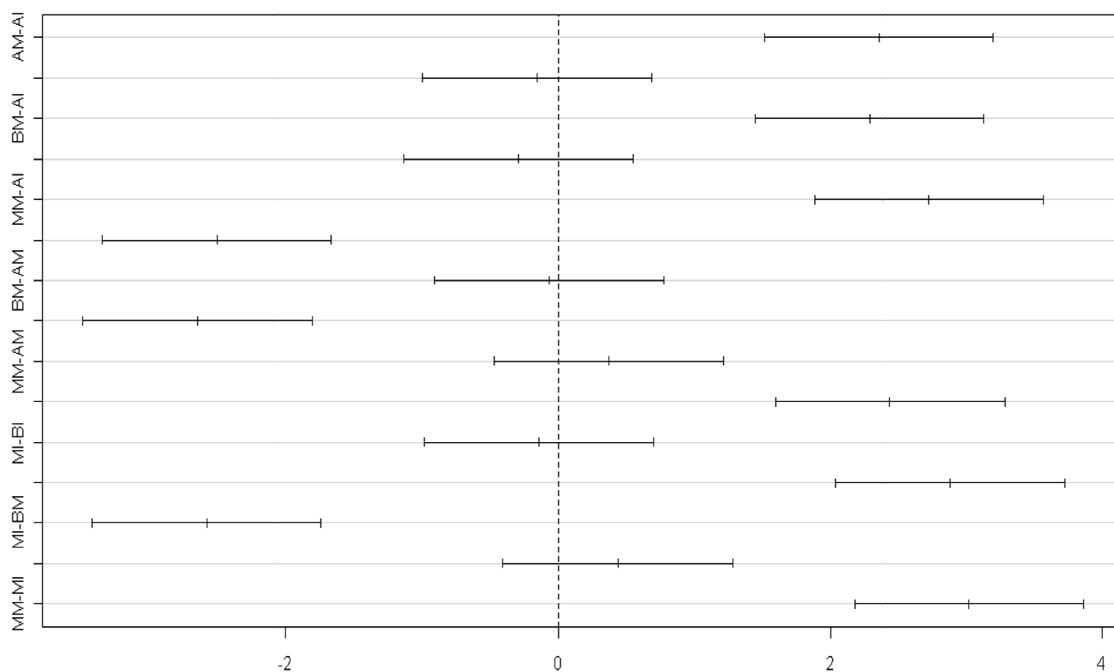
Figura 18. Esquema que representa el proceso de tinción y montaje de Johansen (1940) con adaptación al caso particular en el trabajo realizado en laboratorio de Anatomía e Histología de la UAAAN (2010).

APÉNDICE 2. Comparación de medias prueba de Tukey cuadros y graficas.

Apéndice 2. Cuadro 1. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Espesor del Parénquima en Empalizada (PEmp) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Estadio	Diferencia	Lim. Inf	Lim. Sup	P value
AM-AI	2.355	1.512672	3.197328	0
BI-AI	-0.15333	-0.99566	0.688995	0.993151
BM-AI	2.288333	1.446005	3.130662	1E-07
MI-AI	-0.29333	-1.13566	0.548995	0.892382
MM-AI	2.726667	1.884338	3.568995	0
BI-AM	-2.50833	-3.35066	-1.66601	0
BM-AM	-0.06667	-0.909	0.775662	0.999875
MI-AM	-2.64833	-3.49066	-1.80601	0
MM-AM	0.371667	-0.47066	1.213995	0.757951
BM-BI	2.441667	1.599338	3.283995	0
MI-BI	-0.14	-0.98233	0.702328	0.995512
MM-BI	2.88	2.037672	3.722328	0
MI-BM	-2.58167	-3.424	-1.73934	0
MM-BM	0.438333	-0.404	1.280662	0.613569
MM-MI	3.02	2.177672	3.862328	0

95% Nivel de Confiabilidad



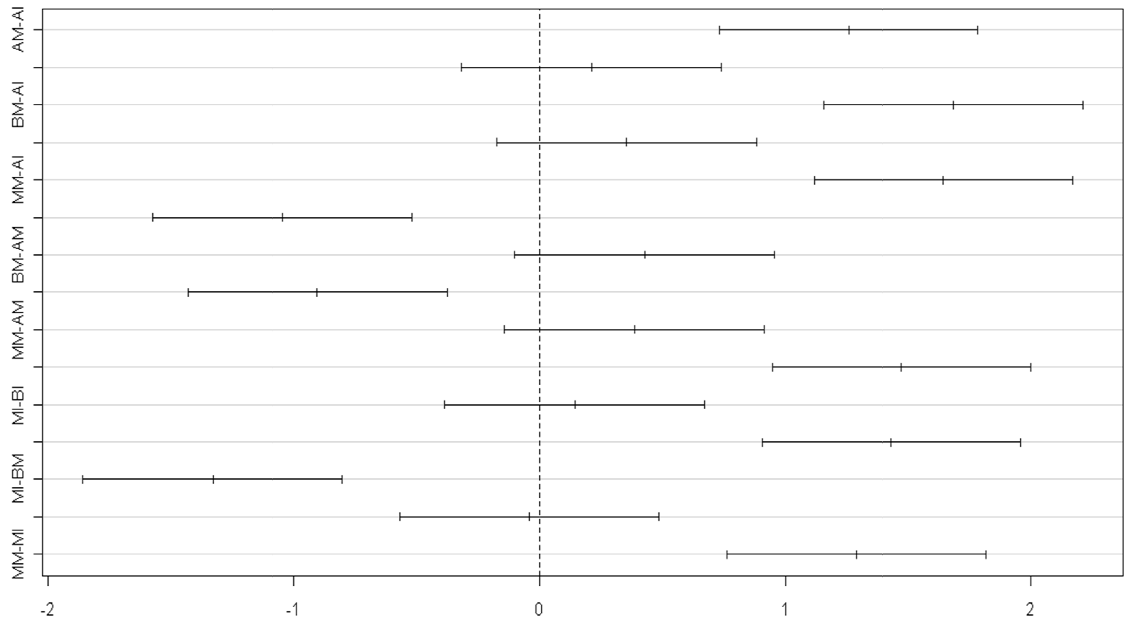
Diferencia en niveles de confianza por Estadio

Apéndice 2. Grafica 1. Comparación de medias por estadio en la variable Espesor del parénquima en empalizada (EPEmp) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Apéndice 2. Cuadro 2. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Espesor del Parénquima Esponjoso (PEEsp) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Estadio	Diferencia	Lim. Inf.	Lim. Sup.	P value
AM-AI	1.258626	0.730642	1.78661	0.0000008
BI-AI	0.211648	-0.31634	0.739632	0.822614
BM-AI	1.685785	1.1578	2.213769	0
MI-AI	0.354431	-0.17355	0.882416	0.3422058
MM-AI	1.644745	1.116761	2.17273	0
BI-AM	-1.04698	-1.57496	-0.51899	0.0000195
BM-AM	0.427158	-0.10083	0.955143	0.1675488
MI-AM	-0.90419	-1.43218	-0.37621	0.0001842
MM-AM	0.386119	-0.14187	0.914104	0.2555344
BM-BI	1.474137	0.946153	2.002121	0
MI-BI	0.142783	-0.3852	0.670768	0.9605368
MM-BI	1.433098	0.905113	1.961082	0.0000001
MI-BM	-1.33135	-1.85934	-0.80337	0.0000003
MM-BM	-0.04104	-0.56902	0.486945	0.9998859
MM-MI	1.290314	0.76233	1.818298	0.0000005

95% Nivel de Confiabilidad



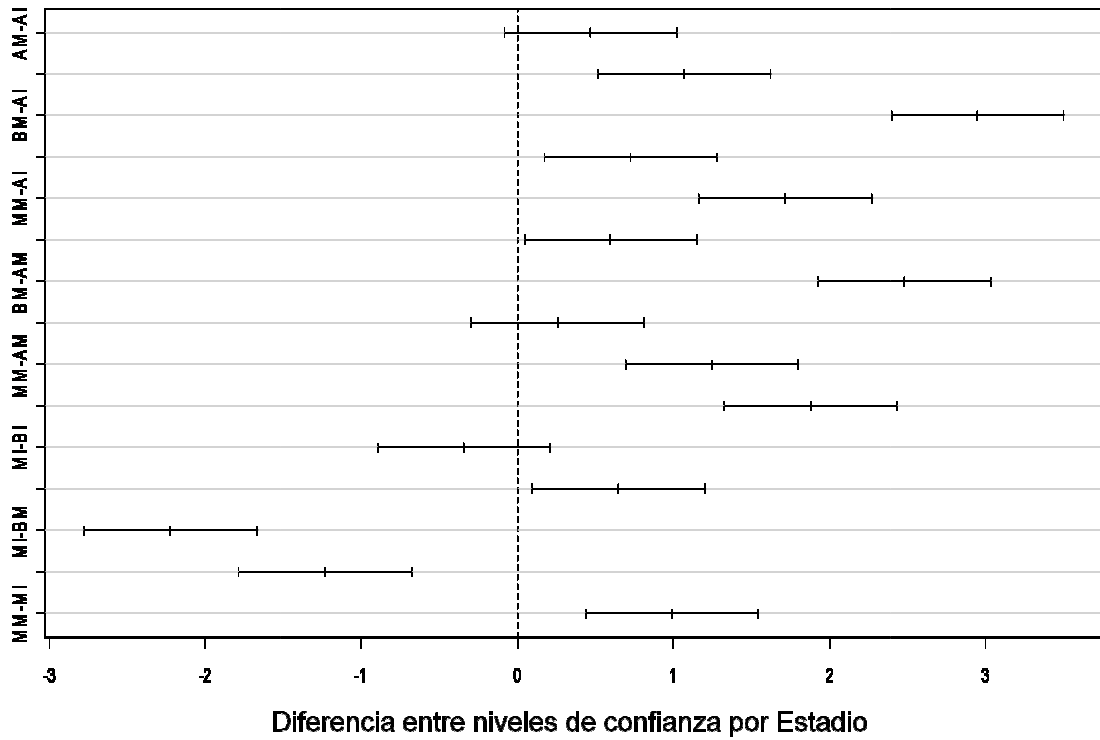
Diferencia en niveles de confianza por Estadio

Apéndice 2. Grafica 2. Comparación de medias por estadio en la variable Espesor del Parénquima Esponjoso (EPEsp) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Apéndice 2. Cuadro 3. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Grosor del Floema Completo (GFC) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Estadio	Diferencia	Lim.Inf.	Lim.Sup.	P value
AM-AI	0.47	-0.08315	1.023146	0.132
BI-AI	1.068333	0.515188	1.621479	2.99E-05
BM-AI	2.948333	2.395188	3.501479	0
MI-AI	0.726667	0.173521	1.279813	0.004812
MM-AI	1.716667	1.163521	2.269813	0
BI-AM	0.598333	0.045188	1.151479	0.028107
BM-AM	2.478333	1.925188	3.031479	0
MI-AM	0.256667	-0.29648	0.809813	0.718194
MM-AM	1.246667	0.693521	1.799813	2.1E-06
BM-BI	1.88	1.326854	2.433146	0
MI-BI	-0.34167	-0.89481	0.211479	0.432124
MM-BI	0.648333	0.095188	1.201479	0.014408
MI-BM	-2.22167	-2.77481	-1.66852	0
MM-BM	-1.23167	-1.78481	-0.67852	2.6E-06
MM-MI	0.99	0.436854	1.543146	9.68E-05

95 % Nivel de Confiabilidad

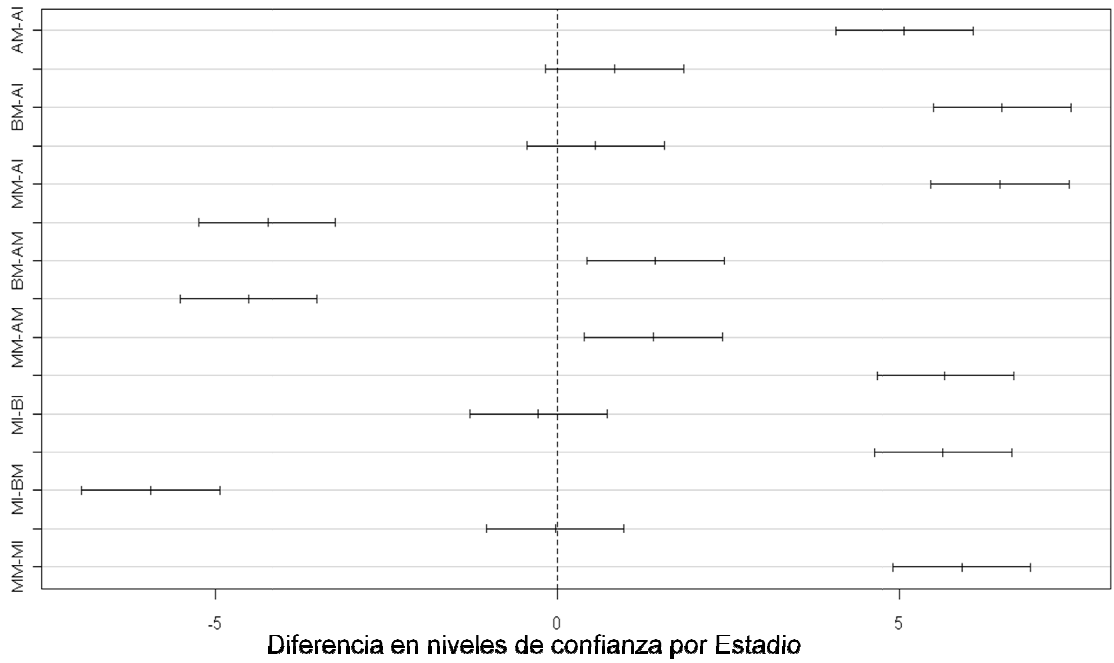


Apéndice 2. Grafica 3. Comparación de medias por estadio en la variable Grosor del Floema (GFC) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L. (algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Apéndice 2. Cuadro 4. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Grosor del Limbo (GLim) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonía siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Estadio	Diferencia	Lim. Inf.	Lim. Sup.	P value
AM-AI	5.071667	4.066781	6.076552	0
BI-AI	0.833333	-0.17155	1.838219	0.148998
BM-AI	6.501667	5.496781	7.506552	0
MI-AI	0.558333	-0.44655	1.563219	0.546547
MM-AI	6.47	5.465114	7.474886	0
BI-AM	-4.23833	-5.24322	-3.23345	0
BM-AM	1.43	0.425114	2.434886	0.002003
MI-AM	-4.51333	-5.51822	-3.50845	0
MM-AM	1.398333	0.393448	2.403219	0.002584
BM-BI	5.668333	4.663448	6.673219	0
MI-BI	-0.275	-1.27989	0.729886	0.95853
MM-BI	5.636667	4.631781	6.641552	0
MI-BM	-5.94333	-6.94822	-4.93845	0
MM-BM	-0.03167	-1.03655	0.973219	0.999999
MM-MI	5.911667	4.906781	6.916552	0

95% Nivel de Confiabilidad

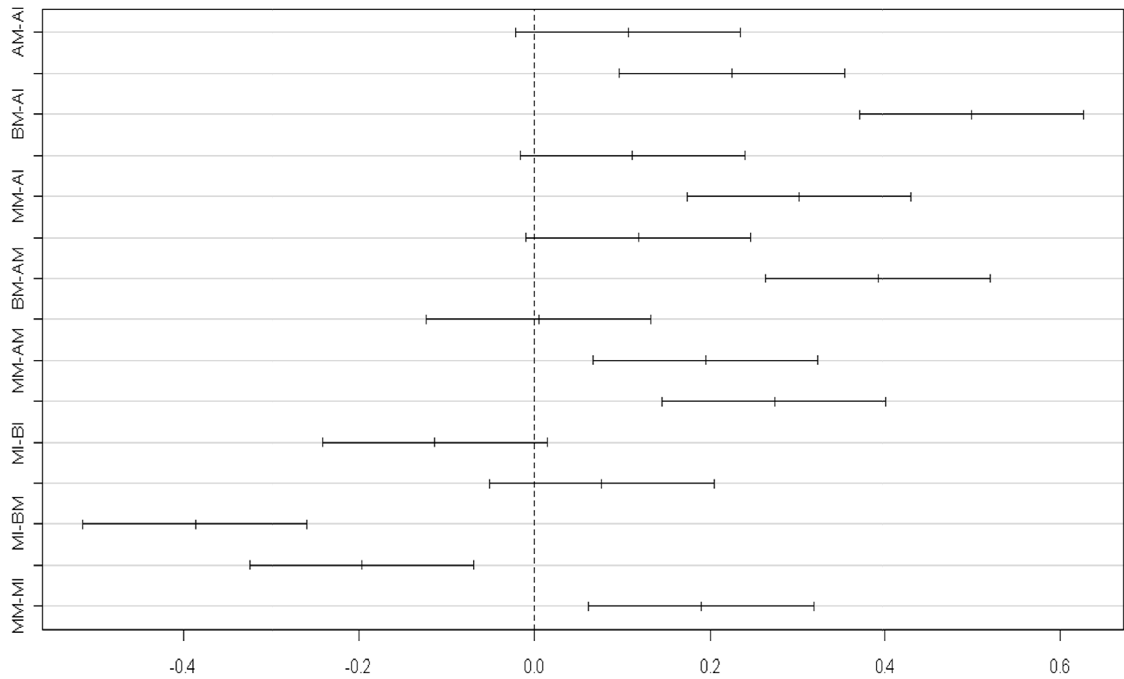


Apéndice 2. Grafica 4. Comparación de medias por estadio en la variable Grosor Limbo (GLim) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Apéndice 2. Cuadro 5. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Diámetro del vaso mayor del xilema (DVXma) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Estadios	Diferencia	Lim. Inf.	Lim. Sup	P value
AM-AI	0.10666667	-0.02137818	0.23471151	0.1457404
BI-AI	0.225	0.09695516	0.35304484	0.000127
BM-AI	0.49833333	0.37028849	0.62637818	0
MI-AI	0.11166667	-0.01637818	0.23971151	0.1151924
MM-AI	0.30166667	0.17362182	0.42971151	0.0000009
BI-AM	0.11833333	-0.00971151	0.24637818	0.0829299
BM-AM	0.39166667	0.26362182	0.51971151	0
MI-AM	0.005	-0.12304484	0.13304484	0.9999962
MM-AM	0.195	0.06695516	0.32304484	0.0008858
BM-BI	0.27333333	0.14528849	0.40137818	0.0000056
MI-BI	-0.11333333	-0.24137818	0.01471151	0.1062718
MM-BI	0.07666667	-0.05137818	0.20471151	0.4661371
MI-BM	-0.38666667	-0.51471151	-0.25862182	0
MM-BM	-0.19666667	-0.32471151	-0.06862182	0.0007959
MM-MI	0.19	0.06195516	0.31804484	0.0012203

95% Nivel de Confiabilidad



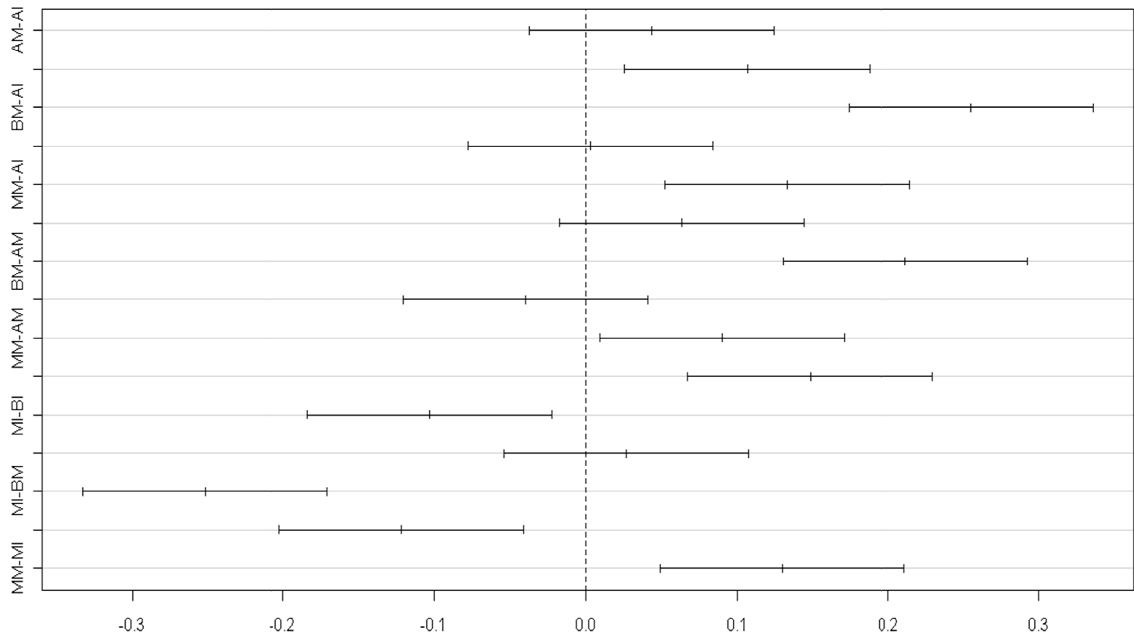
Diferencia en niveles de confianza por Estadio

Apéndice 2. Grafica 5. Comparación de medias por estadio en la variable Diámetro del vaso mayor del xilema (DVX_{ma}) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Apéndice 2. Cuadro 6. Comparación de medias de Tukey por estadios para la variable Diámetro del vaso menor del Xilema (DVXme) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).

Estadios	Diferencia	Lim. Inf.	Lim. Sup	P value
AM-AI	0.0433333	-0.037573	0.1242401	0.5846196
BI-AI	0.1066667	0.0257599	0.1875735	0.0046365
BM-AI	0.255	0.1740932	0.3359068	0
MI-AI	0.0033333	-0.077573	0.0842401	0.9999951
MM-AI	0.1333333	0.0524265	0.2142401	0.000315
BI-AM	0.0633333	-0.017573	0.1442401	0.1942145
BM-AM	0.2116667	0.1307599	0.2925735	0.0000001
MI-AM	-0.04	-0.120907	0.0409068	0.6625745
MM-AM	0.09	0.0090932	0.1709068	0.0224743
BM-BI	0.1483333	0.0674265	0.2292401	0.0000674
MI-BI	0.0010364	-0.18424	-0.022427	0.0064151
MM-BI	0.0004432	-0.05424	0.1075735	0.912582
MI-BM	-0.251667	-0.332573	-0.17076	0
MM-BM	-0.121667	-0.202573	-0.04076	0.0010364
MM-MI	0.13	0.0490932	0.2109068	0.004432

95% Nivel de Confiabilidad



Diferencia en niveles de confianza por Estadío

Apéndice 2. Grafica 6. Comparación de medias por estadio en la variable Diámetro del vaso menor del Xilema (DVXme) a nivel apical, medio y basal en folíolos maduros e inmaduros de plantas del sexo femenino y masculino de *Ceratonia siliqua* L.(algarrobo) (Apical Inmaduro (AI), Apical Maduro (AM), Basal Inmaduro (BI), Basal Maduro (BM), Media Inmadura (MI), Media Madura (MM)).