

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
Departamento de Fitomejoramiento

CONTEO CROMOSÓMICO Y ESTUDIO DE LA SEMILLA DE *Turbinicarpus*
***valdezianus* (Möller) Gl. & F.**

POR

MARÍA DOLORES SÁNCHEZ RUIZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

Ingeniero Agrónomo Fitotecnista

Comité particular

Asesor Principal

Dr. Manuel Humberto Reyes Valdés

Sinodal

Sinodal

Biól. M.C. Francisca Ramírez Godina

Ing. M.C. Leticia Alejandra Bustamante
García

Coordinador de la División de Agronomía

Ing. M.C. Mariano Flores Dávila

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Septiembre de 1998.

DEDICATORIA

A DIOS NUESTRO SEÑOR:

Por haberme concedido el privilegio de la vida y por permitirme terminar una etapa más de mi vida.

A MIS PADRES: MARCELINA RUIZ Y ABEL SÁNCHEZ:

Por ser mis incansables guías, por darme todo sin esperar nada a cambio y por el gran esfuerzo y dedicación que han puesto en mi formación.

A MIS HERMANOS: ABEL, MARGARITA, J. LUIS, MARISOL,
ABDIAS, ASAEL, M. ANTONIO Y
OLGA L..

Por formar parte de nuestra
hermosa familia y por todo su
apoyo.

A JUAN CARLOS RAMÍREZ:

Por su constante e incansable
ayuda.

AGRADECIMIENTOS

Con respeto al Dr. Humberto Reyes Valdés, quien mostró siempre buena disponibilidad y amplios conocimientos que hicieron posible el presente trabajo.

A la M.C. Leticia A. Bustamante García, por su apoyo en el laboratorio de Tecnología de Semillas, y por sus observaciones en la revisión de esta tesis.

A la Biol. M.C. Francisca Ramírez Godina, por su valiosa colaboración en los trabajos realizados en el laboratorio de Citogenética y la revisión de éste trabajo.

A la Lic. Martha Gómez Martínez, por su eficaz colaboración en los trabajos realizados en el laboratorio de Análisis de Genomas Vegetales.

A la T.Q.L. Norma Leticia Portos Gaona, por su auxilio en el trabajo realizado en el laboratorio de Citogenética.

A la T.Q.L. Sandra Luz García Valdéz, por su colaboración en el laboratorio de Tecnología de Semillas.

Al Sr. Antonio Flores Delgado, por su valiosa ayuda en los trabajos de campo.

Al Dr. Alfredo Flores Valdés, por habernos proporcionado las semillas de *T. valdezianus* usados en este trabajo

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pag.
ÍNDICE DE CUADROS	i
.....	
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
.....	
RESUMEN	iii
.....	
INTRODUCCIÓN	1
.....	
REVISIÓN DE LITERATURA	4
.....	
Clasificación taxonómica	4
.....	
Descripción botánica de <i>Turbinicarpus</i>	5
.....	
Importancia de estudios cromosómicos	8
.....	
Semilla: morfología y germinación	11
.....	
Morfología de la semilla	11
.....	
Partes de una semilla madura	11
.....	
Latencia en semillas	15
.....	
Métodos para romper la latencia	17

..	Descripción del proceso de germinación	19
....	Distribución espacial de los individuos	20
.....	MATERIALES Y MÉTODOS	23
.....	Descripción geográfica del área de estudio	23
....	Preparación de cromosomas metafásicos	23
..	Promoción de la germinación	26
....	Estudio morfológico de la semilla	29
.....	Muestreo poblacional	33
....	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
.....	CONCLUSIONES	46
.....	LITERATURA CITADA	47
.....	ANEXOS	52
....		

ÍNDICE DE CUADROS

	pag.
4.1. Resultados de germinación de semilla con los diferentes tratamientos.	37
4.2. Frecuencias observadas y esperadas de individuos en el área total de estudio, dividida en cuadros de 4 m X 4 m	41
4.3. Frecuencias observadas y esperadas de individuos en una subárea de X:16 m-28 m; Y:12 m-16 m, dividida en cuadrantes de 1 m X 1 m.	42
4.4. Frecuencias observadas y esperadas en individuos en una subárea de X:16 m-28 m; Y:12 m-16 m, dividida en cuadrantes de 0.5mX0.5m	43
4.5. Frecuencias observadas y esperadas en individuos en una subárea de X:21 m-26 m; Y:12 m-16 m, dividida en cuadrantes de 0.2 mX0.2m	44

ÍNDICE DE FIGURAS

	pag.
2.1. Fotografía de una planta de <i>Turbinicarpus valdezianus</i> en el municipio de Ramos Arizpe, Coahuila.	6
3.1. Ubicación geográfica del área de estudio.	24
4.1. Cromosomas metafásicos de <i>T. valdezianus</i> y morfología de granos de polen.	39
4.2. Morfología de la semilla.	40
4.3. Croquis de la distribución espacial de <i>T. valdezianus</i> en el municipio de Ramos Arizpe, Coahuila.	45

RESUMEN

Turbinicarpus valdezianus es una especie amenazada de cactáceas, cuya localidad tipo es Saltillo, Coahuila. La información sobre su biología es escasa en la literatura científica. Aún cuando dicho conocimiento puede ser útil para su preservación y su posible utilización. Además, su estudio es una contribución al entendimiento de la amplia familia Cactaceae.

El conocimiento del número cromosómico de la especie provee de información básica, que puede ser utilizada para su plena identificación y ubicación taxonómica. Después de un análisis citogenético se determinó que la especie cuenta con un número cromosómico $2n=22$.

El estudio de las semillas de *T. valdezianus* se hizo con el fin de conocer sus requerimientos para la germinación, así como sus características anatómicas y morfológicas. Esto nos sirve de apoyo al entendimiento de la dinámica poblacional, así como para reducir el obstáculo en la propagación y preservación de la especie.

La germinación de la semilla fue baja, debido a que presenta latencia mecánica (cubiertas duras) y latencia de postcosecha (algunas semillas no germinarán si no han pasado por un período de almacenamiento en seco). Algunas pruebas de preacondicionamiento indicaron que el tratar la semilla con ácido sulfúrico más ácido giberélico, promueve su germinación hasta un 80 por ciento; al utilizar estos dos tratamientos en la semilla, se apoya la existencia de una latencia doble.

El análisis morfológico de la semilla indica que sus principales características son: superficie coliculada, aspecto opaco, color negro, ápice truncado, con una forma globosa y con el contorno en forma de espátula ancha (en el ápice estrecha y la base ancha); posee un rafe lateral, el hilio lo presenta en el ápice y es hundido de un color café cremoso, con una consistencia esponjosa y de forma irregular tipo carúncula, dentro del hilio se encuentra el micrópilo bien diferenciado y en forma opuesta al rafe y mide un promedio de 0.97 mm de ancho por 1.29 mm de largo. En el interior de la semilla se apreciaron las siguientes estructuras: endotesta, radícula, embrión y cotiledones. La semilla es lisa, pesada y sin estructuras que le permitan propagarse a distancia. Una vez que madura la baya, las semillas se desprenden y caen junto a su planta madre, lo cual puede

provocar que la distribución sea amontonada o en manchones. Esto último se probó por medio de un estudio de distribución espacial, la cual, se demostró en este trabajo que es amontonada o contagiosa. Puede sugerirse que las poblaciones de la especie presentan densidades moderadamente altas, pero a su vez las poblaciones tienen una distribución geográfica restringida, que probablemente sea atribuible al tipo de reproducción y requerimientos ambientales.

INTRODUCCIÓN

Las cactáceas son autóctonas del continente Americano, donde se encuentran distribuidas especialmente en las regiones áridas y semiáridas. Esta familia con cerca de 2000 especies, está constituida por 125 géneros aproximadamente, agrupados en tribus o subfamilias que son: Pereskioideae, Opuntioideae y Ceroideae.

México, por sus peculiares condiciones de latitud, topografía y clima, es el país que alberga posiblemente la mayor cantidad de especies de cactáceas, con un número estimado de 800. Es un país privilegiado en cuanto a sus recursos naturales y con una gran variedad de climas y suelos, por lo cual cuenta con gran diversidad en su germoplasma silvestre, y una alta tasa de endemismo dentro de la familia Cactaceae. En el estado de Coahuila se puede encontrar una gran variedad de especies de la familia Cactaceae porque forma parte de la vegetación xerófila, la cual cubre aproximadamente 151,578.37 km² (García, 1993).

En las últimas décadas se ha incrementado el interés en muchas de las especies de cactáceas, para su utilización comercial, industrial, de ornato y consumo humano, por otro lado estas plantas forman parte de la historia y el folklore de nuestro país.

En México, Centroamérica y Sudamérica, algunas especies son cultivadas como alimento, especialmente plantas del género *Opuntia* del cual pueden explotarse sus cladodios o nopalitos para consumo fresco así como su fruto, es decir la tuna. También puede hacerse vino y dulce de el fruto del nopal; otras especies del mismo género son usadas como forraje. Los esqueletos de cactus gigantes como los saguaros son fuente de madera con la que se pueden fabricar muebles livianos debido a su consistencia fibrosa. También se pueden extraer aceites de algunas especies que han sido utilizadas en la fabricación de cosméticos. En la medicina las cactáceas han tenido una amplia aplicación desde tiempos prehispánicos y aunque en gran magnitud las plantas medicinales han sido desplazadas por los medicamentos químicos modernos, existen actualmente algunas especies de cactáceas con gran prestigio en la medicina natural homeopática; entre estas cactáceas *Lophophora williamsii*, comúnmente llamada peyote, contiene una gran cantidad de alcaloides. Sus usos varían,

algunas civilizaciones lo usaban como alucinógeno, otras como medicamento y hasta como parte de rituales en actos ceremoniales.

Como plantas ornamentales, las cactáceas son muy apreciadas. Son recolectadas de sus sitios originales y ampliamente cultivadas en todo el mundo, tanto por sus formas caprichosas y sus flores a menudo vistosas, como por su resistencia a condiciones ambientales adversas, una vez establecidas. Su comercialización es grande tanto en diversidad como en cantidad, ya sean deshidratadas o vivas; tal es el caso de opuntias cilíndricas vivas usadas en arreglos florales. Los géneros utilizados más comúnmente son: *Cereus*, *Echinocereus*, *Mammillaria*, *Opuntia*, etc (Canizo, 1972).

Dentro de las especies consideradas como amenazadas en la norma oficial vigente (NOM-059-ECOL-1994), se sitúa una pequeña cactácea denominada *Turbinicarpus valdezianus*, especie cuya localidad tipo es Saltillo, Coahuila. La información sobre su genética, dinámica poblacional y las características de su semilla es prácticamente nula en la literatura científica. El conocimiento de la biología de esta especie puede ser de gran utilidad para su preservación y su posible utilización. Además, su estudio es una contribución al entendimiento de la intrigante familia Cactaceae.

Objetivos

- a) Conocer el número cromosómico de *Turbinicarpus valdezianus*.
- b) Determinar un tratamiento para promover la germinación de su semilla.
- c) Determinar la morfología interna y externa de la semilla.
- d) Conocer el patrón de distribución espacial de la especie.

Justificación

Conocer el número de cromosomas que contiene esta especie nos proveerá de información básica, que puede ser utilizada para su ubicación taxonómica. Saber como romper la latencia en la semilla nos reduce un obstáculo en la propagación y preservación de la especie. Conocer la morfología de las semillas nos es útil para hacer determinaciones taxonómicas. El conocer la forma de distribución de la población ayuda a conocer sus requerimientos ecológicos, los factores que la afectan y las necesidades de manejo de dicha especie.

REVISIÓN DE LITERATURA

Clasificación taxonómica

Bravo (1978) menciona que la apreciación y el arreglo de los grupos taxonómicos que deben integrar a la familia Cactaceae, varían de acuerdo al criterio de cada taxónomo, lo que ha originado numerosos sistemas. Tales divergencias se deben a causas como: diversidad de parámetros morfológicos, cantidad de formas y transición, formación de híbridos, constantes descubrimientos de nuevas especies, falta de material de herbario consultable, anarquía de la sinonimia y carencia de registro fósil.

Bravo (1937) menciona que los principales sistemas propuestos han sido los de Candolle (1828) y Backeberg y Buxbaum (1958). Algunos de sistemas como los de Foster (1846) y Schumann (1903) citados por Bravo (1978) comprenden pocos géneros, otros sistemas como el de Britton y Rose (1963) y Backeberg (1958) citados por Bravo (1978) multiplican el número de taxa.

Bravo (1978) sigue en general el sistema de clasificación de Buxbaum (1958), principalmente porque dicho sistema está basado en hipótesis de índole filogenético, por lo que Bravo (1978) hace la siguiente clasificación para *Turbincarpus*:

Clase: Magnoliopsida (Dicotiledoneae)

Orden: Cactales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Cereoideae

Tribu: Echinocactinae

Subtribu: Thelocactinea

Línea B: Stombocati

Género: Toumeya

Subgénero: *Turbincarpus*

Sin embargo Bravo (1991) clasifica así:

Clase: Magnoliopsida (Dicotiledoneae)

Orden: Cactales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Cereoideae

Tribu: Echinocactinae
Subtribu: Thelocactinae
Línea B: *Stombocati*
Género: *Turbinicarpus*

Descripción botánica de *Turbinicarpus*

Bravo (1991) señala que el género *Turbinicarpus* presenta plantas pequeñas, más o menos globosas, generalmente simples; provistas de tubérculos o rara vez con costillas divididas en tubérculos; areolas del ápice del tallo blancas o de color rosa; pericarpelo desnudo, a veces con una escama diminuta hacia su porción superior y numerosos estambres (Figura 2.1). El fruto es una baya irregularmente dehiscente. Las semillas tienen de 1 a 1.5 mm de longitud con testa negra y verrucosa, sin arilo.

La situación de estas plantas dentro de la clasificación ha cambiado, como la de casi todas las especies de cactáceas, a medida que se han ido conociendo mejor tanto las características finas de su anatomía como la de su distribución geográfica. El cambio taxonómico ha sido como sigue: Berger (1929) citado por Bravo (1991) incluyó la primera especie conocida (*Echnocactus schimiedickeanus* Boedecker) en el género *Strombocactus*. Backeberg (1936) citado por Bravo (1991) con esta especie y las subsiguientes descritas formó, dentro del género *Strombocactus*, el subgénero *Turbinicarpus*. Backeberg y Buxbaum (1937) citados por Bravo (1991) elevaron el subgénero *Turbinicarpus* a la categoría de género.

Figura 2.1. Fotografía de una planta de *T. valdezianus* en el municipio de Ramos Arizpe, Coahuila (Foto cortesía del Dr. M. Humberto Reyes Valdés).

Glass y Foster (1977) creen que esta cactácea debe volver a integrar el género *Turbinicarpus* Sensus (Backeberg y Buxbaum, citados por Bravo 1991), pues aunque por lo anterior indicado, se parece a *Toumeyia*, difieren de este género por no tener siempre las espinas planas, por sus semillas más pequeñas que no llegan a 2 mm, así como por su distinta distribución geográfica. *Toumeyia* crece en la región llamada "Four Corners" comprendida entre los Estados de Colorado, Uta, Arizona y Nuevo México, en donde están distribuidas las especies de *Turbinicarpus*. Bravo (1991) está de acuerdo con Glass y Foster, pero sólo considera dentro del género a:

T. schimiedickeanus

T. lophophoroides

T. lauii

T.seudomacrochele

Glass y Foster (1977) mencionan que ha variado la forma en que ha sido llamada la especie de *Turbinicarpus valdezianus* (Möller), entre los cuales citan: *Pelecyphora valdeziana*, *P. plumosa*, *Echinocactus valdezianus*, *Thelocactus valdezianus*, *Mammillaria valdeziana*, *Pelecyphora (Gymnocactus ?) valdeziana*, *Echinocactus (Gymnocactus ?) valdezianus*, *Gymnocactus valdezianus var. albiflorus*, *Gymnocactus valdezianus* y *Normambokea valdeziana*.

El Diario Oficial de la Federación, publicó el día lunes 16 de mayo de 1994 (primera sección) las especies de *Turbinicarpus* amenazadas o en peligro de extinción, las cuales son:

T. gautii

T. gielsdorfianus

T. hoferi

T. laui

T. lophophoroides

T. mandragora

T. pseudomacrochele

T. pseudopectinatus

T. saueri

T. schimiedickenus

T. schimiedickenus. gracilis

T. subterraneus

T. swobodae

T. valdezianus

T. viereckii

Esta lista nos da una idea de las muchas especies que este género alberga, considerando que éstos ya mencionados son sólo los incluidos en la norma oficial (NOM-059-ECOL-1994).

Importancia de estudios cromosómicos

Los estudios cromosómicos han aportado a la biología una gran cantidad de información relevante, y son una herramienta importante en la dilucidación de problemas taxonómicos, filogenéticos y evolutivos. Muchos de los mecanismos biológicos que operan en la naturaleza han sido descubiertos a partir de estos estudios.

La importancia de los estudios citogenéticos radica en que los cromosomas son las estructuras celulares que mayormente portan los factores genéticos o genes; de tal manera que, el comportamiento y expresión de los genes están íntimamente asociados a la estructura y comportamiento cromosómico. Muchos de los factores hereditarios pueden comprenderse mejor por su análisis citogenético, puesto que a través de este tipo de estudios se ha contribuido en forma importante a la metodología de control y manejo biológico y de mejoramiento genético de las poblaciones. (Ramírez, 1984).

Según Lewin (1994) un cromosoma es una unidad discreta del genoma, portadora de numerosos genes. Cada cromosoma corresponde a una sola molécula de ADN asociada a una masa aproximadamente equivalente de proteína. Sólo es visible como una entidad morfológica durante la división celular. Un cariotipo consiste en un juego completo de cromosomas de una célula o una especie (tal como se ve en la mitosis).

Estudios cromosómicos en plantas y animales.

Stanfield (1971) señala que cada especie tiene un número característico de cromosomas. La mayoría de los organismos superiores son diploides, con dos juegos de cromosomas homólogos: un juego donado por el padre y el otro por la madre. En la naturaleza es común encontrar variación en el número de juegos de cromosomas (ploidía). Se estima que un tercio de las angiospermas (plantas con flores) tiene más de dos juegos de cromosomas (poliploidía). El término euploidía se aplica a aquellos organismos que tienen un número de cromosomas que es múltiplo de cierto número básico. En los organismos superiores, cada célula somática (cualquier célula corporal a excepción de las

germinales) contiene un juego de cromosomas heredado de cada uno sus progenitores. El número de cromosomas en cada célula somática es el mismo para todos los miembros de una especie dada. Por ejemplo, las células somáticas humanas contienen 46 cromosomas, el tabaco contiene 48, las reces 60, etc. El número diploide de una especie no guarda relación directa con su posición en el esquema filogenético de clasificación.

SRB y Owen (1971) mencionan que hay diferentes clases de *Triticum* (trigo cultivado), satisfaciendo cada una de ellas determinados propósitos y condiciones de cultivo. Al analizar citológicamente algunas especies de éste género pudo observarse que existe variación en el número cromosómico. Así se observó que el trigo para harina de pan *T. aestivum* tiene 42 cromosomas; mientras que *T. durum* que da origen a la harina para macarrones tiene 28 cromosomas y de una planta de uso experimental como el *einkorn* (*T. monococum*) en el que se observa que el número de cromosomas es de 14. Estos trigos representan a los tres grupos en que se puede dividir de manera natural las diferentes especies del género *Triticum*, basándose en el número de sus cromosomas. Si el número básico (n) es 7 y las células somáticas del *einkorn* tienen como número diploide ($2n$) 14, se deduce fácilmente que en los trigos, los múltiplos elevados de n puede haberse originado mediante la acumulación de genomas. Así pues, el durum, con 28 cromosomas, puede considerarse como un tetraploide ($4n$); y el trigo de pan, con 42, como un hexaploide ($6n$).

De acuerdo a King (1969) el estudio de la citogenética humana ha conducido al descubrimiento de muchas anomalías cromosómicas asociadas a defectos congénitos específicos. Gardner (1971) cita que en estudios de cariotipos para humanos se ha relacionado a los números cromosómicos debajo y arriba de 46, con condiciones intersexuales y otras irregularidades que manifiestan anormalidades físicas, reproductivas y mentales.

Flores *et al.* (1988) mencionan que la gran diversidad de especies y ecotipos en que se desarrollan las cactáceas, aunado a su enorme polimorfismo producido por procesos naturales, hace que su clasificación sufra un mayor grado de complejidad en cuanto se avanza en su jerarquía. Resulta de tal forma muy importante para propósitos de hibridación, dilucidación de relaciones fitogenéticas y distribución de individuos estudiados, el contar con estudios básicos en cuanto al número, estructura y comportamiento de los cromosomas.

Se considera que en mitosis, la etapa de metafase proporciona la mayor condensación del cromosoma y es cuando se facilita el estudio del número y morfología (Garber, 1980 citado por

Flores *et al.* 1988). Flores *et al.* (1988) realizaron cortes a los tres días de emergidos los ápices radiculares a intervalos de 15 minutos desde la 7:00 hasta la 9:00 A.M. buscando el período de mayor actividad mitótica en nopal a temperatura ambiente de (25° C a 30° C). Las preparaciones citológicas realizadas en ápices radiculares pasan a pretratamiento en solución de paradiclorobenceno (se observa una mejor distribución de los cromosomas y a mayor tiempo se origina un aglutinamiento y fraccionamiento de estos) durante cuatro horas; terminado este lapso, se cambia esta por una solución fijadora ácida Farmer, dejándose por un tiempo de 24 horas (éste se considera el de mejor resultado, ya que produce mínimas alteraciones a la morfología del cromosoma), posteriormente esta solución es cambiada por alcohol 70 %, en donde permanecerá por un período variable de seis a cuarenta y ocho horas, después se enjuagan en agua destilada y se pasan a hidrolizar con fluido estomacal de caracol *Helix pomatia*. En este líquido se dejan por espacio de cinco horas, (el tratamiento no debe exceder las seis horas ya que se origina una destrucción de la célula) y finalmente se cambian a solución colorante carmín propiónico; después de cuatro días las raicillas están listas para su preparación en laminillas.

Semilla: morfología y germinación

Morfología de la semilla

Fahn (1978) menciona que la semilla se produce a partir del rudimento seminal. En la semilla madura se distinguen las siguientes partes: *la testa*, que es la cubierta de la semilla y se forma de los tegumentos; el *endospermo*, que puede existir en gran cantidad o casi faltar; el *embrión*, que no es otra cosa que el joven esporófito parcialmente desarrollado. En algunas semillas el endospermo falta completamente; éstas y las que lo presentan en cantidad muy exigua se denominan *semillas exalbuminosas*. En las semillas de algunas plantas, como *Beta*, el tejido nucelar persiste y aumenta de volumen para formar el *perisperma*. En la cara externa de la semilla se pueden distinguir algunas estructuras. El micrópilo puede estar completamente obliterado o puede persistir típicamente como un poro. El lugar por donde el rudimento se ligaba a su funículo queda una cicatriz llamada *hilio*. El agua puede penetrar con relativa facilidad a través del hilio. En los rudimentos anátropos, en los que parte del funículo estaba soldado con los tegumentos, la semilla conserva restos del funículo pegados y forman una costilla muy característica que se conoce con el nombre de *rafe*. Después de la fecundación del rudimento puede producirse una excrecencia

superficial en algunas semillas, es el *arilo*. Estas excrecencias pueden formarse en el funículo, y se suele llamar *estrofiolo*; si, por el contrario, crece sobre el micrópilo, como ocurre en *Ricinus*, se llama *carúncula*.

Partes de una semilla madura

En general una semilla madura presenta las estructuras siguientes:

Testa. Esta corresponde a los tegumentos del rudimento seminal. Tiagi (1970) indica que la cubierta de la semilla consta sólo de dos capas de células llanas de taninos. Todas las estructuras de la testa derivan del tegumento externo. También pueden presentar papilas dicen Buxbaum (1958) y Tiagi (1970), y el tamaño de las células en general, decrece hacia el hilio. Fahn (1978) dice que la superficie de las semillas de las diferentes especies puede presentar estructuras características, que sirven para su clasificación. Tricomas, costillas, pliegues, espinas o gloquidios se desarrollan muchas veces a partir tan sólo de la testa, pero hay casos en que las células subepidérmicas intervienen también en su formación.

Micrópilo: Esau (1965) menciona que el micrópilo es una perforación a manera de canal que comunica a la semilla con el exterior. Este se origina en el óvulo y viene a ser el lugar por donde penetra el tubo polínico hacia el saco embrionario en la mayoría de las especies.

Embrión. Los tamaños y estructuras de los embriones de las semillas maduras difieren en las diversas familias de plantas. Esas características no sólo son importantes para la identificación de las semillas sino también tiene significación para comprender el comportamiento fisiológico durante la germinación (Hartmann *et al.* 1979). En *Rhipsalis* (Mauritzon, 1934), *Astrophytum*, *Thelocactus* y *Toumeyia* (Engleman, 1960) citados por García (1993). Las primeras divisiones del cigoto son transversas, resultando un proembrión columnar. Las subsecuentes divisiones están básicamente confinadas a la célula terminal (Tiagi, 1970). En *Pereskioideae* los embriones se corvan rodeando el perisperma. Tienen cotiledones muy desarrollados. En *P. aculeta* los cotiledones son carnosos, grandes y se dice que llenos de almidón. Parece que hay una reducción del perisperma asociada con alargamiento del embrión en las especies más primitivas de cactáceas (Buxbaum, 1955). Según el mismo autor, en *Opuntioideae* los embriones son semejantes a los de *Pereskioideae* pero portan cotiledones más reducidos. Señala además que en *Cereoideae* el tejido de

almacenamiento cotiledonar puede ser desplazado al hipocótilo, reduciéndose los cotiledones y aumentándose la succulencia del hipocótilo. Los céreos tuberculados poseen estas características mientras que los céreos columnares y los epífitos poseen largos cotiledones e hipocótilo angosto.

Endospermo. Fahn (1978) menciona que el tejido endospermico de una semilla en desarrollo puede consistir en células de paredes finas con grandes vacuolas que no contienen sustancias de reserva. Tal endospermo será total o parcialmente absorbido por el embrión que crece como en *Lactuca*. En muchas otras semillas, como en la de *Ricinus* y en la de gramíneas, el endospermo funciona como tejido reservante. Un endospermo de este tipo puede consistir en células de paredes finas y entonces las sustancias de reserva se localizan dentro de la célula, o pueden ser células de paredes gruesas y son ellas mismas quienes constituyen la sustancia de reserva. En este primer tipo, las sustancias de reserva están formadas principalmente por gránulos de almidón y proteínas. Existen dos formas principales de almacenar proteínas en el endospermo; en gránulos amorfos (gluten) o en gránulos de aleurona. Los granos de aleurona se componen de una masa amorfa de proteína. Algunos incluyen pseudocristales y algunos cuerpos esféricos que pueden contener fitina, en algunos hay de las dos clases de cuerpos y en otros no hay de ninguna clase.

Igual que la mayoría de las angiospermas, el endospermo se forma como resultado de la fusión de dos núcleos polares y un gameto masculino porque resulta ser una estructura triploide que constituye por lo común un tejido de almacenamiento.

Maheswhari (1950), señala que el endospermo tipo nuclear presenta una primera división y usualmente varias de las siguientes, sin formación de paredes celulares por lo que los núcleos pueden permanecer libres o formar paredes más tarde. En cactáceas ocurre lo último: la formación de paredes es tardía.

En *Astrophytum*, *Thelocactus* y *Toumeyia* la formación de paredes es iniciada alrededor del embrión y el endospermo; persiste en la semilla madura como una capa sobre la radícula. Engleman (1960) estableció que las cactáceas no tienen endospermo en la madurez; Buxbaum (1955) indicó que el endospermo en cactáceas es completamente digerido. Sin embargo, él describe una capa de endospermo sobre la radícula de *Pereskiasacharosa*.

Hilio. El hilio es la región de la semilla en donde se separa el funículo de la semilla en la madurez. La expansión del funículo cerca de la zona calazal, causa que la mayoría de las semilla tengan un

hilio largo. Sólo en el tegumento externo se desarrolla una testa dura, mientras que el funículo usualmente permanece suave y se separa de la semilla dura. La testa adyacente forma una pared alrededor del hilio, constituyendo la taza del hilo (Buxbaum, 1955). La posición y forma del micrópilo es determinada en una fase temprana en el desarrollo del rudimento seminal (Buxbaum, 1953).

Carúncula y estrofiolo. Cronquist (1968) define carúncula como una excrescencia que se origina del micrópilo en forma de arilo, el estrofiolo por el contrario se desarrolla del funículo. Ambos son carnosos y se consideran adaptaciones ecológicas según Van Der Pijl (1972).

Rafe. Front (1953) define como rafe a la línea o resalto a modo de costura que se observa en el borde de muchos rudimentos seminales y aún más tarde en la semilla, y que proviene de la soldadura del funículo con dichos rudimentos cuando éstos son anátropos. El rafe recorre el borde del rudimento seminal desde el hilio hasta el ápice geométrico del mismo, que corresponde a su base orgánica, junto a la calaza; como se trata del funículo por la rafe discurre en un hacecillo liberoleñoso.

Funículo. El funículo es un cordoncillo formado principalmente por el tejido vascular que conecta el óvulo con la placenta, y que sirve de puente para el paso de agua y nutrientes de la planta madre hacia la semilla durante su ontogenia. En la semilla madura el funículo se desprende dejando el hilio al descubierto. (Anival, 1988).

Bidwell (1991) menciona que la semilla es una estructura en reposo. Por lo regular está sumamente deshidratada, compuesta principalmente por tejido de reserva y rodeada por una cubierta esencialmente impermeable. Los procesos metabólicos están suspendidos o tienen lugar muy lentamente; la semilla está en una condición de vida interrumpida, debido principalmente a su carencia de agua y oxígeno. El proceso de germinación consiste en la absorción del agua, la reactivación del metabolismo y la iniciación del crecimiento. Unas cuantas cubiertas seminales son tan impermeables al agua que necesitan condiciones extremas para germinar. A muchas semillas se le deben hacer profundas muescas con una lima o se tratan con ácido sulfúrico antes de que germinen, y requieren de una exposición prolongada a la intemperie, la acción de hongos y bacterias del suelo, o aún a medidas tan drásticas como la exposición a un incendio forestal antes de que germinen en forma natural. Sin embargo, la mayoría de las semillas comienzan a germinar tan pronto como se humedecen, con tal que las condiciones de temperatura, luz y pretratamiento frío, sean adecuadas.

La semilla contiene un embrión con dos extremos: la radícula que formará la raíz de la planta, y la plúmula que formará el tallo y las hojas. El embrión también posee cotiledones u hojas seminales, que pueden ser pequeños y ocupar sólo una pequeña parte de la semilla como la mayoría de las monocotiledóneas, o ser bastante grandes y llenarlas por completo como en el frijol y muchas otras dicotiledóneas. Al principio la semilla contiene mucho endospermo en el tejido nutritivo para el embrión. En algunas gran parte del endospermo puede permanecer después de la germinación, cuando se encarga de la nutrición del embrión en desarrollo. En este caso los cotiledones permanecen en la semilla y funcionan principalmente como órganos absorbentes, como en la mayoría de las monocotiledóneas. En otras semillas, particularmente en la de gimnospermas y muchas dicotiledóneas, el proceso de absorción del endospermo termina antes de que la semilla se libere del fruto y todas las reservas nutritivas están presentes en los cotiledones. Estos, en este caso, pueden permanecer en la semilla durante la germinación y ser impulsados hacia arriba por el crecimiento del embrión y desarrollarse posteriormente en hojas más o menos normales y funcionales.

Latencia en semillas

El hecho de que las semillas aparentemente maduras no germinen puede deberse a un factor o a una combinación de factores. Amen (1968) y Bonner (1965) (citados por Weaver, 1980) mencionan que las causas principales de latencia en semillas son:

- a) Embriones rudimentarios
- b) Embriones fisiológicamente inmaduros
- c) Cubiertas o integumentos de semillas mecánicamente resistentes
- d) Cubiertas impermeables
- e) Presencia de inhibidores de la germinación

Una semilla latente es una semilla que está viva pero que no germina bajo condiciones favorables para la germinación de otras semillas no latentes de la misma clase. A su vez, la latencia puede manifestarse como completa inhabilidad de la semilla para germinar (Delouche, 1965). Sin embargo Rojas (1959) menciona que todas las semillas ya formadas tienen la posibilidad de germinar si las condiciones de humedad, temperatura y aireación son correctas, o de no germinar si

el ambiente es frío o seco. Esta posibilidad de mantenerse en vida pero con metabolismo suspendido, se denomina latencia, mientras que la incapacidad para germinar, aunque las condiciones del medio sean correctas, hasta cubrir ciertos requisitos, se denomina letargo.

Bonner y Galston (1967) describen otro tipo de latencia, que se presenta cuando en algunas especies las semillas contienen un embrión rudimentario en la época de maduración del fruto, y para que sea capaz de germinar debe transcurrir cierto tiempo (semanas o meses) después de haberse separado de la planta madre.

Ayala (1987) menciona que existe latencia de postcosecha (almacenamiento en seco) con una duración variable, dependiendo de la especie de que se trate. Muchas plantas perennes o anuales herbáceas no germinan si no han pasado por un período de almacenamiento en seco (Hartmann y Kester, 1979); durante este período la latencia desaparecerá en forma natural por los cambios que se efectúan en la semilla (Copeland, 1976).

Carvajal (1993) menciona que la latencia se clasifica de acuerdo a la forma o mecanismo que la ocasiona. De esta manera se han encontrado las siguientes formas:

- a) **Semillas impermeables al agua.** En esta caso, las capas exteriores de las semillas impiden la penetración del agua, puede haber sustancias hidrofóbicas en la cubierta, y se conocen como semillas duras (no imbiben cuando están dentro del agua). La impermeabilidad no necesariamente está en la testa, se puede encontrar en el pericarpio, perispermo y endospermo y aún en otras estructuras reguladoras del intercambio de humedad, como el hilio y/o estrofiolo. Puede decirse también que hay imposibilidad de las capas extraembriónicas para el intercambio gaseoso.
- b) **Latencia mecánica.** En las semillas que la presentan, las cubiertas son demasiado gruesas o fuertes que impiden o restringen la expansión del embrión durante el proceso germinativo. Aquí, la semilla puede permitir el acceso al agua, sin embargo la germinación no llega a ocurrir, así como el intercambio del oxígeno. Este tipo es menos frecuente.
- c) **Latencia morfológica.** Puede ser debida a que el embrión es rudimentario o inmaduro. En el primer caso, es apenas un proembrión, muy pequeño y no presenta estructuras bien definidas. Esto puede ser ocasionado por inhibidores en el endospermo, originando falta de diferenciación

y desarrollo cabal. En el segundo caso, el embrión es más grande que el anterior, pero no ha madurado lo suficiente, se puede encontrar en estado de torpedo y no llena completamente la cavidad de la semilla.

d) Semillas fotoblásticas. Son las que requieren condiciones especiales de intensidad, duración y calidad de luz para germinar, que cuando no se les proporciona, la germinación es impedida.

e) Latencia del embrión. Puede estar ubicada totalmente o únicamente en alguna parte del embrión, por ejemplo en el epicótilo, hipocótilo y radícula, y puede ser ocasionada por inhibidores químicos.

f) Combinación de dos o más mecanismos. En este caso la latencia puede ser de la cubierta o del embrión (o alguna parte de él). Primero se debe inhibir la impermeabilidad y después promover al embrión; se puede usar la estratificación. Se presenta en árboles y arbustos. Khan (1971) informa que al escarificar la semilla puede haber otros cambios, como el incremento de la sensibilidad a la luz y temperaturas, asimismo la permeabilidad a gases, los cuales pueden tener un significado en el metabolismo y como consecuencia en la germinación.

Métodos para romper la latencia

Mayer y Polijakoff-Mayber (1982) señalan que en forma natural la testa puede romperse por la abrasión mecánica, ataque microbial, acidez del suelo, paso a través del tracto digestivo de mamíferos y alternancia de temperaturas. Lo anterior se puede simular en el laboratorio por medio de escarificación, estratificación frío-humedad, tratamiento con luz y la combinación de dos o más tratamientos.

Escarificación. Se utiliza la escarificación en semillas con tegumentos excesivamente duros y normalmente impermeables que impiden la entrada a gases y agua, formando una barrera para la germinación. Recibe el nombre de escarificación a la rotura que se produce de estos tegumentos por procedimientos diversos, tales como: mecánicos (agitación vigorosa dentro de recipientes con materiales que poseen aristas agudas o arena; practicar cortes con objetos filosos o rasparlas con lima); químicos (disolución parcial de la cubierta seminal con ácido sulfúrico, disolventes orgánicos como acetona o alcohol, inmersión en agua hirviendo, etc.), e irradiándolas eléctricamente (Bonner y Galston, 1967; Purdy *et al.* 1962). La escarificación no debe hacerse hasta el grado de que dañe a

las semillas aunque en este método sencillo y efectivo, una semilla escarificada es más susceptible a daños por organismos patógenos (Hartmann y Kester, 1979).

Carvajal (1993) menciona que la escarificación química es usada igualmente para el tratamiento de semillas duras; generalmente se usa ácido sulfúrico. La semilla se remoja por períodos de tiempo que varían por cada especie, de pocos minutos hasta varias horas.

Por otro lado, la escarificación con agua es también una de las técnicas más ampliamente usadas. Consiste en sumergir la semilla en agua durante cierto tiempo, para acelerar el proceso de imbibición o para mejorar las características de la cubierta. Este método, también puede lixiviar los inhibidores químicos. El agua puede ser caliente o a temperatura ambiente. A punto de ebullición se usa en leguminosas forrajeras tropicales con testa dura.

Las semillas con requerimiento de frío deben ser colocadas en un sustrato húmedo, a una temperatura de 5° C a 10° C durante tiempo variable, antes de ser puestos en el ensayo de germinación. La provisión de frío favorecerá el balance adecuado de inhibidores-promotores de la germinación permitiendo así la reanudación del crecimiento del embrión. El uso de hormonas y otros compuestos, como el ácido giberélico, ácido abscísico, citocininas, etileno, nitrato de potasio, hipoclorito de sodio y cloroformo, pueden promover también la germinación.

Alternancia de temperaturas. Es efectiva para estimular la germinación de semillas recién cosechadas de muchas especies. Las combinaciones usuales de temperaturas son de 15° C a 30°C o de 20° C a 30°C manteniendo las semillas a la temperatura más baja durante 16 horas y a la más alta durante 8 horas (Hartmann y Kester, 1979).

Para estimular y acelerar la germinación también se utiliza el ácido giberélico que puede usarse como único elemento o como complemento de una escarificación o estratificación. Este ácido se usa en caso de latencia fisiológica ocasionada por requerimientos de luz y temperatura, activando las enzimas que intervienen en la movilización de las reservas. El ácido abscísico contrarresta el efecto de giberelinas. Las citocininas, cuyos productos comerciales son benciladenina, cinetina, tiourea y difenil urea, contrarrestan el ácido abscísico dejando funcionar a la giberelina.

Descripción del proceso de germinación

Overbek (1965) citado por Weaver (1980) menciona que en el proceso de germinación ocurre lo siguiente:

- a) El agua del medio entra en la semilla por diferencia entre el potencial hídrico del medio y el potencial hídrico de las semillas y tanto las células del embrión como del endospermo se hidratan y entran en actividad, por lo que la semilla se hincha. La absorción de agua es un proceso físico-químico y se lleva a cabo más rápidamente a altas temperaturas.
- b) El embrión empieza a producir GA_3 que va a actuar en la capa de aleurona que rodea al endospermo y la induce a secretar enzimas hidrolíticas como α - amilasa, glucosidasa, fosforilasa, lipasa, etc.
- c) Por acción de la α - amilasa y otras enzimas el almidón pasa a glucosa, teniendo así el embrión energía para su desarrollo.
- d) El embrión empieza a producir citocininas que junto con el ácido giberélico, inducen la síntesis de otras enzimas que degradan a las proteínas y lípidos en compuestos más simples.
- e) Por acción de las citocininas y contando con la energía producto de la oxidación de la glucosa y con proteínas solubles, las células del embrión se dividen activamente, la germinación termina cuando la radícula rompe la testa de la semilla.
- f) Las células del endospermo y posteriormente las del embrión, sintetizan auxinas que inducen el alargamiento de los meristemos de la radícula primero y del talluelo después. Con un rápido crecimiento, inducido por la acción de las auxinas, las citocininas indican el proceso de la diferenciación de los tejidos, así como el crecimiento direccional del talluelo hacia arriba y de la raíz hacia abajo.

Distribución espacial de los individuos

Goudge (1961) citado por Laconture (1983), dice que la población es una colección de individuos con duración vaga, un sistema abierto sin individualidad propia, en interacción con el ambiente y dentro de él. Dajoz (1979) señala que la población es un conjunto de individuos de una misma especie que viven en un espacio y momento determinado. Estos individuos son generalmente capaces de reproducirse entre ellos (a excepción de algunas especies partenogénicas o apomícticas) de tal manera que la población posee un conjunto de genes que constituyen un fondo genético común cuya distribución entre los individuos es constantemente manejada.

Barbour *et al.* (1987) mencionan que en la distribución espacial de los individuos no es homogénea en la naturaleza, las diferencias en condiciones ambientales, los recursos, y disturbios son solo algunos factores que influyen en los patrones de dinámicas de las poblaciones vegetales. Diferentes ajustes de las condiciones ambientales no solo modifican la distribución y abundancia de los individuos, sino que probablemente cambian la tasa de desarrollo, producción de semillas, patrón de ramificación, área foliar, área radicular, y tamaño de los individuos. La distribución, sobrevivencia y patrones de crecimiento y reproducción reflejan las adaptaciones de las plantas a un régimen de ambiente particular y así, son una parte crítica de ecología vegetal.

Dajoz (1979) señala que los individuos que constituyen una población pueden presentar diversos modelos de distribución territorial, que son respuesta a un conjunto de diversas influencias, tales como la búsqueda de alimento y condiciones físicas favorables, o a las relaciones de competencia. El conocimiento del tipo de distribución de los seres vivos es cuando se intenta evaluar la densidad de población por muestras.

Barbour *et al.* (1987) señalan que el número de plantas en un área pueden estar dispuestas en tres patrones básicos: al azar, agrupada y uniforme. En un patrón al azar la localización de algún individuo es independiente de la localización de cualquier otro. En el patrón agrupado (también llamado conglomerado o indiserso) la presencia de una planta tiene una alta probabilidad de encontrarse próxima a alguna otra planta. Los miembros de la mayoría de las especies parecen estar agrupadas y es debido al menos a dos razones: la primera implica la reproducción, las semillas o frutos caen cerca de la madre, o las trepadoras o rizomas producen descendencia vegetativa próxima a la madre. La segunda razón concierne al microambiente: el hábitat es homogéneo en un nivel macroambiental pero consiste de muchos micrositios diferentes que permiten el establecimiento de especies con grados de variabilidad.

Odum (1971) menciona que la distribución al azar es relativamente rara en la naturaleza, y tiene lugar allí donde el medio es muy uniforme y no existe tendencia alguna a agregarse. La distribución uniforme podrá ocurrir donde la competencia entre individuos es activa o donde un antagonismo positivo provoca un espaciamiento regular. Finalmente, el amontonamiento en grado variable representa, con mucho, el tipo más corriente y aún casi la regla, cuando se consideran los individuos.

En el caso de la distribución en conglomerados, los grupos podrían ser los mismos o de tamaño variable, podrían estar distribuidos al azar, distribuidos uniformemente, o agregados o amontonados a su vez con grandes espacios sin ocupar. En otros términos, podemos considerar que hay cinco tipos de distribución, a saber: 1) uniforme, 2) al azar, 3) amontonada al azar, 4) amontonada uniformemente, y 5) amontonada en agregados. Todos estos tipos se encuentran indudablemente en la naturaleza

Barbour *et al.* (1987) mencionan que son muchos los caminos para medir los patrones. Un método utiliza cuadrantes al azar. El número de plantas es cuantificado en cada cuadrante y sumariado en una tabla, en la cual se observan los datos. Los números esperados en distribución al azar son generados por una simple fórmula, la distribución de Poisson, lo cual requiere solamente que tengamos el número promedio de plantas por cuadrante. La discrepancia entre los datos observados y los datos esperados es evaluada por un cálculo de Ji-cuadrada. Los valores de la frecuencia son altamente dependientes del tamaño del cuadrado. La distribución al azar corresponde a lo que los matemáticos denominan distribución de Poisson, cuya función de densidad de probabilidad es:

$$f(k) = \frac{e^{-\lambda} \lambda^k}{k!}$$

donde λ corresponde a la esperanza de la distribución (media) y k es el número de observaciones (número de plantas).

Dajoz (1979) menciona que en el caso de distribución uniforme la varianza será nula, puesto que el número de individuos de cada muestra sería constantemente igual a la media. Si la distribución es al azar, la media y la varianza son iguales. Cuando la distribución es agrupada en

manchas o rodales, la varianza es tanto más superior a la media cuando mayor es la tendencia de agregación de la especie.

Dajoz (1979) señala que la comparación de datos experimentales con los diversos valores esperados permite saber si la distribución se debe o no al azar. De esta forma pueden compararse los valores de la varianza y de la media. Si la relación de varianza sobre la media tiende a cero, la distribución es uniforme; si tiende a uno, se debe al azar, y si es superior a la unidad, se trata de una distribución agrupada. La distribución al azar se encuentra tan solo en medios muy homogéneos y en especies sin ninguna tendencia de agregación.

Por lo que respecta a la comparación entre datos observados y los esperados de acuerdo con la distribución de Poisson, Manly (1991) menciona que es un método ineficiente y que es preferible usar el índice varianza/media. El problema es que no se conoce la distribución de dicho índice, lo cual limita las pruebas de hipótesis. Sin embargo, pueden ser utilizados métodos de remuestreo como el comúnmente llamado "bootstrap" (Manly, 1991; Press *et al.*, 1992).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *Turbinicarpus valdezianus* fueron proporcionadas por el Dr. Alfredo Valdés, de plantas originarias de el municipio de Ramos Arizpe, Coahuila (Figura 3.1.). La realización de este trabajo se llevó a cabo en los laboratorios de Análisis de Genomas Vegetales, Tecnología de Semillas y Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Descripción geográfica del área de estudio

El trabajo de campo se realizó en el municipio de Ramos Arizpe, que se encuentra ubicado al Sureste del Estado de Coahuila; con una latitud Norte de 25° - 27° y una longitud Oeste 100°-102° . El municipio colinda, al Norte con Castaños, al Sur con Saltillo, al Sureste con Arteaga, al Noroeste con Cuatro Ciénegas y al Oeste con General Cepada; además al Este colinda con Nuevo León.

Dadas las condiciones precarias de la especie, por razones de seguridad no se anotan las coordenadas de los sitios donde se encuentra ubicada la especie; sin embargo esta información se encuentra disponible en el Laboratorio de Análisis de Genomas Vegetales, para aquellos quienes estén realizando investigación autorizada en *T. valdezius*.

Preparación de cromosomas metafásicos en *Turbnicarpus valdezius*

Lista de substancias

- 1.- Fijador Farmer (3:1) tres partes de alcohol y 1 parte de ácido acético.
- 2.- 8-HQL al 0.04%. En 100 ml. de agua destilada poner 0.04 gr. de 8-HQL.

Figura 3.1. Ubicación geográfica del área de estudio

- 3.- Buffer de citratos. En 500ml. de agua destilada agregar 1.47 gr. de citrato de sodio, más 1.05 gr. de ácido cítrico monohidratado. Su pH será de 4.5
- 4.- Enzima. En 10 ml. de solución buffer agregar 0.5 gr. de celulasa y 0.1 gr. de pectoliasa.

La elaboración de preparaciones cromosómicas se efectuó en células en división mitótica las cuales se obtuvieron de ápices radiculares en crecimiento. La metodología utilizada desde la obtención de ápices radiculares hasta su análisis citológico se describe a continuación:

Germinación

Se lavó la semilla en HCl (2.5 ml de HCl hasta completar 50 ml. con agua destilada) por un tiempo de 10 minutos; posteriormente se pusieron a germinar las semillas dentro de una caja de Petri utilizando como sustrato papel filtro y como agente imbibidor agua destilada, a una temperatura constante de 26° C por un período de 15 días.

Corte

Una vez que las raíces presentaron 5 mm de largo aproximadamente se procedió a cortar los meristemas radiculares dentro de una caja de Petri sujetando la raíz con una pinza y seccionándolos con un bisturí; la hora del corte fué 6:30 A.M.

Pretratamiento

Este consistió en someter los ápices radiculares bajo la acción de la 8-HQL. Dentro de una caja de Petri se acomodó un papel filtro y se humedeció con 8-HQL; posteriormente se envolvió la caja en una bolsa de plástico obscura y se acomodó en la incubadora a una temperatura de 24° C a 26°C por espacio de 3:45 hs.

El uso de la 8-hidroxiquinoleína fue con el objeto de obtener mayor frecuencia de células en metafase.

Fijación

Se colocaron los meristemas dentro de el fijador Farmer. El tiempo en que permanecieron los ápices en el fijador fue de 48 horas, siendo colocados en esta solución inmediatamente después del pretratamiento.

Hidrólisis

Se sacaron las raíces del fijador, se enjuagaron dos veces con agua destilada y se dejaron reposar por 30 minutos en agua destilada; se volvieron a enjuagar dos veces y se dejaron otros 30 minutos en agua; después se pusieron en HCl al .1 N durante 10 minutos y nuevamente se enjuagaron dos veces con agua destilada y se dejaron durante 30 minutos en agua. Cumplido este tiempo se procedió a quitar el agua y agregar buffer de citratos por un tiempo de 30 minutos; inmediatamente después se enjuagaron los meristemas con agua destilada y se cortaron los meristemas a un tamaño de 3 mm aproximadamente. Enseguida se colocaron los meristemas en tubos Eppendorf previamente preparadas con enzima (celulasa y pectoliasa); después se colocaron los tubos Eppendorf en las gradillas a baño María con una temperatura de 37°C con un tiempo de 55 minutos para luego enjuagarse dos veces con agua destilada y dejarlos 30 min en agua.

Coloración

Se tomó un meristemo de los tubos Eppendorf y se colocó en un portaobjetos retirándole el exceso de agua con un papel secante, en seguida se aplicó fijador Farmer (2 gotas aprox.) y se maceraron los meristemas con una aguja de disección. Ya que se obtuvo el macerado, se enjuago con fijador, con el auxilio de un gotero y deslizando la solución por la pared de la laminilla, luego

se retiró el exceso con un papel secante. Posteriormente se puso una gota de colorante aceto-carmin, y se protegió con un cubreobjetos para ser observados al microscopio. Después de asegurarse que la preparación contenía lo que deseamos, se sellaron con parafina (se calienta la parafina a estado líquido y se pone una poca al rededor de el cubreobjetos con el auxilio de una varilla de cristal).

Promoción de la germinación

Para promover la germinación se evaluaron diferentes tratamientos para romper la latencia. Para ello se utilizaron 5 semillas por tratamiento (con una sola repetición, por no contarse con el suficiente material biológico), las que después de ser sometidas a los diferentes tratamientos se sembraron sobre papel filtro húmedo en una caja de Petri y se colocaron a las temperaturas correspondientes. La humedad se mantuvo durante el período de la prueba mediante riegos con agua de la llave. Después de 20 días se contó el número de semillas germinadas y se calculó el porcentaje de germinación para los diferentes tratamientos. Se consideraron germinadas aquellas que emitieron la radícula, desprendieron la cubierta y presentaron pigmentación verde en los cotiledones.

Los tratamientos utilizados para inducir la germinación de las semillas fueron los siguientes:

1- Escarificación con ácido sulfúrico concentrado (98%)

Las semillas se sometieron a un baño de ácido sulfúrico concentrado por espacio de 15 minutos, luego se retiraron del ácido, para proceder a su incubación en una cámara germinadora a 25° C

2- Escarificación con ácido sulfúrico al 50%

Las semillas se sumergieron en un recipiente con ácido sulfúrico al 50% durante 15 minutos y fueron retiradas para proceder a su siembra y a su acomodo en una cámara germinadora a 25° C

3- Escarificación con ácido sulfúrico concentrado + ácido giberélico.

Las semillas fueron sumergidas en ácido sulfúrico concentrado durante 15 minutos dentro de un vaso de precipitado, transcurrido este tiempo se pasaron a un baño de ácido giberélico a una

concentración de 150 ppm, durante 20 minutos, luego se sembraron y fueron colocadas en una cámara germinadora a 25° C.

4- Escarificación con ácido sulfúrico al 50% + ácido giberélico

Las semillas se sumergieron en ácido sulfúrico al 50 % durante 15 minutos; en seguida se remojaron en ácido giberélico a una concentración de 150 ppm, durante 20 minutos y luego fueron sembradas y colocadas en una cámara germinadora a 25° C.

5- Escarificación con ácido sulfúrico concentrado + ácido giberélico + pre-enfriamiento

Las semillas permanecieron durante 15 minutos en el ácido sulfúrico concentrado dentro de un vaso de precipitado, luego se pasaron por otro baño en ácido giberélico durante 20 minutos a una concentración de 150 ppm durante 20 minutos y enseguida fueron sembradas y expuestas a un pre-enfriamiento de 5° C durante 7 días, después de este tiempo se colocaron en una cámara germinadora a 25° C.

6- Escarificación con ácido sulfúrico al 50% + ácido giberélico + pre-enfriamiento

Las semillas se remojaron en ácido sulfúrico al 50% durante 15 minutos, seguido del remojo con ácido giberélico a 150ppm, durante 20 minutos, en seguida se procedió a sembrar; luego se llevaron al de pre-enfriamiento a 5° C durante 7 días; después de este tiempo las semillas fueron colocadas en la cámara germinadora a 25° C.

7- Escarificación con agua caliente a 80°C

Las semillas se sumergieron en agua a punto de ebullición utilizando un mechero Bunsen y unas pinzas Mohor, las semillas permanecieron en el agua hasta que esta se enfrió a temperatura ambiente, en seguida se procedió a sembrarlas y se colocaron en la cámara germinadora a 25° C.

8- Escarificación con agua caliente a 80°C + ácido giberélico + pre-enfriamiento

Las semillas se remojaron en agua caliente a punto de ebullición de la misma manera que el anterior, en seguida se sumergieron en ácido giberélico a 150 ppm durante 20 minutos, luego se sembró y se les dió un pre-enfriamiento de 5° C durante 7 días, transcurrido este tiempo se transfirieron a la cámara germinadora a 25° C.

9- Escarificación con ácido sulfúrico concentrado + ácido giberélico + siembra a temperaturas alternas (noche-día)

Las semillas se sumergieron en ácido sulfúrico concentrado durante 15 minutos, luego se trataron con ácido giberélico a 150 ppm por un tiempo de 20 minutos, en seguida se procedió a su siembra. Las temperaturas alternas fueron proporcionadas a temperatura ambiente sin mover las semillas del lugar donde fueron colocadas inicialmente, junto a una ventana abierta durante la noche y a una ventana cerrada durante el día, con temperaturas de 15°C-30°C aproximadamente.

10- Escarificación con ácido sulfúrico concentrado + ácido giberélico + siembra a temperaturas alternas (refrigerador- estufa)

Las semillas se sumergieron en ácido sulfúrico concentrado por 15 minutos, posteriormente se remojaron en ácido giberélico a 150 ppm durante 20 minutos, luego se sembraron y se expusieron a temperaturas alternas controladas. Las temperaturas alternas fueron proporcionadas en forma artificial, es decir, de 9:00 A.M. a 5:00 P.M. las semillas fueron colocadas en la cámara germinadora a una temperatura promedio constante de 26° C y la baja de temperatura se les proporcionó en un refrigerador con temperaturas de 10°C y luz fluorescente en el período de las 5:00 P.M. a 9:00 A.M.

11- Escarificación con ácido sulfúrico al 50% + ácido giberélico + siembra a temperaturas alternas (noche-día)

Las semillas fueron sometidas a tratamiento con ácido sulfúrico al 50% durante 15 minutos, luego se sumergieron en ácido giberélico a 150 ppm durante 20 minutos; en seguida se sembraron y se expusieron a temperaturas alternas de la misma forma que en el tratamiento nueve.

12- Testigo

Las semillas fueron sembradas sin ningún tratamiento y colocadas en una cámara germinadora a temperatura promedio de 25° C.

Estudio morfológico de la semilla

Para el análisis de la morfología externa de la semilla se utilizaron 5 semillas como ejemplares tomados al azar para ser observadas bajo el estereoscopio. Después de observar una por

una se determinaron las partes estructurales que conforman las semillas de *Turbinicarpus valdezianus*. Las partes externas fueron determinadas según los diagramas 4 (contornos y formas) y 8 (tipos de textura) de Calderón y Espinoza (1997) y otros diagramas de McDonald y Copeland (1989). Asimismo se tomaron fotografías con estereoscopio.

Para el estudio de la morfología interna las semillas se remojaron y disectaron haciendo cortes transversales y longitudinales de cada una de ellas con el auxilio de un bisturí y sobre una caja de Petri, para posteriormente ser observadas en un estereoscopio. Aquí se identificaron y clasificaron las estructuras internas de acuerdo con algunos autores como Esau (1977), Stevenson (1986), Fahn (1978) y McDonald y Copeland (1989); se realizaron dibujos de lo observado y se procedió a su identificación, señalando cada una de sus estructuras. Para complementar las observaciones se realizaron inclusiones de semillas en parafina (cortes histológicos), para que se pudiera observar anatómicamente la diferenciación y localización de estructuras internas mediante la diferenciación de los tejidos.

Se determinó la estructura interna de la semilla para lo cual se pusieron a germinar un total de cinco en una caja de Petri, con papel filtro como sustrato y agua de la llave, durante 18 días. En este tiempo las semillas germinaron y presentaron una radícula con una longitud de 3 mm o más. En este momento se encontraron semillas germinadas en diferentes estados de germinación, lo que permitió observar diferentes fases de desarrollo de la plántula para determinar las estructuras de la semilla en desarrollo. Fueron observadas en el estereoscopio en diferentes fases de la germinación y se hicieron dibujos para definir las estructuras internas mediante el conjunto de observaciones.

Cortes histológicos

Preparación de la semilla

- 1- Dos semillas fueron remojadas en agua durante 10 días. Transcurrido ese tiempo se escarificaron con ácido sulfúrico concentrado durante 15 minutos.
- 2- Dos semillas sin remojar; una fue escarificada con ácido sulfúrico concentrado durante 15 minutos y la otra no fue escarificada

Una semilla de cada tratamiento fue cortada longitudinalmente y transversalmente.

Fijación

El efecto del fijador es "matar y conservar" a los tejidos con un mínimo de alteraciones. Para la semilla de *Turbinicarpus valdezianus* se utilizó el fijador "FAA" cuya fórmula es: 10% de formaldehído, 35% de agua, 5% de ácido acético y 50% de alcohol etílico. El tiempo que permanecieron las semillas en esta solución fijadora fue de 24 horas a temperatura ambiente.

Deshidratación:

Esto es con el propósito de quitar el agua de los tejidos fijados y endurecidos. El procedimiento consistió en pasar las semillas por diferentes agentes deshidratantes, de menor a mayor concentración. Esto se hizo por intervalos de una hora, con una serie de soluciones de alcohol etílico al 50 %, 60 %, 70 %, 85 % y al 96 % más eosina; continuando con alcohol etílico absoluto I, alcohol etílico absoluto II, alcohol etílico absoluto más xilol en proporciones de 3:1, alcohol etílico absoluto más xilol en proporciones de 1:1, alcohol etílico absoluto más xilol en proporción 1:3. Por último las semillas pasaron a xilol. Así el material quedó listo para la infiltración.

Infiltración e inclusión en parafina

Primero se colocaron las semillas en un frasco que contenía hasta la mitad de su capacidad de xilol, agregando periódicamente pequeñas escamas de parafina. Posteriormente se metió el frasco tapado a la estufa a 30° C y se agregó parafina conforme se disolvía; en seguida el frasco se dejó a esa misma temperatura por 24 horas. Transcurrido el tiempo se elevó la temperatura de la estufa a 45° C y se agregó parafina hasta saturar el xilol, luego se elevó nuevamente la temperatura a 55° C y esperamos que la parafina pura se derritiera. Cuando ya estuvo disuelta, por decantación se retiró la mezcla de xilol y parafina que contenían los frascos con tejido y luego se les agregó parafina pura. Los moldes que se utilizaron para la inclusión fueron de papel aluminio de 5 cm X 12 cm X 2.5 cm. Para hacer los bloques de parafina con el tejido, se vació la muestra con parafina en el molde hasta quedar casi lleno. Con la ayuda de una aguja de disección caliente se orientó el material, ya sea para corte horizontal o longitudinal, no olvidando dejar el margen inferior más grueso que el superior. Para que no se solidifique la parafina, se usa el calor de un mechero guiado por un popote metálico. Cuando la orientación y el etiquetado terminó, se pasó el molde al congelador hasta la solidificación para poder retirar los moldes del papel aluminio.

Corte en microtomo.

Se removió cuidadosamente del bloque de parafina un trozo que contenía el tejido con la ayuda de una navaja. Posteriormente se montó el pedazo de parafina con el tejido sobre la platina ranurada del microtomo; para montarlo se calentó la platina y la base del corte para sellar la unión; luego que la parafina se enfrió se removieron los excesos de la misma en la parte donde se encontraba el tejido, procurando dejar la base lo más ancho posible. Luego se aseguró el bloque en el microtomo de forma tal que quedara la cuchilla paralela al corte. El microtomo se graduó a 15 micras y de esta forma se fueron realizando los cortes en forma continua aproximadamente uno por segundo y cuatro cortes por laminilla.

Fijación de los cortes a portaobjetos

En un portaobjetos limpio se untó uniformemente adhesivo de Haupt (1 gr de gelatina, 15 cc de glicerina, 2 gr de metabisulfito de Sodio por cada 100 cc de agua destilada) sobre este se aplicó una gota de formalina y 3 o 4 cortes e inmediatamente se retiró el exceso de adhesivo luego se calentó suavemente la preparación sobre la flama de una lámpara de alcohol para que el tejido se extendiera y se fijara totalmente en el portaobjetos, considerando que el calor no debe derretir la parafina (para eso se toca el portaobjetos con el dorso de la mano de tal forma que se tolere el calor). En seguida se removió el exceso de humedad y se volvieron a calentar hasta que se logró que el tejido quedara bien extendido, luego con una aguja de disección se cercioró que los cortes ya no se movieran. Así las preparaciones duraron una semana para su secado completo.

Coloración

Se preparó una serie de reactivos, en frascos Coplin con capacidad de ocho preparaciones cada uno y se etiquetaron. Se colocaron preparaciones de manera que el tejido quedara orientado de lado izquierdo (para identificar la preparación y no maltratarla o deshacerla). Con la ayuda de unas pinzas las laminillas se pasaron por los tres primeros frascos que contienen xilol I, xilol II y xilol III respectivamente (desparafinador) por un tiempo de 10 minutos; luego se cambiaron a frascos con alcohol etílico a 96 %, 85 %, 70 %, 60 % y 50 % por tiempos de 3-5 minutos c/u, el siguiente paso fue enjuagar las preparaciones en agua destilada para ser pasadas por safranina (solución acuosa al 0.1 %) durante 30 minutos, una vez cumplido este procedimiento las preparaciones se pasaron por alcohol etílico al 70 %, 85 % y 96 %, respectivamente, dejándolas en cada frasco sólo unos segundos lo suficiente para enjuagarse; esto con el fin de volver a hidratar las preparaciones. Posteriormente las preparaciones fueron pasadas al colorante verde rápido (solución al 0.5 % en etanol de 95 %) por espacio de 5 segundos, se enjuagaron en alcohol etílico absoluto I y alcohol

etílico absoluto II; también se pasaron por una solución de carboxilol saturado por unos 5 segundos; por último se sometieron en xilol I, xilol II y xilol III durante 5 minutos en cada uno de los frascos (con fin de complementar el proceso de deshidratación). Se sacó la preparación de el último xilol, se escurrió y se puso una gota de bálsamo del Canadá un poco fuera de los tejidos ya coloreados y se puso un cubreobjetos del tamaño del tejido. Se quitaron los excesos de bálsamo con una toalla de papel absorbente. Los cortes se pusieron a secar en una estufa a 30°C o 40°C por espacio de una semana.

Muestreo poblacional

El muestreo se realizó en el Municipio de Ramos Arizpe, Coahuila, en una zona donde existe una colonia de *Turbinicarpus valdezianus*. El área muestral, que ocupó casi toda la colonia, fue de 36 m X 16 m, lo que nos da un área total de 576 m². Una vez que se determinó el área muestral se clavaron estacas cada 4 metros, de tal forma que se formaron cuadros de 4 m X 4 m, así se formaron nueve cuadros de ancho (de Este a Oeste) por cuatro de largo (de norte a sur). Una vez clavadas las estacas se formaron cuadros con mecate delgado para facilitar su delimitación y poder contabilizar el número de plantas por cuadro. En cada división se observó minuciosamente para no perder ninguna planta pequeña o aislada de algún conglomerado. El conteo se efectuó en forma directa y se gráfico (elaboró un croquis por cuadro) para obtener la posición de cada una de las plantas en un espacio dado. Con cada uno de los croquis que representaba un cuadro se elaboró un croquis general, juntando todos los cuadros en forma ordenada (con coordenadas). Después de obtener la gráfica de distribución se procedió a el análisis estadístico.

Mediante un programa de computacional desarrollado por el Dr. Humberto Reyes Valdés, escrito en un lenguaje llamado Mathematica 2.2.3, se analizaron las coordenadas de las plantas muestreadas y se elaboró un gráfica donde se ubicaron todos los individuos muestreados. La gráfica se dividió en subáreas para realizar muestreos en cuadros donde se encontró una mayor incidencia de individuos, determinándose que fueran cuatro subáreas de muestreo con cuadros de 4 m x 4 m en toda el área, de 1 m X 1m en el área de X:16 m-28 m; Y: 12 m-16 m, de 0.5 m X 0.5 m en al área de X:16 m-28 m; Y: 12 m-16 m y 0.2 m X 0.2 m en el área de X: 21 m-26 m; Y: 12 m-16 m. Se contó el número de individuos por cuadro en cada una de las subáreas, y posteriormente se calculó la frecuencia de las subáreas por cada número de individuos. De esta forma, dentro del mismo programa se calcularon las frecuencias relativas observadas y esperadas. Se hicieron 2000

remuestreos para cada caso por medio de simulaciones de Monte Carlo, con lo cual se obtuvieron los intervalos de confianza al 95 % del índice σ^2/μ

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio cromosómico

En las Figuras 4.1.A y 4.1.B se muestran las microfotografías (100 X) de células mitóticas en metafase para *Turbinicarpus valdezianus* . En la figura 4.1.C y 4.1.D se muestra el contorno de

cada uno de los cromosomas. Como se puede apreciar en la Figura 4.1. A. el número cromosómico de *T. vadezianus* es $2n=22$.

El hecho de que el número observado sea divisible entre dos, pero no entre números de la serie 3,4,5,..., 10., es indicativo de que se trata de una especie diploide, con número básico $n=X=11$. Es interesante hacer notar que la única cactácea sobre la cual encontramos estudios cromosómicos, el nopal, tiene también un número básico de cromosomas $X=11$ (Ramírez, 1984) aunque con especies de niveles mayores de ploidía.

Asumiendo que *T. valdezianus* es, como los datos cromosómicos lo sugieren una especie diploide, podemos concluir con alta probabilidad que sus cromosomas tienen un comportamiento meiótico regular. Esto indicaría que se trata de una especie cuya vocación reproductiva es del tipo sexual. Esto se ve soportado por nuestras observaciones de campo, en los cuales encontramos muy pocos casos de posible propagación sexual.

Germinación de semillas

Como se observa en la Tabla 4.1. el mejor tratamiento para promover la germinación, fue el de ácido sulfúrico al 50% + ácido giberélico con el cual se obtuvo un 80%. El ácido sulfúrico rompió la testa dura que posee la semilla y de esta forma permitió la entrada de gases y agua, lo cual puede tener un significado en el metabolismo y como consecuencia en la germinación. El uso de ácido giberélico a 150 ppm fue con el fin de romper la latencia fisiológica ocasionada por requerimientos de luz y temperatura, ya que esto activa la movilización de reservas a través de enzimas; y en este caso ayudó a promover la germinación. Con estos resultados se observa que la latencia de la semilla es controlada por impermeabilidad de la cubierta y requerimientos de frío por el embrión o latencia fisiológica, lo cual fue superado con el ácido giberélico.

El tratamiento 11 dió como resultado un 40% de germinación y a diferencia del tratamiento cuatro, se le proporcionaron temperaturas alternas. Se puede decir que el haberle proporcionado diferencia en temperaturas afectó el porcentaje de germinación.

En el tratamiento 6 también se usó ácido sulfúrico y ácido giberélico pero las semillas fueron sometidas a un proceso de preenfriamiento lo cual las afectó, ya que fueron tratadas de la

misma forma que el tratamiento de mayor respuesta. Esto nos puede indicar que el frío promovió un estado de latencia, la que detuvo el proceso metabólico de la semilla.

En el tratamiento 7 se observó que el agua caliente mejoró las características de la cubierta de la semilla, además de acelerar el proceso de imbibición, pero tal vez lixivió algunos promotores químicos de la germinación y por eso se redujo casi al mínimo el porcentaje de germinación.

Como se puede ver, el ácido sulfúrico al 50 por ciento fue suficiente para degradar la testa y eliminar la latencia debido a su dureza. En caso de tratar a la semilla con este ácido a su máxima concentración se matará o dañará el embrión a tal grado que se inhibirá la posibilidad de germinar.

Se recomienda estimular su germinación con un tratamiento químico combinado, pero una vez que se rompe su latencia, ya no es necesario que se le aplique ningún tratamiento. Se recomienda entonces el uso de agentes corrosivos como el ácido sulfúrico para la degradación de la testa, y el uso de el ácido giberélico después de la remoción de la testa, de esta forma se puede estimular y acelerar el crecimiento de las plántulas.

Cuadro 4.1. Resultados de germinación de semilla con los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Germinación %
1- H ₂ SO ₄ concentrado	0
2- H ₂ SO ₄ al 50%	0
3- H ₂ SO ₄ concentrado + GA ₃	0
4- H ₂ SO ₄ al 50% + GA ₃	80
5- H ₂ SO ₄ concentrado + GA ₃ + frío	0

6- H ₂ SO ₄ al 50% + GA ₃ + frío	20
7- Agua caliente a 80° C hasta enfriar	20
8- Agua caliente a 80° C + GA ₃ + frío	0
9- H ₂ SO ₄ conc+ temperaturas alternas (n-d)	0
10- H ₂ SO ₄ conc+ temperaturas alternas (r-e)	0
11- H ₂ SO ₄ al 50% + GA ₃ + tem alternas (n-d)	40
12- Testigo	0

Morfología externa de la semilla

La semilla de *Turbinicarpus valdezianus* mostró: superficie coliculada, aspecto opaco, color negro, ápice truncado, de una forma globosa y con el contorno en forma de espátula ancha (en el ápice estrecha y la base ancha). Estas estructuras pueden apreciarse en la Figura 4.2.A; también posee un rafe lateral (Figura 4.2.B), el hilio lo presenta en el ápice y es hundido con un color café cremoso, con una consistencia esponjosa y de forma irregular (Figura 4.2.C), dentro del hilio se encuentra el micrópilo en forma opuesta al rafe (Figura 4.2.B y C). La carúncula se encuentra en el ápice de la semilla rodeando al hilio y al micrópilo (Figura 4.2.C). La semilla mide en promedio 0.97 mm de ancho por 1.29 mm de largo.

La forma de la semilla puede explicar su forma de propagación, ya que la semilla es lisa, pesada y sin estructuras que le permitan propagarse a distancia. Una vez que madura la baya, las

semillas se desprenden y caen junto a su planta madre, lo cual parece provocar que la distribución sea amontonada o en manchones

Morfología interna de la semilla

La endotesta que como se aprecia en la Figura 4.2.D. es una forma más de protección para la semilla, ya que con ella puede regular la entrada y salida de agua y oxígeno. La radícula en este caso no se aprecia completamente diferenciada sino que solo se nota una diferenciación de células que equivale a un meristemo radicular (Figura 4.2.F). El embrión ha absorbido el endospermo y casi ocupa toda la semilla (Figura 4.2.F). Los cotiledones no son muy apreciables a simple vista, pero si se les da un pretratamiento que origine la abertura cotiledonar, estos pueden ser observados.

Aunque los granos de polen no son parte de nuestros objetivos se incluye unas fotografías en la Figura 4.1.E y 4.1.F. que muestran su morfología general. Su tamaño promedio es de 56.37 micras.

Figura 4.1. A y B muestran el cariotipo de *T. valdezianus* $2n = 22$, C y D muestran el contorno de los cromosomas. La morfología de los granos de polen se observa en E y F.

Figura 4.2. Morfología de la semilla. A Forma globosa, color negro opaco y superficie coliculada. B1. Rafe, B2. Micrópilo. C1. Hilio, C2. Carúncula. D1. Endotesta. D2. Cotiledones. E. Cotiledones. F. Meristemo radicular.

Distribución poblacional

De acuerdo con la metodología utilizada para determinar el patrón de distribución espacial de *T. valdezianus*, se obtuvieron los siguientes resultados. Las memorias de cálculo son presentadas de manera anexa a este trabajo.

Para el caso del análisis de la distribución en toda el área de estudio, con cuadrantes de 4 m X 4 m (Cuadro 4.2.) puede observarse una gran discrepancia entre las frecuencias absolutas observadas y las esperadas (distribución de Poisson) de cuadrantes con los diferentes números de individuos. La razón s^2/μ fue de 17.26, con un intervalo de confianza al 95% cuyo límite inferior es mucho mayor que uno. Esto indica estadísticamente una distribución en conglomerados. Dado que para este caso se muestreó prácticamente toda la colonia, en cuadrantes grandes, el resultado obtenido aquí puede deberse a que la colonia en sí es un conglomerado (ver Figura 4.3.), es decir se trata de una jerarquización de alto nivel.

Cuadro 4.2. Frecuencias observadas y esperadas de individuos en el área total de estudio, dividida en cuadrantes de 4 m X 4 m.

Número de plantas por cuadro	Frecuencias relativas observadas	Frec. rel. espe. $\left[\frac{e^{-m}\lambda^k}{k!} \right]$	Frecuencias absolutas observadas	Frecuencias absolutas esperadas
0	0.36111	0.0043204	13	0.155535
1	0.02777	0.0235222	1	0.846799
2	0.16666	0.064032	6	2.305152
3	0.05555	0.116205	2	4.18338
4	0.08333	0.158167	3	5.694012
5	0.08333	0.172225	3	6.2001
7	0.05555	0.121548	2	4.375728
9	0.02777	0.0500397	1	1.801429
10	0.02777	0.272436	1	0.980769
17	0.02777	0.000039	1	0.001418
21	0.02777	$2.41 \cdot 10^{-7}$	1	$8.678 \cdot 10^{-6}$
34	0.02777	$1.54 \cdot 10^{-16}$	1	$5.54 \cdot 10^{-15}$
45	0.02777	$4.736 \cdot 10^{-26}$	1	$1.70 \cdot 10^{-24}$
clases -restantes	0	0.262657	0	0.43637
Media=5.444; Varianza=93.968; $s^2/\bar{X}=17.26$				
Intervalo de confianza de σ^2/μ al 95 %: (4.68, 24.81)*				

* Significativamente > 1 con $\alpha = 0.05$

De la misma forma, para el área muestral compuesta de cuadrantes de 1 m X 1 m los resultados que se describen en el Cuadro 4.3. La razón s^2/\bar{X} es igual a 2.85, cuyo valor es mayor a la unidad. Con un intervalo de confianza al 95% cuyo límite inferior es ligeramente mayor a uno. Este resultado indica una distribución de tipo conglomerado.

Esta submuestra se ubica en la parte más poblada de la colonia, y el patrón en conglomerados es de una jerarquía inferior al caso anterior. Como puede observarse, las frecuencias absolutas esperadas y observadas difieren mucho entre sí, apoyando lo indicado por el índice s^2/\bar{X} .

Cuadro 4.3. Frecuencias observadas y esperadas de individuos en una subárea de X: 16 m-28 m; Y:12 m-16 m, dividida en cuadrantes de 1 m X 1 m.

Número de plantas por cuadro	Frecuencias relativas observadas	Frec. rel. espe. $\left[\frac{e^{-m}\lambda^k}{k!} \right]$	Frecuencias absolutas observadas	Frecuencias absolutas esperadas
0	0.37500	0.124515	18	5.956720
1	0.08333	0.259406	4	12.45148
2	0.18750	0.270214	9	12.97027
3	0.18750	0.187648	9	9.007104
4	0.04166	0.097733	2	4.691184

5	0.04166	0.040722	2	1.954656
6	0.02083	0.014139	1	0.678672
7	0.02083	0.004208	1	0.201984
10	0.04166	0.000052	2	0.002496
clases restantes	0	0.00136	0	0.06542
Media= 2.083 Varianza= 5.950; $s^2/\bar{X}=2.85$				
Intervalo de confianza de σ^2/μ al 95 %: (1.59, 3.95)*				

* Significativamente >1 con $\alpha =0.05$

Para el análisis de la distribución en una subárea de X:16 m-28 m; Y:12 m-16 m, con cuadrantes de 0.5 m X 0.5 m (Cuadro 4.4.), se observa una variación en las frecuencias absolutas observadas y esperadas (distribución de Poisson) de cuadrantes con los diferentes números de individuos. Aunque esta variación no es tan grande como en el primer caso (Cuadro 4.2). La razón s^2/\bar{X} fue de 1.9 con un intervalo de confianza al 95% cuyo límite inferior es mayor que uno. Esto indica estadísticamente una distribución en conglomerados. Es visible esta tendencia también en la comparación de los límites del intervalo de confianza cuyo valor inferior es mayor a uno y dicho rango de valores contienen al valor de (σ^2/μ) . Si se ubica a la figura 4.5. se observará que la subárea muestreada corresponde a la parte más densa de la población, por lo que el resultado obtenido puede justificarse de acuerdo a la clasificación de distribución de Odum (1971) como una población de tipo amontonada agregada.

Cuadro 4.4. Frecuencias observadas y esperadas de individuos en una subárea de X: 16 m-28 m; Y:12 m-16 m, dividida en cuadrantes de 0.5 m X 0.5 m.

Número de plantas por cuadro	Frecuencias relativa observadas	Frec. rel. espe. $\left[\frac{e^{-m} m^k}{k!} \right]$	Frecuencias absolutas observadas	Frecuencias absolutas esperadas
0	0.70312	0.594026	135	114.052992
1	0.15625	0.300938	30	57.780096
2	0.08854	0.080569	17	15.469248
3	0.04166	0.013987	8	2.685504
5	0.00520	0.000118	1	0.022656
7	0.00520	1.22×10^{-6}	1	2.3424×10^{-4}
clases restantes	0	0.01036	0	0.98269
Media= 0.520; Varianza= 1.004; $s^2/\bar{X}=1.9$				
Intervalo de confianza de σ^2/μ al 95 %: (1.36, 2.60)*				

* Significativamente > 1 con $\alpha =0.05$

Para el caso descrito en el Cuadro 4.5 se encontró que el intervalo de confianza de la σ^2/μ con un nivel de confiabilidad del 95%, indica que a este nivel la población puede tener una distribución al azar. Para este caso las frecuencias absolutas observadas y esperadas parecen mostrar relación, ya que no difieren mucho entre ellas, comparadas con los tres primeros casos.

Cuadro 4.5. Frecuencias observadas y esperadas de individuos en una subárea de X: 21 m-26 m; Y:12 m-16 m, dividida en cuadrantes de 0.2 m X 0.2 m.

Número de plantas por cuadro	Frecuencias relativa observadas	Frec. rel. espe. $\left[\frac{e^{-\lambda} \lambda^k}{k!} \right]$	Frecuencias absolutas observadas	Frecuencias absolutas esperadas
0	0.880	0.873716	440	436.850
1	0.104	0.117952	52	58.9760
2	0.016	0.007961	8	3.98050
clases restantes	0	0.00147	0	0.1935
Media= 0.136; Varianza=0.149804; $s^2/\bar{X}=1.1$				
Intervalo de confianza de σ^2/μ al 95 %: (0.97, 1.23)				

Los resultados presentados en los cuadros anteriores reflejan una clara influencia del tamaño del cuadrante en la estimación del patrón de distribución. Los resultados parecen indicar que existen dos jerarquías de aglomeración: a) la colonia como un conglomerado y b) aglomeración dentro de colonias en áreas de magnitudes entre 0.25 m² y 1 m².

Es importante señalar que el patrón de distribución de esta especie está influenciado por la forma y tamaño de la semilla, que corresponde a una superficie lisa, forma oblonga y tamaño muy

pequeño, lo cual no le permite asociarse a ningún factor de dispersión, aún cuando se acepta que algunos insectos (hormigas) las recolectan para alimento.

CONCLUSIONES

- 1.- El número cromosómico de *T. valdezianus* es de $2n=22$, y parece ser una especie diploide.
- 2.- La cubierta seminal presenta impermeabilidad y dureza, y la semilla exhibe latencia fisiológica, por lo que se puede determinar que presenta una latencia doble. Tal latencia puede romperse con ácido sulfúrico y ácido giberélico.
- 3.- Las semillas presentan dos cotiledones que absorben al embrión que contiene un meristemo radicular. Sus estructuras proceden de un embrión tipo anátropo.
- 4- Las semillas presentan latencia durante un año, lo que parece estar ligada a la morfología de la semilla así como los hábitos fisiológicos de la planta.
- 5.- Como se tuvo respuesta al ácido sulfúrico se hace manifiesto que existió impermeabilidad y dureza en las cubiertas seminales; así también, la respuesta al tratamiento con ácido giberélico nos demuestra que hubo latencia fisiológica, lo que indica que las semillas requieren un período de post-maduración.

6.- La población parece distribuirse en dos niveles jerárquicos de aglomeración: en colonias y en conglomerados dentro de colonias

LITERATURA CITADA

Anival, N. 1988. Semillas de árboles y arbustos. Editorial Limusa. México, D. F. 271 p.

Ayala O., M. 1987. Influencia de diferentes tratamientos para estimular y acelerar la germinación de *Opuntia ssp.* Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coah. México. 98 p.

Barbour, M. G., J. H. Burk, W. D. Pitts. 1987. Terrestrial plant ecology. The Benjamín/Cummings Publishing Company, Inc. California. 634 p.

Bidwell, A. 1991. Fisiología Vegetal. 2a edición. AGT Editor. México, D. F. 784 p.

Bonner, J. y A. W. Galston. 1967. Principios de fisiología vegetal. 5a edición. Ediciones Aguilar, S.A. Madrid, España. 485 p.

Bravo H, H. 1937. Las Cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 379 p.

Bravo H, H. 1978. Las cactáceas de México. 2a edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 743 p

- Bravo H, H. 1991. Las cactáceas de México. Vol II. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 743 p
- Buxbaum, F. 1953. Morfology of cacti, Section II the flower. Pasadena Abbey Garden Press. U.S.A.
- Buxbaum, F. 1955. Morfology of cacti, Section III Fruits and seed. Pasadena Abbey Garden Press. U.S.A.
- Buxbaum, F. 1958. Cactus culture bases on biology. Bland-ford press. U.S.A. 224 p.
- Calderón B., O y G. F. Espinoza. 1997. Manual de identificación de semillas de maleza. SAGAR. 113 p.
- Canizo J., A. 1972. Plantas en el hogar. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 301 p.
- Carvajal A., J. 1993. Rompimiento de latencia en semillas de cuatro leguminosas forrajeras tropicales. Tesis Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coah. México. 120 p.
- Cronquist, A. 1968. Integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, N. Y. 1262 p.
- Copeland, L. 1976. Principles of seed science and technology. Ed. Burges. Minneapolis, Minnesota. 321 p.
- Dajoz, R. 1979. Tratado de ecología. 2a edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 610 p.
- Delouche, J. 1965. Seed dormancy. International training course on seed improvement for Latin America and Caribbean Area. España. 468 p.
- Diario Oficial De la Federación. 1994. Lunes 16 de Mayo, Primera Sección.
- Engleman, P. 1960. Ovule and seed development in certain cacti. Am. Bot. 47: 460-467

- Esau, K. 1965. Anatomy of seed plants. J. Wiley. New York. 376 p.
- Esau, K. 1977. Anatomy of seed plants. 2nd edition. U. S. A. 550 p.
- Fahn, A. 1978. Anatomía Vegetal. 2a edición. C. H. Blume Ediciones. Madrid, España. 643 p.
- Flores H. A., C. Gómez H. y A. López B. 1988. Variabilidad y estudio cromosómico del nopal (*Opuntia spp*). Cact. Suc. Mex. 33:90-99
- Front Q., P. 1953. Diccionario de Botánica. Editorial Labor. Barcelona, España. 195 p.
- García R., H. 1993. Estimulación de la germinación de cinco especies de cactáceas consideradas en peligro de extinción. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coah. Mex. 67 p.
- Gardner, J. 1971. Principios de Genética. 2a edición. Editorial Limusa, S.A. México. 234 p.
- Glass, C. and R. Foster. 1977. A Revision of genus *Turbinicarpus* (Backbg.) Buxb. & Backbg. Cact. Suc. J. 49:161-176
- Hartmann, H. T. y D. E. Kester. 1979. Propagación de plantas, principios y práctica. 2a edición. Editorial Continental, S. A. México, D. F. 693 p.
- Khan, A. 1971. Hormonal regulation of primary and secondary dormancy. Israel Journal of Botany 29:207-240
- King, C. 1969. Genética. Editorial EPASA-CALPE, S.A. Madrid, España. 466 P.
- Laconture, F. 1983. Relación entre los seres vivos y su ambiente. Editorial Trillas. México. 78 p.
- Lewin. B. 1994. Genes Tomo II. 2a edición. Editorial Reverté, S. A. Barcelona, España. 1150 p.
- Maheswhari, P. 1950. An introduction to the embriology of angiosperms. Mc Graw Hill Co. New

York. 453 p.

Mayer, A. M. y A. Polijakoff- Mayber. 1982. The germination of seeds. 4 thedition Pergamon Press Litd. New York. 211 p.

McDonald, M. and L. Copeland. 1989. Seed science and technology laboratory manual. Iowa State University. 231 p

Manly, B.F.J. 1991. Randomization and Monte Carlo methods in biology. Chapman and Hall. New York. 281 p.

Odum, E. 1971. Ecología. 3a edición. Nueva Editorial Interamericana, S. A. de C.V. México, D. F. 639 p.

Press W. H., S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, B.P. Flannery. 1992. Numerical recipes in frotran, the art of scientific computing. 2nd edition. Cambridge University Press. U.S.A. 963 p.

Purdy, L., J. Hardmond, C. Welch. 1962. Procedimientos especiales y tratamientos de las semillas. USDA. Editorial Continental, S. A. México, D. F. 594 p.

Ramírez G., F. 1984. Estudio cromosómico en el género *Opuntia*. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma del Noreste, Saltillo, Coah. México. 81 p

Rojas, M. 1959. Principios de fisiología vegetal. UNAM. México. 234 p.

SRB M., A. y R. Owen D. 1971. Genética general. 2a edición. Editorial Omega. Barcelona, España. 632 p.

Stanfield W., D. 1971. Teoría y problemas de genética. Libros McGraw-Hill de México, S.A. de C.V. Series Shaum. 298 p

Stevenson F., F. 1986. Anatomía vegetal. Editorial Limusa. 480 p.

Tiagi, Y. D. 1970. Cactaceae. In Symposium on Comparative Embryology of Angiosperms. Indian.

Nat. Sci. Acad. New Delhi. p. 30-35

Van Der Pijil. 1972. Principles of dispersal in higher plants. 2nd. Springer Verlag. New York.

Weaver R., J. 1980. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Editorial Trillas.
México, D. F. 622 p

Anexos

Datos correspondientes a coordenadas del croquis de distribución espacial para *T. valdezianus*.

ID	X1	Y1	X2	Y2	FMLA Xfinal	FMLA Yfinal
1	1	3	2.7	0.769	0.5022	11.076
2	1	3	8	0.63	1.488	10.52
3	3	1	12.2	0.91	10.2692	3.64
4	3	1	17	0.782	11.162	3.128
5	3	2	8.5	0.032	9.581	4.128
6	3	2	16.2	0.185	11.0132	4.74
7	3	2	18.6	0.057	11.4596	4.228
8	3	2	20.3	0.361	11.7758	5.444
9	4	1	4.4	0.059	12.8184	0.236
10	4	1	7.5	0.876	13.395	3.504
11	4	2	3.5	0.167	12.651	4.668
12	4	2	3.5	0.559	12.651	6.236
13	4	2	8.2	0.379	13.5252	5.516
14	4	2	8.2	0.408	13.5252	5.632
15	4	3	3.4	0.841	12.6324	11.364
16	4	3	5.3	0.512	12.9858	10.048
17	4	3	8	0.938	13.488	11.752
18	4	3	18.4	0.071	15.4224	8.284
19	4	4	5.5	0.795	13.023	15.18
20	4	4	9.5	0.575	13.767	14.3
21	4	4	16.5	0.3	15.069	13.2
22	4	4	17.2	0.7	15.1992	14.8
23	4	4	17.4	0.68	15.2364	14.72
24	4	4	17.8	0.665	15.3108	14.66
25	4	4	18.2	0.635	15.3852	14.54
26	4	4	18.2	0.655	15.3852	14.62
27	4	4	19.4	0.585	15.6084	14.34
28	4	4	21	0.98	15.906	15.92
29	5	1	13.1	0.714	18.4366	2.856
30	5	1	16.1	0.871	18.9946	3.484
31	5	1	19.7	0.192	19.6642	0.768
32	5	2	3.3	0.58	16.6138	6.32
33	5	2	10	0.476	17.86	5.904
34	5	2	20.7	0.227	19.8502	4.908
35	5	3	18.4	0.717	19.4224	10.868
36	5	4	6.2	0.405	17.1532	13.62
37	5	4	6.2	0.539	17.1532	14.156
38	5	4	6.7	0.884	17.2462	15.536
39	5	4	7.4	0.562	17.3764	14.248
40	5	4	7.5	0.013	17.395	12.052
41	5	4	8.4	0.023	17.5624	12.092

Continuación ...

42	5	4	9	0.981	17.674	15.924
43	5	4	10	0.354	17.86	13.416
44	5	4	10	0.529	17.86	14.116
45	5	4	10.1	0.502	17.8786	14.008
46	5	4	10.3	0.889	17.9158	15.556
47	5	4	10.6	0.184	17.9716	12.736
48	5	4	13.3	0.82	18.4738	15.28
49	5	4	13.3	0.963	18.4738	15.852
50	5	4	14.5	0.248	18.697	12.992
51	5	4	14.8	0.87	18.7528	15.48
52	5	4	15.6	0.981	18.9016	15.924
53	5	4	15.7	0.207	18.9202	12.828
54	5	4	16	0.188	18.976	12.752
55	5	4	16.3	963	19.0318	3864
56	5	4	21.1	0.11	19.9246	12.44
57	6	1	0.2	0.08	20.0372	0.32
58	6	1	0.5	0.125	20.093	0.5
59	6	1	0.5	0.2	20.093	0.8
60	6	1	0.8	0.17	20.1488	0.68
61	6	1	1.2	0.195	20.2232	0.78
62	6	1	1.6	0.165	20.2976	0.66
63	6	1	1.6	0.24	20.2976	0.96
64	6	1	18	0.215	23.348	0.86
65	6	1	2.1	0.69	20.3906	2.76
66	6	1	4.8	0.85	20.8928	3.4
67	6	1	7.2	0.77	21.3392	3.08
68	6	1	7.5	0.75	21.395	3
69	6	1	9	0.725	21.674	2.9
70	6	1	10.1	0.025	21.8786	0.1
71	6	1	12.4	0.255	22.3064	1.02
72	6	1	14.5	0.39	22.697	1.56
73	6	1	18.6	0.73	23.4596	2.92
74	6	2	0.9	0.419	20.1674	5.676
75	6	2	6.1	0.046	21.1346	4.184
76	6	2	10.4	0.849	21.9344	7.396
77	6	2	12.1	0.803	22.2506	7.212
78	6	2	14.4	0.067	22.6784	4.268
79	6	2	19.1	0.922	23.5526	7.688
80	6	2	19.3	0.88	23.5898	7.52
81	6	3	10.5	0.824	21.953	11.296
82	6	3	11.6	0.472	22.1576	9.888
83	6	3	13.5	0.914	22.511	11.656
84	6	3	15.2	0.929	22.8272	11.716
85	6	3	18	0.412	23.348	9.648
86	6	4	2.9	0.366	20.5394	13.464
87	6	4	3.4	0.285	20.6324	13.14

Continuación ...

88	6	4	3.4	0.18	20.6324	12.72
89	6	4	4	0.276	20.744	13.104
90	6	4	4.3	0.166	20.7998	12.664
91	6	4	5.5	0.466	21.023	13.864
92	6	4	7	0.676	21.302	14.704
93	6	4	7.1	0.761	21.3206	15.044
94	6	4	7.5	0.861	21.395	15.444
95	6	4	7.5	0.885	21.395	15.54
96	6	4	7.8	0.928	21.4508	15.712
97	6	4	8.4	0.614	21.5624	14.456
98	6	4	8.4	0.785	21.5624	15.14
99	6	4	8.5	0.338	21.581	13.352
100	6	4	9.3	0.366	21.7298	13.464
101	6	4	9.3	0.885	21.7298	15.54
102	6	4	9.9	0.971	21.8414	15.884
103	6	4	11.2	0.547	22.0832	14.188
104	6	4	11.7	0.795	22.1762	15.18
105	6	4	12.2	0.58	22.2692	14.32
106	6	4	11.9	0.79	22.2134	15.16
107	6	4	11.9	0.818	22.2134	15.272
108	6	4	13.6	0.747	22.5296	14.988
109	6	4	14.6	0.847	22.7156	15.388
110	6	4	14.9	0.533	22.7714	14.132
111	6	4	15	0.642	22.79	14.568
112	6	4	15.2	0.557	22.8272	14.228
113	6	4	15.5	0.219	22.883	12.876
114	6	4	15.5	0.58	22.883	14.32
115	6	4	15.5	0.883	22.883	15.532
116	6	4	15.5	0.966	22.883	15.864
117	6	4	15.5	0.028	22.883	12.112
118	6	4	15.9	0.642	22.9574	14.568
119	6	4	15.9	0.657	22.9574	14.628
120	6	4	15.9	0.695	22.9574	14.78
121	6	4	17	0.671	23.162	14.684
122	6	4	17.3	0.695	23.2178	14.78
123	6	4	19.1	0.523	23.5526	14.092
124	6	4	19.5	0.166	23.627	12.664
125	6	4	19.5	0.404	23.627	13.616
126	6	4	19.8	0.6	23.6828	14.4
127	6	4	20.4	0.523	23.7944	14.092
128	6	4	20.6	0.752	23.8316	15.008
129	6	4	20.5	0.804	23.813	15.216
130	6	4	20.5	0.885	23.813	15.54
131	7	1	3.7	0.797	24.6882	3.188
132	7	1	5.6	0.89	25.0416	3.56
133	7	1	5.9	0.419	25.0974	1.676

Continuación ...

134	7	1	6.5	0.141	25.209	0.564
-----	---	---	-----	-------	--------	-------

135	7	1	7.3	0.868	25.3578	3.472
136	7	1	7.6	0.904	25.4136	3.616
137	7	1	9.7	0.242	25.8042	0.968
138	7	1	15	0.641	26.79	2.564
139	7	1	18	0.52	27.348	2.08
140	7	2	5.9	0.31	25.0974	5.24
141	7	2	9.4	0.398	25.7484	5.592
142	7	3	12	0.784	26.232	11.136
143	7	3	1.8	0.622	24.3348	10.488
144	7	3	2.5	0.832	24.465	11.328
145	7	3	7.9	0.023	25.4694	8.092
146	7	3	10.4	0.44	25.9344	9.76
147	7	4	0.9	0.595	24.1674	14.38
148	7	4	2	0.702	24.372	14.808
149	7	4	3.2	0.185	24.5952	12.74
150	7	4	3.6	0.975	24.6696	15.9
151	7	4	4.3	0.209	24.7998	12.836
152	7	4	4.5	0.102	24.837	12.408
153	7	4	4.5	0.814	24.837	15.256
154	7	4	4.8	0.775	24.8928	15.1
155	7	4	5.6	0.165	25.0416	12.66
156	7	4	6.1	0.141	25.1346	12.564
157	7	4	6.2	0.17	25.1532	12.68
158	7	4	6.4	0.204	25.1904	12.816
159	7	4	6.4	0.424	25.1904	13.696
160	7	4	6.4	0.448	25.1904	13.792
161	7	4	6.4	0.497	25.1904	13.988
162	7	4	6.5	0.146	25.209	12.584
163	7	4	6.8	0.16	25.2648	12.64
164	7	4	6.9	0.156	25.2834	12.624
165	7	4	7.3	0.263	25.3578	13.052
166	7	4	6.9	0.982	25.2834	15.928
167	7	4	8.1	0.131	25.5066	12.524
168	7	4	8.1	0.204	25.5066	12.816
169	7	4	8.2	0.239	25.5252	12.956
170	7	4	8.6	0.56	25.5996	14.24
171	7	4	8.9	0.892	25.6554	15.568
172	7	4	10	0.57	25.86	14.28
173	7	4	10.2	0.38	25.8972	13.52
174	7	4	10.2	0.551	25.8972	14.204
175	7	4	11.1	0.595	26.0646	14.38
176	7	4	11.8	0.404	26.1948	13.616
177	7	4	11.9	0.595	26.2134	14.38
178	7	4	13.3	0.383	26.4738	13.532
179	7	4	19	0.326	27.534	13.304

Continuación ...

180	7	4	20	0.273	27.72	13.092
181	8	1	8.6	0.747	29.5996	2.988
182	8	1	16.1	0.696	30.9946	2.784

183	8	4	1.9	0.734	28.3534	14.936
184	8	4	10.8	0.775	30.0088	15.1
185	8	4	13.1	0.984	30.4366	15.936
186	8	4	13.6	0.137	30.5296	12.548
187	8	4	14.1	0.775	30.6226	15.1
188	8	4	16	0.765	30.976	15.06
189	8	4	16.2	0.178	31.0132	12.712
190	9	3	5.4	0.604	33.0044	10.416
191	9	3	2	0.092	32.372	8.368
192	9	4	0.6	0.775	32.1116	15.1
193	9	4	0.5	0.115	32.093	12.46
194	9	4	5.4	0.13	33.0044	12.52
195	9	4	5	0.96	32.93	15.84
196	9	4	15.7	0.125	34.9202	12.5

Figura 4.5. Croquis de distribución de *T. Valdezianus* para toda el área