

## CAPITULO 1

### INTRODUCCION

#### 1.1 Importancia del estudio

En la tierra existen plantas que el hombre utiliza desde hace millones de años para diversos fines; las hay de uso alimenticio, medicinales, ornato, maderables, etc. Algunos de sus beneficios los obtiene directamente de plantas silvestres, en cambio otras plantas requieren de su cultivo para que sean utilizadas en su provecho. En plantas medicinales, cuando se utilizan directamente por la población con tan solo la costumbre como antecedente de uso, frecuentemente ocasionan más problemas que aquellos que se busca solucionar, por ejemplo, Woodward (1986), en el prefacio de su guía de plantas venenosas menciona que: “(...), *Delphinium*, o espuela de caballero, y los colgantes racimos del *Laburnum* o codeso pueden ser curativos para los ojos, pero la (situación) cambia si entran en contacto con el estómago”.

Dentro del grupo de plantas venenosas se conocen algunas especies del género *Karwinskia* ; la población conoce sus efectos por los daños ocasionados en humanos y en ganado (caprino principalmente). Ya en 1789 Clavijero menciona que en la península de California crece un arbusto “(...), cuyo fruto es redondo, del tamaño de un garbanzo, y negro cuando está maduro. Los indios se abstienen de (comerlo) porque saben que es muy nocivo...sin embargo, los pericúes comen el fruto sin que les haga daño, quitándole primero la semilla, en la cual, según ellos dicen, consiste todo el mal”, (Clavijero, 1982).

En México se siguen reportando casos de intoxicación por la ingesta de frutos de *Karwinskia*; los daños van desde neuralgias, vómitos, diarrea y, en casos más severos, parálisis ascendente (semejante a la enfermedad de Guillian Barré) y ocasionalmente la

muerte por paro respiratorio, (Martínez *et al.*, 1987; Martínez y Piñeyro, 1987; Bermúdez *et al.*, 1989; Bermúdez *et al.*, 1995a; Bermúdez *et al.*, 1995b).

Otros autores han estudiado órganos en humanos que se ven afectados como consecuencia de la ingesta del fruto, así como la forma de diagnosticar de la mejor manera las intoxicaciones y, con ello, evitar las confusiones que se presentan en el diagnóstico con otro tipo de polineuropatías como la enfermedad de Guillian Barré, (Torres *et al.*, 1987; Soto *et al.*, 1990).

Dreyer *et al.*, 1975, reportaron cuatro antracenonas diméricas, sintetizadas por plantas del género *Karwinskia*, a las que denominaron en función de su peso molecular: T-496, T-514, T-516 y T-544.

La T-514 es una sustancia de efecto citotóxico selectivo; con mayor intensidad en células malignas, (Piñeyro, 1990).

De acuerdo con algunos reportes experimentales, los animales de laboratorio que reciben como tratamiento grandes cantidades de fruto mueren por daño a órganos parenquimatosos, principalmente pulmón e hígado, y no hay variación en los efectos toxicológicos entre rata, ratón, hamster y cobayo, aunque son diferentes en cuanto a sensibilidad en función de la dosis y tiempo de intoxicación con T-514, (Salazar *et al.*, 1988; Garza *et al.*, 1989).

Se han probado dosis, vías de suministro y diversos tiempos de exposición a la intoxicación, entre ellos destacan los estudios sobre el efecto *in vitro* de la T-514 en células humanas de origen hepático, pulmonar y de colon, donde resultó que: "(...), con la Peroxisomicina existe Toxicidad Selectiva entre las células de origen benigno y maligno siendo estas últimas significativamente más sensibles que las primeras", (Martínez *et al.*, 1990a, \_\_1990b; \_\_1990c).

En otro estudio se compararon los efectos citotóxicos de la T-514 con 4 antineoplásicos de acción conocida y se encontró que las células de origen neoplásico son "(...) notoriamente más sensibles a la acción de la T-514, sin que se observe el mismo efecto con los otros agentes citotóxicos (...), de tal forma que puede justificarse su potencial uso clínico", (Piñeyro *et al.*, 1989).

## 1.2. Los problemas a resolver y su implicación

El material vegetal con que se trabajó al inicio de las investigaciones químicas y clínicas tuvo su origen de plantas de crecimiento silvestre de los municipios aledaños a la ciudad de Monterrey, N.L., (Piñeyro, A., 1991. Com. pers.\*). A medida que se avanzó en las investigaciones químicas y clínicas, surgió el problema del desabasto de la T-514 como consecuencia de la escasez de fruto. Entre las causas se mencionaron:

- a) Variabilidad intra e interespecífica en cantidad y calidad de la substancia de interés, (Waksman, N., 1991. Com. pers.\*\* ; Waksman *et al.*, 1991; Waksman *et al.*, 1997);
- b) Baja cantidad de T-514 en las poblaciones regionales de *Karwinskia*, (Piñeyro, L. A., Com. pers.\*);
- c) Los lugares de interés que presentan densidades de población con las concentraciones de la T-514 relativamente mayores se encuentran en los estados de Sonora y Sinaloa, lo que dificulta su transporte y eleva los costos de operación a causa de su lejanía, (Waksman, Com. pers.\*\*; Luján *et al.*, 1992b);
- d) Se requieren alrededor de 15 kilogramos de fruto seco para la obtención de un gramo purificado de la T-514, lo que impondría el requerimiento de grandes cantidades de fruto o bien, mejorar la productividad o ambos casos a la vez, (Piñeyro, Com. pers.)\*.

A causa del desabasto de T-514 por las razones antes mencionadas y con el propósito de producir materia prima para la extracción y purificación de esta substancia; se iniciaron actividades de introducción y domesticación de especies del género *Karwinskia* desde 1991 a la fecha. En 1993 se presentó la floración y fructificación en el vivero del Departamento de Farmacología y Toxicología (DFT) de la Facultad de Medicina de la U. A. N. L., (Luján *et al.*, 1993a).

(\*) - Jefe del Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la U. A. N. L.

(\*\*) - Maestra del Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la U. A. N. L.

En plantas silvestres la floración se activa con la precipitación pluvial del inicio de la temporada lluviosa y, siendo ésta generalizada, el crecimiento y la maduración del fruto ocurre en un corto período de tiempo; en el vivero se observó que mientras se mantuviesen condiciones de humedad y temperatura relativamente elevadas, la floración y fructificación persiste con diferente intensidad de producción a través del tiempo. También se observó una gran variabilidad en el tamaño de los frutos cosechados en diferentes ambientes y especies cultivadas; además, se conoce que la máxima concentración de la T-514 se da en la semilla y, por ello, a los frutos se les elimina el epicarpio y mesocarpio a fin de extraerles la sustancia a partir del endocarpio. Respecto al manejo del fruto entre el tiempo de la cosecha y su procesamiento, resultaría incierto prever el tiempo de almacenamiento así como sus efectos sobre el contenido de la sustancia de interés. Por lo anterior, se resumen los siguientes problemas para resolver a través de esta investigación:

- 1.- ¿ La concentración de la T-514 (PA1) para un período específico sería coincidente con la proporción de fruto cosechado durante ese mismo período ?.
- 2.- ¿Cuál sería la relación entre el tamaño y/o peso del fruto entero o en hueso con la máxima concentración de la T-514 (PA1) ?.
- 3.- ¿ Bajo qué condiciones de cultivo se daría la mayor concentración de T-514 (PA1) ?.
- 4.- ¿ Qué especie sintetizaría mayor cantidad de T-514 (PA1) ?.
- 5.- ¿ Cuánto tiempo se prolongaría el almacenamiento de los frutos sin deterioro de la concentración de la T-514 (PA1) en la semilla ?.

Considerando la posibilidad del éxito en la obtención de la T-514 (PA1) a través del cultivo de las plantas del género *Karwinskia* en las cantidades requeridas a futuro por la ciencia médica, los objetivos e hipótesis de esta investigación fueron los siguientes:

### **1. 3.- Objetivos**

- 1.- Determinar el período de cosecha en función de la máxima concentración de PA1.
- 2.- Comparar el contenido de PA1 entre frutos chicos y grandes y seleccionar los más apropiados para las extracciones de la PA1.
- 3.- Comparar condiciones de riego e intensidad de luz sobre la síntesis de PA1.
- 4.- De las plantas cultivadas, identificar la especie más productiva de la PA1 y seleccionarla para su cultivo de manera extensiva.
- 5.- Verificar cambios en la concentración de la PA1 por efecto de almacenamiento del fruto y, de manera sistemática, continuar su análisis químico a través del tiempo.

### **1. 4.- Hipótesis de trabajo**

- 1.- La concentración de antracenas en la semilla es afectada por la estación de crecimiento del fruto, por lo tanto el tiempo de cosecha puede determinar la máxima concentración de PA1.
- 2.- El tamaño del fruto afecta la concentración de PA1, por lo tanto el tamaño de corte es importante en su concentración. A mayor tamaño del fruto habría mayor contenido de PA1.
- 3.- El manejo en la producción influye en el rendimiento de las plantas, por lo tanto el riego y al luz afectan la síntesis de la PA1.
- 4.- *Karwinskia* presenta diferencias interespecíficas en la síntesis de la PA1, por lo tanto es importante evaluar cultivares específicos.
- 5.- El tiempo de almacenamiento del fruto modifica la concentración de antracenas, por lo tanto el período de tiempo tiene influencia sobre las proporciones relativas de antracenas contenidas en el fruto.

## CAPITULO 2

### REVISION BIBLIOGRAFICA

#### 2.1 Substancias químicas en *Karwinskia*

Un grupo de investigadores de diversas instituciones educativas nacionales y extranjeras participa en el estudio de algunas sustancias químicas sintetizadas por estas plantas y su posible uso farmacológico en el tratamiento de algunos tipos de cáncer, (Piñeyro, 1991. Com. pers.).

Como se mencionó anteriormente, Dreyer *et al.*, 1975, reportaron cuatro antracenonas diméricas sintetizadas por plantas del género *Karwinskia*, a las que denominaron en función de su peso molecular: T-496, T-514, T-516 y T-544.

En frutos de *Karwinskia parvifolia* se demostró la presencia de un diastereoisómero de T-514, un compuesto no descrito anteriormente en la literatura, (Waksman y Ramírez, 1988; Waksman N. and R. Ramírez, 1992).

#### 2.2 Aspectos fitoquímicos

Las plantas medicinales contienen alcaloides, glicósidos, aceites volátiles (esenciales), resinas y oleorresinas. Por ejemplo: *Rhamnus purshiana* y *Rhamnus frangula*, de la familia *rhamnaceae*, contienen antraquinona, (Enciclopedia de las Ciencias Naturales, 1989. Tomo 3).

Shaver (1966). Kim y Camp (1972), citados por Fernández (1988); mencionan que: "(...), el componente neurotóxico (de las plantas) se encuentra contenido en un polvo amarillento obtenido a partir de semillas de *K. humboldtiana*".

Algunos investigadores trabajaron con materiales recolectados por el biólogo Rafael Fernández Nava durante los meses de octubre y diciembre de 1984.

<u>ESPECIES</u>	<u>ORIGEN</u>
<i>K. mollis</i> ,	Querétaro
<i>K. umbellata</i> ,	Morelos
<i>K. rzedowskii</i> ,	Jalisco
<i>K. affin humboldtiana</i>	Puebla
<i>K subcordata</i>	Hidalgo

Se realizaron estudios comparativos de letalidad en ratones cepa CD<sub>1</sub> y a las mismas dosis trabajadas con *K. humboldtiana*. Paralelamente se cuantificó el porcentaje de toxinas en cada una de las plantas por medio del método de espectrofotometría de capa delgada y no se encontró relación directa entre el contenido de toxinas y la toxicidad de las distintas plantas, por lo que recomendaron proseguir con el estudio fitoquímico de las mismas, (Martínez *et al.*, 1985).

También se menciona que el 'capulincillo de Querétaro' contiene las siguientes sustancias: "materia grasa, resina ácida, materia colorante amarilla, tanino, glucosa. ácidos sulfúrico, clorhídrico, fosfórico y racémico; fierro y huellas de litina", Culty (1887), citado por Fernández, (1988. *Op. cit.*).

Se trabajó con nueve especies de *Karwinskia* y se observó que: "(...) todas las especies estudiadas se caracterizaron por la presencia de al menos uno de los compuestos antracenónicos diméricos, (...). También se pudo demostrar que el compuesto T-544 es responsable de los efectos neurológicos; el compuesto T-514 de las lesiones pulmonares y finalmente el compuesto T-496 únicamente produce diarrea, (...); (y demostraron que) hay diferencias en contenido de toxinas, (...). *K. humboldtiana*, *K. mollis*, *K. umbellata*, *K. subcordata* y *K. calderoni*, contienen los tres tipos de toxinas estudiadas, T-544, T-514 Y T-496, mientras que *K. latifolia* y *K. parvifolia* presentan únicamente T-514 y T-496, finalmente, *K. rzedowskii* y *K. venturae* presentan únicamente el compuesto T-496; (observaron) una buena correlación entre contenido de toxinas y toxicidad, (...). *K. parvifolia* resultó ser la más tóxica de las especies", (Fernández, 1988. *Op. cit.*).

Se realizó un estudio cuyo objetivo fue determinar cualitativa y cuantitativamente la

proporción de aceites en el fruto verde y maduro de *K. humboldtiana*, *K. umbellata*, *K. subcordata*, *K. affin humboldtiana* y *K. mollis*, partiendo del supuesto de que se resolvería la interrogante acerca de la relación inversa que existe entre el porcentaje de toxinas y el grado de toxicidad para las diferentes especies. Los distintos tipos de lípidos presentes en cada especie se estudiaron por cromatografía en capa fina y la composición de los ácidos grasos la estudiaron por cromatografía de gas-líquido (usando la fase SP2330), (Castillo y Waksman, 1985).

En otra investigación se mencionó que para un mejor aprovechamiento del fruto a través del proceso de purificación: “(...), es necesario establecer los lugares y temporadas de recolección del fruto verde de *Karwinskia humboldtiana* con un alto contenido de T-514... y agregan que: “(...) existe variación en el contenido de T-514, (...). Los frutos que crecen en zonas desérticas presentan un mayor contenido de toxina 514 que los de las zonas húmedas. Los frutos de Garza García se cuantificaron a diferentes tiempos y se observó cómo en el transcurso de las semanas aumentó la concentración de un compuesto con fluorescencia amarilla de Rf menor a la toxina, (...)”, (Martínez *et al.*, 1989).

Otros autores también trabajaron con especies del género *Karwinskia* y se encontró que: “(...) en la mayor parte de las plantas, y en especial en *K. humboldtiana*, fue significativo el alto porcentaje de ácido linolénico” y se ubicó al aceite dentro del grupo de los aceites semisecantes, (Castillo *et al.*, 1989).

En otro estudio se observó que: “durante el desarrollo del estudio de degradación de la toxina 496 (*K. humboldtiana*), se observó que ésta, a pH alcalino, se transforma en otro compuesto en un tiempo relativamente corto. El producto de transformación presenta un Rf semejante a la T-544 (*K. humboldtiana*), de color amarillo, fluorescencia negra y es más estable que la T-496, (Martínez y Waksman, 1989a *Op. cit.*). La T-544 es la toxina más estable, la más abundante y de más fácil manipulación, es inestable en medio alcalino, (Martínez y Waksman, 1989b).

Otros autores revelaron que *K. parvifolia* sintetiza la T-514 en cantidades relativamente mayores que el resto de las especies silvestres que la literatura reporta para el género *Karwinskia*.. (Waksman *et al.*, 1997. *Op. cit.*).

Continuando con la línea de investigación sobre substancias en *Karwinskia*, se revisaron morfológicamente ejemplares de *K. humboldtiana* provenientes de los estados de: Tamaulipas, (muestras 1 y 2); Nuevo León, (muestra 3); Querétaro, (muestra 4); Hidalgo, (muestras 5 y 6); Baja California Sur, (muestra 7) y Yucatán, (muestra 8). En los ejemplares anteriores se demostró que: “(...) *Karwinskia humboldtiana* presenta variaciones tanto morfológicas como en la composición de sus metabolitos secundarios, (...). Por otro lado, es la planta de la región de Santa Catarina, N. L. la que ha presentado consistentemente mayor proporción de T-514 entre los meses de septiembre y noviembre”, (Waksman *et al.*, 1991a. *Op. cit.*).

Proporción de substancias en *K. humboldtiana*.

<u>Muestra</u>	<u>% T-514</u>	<u>% T-544</u>	<u>% T-496</u>
1	0.20	0.30	----
2	0.35	----	1.10
3	0.70	0.90	1.20
4	0.33	0.30	----
5	0.38	0.78	0.80
6	0.28	0.70	1.00
7	0.38	2.00	1.38
8	0.67	0.70	1.06

Agregan los autores haber señalado con anterioridad “(...) la ausencia total de T-514 en el fruto maduro de *K. humboldtiana*”, (Waksman *et al.*, 1991a. *Op. cit.*).

### 2.3 Taxonomía y botánica

En 1819, Schultes describió la especie (coyotillo) como *Rhamnus humboldtiana* y en 1832, el género *Karwinskia* fue descrito por Zuccarini, el cual hizo la transferencia y a partir de esta fecha se conoce como *Karwinskia humboldtiana*. En 1895, Rose describe a *Karwinskia parvifolia* utilizando material del NO de México, (Fernández, 1988. *Op. cit.*).

Por lo que respecta a su ubicación taxonómica, la clasificación general para estas plantas sería la siguiente, (Enciclopedia de las Ciencias Naturales, 1989. *Op. cit.*):

*Especie:	<i>Karwinskia humboldtiana</i> .
Género:	<i>Karwinskia</i> .
Familia:	Dialipétalas (Rhamnaceae).
Orden:	Ramnales.
Clase:	Magnoliatae (Dicotiledóneas).
Tipo:	Angiospermas.
Subdivisión:	Espermatófitos.
División:	Fanerógamas.
Subreino:	Cormófitos o embriófitos (Plantas superiores).

(\*) Sólo cambiaría *Karwinskia humboldtiana* por el nombre de las otras especies.

También se les clasifica como plantas leñosas, nanófitas, entomógamas, multidendricales, no crasifolias, inermes, planifolias, simplicifolios, parvi y minimifolios, hojas no víscidas, (Miranda, 1955; citado por Rzedowski, 1988).

Entre las especies clasificadas se encuentran nombres científicos y vulgares con que se le conoce a estas plantas, así como la distribución geográfica, ver Tablas 1 y 2, (Martínez, 1987; Fernández, 1988. *Op. cit.*).

En el año de 1988 se colectó una planta del género *Karwinskia* , la cual fue descrita como una planta arbórea o arbusto de 3-8 m de alto, originaria de Tehuacán, Puebla, con tamaño de frutos de 10 a 12 mm a la que denominaron *Karwinskia tehuacana*, ( Fernández y Waksman, 1992 ).

Por lo que respecta a *Karwinskia humboldtiana*, que es la especie más estudiada de las que aquí se mencionan, ésta se describe como: “arbusto o arbolillo, de hojas oblongas, ovadas a elípticas de 1.0 a 6.5 centímetros, delgadas, con nervaduras numerosas y paralelas; flores pequeñas, en umbela, cáliz, corola y estambres 5; el fruto es una drupa redonda de 6-9 mm. negruzca, con una semilla, ésta venenosa”. (Martínez, 1987. *Op. cit.*). Fernández describe a esta planta como “árboles pequeños o arbustos, (de) 1 a 8 m de alto; tallos hasta de 20 centímetros de diámetro; ramas usualmente pulverulentas (y) menciona que sus hojas tienen el ápice obtuso; opuestas, láminas oblongo-lanceoladas o

elíptico-ovadas, usualmente mayores de 2.5 cm de largo, de 2 a 3 cm de ancho, el haz verde, lustroso, glabro, el envés más pálido, glabro (en ocasiones cuando las hojas están jóvenes se presenta una pubescencia escasa), con pequeñas manchas negras esparcidas a lo largo de las nervaduras principales, el margen entero o crenado, la base redondeada; pecíolos delgados hasta de 1 cm de largo... pedúnculos florales no bifurcados, (...). Las inflorescencias en cimas axilares, de pocas flores o éstas solitarias, sésiles o cortamente pedunculadas; sépalos triangulares, de 1.2 -1.8 mm de largo, de 1-1.2 mm de ancho, glabros, con glándulas oscuras a lo largo del margen; pétalos blancos o amarillentos, de 1-1.2 mm de largo... anteras de 0.5 mm de largo. Fruto negro, lustroso, subgloboso, de 6-9 mm de diámetro; semillas 2-3, verdes a pardas o negras y lustrosas en madurez avanzada, (...)”. (Fernández, 1988. *Op. cit.*).

En la región de Llera, Tamps., en el año de 1991 se recolectaron frutos de *K. humboldtiana*; las plantas presentaron crecimiento disperso, de tamaño variable, inclusive árboles de 3 a 5 metros de altura, pero de menor porte en relación a las plantas del municipio de Choix, Sin.; se observó un tamaño de hojas de 3.0 a 6.0 centímetros de largo, por 1.5 a 3.0 centímetros de ancho, (Luján, 1997. Inédito).

Ruíz y colaboradores realizaron una investigación donde se analizaron hojas de *Karwinskia humboldtiana* para estudiar su morfología a través de microscopía electrónica de barrido y se observó: “(...) sobre la superficie foliar, una fina capa serosa que recubre su cara adaxial y abaxial (...), en la cara adaxial se observa una epidermis formada por células semiglobulares mientras que en su lado abaxial además de éstas, se aprecian las células estomáticas del tipo anomocítico. El mesófilo dorsiventral, formado por el parénquima de empalizada de células alargadas, de paredes delgadas y gran cantidad de cloroplastos en su interior y por el parénquima esponjoso que tiene células alargadas en el área de contacto con el parénquima de empalizada y células redondas en la zona próxima a la cara abaxial. Inmersos en el mesófilo y distribuidos al azar están los canales secretorios y los cristales. En la parte central de la hoja se encuentra la vena principal con uno o dos canales secretorios próximos a la epidermis”. A través de microscopía electrónica de transmisión observaron: “(...), las células parenquimatosas con cloroplastos conteniendo almidón y cuerpos plastoglobulares. El canal secretorio rodeado de células alargadas, en

forma de uso; con gran cantidad de vacuolas inmersas en (él), se encuentran células muy electrodensas con gran cantidad de mitocondrias”, (Ruíz *et al.*, 1991a y 1991b).

En *K. parvifolia* Rose, las características taxonómicas y botánicas mencionadas por Fernández Nava son las siguientes: hojas redondeadas u obtusas en la base, no claramente cordadas, hojas hasta de 2.5 cm de largo y de 1.0 a 2.0 cm de ancho, los sépalos y pétalos de 0.5 a 1.0 mm de largo y los frutos de 3.0 a 5.0 mm de diámetro. El margen de las hojas es crenado, con pequeñas manchas negras, estípulas deltoides de 1 mm de largo, pedicelo en el fruto de 4.0 a 5.0 mm de largo, (Fernández, 1988. *Op. cit.*).

*K. parvifolia* es: “(un) arbusto de 2-3(5) m de alto, ramas glabras. hojas opuestas o subopuestas, láminas oblongo-lanceoladas, de 1.4-2.0 cm de largo, 1.0-(1.2) cm de ancho, haz y envés glabros, margen crenado, con pequeñas manchas negras, ápice obtuso. base obtusa o redondeada; pecíolos delgados de 3-5 mm de largo, glabros; estípulas deltoides de aproximadamente 1 mm de largo, glabras (...). Inflorescencias dispuestas en cimas axilares de 3 a 4 flores, pedúnculo floral ausente o de estar presente hasta 2 mm de largo, con pequeñas motas negras sobre la superficie, glabro; pedicelos en la fructificación de 4-5 mm de largo; copa floral infundibuliforme de 2 mm de largo, glabra; sépalos deltoides, de 0.5-1 mm de largo, carinados; glabros; pétalos blancos ligeramente más cortos que los estambres, disco delgado, verde a café-oscuro, estigma 2-lobado, persistente en los frutos maduros; frutos axilares, frecuentemente solitarios, verdes en la juventud, café-claros en la madurez, (...). Se diferencia de *K. humboldtiana* por tener hojas, pétalos y frutos mucho más pequeños, (Fernández, 1988. *Op. cit.*).

En 1991 se recolectaron frutos en el sur de Sonora y norte de Sinaloa y en un recorrido de exploración por el municipio de Choix, Sinaloa se observó una planta de tipo arbóreo; ésta alineada con una cerca divisoria de alambre de púa y conocida vulgarmente como “cacachila”, la cual medía de 7 a 8 metros de altura, sin embargo; la mayor parte de las plantas donde se recolectaron frutos durante 1991 y 1992 en esta misma región, tenían un tamaño variable, el cual fluctuaría entre los 2 y 3 metros de altura, inclusive algunas más altas, pero, dada su condición multidendricaule, (señalada por Miranda —Rzedowski, 1988. *Op. cit.*—); daban la apariencia de ser varias plantas con tallos de diámetro variable, de 1.0 a 5.0 centímetros, inclusive mayores; cuando en realidad se

trataba de una sola planta. Es probable que esta misma proliferación de tallos de apariencia arbustiva, fuesen consecuencia de la tala del ápice de crecimiento principal, pues es conocido que algunos campesinos utilizan la madera de éstas y otras plantas para cercar sus terrenos, de ahí que no adquieran su tamaño natural, (Luján, 1997. Inédito).

Aun cuando se parte del supuesto de que los frutos recolectados en la serranía, así como los de la región costera del estado de Sinaloa corresponden a una misma especie, es de hacer notar que existen diferencias fenotípicas contrastantes en el tamaño de la planta, de las hojas, del fruto y también en el color del tallo, follaje y fruto, al igual que en el color del endocarpio, pues mientras que en las plantas del municipio de Choix los huesos o endocarpios presentan colores variables que van del café claro al oscuro, en los huesos o endocarpios de los frutos recolectados en Natoches predomina el color oscuro, (Luján, 1997. Inédito).

Para diferenciar los frutos recolectados tanto en la serranía como en la costa del estado de Sinaloa; los frutos originarios del municipio de Choix se identificaron arbitrariamente como *K. parvifolia* (Choix). Entre los poblados donde se recolectaron esos frutos se encuentran: El Sauz, Aguazarca, Tabocahui, Bajosori, Guayabitos, Loretillo, Tasajera, Cajón de Cancio, etc., los cuales difieren fenotípicamente de la descripción de Fernández Nava para *K. parvifolia* (Natoches), (Luján, 1997. Inédito).

Para diferenciar los frutos recolectados en la región costera, respecto a los de Choix, se identificaron arbitrariamente como *K. parvifolia* (Natoches). En este caso, los ejemplares que se observaron en la costa desde Natoches, municipio de Ahome, Sin., hasta Camahuiroa y Estación Luis en el estado de Sonora, resultaron fenotípicamente similares entre sí, salvo pequeñas diferencias en hojas y fruto, los cuales resultaron ligeramente más pequeños en el estado de Sonora que los encontrados en el estado de Sinaloa; mismos que, en general, concuerdan con la descripción botánica mencionada por Fernández (1988. *Op. cit.*) para *K. parvifolia* Rose (Natoches).

En el caso de las plantas que se observaron en la costa de Sinaloa y Sonora, éstas son diferentes a las de la sierra en lo que viene siendo la confluencia de los estados de Sinaloa, Chihuahua y Sonora, México.

## 2.4 Distribución geográfica de *Karwinskia humboldtiana*,

### *K. parvifolia* (Choix) y *K. parvifolia* (Natoches)

Las especies conocidas del género *Karwinskia* se distribuyen en todo el Territorio Nacional, suroeste de los Estados Unidos, Centroamérica y Norte de Colombia, así como en Cuba y Haití, Piñeyro *et. al.*, (1993). En el Territorio Nacional, en el estado de San Luis Potosí: "(...), el bosque tropical caducifolio al ser destruido da lugar frecuentemente a matorrales, en los que predominan *Acacia amentacea*, *Croton niveus* y *Karwinskia humboldtiana*, (...); en la región cercana a Jacala, Hidalgo, predominan en un matorral de características análogas *Neopringlea integrifolia* y *Montanoa xanthifolia*. Otras plantas leñosas importantes son de los géneros *Pistacia*, *Harpalyce*, *Rhus*, *Dodonaea*, *Sebastiania*, *Verbesina*, *Xylosma*, *Karwinskia*, *Croton*, (...). Más adelante se menciona que: "(...), del norte y del este de Nuevo León... los arbustos crecen bastante espaciados y además del mezquite pueden ser comunes plantas de los géneros *Opuntia*, *Portieria*, *Cercidium*, *Acacia*, *Koerberlinia*, *Castela* y *Karwinskia*", (Rojas-Mendoza 1965; citado por Rzedowski, 1988. *Op. cit.*).

Las especies clasificadas por diversos investigadores, así como la distribución geográfica en que se encuentran en el Territorio Nacional, se menciona en los trabajos de Martínez (1987. *Op. cit.*) y de Fernández (1988. *Op. cit.*), (Tablas 1A y 2A).

Como puede verse en la Tabla 1A, la especie *K. humboldtiana* se distribuye en: "Estados Unidos (oeste de Texas); México (Baja California Sur, Tamaulipas, Veracruz, Oaxaca y Yucatán), (...); se localiza en alturas que van desde el nivel del mar hasta los 2,200 m, (...); los tipos de vegetación: bosque tropical perennifolio; bosque tropical caducifolio; bosque de encino; matorral xerófilo, pastizal, (...). Esta especie es la más importante del género en términos de área de distribución y en donde las poblaciones son más numerosas, además, es la que ofrece mayor dificultad para delimitar, ya que presenta polimorfismo a nivel de hojas, flores y frutos", (Fernández, 1988. *Op. cit.*).

En los estados del norte del país se da la mayor concentración de poblaciones, inclusive en San Luis Potosí y Querétaro, disminuyendo hacia el sur. *K. humboldtiana* sería relativamente más tolerante a las condiciones ambientales, puesto que se puede localizar en un amplio rango de adaptación climatológica, (Fernández, 1988. *Op. cit.*).

Respecto a *K. parvifolia* (Choix), éstas plantas se localizan de manera natural en el municipio de Choix, Sin., lugar cuyas serranías se elevan hasta alturas superiores a los 350 msnm y, además, se observaron ejemplares de apariencia fenotípica similares a los de Choix tanto en el municipio de El Fuerte, Sin., como en el de Alamos, Son.

En el caso de *K. Parvifolia* (Natoches), se observaron ejemplares a lo largo de la región costera, entre ésta y la carretera 15; desde Natoches, municipio de Ahome, Sin., hasta Estación Luis y Camahuiroa, Son.. Las alturas promedio no rebasan los 50 msnm.

## 2.5 El clima y su importancia en la vegetación

Es conocido que la expresión fenotípica (F) de una especie dada es el resultado del efecto de su genotipo (G), más el ambiente (A), más la interacción genotipo\*ambiente (G\*A), con lo cual se resume la ecuación:  $F=G+A+G*A$ . Entre las múltiples definiciones sobre el ambiente, se encuentra la siguiente: "Un medio ambiente es un complejo de muchos factores que interactúan no sólo con los organismos, sino entre ellos mismos, (por ello); los medios son dinámicos (y), en cualquier medio ambiente natural existen gradientes, fuertes o débiles, a través del tiempo y del espacio, (...)". El mismo autor agrega que: "la planta es un sistema fisiológico en actividad, cuya capacidad para actuar en una gama de ambientes dada, está determinada por sus genes y por el acondicionamiento del propio medio ambiente; (el cual está) en constante transformación, tanto cíclica como acumulativamente, desde la época de su germinación hasta su muerte, es decir: cambia a través del espacio y del tiempo", (Billings, 1977).

También es conocido que los principales factores climáticos son la luz, la temperatura y la humedad, así como su influencia sobre el desarrollo de las plantas, (Klages, 1942). Esta influencia se daría: " ya sea limitando su territorio, modificando su índice de

reproducción o dando lugar a la aparición, dentro de una especie. de variedades muy distintas entre sí. (...)", (García-Pelayo, 1991).

Se dice que: "(...), conociendo las necesidades ambientales de una planta de cultivo y ajustando el medio ambiente para cumplir con tales requerimientos, se obtendrá mayor productividad. Asimismo, se pueden criar otras plantas de cultivo para responder a ambientes nuevos o diferentes, (también se conoce que) la intensidad (o ritmo) de la fotosíntesis depende de muchas variantes ambientales, siendo dos de las más importantes la luz y la temperatura (...)", (Billings, 1977. *Op. cit.*).

Salisbury y Ross (1994), señalan que: "(...), además de los nutrientes minerales, el factor limitante puede ser uno o más, tales como: el agua, el daño por plagas... competencia con la maleza, concentración de CO<sub>2</sub> (en especial en los invernaderos) o los genes de las plantas... para nombrar sólo ejemplos importantes. (...) las plantas necesitan cantidades muy dispares de los diversos elementos, así como de los parámetros ambientales... y también las toxicidades podrían ser limitantes, (...); con frecuencia se encuentra que son más de uno los factores (rara vez más de tres o cuatro) los que limitan el rendimiento o la distribución, (...)".

Se agrega que: "(...), cada organismo requiere cierta proporción de factores ambientales para su crecimiento óptimo... (y) este está controlado por factores limitantes, (los cuales están) en mutua y dinámica interacción. Si un factor se modifica, casi todo cambiará a la larga", (Billings, 1977. *Op. cit.*).

En las notas del curso Ecología de Cultivos de la Maestría en Ciencias en Producción Agrícola se mencionó que: "(...), aparte de que cada etapa de crecimiento (de un vegetal) está regulada genéticamente (ejemplo en cereales de invierno: germinación, emergencia, amacollamiento, extensión de tallos, diferenciación, formación de inflorescencia, embuchamiento, emergencia de la inflorescencia, floración, fecundación, llenado de grano, madurez fisiológica, madurez de cosecha y senescencia); al ocurrir estas etapas ante diversos factores ambientales, los cuales se presentan a diferentes niveles de intensidad, se tendrá que para cada una de esas etapas, deberá existir un óptimo absoluto, un óptimo armónico y un óptimo ecológico; de tal forma que al final del crecimiento (la suma de las 14 actividades vitales), de haber ocurrido esto bajo óptimos ecológicos

parciales y haberse llegado a un óptimo ecológico total, se tendrá el máximo crecimiento, expresado en la máxima acumulación de materia seca que genéticamente pueda ser determinada en una planta dada... cuando alguno de los factores ambientales empiezan a ser limitantes del crecimiento, no se ajustan los datos reales a la sigmoide y por lo tanto hay menos armonía en el óptimo ecológico”, (Apuntes de clase, 1995).

El rendimiento de las plantas se ve afectado por factores ambientales extremos, lo cual modifica la escala de tolerancia de una especie dada en un ambiente dado para una etapa de crecimiento en particular; estrategia que las plantas desarrollan a través de la selección natural o artificial y que les permite evolucionar a través del tiempo y del espacio.

Respecto a la forma de uso práctico en las evaluaciones sobre la relación entre los factores climáticos y los cultivos, otros autores agregan que: “(...), los parámetros meteorológicos como la radiación solar, temperatura y lluvia, deberán ser preferentemente valores medios mensuales, (...)”, (Torres, 1995).

Los principales factores climáticos que se han estudiado por sus efectos sobre las plantas, son: la luz, la temperatura y la humedad; aunque es bien sabido que cualquier otro componente del medio ambiente puede ser factor limitante de la producción en una especie dada o bien, el detonador de una serie de procesos metabólicos y fisiológicos en la planta que den como consecuencia cambios importantes en su desarrollo.

Respecto a la luz como factor climático que interactúa con las plantas, diversos autores señalan que: “(...), la luz influye en la vida de los vegetales al intervenir en el fenómeno de la fotosíntesis. (De igual manera se menciona que:) las adaptaciones del vegetal consisten en reducciones de las partes aéreas, destinadas a protegerse del exceso de luz... o en disposiciones peculiares de ramas y hojas para el mayor aprovechamiento de los rayos solares”, (García-Pelayo, 1991. *Op. cit.*). El mismo autor indica que: “(...), la luz es, junto a la temperatura, un factor climático importante y la duración, la intensidad y la calidad que tiene, ejerce a la vez una influencia considerable en los biotopos; (y agrega que) la duración de la luz solar depende de la latitud geográfica y de la inclinación de la tierra en relación con la elíptica. Esto último incide particularmente en la vida de los vegetales, ya que algunos necesitan los largos días de la primavera y del verano para la aparición y evolución de los tallos y hojas, mientras que ciertas flores, como los

crisantemos, sólo pueden formarse en días cortos, con pocas horas de luz (...); (por otro lado), en el microclima de las ciudades, la iluminación artificial de parques y jardines tiene el efecto de retrasar la caída de las hojas en algunas especies arbóreas (...); (y), la intensidad de los rayos solares disminuye cuanto mayor sea la latitud geográfica, debido a que el ángulo de incidencia es más grande (y) en cambio, aumenta con la altitud ya que el espesor de la capa atmosférica es más reducido. Esto último trae consigo la reducción de las partes vegetativas y mayor pigmentación de flores”, (García-Pelayo, 1991. *Op. cit.*).

Otras fuentes de información señalan que la radiación solar proporciona la energía necesaria para calentar el ambiente y conducir al ecosistema por medio de energía almacenada durante la fotosíntesis, (Apuntes de clase, 1995). Asimismo que: “(...), en verano, por la verticalidad de los rayos solares, cae más energía que en invierno, (y que) la cantidad de radiaciones (depende) del ángulo entre la tierra y el haz de luz solar, (y agregan que:) la energía de la luz... absorbida por la función clorofílica, disgrega químicamente los átomos del oxígeno y carbono del gas carbónico del aire, fija el carbono y da lugar a compuestos ternarios y cuaternarios; (igualmente mencionan que:) el exceso de luminosidad retarda el desarrollo de los órganos vegetales, pero hace más intensas las funciones de reproducción... el rayo amarillo contribuye a la formación de la materia verde del vegetal; el azul y el violado regulan el crecimiento; los ultravioletas favorecen la formación de flores, y el rojo activa la formación de carbono;... cuando la luz es muy intensa...desarrolla sus olores y sabores (en la planta), (...); donde escasea la luz... los frutos no son tan azucarados, ni las flores tan aromáticas (...)”, (Hernández, 1952).

También se dice que: “(...), la luz solar forma parte del medio ambiente inmediato de la planta, tanto como por ejemplo, los iones fosfato del suelo, (y es) la radiación efectiva en la fotosíntesis (y que) constituye casi la mitad de la radiación solar que llega a la superficie terrestre”; agregando que: “(...), la radiación neta es el resultado de la captación de radiación solar, pérdida de la radiación reflejada y captación y pérdida de la radiación termal”, (Billings, 1977. *Op. cit.*).

La temperatura es otro de los factores del clima que diversos autores mencionan como principales en la vida de los vegetales. Entre estos autores hay quien señala que: “(...), cada especie vegetal tiene una temperatura óptima que permite que se desarrolle en las

mejores condiciones”, (García-Pelayo, 1991. *Op. cit.*). Asimismo que la intensidad y duración del calor dependen de la estación climática e influyen de diferente manera sobre las plantas, (Hernández, 1952. *Op. cit.*). Por otro lado, también se afirma que: “(...), la temperatura, principalmente, es la que marca sobre el globo los distintos cultivos. Cada especie vegetal tiene su temperatura extrema y su temperatura óptima, (...). Estos puntos son: 1°. temperatura óptima, o sea de plena actividad. 2°. temperatura en que se suspende la actividad del vegetal, pero sin que éste muera ni se extinga la actividad funcional. Esta temperatura es menor que la óptima. 3°. temperatura en que las funciones vitales también se suspenden sin llegar a extinguirse. 4°. límites máximos de la temperatura que exceden de las posibilidades de vida del vegetal. Para desempeñar el conjunto de sus funciones cada planta necesita absorber determinado número de horas de calor, (mismo que) en la superficie del suelo se ve modificado debido a que la distancia del sol a la tierra es diferente en función de las distintas estaciones climatológicas durante el año, las cuales determinarán el tiempo de iluminación, la oblicuidad con que los rayos llegan a la tierra, la elevación del terreno sobre el nivel del mar, la constancia e intensidad de los vientos y de otros fenómenos atmosféricos, la vegetación, etc.”, (Hernández, 1952. *Op. cit.*).

El agua es otro de los factores de primera importancia; una gran cantidad de autores le han estudiado a profundidad y, en términos generales, hay coincidencia en los resultados respecto a sus principales funciones en la vida de los vegetales, sobre lo cual se menciona que: “los seres vivos requieren agua y su abundancia o escasez influye sobre la vegetación, siendo esta muy variada por efecto del agua o la sequía sobre los diversos genotipos de la flora de una localidad... en muchos lugares el ciclo cambia durante las estaciones del año, (seco y húmedo)... en cada lugar, el período de crecimiento y floración de la vegetación nativa está claramente ajustado a estas lluvias estacionales y períodos de sequía, (...)”, (Billings, 1977. *Op. cit.*).

Por otro lado se dice que: “(...), los biotopos están dotados de condiciones hídricas diferentes, que influyen de modo esencial en las especies que en ellos habitan... (agregando que) el agua... interviene en la nutrición y la transpiración, facilitando las diferentes adaptaciones morfológicas según los grados de humedad del suelo o de la atmósfera. Así, las plantas que viven en ambientes muy húmedos se caracterizan por la

amplitud del limbo de las hojas y por la profusión de estomas, lo que favorece la transpiración. Las que habitan en un entorno seco poseen, en cambio, hojas muy pequeñas, que a veces llegan a desaparecer, con lo que reducen la pérdida de agua, y un sistema radicular muy amplio, capaz de absorber la mayor parte del agua suministrada por el suelo”, (García-Pelayo, 1991. *Op. cit.*).

Otros autores agregan que: “(...), los arbustos siempreverdes del desierto, que deben aguantar períodos de sequía, tienen capacidades fotosintéticas muy bajas (Ehleringer y Mooney, 1984; citados por Salisbury y Ross, 1994. *Op. cit.*).

## 2.6 Aspectos agronómicos

### 2.6.1.- Introducción de especies.

Debido a su importancia relativa en la síntesis de la T-514, *K. parvifolia* fue la especie prioritaria para iniciar trabajos de introducción y domesticación; por ello, se recolectaron frutos en sus lugares de origen natural. Por su distribución geográfica de alcance nacional se recolectaron frutos de la especie *Karwinskia humboldtiana* con el propósito de reproducirla y estudiar sus características agronómicas, de tal manera que; dado su amplio rango de adaptación a diversos ambientes naturales, pudiera ser utilizada para mejoramiento genético a través de su reproducción vegetativa, utilizándole como portainjerto; mientras que la especie de mayor producción y síntesis de la sustancia de interés antropocéntrico sería utilizada como injerto, esto, independientemente de otros usos de interés en el contexto de las investigaciones inherentes al desarrollo del “Proyecto *Karwinskia*”, (Luján, *et al.*, 1991; —1992a; —1992c; Waksman, *et al.*, 1993).

Por lo anterior, durante el mes de mayo del año de 1991 se recolectaron frutos de *K. humboldtiana* en las cercanías del cruce de la carretera Cd. Victoria-Cd. Mante con la línea del Trópico de Cáncer. Se analizó información bibliográfica sobre la temperatura y la precipitación pluvial de esa región, ver Tabla 3A, (SARH, 1988).

Se pudo observar que durante todo el año se registra algo de precipitación pluvial, aun en los meses más secos, en los cuales ésta no llega a los extremos de ser nula o inapreciable.

Por lo que respecta a la substancia de interés antropocéntrico, como ya se dijo; fue seleccionada la especie *Karwinskia parvifolia* Rose por ser la más productiva en condiciones silvestres.

A través de una inspección ocular en el hábitat que la literatura reporta para *K. parvifolia*; hubo necesidad de ampliar el radio de acción para la recolección programada para ese año (1991).

Durante los meses de marzo a octubre de 1991, se hicieron observaciones periódicas sobre la apariencia fenotípica de las plantas que crecen en la región de Ahome, El Fuerte y Choix, Sinaloa; la finalidad de las observaciones sería la recolección de frutos. Se pudo apreciar a simple vista que la floración dio inicio a finales del mes de junio y de manera generalizada durante el mes de julio, lo que confirma lo dicho por Fernández, (1988. *Op. cit.*); los primeros frutos se observaron maduros durante el mes de octubre, fecha en que se llevó a cabo la recolección, (Luján *et al.*, 1994a, —1994b; —1994c).

Una parte de la semilla con que se iniciaron los trabajos de domesticación se recolectó de plantas que crecen en el municipio de Choix, Sinaloa, que corresponde a una planta arbórea y presenta fruto grande, de 0.7-0.9 centímetros de diámetro aproximadamente. Otra parte de la semilla se obtuvo de plantas que habitan en la región costera del norte de Sinaloa, cuyo crecimiento es de tipo arbustivo y presenta fruto chico, de 0.5-0.7 centímetros de diámetro aproximadamente, (Luján, 1997. Inédito).

Otros aspectos que diferencian a los materiales de Choix de los de Natoches, son los tiempos de inicio de floración-fructificación, pues tienen diferentes períodos para efectuar estos procesos.

Se pudo observar que durante el mes de junio inicia la temporada de lluvias para esta región, fenómeno que se generaliza durante el mes de julio y, aun cuando las temperaturas son relativamente altas desde los primeros meses del año, el proceso de floración no inicia sino hasta bien entrado el mes de junio, lo cual sugiere que el factor

limitante para el proceso de floración en esta región en particular, sería la escasa humedad del suelo, de ahí que la temporada de floración y fructificación estaría íntimamente relacionada con la temporada de lluvias. Durante los años de 1991 y 1992 se recolectaron frutos de *K. parvifolia* (Choix), principalmente en el municipio de Choix, Sinaloa. También se recolectaron algunos frutos del municipio de Urique, Chihuahua. Considerando lo anterior, se revisó bibliografía sobre las condiciones climatológicas de la región donde se ubican estos lugares, principalmente sobre la temperatura media y la precipitación pluvial, ver Tablas 4A, 5A, 6A, 7A, (SARH, 1988. *Op. cit.*).

En el norte de Sinaloa también se exploraron algunos lugares del municipio de El Fuerte, Sinaloa; las plantas presentaron una apariencia fenotípica semejante a los ejemplares observados en los municipios de Choix, Sinaloa y de Alamos, Sonora. Ver información climatológica de la Tabla 6A, (SARH, 1988. *Op. cit.*).

En la región costera del norte de Sinaloa y sur de Sonora, durante 1991 y 1992 se recolectaron frutos de *K. parvifolia* (Natoches); la apariencia fenotípica de las plantas de la región de Natoches, Ahome, Sin., concuerda con la descripción conocida sobre *K. parvifolia* Rose, citada por Fernández (1988. *Op. cit.*), y es similar a los ejemplares observados en el municipio de Huatabampo, Sonora. Se revisó bibliografía sobre la temperatura y la precipitación pluvial de la región y se encontró la información que se observa en la Figura 1A y Tabla 7A, (SARH, 1988. *Op. cit.*).

Con los materiales recolectados durante 1991 se procedió a establecer un vivero, lugar donde se realizarían trabajos de investigación en apoyo al PROYECTO KARWINSKIA. Esta actividad consistió fundamentalmente en desarrollar la introducción y domesticación del género *Karwinskia* en la Facultad de Medicina de la U.A.N.L., y, conociendo de manera general el efecto ambiental sobre los cultivos, se revisaron algunos factores del clima de la zona metropolitana de Monterrey, N. L. y también de los lugares de origen de esos frutos recolectados, ver información en la Tabla 8A y Figura 2A, (Torres, 1995); así como las Tablas 9A, 10A y 11A, (SARH, 1988. *Op. cit.*; C.N.A., 1958-1997).

De acuerdo con la distribución geográfica de los frutos de interés recolectados para el desarrollo de la presente investigación, así como la ubicación actual del vivero de

*Karwinskia*; se revisó material bibliográfico sobre radiación solar, temperatura y precipitación pluvial. Entre las localidades de interés que se tomaron en consideración se encuentran las siguientes: Choix, El Fuerte y Natoches, todas ellas del estado de Sinaloa; Llera, Tamps. y Monterrey, N. L.

## 2. 6. 2.- Ambiente de producción

Se identificaron los ambientes para cada tipo de planta bajo estudio, ver Tabla 1, (Luján, 1997. Inédito).

Tabla 1.- Especies cultivadas en diferentes ambientes de producción.

VIVERO		A	M	B	I	E	N	T	E	S
		Riego y sol		Riego y sombra			Temporal y sol			
1	Especies:	3		1 y 3						
2	Especies:	1, 2 y 3					1 y 2			
3	Especies:	2 y 3								
4	Especies:	2								
5	Especies:						2			
6	Especies:	3								
7	Especies:	2								

(1) - *K. humboldtiana*; (2) - *K. parvifolia* (Choix). (3) - *K. Parvifolia* (Natoches).

Independientemente de los factores que influyen en el crecimiento, desarrollo y fructificación de las plantas, se planteó la hipótesis general de que con un adecuado suministro de agua, se obtendría mayor cantidad de semillas por fruto y, siendo éste el principal sitio donde se concentra la substancia de interés, habría un incremento en la cantidad de T-514. Esto, aunado a otros factores, dio lugar a una investigación para evaluar la frecuencia de riego en *Karwinskia humboldtiana*.

Se compararon diferentes frecuencias de riego y las observaciones de campo sugirieron regar cada tres semanas, (Luján, *et al.*, 1993*d*).

También se probaron otros ambientes de producción para valorar, de manera general, el efecto ambiental sobre la síntesis de la sustancia de interés.

### 2.6.3 El cultivo de *Karwinskia* y su fruto

Por lo que respecta a la coloración del fruto, éstos se van tomando de verde a verde pálido en los tres tipos de plantas, siendo menos pronunciado este cambio en los frutos de Llera. En éstas plantas, los frutos se toman de color verde a oscuro, lo cual ocurre por partes en el epicarpio del fruto; mientras que en las plantas de Choix y Natoches, los frutos se toman de manera generalizada a una coloración rojiza y de aquí a oscuro. Es conveniente hacer notar que los cambios de coloración de verde a oscuro o rojizo, según sea el caso, ocurren de un día para otro en los días más calurosos, con temperaturas promedio cercanas a 30° C y de pleno sol, pudiendo tomarse a su coloración final en apenas unos días, (Luján, 1997. Inédito).

En las plantas cultivadas se observó variabilidad en el tamaño de los frutos en los tres tipos de plantas (Tabla 2), inclusive dentro de una misma planta y este tamaño varía en función de la época de cosecha.

Tabla 2.- Diámetro transversal de frutos en diferentes especies del género *Karwinskia*, (Luján, 1997. Inédito).

ESPECIE	DIAMETRO TRANSVERSAL (cm)		
	PROMEDIO	MINIMO	MAXIMO
<i>K. humboldtiana</i>	0.85	0.71	1.03
<i>K. parvifolia</i> (Choix)	0.74	0.52	0.97
<i>K. parvifolia</i> (Natoches)	0.72	0.60	0.88

Datos de campo sobre diámetros individuales en frutos de 9 muestras de *K. humboldtiana*, de entre 30 y 35 frutos cada una; demostraron valores promedio, mínimos y máximos de diámetro transversal de 0.85 cm; 0.71 cm y 1.03 cm respectivamente, (Tabla 2).

En *K. parvifolia* (Choix); se analizaron las siguientes cantidades: 37, 125, 145, 154, y 129 de frutos correspondientes a otras tantas muestras tomadas del vivero 4 y se encontró que los diámetros transversales de sus frutos promediaron 0.74 cm; otros datos se observan en la Tabla 2.

En *K. parvifolia* (Natoches); los datos de campo sobre diámetros transversales en 2 muestras de 37 y 44 frutos para un total de 81, demostraron valores promedio, mínimos y máximos de 0.72 cm, 0.60 cm y 0.88 cm respectivamente, ver Tabla 2.

En *K. parvifolia* (Natoches), no obstante los antecedentes de la superioridad en la síntesis de la T-514 en plantas silvestres respecto a otras especies, entre ellas *K. humboldtiana*; bajo condiciones de cultivo se observó que esta última especie presentó la mayor producción de fruto y algo de éste se cosechó durante todos los meses del año, lo que no ha ocurrido en *K. parvifolia* (Choix), ni en la de Natoches; *K. humboldtiana* sintetizó buenos niveles de la sustancia de interés y, además, se observó una apariencia relativa fenotípicamente sana la mayor parte del año, a diferencia de Choix y Natoches, las cuales presentan buena apariencia fenotípica en pocos meses del año, mientras que en otras fechas se observan tensionadas, enfermizas. Por las razones anteriores —principalmente de producción durante todo el año—, *K. humboldtiana* fue seleccionada para probar que el ambiente tendría influencia sobre la síntesis de la T-514 y que habría un período de mayor producción de la sustancia. Las otras especies fueron consideradas para probar otras hipótesis en esta investigación.

## CAPITULO 3

### MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Materiales

##### 3.1.1 Material de campo

Para propósitos de esta investigación se cosecharon y almacenaron frutos en plantas del género *Karwinskia* cultivadas en vivero\* bajo diferentes ambientes de producción, lo cual se realizó desde septiembre de 1994 hasta el mes de septiembre de 1996, (Tabla 3).

##### 3.1.2.- Material de laboratorio

Se utilizaron 57 cajas petri, 1 balanza granataria, 1 balanza analítica, 1 licuadora, 15 tubos de ensayo con tapa de rosca, 57 pipetas, 1 agitador vortex, acetato de etilo, 4 matraces bola con boca esmerilada, 1 rotavapor Buchi 461, nitrógeno líquido, metanol, 1 jeringa de 5 mL con pibote metálico, filtro millipore de 0.5  $\mu$ M, 57 viales, Cromatógrafo de líquidos de alta resolución - 1090 con Detector: Arreglo de diodos. Columna: ODS Hypersil 5  $\mu$ m (100 x 2.1 mm).

(\*) El vivero se dividió en 7 secciones (viveros 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7) y se localiza en las inmediaciones de las instalaciones del DFT en la Cd. de Monterrey, N. L. Se aplican diferentes manejos de producción. (ver Tabla 1)

Tabla 3.- Materiales de campo para evaluación de tratamientos en producción de PA1.

TRATA	ESPECIE	AMBIENTE	PERIODO	
			DE COSECHA	CARACTERISTICAS
1	<i>K. humboldtiana</i> (1)	Riego <sup>(2)</sup> y sol <sup>(3)</sup>	AGO'95	Fruto maduro rojinegro
2.	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	SEP 95	Fruto maduro rojinegro
3	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	OCT 95	Fruto maduro rojinegro
4	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	NOV '95	Fruto maduro rojinegro
5	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	DIC 95	Fruto maduro rojinegro
6	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	ENE 96	Fruto maduro rojinegro
7	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	FEB 96	Fruto maduro rojinegro
8	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	MAR 96	Fruto maduro rojinegro
9	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	ABR 96	Fruto maduro rojinegro
10	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	MAY 96	Fruto maduro rojinegro
11	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	JUN 96	Fruto maduro rojinegro
12	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	JUL 96	Fruto maduro rojinegro
13	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	SEP '96	Fruto maduro verde
14	<i>K. humboldtiana</i>	Temporal <sup>(4)</sup> y sol	SEP 96	Fruto maduro verde
15	<i>K. parvifolia</i> (Choix) <sup>(5)</sup>	Temporal <sup>(4)</sup> y sol <sup>(3)</sup>	SEP 96	Fruto maduro verde
16	<i>K. parvifolia</i> (Choix) <sup>(6)</sup>	Riego <sup>(2)</sup> y sol	SEP 94	Fruto maduro rojinegro
17	<i>K. parvifolia</i> (Choix) <sup>(7)</sup>	Riego y sol	SEP 96	Fruto maduro verde
18	<i>K. parvifolia</i> (Natoches) <sup>(8)</sup>	Riego <sup>(2)</sup> y sombra <sup>(9)</sup>	SEP 96	Fruto maduro rojinegro
19	<i>K. parvifolia</i> (Natoches) <sup>(10)</sup>	Riego y sol <sup>(3)</sup>	OCT 95	Fruto maduro rojinegro y verde

(1) Siembra en 1991 y se cosecharon un total de 51 plantas con una altura de 1.5 - 2.0 m. (2) Se aplicó riego cada tres semanas. (3) Expuestas a la luz del día normal. (4) 6 plantas que crecieron y se desarrollaron sin riego, excepto el agua de lluvia. (5) Siembra en 1992 y se cosecharon frutos en más de 20 plantas con una altura de 1.5 - 2.5 m. (6) Siembra en 1992 y se cosecharon frutos en más de 100 plantas con una altura de 1.5 - 3.0 m. (7) Siembra en 1992 y se cosecharon frutos en más de 100 plantas con una altura de 2.5 - 4.0 m. (8) Siembra en 1991 y se cosecharon frutos en más de 50 plantas con una altura de 1.0 - 1.5 m. (9) Se colocó una malla de aproximadamente 50% de sombreo. (10) Siembra en 1991 y se cosecharon frutos en más de 10 plantas con una altura de 1.0 - 1.5 m.

## 3.2 Métodos

### 3.2.1 Método de campo

Las plantas de interés se mantuvieron en observación de campo y cuando presentaron frutos maduros rojinegros, éstos se cosecharon y se pusieron a secar a la sombra; excepto los tratamientos 13, 14, 15 y 17, cuyos frutos se cosecharon verdes; así como el

tratamiento 19, el cual se cosechó tanto verde como rojinegro

Los frutos cosechados se identificaron con una etiqueta, en la cual se anotaron la fecha de la cosecha, especie y sección del vivero donde se llevó a cabo el experimento.

Con un mínimo de 30 días de secado, los frutos se colocaron en bolsas de plástico transparente y se almacenaron hasta terminar las actividades correspondientes al período de fructificación, cosecha y secado.

La producción se agrupó arbitrariamente en períodos mensuales y cada mes fue considerado como un tratamiento a efecto de llevar a cabo el análisis estadístico correspondiente.

Se tomaron 5 gramos de frutos grandes para la repetición 1; 5 gramos de frutos chicos para la repetición 2 y, finalmente, 5 gramos de frutos de tamaño mixto para la repetición número 3.

Se etiquetaron y numeraron las cajas petri de 1 a la 57 para representar, respectivamente, 57 muestras; en las etiquetas se dejó suficiente espacio para anotar, además del número de muestra, los siguientes datos: 1) peso inicial de la muestra; 2) número de frutos por muestra y 3) peso en hueso.

### 3.2.2 Método de laboratorio

Una vez que el fruto en hueso quedó debidamente colocado en sus respectivas cajas, se procedió a la siguiente etapa del proceso, la cual consistió en la extracción de antracenas y análisis cromatográfico; para ello se tomó una muestra de 0.5 gramos de fruto molido por cada muestra original de 5.0 gramos de fruto entero.

Para la toma de la muestra de 0.5 gramos, el procedimiento fue el siguiente:

- 1.- En una licuadora de uso normal se molieron los huesos (endocarpios) por un tiempo de 2 minutos para cada una de las 57 muestras.
- 2.- Se pasó a un tamiz de 595 orificios por pulgada cuadrada, se sacudió vigorosamente

el vaso, la tapa y la base de la licuadora para capturar la totalidad del material correspondiente a la muestra.

3.- El material cribado se capturó en papel encerado de 40 x 30 centímetros y enseguida se vació a otro papel de 10 x 10 centímetros y se procedió al pesaje de 0.5 gramos en la balanza analítica.

4.- Este material vegetal se colocó en un tubo de ensayo con rosca para su extracción.

5.- Los pasos 1, 2, 3 y 4 se repitieron para cada una de las muestras con las siguientes consideraciones: se colocó papel encerado nuevo para cada muestra, se limpiaron cuidadosamente el tamiz, también la licuadora y cada una de sus partes antes de iniciar el molido de cada muestra, al igual que los tubos de ensayo, los cuales fueron lavados con material apropiado al final de cada jornada.

6.- Se agregaron 5 mL de acetato de etilo y el extracto se colocó en un agitador vortex por 1 minuto y enseguida se dejó reposar la mezcla por 2 minutos. La agitación de 1 minuto y el reposo de 2 minutos se repitió otras 2 ocasiones hasta sedimentar la parte espesa del extracto y la parte líquida se filtró a través de un filtro millipore de 0.5  $\mu\text{M}$ ;

7.- El paso 6 se repitió otras 2 ocasiones;

8.- El extracto de acetato de etilo se vació en un matraz bola con boca esmerilada y éste se colocó en un rotavapor Buchi 461, a una temperatura máxima de 40 °C y 254 rpm con el objetivo de separar por evaporación el solvente de las toxinas, (acetato de etilo);

9.- Después de la evaporación del acetato de etilo, se agregaron 2 mL de acetato de etilo en el matraz para disolver el residuo y la solución resultante se transfirió cuantitativamente a un tubo de ensayo de 5 mL;

10.- La solución resultante se llevó a sequedad con nitrógeno y enseguida se almacenaron a temperatura congelante en espera de ser analizados por CLAR, previa programación.

11.- Llegado el momento del análisis cromatográfico, se agregó 1 mL de metanol a cada tubo de ensayo; se agitó y la solución se filtró a través de un filtro millipore 0.5  $\mu\text{M}$ ; la solución resultante se analizó por CLAR: Eluentes: a) Metanol; b) Acetonitrilo: Agua: Ac. Acético (30:60:1.6).

**GRADIENTE:**

<b>TIEMPO</b>	<b>% DEL ELUENTE B</b>	<b>DURACION</b>
0 min.	35 %	4 min.
4 min.	35 - 0 %	2 min.
6 min.	0 %	2 min.
8 min.	0 -35 %	2 min.
10 min.	0 %	

Se calculó la concentración de la antracena PA1 por medio de curvas de calibración, en donde se relacionó una concentración conocida de PA1 con el área correspondiente en el cromatograma por medio de un análisis de regresión.

Para la parte estadística se trabajó bajo un diseño bloques al azar, el tamaño de fruto fue considerado como bloque, ver Tabla 4 y croquis del experimento.

### **3.3 Evaluación estadística**

En la Tabla 4 se observan las unidades experimentales por tratamiento, donde cada columna representa tamaños de fruto grande (F. G.), chico (F. CH.) y mixto (F. M.), respectivamente.

Tabla 4.- Relación de tratamientos y sus respectivas unidades experimentales.

TRATAMIENTOS	UNIDADES EXP.		
	F. G.	F. CH.	F. M.
T1	11	16	27
T2	13	44	53
T3	17	36	37
T4	42	48	52
T5	46	47	54
T6	8	14	33
T7	5	12	51
T8	4	23	45
T9	7	28	55
T10	24	30	50
T11	1	18	41
T12	10	20	34
T13	2	25	29
T14	3	32	39
T15	6	15	40
T16	9	19	57
T17	21	43	56
T18	26	35	38
T19	22	31	49

CROQUIS BAJO UN DISEÑO COMPLETAMENTE AL AZAR

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
T11	T13	T14	T8	T7	T15	T9	T6	T16	T12	T1	T7	T2	T6	T15	T1	T3	T11	T16
20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
T12	T17	T19	T8	T10	T13	T18	T1	T9	T13	T10	T19	T14	T6	T12	T18	T3	T3	T18
39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57
T14	T15	T11	T4	T17	T2	T8	T5	T5	T4	T19	T10	T7	T4	T2	T5	T9	T17	T16

Se trabajó con el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + TF_j + E_{ijk} \quad i = 1, 2, \dots, 19 \quad j = 1, 2, 3$$

Donde:

$Y_{ij}$  es la observación del tratamiento  $i$  en el tamaño de fruto  $j$ .

$\mu$  es el efecto verdadero de la media general.

$T_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.

$TF_j$  es el efecto del  $j$ -ésimo tamaño de fruto.

$E_{ijk}$  es el error experimental.

Se supone que:

Los errores ( $E_{ijk}$ ) se distribuyen normal e independientemente, con media cero y varianza igual a  $\sigma^2$ .

No hay interacción entre tratamientos y tamaño de fruto. El efecto  $T_i$  es el mismo en todos los tamaños de fruto.

Una vez realizado el análisis de varianza para los 19 tratamientos y sus respectivas repeticiones, se procedió a probar las hipótesis planteadas en la investigación.

### 3.3.1 Hipótesis estadísticas a probar

#### 3.3.1.1 Hipótesis 1. Efecto del período de cosecha sobre porcentaje de PA1.

Para probar la primera hipótesis se compararon los tratamientos 1 al 12, correspondientes a un año continuo de cosecha en *Karwinskia humboldtiana*, (Tabla 5).

Tabla 5.- Tratamientos del 1 al 12 durante un año de cosecha continua en *K. humboldtiana*, donde se probaría que la variabilidad en la concentración de T-514 (PA1), dependería del período de cosecha.

TRATA	ESPECIE	AMBIENTE	PERIODO DE COSECHA	CARACTERISTICAS	NUM. DE REPET.
1.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	AGO'95	Fruto maduro rojinegro	3
2.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	SEP 95	Fruto maduro rojinegro	3
3.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	OCT 95	Fruto maduro rojinegro	3
4.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	NOV'95	Fruto maduro rojinegro	3
5.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	DIC 95	Fruto maduro rojinegro	3
6.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	ENE 96	Fruto maduro rojinegro	3
7.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	FEB 96	Fruto maduro rojinegro	3
8.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	MAR'96	Fruto maduro rojinegro	3
9.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	ABR/96	Fruto maduro rojinegro	3
10.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	MAY 96	Fruto maduro rojinegro	3
11.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	JUN/96	Fruto maduro rojinegro	3
12.-	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	JUL/96	Fruto maduro rojinegro	3

La hipótesis estadística fue la siguiente:

$$H_0: T_1 = T_2 = \dots = T_{12} \quad \text{VS.} \quad H_a: \text{Al menos dos } T \neq 0$$

Las medias de tratamientos se compararon por el método de Diferencia Mínima Significativa (DMS).

### 3.3.1.2 Hipótesis 2. Efecto de tamaño de fruto sobre contenido de PA1.

Para probar la segunda hipótesis se tomaron los datos de las mismas muestras de *K. humboldtiana* de la hipótesis anterior y se hicieron comparaciones entre frutos de tamaño grande, chico y de tamaño mixto; con 12 repeticiones cada una, considerando cada período como una repetición.

La hipótesis estadística fue la siguiente:

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 \quad \text{VS.} \quad H_a: \text{Al menos dos } \beta_i \neq 0$$

Las medias de tratamientos se compararon por el método de la Diferencia Mínima Significativa (DMS).

Se realizó un análisis de regresión múltiple para estudiar las tendencias de la concentración de PA1 a través del año de cosecha, ajustando un modelo cuadrático para cada uno de los 3 tamaños de fruto.

El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 (\text{mes}) + \beta_2 (\text{mes})^2 \quad i = 1, 2, \dots, n.$$

Después de ajustar el modelo, por el método de máximos y mínimos se obtuvo el mínimo de la función, considerando la siguiente ecuación:

$$\text{MINIMO} = -\beta_1 / 2 \beta_2.$$

### 3.3.1.3 Hipótesis 3. Efecto del riego e intensidad de luz sobre síntesis de PA1.

Para probar la tercera hipótesis se compararon los tratamientos de la Tabla 6.

Tabla 6.- Tratamientos utilizados para probar que el ambiente de producción tendría influencia sobre la síntesis de PA1.

TRATA	ESPECIE	AMBIENTE	PERIODO		
			DE COSECHA	CARACTERISTICAS	REPETICIONES
13	<i>K. humboldtiana</i>	Riego y sol	SEP/96	Fruto maduro verde	3
14	<i>K. humboldtiana</i>	Temporal y sol	SEP/96	Fruto maduro verde	3
15	<i>K. parvifolia</i> (Choix)	Temporal y sol	SEP/96	Fruto maduro verde	3
17	<i>K. parvifolia</i> (Choix)	Riego y sol	SEP/96	Fruto maduro verde	3
18	<i>K. parvifolia</i> (Natoches)	Riego y sombra	SEP 96	Fruto maduro rojinegro	3
19	<i>K. parvifolia</i> (Natoches)	Riego y sol	OCT/95	Fruto maduro rojinegro y verde	3

La hipótesis estadística fue la siguiente:

$$H_0: T_{13} = T_{14} = T_{15} = T_{17} = T_{18} = T_{19} \quad \text{VS.} \quad H_a: \text{Al menos dos } T \neq 0$$

## **CAPITULO 4**

### **RESULTADOS**

#### **4.1 Resultados de campo**

En la Tabla 12A se observan las características agronómicas de frutos de diversos tamaños cultivados en diferentes ambientes de producción.

En la Tabla 8 se proporciona un resumen de la información general de campo sobre el número de frutos por muestra, en donde se observa que los materiales mostraron un promedio general de 44 frutos enteros por cada 5.0 g de peso seco; con valor extremo mínimo de 12 y máximo de 117; estimando 8,821 frutos enteros por kg; con valores extremos mínimo y máximo de 2,400 y 23,400, respectivamente.

El peso seco por fruto entero se estimó en 0.148 g en promedio general; con valores extremos mínimos y máximos de 0.043 y 0.417, respectivamente.

El promedio de peso seco en hueso fue de 2.4 g por cada 5.0 g de fruto entero; con valores extremos mínimos y máximos de 1.6 y 3.3, respectivamente.

El número de frutos en hueso por kg de peso seco estimado fue de 17,624; con valores extremos mínimo de 6,842 y máximo de 41,785.

El peso promedio de cada fruto en hueso fue de 0.069 g, con valores extremos mínimos de 0.024 y máximos de 0.146.

Tabla 8.- Concentrado de datos de campo sobre las características generales de peso del fruto seco y en hueso de 57 muestras de tres tipos de plantas del género *Karwinskia* cultivadas en vivero. Datos tomados de la Tabla 12A.

<u>Características</u>	<u>Valor Mínimo</u>	<u>Valor Promedio</u>	<u>Valor Máximo</u>
Frutos enteros/5 g	12.0	44.1	117.0
Frutos enteros/kg	2,400.0	8,821.0	23,400.0
Frutos en hueso/kg	6,842.0	17,624.7	41,785.0
P. seco/fruto (g)	0.043	0.148	0.417
P. seco en hueso/5 g	1.6	2.4	3.3
P. seco/hueso (g)	0.024	0.069	0.146

#### 4. 2 Resultados de laboratorio

Los cromatogramas se dividieron en 7 grupos de sustancias en función de sus tiempos de retención ( $t_{R1}$ ,  $t_{R2}$ , ...,  $t_{R7}$ ). En esta investigación debe entenderse que el  $t_{R1}$  se refiere al porcentaje de área del grupo de sustancias antracénicas que se detectan en los cromatogramas con el tiempo de retención que se observa en la Tabla 13A; el  $t_{R2}$  se refiere al porcentaje de área del grupo de sustancias antracénicas que se detectan en los cromatogramas con el tiempo de retención que se observa en la Tabla 13A; y así sucesivamente hasta el  $t_{R7}$ , el cual se refiere al porcentaje de área del grupo de sustancias antracénicas que se detectan en los cromatogramas con el tiempo de retención  $> 7.120$ . En la Tabla 13A se muestran los grupos, las sustancias y tres tiempos de retención: normal, mínimo y máximo; el primero representa el valor más conocido por trabajos previos en el DFT, mientras que los otros 2 corresponden a los valores observados en los cromatogramas correspondientes a esta investigación.

En los cromatogramas se midió el área de cada uno de los 7 grupos de sustancias con la finalidad de estimar su concentración; además de los porcentajes de área de cada grupo de sustancias detectados en sus correspondientes tiempos de retención, se calculó la concentración final de PA1 que se detecta en el grupo de sustancias con  $t_{R3}$ .

TABLA 9.- Concentrado de datos sobre Periodo de cosecha, Tamaño del fruto, Riego, Intensidad de luz y Especie y su efecto sobre las variables PSPF, PSPH, t<sub>R1</sub>, t<sub>R2</sub>, t<sub>R3</sub>, t<sub>R4</sub>, t<sub>R5</sub>, t<sub>R6</sub> y t<sub>R7</sub>.

	PSPF Tablas 16A y 17A	PSPH Tablas 18A y 19A	t <sub>R1</sub> Tablas 20A y 21A	t <sub>R2</sub> Tablas 22A y 23A	t <sub>R3</sub> Tablas 24A y 25A	t <sub>R4</sub> Tablas 26A y 27A	t <sub>R5</sub> Tablas 28A y 29A	t <sub>R6</sub> Tablas 30A y 31A	t <sub>R7</sub> Tablas 32A y 33A
<b>PERIODO DE COSECHA</b> Tratamientos: 1... 12	**	**	**	N.S.	**	N.S.	**	N.S.	N.S.
<b>TAMAÑO DEL FRUTO</b> Bloques: 1... 3	**	**	N.S.	**	*	N.S.	*	**	N.S.
<b>RIEGO</b> Tratamientos: 13 vs. 14 Tratamientos: 15 vs. 17	N.S. N.S.	N.S. N.S.	N.S. N.S.	N.S. N.S.	N.S. N.S.	N.S. **	** N.S.	** N.S.	* N.S.
<b>INTENSIDAD DE LUZ</b> Tratamientos: 18 vs. 19	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
<b>ESPECIE</b> Tratamientos: 13 y 14 vs. 15 y 17 Tratamientos: 13 vs. 17 Tratamientos 14 vs. 15	N.S. N.S. N.S.	N.S. N.S. N.S.	N.S. N.S. N.S.	N.S. N.S. N.S.	N.S. N.S. N.S.	N.S. N.S. N.S.	** ** N.S.	N.S. * N.S.	** ** N.S.

(\*\*) Diferencia altamente significativa: P < 0.01

(\*) Diferencia significativa: 0.01 ≤ P < 0.05

N. S. No hay diferencia significativa entre los tratamientos: P ≥ 0.05

#### 4. 3 Concentrado de datos sobre producción de antracenosas

El grupo antracénico que registró el valor promedio más alto de porcentaje de área correspondió a  $t_{R6}$  con un 39.95 %, seguido de  $t_{R3}$  con un 21.23 % y en quinto lugar se observó el valor de  $t_{R1}$  con un 6.0 %; mientras que el  $t_{R4}$  se ubicó en el séptimo lugar con un valor promedio de 3.18 %. Los grupos antracénicos con  $t_{R5}$ ,  $t_{R7}$  y  $t_{R2}$  registraron valores promedio de 17.04 %, 8.22 % y 4.38 %, los cuales se ubicaron en el tercero, cuarto y sexto lugar, respectivamente, (Tabla 10).

Tabla 10.- Concentrado de valores promedio, mínimo y máximo de porcentajes de área para cada grupo de sustancias detectados en los 57 cromatogramas.

Grupo antracénico con tiempo de retención:	Valor Promedio	Valor Mínimo	Valor Máximo
$t_{R1}$	6.00	2.19	11.49
$t_{R2}$	4.38	0.00	12.13
$t_{R3}$	21.23	3.77	42.28
$t_{R4}$	3.18	0.00	13.41
$t_{R5}$	17.04	0.00	57.58
$t_{R6}$	39.95	10.68	94.04
$t_{R7}$	8.22	0.00	24.10

En la Tabla 11 se observan los promedios de los 19 tratamientos, correspondientes a frutos de tamaño grande; chico y mixto, respectivamente.

Tabla 11.- Comparación de medias para evaluar el efecto de tamaño del fruto sobre peso seco por fruto (PSPF) y peso seco por hueso (PSPH); % de PA1; así como porcentajes de área de sustancias antracénicas agrupados en los tiempos de retención:  $t_{R1}$ ,  $t_{R2}$ ,  $t_{R3}$ ,  $t_{R4}$ ,  $t_{R5}$ ,  $t_{R6}$  y  $t_{R7}$ .

VARIABLES	C.M.E.	D.M.S.	COMPARACION DE MEDIAS*		
			F.G	F.CH	F.M
PSPF (g)	0.0017	0.0271	0.22 a	0.08 c	0.14 b
PSPH (mg)	154.3479	8.1748	97.84 a	43.11 c	64.68 b
PA1	0.0183	0.0890	0.21 b	0.38 a	0.47 a
$t_{R1}$	2.3431	1.0072	5.42 a	5.95 a	6.62 a
$t_{R2}$	7.2405	1.7706	2.55 b	3.43 b	7.16 a
$t_{R3}$	25.7324	3.3379	19.43 b	20.64 ab	23.63 a
$t_{R4}$	9.4088	2.0183	2.44 a	4.34 a	2.74 a
$t_{R5}$	77.1506	5.7796	18.10 ab	12.85 b	20.18 a
$t_{R6}$	158.6999	8.2893	44.38 a	45.51 a	29.96 b
$t_{R7}$	23.0341	3.1580	7.68 a	7.28 a	9.71 a

(\*) Aquí están comprendidas 19 observaciones para cada tamaño de fruto. (F.G=Rep. 1; F.CH = Rep. 2; F.M = Rep. 3).

Letras iguales dentro de la misma hilera indica que no hay diferencia significativa.

#### 4.4 Correlaciones

En este apartado se presentan resultados generales sobre PSPF; PSPH y los porcentajes de área de los 7 grupos de sustancias antracénicas detectadas en los cromatogramas; se les hicieron análisis de correlación a fin de obtener sus coeficientes de correlación y determinar estadísticamente la intensidad de asociación o grado de relación entre todas las variables: PSPF, PSPH y los 7 grupos de sustancias en sus respectivos tiempos de retención ( $t_{R1}$ ,  $t_{R2}$ ,  $t_{R3}$ ,  $t_{R4}$ ,  $t_{R5}$ ,  $t_{R6}$  y  $t_{R7}$ ).

#### 4.4.1 Correlaciones de PSPF

La variable PSPF presentó las siguientes correlaciones con otras variables:

<u>Correlaciones</u>	<u>r</u>	<u>P</u>
PSPF*t <sub>R1</sub>	-0.3336	0.047
PSPF*t <sub>R2</sub>	-0.3612	0.030
PSPF*t <sub>R3</sub>	-0.4270	0.009
PSPF*t <sub>R4</sub>	-0.6279	0.000
PSPF*PA1	-0.6640	0.000

#### 4.4.2 Correlaciones de PSPH

Además de las correlaciones que se observaron en el punto 4.4.1, la variable PSPH presentó las siguientes correlaciones de significancia estadística con otras variables:

<u>Correlaciones</u>	<u>r</u>	<u>P</u>
PSPH*t <sub>R1</sub>	-0.3540	0.034
PSPH*t <sub>R2</sub>	-0.3776	0.023
PSPH*t <sub>R3</sub>	-0.4719	0.004
PSPH*t <sub>R4</sub>	-0.6226	0.000
PSPH*t <sub>R5</sub>	0.3530	0.035
PSPH*PA1	-0.7029	0.000

#### 4.4.3 Correlaciones del grupo de sustancias antracénicas con tiempo de retención t<sub>R1</sub>

Además de las correlaciones que se observaron en los puntos 4.4.1 y 4.4.2, la variable t<sub>R1</sub> presentó las siguientes correlaciones de significancia estadística:

<u>Correlaciones</u>	<u>r</u>	<u>P</u>
t <sub>R1</sub> *t <sub>R2</sub>	0.5271	0.001
t <sub>R1</sub> *t <sub>R3</sub>	0.7569	0.000
t <sub>R1</sub> *t <sub>R5</sub>	-0.7626	0.000
t <sub>R1</sub> *PA1	0.5366	0.001

#### 4.4.4 Correlaciones del grupo de sustancias antracénicas con tiempo de retención $t_{R2}$

Además de las correlaciones que se observaron en los puntos 4.4.1, 4.4.2 y 4.4.3, la variable  $t_{R2}$  presentó las siguientes correlaciones de significancia estadística:

<u>Correlaciones</u>	<u>r</u>	<u>P</u>
$t_{R2} * t_{R3}$	0.4324	0.008
$t_{R2} * t_{R6}$	-0.4861	0.003
$t_{R2} * PA1$	0.5399	0.001

#### 4.4.5 Correlaciones del grupo de sustancias antracénicas con tiempo de retención $t_{R3}$

Además de las correlaciones que se observaron en los puntos 4.4.1, 4.4.2, 4.4.3 y 4.4.4, la variable  $t_{R3}$  presentó las siguientes correlaciones de significancia estadística con otras variables:

<u>Correlaciones</u>	<u>r</u>	<u>P</u>
$t_{R3} * t_{R5}$	-0.7797	0.000
$t_{R3} * PA1$	0.7813	0.000

#### 4.4.6 Correlaciones del grupo de sustancias antracénicas con tiempo de retención $t_{R4}$

La variable  $t_{R4}$  sólo presentó correlación significativa con las variables PSPF y PSPH que se observaron en los puntos 4.4.1 y 4.4.2, las cuales no se mencionan aquí para no repetir la información respectiva.

Los criterios de evaluación del ANVA fueron los siguientes: Con  $P \geq 0.05$  se interpretó que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos; con  $0.01 \leq P < 0.05$  se interpretó que hubo diferencia significativa; mientras que con valores de  $P < 0.01$  se interpretó que hubo una diferencia altamente significativa entre los tratamientos correspondientes a cada una de las variables; en todas las variables se consideraron 19 tratamientos con 3 repeticiones cada una. Por lo que respecta a la variable PA1, ésta se analizó con el mismo número de tratamientos y repeticiones y esta información se presenta en el apartado de Pruebas de Hipótesis (4.6). La base de datos fueron las Tablas 12A y 14A. Cuando resultó diferencia significativa o altamente significativa se realizó la comparación de medias y para ello fue seleccionada la prueba DMS. Por razones obvias, cuando no hubo diferencia significativa entre los tratamientos en los diferentes ANVA, no se realizó la comparación de medias.

#### 4.5.1 Peso seco por fruto (PSPF)

Para esta variable se observó una diferencia altamente significativa entre los tratamientos por efecto del período de cosecha. No se observó diferencia significativa por efecto del riego, intensidad de luz ni de especie, (Tabla 9). Los frutos cosechados en primavera (marzo-abril) tuvieron mayor peso por fruto, (Tabla 17A y Figura 3A).

Conviene destacar las correlaciones de las variables PSPF, PSPH, Grupo de sustancias antracénicas con tiempo de retención  $t_{R3}$  y PA1. En primer lugar se observa que el peso seco por fruto (PSPF), presenta una correlación positiva altamente significativa con la variable peso seco por hueso (PSPH). Esa variable (PSPF) también se observa correlacionada negativamente con las variables  $t_{R1}$ ,  $t_{R2}$ ,  $t_{R3}$ ,  $t_{R4}$  y PA1.

Los resultados del análisis de correlación confirman los obtenidos con los análisis de varianza presentados anteriormente, en donde se encontró que los porcentajes de área de antracenas en el fruto están correlacionados negativamente con el tamaño de fruto.

#### 4.5.2 Peso seco por hueso, (PSPH)

Se observó una diferencia altamente significativa entre los tratamientos para esta variable a causa del efecto del período de cosecha, (Tabla 9). Los frutos cosechados en invierno y principios de primavera produjeron huesos más pesados, (Tabla 19A y Figura 4A). Hay una alta correlación positiva entre el PSPF y PSPH, ( $r=0.9713$  y  $P=0.000$ ). No se observó diferencia significativa en el PSPH por efecto del riego, intensidad de luz ni de especie, (Tabla 9).

El peso seco por hueso (PSPH) presentó una correlación negativa con las variables  $t_{R1}$ ,  $t_{R2}$ ,  $t_{R3}$ ,  $t_{R4}$  y PA1; mientras que con  $t_{R5}$  se detectó una correlación positiva.

#### 4.5.3 Grupo antracénico con tiempo de retención 1 ( $t_{R1}$ )

Para esta variable se observó una diferencia altamente significativa entre los tratamientos por efecto del período de cosecha. No se observó diferencia significativa por efecto del tamaño del fruto, riego, intensidad de luz ni de especie sobre esta variable, (Tabla 9). En los frutos cosechados en los meses de agosto, septiembre y noviembre se obtuvieron los porcentajes más altos de  $t_{R1}$ , (Tabla 21A y Figura 5A).

#### 4.5.4 Grupo antracénico con tiempo de retención 2 ( $t_{R2}$ )

Se observó una diferencia altamente significativa entre los tratamientos para esta variable por efecto del tamaño del fruto. No se observó que hubiese diferencia significativa por efecto del período de cosecha, riego, intensidad de luz ni de especie sobre  $t_{R2}$ , (Tabla 9 y Figura 6A).

#### 4.5.5 Grupo antracénico con tiempo de retención 3 ( $t_{R3}$ )

Para esta variable se observó una diferencia altamente significativa entre los tratamientos por efecto del período de cosecha. No se observó diferencia significativa por efecto del riego, intensidad de luz ni de especie sobre  $t_{R3}$ , (Tablas 9, 25A y Figura 7A).

Se observó que los frutos cosechados en agosto y septiembre producen los porcentajes más altos de  $t_{R3}$ ; así como una tendencia a que sea en los frutos de tamaño chico y mixto donde se obtengan mayores porcentajes de  $t_{R3}$ .

La variable  $t_{R3}$  presentó una correlación positiva con  $t_{R1}$ ,  $t_{R2}$  y PA1; mientras que con PSPF, PSPH y  $t_{R5}$  la relación fue negativa.

Se detectó que los valores de  $t_{R3}$  resultaron relativamente altos cuando el peso por fruto tanto entero como en hueso fue menor.

Cuando se correlacionó  $t_{R3}$  con el resto de los componentes antracénicos, se observó una correlación positiva con las variables  $t_{R1}$  y  $t_{R2}$ ; con  $t_{R5}$  se presentó una correlación negativa; mientras que las variables  $t_{R4}$ ,  $t_{R6}$  y  $t_{R7}$  no presentaron significancia estadística con  $t_{R3}$ . Lo anterior significa que  $t_{R3}$  eleva su porcentaje, mientras que éste disminuye en las sustancias identificadas en el cromatógrafo con  $t_{R}$  entre 2.82 y 6.80, entre las cuales se encuentra la T-544.

#### 4.5.6 Grupo antracénico con tiempo de retención 4 ( $t_{R4}$ ).

En este grupo se observó diferencia altamente significativa entre los tratamientos por efecto del riego. No se observó diferencia significativa entre los tratamientos por efecto del período de cosecha, tamaño del fruto, intensidad de luz ni de especie.

En los frutos de plantas que recibieron riego y cosechados verdes se observó un mayor porcentaje de  $t_{R4}$  que en aquellos donde las plantas crecieron bajo condiciones de temporal, cuyo porcentaje resultó prácticamente nulo, (Tabla 9 y Figura 8A).

#### 4.5.7 Grupo antracénico con tiempo de retención 5 ( $t_{R5}$ )

En frutos rojinegros de *K. humboldtiana* se observó una diferencia altamente significativa entre los tratamientos por efecto del período de cosecha, riego y de especie. No se observó diferencia significativa por efecto de intensidad de luz. En los frutos cosechados durante los meses de diciembre, enero, marzo y abril se obtuvieron los porcentajes más altos de  $t_{R5}$  en la misma especie. En frutos de tamaño mixto se observó una tendencia a producir mayor porcentaje de  $t_{R5}$ . En frutos cosechados verdes (riego vs temporal), la aplicación del riego favoreció mayores porcentajes de  $t_{R5}$  y, comparando las especies, fue en frutos de *K. humboldtiana* donde se obtuvieron los mayores porcentajes de  $t_{R5}$ , (Tablas 9, 29A y Figura 9A).

La variable  $t_{R5}$  sólo se detectó correlacionada negativamente con el resto de las sustancias químicas donde hubo significancia estadística, lo cual indica que la presencia elevada de  $t_{R5}$  tiene efecto negativo sobre esas sustancias.

#### 4.5.8 Grupo antracénico con tiempo de retención 6 ( $t_{R6}$ )

Para esta variable se observó una diferencia altamente significativa por efecto del tamaño de fruto y de riego. No se observó diferencia significativa por efecto del período de cosecha ni de intensidad de luz sobre  $t_{R6}$ , (Tabla 9 y Figura 10A). En frutos de tamaño mixto se obtuvo el porcentaje más bajo de  $t_{R6}$ . En *K. humboldtiana* se obtuvo menor porcentaje de  $t_{R6}$  en plantas bajo condiciones de riego que en las de temporal; pero en general, esta especie tiende a producir porcentajes más bajos de este grupo de antracenos que *K. parvifolia* (Choix) o *K. parvifolia* (Natoches).

#### 4.5.9 Grupo antracénico con tiempo de retención 7 ( $t_{R7}$ )

Para esta variable se observó una diferencia altamente significativa entre los

tratamientos por efecto de especie. No se observó diferencia significativa por efecto del período de cosecha ni de tamaño del fruto, (Tabla 9). En *K. humboldtiana* se observó una tendencia a que los frutos de temporal produzcan menos  $t_R7$  que los frutos que recibieron riego. Aun cuando no hay significancia estadística por efecto de la intensidad de luz, hay una tendencia a que las plantas sombreadas de *K. parvifolia* (Natoches) produzcan menor porcentaje de  $t_R7$  que las plantas a pleno sol. En general, los frutos de *K. humboldtiana* produjeron mayor porcentaje de  $t_R7$  que los de *K. parvifolia* (Choix), (Tablas 9, 33A y Figura 11A).

Puede observarse en la Figura 1 una correlación positiva entre el peso de fruto entero y el peso de fruto en hueso para los 19 tratamientos; mientras que la curva que representa la concentración de PA1 se ve afectada por la influencia específica de los tratamientos.

En la Figura 2 se observa que  $t_{R3}$ ,  $t_{R5}$  y  $t_{R6}$  presentan valores porcentuales relativamente elevados y que se modifican en función del tratamiento, mientras que en los otros  $t_{R}$ s se observan cambios de menor intensidad.

En la misma Figura 2 se observa que en los tratamientos 13 y 14, que contienen fruto maduro verde de *K. humboldtiana*, el grupo antracénico con  $t_{R6}$  eleva sus valores porcentuales de área, en relación con los tratamientos 1 al 12, de la misma especie, pero que contienen frutos maduros rojinegros.

Otra observación que se deriva de la Figura 2 es que los tratamientos 15 al 19, cosechados bajo diferentes ambientes de producción presentan, en común, altos valores del grupo antracénico con  $t_{R6}$  y corresponden a frutos de *K. parvifolia*, tanto de Choix como de Natoches, esto en comparación con los valores de los tratamientos 1 al 12 que se observan en frutos correspondientes a *K. humboldtiana*.

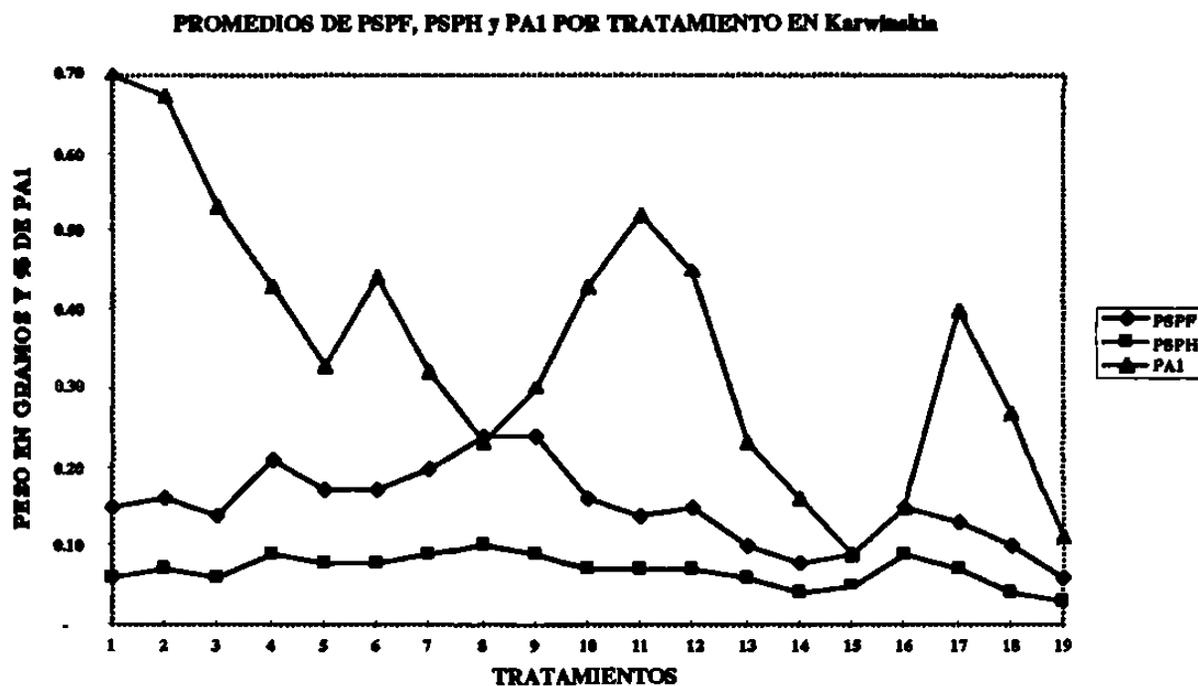


Figura 1.- Promedio de peso seco por fruto (PSPF), peso seco por hueso (PSPH) y % de producción de PA1 en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende tratamientos 15, 16 y 17 y *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

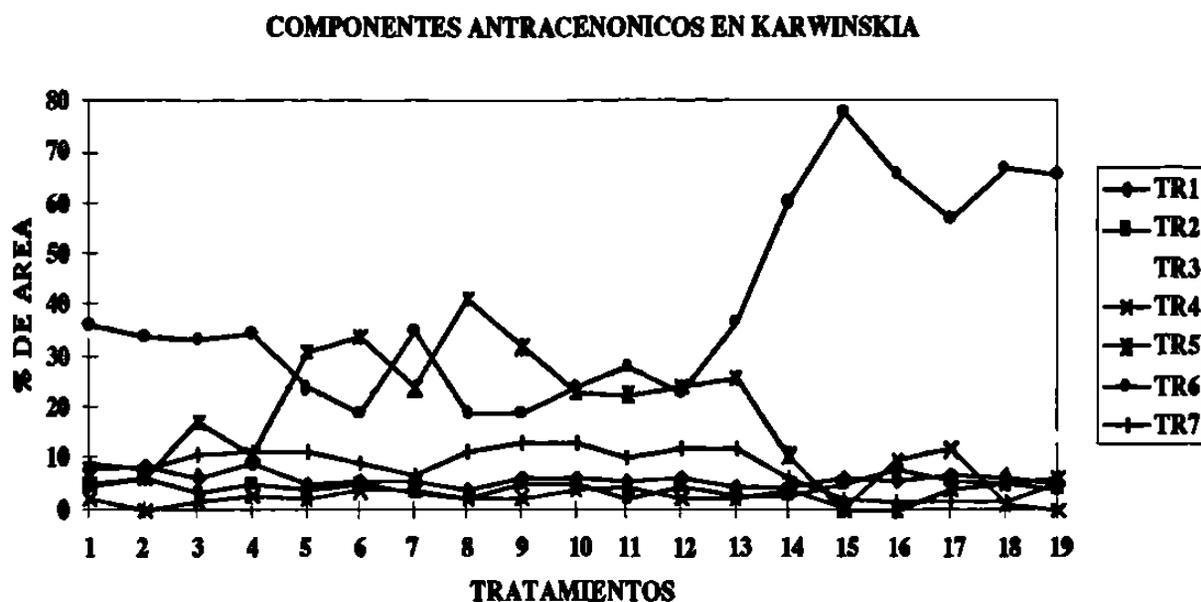


Figura 2.- Componentes antracénicos detectados en cromatogramas de diferentes especies, ambientes de producción y madurez de fruto en *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende tratamientos 15, 16 y 17 y *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

## 4. 6 Pruebas de hipótesis

Para probar las hipótesis se calculó la concentración de la antracena PA1 por medio de una curva de calibración, en donde se relacionó una concentración conocida de PA1 con el área correspondiente en el cromatograma por medio de un análisis de regresión. En la Tabla 37A se muestran datos de área y concentración de PA1 para la calibración de las muestras analizadas en el primer grupo; en la Figura 12A se muestra la línea estimada y la ecuación de regresión para las muestras del grupo 1. En la Tabla 38A y Figura 13A se muestra la información de la calibración de las muestras analizadas en el grupo 2, ver Tabla 15A sobre resultados de laboratorio en ambos casos.

4.6.1 Hipótesis 1. Efecto del período de cosecha sobre la concentración de PA1 en *K. humboldtiana*, bajo condiciones de riego y luz solar al 100 %.

4.6.1.1.- Análisis de varianza y comparación de medias en PA1.

Respecto a la concentración de PA1 que se menciona en la primera hipótesis, la Tabla del ANVA (Tabla 34A) mostró una diferencia estadística altamente significativa para tratamientos, con una  $F = 5.098$  y  $P = 0.000$  y con ello se confirma que al menos en un período mensual se cosecharon frutos que contienen diferente concentración de PA1 en comparación con los demás.

Para identificar los meses en que se cosecharon frutos con mayor o menor concentración de PA1, se realizó la comparación de medias por D.M.S., encontrando los resultados mostrados en la Tabla 12.

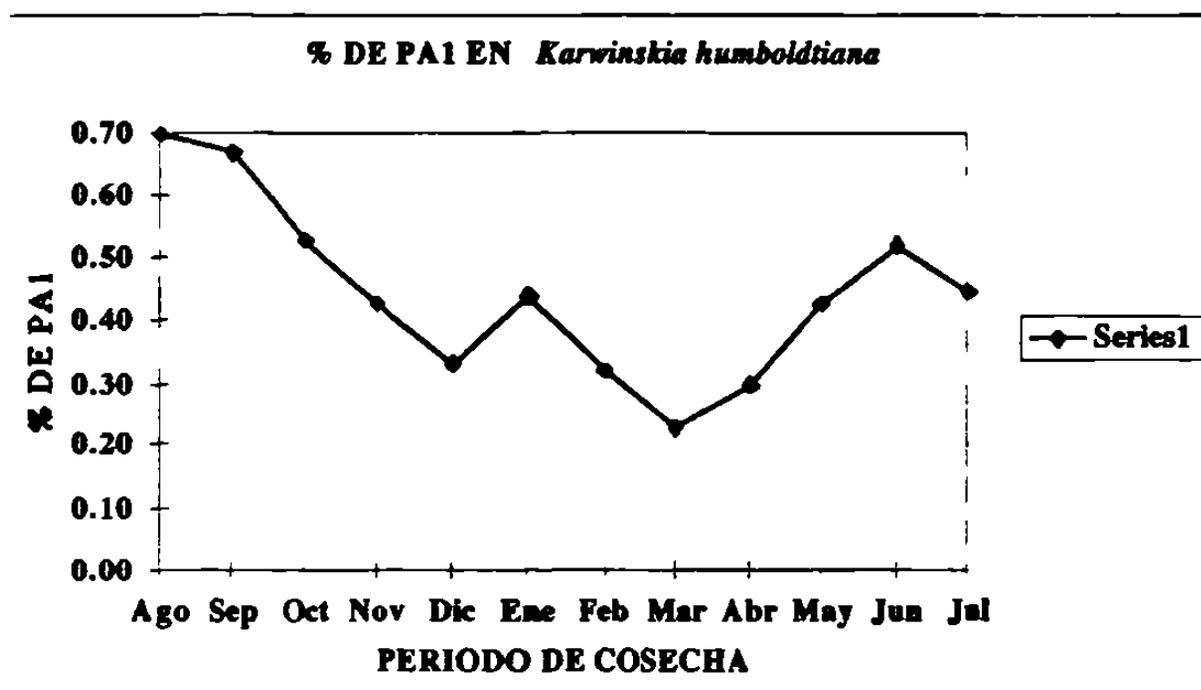


Figura 3.- Períodos de cosecha en *Karwinskia humboldtiana* durante agosto de 1995 al mes de julio de 1996 y su respectiva concentración de PA1.

#### 4.6.2 Hipótesis 2. Efecto del tamaño de fruto sobre la concentración de PA1.

Para probar que los frutos grandes producirían mayor contenido de PA1 se utilizaron los datos que se observan en la Tabla 39A.

##### 4.6.2.1 Análisis de varianza y comparación de medias en PA1

Se analizaron los datos bajo un diseño bloques al azar y se construyó la Tabla 13.

Tabla 13.- Análisis de varianza en tamaño de frutos de *K. humboldtiana*.

F. V.	G. L.	S. C.	C. M.	F	P>F
Tamaño de fruto	2	0.744068	0.372034	25.8412	0.000 **
Bloques	11	0.680302	0.061846	4.2958	0.002 **
Error	22	0.316732	0.014397		
Total	35	1.741101			

\*\* Diferencia altamente significativa.

La Tabla del ANVA presentó una diferencia estadística altamente significativa para tamaño de fruto, con una  $F = 25.8412$  y  $P > F$  de 0.000, lo cual confirma que al menos un tratamiento (tamaño de fruto) resultó diferente a los demás y que el tamaño del fruto de *K. humboldtiana* cultivado en vivero bajo condiciones de riego y a plena luz, sería un indicativo de la producción de PA1.

Considerando lo anterior, se hizo una comparación de medias para identificar cuál sería el tamaño de fruto en que se produce la mayor concentración de PA1, (Tabla 14).

Tabla 14.- Prueba de comparación de medias de % de PA1 para tamaño de fruto.

Tratamiento	Media general (% de PA1)	$\alpha = 0.05$
3 (Frutos mixtos)	0.5767	a
2 (Frutos chicos)	0.5133	a
1 (Frutos grandes)	0.2450	b

DMS=0.1016

Letras iguales en la columna del nivel de significancia indica que no hay diferencia significativa.

Se compararon los promedios (DMS=0.1016) y resultaron estadísticamente iguales los tratamientos 2 y 3, correspondientes a frutos chicos y de tamaño mixto respectivamente, con un promedio de 0.55 % de PA1 entre ambos; mientras que los huesos de frutos grandes produjeron un 0.25 % de PA1.

#### 4.6.2.1.2.- Tendencias de concentración de PA1 en frutos chicos.

$$Y_i = 0.775455 - 0.102972(\text{meses}) + 0.007517(\text{meses})^2$$

$$\text{Mínimo} = -\beta_1 / 2\beta_2 = 0.102972 / 2 (0.007517) = 6.8$$

El mes 6.8 resultó con la menor concentración de PA1 para frutos chicos, lo cual significaría que durante los últimos días del mes de febrero se cosecharon frutos chicos que produjeron los porcentajes más bajos de PA1, en relación a los cosechados durante los meses de agosto y septiembre por ejemplo.

#### 4.6.2.1.3.- Tendencias de concentración de PA1 en frutos de tamaño mixto.

$$Y_i = 1.201364 - 0.188057(\text{meses}) + 0.011034(\text{meses})^2$$

$$\text{Mínimo} = -\beta_1 / 2\beta_2 = 0.188057 / 2 (0.011034) = 8.52$$

El mes 8.5 es donde se concentró menor cantidad de PA1 para frutos de tamaño mixto. Este valor significaría que a mediados del mes de abril se cosecharon frutos de tamaño mixto que produjeron los niveles más bajos de PA1.

#### 4.6.3 Hipótesis 3. Efecto del riego e intensidad de luz sobre la síntesis de PA1.

Para probar que el riego e intensidad de luz influyen sobre la producción de PA1 se compararon los promedios de los tratamientos 13, 14, 15, 17, 18 y 19, según se observa en las Tablas 6 y 40A.

#### 4.6.3.1 Análisis de varianza y comparación de medias en PA1.

Respecto a la concentración de PA1 que se menciona en la tercera hipótesis, el ANVA mostró una diferencia estadística altamente significativa para tratamientos, con  $F = 5.098$  y  $P = 0.000$ , por lo que se compararon los tratamientos involucrados en la hipótesis 3.

Para identificar los tratamientos en que se cosecharon huesos con mayor o menor concentración de PA1, se realizó la comparación de medias por Diferencia Mínima Significativa (D.M.S.), encontrando los resultados que se presentan en la Tabla 16.

Tabla 16.- Comparación de medias de concentraciones de PA1 entre los tratamientos 13, 14, 15, 17, 18 y 19.

<u>Tratamiento</u>	<u>Media</u>	$\alpha = 0.05$
17 (riego)	0.40	a
18 (sombra)	0.27	ab
13 (riego)	0.23	ab
14 (temporal)	0.16	b
19 (sol)	0.11	b
15 (temporal)	0.09	b

DMS = 0.2224.

Letras iguales en la columna del nivel de significancia indica que no hay diferencia significativa.

En frutos verdes se compararon los promedios de los tratamientos 13 (riego) contra 14 (temporal) de la especie *K. humboldtiana*. Los resultados indican que no hubo diferencia significativa, pero sí una tendencia a que el riego influya positivamente sobre la síntesis de PA1, (Tabla 16). En frutos verdes se compararon los promedios de los tratamientos 15 (temporal) contra 17 (riego) de la especie *K. parvifolia* (Choix). Los resultados indican una diferencia altamente significativa, siendo más productivo el tratamiento 17, lo cual indica que el riego influye positivamente sobre la síntesis de PA1.

En general, en frutos verdes de estas dos especies se observó una tendencia a

sintetizar mayores concentraciones de PA1 en plantas bajo condiciones de riego.

En frutos rojinegros se compararon los promedios de los tratamientos 18 (sombra) contra 19 (sol) de la especie *K. parvifolia* (Natoches). Los resultados indican que no hubo diferencia significativa, pero sí una tendencia a que el sombreado influya positivamente en la síntesis de PA1.

#### 4.6.4 Hipótesis 4. En plantas cultivadas habría diferencias interespecíficas en la síntesis de PA1.

Para probar que la especie influye sobre la producción de PA1, se compararon el promedio de la concentración de PA1 en frutos verdes de los tratamientos 13 (riego) y 14 (temporal), contra el promedio de los tratamientos 15 (temporal) y 17 (riego), datos tomados de Tablas 7 y 40A.

##### 4.6.4.1 Análisis de varianza y comparación de medias para medir el efecto de la especie sobre la producción de PA1.

Respecto a la concentración de PA1 que se menciona en la cuarta hipótesis, se consideró adecuado analizar los datos por medio de un factorial en un diseño bloques al azar, a fin de evaluar el efecto de especie y su interacción con las condiciones de riego o temporal. El ANVA no mostró diferencia significativa para ningún factor analizado cuando se compararon frutos verdes, ver Tablas 7, 35A y Figura 1.

#### 4.6.5 Hipótesis 5

El tiempo de almacenamiento del fruto tendría influencia sobre las proporciones relativas de antracenas contenidas en el fruto. Para probar esta hipótesis se dejó un registro de los componentes antracénicos en los 19 tratamientos, sobre los cuales se harán comparaciones a futuro, (Tabla 15A).

## CAPITULO 5

### DISCUSION DE RESULTADOS

#### 5.1 Hipótesis 1

El mayor peso por fruto y por hueso coincidió con los mayores porcentajes de producción de campo durante un año de cosecha, es decir, a finales de invierno y principios de primavera se obtuvieron los mayores pesos tanto en fruto como en hueso, lo cual contribuyó a una mayor proporción de cosecha respecto a los demás meses del año; sin embargo, se observó que la síntesis de PA1 fue menor precisamente en esos meses en que la producción de campo fue mayor. Se observó que a mayor PSPF hubo un mayor PSPH y mayor producción de campo, pero menor síntesis de PA1. Caso contrario ocurrió durante los meses de verano y principios de otoño, período en que se cosecharon frutos con menor PSPF y PSPH y, coincidentemente, hubo menor proporción de la cosecha anual, pero aquí se observaron los porcentajes más elevados de PA1, (Tabla 17 y Figura 1). Luján *et al.*, (1995) reportaron en una investigación previa que en el período de cosecha de febrero y marzo se presentó una menor síntesis de PA1, lo cual se confirma con estos nuevos resultados.

Tabla 17.- Concentrado de datos sobre tratamientos, PSPF(g), PSPH(g), % de PA1 y % de Producción en *K. humboldtiana*, relacionados con las hipótesis 1 y 2.

TRATA	PSPE	PSPH	PA1	% PROD
1 (Ago)	0.15	0.06	0.70	1.42
2 (Sep)	0.16	0.07	0.67	2.99
3 (Oct)	0.14	0.06	0.53	0.56
4 (Nov)	0.21	0.09	0.43	6.70
5 (Dic)	0.17	0.08	0.33	2.55
6 (Ene)	0.17	0.08	0.44	11.17
7 (Feb)	0.20	0.09	0.32	22.93
8 (Mar)	0.24	0.10	0.23	15.89
9 (Abr)	0.24	0.09	0.30	17.54
10 (May)	0.16	0.07	0.43	12.24
11 (Jun)	0.14	0.07	0.52	3.99
12 (Jul)	0.15	0.07	<u>0.45</u>	<u>2.02</u>
TOTAL			5.35	100.00

La nutrición sería uno de los factores que influyen sobre los procesos metabólicos y fisiológicos de las plantas y, consecuentemente, sobre la síntesis de PA1, por ejemplo el nitrógeno, sobre el cual se sabe que la mayor parte de este elemento se encuentra en cualquier parte del vegetal, está en forma de proteína... "Hay una transferencia de compuestos nitrogenados —tales como glutamina, asparagina, glutamato y aspartato— desde las hojas, en especial las maduras, hasta cuerpos proteínicos en desarrollo de la raíz o a los frutos, vía floema, lo cual es típico tanto de plantas herbáceas como de leñosas... En frutos y semillas de plantas leñosas perennes,... el nitrógeno se acumula sobre todo en proteínas de reserva hasta que, en primavera, comienza de nuevo el crecimiento; entonces en el xilema aparecen de nuevo aminoácidos, amidas y ureidos en camino hacia hojas jóvenes o yemas florales. (...) Si el nitrógeno estuviese presente en niveles inferiores a la demanda de la planta (...), se reduciría la eficiencia fotosintética y, entonces, la producción de frutos y semillas se vería disminuída", (Salisbury y Ross, 1994. *Op. cit.*).

En resumen, habría una transferencia no tan solo del nitrógeno, sino también de otros elementos, afectando negativamente al crecimiento y llenado de los frutos que se cosecharon durante verano y parte del otoño.

En el caso de las especies cultivadas de *Karwinskia*, los períodos de floración-fructificación-cosecha se amplían a prácticamente todo el año, —a diferencia de las silvestres—, aunque con diferente intensidad para cada proceso, al igual que en otros frutales perennifolios, (Calderón, 1989); esto debido a que las variaciones climatológicas y el ambiente en general, tendrían influencia sobre la intensidad de estos procesos en la planta, ya sea acelerando el desarrollo del fruto durante la floración-fructificación de primavera-verano, o bien, retardándolo durante la temporada otoño-invierno. Este mismo fenómeno afectaría la síntesis de PA1 en los frutos cosechados en el vivero del DFT, tal como se ha observado en frutos recolectados de plantas silvestres.

En *K. humboldtiana*, la floración de invierno y primavera daría por resultado la cosecha de los meses de verano y principios de otoño, período en que se presenta la radiación solar más intensa y temperaturas relativamente elevadas que darían por consecuencia un incremento en la actividad metabólica y de transpiración, que sería a la vez coincidente con la época de maduración del fruto y al mismo tiempo con una intensa actividad reproductiva puesto que las plantas están en un proceso constante de floración-fructificación durante todo el año. Esto provocaría una cierta condición de tensión en las plantas y una mayor síntesis de PA1, tal como ocurre con especies productoras de alcaloides y/o demás sustancias químicas por efecto de la tensión o estrés.

No obstante lo anterior, se sugiere que la correlación inversa entre la producción de campo y la síntesis de PA1 pudiera modificarse a través de prácticas agronómicas que tengan como finalidad un incremento de la cosecha en los períodos en que las condiciones climatológicas influyen positivamente sobre la síntesis de la sustancia de interés.

## 5.2 Hipótesis 2

Las especies silvestres del género *Karwinskia* viven un proceso de selección y adaptación, lo que les permite mantenerse en evolución constante, de tal forma que los frutos recolectados con que se ha trabajado en el DFT corresponderían precisamente a especies adaptadas a los ambientes de las regiones donde se localizan y esto les daría mayor uniformidad morfológica.

Las plantas del vivero tienen un ambiente diferente al que fueron adaptadas en forma natural, además del componente genético. Los frutos de estas plantas recibirían el efecto de genia, el cual se refleja en un incremento de la variabilidad fenotípica —en frutos principalmente, ej. maíz, frijol—, (Martínez, R. M., 1997. Com. pers.)\*.

Se conoce que los frutos de otras especies tienen un mejor llenado del grano cuando permanecen por más tiempo en la planta para su desarrollo y maduración; en el caso del género *Karwinskia*, esto tendría influencia sobre la concentración de PA1.

Por lo que respecta a PSPH, la comparación de promedios (DMS = 0.0206) en huesos provenientes de frutos rojinegros de *K. humboldtiana* (Tablas 17 y 19A) indica una tendencia a producir los huesos más pesados durante los meses de febrero, marzo y abril; así como una tendencia a producir los huesos de menor peso durante los meses de agosto y octubre. Se observa una coincidencia en cuanto al comportamiento de los tratamientos tanto en frutos como en huesos, lo cual se confirma con el análisis de correlación entre PSPF Y PSPH, (Tabla 18).

Tabla 18.- Correlaciones entre las variables de la Tabla 17.

---

PSPF*%PROD=	0.74
PSPH*%PROD=	0.75
PA1*%PROD=	-0.70
PSPF*PA1=	-0.73
PSPF*PSPH=	0.92
PSPH*PA1=	-0.83

---

(\*) - Maestro de la clase de Evolución de Cultivos de la Facultad de Agronomía de la U. A. N. L.

Es importante señalar que el hueso contiene de 0 a 4 semillas viables y que las especies del género *Karwinskia* presentan polinización entomófila, (Rzedowski, J., 1988) y, considerando que la etapa de floración de los frutos más pesados se presentó durante los meses de junio a septiembre, que coinciden a la vez con temperaturas relativamente elevadas y con una alta proliferación de insectos, se sugiere que en esta etapa la floración se vería favorecida por una mayor tasa de polinización entomófila y habría, en consecuencia, una mayor cantidad de semillas viables por hueso; ello no obstante el efecto desfavorable que pudiera tener las altas temperaturas sobre el desarrollo del embrión. Por otro lado, las bajas temperaturas imperantes durante la etapa final del crecimiento de la semilla propiciarían una menor tasa de respiración y se prolongaría el tiempo de crecimiento y maduración de la semilla hasta la cosecha, lo cual resultaría favorable para un mejor llenado del grano y, consecuentemente, una mayor acumulación de materia seca en el hueso; es decir, habría una menor cantidad de semillas vanas por hueso y esto explicaría que durante estos períodos se cosechen frutos con mayor PSPH.

Se sabe que frutos grandes desarrollan mayor volumen seminal. Si la semilla es el principal reservorio de PA1, a mayor tamaño del fruto habría mayor contenido de PA1; esa fue la premisa para el desarrollo de esta investigación respecto a la hipótesis 2. Los resultados muestran que el tamaño del fruto sí influye sobre la concentración de PA1, pero fue en frutos chicos donde se observaron mayores porcentajes de esta sustancia. Es posible que este mismo efecto del tamaño de fruto haya tenido influencia significativa sobre la mayor concentración de T-514 en plantas silvestres de *K. parvifolia* (Natoches) respecto a los demás materiales, pues es conocido que esta especie bajo condiciones silvestres produce frutos de tamaño relativamente pequeño.

Una explicación de los resultados de esta investigación pudiera ser que los frutos pequeños sean el producto de algún tipo de tensión en la planta y que la concentración de PA1 fuese la misma para cualquier tamaño del fruto, sin embargo, por efecto de dilución se daría el caso de que el menor tamaño propiciaría una mayor proporción porcentual de PA1 respecto a los frutos grandes.

Otra explicación pudiera ser que PA1 se concentre no tan solo en los embriones, sino

también en otras partes del endocarpio y que incluso aquí se diera una mayor concentración, de tal forma que el tamaño y cantidad de embriones por hueso tendría una correlación negativa sobre la concentración de PA1, por el mismo efecto de dilución.

### 5.3 Hipótesis 3

En esta investigación los resultados indican que la síntesis de PA1 tanto en *K. humboldtiana* como en *K. parvifolia* (Choix) se ve incrementada con la aplicación de riego adicional a la precipitación pluvial y se confirman los resultados de Luján *et al.*, (1995. *Op cit.*), quienes reportaron que la aplicación del riego influye positivamente sobre la síntesis de T-514 (PA1). Martínez *et al.*, (1989) reportaron que la mayor cantidad de T-514 se obtiene de plantas silvestres de zonas desérticas, comparado con plantas de zonas húmedas. Los frutos de plantas cultivadas aunque sean de temporal recibirían un componente ambiental diferente al de plantas silvestres que explicaría diferencias fenotípicas y el hecho de que las proporciones de los componentes antracénicos difieran entre plantas silvestres y cultivadas —riego y temporal—, así como el efecto del período de cosecha que se observó en esta investigación y discutido en la hipótesis 2, confirman que el ambiente sería determinante de la producción de PA1. En este punto respecto a la influencia del ambiente sobre las plantas coinciden de manera general Billings, W. D., (1977); Salisbury F. B. y C. W. Ross, (1994); Hernández, R. L. (1952); García-Pelayo (1991); Klages, K. H. W., (1942), entre otros autores.

No obstante el no ser motivo de una hipótesis particular en esta investigación, se observó que en frutos verdes de *K. humboldtiana* la aplicación del riego no mostró efecto sobre la concentración de PA1; mientras que en frutos verdes de *K. parvifolia* (Choix) la aplicación del riego sí influyó positivamente sobre la concentración de PA1 respecto a frutos de temporal. También se observó que en *K. humboldtiana* la concentración de PA1 se incrementa con el manejo del grado de madurez; bajo condiciones de riego, frutos rojinegros tienen mayores proporciones de PA1 que los frutos verdes.

Se sugiere que la aplicación del riego favorecería el transporte de fotosintatos y, en

general, tendría una influencia positiva sobre los procesos metabólicos y fisiológicos en la planta y correlacionado con otros factores habría un ambiente óptimo que afectaría positivamente la síntesis de PA1.

En plantas sombreadas de *K. Parvifolia* (Natoches) se observó una tendencia a sintetizar mayor porcentaje de PA1 que las de pleno sol, aunque en esta especie se vieron pobres resultados en cuanto a producción de campo. No obstante lo anterior, sería conveniente ampliar esta línea de investigación cuando la producción se generalice durante todo el año para ambos ambientes, tanto en condiciones de pleno sol como a la sombra.

#### 5.4 Hipótesis 4

En general, las hojas, el fruto y el tamaño de las plantas de *K. humboldtiana* presentan características morfológicas que le dan a esta especie una apariencia fenotípica de mayor tamaño que *K. parvifolia* (Natoches), cuyas hojas, frutos y tamaño de la planta son más pequeños. La distribución geográfica de *K. humboldtiana* se extiende a todo el Territorio Nacional, parte sur de los Estados Unidos, Centro América, Las Antillas y Colombia inclusive, lo cual le da un carácter más cosmopolita y sería indicio de un amplio rango de adaptación climatológica, que le daría una ventaja para desarrollar frutos de tamaño relativamente mayor. En cambio, *K. parvifolia* (Natoches) tiene una distribución geográfica relativamente restringida, pues se ha reportado su localización en el norte de Sinaloa y sur de Sonora, México, región que se caracteriza por una baja precipitación pluvial y altas temperaturas en verano; por lo tanto, su apariencia fenotípica sería consecuencia de su necesidad para desarrollar estrategias de supervivencia para su evolución como especie y una de esas estrategias sería precisamente el desarrollo de un área foliar y frutos pequeños para disminuir su transpiración y demandas energéticas para sus procesos metabólicos y fisiológicos.

Otro aspecto interesante de las plantas cultivadas es que *K. humboldtiana* responde de manera importante a las condiciones de cultivo para la síntesis de PA1; una de las ventajas adicionales respecto de las otras plantas bajo estudio, es que se observa mejor adaptada y

su producción de fruto es considerablemente mayor que *K. parvifolia* (Natoches); mientras que las plantas de *K. parvifolia* (Choix), aunque producen buena cantidad de fruto, la síntesis de PA1 es relativamente baja, (Luján *et al.*, 1995. *Op. cit.*). Por otro lado, éstas últimas plantas han resultado ser extremadamente susceptibles al ataque de *Phymatotrichum omnivorum*, a diferencia de *K. humboldtiana*, que presenta moderada susceptibilidad al ataque de este patógeno, (Luján *et al.*, 1993b; 1993c).

No obstante las diferencias encontradas entre las especies bajo estudio sobre aspectos agronómicos en general, los resultados de laboratorio de esta investigación sobre la síntesis de PA1 no mostraron diferencia significativa entre los materiales con que se realizaron las pruebas; sin embargo, al observar la totalidad de los tratamientos de manera general se detectaron los mayores porcentajes de PA1 en frutos de *K. humboldtiana*, respecto al promedio de *K. parvifolia* (Choix) y *K. parvifolia* (Natoches), lo cual confirma los resultados de Luján *et al.*, (1995. *Op. cit.*) que se citan en el párrafo anterior. Estas diferencias se acentúan cuando se comparan frutos maduros entre las especies.

### 5.5 Hipótesis 5

Es conocido que períodos prolongados de almacenamiento influyen de diversa manera e intensidad sobre los componentes de las semillas de otras especies y géneros. En el caso del género *Karwinskia*, el tiempo de almacenamiento tendría influencia sobre las proporciones de antracetonas que se concentran en el fruto. Sobre este particular, para las extracciones de PA1 en el DFT se están utilizando frutos cosechados en 1991 y no se ha observado una drástica caída de la concentración de PA1, no obstante lo anterior, resulta de interés conocer las alteraciones que pudiesen sufrir las antracetonas a través del tiempo, para lo cual se haría un seguimiento sobre los materiales existentes.

## CAPITULO 6

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### Conclusiones por hipótesis

- 1.- En *K. humboldtiana* los períodos de floración, crecimiento y maduración del fruto influyen sobre la síntesis de antracenas, por lo tanto se acepta la hipótesis de trabajo, siendo los meses de agosto y septiembre donde se concentran las mayores proporciones de PA1; mientras que en febrero, marzo y abril se obtienen los porcentajes más bajos.
- 2.- En *K. humboldtiana* el tamaño del fruto influye sobre la síntesis de PA1. Los frutos grandes tienden a concentrar menores proporciones de PA1 durante los primeros días del mes de marzo, los frutos chicos durante los últimos días de febrero y los frutos de tamaño mixto a mediados del mes de abril. Contrario a esto, las mayores proporciones se obtienen de los frutos chicos cosechados durante los meses de agosto y septiembre. Por lo tanto se acepta la hipótesis de trabajo en cuanto a que el tamaño del fruto afecta la concentración de PA1, pero se rechaza en cuanto que no son los frutos grandes sino los frutos de tamaño chico los que concentran mayor proporción de PA1.
- 3.- El riego influye positivamente sobre la síntesis de PA1; por lo tanto se acepta la hipótesis de trabajo en cuanto al riego y por lo que respecta al efecto del sombreado de las plantas, no hay suficiente evidencia estadística de que éste influya sobre la síntesis de PA1, por lo tanto, para este caso particular se rechaza la hipótesis de trabajo.
- 4.- En plantas cultivadas hay diferencias interespecíficas en la síntesis de PA1. En *K. humboldtiana* se observa una tendencia a sintetizar mayores proporciones que *K. parvifolia* (Choix) o *K. parvifolia* (Natoches).

### **Conclusiones generales**

- a).- El grado de madurez del fruto influye sobre la síntesis de PA1. En *K. humboldtiana* se obtienen mayores proporciones de PA1 en frutos rojinegros que en frutos verdes.
- b).- En frutos rojinegros de *K. humboldtiana*, el período de floración, crecimiento, madurez y cosecha del fruto influye sobre el peso seco por hueso. El mayor peso se obtiene durante febrero-abril; mientras que el menor peso es en agosto-septiembre.
- c).- Hay una correlación negativa entre peso seco por hueso(PSPH) y la síntesis de PA1.

### **Recomendaciones**

- 1.- Separar físicamente las partes del endocarpio y proceder a la extracción de PA1.
- 2.- *K. humboldtiana* debe cultivarse bajo condiciones de riego y el grado de madurez para cosecha debe ser hasta que los frutos presenten una coloración negra.
- 3.- Deben explorarse tiempos de adherencia del fruto maduro a la planta; es decir, reducir la frecuencia de cosecha para la obtención de frutos completamente maduros.
- 4.- Deben estudiarse más frecuencias de riego.
- 5.- Debe cosecharse planta por planta para evaluar las diferencias entre sí en cuanto a la producción de campo y síntesis de PA1.
- 6.- *K. parvifolia* (Choix) debe cultivarse bajo condiciones de riego y cosecharse los frutos tanto verdes como rojinegros hasta que haya más evidencia del grado de madurez en que se presenta la mayor concentración de PA1.
- 7.- Privilegiar la cosecha del verano y principios de otoño a través de prácticas agronómicas, puesto que la síntesis de PA1 ocurre mayormente durante los meses de junio a octubre y particularmente en agosto y septiembre.
- 8.- Podar selectivamente las plantas al inicio del invierno para disminuir al máximo la producción de febrero-abril y al mismo tiempo estimular la floración de invierno y primavera para incrementar la cosecha de agosto-septiembre, con lo que se obtendría mayor producción de PA1.

## BIBLIOGRAFIA

- Apuntes de clase, 1995. Ecología de cultivos, impartida por el Ph.D. Ciro G. S. Valdés Lozano en la Maestría en Ciencias en Producción Agrícola. Fac. de Agronomía, U.A.N.L.
- Bermúdez de R. M. V., F. E. Lozano M., M. E. Salazar Leal y A. Piñeyro L., 1989. Intoxicación con el fruto maduro de *Karwinskia humboldtiana*. Reporte de una familia. Memorias del VII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina de la U.A.N.L., Monterrey, N.L., México. p. 105.
- Bermúdez. M. V., F. E. Lozano M, M. E. Salazar L., N. Waksman de T., A. Piñeyro L. 1995a. Intoxicación de una familia por *Karwinskia humboldtiana* (tullidora). GACETA MEDICA DE MEXICO, vol. 131, No. 1, pp. 100-106.
- Bermúdez, M. V., F. E. Lozano M, V. Tamez R.G. Díaz C., A. Piñeyro L. 1995b. Frecuencia de Intoxicación con *Karwinskia humboldtiana* en México. SALUD PUBLICA DE MEXICO, vol. 37, No. 1, pp. 57-62.
- Billings, W.D., 1977. Las plantas y el ecosistema. 3a. Edición en español, trad. de la 4a. Edición en inglés por el Dr. Javier Valdés Gutiérrez. EDITORIAL HERRERO HERMANOS SUCESORES, S. A., México, D. F. 169 p.
- Calderón, A. E. 1989. Fruticultura general. Ed. LIMUSA, México, D. F. p. 283-360.
- Castillo de S. J. M., y N. Waksman de T., 1985. Estudio comparativo de los aceites aislados de distintas especies de *Karwinskia*. IV Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U.A.N.L., Monterrey, N.L., México. p. 84.
- Castillo J. M., M. C. Montemayor y N. Waksman de T., 1989. Estudio fisicoquímico del aceite aislado de *Karwinskia humboldtiana*. Memorias del VII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L.; Monterrey, N.L., México. p. 95.

- Clavijero, F. X. 1982. Historia de la Antigua o Baja California. Editorial Porrúa, S.A. Tercera edición. Traducida al español por Nicolás García de San Vicente en 1852. p 31-32.
- Dreyer, D., I. Arai, C. D. Bachman, W. R. Anderson, R. G. Smith, G. D. Daves. 1975. Toxins Causing Noninflammatory Paralytic Neuronopathy. Isolation and Structure Elucidation. J. Am. Chem. Soc. 97, 4985-4990.
- Enciclopedia de las Ciencias Naturales, 1989. Botánica, Tomos 3 y 4. ED. NAUTA, S.A., Barcelona, España.
- Fernández, N. R. 1988. El género *Karwinskia* Zucc. (Rhamnaceae) en México. Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I. P. N., México, D. F. 89 p.
- Fernández, N. R. y N. Waksman de T., 1992. "Una especie nueva de *Karwinskia* (Rhamnaceae) de Tehuacán, Puebla, México". PHYTOLOGIA, vol. 73, No. 6, pp. 435-438.
- García-Pelayo y Gross R., 1991. Enciclopedia metódica Larousse. 3a. Ed. EDITORIAL LAROUSSE. Tomo 6. México, D. F. p. 2164-2182.
- Garza G. R., M. E. Salazar L., F. E. Lozano M., M. V. Bermúdez de R. y A. Piñeyro L. 1989. Alteraciones morfológicas cerebrales en *Macacus rhesus* y cobayos inducidas con la t-514 aislada de la *Karwinskia humboldtiana* (coyotillo). Memorias del VII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 17.
- Hernández R. L., 1952. Meteorología, física y climatología agrícolas. ED. SALVAT EDITORES, S. A., Barcelona, España. 372 p.
- Klages. K. H. W., 1942. Ecological crop geography. ED. THE MACMILLAN COMPANY. New York, U.S.A. p. 73-161; 472-601.
- Luján R. R., R. González A. y A. Piñeyro L., 1991. Propagación del género *Karwinskia*. Memorias del IX Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U.A.N.L., Monterrey, N.L., México. p. 6.
- \_\_\_\_\_ 1992a Propagación del género *Karwinskia*. Memorias del X Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U.A.N.L. Monterrey, N. L. p. 181-182.

- Luján R. R., R. González A. y A. Piñeyro L., 1992b. Inventario forestal de *Karwinskia parvifolia*. Su producción en el norte de Sinaloa y sur de Sonora. Memorias del X Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U.A.N.L. Monterrey, N. L. p. 181.
- \_\_\_\_\_ 1992c. Propagación del género *Karwinskia*. Memorias del XV Congreso Nacional de Farmacología, San Miguel de Allende, Guanajuato, México. p. 6.
- \_\_\_\_\_ 1993a. *Karwinskia humboldtiana* y su fructificación. Memorias del XI Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U.A.N.L. Monterrey, N. L. p. 96.
- \_\_\_\_\_ 1993b. Enfermedades del género *Karwinskia* (reporte de un caso). Memorias del XI Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U. A. N. L. Monterrey, N. L. p. 112.
- \_\_\_\_\_ 1993c. Efecto del frío sobre *Karwinskia parvifolia*. Memorias del XI Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U.A.N.L. Monterrey, N. L., México. p. 97.
- Luján, R. R., N. Waksman de T., R. J. González A. y A. Piñeyro L. 1993d. La humedad y su importancia en la producción de la T-514. Memorias del XI Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U. A. N. L. Monterrey, N. L. p. 111.
- Luján, R. R., R. J. González A. y A. Piñeyro L. 1994a. Métodos de cosecha en *Karwinskia humboldtiana*. Memorias del XII Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U. A. N. L. Monterrey, N. L., México. p. 21.
- Luján, R. R., R. J. González A., N. Waksman M., R. Durón R. y A. Piñeyro L. 1994b. Planeación, organización y ejecución de la cosecha de 3 toneladas de fruto seco de *Karwinskia parvifolia*. Memorias del XII Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U. A. N. L. Monterrey, N. L., México. p. 22.
- Luján, R. R., R. J. González A., N. Waksman M. y A. Piñeyro L. 1994c. Beneficio del fruto de *Karwinskia parvifolia*. Memorias del XII Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U. A. N. L. Monterrey, N. L., México. p. 23.

- Luján, R. R., N. Waksman M. M. L. Salazar y A. Piñeyro L. 1995. "Producción de antracetonas en varias especies de *Karwinskia* bajo diferentes condiciones de cultivo. XIII Congreso Nacional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina de la U.A.N.L., Monterrey, N. L., México. p. 20.
- Martínez, M. 1987. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Editorial Fondo de Cultura Económica, S.A. de C.V. México, D.F. p. 289, 1144.
- Martínez V. L. E., M. V. Bermúdez de R. y N. Waksman de T., 1985. Estudios preliminares en algunas especies de *Karwinskia* de la República Mexicana. IV Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 86.
- Martínez H. R., A. Barbosa, A. Marfil y R. Rangel G., 1987. Neuropatías tóxicas. Memorias del V Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 99.
- Martínez de V. L. E. y A. Piñeyro L., 1987. Efectos de la t-544 sobre el embrión de ratón *in vitro*. Memorias del V Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 98.
- Martínez V. L. E. y N. Waksman de T., 1987. Constantes fisicoquímicas de la t496 (aislada de *Karwinskia humboldtiana*). Memorias del V Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 81.
- Martínez V. L. E. y N. Waksman de T., 1989a. Análisis químico y toxicológico preliminar de un compuesto de oxidación de la T-496 (*Karwinskia humboldtiana*). Memorias del VII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina. U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 96.
- Martínez M. C. y N. Waksman de T., 1989b. Derivados metilados de T 544 de *K. humboldtiana*. Obtención y análisis. Memorias del VII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey. N.L., México. p. 94.
- Martínez V. L. E., N. Waksman de T y A Piñeyro L., 1989. Variación del contenido de t514 en fruto verde de la *Karwinskia humboldtiana*. Memorias del VII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 24.

- Martínez de V. L. E., R. González A. y A Piñeyro L., 1990a. Toxicidad selectiva de la toxina 514 de la *K. humboldtiana* sobre células malignas de origen humano. I. Hígado. Memorias del VIII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 11.
- \_\_\_\_\_ 1990b. Toxicidad selectiva de la toxina 514 de la *K. humboldtiana* sobre células malignas de origen humano. II. Pulmón. Memorias del VIII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 12.
- \_\_\_\_\_ 1990c. Toxicidad selectiva de la toxina 514 de la *K. humboldtiana* sobre células malignas de origen humano. III. Colon. Memorias del VIII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 13.
- Piñeyro L. A., L. Martínez de V. y R. González, 1989. Citotoxicidad *in vitro* de la toxina t-514 de la *Karwinskia humboldtiana*. Memorias del VII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 99.
- Piñeyro, L. A., 1990. Toxicidad selectiva *in vitro* de la toxina T-514 de la *Karwinskia humboldtiana*. Tesis de doctorado. Facultad de Medicina, U.A.N.L. Monterrey, N. L. p. 1-2; 99.
- Piñeyro, L. A., R. González A. y L.E. Martínez de V. 1993. S.S.A. Ed. Potencial efecto antineoplásico de las toxinas extraídas del género *Karwinskia*. La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. México, D. F., p. 209-232.
- Ruíz O. J., T. E. Torres C. y A. Piñeyro L., 1991a. Aspectos morfológicos relevantes en el fruto de *Karwinskia humboldtiana* Zucc. (coyotillo). Memorias del IX Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U.A.N.L., Monterrey, N.L., México. p. 7.
- Ruíz O. J., T. E. Torres C. y A. Piñeyro L., 1991b. Caracterización histológica del mesófilo del coyotillo (*Karwinskia humboldtiana*). Memorias del IX Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U.A.N.L., Monterrey, N.L., México. p. 8.
- Rzedowski, J., 1988. Vegetación de México. Ed. LIMUSA. S.A. de C.V. México, D.F. p. 114, 203, 247 y 256.

- Salazar M. E., M. V. Bermúdez de R., F. Martínez, N. Waksman de T. y A. Piñeyro L. 1988. Intoxicación aguda con fruto maduro de *karwinskia humboldtiana* en ratas Wistar. Memorias del VI Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 11.
- Salazar M. L., N. Waksman de T. y A. Piñeyro L., 1991. Obtención de un producto de interés farmacológico. Parte IV: uso de la hplc. Memorias del IX Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U.A.N.L., Monterrey, N.L., México. p. 38.
- Salisbury, F. B. y C. W. Ross, 1994. Fisiología Vegetal. Ed. Grupo Editorial Iberoamericana, S. A. de C. V., México, D. F., p. 94-95, 143-144; 334-336.
- S. A. R. H., 1988. Normales climatológicas, (1941-1970). 2a. Ed., México, D. F.
- Soto A. I. P., M. R. Martínez, N. Waksman de T. y A. Piñeyro L. 1990. Determinación de proteínas séricas de ratas wistar intoxicadas con T-514 y T-544, mediante electroforesis discontinua en gel de poliacrilamida. Memorias del VIII Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 286.
- Torres A. O., L. Garza O. y A. Piñeyro L., 1987. Efectos de *karwinskia humboldtiana* sobre citocromo P450, glucosa-6-fosfatasa y el tiempo de sueño inducido por pentobarbital. Memorias del V Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 84.
- Torres R. E. 1995. Agrometeorología. Ed. TRILLAS, S.A. de C.V., México, D.F. 154 p.
- Waksman, N., L. E. Martínez de V., M. C. Rodríguez M., 1985. Constantes físico-químicas de toxinas aisladas de *K. humboldtiana*. IV Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 85.
- Waksman, N. y R. Ramírez D., 1988. Aislamiento de una nueva preantraquinona hepatotóxica de *Karwinskia parvifolia*. Memorias del VI Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Monterrey, N.L., México. p. 57.
- Waksman, N., A. Santoyo de R., R. Fernández N. y A. Piñeyro L., 1991. Obtención de un producto de interés farmacológico. Parte I: búsqueda de la fuente más adecuada de extracción. Memorias del IX Encuentro Regional de Investigación Biomédica, Facultad de Medicina, U.A.N.L., Monterrey, N.L., México. p. 35.

- Waksman N. and R. Ramírez. 1992. Isolation of a new dimeric anthracenone from *Karwinskia parvifolia*, *Revista Latinoamericana de Química*, 23:25-27.
- Waksman, N., M. L. Salazar, L. Cisneros, V. Garcia, R. Luján R. y A. Piñeyro L. 1993. Estudio químico de hojas, raíz y tallo de *K. parvifolia* y *K. humboldtiana*. Memorias del XI encuentro de investigación biomédica. Facultad de Medicina de la U. A. N. L. Monterrey, N. L. p. 204.
- Waksman N. A. Santoyo, R. Ramírez. 1997. Cuantificación de T 514 (Peroxisomicina A1) en dos plantas del género *Karwinskia*. *POLIBOTANICA*, No. 5, pp.13-19.
- Woodward L. 1986. Plantas venenosas. Ed. Ediciones Daimon de México, S. A., México D. F. Prefacio v.

**APENDICE.-**

Tabla 1A.- Distribución geográfica del género *Karwinskia*. (Martínez. 1987).

<u>NOMBRE CIENTIFICO</u>	<u>NOMBRE VULGAR</u>	<u>DIST. GEOGRAFICA</u>
<i>K. Humboldtiana</i> (Roem. et Schult) Zucc.	cacachila	B. California, Chih., Sonora
	cacachila china	Sinaloa y Nayarit
	cachila	B. California y Chihuahua
	capulfn	Coahuila y Tamaulipas
	capulfn cimarrón	Querétaro
	capulfn de zorra	Huejutla, Hidalgo
	capulincillo	Nuevo León y Querétaro
	capulincillo cimarrón.	Tamaulipas
	coyotillo	Baja california a Tamaulipas. Veracruz, Yucatán, Querétaro
		Sinaloa, Nayarit
	frutillo	Sinaloa
	itzil	lengua huasteca, SE de S. Luis Potosí
	himoli jimoli	lengua guarigía, Chihuahua
	margarita	Nayarit, Jalisco, Colima. Sinaloa, Durango
	negrito, palo negrito	Sinaloa
	piojillo, tlalcapulfn	Lengua azteca
	tullidor, tullidora	Coah., Tamaulipas, Nuevo León, Querétaro
	yagalán	Oaxaca
	carábullo cholchonote	SE de San Luis potosí
	chanchanote	SE de San Luis Potosí.
<i>Karwinskia Calderoni</i> Stand.	cacachila.	Yucatán
	palo de rosa.	San Hernando, Chiapas
	pimienta, pimientilla, pimentillo.	Oeste de Tehuantepec
<i>K. latifolia</i> Stand.	frutillo	Sinaloa
	margarita	Jalisco
	piojillo	Sinaloa
<i>K. mollis</i> Schl.	capulincillo	Tamaulipas
	cualzorra (cola de zorra)	región de Guadalcázar, S.L.P.
	diente de molino	México.
	tullidor, tullidora	San Luis Potosí
<i>K. pubescens</i> Stand.	diente de molino	Achotla-Temixco, Gro

Tabla 2A.- Distribución geográfica de especies del género *Karwinskia* (Fernández.1988).

ESPECIE	LOCALIDADES	ALT. (msnm)
<i>K. umbellata</i> , (Cav.) Schlecht.	Guerrero, Morelos y Puebla	850 - 1200.
<i>K. latifolia</i> , Standley.	Calvillo, Ags., Guadalajara, Jal., Acaponeta, Nay., Culiacán, Sin., Jalpa. Zac.	1300 - 1800.
<i>K. redowskii</i> , Fernández.	Sur de Dgo. Nte. y SW de Jalisco y SW Zacatecas.	1000 - 1700.
<i>K. mollis</i> , Schlecht	Guanajuato, Hidalgo, Querétaro. San Luis Potosí y Tamaulipas.	1000 - 2000.
<i>K. venturae</i> , Fernández.	Estado de México y Guerrero.	950 - 1530.
<i>K. subcordata</i> , Schlecht.	Zinapán, Hidalgo.	1500 - 1600.
<i>K. johnstonii</i> , Fernández.	Arteaga y Huetamo, Mich., Placeres-Camaron, Guerrero.	350 - 450.
<i>K. parvifolia</i> , Rose	Sinaloa y Sonora.	20 - 160.
<i>K. calderoni</i> , Standley.	Guerrero, Oaxaca, Chiapas.	0 - 1700.
<i>K. humboldtiana</i> , (Roem & Schult.) Zucc.	Texas, Veracruz, Oaxaca, Yuc. Baja California Sur a Tamps.	0 - 2200.

Tabla 3A.- Registro de datos sobre temperatura promedio y precipitación pluvial para la región de Llera, Tamaulipas.

	TAMAULIPAS:					
	SOTO LA MARINA		CD. VICTORIA		LLERA	
	P.P.	T.MED.	P.P.	T.MED.	P.P.	T.MED.
ENERO	17.6	17.5	14.9	17.4	10.1	19.6
FEBRERO	16.4	19.4	24.4	18.4	17.1	22.1
MARZO	15.8	22.5	25.2	21.3	15.1	25.3
ABRIL	32.4	25.5	40.1	26.0	37.5	28.2
MAYO	43.6	27.5	89.3	27.6	63.7	29.8
JUNIO	101.1	28.9	121.9	29.1	116.5	30.5
JULIO	60.1	28.8	50.7	29.0	62.5	30.0
AGOSTO	58.0	29.1	122.3	29.4	95.3	30.0
SEPTIEMBRE	150.7	27.5	191.5	27.4	122.4	28.7
OCTUBRE	98.0	24.6	108.6	24.1	67.1	26.1
NOVIEMBRE	31.5	21.4	30.2	19.8	17.5	22.9
DICIEMBRE	15.0	18.2	11.1	17.6	9.2	20.7
TOTAL ANUAL	640.2	24.2	830.2	23.9	634.0	26.1

Tabla 4A.- Períodos de floración y fructificación de especies del género *Karwinskia*.  
(Fernández, 1988).

ESPECIE	P.MAX.FLOR.	P.MAX.FRUCT.
<i>K. umbellata</i> . (Cav.) Schlecht.	feb. - abr.	sep. - nov.
<i>K. latifolia</i> . Standley.	mar. - may.	jul. - ago.
<i>K. rzedowskii</i> . Fernández.	abr. - ago.	sep. - oct.
<i>K. mollis</i> Schlecht.	may. - jun.	ago. - sep.
<i>K. venturae</i> . Fernández.	may. - jun.	ago. - sep.
<i>K. subcordata</i> . Schlecht.	may. - jun.	jul. - sep.
<i>K. johnstonii</i> . Fernández.	may. - jul.	ago. - oct.
<i>K. parvifolia</i> . Rose.	jun. - jul.	sep. - ene.
<i>K. calderonii</i> . Standley.	jun. - ago.	sep. - dic.
<i>K. humboldtiana</i> . (Roem & Schult.)Zucc.		

Tabla 5A.- Registro de datos sobre la precipitación pluvial y temperatura en la confluencia de los estados de Chihuahua, Sonora y Sinaloa.

	CHIHUAHUA		SONORA		SINALOA		SINALOA	
	BATOPILAS		ALAMOS		CHOIX		S.FCO., CHOIX	
	P.P.	TEMP.	P.P.	T.MED.	P.P.	T.MED.	P.P.	T.MED.
ENERO	45.3		38.8	16.9	53.1	18.3	72.4	19.0
FEBRERO	28.3		19.9	18.1	16.0	19.1	23.1	20.1
MARZO	14.2		14.4	20.0	10.5	20.9	18.8	22.0
ABRIL	4.2		2.1	23.2	3.5	24.5	5.0	26.1
MAYO	4.9		1.1	26.7	1.1	27.8	2.9	29.5
JUNIO	51.0		27.4	30.0	54.9	30.7	60.7	31.8
JULIO	161.6		178.9	28.9	220.0	30.3	176.9	29.2
AGOSTO	147.5		182.7	27.7	216.5	29.4	141.5	28.9
SEPTIEMBRE	67.3		92.1	27.6	107.0	29.3	86.7	29.2
OCTUBRE	33.7		48.9	25.2	46.2	26.7	44.4	27.5
NOVIEMBRE	14.5		11.5	20.8	12.7	21.9	17.3	23.4
DICIEMBRE	49.8		41.7	17.6	38.2	18.6	55.4	19.9
TOTAL/ANUAL:	622.3		659.5	23.5	779.7	24.7	705.1	25.5

Tabla 6A.- Precipitación pluvial y temperaturas que se registran en el municipio de El Fuerte, Sinaloa.

	SINALOA:							
	BAMICORI		BOCA TOMA-SUFRAGIO		EL FUERTE		SAN BLAS	
	P.P.	T.MED.	P.P.	T.MED.	P.P.	T.MED.	P.P.	T.MED.
ENERO	34.5	17.4	20.3	18.0	27.2	17.3	26.1	16.7
FEBRERO	13.8	18.7	7.3	19.0	12.1	18.7	8.3	17.9
MARZO	7.0	20.4	6.2	20.3	5.4	20.6	4.4	19.8
ABRIL	3.9	24.1	2.3	22.9	3.1	23.7	0.5	22.9
MAYO	0.4	27.3	0.3	25.4	0.2	27.1	0.7	25.8
JUNIO	62.8	30.7	21.6	28.7	32.2	31.0	15.6	29.7
JULIO	207.1	30.1	144.5	29.4	171.8	31.3	124.0	30.8
AGOSTO	187.4	29.3	176.4	28.7	170.7	30.5	143.8	30.0
SEPTIEMBRE	122.2	28.8	122.7	28.4	108.4	30.1	90.6	29.5
OCTUBRE	32.4	26.4	32.4	26.5	37.1	27.2	39.1	26.5
NOVIEMBRE	10.2	22.0	9.9	22.3	9.4	21.9	6.6	21.3
DICIEMBRE	27.5	18.4	26.8	19.1	27.6	18.4	21.7	17.7
TOTAL/ANUAL:	709.2	24.4	570.7	24.0	605.2	24.8	481.4	24.0

Tabla 7A.- Precipitación pluvial y temperaturas que se registran en la región costera del sur de Sonora y norte de Sinaloa.

	EL CARRIZO, SIN.								
	ETCHOJOA, SON. 1986		1987	1988	1989	1990	1991	1992	
	P.P.	T.MED.	P.P.						
ENERO	12.6	15.7	4.0	1.0	0.0	30.8	1.0	5.5	105.1
FEBRERO	6.6	16.7	18.2	4.0	0.0	58.5	9.5	9.5	65.5
MARZO	5.7	18.3	0.0	0.0	1.0	0.0	5.0	0.0	3.8
ABRIL	1.4	20.9	11.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MAYO	0.7	23.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
JUNIO	6.8	27.7	0.0	0.0	12.4	0.0	5.6	0.0	0.0
JULIO	40.3	29.7	69.7	28.8	65.4	63.1	118.4	58.9	24.8
AGOSTO	82.7	29.8	156.9	49.0	73.2	121.7	68.5	77.1	67.1
SEPTIEMBRE	29.8	29.7	83.8	37.5	20.0	32.5	149.5	70.7	59.5
OCTUBRE	35.2	26.1	6.0	0.0	0.0	0.0	89.2	1.8	
NOVIEMBRE	6.6	20.5	0.0	4.0	0.0	18.0	62.3	49.8	
DICIEMBRE	16.4	16.7	9.5	0.0	27.5	22.5	73.7	104.1	
TOTAL/ANUAL	244.8	22.9	359.9	124.3	199.5	347.1	582.7	377.4	325.8

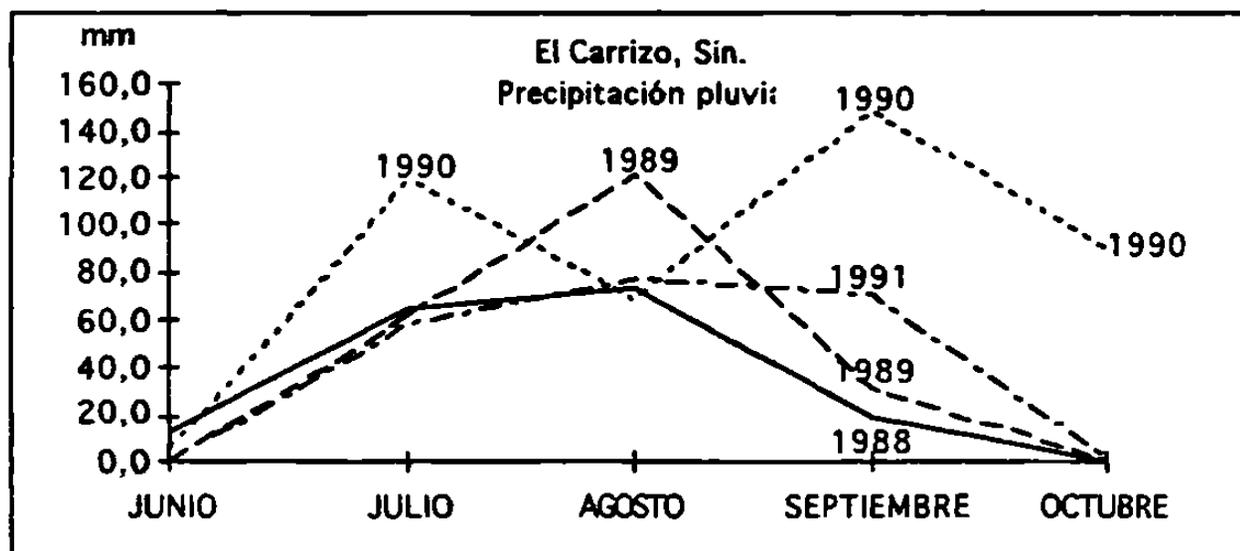


Figura 1A.- Comportamiento de la precipitación pluvial durante los meses de junio a octubre, temporada durante la cual ocurre el fenómeno de la floración y maduración del fruto de *K. parvifolia*. (Natoches). Los frutos sembrados en el vivero del DFT se recolectaron durante 1990 - 1992.

Tabla 8A.- Radiación solar en función de la latitud geográfica en unidades de cal cm-2 por día y mensual (Torres, 1995).

LAT. NORTE	23°	23°	24°	24°	25°	25°	26°	26°	27°	27°
	*	cal cm-2								
		por mes								
ENERO	600	18600	586	18166	573	17763	560	17360	546	16926
FEBRERO	691	19348	680	19040	669	18732	658	18424	646	18088
MARZO	800	24800	793	24583	786	24366	778	24118	771	23901
ABRIL	889	26670	887	26610	884	26520	882	26460	879	26370
MAYO	934	28954	936	29016	938	29078	939	29109	941	29171
JUNIO	947	28410	951	28530	955	28650	959	28770	962	28860
JULIO	941	29171	944	29264	947	29357	949	29419	952	29512
AGOSTO	909	28179	909	28179	908	28148	907	28117	906	28086
SEPTIEMBRE	833	24990	828	24840	822	24660	816	24480	810	24300
OCTUBRE	725	22475	715	22165	705	21855	695	21545	684	21204
NOVIEMBRE	617	18510	604	18120	592	17760	578	17340	565	16950
DICIEMBRE	570	7670	556	17236	542	16802	528	16368	514	15934

(\*).- Radiación solar total recibida en una superficie horizontal situada en el límite superior de la atmósfera, para períodos mensuales, en cal cm-2 por día.

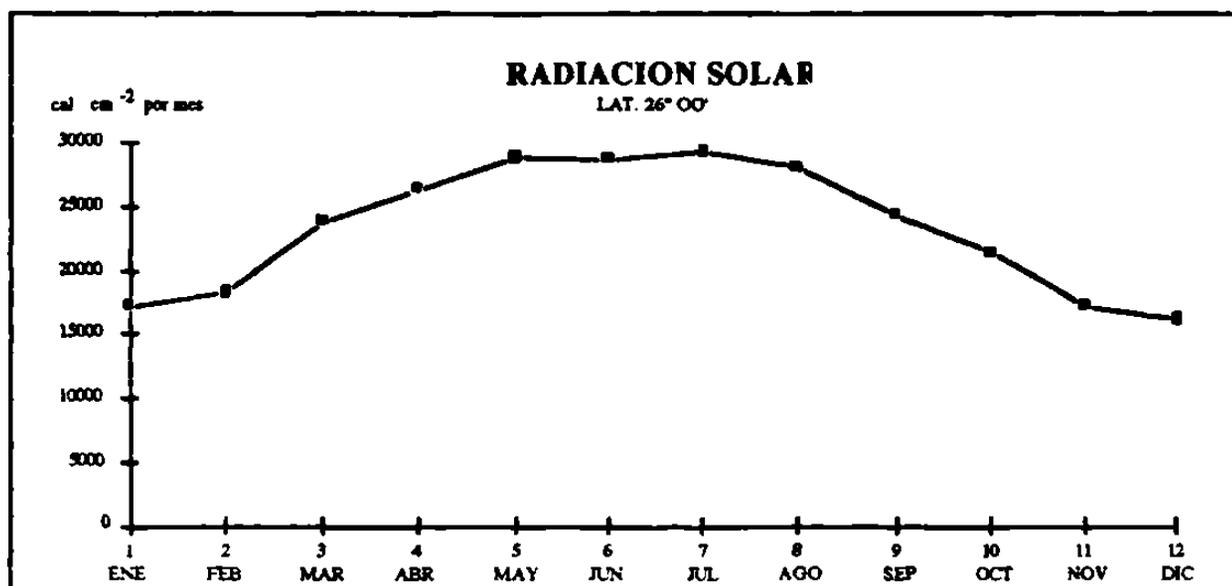


Figura 2A.- Radiación solar para el paralelo de 26° 00' Lat. Norte en una superficie horizontal situada en el límite superior de la atmósfera, para períodos mensuales en cal cm<sup>2</sup> por día, (Torres. 1995).

Tabla 9A.- Registro de datos sobre precipitación pluvial y temperatura de la zona metropolitana de Monterrey, N. L., (SARH, 1987).

NUEVO LEON:	MONTERREY		TOPO CHICO		STA. CATARINA	
	P.P.	T.MED.	P.P.	T.MED.	P.P.	T.MED.
ENERO	13.0	14.9	9.5	14.3	8.5	11.7
FEBRERO	19.9	16.9	15.8	16.1	10.4	13.5
MARZO	15.4	20.0	10.5	19.5	8.1	17.4
ABRIL	27.7	24.0	27.4	23.1	17.2	22.5
MAYO	34.8	26.0	27.3	26.2	20.4	24.7
JUNIO	63.3	27.7	48.3	27.5	45.6	26.7
JULIO	46.0	28.4	31.2	28.0	27.5	27.4
AGOSTO	96.2	28.2	78.5	27.7	70.2	27.3
SEPTIEMBRE	152.2	25.8	101.5	25.7	100.8	24.6
OCTUBRE	85.1	22.3	66.6	23.6	46.6	20.2
NOVIEMBRE	23.2	18.1	15.5	19.5	12.9	16.0
DICIEMBRE	11.1	15.7	8.7	16.6	9.1	12.3
TOTAL ANUAL:	587.9	22.3	440.8	22.3	377.3	20.3

NOTA: Cuando se habla de los meses de mayor o menor precipitación, así como de temperatura, los valores que se observan son producto de promediar los datos de las estaciones respectivas, por ejemplo, si dijéramos que los meses más fríos son diciembre, enero y febrero se toman los valores respectivos de cada estación meteorológica y se promedian y luego, de las estaciones involucradas, se toman los valores más bajos y los más altos para ese punto en particular.

Tabla 10A.- Registro de datos sobre promedio de temperaturas mínimas y máximas durante los años de 1994 a 1996. (Observatorio UANL., controlado por la C.N.A.).

NUEVO LEON:	SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.					
	1994		1995		1996	
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX
ENERO	10.2	20.9	10.0	21.1	8.2	23.9
FEBRERO	11.2	22.1	12.8	25.6	11.7	25.1
MARZO	15.1	26.9	14.0	26.2	12.0	27.2
ABRIL	17.7	30.2	18.0	31.7	16.5	32.4
MAYO	21.0	31.6	22.5	34.1	22.5	36.3
JUNIO	22.8	35.7	22.8	33.7	23.4	37.3
JULIO	23.2	37.5	23.7	36.6	24.0	37.5
AGOSTO	22.5	35.0	23.2	33.2	23.0	34.6
SEPTIEMBRE	20.3	31.4	21.6	32.3	22.7	32.8
OCTUBRE	18.9	28.4	18.0	30.6	18.2	28.8
NOVIEMBRE	16.7	26.0	14.0	26.1	14.4	25.3
DICIEMBRE	12.6	20.6	10.6	21.3	10.0	23.3

Tabla 11A.- Registro de datos sobre precipitación pluvial durante los años de 1994 a 1996.  
(Observatorio UANL., controlado por la C.N.A.).

NUEVO LEON	SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.		
	1994	1995	1996
	P.P.	P.P.	P.P.
ENERO	45.3	9.3	13.8
FEBRERO	8.1	8.6	0.2
MARZO	45.0	17.6	0.0
ABRIL	8.6	4.4	13.1
MAYO	61.5	59.7	2.5
JUNIO	33.2	18.6	52.8
JULIO	7.5	3.6	5.6
AGOSTO	27.7	184.7	304.6
SEPTIEMBRE	238.3	20.8	6.4
OCTUBRE	27.6	7.1	84.5
NOVIEMBRE	28.9	26.7	9.6
DICIEMBRE	33.4	12.2	1.5
TOTAL ANUAL:	565.1	373.3	494.6

Tabla 12A.- Características agronómicas de frutos de diversos tamaños cultivados en diferentes ambientes de producción.

Uni. exp.	Peso por muestra de fruto entero	Número de frutos por cada 5 g	Número de frutos enteros por kg	Peso seco por fruto entero	Peso seco en hueso por/5 g	Número de frutos en hueso por kg.	Peso seco por hueso
M2	5.0 g	33	6600	0.152	2.9	11379	0.088
M3	5.0 g	47	9400	0.106	2.7	17407	0.057
M6	5.0 g	52	10400	0.096	3.3	15758	0.063
M9	5.0 g	23	4600	0.217	2.9	7931	0.126
M21	5.0 g	29	5800	0.172	2.8	10357	0.097
M26	5.0 g	34	6800	0.147	2.1	16190	0.062
M22	5.0 g	81	16200	0.062	2.9	27931	0.036
M11	5.0 g	24	4800	0.208	2.0	12000	0.083
M13	5.0 g	24	4800	0.208	2.2	10909	0.092
M17	5.0 g	29	5800	0.172	2.1	13810	0.072
M42	5.0 g	16	3200	0.313	1.9	8421	0.119
M46	5.0 g	20	4000	0.250	2.2	9091	0.110
M8	5.0 g	19	3800	0.263	2.3	8261	0.121
M5	5.0 g	15	3000	0.333	2.1	7143	0.140
M4	5.0 g	13	2600	0.385	1.9	6842	0.146
M7	5.0 g	12	2400	0.417	1.6	7500	0.133
M24	5.0 g	19	3800	0.263	2.2	8636	0.116
M1	5.0 g	22	4400	0.227	2.2	10000	0.100
M10	5.0 g	22	4400	0.227	2.1	10476	0.095
M25	5.0 g	90	18000	0.056	3.2	28125	0.036
M32	5.0 g	100	20000	0.050	2.8	35714	0.028
M15	5.0 g	75	15000	0.067	3.0	25000	0.040
M19	5.0 g	59	11800	0.085	3.0	19667	0.051
M43	5.0 g	67	13400	0.075	2.7	24815	0.040
M35	5.0 g	81	16200	0.062	2.4	33750	0.030
M31	5.0 g	117	23400	0.043	2.8	41786	0.024
M16	5.0 g	47	9400	0.106	2.3	20435	0.049
M44	5.0 g	48	9600	0.104	2.2	21818	0.046
M36	5.0 g	53	10600	0.094	2.2	24091	0.042
M48	5.0 g	42	8400	0.119	2.5	16800	0.060
M47	5.0 g	52	10400	0.096	2.3	22609	0.044

Tabla 12A.- (Continuación).

Uni. exp.	Peso por muestra de fruto entero	Número de frutos por cada 5 g	Número de frutos enteros por kg	Peso seco por fruto entero	Peso seco en hueso por/5 g	Número de frutos en hueso por kg.	Peso seco por hueso
M14	5.0 g	56	11200	0.089	2.7	20741	0.048
M12	5.0 g	46	9200	0.109	2.8	16429	0.061
M23	5.0 g	45	9000	0.111	2.4	18750	0.053
M28	5.0 g	47	9400	0.106	2.2	21364	0.047
M30	5.0 g	59	11800	0.085	2.3	25652	0.039
M18	5.0 g	61	12200	0.082	2.7	22593	0.044
M20	5.0 g	71	14200	0.070	2.7	26296	0.038
M27	5.0 g	36	7200	0.139	2.1	17143	0.058
M53	5.0 g	32	6400	0.156	2.0	16000	0.063
M37	5.0 g	35	7000	0.143	2.2	15909	0.063
M52	5.0 g	27	5400	0.185	2.3	11739	0.085
M54	5.0 g	30	6000	0.167	2.5	12000	0.083
M33	5.0 g	34	6800	0.147	2.5	13600	0.074
M51	5.0 g	30	6000	0.167	2.4	12500	0.080
M45	5.0 g	23	4600	0.217	2.1	10952	0.091
M55	5.0 g	27	5400	0.185	2.1	12857	0.078
M50	5.0 g	40	8000	0.125	2.3	17391	0.058
M41	5.0 g	42	8400	0.119	2.4	17500	0.057
M34	5.0 g	36	7200	0.139	2.3	15652	0.064
M29	5.0 g	56	11200	0.089	2.9	19310	0.052
M39	5.0 g	66	13200	0.076	2.8	23571	0.042
M40	5.0 g	50	10000	0.100	2.9	17241	0.058
M57	5.0 g	32	6400	0.156	2.9	11034	0.091
M56	5.0 g	35	7000	0.143	2.3	15217	0.066
M38	5.0 g	52	10400	0.096	2.1	24762	0.040
M49	5.0 GMS	81	16200	0.062	2.4	33750	0.030
PROMEDIO:		44.1	8821	0.148	2.4	17624.7	0.069
Valor mínimo:		12.0	2400	0.043	1.6	6842.1	0.024
Valor máximo:		117.0	23400	0.417	3.3	41785.7	0.146

Tabla 13A.- Identificación de tiempos de retención y establecimiento de variables susceptibles de ser cuantificadas y analizadas estadísticamente en el entorno de esta investigación.

GRUPO DE SUBSTANCIAS	ANTRACENONA DIMERICA	TIEMPO DE RETENCION (min)		
		NORMAL	MINIMO(*)	MAXIMO(*)
t <sub>R</sub> 1	Peroxisomicina-A2	1.58	1.583 (M5)	1.669 (M15)
t <sub>R</sub> 2	Otras		>1.700	≤ 2.300
t <sub>R</sub> 3	Peroxisomicina-A1	2.31	2.294(M23)	2.417(M31)
t <sub>R</sub> 4	Compuesto (X+Y)**	2.67	2.580(M45)	2.819(M15)
t <sub>R</sub> 5	Otras		>2.820	≤6.800
t <sub>R</sub> 6	T-496	7.00	6.977(M23)	7.120(M31)
t <sub>R</sub> 7	Otras		>7.120	

(\*).- Valores observados en los cromatogramas relativos a esta investigación. Se ignoraron valores de cero de los cromatogramas donde no se manifestó la sustancia.

(\*\*).- En años recientes identificado como ISOPA1 + PA3.

Tabla 14A.- Resultados de laboratorio sobre % de área de grupos de sustancias antracénicas detectados en cromatogramas a diferentes tiempos de retención en muestras de frutos de diferentes especies y ambientes de producción cultivados en vivero.

Unidad experi- mental	Tamaño de la Muestra	(PA2) t <sub>R</sub> 1	Otras (PA1) t <sub>R</sub> 2 t <sub>R</sub> 3	(X+Y) t <sub>R</sub> 4	Otras (T-496) t <sub>R</sub> 5 t <sub>R</sub> 6	Otras t <sub>R</sub> 7	% Total		
		1.58	1.70-2.30	2.31	2.67	2.82-6.80	7.00	>7.12	
M2	0.5 g	2.34	0.00	15.67	1.53	40.84	15.52	24.10	100
M3	0.5 g	6.11	1.89	13.73	12.62	4.70	59.89	1.06	100
M6	0.5 g	5.06	2.08	17.34	0.00	0.00	74.21	1.31	100
M9	0.5 g	5.08	5.95	7.82	12.82	0.00	67.18	1.14	100
M21	0.5 g	6.01	3.05	11.22	10.84	2.44	65.65	0.80	100
M26	0.5 g	5.17	6.27	4.04	1.76	0.00	81.63	1.13	100
M22	0.5 g	3.55	1.46	10.28	0.00	18.05	66.65	0.00	100
M11	0.5 g	6.23	3.48	30.03	3.90	2.58	42.93	10.86	100
M13	0.5 g	10.21	4.26	36.39	0.00	0.00	46.78	2.35	100
M17	0.5 g	7.91	0.00	26.60	0.00	10.64	43.90	10.96	100
M42	0.5 g	6.44	2.26	18.13	0.00	25.59	37.79	9.79	100
M46	0.5 g	4.66	4.01	18.73	0.00	35.35	27.09	10.16	100
M8	0.5 g	4.61	1.61	22.79	0.00	45.41	20.14	5.43	100
M5	0.5 g	3.62	0.00	18.56	0.00	19.31	58.51	0.00	100
M4	0.5 g	3.67	0.00	20.27	0.00	34.65	31.46	9.96	100
M7	0.5 g	4.67	2.07	20.75	0.00	34.48	19.50	18.53	100
M24	0.5 g	5.05	3.12	19.93	0.00	24.23	29.11	18.55	100
M1	0.5 g	4.60	0.00	25.46	2.97	25.45	32.46	9.06	100
M10	0.5 g	7.92	6.87	31.38	0.00	20.19	22.87	10.77	100
M25	0.5 g	3.60	1.23	8.81	0.00	9.67	76.69	0.00	100
M32	0.5 g	2.19	0.00	3.77	0.00	0.00	94.04	0.00	100
M15	0.5 g	7.02	7.90	4.46	1.37	0.00	77.65	1.60	100
M19	0.5 g	6.04	4.93	9.73	6.76	0.00	70.25	2.28	100
M43	0.5 g	6.21	2.83	13.87	10.50	9.32	56.05	1.23	100
M35	0.5 g	6.07	0.00	16.71	0.00	14.22	61.50	1.50	100
M31	0.5 g	3.17	0.00	6.45	0.00	0.00	88.31	2.07	100
M16	0.5 g	7.44	2.76	35.32	2.21	6.40	37.62	8.25	100
M44	0.5 g	7.15	5.66	32.99	0.00	11.84	30.52	11.85	100
M36	0.5 g	5.75	5.39	26.76	4.79	15.76	31.28	10.26	100
M48	0.5 g	8.88	3.79	30.73	3.56	3.63	36.45	12.95	100
M47	0.5 g	6.89	3.91	27.86	7.00	14.29	29.34	10.70	100

Tabla 14A.- (Continuación).

Unidad experi- mental	Tamaño de la Muestra	(PA2) t <sub>R</sub> 1	Otras (PA1) t <sub>R</sub> 2	(PA1) t <sub>R</sub> 3	(X+Y) t <sub>R</sub> 4	Otras (T-496) t <sub>R</sub> 5	t <sub>R</sub> 6	Otras t <sub>R</sub> 7	% Total
M14	0.5 g	7.23	10.25	25.17	6.29	19.16	17.44	14.48	100
M12	0.5 g	6.44	1.17	22.86	7.51	21.97	32.71	7.34	100
M23	0.5 g	4.83	4.08	23.84	5.66	32.70	14.56	14.31	100
M28	0.5 g	5.63	3.51	24.09	7.54	24.69	25.87	8.66	100
M30	0.5 g	6.65	3.73	26.89	7.33	18.22	27.83	9.35	100
M18	0.5 g	5.76	1.90	24.83	6.23	21.96	29.83	9.50	100
M20	0.5 g	6.05	2.18	26.96	5.79	20.28	26.76	11.97	100
M27	0.5 g	9.77	7.27	40.51	0.00	6.75	28.15	7.56	100
M53	0.5 g	8.10	8.53	42.28	0.00	7.22	24.38	9.49	100
M37	0.5 g	5.18	4.39	27.98	0.00	26.23	25.30	10.92	100
M52	0.5 g	11.49	7.89	32.85	4.71	3.00	28.88	11.19	100
M54	0.5 g	3.63	3.11	20.91	0.00	44.30	15.23	12.83	100
M33	0.5 g	5.24	2.79	22.11	4.48	37.74	19.29	8.36	100
M51	0.5 g	6.46	8.03	24.39	4.26	30.04	14.00	12.84	100
M45	0.5 g	3.43	3.10	14.42	0.58	57.58	10.68	10.19	100
M55	0.5 g	7.60	9.83	21.59	0.00	36.80	12.00	12.18	100
M50	0.5 g	6.70	7.83	28.20	4.39	26.48	15.61	10.79	100
M41	0.5 g	6.48	5.33	30.48	3.85	20.43	22.17	11.25	100
M34	0.5 g	4.75	4.63	25.62	0.00	31.79	19.20	14.01	100
M29	0.5 g	6.95	6.83	23.11	5.46	27.26	17.57	12.81	100
M39	0.5 g	4.72	6.89	17.97	0.00	26.48	26.89	17.04	100
M40	0.5 g	5.71	5.11	4.54	0.00	0.00	81.63	3.01	100
M57	0.5 g	5.82	12.13	11.75	9.21	0.00	59.72	1.36	100
M56	0.5 g	8.39	11.48	14.85	13.41	0.00	49.64	2.23	100
M38	0.5 g	7.77	9.73	19.65	1.67	1.32	57.06	2.80	100
M49	0.5 g	7.66	11.16	25.78	0.00	0.00	41.85	13.54	100
Total:		341.79	249.66	1210.23	181.02	971.43	2277.22	468.66	
Promedio:		6.00	4.38	21.23	3.18	17.04	39.95	8.22	
Valor mínimo:		2.19	0.00	3.77	0.00	0.00	10.68	0.00	
Valor máximo:		11.49	12.13	42.28	13.41	57.58	94.04	24.10	

Tabla 15A.- Resultados de laboratorio sobre la concentración de Peroxisomicina A1 en diferentes especies y ambientes de cultivo.

<u>U. exp.</u>	<u>Tamaño de la muestra</u>	<u>% Area PA1</u> <u>t<sub>R</sub><sup>3</sup></u> <u>2.31</u>	<u>Areas relativas</u> <u>t<sub>R</sub><sup>3</sup>(PA1)</u> <u>2.31 min</u>	<u>Valores corregidos</u> <u>por ec. de</u> <u>reg. 1 y 2</u> <u>(<math>\mu</math>g/ml)</u>	<u>PA1</u> <u>g/kg</u> <u>(*)</u>	<u>% de</u> <u>PA1</u>
M2	0.5 g	15.67	87.7550	9.8943	1.9789	0.20
M3	0.5 g	13.73	115.9530	12.9382	2.5876	0.26
M6	0.5 g	17.34	78.4800	8.8931	1.7786	0.18
M9	0.5 g	7.82	52.5690	6.0961	1.2192	0.12
M21	0.5 g	11.22	86.8300	9.7945	1.9589	0.20
M26	0.5 g	4.04	26.9460	3.3302	0.6660	0.07
M22	0.5 g	10.28	30.1070	3.6714	0.7343	0.07
M11	0.5 g	30.03	241.8840	26.5321	5.3064	0.53
M13	0.5 g	36.39	154.9600	17.1489	3.4298	0.34
M17	0.5 g	26.60	158.1700	17.4954	3.4991	0.35
M42	0.5 g	18.13	74.2410	8.4355	1.6871	0.17
M46	0.5 g	18.73	56.1570	6.4834	1.2967	0.13
M8	0.5 g	22.79	88.1120	9.9328	1.9866	0.20
M5	0.5 g	18.56	41.1150	4.8597	0.9719	0.10
M4	0.5 g	20.27	58.2740	6.7119	1.3424	0.13
M7	0.5 g	20.75	60.2090	6.9208	1.3842	0.14
M24	0.5 g	19.93	75.3790	8.5584	1.7117	0.17
M1	0.5 g	25.46	159.3850	17.6266	3.5253	0.35
M10	0.5 g	31.38	150.4550	16.6626	3.3325	0.33
M25	0.5 g	8.81	27.3960	3.3787	0.6757	0.07
M32	0.5 g	3.77	14.1880	1.9530	0.3906	0.04
M15	0.5 g	4.46	15.7340	2.1199	0.4240	0.04
M19	0.5 g	9.73	58.4460	6.7305	1.3461	0.13
M43	0.5 g	13.87	222.6680	24.4578	4.8916	0.49
M35	0.5 g	16.71	143.2620	15.8861	3.1772	0.32
M31	0.5 g	6.45	16.7700	2.2317	0.4463	0.04
M16	0.5 g	35.32	235.2550	30.9310	6.1862	0.62
M44	0.5 g	32.99	248.9350	32.7128	6.5426	0.65
M36	0.5 g	26.76	205.0250	26.9936	5.3987	0.54
M48	0.5 g	30.73	167.3870	22.0914	4.4183	0.44
M47	0.5 g	27.86	175.2510	23.1156	4.6231	0.46

Tabla 15A.- (Continuación).

U. exp.	Tamaño de la muestra	% Area	Areas	Valores	PA1 g/kg (* )	% de PA1
		PA1 t <sub>R</sub> 3 2.31	relativas t <sub>R</sub> 3(PA1) 2.31 min	corregidos por ec. de reg. 1 y 2		
M14	0.5 g	25.17	242.5150	31.8766	6.3753	0.64
M12	0.5 g	22.86	146.0150	19.3077	3.8615	0.39
M23	0.5 g	23.84	99.6520	13.2691	2.6538	0.27
M28	0.5 g	24.09	167.0190	22.0435	4.4087	0.44
M30	0.5 g	26.89	187.5160	24.7131	4.9426	0.49
M18	0.5 g	24.83	206.4920	27.1847	5.4369	0.54
M20	0.5 g	26.96	257.2610	33.7972	6.7594	0.68
M27	0.5 g	40.51	359.9050	47.1663	9.4333	0.94
M53	0.5 g	42.28	394.1510	51.6268	10.3254	1.03
M37	0.5 g	27.98	270.3840	35.5065	7.1013	0.71
M52	0.5 g	32.85	257.1200	33.7789	6.7558	0.68
M54	0.5 g	20.91	151.8880	20.0727	4.0145	0.40
M33	0.5 g	22.11	176.8390	23.3225	4.6645	0.47
M51	0.5 g	24.39	181.3520	23.9103	4.7821	0.48
M45	0.5 g	14.42	104.9340	13.9570	2.7914	0.28
M55	0.5 g	21.59	115.8690	15.3813	3.0763	0.31
M50	0.5 g	28.20	235.1690	30.9198	6.1840	0.62
M41	0.5 g	30.48	252.7700	33.2123	6.6425	0.66
M34	0.5 g	25.62	128.9120	17.0801	3.4160	0.34
M29	0.5 g	23.11	163.1680	21.5419	4.3084	0.43
M39	0.5 g	17.97	64.4190	8.6801	1.7360	0.17
M40	0.5 g	4.54	19.5210	2.8322	0.5664	0.06
M57	0.5 g	11.75	73.9070	9.9159	1.9832	0.20
M56	0.5 g	14.85	197.4680	26.0094	5.2019	0.52
M38	0.5 g	19.65	157.6310	20.8207	4.1641	0.42
M49	0.5 g	25.78	80.0640	10.7178	2.1436	0.21
PROMEDIO:		21.23	140.69	17.78	3.56	0.36
Valor máximo:		42.28	394.15	51.63	10.33	1.03
Valor mínimo:		3.77	14.19	1.95	0.39	0.04

Ec. de regresión 1:  $X1=(AREA+3.9039) 9.2638(m2 \text{ a } m31)$

Ec. de regresión 2:  $X2=(AREA+2.2240) 7.6777(m16 \text{ a } m49).$

(\*).  $X=(\text{valor corregido} \cdot 10 \cdot 10 \cdot 0.5 \text{ g})$

TABLA 16A.- ANVA en peso seco de frutos enteros de varias especies y ambientes de producción.

E.V.	G.L.	S. C.	C. M.	E	P>E
Tratamientos	18	0.136	0.008	4.403	0.000 **
Bloques	2	0.182	0.091	53.063	0.000 **
Error	36	0.062	0.002		
Total	56	0.380			

Tabla 17A.- Comparación de medias (DMS) para peso fresco de frutos de varias especies y ambientes de producción.

Tratamiento	Media general PSPF(g)	$\alpha=0.05$
8	0.24	a
9	0.24	a
4	0.21	ab
7	0.20	abc
5	0.17	abcd
6	0.17	abcd
10	0.16	bcde
2	0.16	bcde
1	0.15	bcdef
16	0.15	bcdef
12	0.15	bcdef
11	0.14	bcdef
3	0.14	bcdef
17	0.13	cdefg
18	0.10	defg
13	0.10	defg
15	0.09	efg
14	0.08	fg
19	0.06	g

DMS = 0.0741.

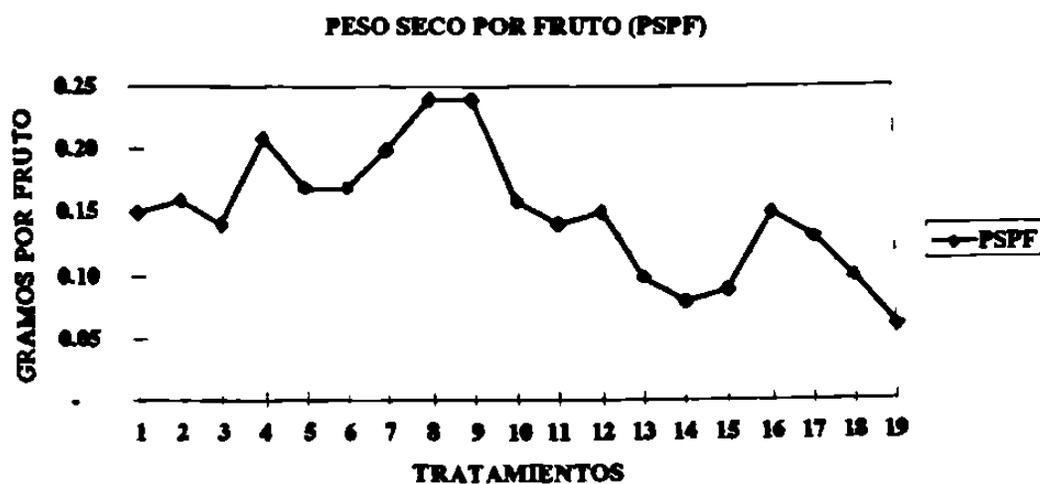


Figura 3A.- Promedios de peso seco por fruto entero; en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende los tratamientos 15, 16 y 17, así como de *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

Tabla 18A.- ANVA en peso seco en mg/hueso de varias especies y ambientes de producción.

<u>E.V.</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.C.</u>	<u>C.M.</u>	<u>F</u>	<u>P&gt;F</u>
Tratamientos	18	18101.895	1005.661	6.516	0.000 **
Bloques	2	28631.474	14315.737	92.750	0.000 **
Error	36	5556.526	154.348		
Total	56	52289.895			

Tabla 19A.- Comparación de medias (DMS) para peso seco en mg/hueso de varias especies y ambientes de producción.

<u>Tratamiento</u>	<u>Media general</u> <u>PSPH(mg)</u>	<u><math>\alpha=0.05</math></u>
8	96.67	a
7	93.67	a
16	89.33	ab
4	88.00	abc
9	86.00	abcd
6	81.00	abcde
5	79.00	abcdef
10	71.00	bcdefg
17	67.67	cdefg
2	67.00	defg
11	67.00	defg
12	65.67	defg
1	63.33	efgh
3	59.00	fghi
13	58.67	fghi
15	53.67	ghi
18	44.00	hij
14	42.33	ij
19	30.00	j

DMS = 20.5941.

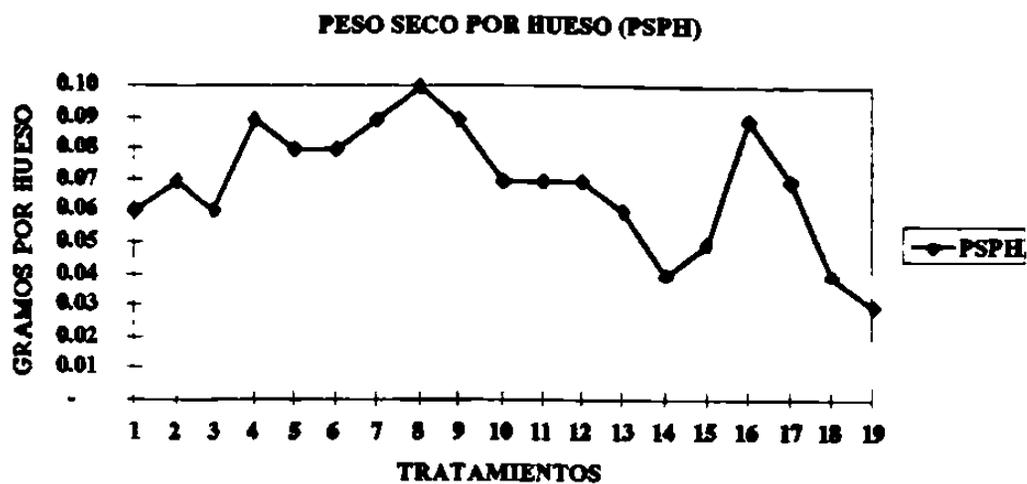


Figura 4A.- Promedios de peso seco por hueso; en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende los tratamientos 15, 16 y 17, así como de *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

Tabla 20A.- ANVA en antracenas con  $t_R$  1 en varias especies y ambientes de producción.

<u>E.V.</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.C.</u>	<u>C.M.</u>	<u>E</u>	<u>P&gt;E</u>
Tratamientos	18	95.483	5.305	2.264	0.018 *
Bloques	2	13.915	6.958	2.969	0.064 N.S.
Error	36	84.351	2.343		
Total	56	193.749			

Tabla 21A.- Comparación de medias (DMS) para antracenas con  $t_R$  1 en varias especies y ambientes de producción.

<u>Tratamiento</u>	<u>Media general</u> <u><math>t_R</math> 1(% de área)</u>	<u><math>\alpha=0.05</math></u>
4	8.94	a
2	8.49	ab
1	7.81	abc
17	6.87	abcd
18	6.34	bcde
3	6.28	bcde
12	6.24	bcde
10	6.13	bcde
9	5.97	bcde
15	5.93	cde
6	5.69	cde
16	5.65	cde
11	5.61	cde
7	5.51	cde
5	5.06	de
19	4.79	de
14	4.34	de
13	4.30	e
8	3.98	e

DMS = 2.5373.

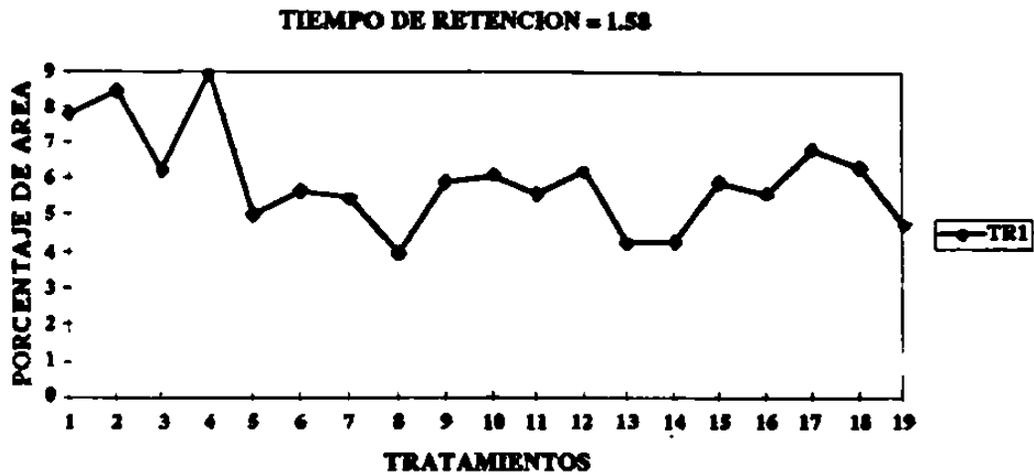


Figura 5A.- Promedios de porcentajes de área del grupo de antracenas diméricas detectadas en cromatógrafo con  $t_R=1.58$ ; en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende los tratamientos 15, 16 y 17, así como de *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

Tabla 22A.- ANVA en antracenos con  $t_R^2$  en varias especies y ambientes de producción.

<u>E.V.</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.C.</u>	<u>C.M.</u>	<u>F</u>	<u>P&gt;E</u>	
Tratamientos	18	104.359	5.798	0.801	0.687	N.S.
Bloques	2	227.889	113.945	15.737	0.000	**
Error	36	260.658	7.240			
Total	56	592.906				

Tabla 23A.- Comparación de medias (DMS) para antracenos con  $t_R^2$  en varias especies y ambientes de producción.

<u>Tratamiento</u>	<u>Media general</u> <u><math>t_R^2</math>(% de área)</u>	<u><math>\alpha=0.05</math></u>
16	7.67	a
2	6.15	ab
17	5.79	ab
18	5.33	ab
9	5.14	ab
15	5.03	ab
10	4.89	ab
6	4.88	ab
4	4.65	ab
12	4.56	ab
1	4.50	ab
19	4.21	ab
5	3.68	ab
3	3.26	ab
7	3.07	b
14	2.93	b
13	2.69	b
11	2.41	b
8	2.39	b

DMS = 4.4603.

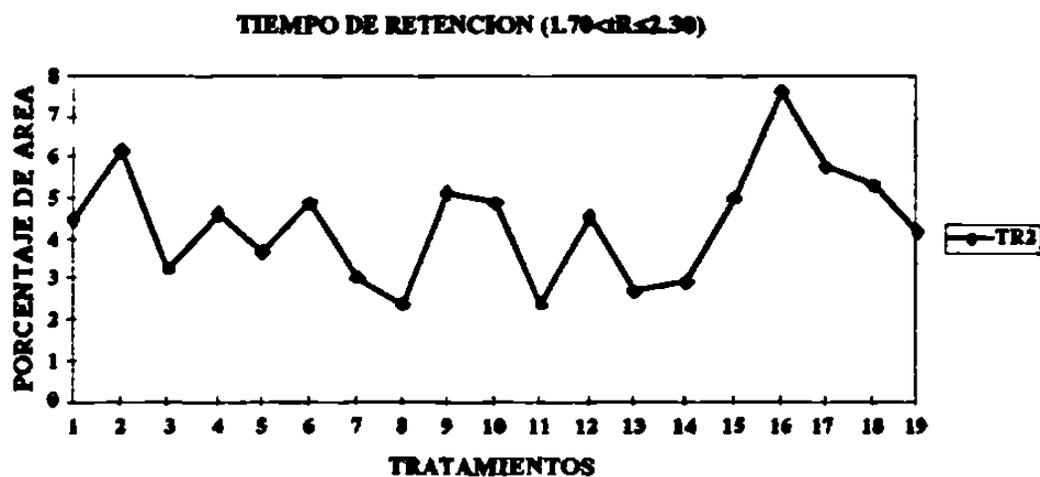


Figura 6A.- Promedios de porcentajes de área del grupo de antracenonas diméricas detectadas en cromatógrafo con  $1.70 < t_R < 2.30$ ; en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende los tratamientos 15, 16 y 17, así como de *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

Tabla 24A.- ANVA en antracenos con  $t_R3$  en varias especies y ambientes de producción.

E.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	P>F
Tratamientos	18	3609.613	200.534	7.793	0.000 **
Bloques	2	177.961	88.980	3.458	0.042 *
Error	36	926.367	25.732		
Total	56	4713.941			

Tabla 25A.- Comparación de medias (DMS) para antracenos con  $t_R3$  en varias especies y ambientes de producción.

Tratamiento	Media general $t_R3$ (% de área)	$\alpha=0.05$
2	37.22	a
1	35.29	ab
12	27.99	bc
4	27.24	bcd
3	27.11	bcd
11	26.92	bcd
10	25.01	cd
6	23.36	cde
5	22.50	cdef
9	22.14	cdef
7	21.94	cdef
8	19.51	defg
13	15.86	efgh
19	14.17	fgh
18	13.47	gh
17	13.31	gh
14	11.82	gh
16	9.77	h
15	8.78	h

DMS = 8.4087.

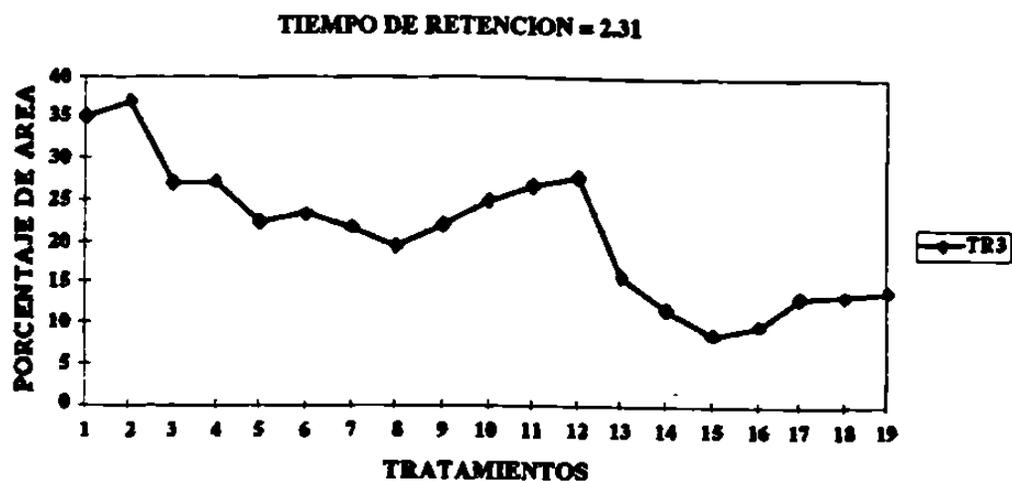


Figura 7A.- Promedios de porcentajes de área del grupo de antracenas diméricas detectadas en cromatógrafo con  $t_R=2.31$ ; en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende los tratamientos 15, 16 y 17, así como de *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

Tabla 26A.- ANVA en antracenas con  $t_R4$  en varias especies y ambientes de producción.

E.V.	G.L.	S. C.	C. M.	E	P>E
Tratamientos	18	467.700	25.983	2.762	0.005 **
Bloques	2	39.751	19.876	2.112	0.136 N.S.
Error	36	338.716	9.409		
Total	56	846.167			

Tabla 27A.- Comparación de medias (DMS) para antracenas con  $t_R4$  en varias especies y ambientes de producción.

Tratamiento	Media general $t_R4$ (% de área)	$\alpha=0.05$
17	11.58	a
16	9.60	a
11	4.35	b
14	4.21	b
7	3.92	b
10	3.91	b
6	3.59	b
4	2.76	b
9	2.51	b
5	2.33	b
13	2.33	b
8	2.08	b
1	2.04	b
12	1.93	b
3	1.60	b
18	1.14	b
15	0.46	b
3	0.00	b
19	0.00	b

DMS = 5.0847



Figura 8A.- Promedios de porcentajes de área del grupo de antracenas diméricas detectadas en cromatógrafo con  $t_R=2.67$ ; en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende los tratamientos 15, 16 y 17, así como de *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

Tabla 28A.- ANVA en antracenos con  $t_{R5}$  en varias especies y ambientes de producción.

<u>E.V.</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.C.</u>	<u>C.M.</u>	<u>F</u>	<u>P&gt;F</u>
Tratamientos	18	8749.330	486.074	6.300	0.000 **
Bloques	2	542.603	271.301	3.517	0.040 *
Error	36	2777.423	77.151		
Total	56	12069.357			

Tabla 29A.- Comparación de medias (DMS) para antracenos con  $t_{R5}$  en varias especies y ambientes de producción.

<u>Tratamiento</u>	<u>Media general</u> <u><math>t_{R5}</math>(% de área)</u>	<u><math>\alpha=0.05</math></u>
8	41.64	a
6	34.10	ab
9	31.99	abc
5	31.31	abc
13	25.92	bc
12	24.09	bcd
7	23.77	bcd
10	22.90	bcd
11	22.61	bcd
3	17.54	cde
4	10.74	def
14	10.39	def
2	6.35	ef
19	6.02	ef
1	5.24	ef
18	5.18	ef
17	3.92	ef
15	0.00	f
16	0.00	f

DMS = 14.5601.

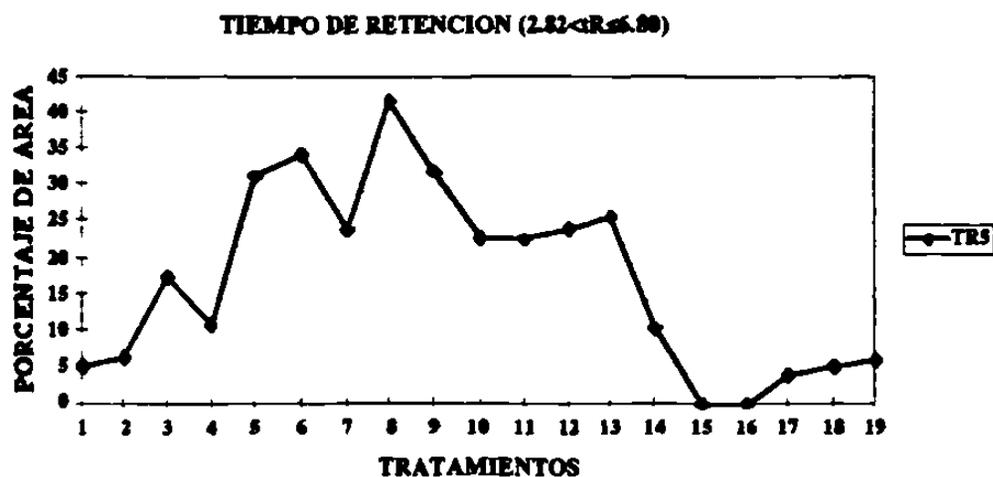


Figura 9A.- Promedios de porcentajes de área del grupo de antracenas diméricas detectadas en cromatógrafo con  $2.82 < t_R \leq 6.80$ ; en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende los tratamientos 15, 16 y 17, así como de *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

Tabla 30A.- ANVA en antracenas con  $t_R6$  en varias especies y ambientes de producción.

<u>E.V.</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.C.</u>	<u>C.M.</u>	<u>E</u>	<u>P&gt;E</u>
Tratamientos	18	19777.824	1098.768	6.924	0.000 **
Bloques	2	2856.788	1428.394	9.001	0.001 **
Error	36	5713.197	158.700		
Total	56	28347.809			

Tabla 31A.- Comparación de medias (DMS) para antracenas con  $t_R6$  en varias especies y ambientes de producción.

<u>Tratamiento</u>	<u>Media general</u> <u><math>t_R6</math>(% de área)</u>	<u><math>\alpha=0.05</math></u>
15	77.83	a
18	66.73	a
16	65.72	a
19	65.60	a
14	60.27	a
17	57.11	ab
13	36.59	bc
1	36.23	bc
7	35.07	c
4	34.37	c
2	33.89	c
3	33.49	c
11	28.15	c
10	24.18	c
5	23.89	c
12	22.94	c
9	19.12	c
6	18.96	c
8	18.90	c

DMS = 20.8824.

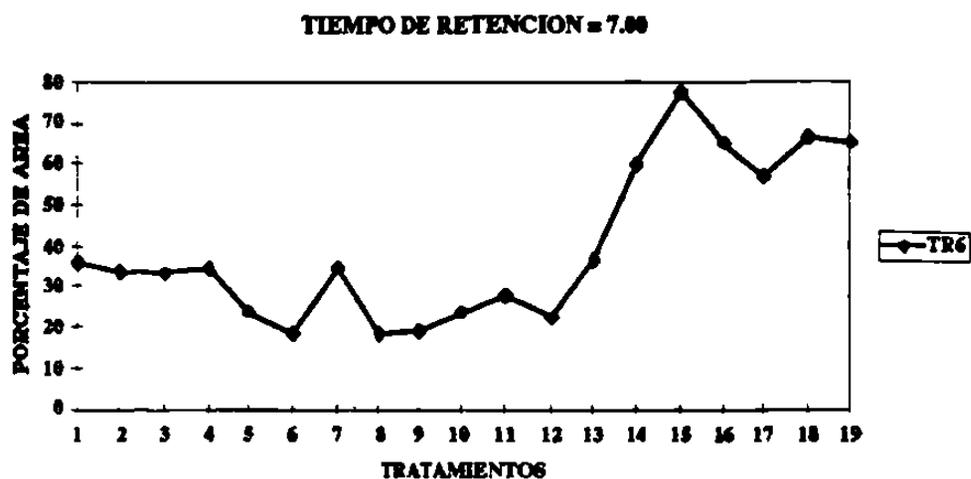


Figura 10A.- Promedios de porcentajes de área del grupo de antracenas diméricas detectadas en cromatógrafo con  $t_R = 7.00$ ; en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende los tratamientos 15, 16 y 17, así como de *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

Tabla 32A.- ANVA en antracenas con  $t_R7$  en varias especies y ambientes de producción.

E.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F	P>E
Tratamientos	18	916.939	50.941	2.212	0.021 *
Bloques	2	64.237	32.119	1.394	0.261 N.S.
Error	36	829.228	23.034		
Total	56	1810.404			

Tabla 33A.- Comparación de medias (DMS) para antracenas con  $t_R7$  en varias especies y ambientes de producción.

Tratamiento	Media general $t_R7$ (% de área)	$\alpha=0.05$
9	13.12	a
10	12.90	a
13	12.30	a
12	12.25	a
8	11.49	a
4	11.31	a
5	11.23	a
3	10.71	a
11	9.94	a
6	9.42	ab
1	8.89	abc
2	7.90	abc
7	6.73	abc
14	6.03	abc
19	5.20	abc
15	1.97	bc
18	1.81	bc
16	1.59	bc
17	1.42	c

DMS = 7.9557.

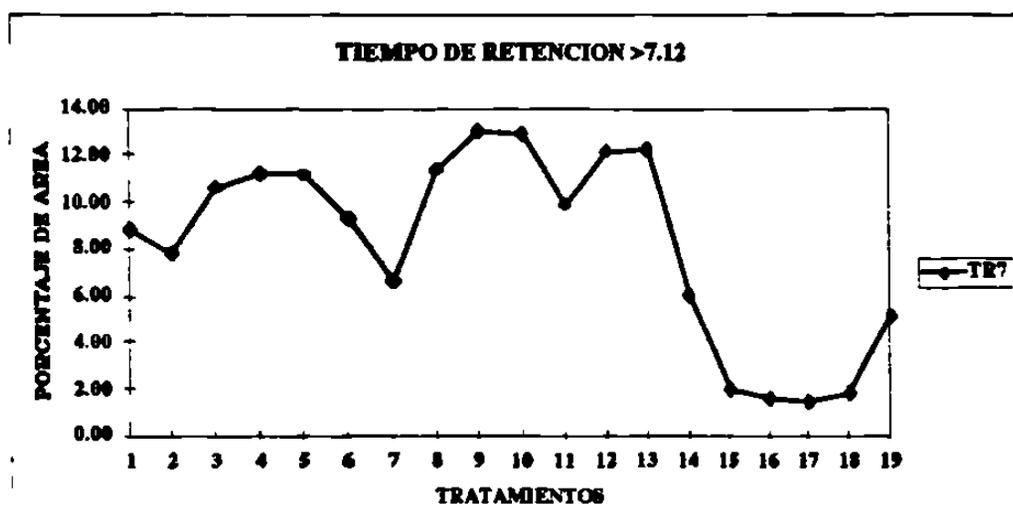


Figura 11A.- Promedios de porcentajes de área del grupo de antracenas diméricas detectadas en cromatógrafo con  $t_R > 7.12$ ; en frutos de *K. humboldtiana*, que comprende los tratamientos 1 al 14; *K. parvifolia* (Choix), que comprende los tratamientos 15, 16 y 17, así como de *K. parvifolia* (Natoches), que comprende los tratamientos 18 y 19.

Tabla 34A.- ANVA en Peroxisomicina A1 en varias especies y ambientes de producción.

<u>E.V.</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.C.</u>	<u>C.M.</u>	<u>E</u>	<u>P&gt;E</u>
Tratamientos	18	1.679	0.093	5.098	0.000 **
Bloques	2	0.652	0.326	17.811	0.000 **
Error	36	0.659	0.018		
Total	56	2.990			

Tabla 35A.- Comparación de medias (DMS) para Peroxisomicina A1 en varias especies y ambientes de producción.

<u>Tratamiento</u>	<u>Media general PA1(% de área)</u>	<u><math>\alpha=0.05</math></u>
1	0.70	a
2	0.67	ab
3	0.53	abc
11	0.52	abcd
12	0.45	bcde
6	0.44	cde
4	0.43	cde
10	0.43	cde
17	0.40	cde
5	0.33	cdef
7	0.32	cdef
9	0.30	defg
18	0.27	efg
13	0.23	efg
8	0.23	efg
14	0.16	fg
16	0.15	fg
19	0.11	fg
15	0.09	g

DMS = 0.2224.

Tabla 36A.- Promedios generales sobre PSPF. PSPH y PA1.

Tratamiento	Media general por cada tratamiento		
	PSPF (g)	PSPH (g)	PA1 (% de área)
1	0.15	0.06	0.70
2	0.16	0.07	0.67
3	0.14	0.06	0.53
4	0.21	0.09	0.43
5	0.17	0.08	0.33
6	0.17	0.08	0.44
7	0.20	0.09	0.32
8	0.24	0.10	0.23
9	0.24	0.09	0.30
10	0.16	0.07	0.43
11	0.14	0.07	0.52
12	0.15	0.07	0.45
13	0.10	0.06	0.23
14	0.08	0.04	0.16
15	0.09	0.05	0.09
16	0.15	0.09	0.15
17	0.13	0.07	0.40
18	0.10	0.04	0.27
19	0.06	0.03	0.11

Tabla 37A.- Estándares utilizados para el análisis cromatográfico de las muestras 2 a la 31 (grupo 1), siguiendo el orden que se observa en la Tabla 15A.

$\mu\text{g/mL}$	Area	Altura
2.0	19.980	1.530
6.0	49.176	3.666
8.0	63.629	4.793
10.0	90.462	6.482
20.0	183.384	12.537
40.0	366.635	24.661

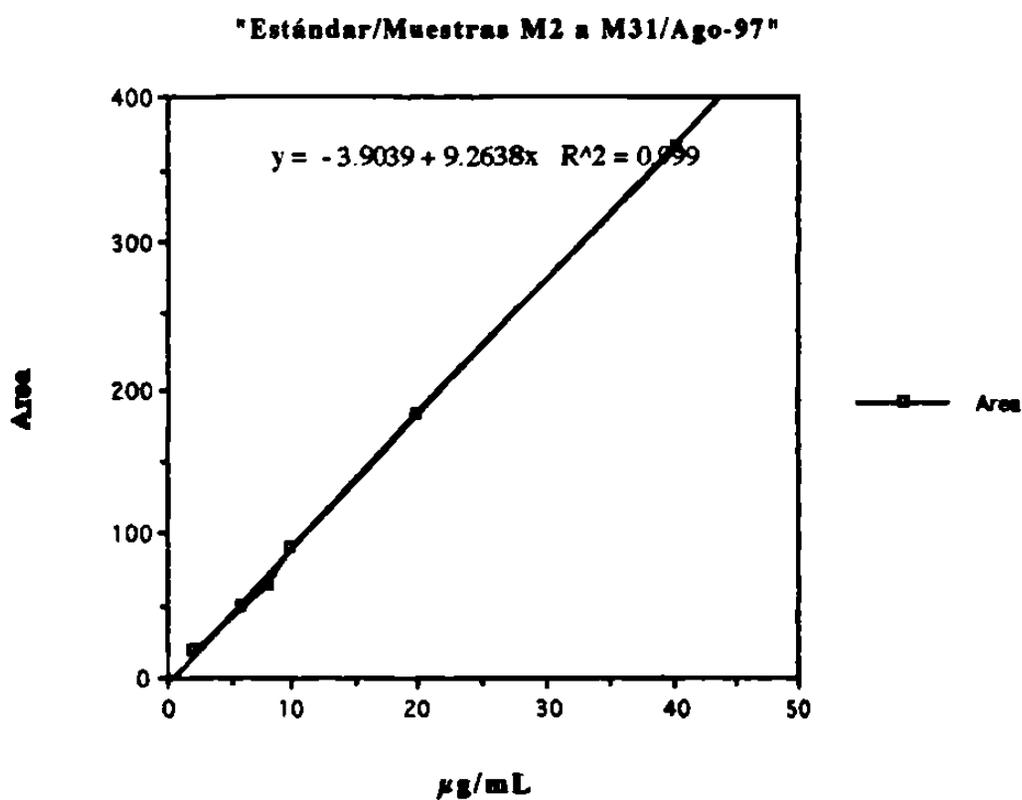


Figura 12A.- Obtención de la ecuación de regresión número 1 para ajuste de datos de PA1 en cromatogramas.

Tabla 38A.- Estándares utilizados para el análisis cromatográfico de las muestras 16 a la 49 (grupo 2), siguiendo el orden que se observa en la Tabla 15A.

$\mu\text{g/mL}$	Áreas
2.0	21.9
10.0	65.0
20.0	149.0
40.0	308.0

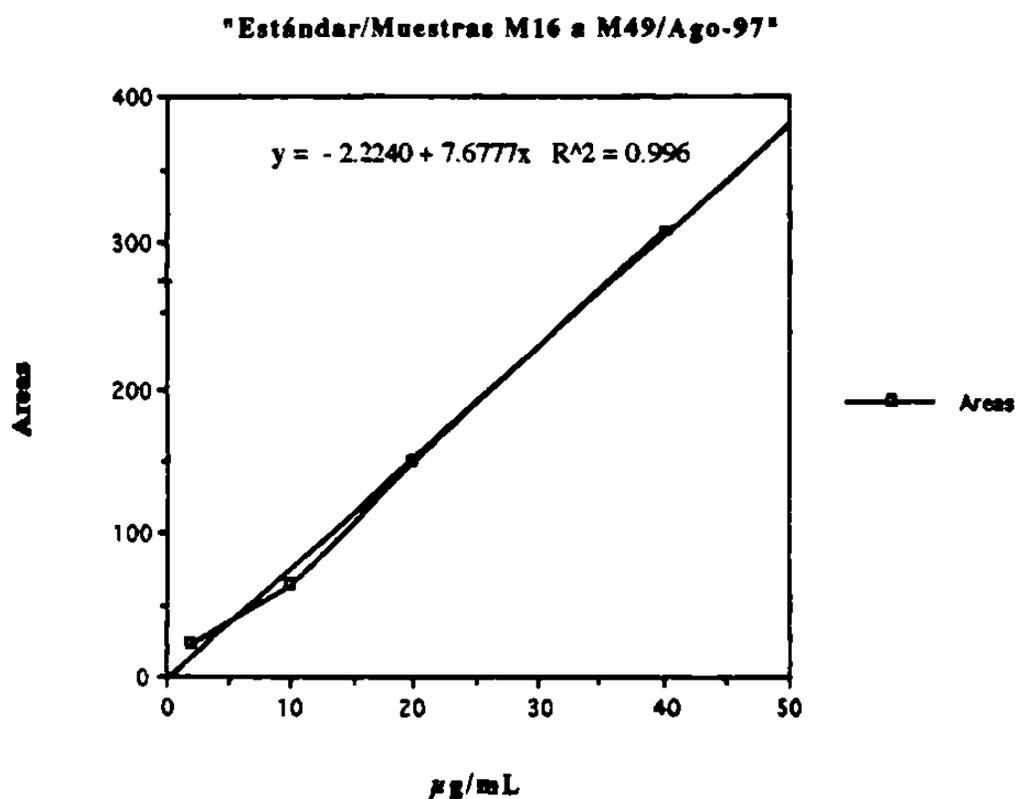


Figura 13A.- Obtención de la ecuación de regresión número 2 para ajuste de datos de PA1 en cromatogramas.

Tabla 39A.- Concentrado de datos de campo y de laboratorio, con lo que se probaría que los frutos grandes de *Karwinska humboldtiana* cultivados y cosechados en vivero producen mayor cantidad de PA1.

Unidad	Trata	Num.	Peso por	Peso por	% de
Exp.	miento	rep.	fruto	hueso	PA1
M11	1	1	0.21	0.08	0.53
M13		2	0.21	0.09	0.34
M17		3	0.17	0.07	0.35
M42		4	0.31	0.12	0.17
M46		5	0.25	0.11	0.13
M8		6	0.26	0.12	0.20
M5		7	0.33	0.14	0.10
M4		8	0.38	0.15	0.13
M7		9	0.42	0.13	0.14
M24		10	0.26	0.12	0.17
M1		11	0.23	0.10	0.35
M10		12	0.23	0.10	0.33
M16	2	1	0.11	0.05	0.62
M44		2	0.10	0.05	0.65
M36		3	0.09	0.04	0.54
M48		4	0.12	0.06	0.44
M47		5	0.10	0.04	0.46
M14		6	0.09	0.05	0.64
M12		7	0.11	0.06	0.39
M23		8	0.11	0.05	0.27
M28		9	0.11	0.05	0.44
M30		10	0.08	0.04	0.49
M18		11	0.08	0.04	0.54
M20		12	0.07	0.04	0.68
M27	3	1	0.14	0.06	0.94
M53		2	0.16	0.06	1.03
M37		3	0.14	0.06	0.71
M52		4	0.19	0.09	0.68
M54		5	0.17	0.08	0.40
M33		6	0.15	0.07	0.47
M51		7	0.17	0.08	0.48
M45		8	0.22	0.09	0.28
M55		9	0.19	0.08	0.31
M50		10	0.13	0.06	0.62
M41		11	0.12	0.06	0.66
M34		12	0.14	0.06	0.34

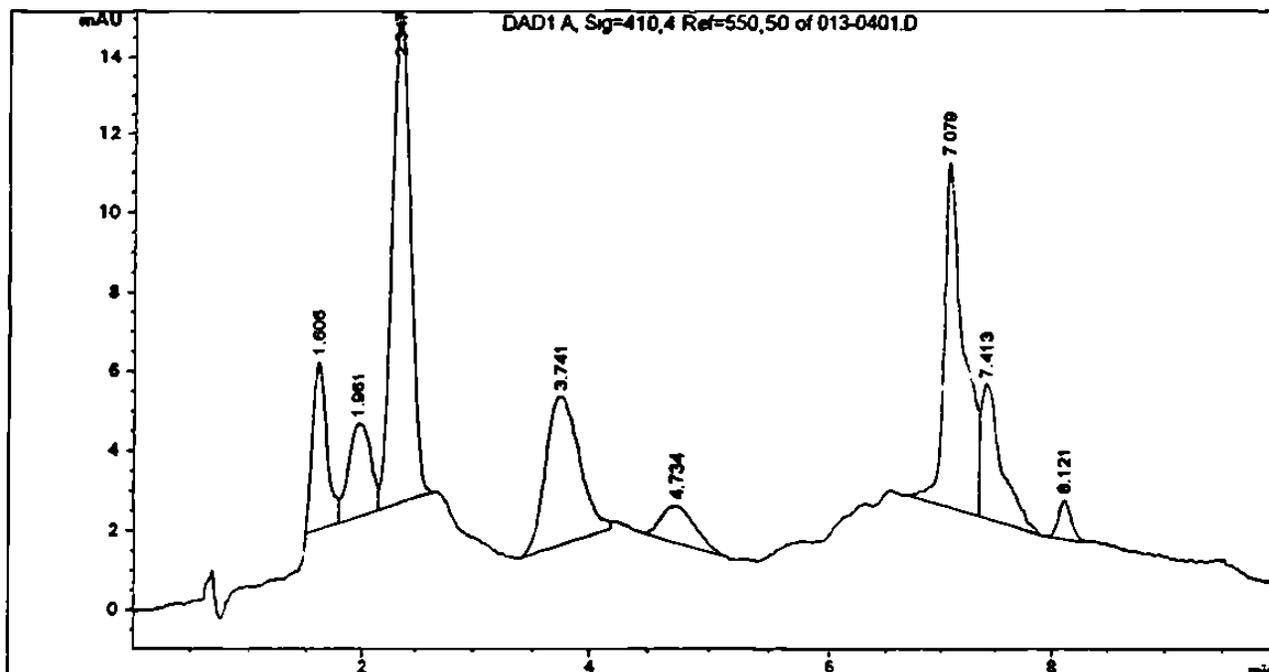
Tabla 40A.- Características agronómicas y fitoquímicas de frutos cultivados en diferentes ambientes de producción, con lo que se probaría que el riego e intensidad de luz influyen sobre la síntesis de PAI.

Unidad exp.	Tratamiento	Num. rep.	P. seco por fruto entero	Peso seco por hueso	% de PAI
M2	13	1	0.152	0.088	0.20
M25		2	0.056	0.036	0.07
M29		3	0.089	0.052	0.43
M3	14	1	0.106	0.057	0.26
M32		2	0.050	0.028	0.04
M39		3	0.076	0.042	0.17
M6	15	1	0.096	0.063	0.18
M15		2	0.067	0.040	0.04
M40		3	0.100	0.058	0.06
M21	17	1	0.172	0.097	0.20
M43		2	0.075	0.040	0.49
M56		3	0.143	0.066	0.52
M26	18	1	0.147	0.062	0.07
M35		2	0.062	0.030	0.32
M38		3	0.096	0.040	0.42
M22	19	1	0.062	0.036	0.07
M31		2	0.043	0.024	0.04
M49		3	0.062	0.030	0.21

Figura 14A.- Cromatograma de la muestra 10 (M10), que se anexa como ejemplo de los cromatogramas correspondientes a cada una de las muestras con las cuales se trabajó en esta investigación.

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\AGOST18C\013-0401.D

Page 1 of 1



### Area Percent Report

Sorted by Signal

Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PEROXIS.M

Multiplier : 1.000

Signal 1: DAD1 A, Sig=410,4 Ref=550,50 Sample Name: m10

of: C:\HPCHEM\1\DATA\AGOST18C\013-0401.D

at: Mon Aug 18 18:54:29 1997 by: Ma. de la Luz Salazar

Acq. Method: PEROXIS.M

Sequence Line: 4 Vial: 13 Inj: 1

Peak #	Ret Time [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*sec]	Height [mAU]	Area %
1	1.606	BV	0.139	37.985	4.239	7.9235
2	1.961	VV	0.175	32.926	2.370	6.8682
3	2.347	VV	0.184	150.455	12.509	31.3846
4	3.741	PV	0.253	78.577	3.752	16.3910
5	4.734	BF	0.249	18.190	0.944	3.7943
6	7.079	BF	0.177	109.646	8.735	22.8719
7	7.413	FP	0.181	43.432	3.400	9.0598
8	8.121	FB	0.111	8.182	0.991	1.7068
Totals :				479.392	36.939	

\*\*\* End of Report \*\*\*



