

### http://revistas.unam.mx/index.php/entreciencias Entreciencias 9(23): 1-15. Ene. - Dic. 2021 e-ISSN: 2007-8064



# Latencia física, morfoanatomía y análisis proximal de la semilla de Enterolobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb

Physical dormancy, morphoanatomy and proximal analysis of Enterolobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb seed

Sonia Hernández Epigmenioa\* Dante Arturo Rodríguez-Trejob\* Diodoro Granados Sánchez°\* José Artemio Cadena Menesesd\*

#### RESUMEN

Objetivo: analizar y comparar la anatomía y composición de la cubierta seminal en semillas de E. cyclocarpum de dos procedencias y años de recolección distintos, y de otras 12 especies de leguminosas, mediante el uso de imágenes obtenidas en un microscopio electrónico de barrido (MEB); así como realizar una prueba de germinación y un análisis proximal de la primera especie. Diseño metodológico: se observaron en un MEB muestras de cubierta seminal de E. cyclocarpum de dos procedencias y años de recolección distintos (1983 y 2019). También fueron observadas 12 especies de leguminosas. En semillas de E. cyclocarpum recolectada en 2019 se emplearon tratamientos de escarificación para realizar un estudio de germinación y también se hizo un análisis proximal.

Resultados: el número de capas celulares presentes en todas las especies va de cuatro a ocho. El análisis estadístico de germinación fue significativo (p<0.0001), entre los tratamientos, el de mayor germinación fue el lijado. Se halló un alto porcentaje de lignina (L), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y extracto libre de nitrógeno (ELN) en la cubierta seminal. Limitaciones de la investigación: para la obtención de la muestra de cubierta seminal es necesario considerar la parte de la semilla de donde se toma, ya que el grosor de esta puede variar.

Hallazgos: las capas celulares presentes en la cubierta seminal son cutícula, macroesclereidas, osteoesclereidas, parénquima (esponjoso, en empalizada, compacto). E. cyclocarpum tiene siete y ocho capas, en el resto de las especies se observaron de cuatro a ocho capas. La presencia de capas celulares y lignina en la cubierta seminal (base seca) de E. cyclocarpum determina su latencia física.

### **ABSTRACT**

Purpose: To analyze and compare the anatomy and composition of the seed coat from E. cyclocarpum seeds from two different origins and harvest years, and from 12 other legume species, through images obtained from a scanning electron microscope (SEM) as well as to perform a germination test and a proximal analysis of the first species.

Methodological design: Samples of the E. cyclocarpum seed coat from two different provenances and years of harvest (1983 and 2019) were observed in an electronic microscope along with 12 other legume species. Scarification treatments for a germination test and a proximal analysis were conducted for E. cyclocarpum seeds collected in 2019.

Results: The number of cell layers present in all of the species ranges from four to eight. The statistical analysis of germination was significant (p <0.0001) among the treatments; the one with the highest germination was sanding. The presence of a high percentage of lignin (L), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (FDA), and nitrogen-free extract (ELN) in the seed coat was found.

Research limitations: To obtain a seed coat sample, it is necessary to consider the location on the seed from which it is taken since the thickness of the seed coat can vary.

Findings: The cell layers present in the seed coat are cuticle, macrosclereids, osteosclereids, and parenchyma (spongy, palisade, compact); It was observed that E. cyclocarpum has seven and eight layers while in the rest of the species four to eight. The presence of cell layers and lignin in the seed coat of *E. cyclocarpum* determines its physical dormancy.

\*Universidad Autónoma de Chapingo



Recibido: 11 de iunio de 2021: Aceptado: 11 de diciembre de 2021; Publicado: 17 de diciembre de 2021



Palabras clave: Enterolobium cyclocarpum, latencia física, morfoanatomía, análisis proximal, capas celulares



Kevwords: Enterolobium cyclocarpum, physical dormancy, morphoanatomy, proximal analysis, cell lavers



Se autoriza la reproducción total o parcial de los textos aquí publicados siempre y cuando se cite la fuente completa v la dirección electrónica de la publicación. CC-BY-NC-ND



# Introducción

Las semillas están constituidas por un embrión y por compuestos de reserva, ambos están rodeados por cubiertas seminales. La mayoría de las leguminosas tienen una cubierta seminal impermeable, con propiedades estructurales y/o químicas que restringe mecánicamente al embrión (Steinbrecher y Leubner-Metzger, 2018). La latencia, definida como la incapacidad para germinar de una semilla intacta y viable bajo condiciones óptimas de temperatura y humedad, está predominantemente impuesta por la cubierta seminal. Esta última no solo se involucra en el impedimento para la germinación, también cumple funciones críticas como regular la absorción de agua, proporcionar una barrera contra hongos y reducir el escape del embrión durante la imbibición (Vozzo, 2010).

La cutícula de la cubierta seminal es la primera línea de impermeabilidad, debajo de esta se encuentran líneas de células de Malpighi (macroesclereidas) que encierran completamente al embrión; y bajo estas células hay una capa corta y gruesa de hipodermis (osteoesclereidas), se considera que el conjunto de estas células juega un papel principal para evitar el ingreso del agua (Vozzo, 2010). Por ejemplo, la semilla de Stylosanthes hamata (L.) Taub se caracteriza por presentar un alto grado de latencia física, asociada con micrópilo e hilio sellados y epidermis compuesta por macroesclereidas en empalizada (Castillo y Guenni, 2001).

En un estudio anatómico de cubierta seminal realizado a ocho especies venezolanas del género Passiflora se encontraron de una a ocho capas de células con diferentes patrones anatómicos; destacó la presencia de una capa de macroesclereidas y una de células obliteradas, en siete especies están ubicadas como las capas más internas de la cubierta seminal, excepto en Passiflora edulis Sims (Pérez-Cortéz et al., 2005). La anatomía de la cubierta seminal en cinco especies venezolanas del género Calliandra se caracterizó por la presencia de la capa de Malpighi, hipodermis formada por osteoesclereidas y parénquima colapsado (Leython y Jáuregui, 2008). En semillas de Medicago sativa L. el incremento del grosor de la cubierta seminal se asocia con el nivel de permeabilidad al agua, específicamente con la variación del grosor de la cutícula, longitud de las macroesclereidas, grosor de la pared celular y con la presencia y/o desarrollo

de osteoesclereidas (Galussi *et al.*, 2015). Las semillas de Sophora tomentosa L. y Erythrina speciosa Andrews presentan estructuras similares y su cubierta consiste en una región extrahiliar con una capa de células en empalizada columnar, una capa de osteosclereidas, tejido esponjoso y células trituradas. Las células en empalizada están cubiertas por una gruesa cutícula (Luzia et al., 2015).

La lignina es un componente fundamental de la pared celular vegetal, junto con celulosa, hemicelulosa, pectina, proteínas, cutina, suberina y sales minerales (Bonawitz y Chapple, 2010). La lignificación de la pared celular está regulada en espacio y tiempo, y varía con la especie de planta, edad, tejido y si se trata de paredes celulares primarias o secundarias (Grabber, 2005). Con más frecuencia se concibe a la lignina como una barrera física potencial contra la invasión por fitopatógenos; en la interacción planta-nemátodos-endoparásitos es parte de las modificaciones involucradas en la reestructuración de las paredes de las células de la raíz del hospedante (Lagunes-Fortiz y Zavaleta-Mejía, 2016). El contenido de lignina en el tegumento de Araucaria angustifolia (Bertol.) Kuntze es alto en comparación con los niveles reportados para semillas de otras especies arbóreas (Affonso-Sampaio et al., 2016). Las partes digeribles por los rumiantes son la celulosa y hemicelulosa de la pared celular no unidas a la lignina y el contenido celular (Supratman *et al.*, 2020). La cubierta seminal de la semilla de Ormosia paraensis Ducke está formada por una cutícula (sustancias hidrofóbicas), epidermis (macroesclereidas de la capa de empalizada), hipodermis (osteoesclereidas) y células del parénquima (Marques et al., 2018). En un análisis histoquímico realizado en semillas de Sophora tomentosa L. y Erythrina speciosa Andrews se demostró que la región hiliar de ambas especies se encuentra principalmente compuesta de lignina en la parte superior de estas células (Luzia et al., 2015). La semilla de Stylosanthes hamata (L.) Taub presenta una alta concentración de compuestos hidrofóbicos en todos los tejidos que conforman la cubierta seminal (Castillo y Guenni, 2001). "Desde el punto de vista fisiológico y químico, el mecanismo de latencia física por la cubierta seminal se explica por la mayor cantidad de componentes con características



que repelen el agua y son cementantes, tales como polifenoles, ligninas, taninos condensados y sustancias pécticas, y por la menor proporción de celulosa y hemicelulosa" (Galussi et al., 2015, p. 4).

La estructura interna de las semillas de especies arbóreas se ha estudiado poco. Asimismo, aunque se ha comprobado que la escarificación química, principalmente con ácido sulfúrico, es eficiente para tratar semillas con latencia física; para el viverista no siempre es fácil conseguir tales productos. Por ello, las preguntas de investigación del presente trabajo son: ¿cuáles son las diferencias y las similitudes en la estructura de la cubierta seminal entre 12 especies de leguminosas?, ¿existen diferencias estructurales en la cubierta seminal en las semillas de dos procedencias de Enterolobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb? Asimismo, ¿es eficiente un producto comercial corrosivo fácil de conseguir para escarificar las semillas de *E. cyclocarpum*? Las hipótesis son: las diferencias estructurales en la estructura de la cubierta seminal son mayores en la medida que se asciende por los grupos taxonómicos especie y género; que hay diferencias en dicha estructura entre distintas procedencias de E. cyclocarpum, y que un producto comercial es un buen escarificante para la semilla de dicha especie.

El objetivo de esta investigación fue analizar y comparar la anatomía y composición de la cubierta seminal en semillas de E. cyclocarpum de dos procedencias y años de recolección distintos, y de otras 12 especies de leguminosas, mediante el uso de imágenes obtenidas en un microscopio electrónico de barrido (MEB); así como realizar una prueba de germinación y un análisis proximal de la primera especie.

# METODOLOGÍA

### Germinación

El experimento de germinación se realizó con semillas de E. cyclocarpum recolectadas en Tamuín, San Luis Potosí, en el año 2019; y fue instalado en una casa particular del municipio de Cuautepec de Hinojosa, en el estado de Hidalgo. Debido a la contingencia sanitaria por el COVID-19 no fue posible realizarlo bajo condiciones de ambiente controlado. Se ocuparon ocho cajas de germinación lavadas con agua corriente y desinfectadas con agua con cloro (Cloralex®, 10 gotas por litro de agua), en el fondo fue colocada tela fieltro lavada y desinfectada, posteriormente se le agregaron 60 ml de agua para mantener húmedo el fieltro.

Se aplicaron los siguientes tratamientos escarificación:

- *Testigo*: se desinfectaron 160 semillas para prevenir la presencia de hongos fitopatógenos en las cajas germinadoras.
- Escarificación física: se lijaron 160 semillas (con lija Truper® de grano grueso), luego se desinfectaron.
- Escarificación térmica: se desinfectaron 160 semillas y fueron colocadas en un recipiente de plástico con tapa hermética donde se les aplicó agua hirviendo (93 °C) hasta completar 750 ml (capacidad del recipiente). Se cerró herméticamente y se dejó reposar por 24 h. Este proceso se repitió con temperaturas de 80, 70, 60 y 50 °C.
- Escarificación química: fue realizada con hidróxido de sodio (NaOH), se usó el producto de la marca comercial Limpia hornos Mony® con contenido pastoso neto de 470 g, el contenido fue colocado en un recipiente de plástico de 1 l, posteriormente se le agregó un litro de agua hirviendo para diluir la pasta, y se revolvió con una cuchara de plástico hasta que se homogeneizara. Este producto fue probado como una opción práctica para viveros forestales que no cuentan con productos químicos. Se aplicaron tres tiempos de escarificación química con el NaOH que se preparó, en cada uno de tres recipientes de plástico con tapa se colocaron 160 semillas, se les agregó *NaOH* hasta que se cubrieran todas las semillas, enseguida se le añadió agua hirviendo (625 ml) y se procedió a revolver con una cuchara de plástico hasta homogeneizar, finalmente se cerró. El primer recipiente se dejó reposar 12 h, el segundo 18 h y el tercero 24 h.

### Diseño experimental

Se estableció un diseño experimental de bloques completamente al azar usando el siguiente modelo estadístico:

$$y_{iik} = \mu + \alpha_i + \beta_i + \epsilon_{iik}$$



Donde:  $\mu$  = media general,  $\alpha_i$  = efecto de i-ésimo tratamiento,  $\beta_{_{i}}$  = efecto de j-ésimo bloque,  $\epsilon_{_{ijk}}$  = error ex-

El experimento se realizó con 10 tratamientos y 8 repeticiones, se utilizaron 20 semillas por tratamiento, se ocuparon un total de 1 600 semillas, se realizaron observaciones diarias durante 35 días.

Los tratamientos y su simbología fueron: control (T) (con semilla desinfectada), lijado (L) (a un lado del micrópilo), inmersión en agua hirviendo (93 °C) hasta dejar enfriar y remojar por 24 h (A93), inmersión en agua a 80 °C hasta dejar enfriar y remojar por 24 h (A80), inmersión en agua a 70 °C hasta dejar enfriar y remojar por 24 h (A70), inmersión en agua a 60 °C hasta dejar enfriar y remojar por 24 h (A60), inmersión en agua a 50 °C hasta dejar enfriar y remojar durante 24 h (A50), inmersión en NaOH por 12 h (I12), inmersión en NaOH por 18 h (I18), inmersión en NaOH por 24 h (I24).

### Análisis estadístico

Los datos de germinación y energía germinativa fueron analizados con el paquete estadístico SAS® (versión 9.0) empleando el procedimiento de análisis de varianza (p ≤ 0.05) (procedimiento Anova). Debido a que la germinación es una variable binomial fue transformada mediante la función arco seno. Las medias fueron comparadas mediante la prueba de Tukey ( $p \le 0.05$ ).

### Anatomía de cubierta seminal

La obtención de imágenes mediante microscopio electrónico de barrido (MEB) fue realizada en la Unidad de Microscopía Electrónica del Colegio de Postgraduados, por el Biól. Simón Morales Rodríguez. Las especies observadas fueron: E. cyclocarpum recolectada en 1983 (Acapetahua, Chiapas; 37 años almacenada); E. cyclocarpum recolectada en 2019 (Tamuín, San Luis Potosí; 2 años almacenada); Mimosa caesalpiniifolia Benth; Prosopis glandulosa Torr; Prosopis laevigata (Humb. y Bonpl. ex Willd.) M.C.Johnst; Erythrina coralloides DC. 1825; Vachellia farnesiana (L.) Willd. y Arn; Vachellia schaffneri (S. Watson) Seigler y Ebinger; Vachellia pennatula (Schltdl. y Cham.) Benth; Ebenopsis ebano (Berl.) Britton y Rose; Delonix regia (Bojer ex Hook.) Raf; Mucuna sp. Lupinus sp. y Lupinus montanus

Kunth. Ya se contaba con imágenes del MEB de esta última especie al momento de la realización de la presente investigación.

Para la obtención de las muestras de cubierta seminal se usó un método destructivo, debido a la dureza de las semillas se buscó fracturar la cubierta con una pinza de presión (para conservar la estructura de la muestra), de modo que en la observación se lograran apreciar las diferentes capas celulares de la cubierta seminal sin alteración. Muestras de cubierta seminal de 0.5-1.0 cm fueron colocadas en un recipiente de muestra etiquetado y entregadas al laboratorio, este proceso se repitió con las 14 especies. El procesamiento de las muestras para su observación fue el siguiente:

- Fijación: sobre el stub (latón) fue colocado un trozo redondo de cinta adhesiva de carbón del tamaño de este, y con el apoyo de un microscopio y una pinza de disección se fijó la muestra sobre el *stub*.
- Recubrimiento: los stubs con muestras fijadas fueron colocadas en el Sputter (modelo: FINE COAT ION SPUTTER JFC-1100) para ser recubiertas con oro y paladio (50/50 %). Terminado el recubrimiento los stubs fueron retirados y colocados en una caja Petri previamente arreglada con cintas adhesivas doble cara para evitar que se movieran al momento de llevarlas de un sitio a otro.
- Observación: la observación fue realizada con el apoyo de una computadora de escritorio (modelo: NEC MultySync LCD2090UXi) enlazada al MEB (modelo: JEOL JSM-6390 Scanning Electron Microscope) mediante el software JEOL Scanning Electron Microscope.

### **Análisis proximal**

El análisis proximal fue realizado a la cubierta seminal y cotiledones de la semilla de *E. cyclocarpum* recolectadas en Tamuín, San Luis Potosí en el año 2019. Este análisis se hizo en el Laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Zootecnia, de la Universidad Autónoma Chapingo. Se analizó la muestra por triplicado. Se rompió el equivalente a 106.515 g de semillas completas, se entregaron al laboratorio 54.103 g de cotiledones y 45.989 g de cubierta seminal, ambas muestras deshidratadas, con un total de 100.092 g de semilla seca.

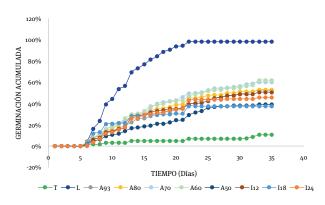


# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Germinación

Los resultados del análisis de varianza muestran diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (p < 0.0001). La prueba de Tukey arrojó que el tratamiento de lijado (L) fue superior con 98.1 % de germinación, los tratamientos A60, A70, A80, A93 e I35 no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí, pero fueron superiores al resto de tratamientos (A50, I45 y T), con una germinación de 39.4, 37.5 y 10.6 % respectivamente (figura 1, tablas 1 y 2).

Figura 1. Germinación acumulada de los tratamientos



**Nota:** control (T), lijado (L), inmersión en agua hirviendo a 93 °C (A93), inmersión en agua a temperaturas de 80 °C (A80), 70 °C (A70), 60 °C (A60), 50 °C (A50), inmersión en NaOH por 12 h (I12), 18 h (I18) y 24 h (I24).

Fuente: elaboración propia.

Tabla 1. Anova de capacidad germinativa de E. cyclocarpum

GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F	P
9	35226.56	3914.06	83.99	<0.0001
7	592.19	84.59	1.82	0.0998
63	2935.94	46.60		
79	38754.69			
	9 7 63	GL cuadrados  9 35226.56  7 592.19  63 2935.94	GL         cuadrados         de la media           9         35226.56         3914.06           7         592.19         84.59           63         2935.94         46.60	GL         cuadrados         de la media         F           9         35226.56         3914.06         83.99           7         592.19         84.59         1.82           63         2935.94         46.60

Fuente: elaboración propia.

Tabla 2. Comparación de medias (prueba de Tukey) de la capacidad germinativa de E. cyclocarpum

Tratamiento	Media (%) *
L	98.1 a
A6o	61.9 b
A70	60.0 bc
A8o	53.1 bcd
A93	52.5 bcd
I35	50.6 cd
I6o	45.6 de
A50	39.4 e
I45	37.5 e
T	10. 6 f

Nota: medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Fuente: elaboración propia.

La energía germinativa para el tratamiento de lijado fue igual a 13 días para llegar al 70 % de la germinación final. Por otro lado, el tratamiento testigo fue el que tuvo la germinación más baja (10.63 %) y una energía germinativa de 19 días. Sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas para la energía germinativa entre los tratamientos probados (tablas 3 y 4). El primer tratamiento fue el más efectivo, comparado con los tratamientos químico y térmico, para la germinación de *Prosopis laevigata* (Humb. & Bonpl. ex. Willd.) M. C. Johnst., P. glandulosa Torr., Vachellia Schaffneri (S. Watson) Seigler & Eibinger, V. pennatula (S. Watson) Seigler & Ebinger y V. farnesiana (L.) Wight & Arn (Illescas-Gallegos *et al.*, 2021).

Tabla 3. Anova de energía germinativa de E. cyclocarpum

Fuente	GL	Suma de	Cuadrado	F	P	
		cuadrados	de la media			
Tratamiento	9	297.200	33.0222	0.85	0.5761	
Bloques	7	173.600	24.8000	10.64	0.7241	
Error	63	2455.5000	38.974			
Total corregido	79	2926.2000				

Fuente: elaboración propia.



Tabla 4. Comparación de medias (Tukey) de energía germinativa de E. cyclocarpum

g					
Tratamiento	Media (días)*				
A93	19 <b>.</b> 4a				
T	19.4 a				
A6o	19.3 a				
I12	19.1 a				
A50	19.0 a				
A8o	18.4 a				
A70	18.0 a				
I24	16.8 a				
I18	16.3 a				
L	13.0 a				

Nota: medias con la misma letra no son significativamente diferentes (\*).

Fuente: elaboración propia.

A *E. cyclocarpum* se le considera una especie ruderal de sucesión secundaria con semillas recalcitrantes, pero los resultados obtenidos demuestran lo contrario, que se trata de una semilla ortodoxa gracias a su latencia física. Una evidencia de la variabilidad de la latencia física en esta especie la dan Arreola *et al.* (2021), quienes refieren que semillas de E. cyclocarpum, recolectadas en Michoacán, tuvieron porcentajes de germinación de 100 y 98 % al ser lijadas y tratadas con agua hirviendo por 24 h. El efecto del primer tratamiento fue el mismo para dicho estudio y para el presente trabajo, pero el remojo en agua hirviendo durante 24 h mostró diferencias, lo que marca a su vez distintas intensidades en la latencia de ambas procedencias (y épocas de recolección posiblemente también) de la semilla de esta especie.

### Anatomía cubierta seminal

Las 13 especies de leguminosas observadas en el MEB tuvieron presentes en la cubierta seminal de cuatro a ocho capas celulares; nueve presentaron de una a tres capas de osteoesclereidas, el resto de especies de leguminosas que no presentan dicha capa pertenecen a los géneros Vachellia y Erythrina, la existencia de osteoesclereidas posiblemente hace que la latencia física sea mayor. Lo anterior se pudo observar al momento de obtener las muestras para laboratorio, pues semillas como E. cyclocarpum, Ebenopsis ebano y *Delonix regia* estaban muy duras y fue más complicado resquebrajarlas. En Stylosanthes hamata (L.) Taub. la dureza de la semilla está relacionada con la presencia de un micrópilo y un hilio sellados, así como una epidermis compuesta por macroesclereidas en empalizada (Castillo

y Guenni, 2001).

Enterolobium cyclocarpum recolectado en 1983 y Delonix regia son las especies que tienen ocho capas de tejidos, y de estas, tres son de osteoesclereidas. Enterolobium cyclocarpum recolectado en 2016, Ebenopsis ebano, Prosopis glandulosa y Prosopis laevigata presentaron siete capas de tejidos. Vachellia farnesiana y Vachellia pennatula tuvieron seis capas de tejidos. Mimosa caesalpiniifolia, Vachellia schaffneri y Lupinus sp. exhibieron cinco capas. Erythrina coralloides, *Mucuna* sp., *Lupinus montanus*, *Sapindus* sp. presentaron cuatro capas.

Es notorio que las especies de Vachellia (tribu Acacieae) estudiadas carecen de osteoesclerénquima y es conveniente verificar si otras especies de dicho género lo presentan. En cambio, en los géneros Mucuna y Erythrina (ambas de la misma tribu, Phaseolae) dicho tejido aparece en la primera, pero no en la segunda. Asimismo, el parénquima en empalizada solo se observó en Enterolobium, Ebenopsis y Vachellia (las dos primeras de la tribu Ingeae, la tercera Acacieae). De igual forma es conveniente comprobar, en estudios futuros, si este último tejido se observa en más especies de los géneros referidos y no en las otras, de modo que estas características puedan considerarse como típicas de las especies y tribus. Desde luego, también cabe la posibilidad de variación en grosor y en capas existentes en diferentes partes de la semilla y de variabilidad intraespecífica. La cubierta representa un carácter sujeto a la variabilidad genética, de ahí la variabilidad observada entre especies y dentro de *E. cyclocarpum*, donde se logró obtener la muestra para el análisis microscópico; además se debe considerar la falta de estudios de caracterización morfológica de diásporas (Di Santo *et al.*, 2021)

A continuación se presentan imágenes con una breve descripción de cada capa celular presente en la cubierta seminal, analizadas y obtenidas del MEB, con un ejemplo representativo de cada tribu.

Tribu Mimoseae: Prosopis glandulosa

Cutícula: presenta agrietamientos longitudinales, transversales y de esquina, es la capa celular más delgada.

Macroesclereidas: líneas de células alargadas, gruesas y compactas acomodadas verticalmente, fibrosas, es



posible apreciar dos niveles de estas células empalmadas, aunque sea una capa compacta se logran apreciar pequeños espacios vacíos. Es la tercera capa de mayor grosor en la cubierta seminal de esta especie.

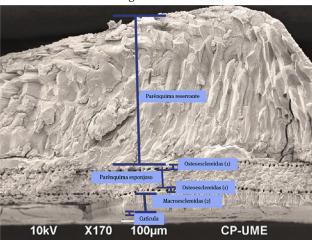
Osteoesclereidas: capa de células columnares en una forma que recuerda huesos, ensanchados en las bases, acomodadas en un solo nivel, es la cuarta capa más gruesa observada.

Parénquima esponjoso: es la segunda capa de mayor grosor de la cubierta seminal, su estructura es esponjosa y compacta.

Osteoesclereidas: capa de células columnares en forma de hueso, ensanchados en las bases, acomodadas en un solo nivel, es la cuarta capa más gruesa. Esta especie cuenta con dos capas de osteoesclereidas.

Parénquima reservante: es la capa de mayor grosor la cubierta seminal de esta especie, su estructura recuerda a una pared rocosa, compacta, lo cual se debe a la forma de la semilla (figura 2).

Figura 2. Capas celulares de cubierta seminal de Prosopis glandulosa



Fuente: elaboración propia.

Tribu Acacieae: Vachellia pennatula

Cutícula: tiene una superficie con agrietamientos longitudinales, transversales y de esquina, es la capa más delgada de la cubierta seminal.

Macroesclereidas: dos niveles de células alargadas, gruesas y compactas acomodadas verticalmente, hay un grosor distinto en ambos niveles, es fibrosa, compacta y la segunda capa de mayor grosor.

Parénquima esponjoso: capa de mayor grosor de la cubierta seminal de esta especie, se aprecia en bloques

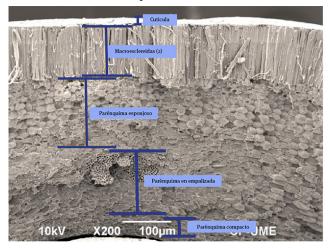
DOI: 10.22201/enesl.20078064e.2021.23.79675

compactos.

Parénquima en empalizada: tercera capa de mayor grosor de la cubierta seminal, con bloques alargados v compactos.

Parénquima compacto: es la cuarta capa de mayor grosor de la cubierta seminal de esta especie, con estructura de bloques redondeados y compactos, y la que está junto al embrión (figura 3). La estructura de la cubierta seminal de esta y las demás especies de Vachellia y Prosopis muestra correspondencia con la referida por Illescas-Gallegos et al. (2021) para muestras de las mismas procedencias.

Figura 3. Capas celulares de cubierta seminal de Vachellia pennatula



Fuente: elaboración propia.

Tribu Phaseoleae: Mucuna sp.

Cutícula: tiene una superficie lisa con textura agrietada y presenta agrietamientos longitudinales, transversales y de esquina, es la capa más delgada de la cubierta seminal.

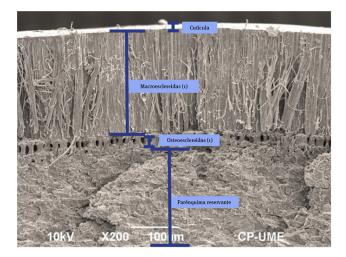
Macroesclereidas: un nivel de líneas de células alargadas, gruesas y compactas acomodadas verticalmente, la textura de esta capa es fibrosa y es la segunda de mayor grosor en la cubierta seminal de esta especie.

Osteoesclereidas: una capa de células columnares en forma de huesos ensanchados en las bases; acomodadas en un solo nivel, es la tercera capa más gruesa.

Parénquima reservante: capa de mayor grosor de la cubierta seminal de esta especie, su estructura compacta semeja una pared rocosa. Su grosor puede variar en diferentes áreas de la semilla, debido al cambio de forma de esta (figura 4).



Figura 4. Capas celulares de cubierta seminal de Mucuna sp.



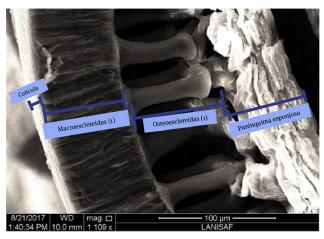
Fuente: elaboración propia.

Tribu Genisteae: Lupinus montanus

Cutícula: tiene una superficie lisa con pequeñas formas semicirculares aglomeradas, es la capa celular más delgada de la cubierta seminal.

Macroesclereidas: un nivel de líneas de células alargadas y compactas acomodadas verticalmente, que forman un tejido fibroso, al verlas con detalle parecen ser huecas. Osteoesclereidas: capa de células columnares en forma de hueso, extremos ensanchados, acomodadas en un solo nivel, es la capa de mayor grosor. Observándolas a detalle en otras imágenes obtenidas también son huecas. Parénquima esponjoso: es la tercera capa en grosor de esta cubierta seminal, su estructura compacta recuerda hojuelas de maíz (figura 5).

Figura 5. Capas celulares de cubierta seminal de Lupinus montanus



Fuente: elaboración propia.

Tribu Caesalpinieae: Delonix regia

Cutícula: tiene una superficie con textura que recuerda un terreno con dunas y presenta agrietamientos longitudinales, transversales y de esquina; es la capa más delgada de la cubierta.

Macroesclereidas: líneas de células alargadas, gruesas y compactas acomodadas verticalmente, es posible apreciar dos niveles de estas células empalmadas, la estructura es fibrosa y compacta. Tercera capa de mayor grosor.

Osteoesclereidas: dos niveles de capas de células columnares en forma de hueso, extremos ensanchados, la cuarta de mayor grosor.

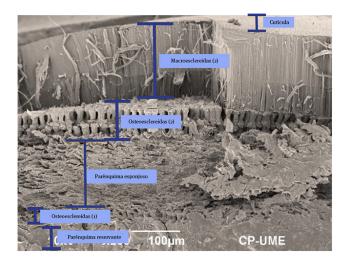
Parénquima esponjoso: es la segunda capa de mayor grosor, su estructura recuerda a hojuelas de maíz acomodadas horizontalmente y compactas.

Osteoesclereidas: un nivel de capas de células columnares en forma de hueso, extremos ensanchados, es la quinta capa de mayor grosor.

Parénquima reservante: capa compacta, la cual es la de mayor grosor de la cubierta seminal de la especie, si bien el grosor varía en diferentes áreas de la semilla a causa de la forma de esta (figura 6).



Figura 6. Capas celulares de cubierta seminal de Delonix regia



Fuente: elaboración propia.

Tribu Ingeae: Enterolobium cyclocarpum (recolectada en 2019 en Tamuín, San Luis Potosí)

Cutícula: tiene una superficie de textura rugosa y agrietada, longitudinal y transversalmente, es la capa más delgada.

Macroesclereidas: líneas de células alargadas, gruesas y compactas acomodadas verticalmente, fibrosas, es posible apreciar dos niveles empalmados.

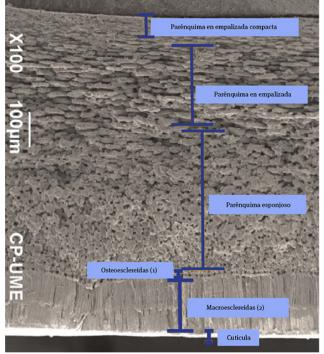
Osteoesclereidas: capa de células columnares en forma de hueso, ensanchados en las bases, acomodado en un solo nivel; quinta capa en grosor.

Parénquima esponjoso: capa más gruesa de la cubierta, su estructura es esponjosa.

Parénquima en empalizada: segunda capa de mayor grosor de la cubierta seminal, con pequeñas formas en bloques alargados, acomodadas horizontalmente.

Parénquima en empalizada compacto: cuarta capa de mayor grosor de la cubierta seminal de esta especie, con bloques alargados, acomodados horizontalmente, es compacta (figura 7).

Figura 7. Estructuras de la cubierta seminal de Enterolobium cyclocarpum (recolectada en 2019 en Tamuín, San Luis Potosí)



Fuente: elaboración propia.

Tribu Ingeae: Enterolobium cyclocarpum (recolectada en 1983 en Acapetahua, Chiapas)

Cutícula: tiene una superficie lisa y con leves hundimientos, es la capa celular más delgada de la cubierta seminal.

Macroesclereidas: un nivel de células alargadas, gruesas y compactas acomodadas verticalmente, la estructura es fibrosa y se aprecian pequeños espacios vacíos, es la tercera capa en grosor.

Osteoesclereidas: una capa de células columnares en forma de hueso, ensanchadas en las bases, acomodadas en un solo nivel, es la quinta capa más gruesa.

Parénquima esponjoso: es la segunda capa de mayor grosor de la cubierta seminal de esta especie, su estructura es cavernosa.

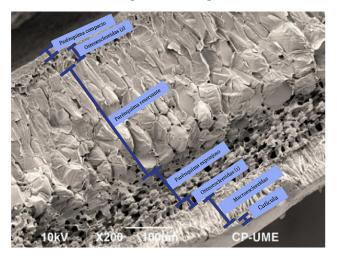
Parénquima reservante: capa de mayor grosor de la cubierta seminal, su estructura recuerda hojuelas de maíz acomodadas de manera vertical y compactas.

Osteoesclereidas: son dos niveles de capa de células columnares en forma de hueso, ensanchados en las bases, es la segunda capa más cercana al embrión. Esta



especie en total presenta tres capas de osteosclereidas. Parénquima compacto: es la sexta capa de mayor grosor, con textura ondulada, superficie lisa y compacta (figura 8).

Figura 8. Estructuras de la cubierta seminal de Enterolobium cyclocarpum (recolectada en 1983 en Acapetahua, Chiapas)



Fuente: elaboración propia.

Al observar las figuras 7 y 8 es notoria la diferencia que presenta la cubierta seminal de ambas muestras de semillas de la misma especie, esto se debe a que son especies de distinta procedencia y años de recolección. Para Enterolobium cyclocarpum recolectada en 1983 en Chiapas, la estructura y diferenciación de capas celulares con alta probabilidad está ligada al tiempo que estuvo almacenada (37 años), pues es inminente la deshidratación de la cubierta seminal. Al momento de obtener la muestra se observaron los cotiledones húmedos, probablemente fue una semilla con viabilidad después de tanto tiempo. Para Enterolobium cyclocarpum recolectada en 2019, no se aprecia esa marcada diferenciación entre capas, lo cual puede relacionarse con el breve tiempo desde la recolección y la mayor humedad que la cubierta conservaba, aunque siempre a bajo nivel, pues se trata de tejidos protectores. Los organismos de una misma especie muestran variación en sus distintos caracteres, entre sitios y a veces entre años, conforme a las condiciones climatológicas imperantes, entre otros factores. Es posible que las diferencias observadas en esta especie obedezcan a dicha variabilidad, relacionada con la recolección en distintas procedencias y años. Se proporciona un resumen de las capas celulares presentes en la cubierta seminal de cada una de las especies observadas y comparadas con *E. cyclocarpum* (tabla 5).

Tabla 5. Tejidos vegetales presentes en la cubierta seminal de las especies analizadas

ESPECIE	Cutícula	Macroesclereidas	Osteoesclereidas	Parénquima esponjoso	Parénquima en empalizada	Parénquima en empalizada compacto	Parénquima reservante	Parénquima compacto	Capas presentes en cubierta seminal
Enterolobium cyclocarpum (2016)	P	PP	P	P	P	P			7
Enterolobium cyclocarpum (1983)	P	P	PPP	P			P	P	8
Ebenopsis ebano	P	PP	P	P	P	P			7
Prosopis glandulosa	P	PP	PP	P			P		7
Prosopis laevigata	P	PP	PP	P			P		7
Mimosa caesalpiniifolia	P	PP	P				P		5
Vachellia farnesiana	P	PP		P	P			P	6
Vachellia schaffneri	P	P		P	P			P	5
Vachellia pennatula	P	PP		P	P			P	6
Erythrina coralloides	P	P		P				P	4
Mucuna sp.	P	P	P				P		4
Lupinus montanus	P	P	P	P					4
Lupinus sp.	P	PP	P				P		5
Delonix regia	P	PP	PPP	P			P		8

Nota: P = capa de tejido vegetal presente en la cubierta seminal.

Fuente: elaboración propia.



# Análisis proximal

El análisis proximal (tabla 6) se realizó para explorar la presencia del porcentaje de lignina en la cubierta seminal, estructura de la semilla a la cual se enfocó el estudio. El análisis fue realizado por separado para cubierta seminal y cotiledones. En cotiledones la presencia de lignina es muy baja en base seca (BS) y base húmeda (BH) (1.30 y 1.21 %, respectivamente). Sin embargo, en la cubierta seminal se aprecian valores para la lignina de 21.00 y 18.90 % en base seca y base húmeda, respectivamente. Es de notarse que variables como fibra cruda (BS: 28.67 %; BH: 25.81 %), fibra detergente neutro (BS: 65.54 %; BH: 58.98 %) y fibra detergente ácido (BS: 46.08 %; BH: 41.47 %), tanto en base húmeda como seca, superan notablemente a los resultados obtenidos para los cotiledones.

Tabla 6. Resultado de análisis proximal de cotiledones y cubierta seminal de E. cyclocarpum

	Cotil	edones	Cubierta seminal Base		
	В	ase			
	Seca (%)	Húmeda (%)	Seca (%)	Húmeda (%)	
Humedad (H)	0.00	6.32	0.00	10.00	
Materia seca (MS)	100.00	93.68	100.00	90.00	
Cenizas (Cen)	3.36	3.15	5.23	4.71	
Materia orgánica (MO)	96.64	90.52	94.77	85.29	
Proteína cruda (PC)	26.08	24.43	3.74	3-37	
Extracto etéreo (EE)	1.84	1.73	2.49	2.24	
Fibra cruda (FC)	2.66	2.49	28.67	25.81	
Extracto libre de nitrógeno (ELN)	45.24	42.38	23.00	20.70	
Fibra detergente neutro (FDN)	23.47	21.98	65.54	58.98	
Fibra detergente ácido (FDA	4.63	4.34	46.08	41.47	
Lignina (L)	1.30	1,21	21.00	18.90	

Fuente: elaboración propia.

Las partes digeribles (de la semilla) por los rumiantes son la celulosa y hemicelulosa de la pared celular no unidas a la lignina, involucrada directamente con la dureza de una semilla y con su latencia física (Supratman et al., 2020). Cuando un rumiante ingiere este tipo de semillas normalmente no pueden digerirlas del todo a causa de la lignina y el paso por los jugos gástricos del tracto digestivo del animal representa un tratamiento escarificatorio natural. De forma similar, un análisis histoquímico realizado en semillas de Sophora tomentosa y Erythrina speciosa demostró que la región hiliar de ambas especies se encuentra principalmente compuesta de lignina en la parte superior de estas células (Luzia et al., 2015). Entre las capas celulares de la cubierta seminal detectadas en ambas especies de E. cyclocarpum se encuentran capas de osteoesclereidas semejantes a columnas ensanchadas en los extremos;

probablemente en los extremos de las osteoesclereidas es donde se concentraba parte de la lignina que fue determinada por el análisis proximal. "Desde el punto de vista fisiológico y químico, el mecanismo de latencia física por la cubierta seminal se explica por la mayor cantidad de componentes con características que repelen el agua y son cementantes, tales como polifenoles, ligninas, taninos condensados y sustancias pécticas, y menor proporción de celulosa y hemicelulosa" (Galussi et al., 2015, p. 4). Sin embargo, debe considerarse que la lignina se encuentra distribuida en las diferentes capas celulares de la cubierta.

Aunque en el presente estudio no se compararon especies en su composición química, la variabilidad de esta en las semillas es alta. Por ejemplo, semillas del género Lupinus tuvieron niveles de proteínas más altos que las de Vicia faba L., Cicer arietinum L., Lathyrus sativus L. y Pisum sativum L. (Grela et al., 2017).

### **CONCLUSIONES**

Se observó variabilidad en el número y tipo de capas presentes en la cubierta seminal de las 13 especies estudiadas y también en la de dos procedencias y diferentes años de recolección de E. cyclocarpum. Esta evidencia, más la variabilidad en la efectividad del tratamiento escarificatorio de inmersión en agua hirviendo y remojo por 24 horas de la semilla del presente estudio con respecto a otra investigación, revelan que hay variabilidad en las características de la cubierta seminal y en la intensidad de la latencia física de las leguminosas estudiadas, pues finalmente la cubierta seminal y la intensidad de su latencia física son caracteres variables en respuesta a la variabilidad del ambiente físico y biótico en espacio y tiempo. El análisis químico reveló abundancia de lignina, que sin duda contribuye también a conferir dureza a los tejidos de la cubierta seminal.



# AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca para la realización de la Maestría en Ciencia, y por la beca Apoyos Complementarios para Mujeres Indígenas otorgada para la realización de este estudio. A la dirección General de Investigación y Posgrado (DGIP) y la Maestría en Conciencia en Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo, por el apoyo otorgado durante el desarrollo de este proyecto. Al Biól. Simón Morales Rodríguez y a la Unidad de Microscopía Electrónica del Colegio de Postgraduados, por la obtención de las imágenes de microscopía electrónica. Al Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal de la UACH, por la figura 5.

### REFERENCIAS

- Affonso-Sampaio, D., Dos Santos-Abreu, H., Silveira-Augusto, L.D., Da Silva, B., y Marcela-Ibanez, C. (2016). Perfil lignoídico del tegumento de semillas de Araucaria angustifolia. Bosque, *37*(3), 549-555. https://doi.org/10.4067/ S071792002016000300012
- Arreola J., Pimentel, L., Rodríguez-Trejo, D. A., Arteaga, B., Guízar, E., y Aguilera, A. (2021). Enterolobium cyclocarpum (Jacq.) Griseb (Mimosaceae). En D. A. Rodríguez-Trejo (Coord.), Semillas de especies forestales (pp. 101-108). México: UACH.
- Bonawitz, N., y Chapple, C. (2010). The genetics of lignin biosynthesis: connecting genotype to phenotype. Annual Review of Genetic, 44, 337-363. DOI: 10.1146/annurev-genet-102209-163508
- Castillo, R., y Guenni, O. (2001). Latencia en semillas de Stylosanthes hamata (Leguminosae) y su relación con la morfología de la cubierta seminal. Revista de Biología Tropical, 49(1), 287-299. Recuperado de https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/ article/view/16929/16386
- Di Santo, L., Polgar, M., Nies, S., Hodgkiss, P., Canning, C., Wright, J., y Hamilton, J. (2021). Seed morphology and emergence varaibility in a conservation collection of Pinus torreyana. AoBP PLANTS, 13(5), 1-11. https://doi.org/10.1093/aobpla/plab058
- Galussi, A.A., Argüello, J.A., Cerana, M.M., Maximino, M., y Moya, M.E. (2015). Características anatómicas y químicas del tegumento seminal de Medicago sativa L. (alfalfa) cv. Baralfa 85 y su asociación con la dormición. Phyton, 84(1), 163-175. Recuperado de: https://ri.conicet.gov.ar/ bitstream/handle/11336/38236/CONICET\_Digital\_ Nro.a09261b9-a7f6-438e-97d5-a3998b4e1832 A. pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Grabber J.H. (2005). How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. Crop Science, 45(3), 820-831. http://dx.doi.org/10.2135/ cropsci2004.0191
- Grela, E., Kiczorowska, B., Samolinska, W., Matras, J., Kiczorowski, P., Rybinski, W., y Hanczakowska, E. (2017). Chemical composition of leguminous seeds: part I -content of basic nutrients,

- amino acids, phytochemical compounds, and antioxidant activity. European Food Research and Tech-nology, 243, 1385-1395. https://doi. org/10.1007/s00217-017-2849-7
- Illescas-Gallegos, E., Rodríguez-Trejo, D. A., Villanueva-Morales., A., Borja-De la Rosa, M., Ordóñez-Candelaria, V., y Ortega-Aragón, L. (2021). Factores ante los que funciona la latencia física y su eliminación en dos géneros de leguminosas. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 27(3), 413-429. http://dx.doi. org/10.5154/r.rchscfa.2020.06.041
- Lagunes-Fortiz, E., y Zavaleta-Mejía, E. (2016). Función de la lignina en la interacción planta-nemátodos endoparásitos sedentarios. Revista Mexicana de Fitopatología, 34(1), 43-63. https://doi. org/10.18781/R.MEX.FIT.1506-7
- Leython, S., y Jáuregui, D. (2008). Morfología de la semilla y anatomía de la cubierta seminal de cinco especies de Calliandra (Leguminoseae-Mimosoideae) de Venezuela. Revista de Biología *Tropical*, 56(3), 1075-1086. Recuperado de https:// www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v56n3/art09v56n3.pdf
- Luzia, C., Souza, A., Santos, M., y Silveira, M. (2015). Dormancy-breaking requirements of Sophora tomentosa and Erythrina speciosa (Fabaceae) seeds. Revista de Biología Tropical, 63(1), 285-294. https://doi.org/10.15517/rbt.v63i1.13903
- Marques, B., De Oliveira, C., Vitti, F., y Daiton, R. (2018). Seed anatomy and water uptake and their relation to seed dormancy of *Ormosia paraensis* Ducke. Journal of Seed Science, 40(3), 237-245. https:// doi.org/10.1590/2317-1545v40n3177599
- Pérez-Cortéz, S., Escala, M., y Tillett, S. (2005). Anatomía de la cubierta seminal de ocho especies de Passiflora I., subgénero Passiflora. Acta Botanica Venezuelica, 28(2), 337-348. Recuperado de https://www.redalyc.org/pdf/862/86228210.pdf
- Supratman, H., Ismiraj, M.R., y Mayasari, N. (2020). Effects of probiotic supplementation to diets on apparent fibre digestibility in Indonesian thintailed rams. Acta Agriculturae Scandinavica. Section A, Animal Science, 69(4), 233-238. https:// doi.org/10.1080/09064702.2020.1807594
- Steinbrecher, T., v Leubner-Metzger, G. (2018). Tissue and cellular mechanics of seeds. Current Opinion

- in Genetics & Development, 51, 1-10. DOI: 10.1016/j. gde.2018.03.001
- Vozzo, J.A. (Ed.) (2010). Manual de semillas de árboles tropicales. Recuperado de https://rngr.net/ publications/manual-de-semillas-de-arbolestropicales/completo/at\_download/file



### NOTAS DE AUTOR

Maestra en Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. Líneas de investigación: semillas forestales. Correo electrónico: soniahdze@ gmail.com

ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6226-996X

b Doctor en Ciencias por la Universidad de Florida, Maestro en Ciencias por el Colegio de Postgraduados. Profesor-Investigador en la Universidad Autónoma Chapingo. Líneas de investigación: semillas forestales, viveros y reforestación, restauración de ecosistemas forestales, ecología del fuego, manejo del fuego. Investigador Nivel 2 del SNI. Correo electrónico: dantearturo@yahoo.com. Autor de correspondencia.

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1407-8365

# Últimas publicaciones:

- Ponce- Calderón, L. P., Rodríguez-Trejo, D. A., Villanueva-Díaz, J., Bilbao, B.A., Álvarez-Gordillo, G. D. C., y Vera-Cortés, G. (2021). Historical fire ecology and its effect on vegetation dynamics in the Lagunas de Montebello National Park, Chiapas, México. iForest, 14, 548-559. https://doi. org/10.3832/ifor3682-014
- Aparicio-Lechuga, M., Lara-Bueno, A., Rodríguez-Trejo, D. A., Uribe-Gómez, M., Valencia-Trejo, G. M., y López-Ordaz, R. (2021). Effects of the silvopastoralism with sheep in the regen-eration and survival of Abies hickelii (Flous and Gaussen). Agroforestry Systems. https://doi.org/10.1007/s10457-021-00711-W
- De Jesús-Albino, F., Ignacio-Hernández, R., Rodríguez-Trejo, D. A., y Mohedano-Caballero, L. (2021). Calidad de planta de Quercus rugosa Née en vivero. Revista Mexicana de Ciencias Forestales, 12(67), 147-167. https:// doi.org/10.29298/rmcf.v12i67.967

<sup>c</sup> Doctor en Ciencias por la Pacific Western University, Maestro en Ciencias por la Universidad Nacional Autónoma de México. Profesor-Investigador en la Universidad Autónoma Chapingo. Líneas de investigación: ecología forestal. Investigador Nivel 1 del SNI. Correo electrónico: didorog@hotmail.com

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6739-8573

# Últimas publicaciones:

- Santos-Hernández, A. F., Monterroso-Rivas, A. I., Granados-Sánchez, D., Villanueva-Morales, A., y Santacruz-Carrillo, M. (2021). Projections for Mexico's tropical rainforests considering ecological niche and climate change. Forests, 12(2), 119. https://doi.org/10.3390/f12020119
- Díaz-Reyes, C., Granados-Sánchez, D., Uribe-Gómez, M., Rodríguez-Trejo, D. A., y Granados Victorino, R. L. (2020). Ordenación de la vegetación de las sierras y llanuras occidentales municipio de Catorce, San Luis Potosí. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, https://doi.org/10.29312/ 11(4), 713-725. remexca.v11i4.2459
- López-Arce, L., Ureta, C., Granados-Sánchez, D., Rodríguez-Esparza, L., y Monterroso-Rivas, A. (2019). Identifying cloud forest conservation areas in Mexico from the potential distribution of 19 representative species. *Heliyon*, 5(3), 1-21. e01423. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019. e01423
- d Doctor en Ciencias y Maestro en Ciencias por el Colegio de Postgraduados. Profesor-Investigador en la Universidad Autónoma Chapingo. Líneas de investigación: estadística, matemática e informática. Correo electrónico: jcadenam@ chapingo.mx

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9188-1493

Últimas publicaciones:

- Marín-Cruz., V. H., Cibrián-Tovar, D., Méndez-Montiel, J. T., Pérez-Vera, O. A., Cadena-Meneses, J. A., Huerta, H., Rodríguez-Yam, G., y Cruz-Rodríguez, J. A. (2015). Biología de Lycoriella ingenua y Bradysia impatiens (Dipetera: Sciaridae). Madera y Bosques, 21(1), 113-128. Recuperado de http://www. scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\_arttext& pid=S1405-04712015000100009
- Marín-Cruz, V. H., Cibrián-Tovar., D., Méndez-Montiel., J. T., Pérez-Vera, O. A., y Cadena-Meneses, J. A. (2015). Control del mosco fungoso negro, Lycoriella ingenua (Dufour, 1839) y *Bradysia impatiens* (Johannsen, 1912) (Dipteria: Sciaridae) en Pinus montezumae Lamb. Revista Mexicana de Ciencias Forestales, 6(27), 90-101. Recuperado de http://www. scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\_arttext& pid=S2007-11322015000100008
- Maldonado-Simán, E., Bernal-Alcántara, R., Cadena-Meneses, J. A., Altamirano-Cárdenas, J. R., y Martínez-Hernández, P. A. (2014). Implementation of quality systems by Mexican exporters of processed meat. Journal of Food Production, 77(12), 2148-2152. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-14-003