Anatomía de la semilla de Cupania dentata (Sapindaceae) con énfasis en la semilla madura

HILDA-ARACELI ZAVALETA-MANCERA *
MARTHA-SOFÍA HERNÁNDEZ-VILLARREAL**

JESÚS-AXAYACATL CUEVAS-SÁNCHEZ **

F MARK ENGLEMAN *

Resumen. Cupania dentata Moc. et Sessé ex D.C. (Sapindaceae) es una especie cuyo uso principal es como combustible. Se estudió la estructura de la semilla en estado joven, temprano en el desarrollo (12 semanas después de antesis) y en estado maduro (32 semanas después de antesis) mediante microscopía de luz. Se practicaron tinciones generales con safranina "O" y verde fijo FCF y específicas para detectar la presencia de lípidos, lignina, almidón y taninos. La semilla es bitégmica, campilótropa con una curvatura nucelar de 103°. La semilla desarrolla una paquicálaza que ocupa 43% del área de la cubierta seminal madura. La exotesta joven estuvo constituida por una hilera de células en empalizada de paredes gruesas ricas en taninos, las cuales en el estado maduro se engruesan y lignifican. La mesotesta joven presentó de 10 a 26 estratos de parénquima con taninos condensados en sus lúmenes. En la mesotesta tanto joven como madura se encontraron numerosos idioblastos, ricos en lípidos, uniformemente distribuidos. El tegumento interno joven mostró de 3 a 4 estratos de parénquima en estado maduro, los cuales se encontraron totalmente comprimidos y colapsados. El arilo de la semilla joven es blanquecino de color, identificado como N_{10} A_{40} M_{00} . En este estado de desarrollo, el arilo, rico en idioblastos lipídicos, cubre aproximadamente el 70% del volumen de la semilla. En el estado maduro, el arilo cubre sólo el 50% del volumen de la semilla el cual se torna ceroso y de color amarillo $N_{_{10}}\,A_{_{80}}\,M_{_{30}}$, penetrado por una gran población de idioblastos de naturaleza lipídica. El arilo forma un arilostomo en la región micropilar. La semilla madura carece de endospermo; en contraste, el embrión, rico en granos de almidón, constituye el principal tejido de reserva de la semilla madura.

Palabras clave: Cupania dentata, Sapindaceae, semilla, anatomía.

^{*} Colegio de Posgraduados, Instituto de Recursos Naturales, Programa de Botánica, 56230 Montecillo, México. arazavaleta@ colpos.mx

^{**} Universidad Autónoma de Chapingo, Fitotecnia, Programa Nacional de Etnobotánica, 56230 Chapingo, México.

Abstract. Cupania dentata Moc. et Sessé ex D.C. (Sapindaceae) is a species used mainly as firewood. Seed structure was studied at an early stage of development, 12 weeks after anthesis and at mature stage, 32 weeks after anthesis, by light microscopy. General staining with safranin "O" and fast green FCF, and specific stainings for lipids, lignin, starch and tannins detection were also performed. The seed is bitegmic, campylotropous with a nucellar curvature of 103°. The seed develops a pachychalaza which comprises approximately 43% of the mature seed coat area. The young exotesta was composed of a palisade layer with thick cell walls rich in tannins, which at the mature stage, became thicker and lignified. The young mesotesta showed from 10 to 26 parenchyma layers with condensed tannins in their lumens. Both in young and mature mesotesta tissue, numerous lipidic idoblasts, evenly spread, were found. The young inner integument showed from 3 to 4 layers of parenchyma, which at mature stage, appeared completely compressed and collapsed. The aril of the young seed is pale, identified as N_{10} A_{40} M_{00} colour, at this stage of development the aril, rich in lipidic idioblasts, covered approximately 70% of the seed volume. At the mature stage. the aril only covers up to 50% of the seed volume and it becomes waxy and yellow N_{10} A_{20} M_{20} , penetrated by a large population of lipidic idioblasts. The aril makes an arilostome at the micropilar region. The mature seed has no endosperm but the embryo, rich in starch grains, constitutes the main storage tissue of the mature seed.

Key words: Cupania dentata, Sapindaceae, seed, anatomy.

Introducción

Cupania dentata Moc. et Sessé ex D.C. es una especie que pertenece a la familia Sapindaceae, de cuyo genero se documenta la existencia de aproximadamente 45 especies en América tropical (Long y Lakela, 1971). C. dentata está representada por árboles que se desarrollan en los climas tropicales y subtropicales de México sobre las vertientes del Golfo y Pacífico (Pennington y Sarukhán, 1969). Se encuentra desde los 10 hasta los 1000 m snm. La madera de este árbol se utiliza principalmente para leña, construcción y herramientas agrícolas (Pennington y Sarukhán, 1968). Cupania dentata es en náhuatl cuetzalcahuitl, palabra que significa "árbol donde danzan los pájaros", ya que las aves gustan de comer el arilo de la semilla. En la comunidad de Santiago Ecatlán, Puebla, lugar de donde proviene el material del presente trabajo, C. dentata es conocida con el nombre común de garrochilla. Esta especie se reproduce principalmente por semilla; sin embargo, registra una rápida pérdida de viabilidad y dificultades para su germinación, después de un corto almacenamiento (Hernández y López, 1993). Respecto a la anatomía de la familia, el trabajo de Metcalfe y Chalk (1979) incluye la anatomía de flores, hojas, tallos y madera de la familia Sapindaceae, sin incluir descripciones de la semilla. Corner (1976) describe la anatomía de óvulos y semillas de Cupania spp. a partir de una colecta de frutos jóvenes y maduros conservados en alcohol, provenientes de Manaus, Brasil. La morfología externa de la semilla madura de *Cupania dentata* está descrita por Niembro (1983), sin incluir detalles anatómicos. Los autores Gulati y Marthur (1977) indican la falta de estudios embriológicos de la familia Sapindaceae y la necesidad de éstos para el mejor conocimiento del grupo. Considerando la escasa información que existe sobre la anatomía de esta especie y la importancia que algunos caracteres de semillas tienen en estudios taxonómicos (Corner, 1976), el presente trabajo analiza la estructura y algunos aspectos de composición, de la semilla de *Cupania dentata* en estado juvenil y madura, mediante técnicas convencionales de microscopía de luz y algunas pruebas histoquímicas.

Material y métodos

Se realizaron dos colectas en la comunidad de Santiago Ecatlán, Municipio de Jonotla, Puebla (20°03'10" N y 97°33'33" W). Los ejemplares de herbario, respaldo del material que se usó en este trabajo, se encuentran en el herbario del Banco Nacional de Germoplasma Vegetal (BANGEV), Universidad Autónoma Chapingo (No. C00525, C00526, C00527, C00528, C00529). Se marcaron flores durante el periodo de floración de junio, de las cuales se colectaron 30 frutos jóvenes de aproximadamente 12 semanas después de antesis (SDA) y 25 frutos maduros de aproximadamente 32 SDA. Para el estudio estructural parte del material se fijó en campo con Craf III (Sass, 1958) y la otra parte se trabajó en fresco. El material fijado se lavó con agua corriente y se colocó en GAA (25% v/v glicerol+ 50% v/v etanol+ 25% v/v agua) para su posterior inclusión y corte en parafina. Se obtuvieron cortes seriados de 8-10 micrómetros los cuales se tiñeron con safranina "O" saturada (0.05% safranina O + 13% p/v sulfato de amonio (NH₂)SO₄ + 0.01% fenol en agua) y verde fijo FCF (0.12% de verde fijo FCF en etanol 95%). Durante el estudio histoquímico, se realizaron las siguientes tinciones específicas: lípidos con rojo "O" de aceite (0.5% p/v rojo "O" de aceite + 25% v/v de 1-butanol + 75% v/v etilenglicol) según Zavaleta-Mancera y Engleman (1991); almidón con I_oKI (0.5% de yoduro de potasio en agua destilada + yodo elemental hasta saturación) (Johansen, 1940); lignina con fluoroglucinol y HCl según Sass (1958); polisacáridos insolubles con ácido peryódico y reactivo de Schiff (Hotchkiss y Mcmanus 1948, en Jensen (1962) modificada por Engleman (1991). El material que no fue fijado (20% del total de las semillas) se usó en fresco para la tinción de taninos con vainillina-HCl (Gardner, 1975), y para la disociación de las células de la testa con solución Jeffrey (Johansen, 1940). Se determinó la extensión (%) de la cálaza y la testa en la semilla con base en el perímetro de la cubierta seminal en corte mediano, siendo el perímetro total de la cubierta seminal 100%. Este cálculo se realizó en cortes medianos provenientes de un total de 6 semillas por estado de desarrollo. Dentro de los caracteres morfológicos se evaluó el peso, volumen, largo, ancho y grueso de 20 semillas por estado de desarrollo provenientes de 4 árboles, de los cuales se tomaron 5 semillas por árbol. El volumen de la semilla con y sin arilo se calculó midiendo el volumen de agua desplazado por la semilla expresado en ml. Se realizo un análisis de varianza ANOVA para los datos morfológicos. Los valores promedios se presentan con \pm la desviación estándar de la media (DS).

Resultados

- 1. Fruto. El fruto es una cápsula dehiscente, trilobada (tricarpelar), con tres lóculos por fruto, un óvulo por lóculo y placentación axial. La cápsula mide en promedio $1\pm0.15~\rm SD$ cm de largo (de la base a la punta del estigma sin incluir el pedicelo), con un promedio de dos semillas maduras por cápsula. Los frutos se desarrollan en un lapso aproximado de 8 a 9 meses desde la antesis. Generalmente liberan sus semillas entre marzo y abril.
- 2. Semilla. La semilla madura es de forma ovoide, la cubierta seminal es de color marrón obscuro, identificado como N_{99} A $_{90}$ M $_{80}$ en las tablas de color de Küppers (1979), cubierta parcialmente por un arilo. Las dimensiones promedio de la semilla sin arilo son: 9.80 ± 0.49 mm de largo 7.20 ± 0.50 mm de ancho y 6.10 ± 0.63 mm de espesor, con un peso y volumen promedio de 4.5 ± 0.87 g y 2.2 ± 0.54 ml respectivamente. El arilo ocupa un 35.5% del peso y un 50% del volumen promedio (Fig. 1).

La semilla joven es bitégmica y campilótropa con una curvatura nucelar de aproximadamente 103°. El 43 % de la cubierta seminal es cálaza (unión de tegumentos con nucela) y el 57% restante es testa, proveniente del tegumento externo (Fig. 2A).

La semilla joven sin arilo mide 4.0 mm \pm 0.63 de largo, 3.0 \pm 0.54 mm de ancho y 2.80 \pm 0.65 mm de grosor (Fig. 1). La semilla con arilo tiene un peso promedio de 1.20 \pm 0.23 g y un volumen promedio de 1.2 \pm 0.08 ml. El arilo pesa en promedio 0.50 \pm 0.02 g equivalente a 41.6% del peso total de la semilla y su volumen es en promedio el 33.3 % del volumen de la semilla joven

3. Tegumento externo. En las edades estudiadas se distinguieron los límites entre la exotesta, la mesotesta y límites entre testa y tegmen (Fig.2A y 4A). La exotesta joven (12 SDA) está constituida por un estrato de células de parénquima en empalizada con taninos en sus lúmenes (Figs. 4A y 4B). La exotesta joven está formada por un estrato de células no lignificadas, impregnadas de taninos y ligeramente alargadas en sentido anticlinal (Fig. 4B). La mesotesta joven consta de 10 a 26 estratos celulares, siendo más gruesa (26-30 estratos) cerca de la cálaza. Las células de la mesotesta son parenquimatosas e isodiamétricas, muchas de ellas con taninos condensados en sus lúmenes (Fig. 4A). En la mesotesta joven y madura se detectaron numerosos idioblastos de naturaleza lipídica cuyo contenido tiñó intensamente con Rojo "O" de aceite. El contenido lipídico de los idioblastos de la cubierta

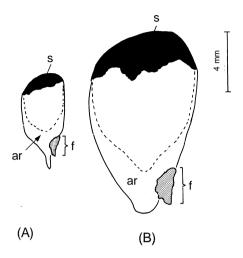


Fig. 1. Apariencia externa de la semilla joven (A) y madura (B) de *C. dentata. Abreviaturas.* s: cubierta seminal, en color oscuro; ar: arilo, área blanca; f: funículo.

seminal fue poco soluble en propanol, celosolve y xileno usados durante la microtecnia. Los diámetros de los idioblastos de la mesotesta joven son entre 4 y 8 veces mayores que los diámetros de las células vecinas de parénquima (Fig. 4A). Durante el desarrollo las paredes de las células en empalizada de la exotesta se engruesan, lignifican y se impregnan de taninos (Fig. 4D). En corte tangencial estas células se observan con formas pentagonales y hexagonales (Fig. 3B) . Este estrato confiere a la cubierta seminal una apariencia lisa, dura y de color marrón oscuro y brillante (N $_{99}$ A $_{90}$ M $_{80}$ Küppers, 1979). Esta exotesta se encuentra cubierta por una gruesa y resistente cutícula (Fig. 3A y 4B) la cual fue resistente a los tratamientos de disociación con el reactivo de Jeffrey a 55°C. En la madurez, las células de la mesotesta se presentan parcialmente colapsadas, con lúmenes vacíos y sus paredes celulares ligeramente engrosadas, lignificadas e impregnadas con abundantes taninos (Fig. 4D). En la semilla madura los idioblastos de la mesotesta se observaron parcialmente colapsados y con menos contenido lípídico (Fig. 4D).

- 4. *Tegumento interno*. En la semilla joven (12 SDA) el tegumento interno tiene 3-4 estratos de células isodiamétricas de pared primaria delgada con taninos condensados en los lúmenes (Fig. 4B). A medida que avanza en el desarrollo el tegumento interno se colapsa totalmente quedando ausente en la madurez (32 SDA) (Fig. 3A).
- 5. Paquicálaza. La cálaza, definida como la unión de los tegumentos con la nucela, se extiende hasta en un 43% de la cubierta seminal en corte mediano (Fig. 2a). Dada la extensión de la cálaza ésta es clasificada como paquicálaza según Corner (1976). La paquicálaza tiene una estructura similar a la del tegumento

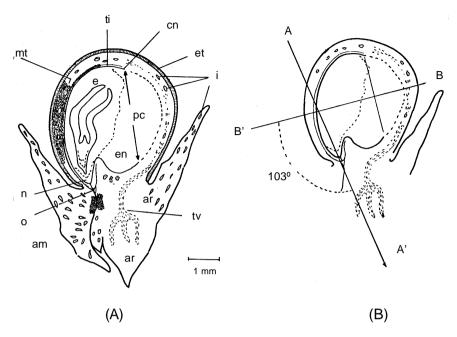


Fig. 2. A. Esquema de un corte mediano de la semilla joven. *Abreviaturas*. pc: paquicálaza; i: idioblastos; et: exotesta; mt: mesotesta; ti: tegumento interno, cn: cutícula nucelar; n: nucela; o: micrópilo; ar: arilo; am: arilostomo; tv: tejido vascular; en: endospermo; e: embrión; B. Esquema de un corte mediano de la semilla joven mostrando la curvatura de la nucela. A-A': eje de la punta de la nucela; B-B': eje de la base de la nucela; curvatura 103°.

externo pero penetrada por una red de haces vasculares anastomosados que la recorren en su totalidad. Las partes que se pueden distinguir en la zona de la paquicálaza son: a) un estrato externo de células en empalizada (et). b) 9 a 34 estratos de parénquima con taninos condensados en sus lúmenes con numerosos idioblastos (i) de naturaleza lipídica similares a los de la mesotesta (mt) (Fig. 4C) cuyo parénquima en la madurez se colapsa parcialmente y muere (Fig. 4D). c) una red de haces vasculares (tv) anastomosados que caracterizan a la paquicálaza (Fig. 4C)

- 6. *Nucela*. La nucela es curva porque el eje de la punta (A-A') y el eje de la base (B-B') de la nucela forman aproximadamente un ángulo de 103° (Fig. 2B). Hacia la madurez la nucela se absorbe y desaparece (Fig. 3A) pero la semilla madura mantiene su curvatura.
- 7. Embrión. En la semilla joven (12 SDA) el embrión ocupa cerca del 3% del volumen de la semilla. En esta edad los cotiledones tienen la apariencia de dos hojas carnosas (Fig. 2A). Durante el desarrollo el endospermo constituye el principal tejido de reserva (Fig. 2A) mientras que en la semilla madura (32 SDA) el

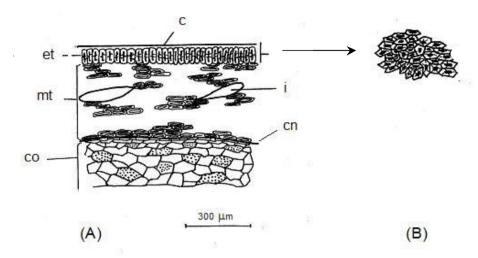


Fig. 3. A. Esquema de un corte transversal de la semilla madura. B. Vista tangencial de la exotesta, nótese el grosor de la pared. *Abreviaturas*. c: cutícula; et: exotesta; mt: mesotesta; i: idioblasto; cn: cutícula nucelar, co: cotiledón con granos de almidón representados por puntos.

endospermo no está presente y el embrión ocupa la mayor parte del volumen interno de la semilla, constituyendo el principal tejido de almacenaje (Fig. 3A y 5B).

La tinción temporal de almidón con I ₂ KI y la tinción de polisacáridos insolubles PAS permitieron identificar abundantes granos de almidón distribuidos uniformemente en todo el embrión maduro, incluyendo los cotiledones y el eje hipocótilo-radicular (Fig. 5B). En el tejido embrionario, la tinción para grasas con rojo "O" de aceite y para taninos con vanillina y HCl resultaron negativas.

- 8. *Hilo.* El corte mediano de la semilla madura reveló la presencia de abundantes braquiesclereidas (r) con paredes muy engrosadas en la zona hilar (Fig. 5C). En la semilla joven este tejido es parénquima.
- 9. Sistema vascular. Numerosos haces vasculares (tv) provenientes del fruto entran por el funículo de la semilla, posteriormente suben y forman un solo haz cerca del hilo, más adelante se dividen y ramifican para formar la red de tejido vascular de la paquicálaza (Fig. 2Ay 4C). En la semilla madura los haces vasculares de la paquicálaza quedan colapsados en la parte interna de la cubierta seminal.
- 10. Arilo. El arilo joven es de color verde blanquecino identificado como $\rm N_{10}$ A $_{40}$ M $_{00}$ (Küppers, 1979) y cubre cerca del 70% de la semilla. Hacia la madurez, el arilo se torna aceitoso y de un color amarillo intenso ($\rm N_{10}$ A $_{80}$ M $_{30}$ Küppers, 1979), cubriendo el 50% de la semilla madura. A reserva de estudiar estados más jóvenes,

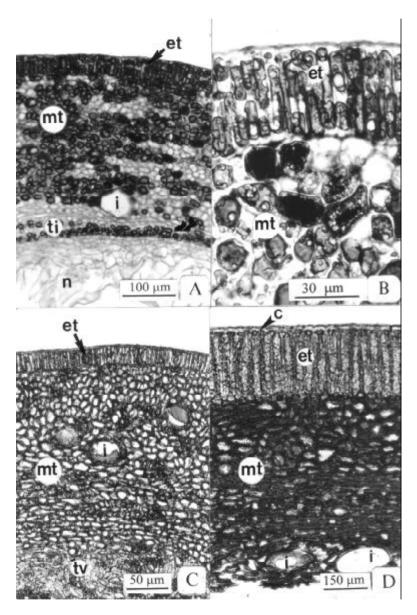


Fig. 4. A. Corte transversal de la cubierta seminal joven. B. Acercamiento de la figura anterior (Fig. 4A) nótese el alargamiento anticlinal de la exotesta y los taninos en los lúmenes. C. Corte mediano en la región de la paquicálaza de la semilla joven teñida para lípidos. Las flechas indican los idioblastos con contenido lipídico. D. Corte transversal de la cubierta seminal madura. Nótese la presencia de idioblastos vacíos. *Abreviaturas*. et: exotesta; mt: mesotesta; i: idioblasto; ti: tegumento interno; n: nucela; c: cutícula; tv: tejido vascular.

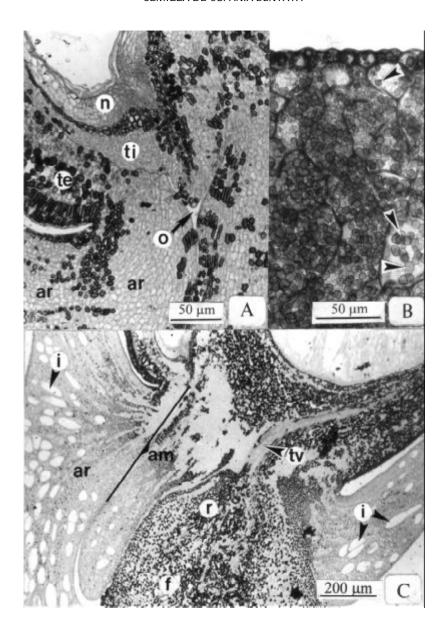


Fig. 5. A. Corte mediano en la zona micropilar de la semilla joven. B. Corte transversal del cotiledón maduro teñido con APS, las flechas indican granos de almidón. C. Corte mediano en la región del arilostomo de la semilla joven, las flechas indican los idoblastos del arilo. *Abreviaturas*. n: nucela; ti: tegumento interno; te: tegumento externo; am: arilostomo; o: micrópilo; ar: arilo; r: braquiesclereidas f: funículo; tv: tejido vascular .

se piensa que el arilo se origina en su mayor parte del funículo (Fig. 5C). En la región micropilar el arilo forma un arilostomo (am) que es una extensión del micrópilo (o) a través del arilo, formando un canal, al final del cual el arilo forma un labio o lengua (Fig. 5C). En la semilla madura, las células del tejido fundamental del arilo se alargan en sentido periclinal guardando una relación entre largo y ancho de 2 a 1. Tanto en el arilo joven como maduro se encuentran dispersos numerosos idioblastos ovoides y esféricos de naturaleza lipídica. Los contenidos de los idioblastos sólo pudieron observarse en cortes en fresco teñidos para grasas, mientras que en el tejido procesado para parafina éstos se observaron vacíos debido a que durante la microtecnia los lípidos fueron disueltos por los solventes y alcoholes.

Discusión y conclusiones

La forma columnar de las células de la exotesta es una característica que comparten las semillas de la familia Sapindaceae (Corner, 1976). El caso de *Cupania dentata* no es la excepción, encontrándose una exotesta en empalizada formada por células columnares de paredes engrosadas, lignificadas e impregnadas de taninos en el estado maduro. La tinción de taninos de la exotesta madura con vainillina y HCl presento problemas para la penetración del colorante, hecho que sugiere que la impregnación de polifenoles a paredes secundarias les confiere características impermeables. Para futuros trabajos, se considera interesante profundizar en el estudio de la interacción de los polifenoles con la pared celular de cubiertas seminales y su papel en la permeabilidad de semillas.

Corner (1976) indica la presencia de aerénguima en la mesotesta de sapindáceas. Sin embargo las observaciones realizadas en el presente trabajo no evidencian la existencia de aerénquima en la mesotesta. El concepto de aerénquima se ha definido como el tejido, preferentemente parénquima, con grandes espacios intercelulares aeríferos, normalmente de dimensiones mayores a las de las células vecinas (Esau, 1985; Fahn, 1985). El origen de los espacios intercelulares puede ser a) esquizogeno por separación de las células existentes debido al crecimiento celular o b) lisigeno por lisis de células presentes con evidencias de ruptura celular (Paniagua et al., 1997, Esau 1985, Fahn, 1985).). En estos términos, la mesotesta de C. dentata no posee espacios intercelulares grandes y por lo tanto no puede considerarse como aerenquimatosa. La mesotesta tiene una apariencia aerífera a bajos aumentos (10X); sin embargo, el análisis estructural detallado a mayores aumentos y la tinción especifica para lípidos indicaron que los aparentes espacios intercelulares en realidad se trataba de grandes células aisladas o idioblastos con paredes celulares bien definidas y de naturaleza lipídica, las cuales en la madurez se vacían parcialmente, dejando espacios vacíos con aire en sus lúmenes. Se concluye que la apariencia aerífera de la mesotesta madura en C. dentata está conferida por los lúmenes vacíos de los idioblastos y no por espacios intercelulares como fue descrito por Corner (1976).

Los contenidos lipídicos de los idioblastos de la mesotesta no fueron solubles en propanol, celosolve y xileno, usados durante la preparación de muestras, mientras que los contenidos lipídicos de los idioblastos del arilo sí fueron solubles en estos solventes. Estas observaciones evidencian diferencias químicas entre los contenidos lipídicos de los idioblastos del arilo y mesotesta.

Para la familia Sapindaceae, Corner (1976) describe cálazas pequeñas (Alectryon, Dodonaea), de mayor tamaño (Guioa, Sapindus), y paquicálazas (Allophylus, Cardiospermum, Cupania, Euphoria, Harpullia, Paullinia, Nephelium). La paquicálaza de Cupania dentata descrita en el presente trabajo ocupa aproximadamente 43% del perímetro de la cubierta seminal en corte mediano. La amplia variación que existe en las cálazas de Sapindáceas sugiere que este carácter anatómico pudiera tener valor taxonómico de interés.

La ausencia de endospermo y la presencia de un masivo embrión rico en granos de almidón en *C. dentata*, concuerdan con las descripciones generales para la familia Sapindaceae (Ellis *et al.*, 1985).

El hilo circular y cerrado por una masa de esclereidas a la madurez es una característica que comparte *C. dentata* con *Alectryon*, *Allophylus*, *Cardiospermum*, *Euphoria*, *Harpullia*, *Paullinia*, *Sapindus* (Corner, 1976). Se piensa que las esclereidas constituyen una barrera física, similar a la testa en el momento de la abscisión.

Corner (1976) apunta que el arilo de *Cupania* spp. es de color blanco. En contraste y de acuerdo con las observaciones descritas en este trabajo, el color del arilo fresco de *C. dentata* fue ubicado dentro de las tablas de color de Küppers (1979) como amarillo $\rm N_{10}$ $\rm A_{80}$ $\rm M_{30}$. Este arilo al conservarlo en alcohol 70% perdió su color original amarillo tornándose blanquecino $\rm N_{10}$ $\rm A_{10}$ $\rm M_{00}$ (Küppers, 1979).

En Cupania dentata joven se observó continuidad celular entre el arilo y funículo principalmente en la zona hilar. Así mismo, se observó continuidad celular con el tegumento externo en la zona micropilar. (Fig. 5A y 5C). Se considera necesario el estudio de estadios más tempranos en el desarrollo de la semilla para determinar el origen del arilo.

La teoría Durian (Corner, 1949 citado en Corner 1976) propone la presencia de arilo como un carácter primitivo en las semillas. Esta consideración, entonces, ubica la semilla de *C. dentata* dentro del grupo de las semillas poco evolucionadas junto con otras semillas de las familias *Celastraceae*, *Clusiaceae*, *Meliaceae*, *Myristicaceae* y *Violaceae* siendo la variación en el tipo de desarrollo a nivel genérico o subgenérico.

El arilo es una estructura muy importante para la diseminación de las semillas, ya que en la madurez es casi siempre de colores vivos y sirve de premio para los animales dispersores (Engleman, 1991). De acuerdo con lo observado en el lugar de colecta, Santiago Ecatlán, los pájaros son atraídos por el arilo de *C. dentata* y gustan de comer la semilla, fenómeno que pudiera estar relacionado con la naturaleza lipídica del mismo. En el laboratorio y en el campo observamos que el arilo

es fácilmente atacado por bacterias y hongos; creemos que este hecho puede favorecer la escarificación de la semilla para su germinación en condiciones naturales.

Agradecimientos. Al programa de Botánica del Colegio de Postgraduados por proporcionar los insumos necesarios para la realización de la microtécnia del presente trabajo.

Literatura citada

CORNER, E. J. H. 1976. The seeds of dicotyledons, 2 vols. Cambridge University Press, London. Ellis, R. H., T.D. Hong y H. Roberts. 1985. Handbook of seed technology for gene banks, 2 vols. IBPGR, Rome.

ENGLEMAN, E. M. 1991. *Glosario de semillas*. Mimeógrafo de la cátedra de Anatomía de Semillas. Centro de Botánica del Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México.

ESAU, K. 1985. Anatomía vegetal, 3a. ed. Omega, Barcelona. 779 p.

FAHN, A. 1982. Anatomía vegetal. Pirámide, Madrid. 599 p.

GARDNER, R. O. 1975. Vanillin hydrochloric acid as histochemical test for tannin. *Stain Technology* 50: 315-318.

GULATI, N. Y. S. MARTHUR. 1977. Embryology and taxonomy of *Filicium decipiens*. *Phytomorphology* 27: 261-266.

HERNÁNDEZ V., M. S. Y D. LÓPEZ S. 1993. Anatomía seminal, germinación, descripción macroscópica de la madera, distribución e importancia de *Cupania dentata* Moc. et Sessé ex D.C. especie de uso combustible del Totonacapan. Tesis, Departamento Fitotecnia, Universidad Autónoma de Chapingo, Estado de México. 115 p.

Jensen, W. A. 1962. *Botanical histochemistry. Principles and practice*, 3a. ed. Freeman, Ames, Iowa. 277 p.

JOHANSEN, D. A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York. 503 p.

KÜPPERS, H. 1979. Atlas de los colores. Blume, Barcelona. 161 p.

LONG, W. R. YO. LAKELA. 1971. Flora of tropical Florida: a manual of the seed, plants and ferns of southern peninsular Florida. University of Miami Press, Florida, pp. 572 - 575.

METCALFE, C. R, Y L. CHALK. 1979. Anatomy of the dicotyledons: Systematic anatomy of leaf and stem with a brief history of the subject, vol. 1, 2a ed. Oxford University Press, New York. 276 p.

NIEMBRO R, A. 1983. *Caracterización morfológica y anatómica de semillas forestales.* División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo, Estado de México. 125 p.

Paniagua R., M. Nistal, P. Sesma, M. Álvarez-Uría, B. Fraile B, R. Anadón, F. Sáez y M. Miguel. 1997. *Citología e histología de las células y tejidos animales y vegetales*. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid.

PENNINGTON, T. D. y J. SARUKHÁN. 1968. Manual para identificación de campo de los principales árboles tropicales de México. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación, FAO y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, SAG, México. 413 p.

SASS, J. E. 1958. Botanical microtechnique, 3ª ed. Iowa State College Press, Ames, Iowa. 277 p. ZAVALETA-MANCERA, H. A. 1989. Anatomía del fruto y semilla de Casimiroa edulis (Rutaceae) "zapote blanco" durante el desarrollo. Tesis de maestría, Centro de Botánica, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, pp. 33-38.

ZAVALETA-MANCERA H. A. Y E. M. ENGLEMAN. 1991. Anatomía del fruto de *Casimiroa edulis* (Rutaceae), "zapote blanco", durante su desarrollo. *Boletín de la Sociedad Botánica de México 51*: 53-65.

Recibido: 27.vi.2002 Aceptado: 5.iv.2003