



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**ESTUDIO ANATÓMICO-FISIOLÓGICO DE LA SEMILLA Y EVALUACIÓN DEL
CRECIMIENTO DE *Ormosia macrocalyx* Ducke PARA SU CONSERVACIÓN *EX SITU***

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA:

BIOL. JACKELIN RUIZ VIDAL

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DRA. GEORGINA VARGAS SIMÓN

EN CODIRECCIÓN DE:

DR. JOSÉ ÁNGEL GASPAR GÉNICO

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Villahermosa, Tabasco, México, el día 24 del mes agosto del año 2026, el que suscribe **Jackelin Ruiz Vidal** alumna del Programa de Maestría en Ciencias Ambientales con número de matrícula **232G25009**, adscrito a la División Académica de Ciencias Biológicas, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autor(a) (es) de la Tesis presentada para la obtención del grado de **Maestra en Ciencias Ambientales** y titulada "**Estudio anatómico-fisiológico de la semilla y evaluación del crecimiento de *Ormosia macrocalyx* Ducke para su conservación ex situ**" dirigida por la Dra. Georgina Vargas Simón.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 14 de agosto 2026.

Nombre y Firma del egresado

Biól. Jackelin Ruiz Vidal



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2026
año de
Margarita
Maza

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

Villahermosa, Tab., a 24 de Agosto de 2026

ASUNTO: Autorización de Modalidad de Titulación

C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza a la **C. JACKELIN RUIZ VIDAL** egresada de la Maestría en **CIENCIAS AMBIENTALES** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis de Maestría denominado: **"ESTUDIO ANATÓMICO-FISIOLÓGICO DE LA SEMILLA Y EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Ormosia macrocalyx* Ducke PARA SU CONSERVAIÓN Ex Situ"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADEMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p. - Expediente Alumno de la División Académica
C.c.p.- Interesado





UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2026
año de
Margarita
Maza

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

AGOSTO 24 DE 2026

C. JACKELIN RUIZ VIDAL
PAS. DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES
P R E S E N T E

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 74 al 77 del Cap. IV del Reglamento General de Estudios de Posgrado de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales titulado: **"ESTUDIO ANATÓMICO-FISIOLÓGICO DE LA SEMILLA Y EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Ormosia macrocalyx* Ducke PARA SU CONSERVACIÓN *Ex Situ*"**, asesorado por la Dra. Georgina Vargas Simón Y Dr. José Ángel Gaspar Génico, sobre el cual sustentará su Examen de Grado, cuyo jurado integrado por la Dra. Lilia María Gama Campillo, Dra. Nelly del Carmen Jiménez Pérez, Dra. Georgina Vargas Simón, Dr. Pablo Martínez Zurimendi y M. en C. Jesús Manuel Ascencio Rivera.

ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE


DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
C.c.p.- Archivo



UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2026
año de
Margarita
Maza

División Académica de Ciencias Biológicas DIRECCIÓN

Villahermosa, Tabasco a 21 de agosto de 2026

C. JACKELIN RUIZ VIDAL

EGRESADA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTE

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad, y por instrucciones de la Dirección de Posgrado, se implementó la revisión de los trabajos recepcionales (tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación que se desarrollan en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad, el Reglamento General de Estudios de Posgrado, el Código Institucional de Ética para la Investigación y con los requerimientos para los posgrados registrados en el SNP de la SECIHTI.

Por este conducto, hago de su conocimiento que, con el objetivo de fortalecer y enriquecer el programa de posgrado, se realizó la revisión del documento en la plataforma iThenticate, obteniendo el reporte de originalidad, el índice de similitud y se emitieron las siguientes sugerencias y recomendaciones para dar seguimiento en el documento de tesis del proyecto de investigación: ***Estudio anatómico-fisiológico de la semilla y evaluación del crecimiento de Ormosia macrocalyx Ducke para su conservación Ex Situ.***

OBSERVACIONES:

1. **El índice de similitud general obtenido fue de 04%**, el cual se ubica dentro del estándar de tolerancia de acuerdo a las Políticas y Lineamientos para el uso y manejo del Software Antiplagio de la UJAT. Se demuestra el nivel de originalidad del documento y de la investigación.
2. Aun que el índice de similitud obtenido indica coincidencias con 20 fuentes de consulta (las cuales corresponden con fuentes de internet y con publicaciones), éstas se detectaron en el Capítulo de Protocolo de tesis y se refieren a frases en las secciones de Marco Teórico y Metodología, así como a coincidencias con el artículo científico publicado derivado de esta tesis, lo que no demerita el documento de tesis, pero se recomienda a la sustentante, y sus directores de tesis, revisar las oraciones identificadas





UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2026
año de
Margarita
Maza

División Académica de Ciencias Biológicas

DIRECCIÓN

con similitud y ajustarlas a una redacción propia en la medida de lo posible, e incluir las citas y referencias bibliográficas pertinentes conforme al formato APA vigente.

3. **Se adjunta el informe de originalidad de la tesis** obtenido a través de la herramienta Turnitin iThenticate.
4. Finalmente, se le solicita a la C. JACKELIN RUIZ VIDAL, integrar en la versión final de tesis, este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate de acuerdo con lo señalado en los Lineamientos institucionales para la elaboración de tesis de posgrado.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.C.P. Dra. Georgina Vargas Simón - Directora de tesis.
Dr. José Ángel Gaspar Génico - Codirector de tesis.
Archivo



KM 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
VILLAHERMOSA, CENTRO, TABASCO, MEX.

Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx



Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y desperdicio de agua y ayuda a conservar los bosques

www.ujat.mx

Jackelin Ruiz Vidal

Estudio anatómico-fisiológico de la semilla y evaluación del crecimiento de *Ormosia macrocalyx* Ducke para su conservaci...

 Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:615469397

126 páginas

Fecha de entrega

19 ago 2026, 9:27 a.m. GMT-6

31.028 palabras

Fecha de descarga

21 ago 2026, 11:43 a.m. GMT-6

176.645 caracteres

Nombre del archivo

Tesis Estudio Anatómico-Fisiológico de la semilla de *Ormosia macrocalyx* .pdf

Tamaño del archivo

6.4 MB

4% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 16 palabras)

Exclusiones

- N.º de fuentes excluidas
- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 4%  Fuentes de Internet
- 2%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

4%	 Fuentes de Internet
2%	 Publicaciones
0%	 Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	www.mdpi.com	2%
2	Publicación	T. Steinbrecher, K. Graeber, K. Nakabayashi, G. Leubner-Metzger. "Seed Dormanc...	<1%
3	Internet	dialnet.unirioja.es	<1%
4	Publicación	Diana María Cruz-Tejada, Efisio Mattana, Angelino Carta. "Modeling seed germin...	<1%
5	Publicación	Paul R. Krausman, Bill A. Jex. "Mountain Sheep in North America - Biology, Ecolog...	<1%
6	Internet	vdocuments.site	<1%
7	Internet	repositorio.unicordoba.edu.co	<1%
8	Internet	www.polibotanica.mx	<1%
9	Internet	repositorio.unamad.edu.pe	<1%
10	Publicación	Rezvan Ghannad, Maryam Madadkar Haghjou, Ali Raza, Mirza Hasanuzzaman. "In...	<1%
11	Publicación	Ivošević, Bojana Đ~Đ²Đ¼Ñ~ĐµĐ²Đ,Ñ», Đ'Đ¼Ñ~Đ°Đ½Đ°. "ĐŁÑ,Đ,Ñ†Đ°Ñ~ Đ°Đ°Ñ€Đ° ...	<1%

12	Publicación	Valéria Forni Martins, Lara Priscila Domingues Cazotto, Flavio Antonio Maës dos S...	<1%
13	Internet	repositorio.uea.edu.ec	<1%
14	Internet	pdfcookie.com	<1%
15	Internet	www.scribd.com	<1%
16	Internet	cibnor.repositorioinstitucional.mx	<1%
17	Internet	era.ujat.mx	<1%
18	Internet	repositorio.chapingo.edu.mx	<1%
19	Internet	rev.mex.biodivers.unam.mx	<1%
20	Internet	ri.ujat.mx	<1%

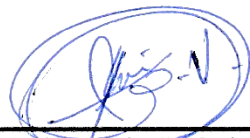
Carta de Cesión de Derechos*

Villahermosa, Tabasco a 24 de agosto 2026.

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTORES en la producción, creación y/o realización de la obra denominada Estudio anatómico-fisiológico de la semilla y evaluación del crecimiento de *Ormosia macrocalyx* Ducke para su conservación *ex situ*.

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un periodo de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES

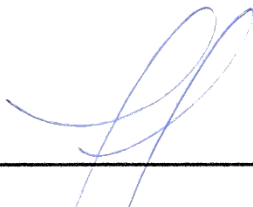


Biól. Jackelin Ruiz Vidal

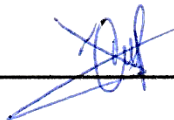


Dra. Georgina Vargas Simón

TESTIGOS



Dra. Lilia Maria Gama Campillo



Dra. Nelly del Carmen Jiménez Pérez

Dedicatoria

A mi hijo, por ser mi mayor inspiración y por acompañarme de manera incondicional a lo largo de este camino. Gracias por estar siempre presente cuando necesité apoyo, por tu disposición para ayudarme en cada una de las actividades realizadas durante este proyecto. Tu ayuda constante, paciencia y compromiso fueron parte importante para que pudiera concluir esta etapa.

A mi padre, por enseñarme, con el ejemplo de toda una vida, el valor del trabajo honesto, la perseverancia y la fortaleza para afrontar cada desafío. Tus enseñanzas han sido una guía permanente y un pilar sobre el cual he construido mi camino.

A mi hermana, por tu cariño, confianza y compañía constante. Gracias por estar presente en los momentos difíciles, por tus palabras de aliento y por recordarme que ningún camino se recorre completamente a solas.

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) del Gobierno de México, por haberme otorgado la beca de posgrado, cuyo respaldo hizo posible mi permanencia y formación durante los estudios de la Maestría en Ciencias Ambientales.

A la Dra. Georgina Vargas Simón, mi más profundo agradecimiento por haber confiado en mí desde el inicio y por brindarme la oportunidad de formar parte de este proyecto. Su dirección representó mucho más que un acompañamiento académico; fue un proceso de formación que me permitió desarrollar una mirada más rigurosa, crítica y reflexiva hacia la investigación. Agradezco especialmente su tiempo, paciencia y disposición para orientar cada etapa de este trabajo, así como sus observaciones, consejos y enseñanzas, que contribuyeron significativamente al desarrollo de esta investigación y a mi formación como profesionista e investigadora. Cada señalamiento y cada intercambio fueron una oportunidad para aprender, cuestionar y mejorar, dejando en este trabajo el reflejo de su orientación y de la confianza que depositó en mi capacidad.

Al Dr. Guillermo Ángeles, investigador del Instituto de Ecología, A.C. (INECOL), por recibirme en su laboratorio y brindarme la oportunidad de enriquecer mi formación mediante su acompañamiento y orientación durante una etapa importante de esta investigación.

A los integrantes de mi comité tutorial, mi sincero agradecimiento por el tiempo, dedicación y compromiso brindados a lo largo de este proceso. Sus observaciones, sugerencias y recomendaciones fueron fundamentales para revisar, fortalecer y enriquecer cada etapa de este trabajo.

Mi reconocimiento y gratitud al Ing. Miguel Fernando Nazuno Pérez, al Dr. Manuel L. Núñez Piedra, a la M. en C. Carolina Madero Vega, a la M. en C. Jaquelina Gamboa Aguilar, a la M. en C. Meritxell Sanlúcar González, a la M. en C. Silvia Arias García, al Ing. Bernardino Hernández Cardoza y a la Ing. María Dolores Alarcón. Gracias por su apoyo, su disposición y la colaboración que me brindaron durante las actividades de laboratorio, el trabajo de campo y las distintas etapas de esta investigación. Su ayuda fue indispensable para que este proyecto pudiera llevarse a cabo.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de una u otra manera, me acompañaron durante este camino. Cada palabra de aliento, consejo y muestra de apoyo contribuyó a que hoy pueda concluir una de las etapas más importantes de mi formación académica y profesional. •

INDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I Protocolo de Tesis	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
JUSTIFICACIÓN	8
OBJETIVOS	9
General:	9
Específicos:	9
METODOLOGIA	10
Área de estudio	10
Morfología de frutos y semillas	10
Morfología de frutos	10
Morfología de semillas	11
Análisis Estadístico	11
ANATOMÍA E HISTOQUÍMICA DE LAS SEMILLAS	11
Anatomía de semillas	11
Cortes de las semillas	12
Infiltración en parafina y poliestireno	12
Desparafinación	13
Tinción con safranina "O"	13
Tinción con azul de toluidina	13
Tinción Histoquímica	13
Almidón	13
Alcaloides	14
Celulosa	14
Lípidos	14
Proteínas	14
Taninos condensados	14
PRUEBAS FÍSICAS Y FISIOLÓGICAS	15
Pruebas Físicas	15
Número de Semillas por Kilogramo	15
Contenido de humedad de las semillas (CH)	15
Prueba fisiológica	16
Germinación	16

Viabilidad (Prueba topográfica de tetrazolio)	17
Análisis Estadístico	17
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS	19
REFERENCIAS CITADAS	20
CAPÍTULO II Fruit Morphology and Seed Anatomy of <i>Ormosia macrocalyx</i> Ducke	23
CAPÍTULO III Efecto del tiempo y temperaturas en la viabilidad de las semillas de <i>Ormosia macrocalyx</i> Ducke y crecimiento preliminar en condiciones de invernadero	57
CAPÍTULO IV	92
ANEXOS	94

INDICE DE TABLAS

CAPITULO II

Table 1. Dimensions and weights of the fruits and seeds of <i>Ormosia</i>	36
Table 2. Comparison of morphological dimensions of fruits and seeds of some species of the genus <i>Ormosia</i>	36
Table 3. Pearson correlation matrix between biometric fruit and seed characteristics in <i>Ormosia macrocalyx</i> Ducke.	37
Table 4. Principal component analysis (PCA) of the morphological characteristics of the fruit and seeds of <i>Ormosia macrocalyx</i> . FL: fruit length; NSF: number of seeds per fruit; SW: seed width; ST: seed thickness; SL: seed length; SM: seed mass; FW: fruit width.	37
Table 5. Summary of the mixed effects linear model for the effect of fruit length (FL) on the number of seeds per fruit (NSF).	39
Table 6. Results of the histochemical tests of the storage cotyledons of <i>Ormosia macrocalyx</i> . ..	42

CAPITULO III

Tabla 1. Temperaturas ambientales registradas durante el almacenamiento de semillas de <i>O. macrocalyx</i> a los seis meses (T6) y a los doce meses (T12). Promedios y desviación estándar.	65
Tabla 2. Condiciones ambientales del invernadero durante la germinación de semillas de <i>O. macrocalyx</i> en diferentes tiempos de almacenamiento: recién cosechadas (T0), a los seis meses (T6) y a los doce meses (T12). Promedios y desviación estándar.	66
Tabla 3. Patrones de clasificación de viabilidad modificados para semillas de <i>Ormosia macrocalyx</i> (Normas ISTA, 2018).	67
Tabla 4. Resultados del ANOVA factorial para el porcentaje de germinación de semillas de <i>O. macrocalyx</i> sometidas a distintos tiempos y condiciones de almacenamiento.	72

Tabla 5. Viabilidad de semillas de *Ormosia macrocalyx* por tratamiento de almacenamiento (prueba de tetrazolio, ISTA 2018).....74

Tabla 6. Número de eófilos simples y trifoliolados, y área foliar en plantas juveniles de *Ormosia macrocalyx* en condiciones de invernadero en diferentes tiempos (días después de la germinación: ddg). Datos expresados como media $\pm$ desviación estándar.....78

INDICE DE FIGURAS

CAPITULO I

Figura 1. Mapa de localización y los puntos de colecta de semillas de *Ormosia macrocalyx* Ducke.....10

CAPITULO II

Figure 1. Location of the collection sites in the municipalities: (1) Centro and (2) Balancan in Tabasco, Mexico. Prepared by Manuel L. Núñez-Piedra.....29

Figure 2. Fruit of *Ormosia macrocalyx*. (a) External view of ripe fruit, (b) internal view of the fruit and the quantity of seeds. a: apex, en: endocarp, ep: epicarp, es: stipe, fu: funiculus, p: pedicel, se: seed, ds: dorsal suture. The scale bar represents 2 cm.....34

Figure 3. Seed morphology in *Ormosia macrocalyx*. (a) Lateral view: seed coat (sc), antiraphe (ar), raphe (r), funiculus (fu). The scale bar represents 1 cm; (b): detailed view of the hilar zone: micropyle (m), hilar zone (h), hilar slit (hs), and lens (le), the circle indicates the area corresponding. The scale bar represents 1 mm.....35

Figure 4. Principal component analysis (PCA), showing six morphometric variables. Fruit length (FL), number of seeds per fruit (NSF), fruit width (FW), seed mass (SM), seed thickness (ST), seed length (SL), and seed width (SW).....38

Figure 5. Transverse cut of the *Ormosia macrocalyx* seed coat, showing the cuticle (cu), macrosclereids (ma), osteosclereids (os), parenchyma (pa). Tissue stained with Safranin O and Astra blue. The scale bar represents 50 μ m.....40

Figure 6. Longitudinal section of the hilar area of *Ormosia macrocalyx* seeds: (a) hilar zone (h), funiculus remnants (fu), hilar slit (hs), macrosclereids (ma), tracheid bar (tb), parenchyma (pa); (b) detail of the tracheid bar (tb). Stained with toluidine blue. The scale bar represents 50 μ m. 41

Figure 7. Transverse section of the storage cotyledons of *Ormosia macrocalyx* seeds: middle lamella (ml), plasmodesmata (pl), cytoplasm (cy), cell wall (cw). Stained with Lugol's reagent. The scale bar represents 50 μ m.....42

Figure 8. Histochemical reactions of different secondary metabolites in the storage cotyledons of *Ormosia macrocalyx* seeds: (a) starch, (b) cellulose, (c) tannins, (d) lipids, (e) alkaloids, (f) proteins. The scale bar represents 50 μ m.43

CAPITULO III

Figura 1. Germinación acumulada de semillas de *O. macrocalyx* después de diferentes tiempos de tratamiento, temperatura y almacenamiento: (A): TRCE: recién cosechadas y escarificadas; TRCI: recién cosechadas e íntactas. (B): almacenadas por 6 meses a temperatura ambiente, escarificadas (TAE) e íntactas (TAI). (C): almacenadas por 6 meses a temperatura de refrigeración, escarificadas (TRE) e íntactas (TRI). (D) almacenadas por 12 meses a temperatura ambiente, escarificadas (TAE) e íntactas (TAI). (E): almacenadas por 12 meses a temperatura de refrigeración, escarificadas (TRE) e íntactas (TRI). Las barras representan los errores estándar. 72

Figura 2. Tasas de germinación de semillas de *Ormosia macrocalyx* en diferentes tiempos de almacenamiento: T0: recién cosechadas; T6: 6 meses; T12: 12 meses. Bajo dos ambientes de almacenamiento: TA (temperatura ambiente), TR (temperatura refrigeración) y dos tratamientos pregerminativos: TE (semillas escarificadas), TI (semillas íntactas, sin tratamiento). Las barras representan la media $\pm$ error estándar..... 73

Figura 3. Evaluación de la viabilidad en semillas de *Ormosia macrocalyx* mediante la prueba de tetrazolio. (A–D) Semillas viables, caracterizadas por tinción uniforme o parcial de cotiledones y embrión; (E–H) semillas no viables, con ausencia de tinción o daño en estructuras críticas. La interpretación se realizó conforme a criterios establecidos en International Rules for Seed Testing (ISTA, 2018)..... 74

Figura 4. Etapas de desarrollo de las plántulas: a) semilla, b) inicio de germinación (7 días) c) plántulas 10 días con par de paracotiledones d) plántulas (15 días) con un eófilo, e) plántulas (28 días) con dos eófilos. cr - cotiledones de reserva, rp - raíz primaria; rs - raíces secundarias; hp - hipocótilo; ep - epicótilo; pa - paracotiledones; eo1 - primer eófilo; eo2 - segundo eófilo. La línea de la escala representa 5 cm..... 75

Figura 5. Crecimiento en altura de tallo y diámetro basal del tallo de plántulas de *Ormosia macrocalyx* 280 ddg, bajo condiciones de invernadero..... 76

Figura 6. Morfología de la planta juvenil de *Ormosia macrocalyx*: a) Vista general de la planta, mostrando filotaxia alterna, lignificación del tallo (lig) y el cepellón (ce). La línea representa 20 cm. b) Sistema radicular, indicando la raíz principal (rp), raíces secundarias (rs) y nódulos radiculares (nd). c) Detalle de nódulos radiculares. La línea representa 1 cm. 77

Figura 7. Morfología foliar en plantas juveniles de *Ormosia macrocalyx*. (a) Eófilos simples juveniles observadas a los 160 (ddg), (b) eófilos simples y un eófilo compuesto trifoliolado a los 280 ddg. La línea representa 10 cm. 78

Figura 8. Tasa de crecimiento relativa para altura de tallo ($\text{cm cm}^{-1} \text{ día}^{-1}$) y diámetro basal de tallo ($\text{mm mm}^{-1} \text{ día}^{-1}$). 79

Resumen

La investigación abordó diferentes estudios sobre *Ormosia macrocalyx* Ducke, especie forestal amenazada: morfología de frutos y anatomía de semillas; viabilidad de semillas con respecto al tiempo y crecimiento preliminar en condiciones de invernadero. Todo esto con el objetivo de generar información para su conservación y propagación. Se aplicaron diferentes métodos, de acuerdo con las necesidades de la descripción y experimentos establecidos, que incluyeron cortes anatómicos e histoquímicos de la cubierta seminal y cotiledones de reserva de la semilla; evaluación del porcentaje de germinación en semillas escarificadas e intactas en diferentes tiempos de conservación y temperatura; así como, el registro de crecimiento y desarrollo de plántulas durante 280 días. Los resultados mostraron que la longitud de los frutos influye significativamente en el número de semillas por fruto. Se obtuvo la descripción anatómica de la cubierta seminal y de los cotiledones de reserva, identificándose tejido esclerenquimático en la testa y células de parénquima con doble pared celular y plasmodesmos en los cotiledones. Presencia de diversos metabolitos secundarios como alcaloides y compuestos fenólicos, es una semilla exalbuminosa. La viabilidad de las semillas disminuyó durante el almacenamiento, siendo mayor la pérdida bajo refrigeración, mientras que las semillas intactas aparentemente conservaron su dormancia por más tiempo. Las plantas alcanzaron valores de altura de tallo, diámetro basal y conformación de cepellón que indican una calidad morfológica y estructural adecuada, desarrollaron nódulos radiculares, aunque tuvo crecimiento lento. Se concluye que estos hallazgos aportan información científica para fortalecer las estrategias de preservación y manejo de *O. macrocalyx*.

Palabras claves: viabilidad de semillas, esclerénquima, alcaloides, cotiledones de reserva, escarificación.

Abstract

This study investigated different aspects of *Ormosia macrocalyx* Ducke, a threatened forest tree species, including fruit morphology and seed anatomy, seed viability during storage, and early seedling growth under greenhouse conditions. The aim was to generate scientific information to support its conservation and propagation. Different methodologies were applied according to the objectives of each experiment, including anatomical and histochemical analyses of the seed coat and storage cotyledons, evaluation of germination percentage in scarified and intact seeds subjected to different storage durations and temperatures, and monitoring of seedling growth and development over a period of 280 days. The results showed that fruit length significantly influenced the number of seeds per fruit. Anatomical characterisation of the seed coat and storage cotyledons revealed sclerenchymatous tissue in the testa and parenchyma cells with thickened cell walls and plasmodesmata in the cotyledons. Histochemical analyses detected several secondary metabolites, including alkaloids and phenolic compounds, confirming that the seeds are exalbuminous. Seed viability declined during storage, with a greater loss under refrigerated conditions, whereas intact seeds appeared to retain physical dormancy for a longer period. The seedlings reached stem height, basal diameter and root ball development values indicative of satisfactory morphological and structural quality. They also developed root nodules, although overall growth was slow. These findings provide scientific evidence to support conservation strategies and improve the propagation and management of *O. macrocalyx*.

Keywords: seed viability; sclerenchyma; alkaloids; storage cotyledons; scarification.

CAPÍTULO I

Protocolo de Tesis

INTRODUCCIÓN

Las áreas de las selvas tropicales de México han sufrido una disminución debido a las actividades antropogénicas. La mayoría de esas pérdidas resultan de la conversión de estas zonas a producción ganadera, mientras que otras han sido fragmentadas, lo que ha provocado una disminución en la distribución de las especies (González-Valdivia *et al.*, 2012). Un ejemplo es *Ormosia macrocalyx* Ducke, un árbol de la familia Fabaceae que se encuentra bajo la categoría de peligro de extinción (SEMARNAT, 2010). Estos árboles alcanzan 50 m de altura (Ochoa-Gaona *et al.*, 2008), y pueden producir una gran cantidad de semillas (15,000 en un año), que miden 10.1 mm de largo y 9.5 mm de diámetro (Foster y Delay, 1998). Esta especie produce semillas de color rojo brillante que se utilizan para hacer artesanías, sus flores son de color violeta, fragantes, su madera es esencial para la ebanistería y carpintería, así como para la construcción de puentes, canoas y durmientes de ferrocarril (Ochoa-Gaona *et al.*, 2008; Pérez-Hernández *et al.*, 2011). Es una especie significativa desde un punto de vista ecológico, porque alcanza una tasa de nodulación por bacterias nitrificantes de 48.9 mg g⁻¹ y como plántula responde favorablemente a concentraciones elevadas de CO₂ (alrededor 700 ppm), lo que da la fertilidad del suelo, mejora la productividad de los ecosistemas y las relaciones ecológicas entre las especies, además de brindarle una ventaja competitiva en el ecosistema en que se desarrolla (Cernusak *et al.*, 2011).

Esta especie se distribuye en los estados sureños de México, en áreas con precipitaciones ≥ 800 mm, en elevaciones de 1,150 msnm, principalmente en suelos gleysoles. Se ha documentado su presencia, como individuos aislados en áreas abiertas, en remanentes de selvas y en agroecosistemas. Las zonas más importantes de distribución son Tabasco y Chiapas, según un análisis realizado a partir de los ejemplares de herbario. Debido a su hábitat especializado y la fragmentación de los ecosistemas se concluye que es una especie vulnerable (Vargas-Simón *et al.*, 2018).

La conservación *ex situ* es una forma de conservación de especies con algún grado de amenaza, que implica preservarlas fuera de su ambiente natural. Es una herramienta efectiva de mantenerlas y proteger la diversidad vegetal. Dadas las dificultades cada vez mayores de conservar la diversidad biológica en sus ambientes naturales, esta herramienta, está tomando cada vez más relevancia como estrategia complementaria a la conservación *in situ*. Se pueden lograr simultáneamente numerosos objetivos, el más destacado de los cuales es la preservación de muestras representativas de la diversidad genética de poblaciones y especies de plantas que se encuentran amenazadas. Además, permite proporcionar una cantidad adecuada de

germoplasma para establecer, reintroducir o aumentar poblaciones ya existentes (Linington & Pritchard 2001). Por tanto, los métodos *ex situ*, garantizan la supervivencia a corto y largo plazo, lo que previene la extinción de poblaciones y especies silvestres (Menges *et al.*, 2004). En ese sentido, convierte en un método importante cuando existen especies amenazadas en áreas naturales, como es *O. macrocalyx*, porque se desconoce su longevidad y viabilidad en condiciones de almacenamiento. Independientemente, de la amenaza que tiene en su ecosistema, la especie tiene pocos dispersores y puede experimentar una dormancia física debido a su cubierta seminal resistente por la posible presencia de tejido esclerenquimático como sucede en otras Fabaceae, estas características podrían dificultar su propagación, establecimiento y supervivencia (Foster y Delay 1998).

Por lo tanto, para determinar un mejor método para su conservación *ex situ*, el objetivo del presente trabajo es examinar las características morfo-anatómicas de su cubierta seminal, evaluar los efectos del tiempo y las condiciones de almacenamiento.

Además, para establecer un programa de propagación es importante evaluar su proceso germinativo y su crecimiento preliminar.

MARCO TEÓRICO

En un estudio realizado con *Ormosia paraensis* Ducke, se determinó que el fruto es una legumbre, de color marrón a negro, dehiscente que tiene una o dos semillas de placentación lateral, siendo el epicarpio delgado, el mesocarpio leñoso y el endocarpio esponjoso, midiendo cerca de 4.4 cm de largo. Las semillas son bitegmáticas, exalbuminosas y redondeadas con una longitud aproximada de 12.36 mm. Las plántulas tienen hojas simples y alternas, con raíces pivotantes y tallo cilíndrico, siendo su germinación hipogea criptocotilar (Silva *et al.*, 2015).

En su estudio, Silva *et al.* (2018) realizaron una caracterización detallada de las semillas de *Ormosia arborea*, sembrando 100 semillas sin escarificar en arena lavada y esterilizada bajo condiciones controladas de humedad, fotoperiodo y temperatura. Durante el desarrollo de las plántulas, se observaron diariamente aspectos clave como el crecimiento de la raíz primaria, la aparición de raíces secundarias, el desarrollo de la primera hoja, la yema apical y la expansión de los primeros eófilos. En el análisis anatómico de las semillas de esta especie se aplicaron las técnicas histológicas para obtener las características anatómicas y químicas de la cubierta seminal. Se identificaron cuatro diferentes capas de tejidos: una cutícula (sustancias hidrófobas), epidermis (macroesclereidas), hipodermis (osteoesclereidas) y células de parénquima.

Silva *et al.*, 2014 evaluaron los métodos para romper la dormancia en semillas de *Ormosia arborea*, caracterizando la semilla y determinando el mejor período para su recolección. Encontrando que las semillas presentan una dormancia tegumentaria, siendo la escarificación química durante 15 minutos el método más efectivo para facilitar la germinación. Los valores promedio de longitud (12.9 y 12.4 mm), grosor (8.5 y 8.3 mm) y ancho (11.3 y 11.1 mm), así como el contenido de humedad (13.05% y 11.64%) y el potencial germinativo (89% y 98%) en ambas épocas de recolección, fueron adecuados. Sin embargo, identificó que el momento óptimo para la recolección es cuando los frutos están completamente abiertos y maduros, ya que presentan un bajo contenido de humedad, lo que reduce el riesgo de contaminación por hongos.

Un ensayo realizado por Silva *et al.* (2015) evaluaron la permeabilidad de semillas escarificadas y no escarificadas sumergiéndolas en azul de metileno al 1% durante un período de 0 a 72 horas para determinar el límite de penetración del colorante. Los resultados demostraron que la escarificación es un método efectivo para mejorar la permeabilidad de la semilla, lo que a su vez incrementa las tasas de germinación en comparación con las semillas no escarificadas, evidenciando así la importancia de este tratamiento para facilitar el proceso germinativo.

Se investigó la eficacia de las aves arbóreas y terrestres en la dispersión de semillas de *Ormosia macrocalyx* y *O. bopiensis* (Foster, 2008). Se utilizaron dos métodos pregerminativos: escarificadas, simulando el consumo por aves terrestres, e intactas, representando la dispersión por aves arbóreas. Los resultados indicaron que las semillas escarificadas germinaron con las primeras lluvias de transición estacional, mientras que las semillas intactas lo hicieron 30 días después, durante un periodo más húmedo. Las semillas intactas de *O. macrocalyx* produjeron más plántulas (41.1%) que las escarificadas (25.5%), debido a la mortalidad de muchas plántulas escarificadas por desecación. Aunque las plántulas escarificadas tuvieron un crecimiento más prolongado, no fueron más grandes ni robustas que las intactas.

El estudio de Pérez-Hernández *et al.* (2011), evaluó la germinación y supervivencia de plántulas de seis especies nativas: *Aspidosperma megalocarpon*, *Eugenia sp.*, *Lonchocarpus castilloi*, *Manilkara zapota*, *Ormosia macrocalyx* y *Rollinia mucosa*, en condiciones *in situ* y *ex situ* durante seis meses. Los resultados mostraron que *O. macrocalyx* tuvo una capacidad de germinación del 82% en condiciones de campo, siendo la más alta entre las especies evaluadas, mientras que en vivero no se encontraron diferencias significativas en las tasas de germinación o crecimiento. En cuanto a la supervivencia, las plántulas de *O. macrocalyx* mostraron una buena adaptación a las condiciones ambientales del área de estudio, lo que sugiere su potencial para ser utilizada en programas de rehabilitación y restauración de bosques tropicales.

En el estudio de Vargas-Simón *et al.* (2017) sobre los tratamientos pregerminativos para *Ormosia macrocalyx*, se llevaron a cabo dos experimentos. *Experimento 1:* Se evaluó la germinación de semillas de frutos en diferentes estados de madurez. Los resultados mostraron que las semillas de frutos abiertos germinaron lentamente, pero la escarificación mejoró significativamente la tasa de germinación en comparación con otros tratamientos. *Experimento 2:* Se aplicaron cuatro tratamientos a semillas que habían sido refrigeradas durante 17 meses. La escarificación fue el tratamiento más efectivo, aumentando la tasa de germinación y reduciendo el tiempo necesario para alcanzar el 50% de germinación. Estos hallazgos sugieren que la escarificación es ventajosa, especialmente para semillas recolectadas después de un período prolongado adheridas al árbol.

Hernández-Sánchez *et al.* (2021) estudió el impacto de dos fertilizantes de liberación controlada, Basacote y Multicote, en tres concentraciones bajas, medias y altas (10 kg/m³, 20 kg/m³ y 30 kg/m³) en el crecimiento y desarrollo de las plantas de *O. macrocalyx* tanto en el vivero como en el campo. Los resultados mostraron que las plantas con dosis bajas de Basacote

obtuvieron mejores resultados en todos los parámetros del vivero; la evaluación de las plántulas fue por 3 meses, con alturas 19 cm y diámetro 5.2mm al término de la evaluación.

El estudio de Ceballos & López (2008) con respecto a la calidad de las semillas demostraron su viabilidad *Alnus acuminata*, *Guarea guidonia*, *Juglans neotropica*, *Retrophyllum rospigliosii* y *Cordia gerascanthus*, durante seis meses a tres temperaturas de almacenamiento: 4°C, 12°C y temperatura ambiente. Los resultados de las semillas de *A. acuminata*, *C. gerascanthus* y *G. guidonia* las que mantuvieron un porcentaje de germinación constante cuando se almacenaron a 12°C durante seis meses. Las semillas escarificadas *J. neotropica* antes de la siembra mostraron un aumento en la velocidad de germinación y mantuvieron porcentajes de germinación más altos cuando se almacenaron a 4°C. El almacenamiento de las semillas a temperaturas controladas y la aplicación de tratamientos pregerminativos son efectivos para mejorar la viabilidad y el rendimiento germinativo de las semillas estudiadas.

La viabilidad y la germinación en semillas de *Cochlospermum vitifolium* y *Quararibea funebris* Vischer fue evaluada por Ríos-García et al.(2018). almacenándolas a 0, 3, 6, 9 y 12 meses. Los resultados indican que las semillas a los 0 meses de almacenamiento presentaron una viabilidad de 99.66 % *C. vitifolium* y de 99.33 % para *Q. funebris*. A los 12 meses de almacenamiento la viabilidad disminuyó presentando una germinación final del 71.3 % y 61.3 %, respectivamente. Con esto se comprobó que el tiempo de almacenamiento afecta negativamente la viabilidad y la capacidad germinativa de las semillas, siendo óptimas en condiciones sin almacenamiento.

Diferentes lotes de semillas de distintas especie y genotipos se analizaron para entender su longevidad relativa (Hay *et al.*, 2022). se utilizaron dos protocolos estándar para evaluar la longevidad: almacenamiento abierto y hermético. Estos métodos permitieron comparar cómo las condiciones afectan la viabilidad de las semillas a lo largo del tiempo. Se encontró que la longevidad (P50) es el tiempo que tarda un lote de semillas en perder el 50% de su viabilidad durante el almacenamiento, por lo que se consideró un indicador adecuado para evaluar la longevidad de las semillas.

En cuanto a los métodos para romper la latencia en semillas de *Ormosia paraensis* Ducke, Silva *et al.*(2018) evaluaron la efectividad de la escarificación mecánica y el remojo en ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 98,08%. Los resultados indicaron que tanto el remojo en ácido sulfúrico durante 60 o 120 minutos como la escarificación mecánica fueron tratamientos efectivos para superar la latencia física causada por el tegumento de las semillas. Estos tratamientos mejoraron

significativamente la absorción de agua y aumentaron las tasas de germinación en comparación con semillas no tratadas. Además, las semillas sometidas a estos métodos mostraron mayor viabilidad y vigor en las plántulas resultantes, lo que sugiere que dichos tratamientos favorecen el establecimiento exitoso de la especie.

Gurski *et al.* (2012) realizaron un estudio detallado sobre los caracteres morfológicos y anatómicos de las semillas, plántulas y plantas jóvenes de *Ormosia arborea* (Vell.) y *Ormosia fastigiata* Tul. Los resultados mostraron que las semillas de *O. arborea* tienen un peso promedio de 685 mg, mientras que las semillas de *O. fastigiata* son más ligeras. Ambas especies presentan un tipo de germinación diferente; *O. arborea* exhibe germinación hipógea criptocotiledonar, mientras que *O. fastigiata* presenta germinación fanerocotiledonar. En cuanto a las plántulas, *O. arborea* desarrolla un tallo con tricomas marrones y una gran cantidad de lenticelas, además de raíces con nodulaciones características. Por otro lado, las plántulas de *O. fastigiata* muestran tricomas a lo largo del tallo y lenticelas restringidas a la región basal. Con los datos obtenidos su identificación y diferenciación entre ambas especies serán más específicas.

Hernández *et al.* (2021) analizaron la anatomía y composición de la cubierta seminal en semillas de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb, así como la evaluación de la capacidad de germinación en relación con la estructura del integumento y la absorción de agua. Los resultados mostraron que el tratamiento de lijado fue el más efectivo. Se encontró un alto porcentaje de lignina en la cubierta seminal. Además, se identificaron varias capas celulares: cutícula, macroesclereidas, osteoesclereidas, parénquima (esponjoso, en empalizada, compacto), lo que sugiere que la estructura celular y la presencia de lignina son factores determinantes en la latencia física de las semillas de *E. cyclocarpum*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El deterioro ambiental de los ecosistemas terrestres y la pérdida de biodiversidad por el cambio de uso de suelo, sobreexplotación de los recursos naturales, entre otros factores inducen a la necesidad de formular e implementar estrategias y acciones de conservación que fomenten la protección y el manejo sustentable de las especies nativas en México. La conservación *in situ* sería lo ideal porque se conservan todas las especies que componen un ecosistema; sin embargo, las áreas naturales protegidas y corredores biológicos son insuficientes para esto. Por ello una de las formas de facilitar la conservación de *Ormosia macrocalyx* una especie clasificada en peligro de extinción, es la conservación *ex situ*, implicando una serie de actividades que buscan preservar los genes del germoplasma, lo cual es fundamental para evitar la erosión genética y asegurar que la especie siga cumpliendo su papel ecológico y económico.

JUSTIFICACIÓN

Ormosia macrocalyx Ducke es una especie que está protegida por la NOM-059 SEMARNAT-2010 bajo la categoría en peligro de extinción, ya que está sujeta a altas presiones como la pérdida de hábitat y la vulnerabilidad de sus poblaciones. Se han realizado algunos trabajos sobre su distribución ecogeográfica en México, germinación y crecimiento preliminar en condiciones de vivero. Sin embargo, tiene problemas de dispersión, dormancia física por su cubierta seminal dura y se desconoce su tolerancia a desecación lo que es esencial para su conservación y para los programas de propagación que pudieran utilizarse para fines de restauración.

OBJETIVOS

General:

Analizar las características morfo-anatómicas de *O. macrocalyx* y el efecto de diferentes condiciones de almacenamiento sobre su viabilidad y crecimiento en condiciones de invernadero.

Específicos:

- I. Relacionar la morfología y anatomía de la cubierta seminal con la viabilidad de las semillas.
- II. Identificar la presencia de metabolitos secundarios en los cotiledones de reserva mediante técnicas de tinción histoquímica.
- III. Analizar la viabilidad de las semillas en dos condiciones de almacenamiento (refrigeración y temperatura ambiente), tiempo de almacenamiento (0 y 8 meses) y su relación con semillas escarificadas y sin tratamiento pregerminativo.
- IV. Evaluar el crecimiento de las plantas durante ocho meses en condiciones de invernadero.

METODOLOGIA

Área de estudio

La colecta de los frutos se realizó en el estado de Tabasco, México, específicamente en dos localidades: Parque Tabasco “Dora María”, ($18^{\circ}0'29.84''\text{N}$, $92^{\circ}57'53.82''\text{O}$) municipio de Centro y en el poblado San Pedro, Balancán ($17^{\circ}46'60.00''\text{N}$, $91^{\circ}09'31.4''\text{O}$).

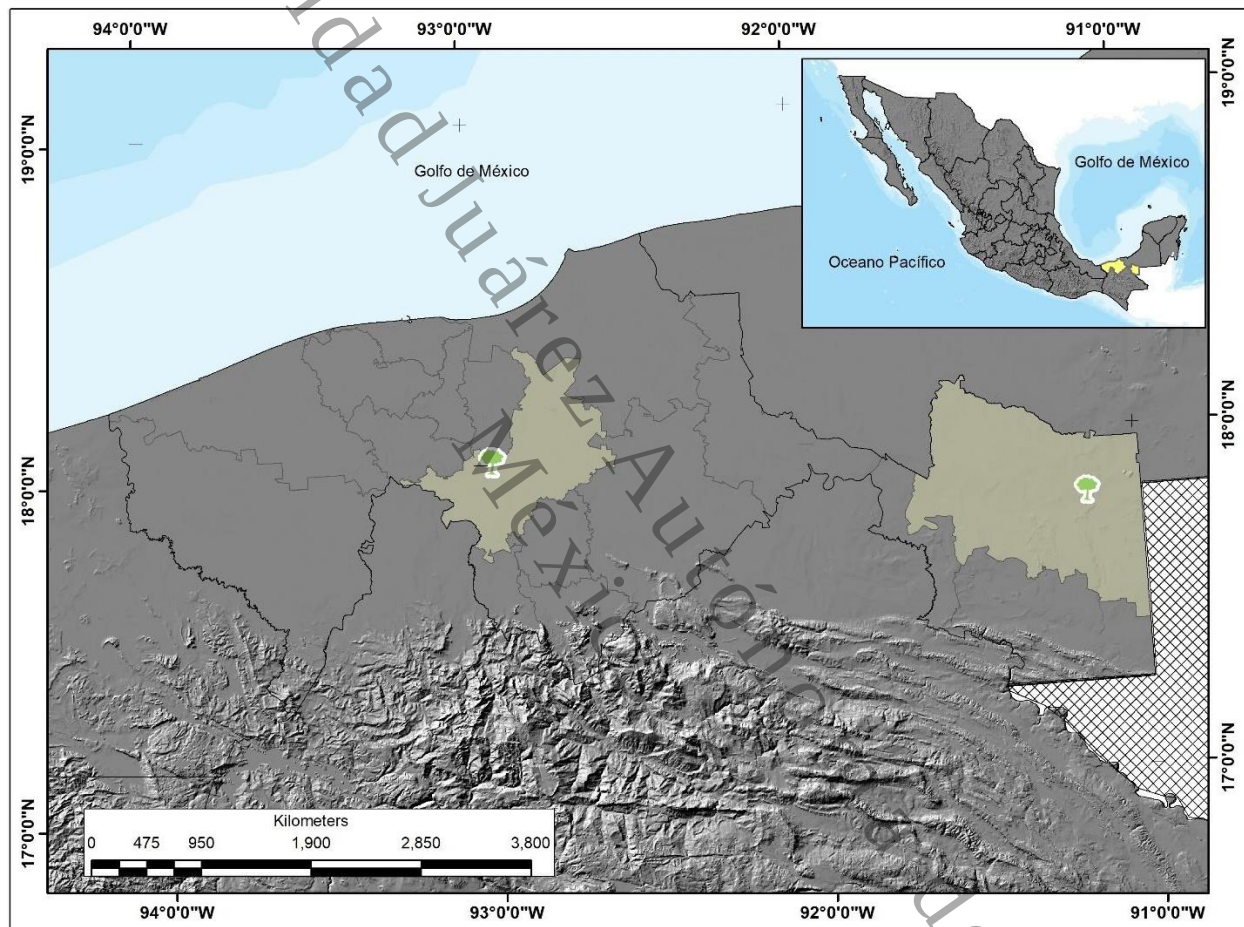


Figura 1. Mapa de localización y los puntos de colecta de semillas de *Ormosia macrocalyx* Ducke.

Morfología de frutos y semillas

Morfología de frutos

Se colectaron frutos de 6 árboles adultos (tres en cada sitio) de aproximadamente 30 m de altura. Los frutos se llevaron al Laboratorio de Fisiología Vegetal de la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, donde se procedió a separarlo por el número de semillas por fruto. Posteriormente, se obtuvieron semillas

libres de daños mecánicos o afectaciones por insectos, las cuales fueron almacenadas para análisis posteriores.

Se midió un total de 500 frutos, registrando su largo (LF), ancho (AF) y número de semillas por fruto (SF). Luego, de manera aleatoria se seleccionaron 500 semillas para evaluar sus dimensiones de largo (LS), ancho (AS) y grosor (GS), así como el contenido de humedad de la semilla y número de semillas por kilogramo (ISTA, 2018). Estas mediciones se realizaron utilizando un vernier digital (Stereon modelo HER-411).

Morfología de semillas

Además, las semillas se describieron morfológicamente considerando aspectos como el color de la cubierta seminal, el cual se registró utilizando la herramienta Virtual Munsell Color Wheel (2024). También se evaluaron la forma general, posición y forma del hilo, el rafe y la presencia de lente, así como la forma, posición del embrión, tipos cotiledones (reserva y foliáceos). Las observaciones se realizaron utilizando un microscopio estereoscópico equipado con cámara AxionCam ERc5s y el software de microscopía ZEN.

Análisis Estadístico

Para evaluar las relaciones entre las diferentes variables entre frutos y semillas, se realizó pruebas de normalidad (Shapiro-Wilk) se observó que los datos se transformaron y se utilizó una raíz cuadrada (chi cuadrado) y se aplicó un análisis de correlación canónica para identificar la combinación de las variables. Este análisis se evaluó con la prueba Lambda de Wilks, utilizando el software Statgraphics Centurion® versión 19.0. Los resultados se presentarán en una matriz mediante los coeficientes de correlación de Pearson (r).

ANATOMÍA E HISTOQUÍMICA DE LAS SEMILLAS

Anatomía de semillas

Una parte de las semillas colectadas se destinó al estudio anatómico con el propósito de identificar las características de la cubierta seminal, la zona hilar y los cotiledones de reserva. Para complementar este análisis, se realizaron tinciones histoquímicas orientadas a la identificación de metabolitos secundarios presentes en los cotiledones de reserva. Estas actividades se llevaron a cabo en el Laboratorio de Anatomía Vegetal del Instituto de Ecología A.C. (INECOL) y en el Laboratorio de Histología de Peces de la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBIOL), siguiendo los métodos histológicos descritos por (López-Curto *et al.*, 2005; Sandoval, 2005).

A continuación, se describen los procesos utilizados.

Cortes de las semillas

Se realizaron cortes transversales y longitudinales de la semilla para observar las características de la cubierta seminal, región hilar y los cotiledones de reserva. Los cortes se realizaron a mano alzada con una cuchilla trapezoidal de acero (32 mm x 18.95 mm x 61.5 mm de altura), hasta obtener un tamaño aproximado de 1 x 1 cm. Los fragmentos se remojaron en agua destilada durante 4 horas, posteriormente el agua se retiró y las porciones se pasaron a la bomba de vacío por 1 minuto, este procedimiento se utilizó para las muestras infiltradas en parafina y en poliestireno.

Infiltración en parafina y poliestireno

Los cortes se deshidrataron en una serie gradual de alcohol etílico al 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96% y 100% durante 10 minutos cada uno. Posteriormente se sometieron a otra serie de deshidratación con alcohol butílico terciario (TBA) al 30-80 % donde se mantuvieron por 10 minutos; en una última concentración (100%) por 40 minutos, pasado este tiempo se adicionó TBA absoluto y se colocaron en la estufa de secado (Thermo Scientific PR205075M) a 30 °C durante 1 hora. A continuación, se retiró el TBA absoluto, se añadió xileno absoluto y parafina en escamas cada media hora para la impregnación en los tejidos durante 8 horas. Las muestras parafinadas se colocaron dentro de moldes metálicos calientes impregnados con glicerina bajo una lámpara infrarroja para mantener la temperatura en los moldes. Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su solidificación total, se retiraron del molde y se refrigeraron.

Los bloques de parafina se montaron en una base de madera para facilitar su corte en el micrótopo de rotación (Leica SM2010R). Se realizaron cortes de 12-16 μm , que fueron recolectados con un pincel y colocados en un baño de flotación para que se extendieran. Se acomodó el mayor número posible de cortes en un portaobjetos, tal como lo describe Sandoval (2005).

En el caso del montaje en poliestireno, los fragmentos de semillas secos se pasaron por una serie de soluciones de etanol (30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96% y 100%) durante 5 minutos a temperatura ambiente (27°C). Las muestras se colocaron en el fondo de tubos plásticos cónicos de 5 mL con un aplicador de madera, a continuación, se llenaron con poliestireno los tubos con la resina, evitando la formación de burbujas. Estos se taparon y se dejaron en reposo durante 8 horas. Transcurrido este tiempo, se colocaron en un horno de secado a 60°C durante 48 horas para su solidificación. Una vez polimerizada el poliestireno, los bloques se extrajeron cortando

los tubos con la cuchilla de acero trapezoidal. Los bloques se adhirieron a una base de madera para mantener firme la muestra al momento del corte, los cuales se realizaron en el micrótomó de rotación a un grosor de 8-10 μm .

Desparafinación

Los tejidos cortados se colocaron portaobjetos y a su vez se en tarros de vidrio Koplin con 5 extensiones para la desparafinación, utilizando una solución de xileno-alcohol absoluto en proporción 1:1 durante 30 minutos. Seguidamente, se rehidrataron en una serie de soluciones de etanol (100%, 96%, 90%, 80%, 70%, 50% y 30%) durante 10 minutos cada una, se realizaron dos lavados con agua destilada. Por último, se aplicaron diferentes tinciones con safranina y toluidina, además una histoquímica con yoduro de potasio (Lugol).

Tinción con safranina "O"

Los portaobjetos con los cortes fijados se sumergieron en una solución de safranina al 0.05% durante 30 minutos. Posteriormente, se enjuagaron con agua destilada y se procedió a deshidratarlos en una serie de soluciones de etanol (30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96% y 100%) durante 5 minutos cada uno. Luego, se aplicó xileno-alcohol absoluto durante 8 minutos. Finalmente, los tejidos se montaron con resina sintética y se les colocó el cubreobjetos, dejándolos secar por 24 horas.

Tinción con azul de toluidina

Los portaobjetos con tejidos en poliestireno se colocaron en una plancha caliente para que se extendieran y se fijaran por 10 segundos (López-Curto *et al.*, 2005). Posteriormente, se les agregó unas gotas de azul de toluidina al 0.1% durante 1 minuto. Después, se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar bajo una lámpara de luz infrarroja durante 10 minutos. Finalmente, se montaron en resina sintética y se les colocó el cubreobjetos, dejándolos secar por 24 horas.

Tinción Histoquímica

Almidón

Al tejido previamente parafinado, desparafinado, deshidratado y en portaobjetos, se le aplicó Lugol durante 5 minutos. Luego, se retiró el exceso y se le colocó cubreobjetos. Las observaciones y registro de imágenes fotográficas se realizaron en Microscopio óptico binocular (Leica DM750M) y Microscopio de luz polarizada (Olympus BX50).

Alcaloides

Para la identificar alcaloides, se utilizaron cortes frescos de cotiledones en fresco de 10 μm de espesor, los cuales se montaron sobre portaobjetos y se les colocó con una gota de solución de Wagner durante 5 minutos. Posteriormente, se cubrieron con un cubreobjetos y se examinaron al microscopio. La presencia de lípidos se reconoció por una coloración marrón.

Celulosa

Para este metabolito se realizaron cortes transversales de cotiledones de muestra frescas con un grosor de 10 μm utilizando un microtomo Thermo SCIENTIFIC NM 325, los cuales se colocaron sobre portaobjetos. Se le aplicaron varias gotas Cloro Yoduro de Zinc, por 2 a 4 minutos para su tinción. Finalmente, las muestras se montaron con glicerina al 50%, se cubrieron con cubreobjetos y se observaron en microscopio para su registro fotográfico. Su presencia positiva se observará de azul a violeta.

Lípidos

Los cortes transversales de cotiledones frescos, con un grosor de 10 μm ., se colocaron sobre portaobjetos y se tiñeron con una gota de Sudán IV durante 5 minutos. Luego, las muestras se montaron con glicerina al 50%, se cubrieron con cubreobjetos y se examinaron al microscopio. La presencia de lípidos se tiñe de rojo.

Proteínas

Los cortes del material fresco con un grosor de 10 μm , se colocaron sobre portaobjetos y se tiñeron con una gota de eosina acuosa durante 5 minutos; Después de teñido, se enjuagaron con agua destilada, se cubrieron con cubreobjetos y se examinaron al microscopio. La presencia de proteínas se identificó por una coloración rosa.

Taninos condensados

Para la detección de taninos, los cortes transversales de cotiledones de reserva fresco deshidrataron fijados en etanol al 100% 10 μm . de grosor fueron previamente durante 5 minutos. Posteriormente, las secciones se colocaron sobre portaobjetos y se les aplicó una gota de vainillina seguida de una gota de ácido clorhídrico 6M. Después 2 minutos, se cubrieron con cubreobjetos y se observaron al microscopio óptico. La presencia de taninos se evidenció mediante una coloración que varió de rojo a café.

Los tejidos fueron observados bajo microscopía óptica con objetivo 10x, utilizando un microscopio equipado con cámara AxioCam ERc5s y el software de microscopía ZEN."

PRUEBAS FÍSICAS Y FISIOLÓGICAS

Con el propósito de evaluar la calidad de las semillas en el presente estudio, se siguieron los procedimientos estandarizados para el análisis de semillas señalados por la International Seed Testing Association (ISTA 2018). Las pruebas físicas consistieron en obtener el número de semillas por kilogramo y contenido de humedad. Además, se realizaron pruebas fisiológicas: germinación y prueba topográfica de tetrazolio.

Pruebas Físicas

Número de Semillas por Kilogramo

Se tomaron 8 muestras de 100 semillas y se pesó cada una, para luego estimar el número de semillas por kilogramo con la Ecuación 1. La tolerancia para este método está determinada por el coeficiente de variabilidad menor o igual a 4% es aceptado.

$$PS = \frac{NSM}{PM} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Dónde:

PS= Peso de las semillas

NSM= Número de semillas de la muestra

PM= Peso de la muestra

Contenido de humedad de las semillas (CH)

Para determinar el contenido de humedad de las semillas de *O. macrocalyx* se evaluó el (CH) mediante la diferencia entre el peso húmedo y el peso seco de la muestra de semillas almacenadas. La prueba se realizó utilizando dos submuestras de 5 g cada una, que se colocaron en crisoles de acero de 50 mL de capacidad. Se aplicó el método de secado a temperatura constante de $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en una estufa Fisher Scientific durante 17 ± 1 horas (ISTA 2018). El CH se obtiene con la Ecuación 2.

$$CH = \frac{PHM - PSM}{PHM} \times 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

CH= Contenido de humedad (%)

PHM= Peso de la submuestra en húmedo

PSM= Peso de la submuestra en seco

El contenido de humedad de las semillas se realizó en cada evaluación de los tratamientos de almacenamiento: semillas recién cosechadas (T0) a los tres (T3) y ocho (T8) con

el objetivo de determinar las fluctuaciones de la humedad de la semilla almacenadas durante el tiempo de conservación.

Prueba fisiológica

Consistió en evaluar la viabilidad de las semillas en dos condiciones de almacenamiento y bajo dos tratamientos pregerminativos. Las semillas se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio (5%) por 3 minutos. se colocaron en una bandeja con papel Servitoalla para su presecado a la sombra durante 5 días.

Las semillas recién cosechadas se almacenaron en frascos herméticos de vidrio de 500 mL en dos condiciones de almacenamiento (refrigeración a 4°C, TR) y temperatura ambiente (alrededor de 26 °C, TA) en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la DACBIOL. El tiempo de almacenamiento total fué de 8 meses. En cada frasco se almacenaron 200 semillas con un contenido de humedad del 8%. Se evaluó la germinación de semillas recién cosechadas (T0), a los tres meses (T3) y a los 8 meses (T8).

Germinación

Para revisar la viabilidad de las semillas con respecto a los tratamientos TR y TA versus el tiempo, se sembraron 4 repeticiones de 25 semillas por cada tratamiento de almacenamiento (T0, T3 y T8). Las semillas se les aplicó una escarificación mecánica con lija como tratamiento pregerminativo (Te) y a otras se les sembró sin tratamiento pregerminativo (Tse). Antes de la siembra, todas las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5%, en cada tiempo de evaluación, un tratamiento consistirá en semillas escarificadas (Te) y otras semillas sin escarificar (Tse).

La escarificación se realizó en la región contraria al hilum, durante 5 segundos utilizando lija de madera de grano mediano (100-120) según recomendación de Vargas-Simón *et al* (2017). El sustrato que se utilizó fue una mezcla de Peat moss (60 %), Vermiculita G2 8.5 (20 %), Agrolita hidro (20 %) y 250 gr de Multicote 8 (18-06-12 de N-P-K), recomendado por SEMARNAT (2014). Las semillas se sembraron alternadamente en las cavidades en charolas forestales de polipropileno de 54 cavidades de 220 cm³ de capacidad. Las charolas se colocaron en el invernadero de 4x12 m con paredes de malla antiáfidos y techo plástico de invernadero color verde calibre 720. Para la evaluación, se llevó a cabo el conteo diariamente hasta 112 días. Las plántulas germinadas del tratamiento de semillas escarificadas se evaluaron en tres periodos de tiempo (T0, T3 y T8) de almacenamiento (8 meses) para revisar su desarrollo y crecimiento durante 12 meses después de la germinación.

El riego fue *ad libitum*, y se registraron las temperaturas máximas y mínimas con un termómetro máxima y mínimas, humedad relativa termohigrómetro y radiación fotosintéticamente activa (PAR) con un cuantometro de luz diaria y fotoperiodo marca Apogee *INSTRUMENTS* a las 9:00 am. esta misma actividad se realizaron en las evaluaciones siguiente.

Se evaluó el crecimiento de las plántulas considerando: 1) determinar las plántulas normales (PN) cotiledones de reserva y cotiledones foliáceos, anormales (PA) y las semillas sin germinar (SSG); 2) Inicio de germinación, porcentaje de germinación y tasa de germinación; 3) altura de tallo (midiendo desde el cuello hasta el meristemo apical), diámetro basal, emisión de cotiledones foliáceos (días), protofilos (días), filotaxia y área foliar mediante el registro fotográfico imageJ®. Los registros métricos se realizarán con un calibrador vernier digital y flexómetro.

Al finalizar las pruebas, se contabilizaron las semillas que no lograron germinar y se realizaron observaciones para identificar las posibles causas de la falta de germinación, como daños causados por insectos, hongos o daños físicos (ISTA, 2018).

Viabilidad (Prueba topográfica de tetrazolio)

Para determinar la viabilidad de las semillas, se utilizó una muestra de 100 semillas y se expuso el embrión a la acción directa del tetrazolio. A cada semilla se le realizó un corte en la cubierta seminal con un bisturí y se incluyó en la solución tetrazolio (Cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio) a una concentración del 1.0 % durante 18 horas en oscuridad y a una temperatura de 30 °C. Después de la inmersión, se realizó un lavado con agua destilada para remover el exceso del colorante. Para determinar la viabilidad, se tomó como parámetro la intensidad de la coloración roja en el embrión. Este proceso permitió determinar la viabilidad de las semillas y evaluar su capacidad de germinación (ISTA, 2018).

Análisis Estadístico

Se evaluó el vigor de las semillas con respecto a dos tratamientos a los tres (T3) y seis (T6) y cuatro repeticiones de 25 semillas cada una. Cada tratamiento constó de 100 semillas. Se utilizó un diseño completamente aleatorio en arreglo factorial (2x2x2). Tiempo de almacenamiento, tratamientos pregerminativos y ambiente de almacenamiento. Después de esto, se verificó la normalidad y homogeneidad de los datos mediante un análisis de residuos. Si los datos cumplieron con los postulados de la estadística paramétrica, se realizó una ANOVA multifactorial para analizarlos. Los resultados se expresarán en valores de medias ($\pm$ DE). En caso contrario, se utilizará una prueba de ANOVA multifactorial no paramétrica y los resultados

se expresarán en medianas ($\pm$ RI) utilizando el software Statgraphics Centurion® versión 19.0. para los análisis estadísticos

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS

Maestría en Ciencias Ambientales

	2023					2024										2025										
	SEMESTRE 1					SEMESTRE 2					SEMESTRE 3					SEMESTRE 4										
ACTIVIDADES	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	JL	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	JL	A	
1. ÁREA ACADÉMICA Y TUTORÍAS																										
Materias básicas	■	■	■	■	■	■																	■			
Materias especializadas							■	■	■	■	■															
Presentación (Tutorial I, II, III)					◆					◆						◆			◆							
2. FASE EXPERIMENTAL (<i>O. macrocalyx</i> Ducke)																										
Recolección de semillas e inicio de experimento											◆															
Pruebas físicas: N° de semillas/kg y contenido de humedad (CH)						■					■		■			■			■							
Pruebas fisiológicas: Germinación y viabilidad (Tetrazolio)						■					■		■			■			■							
Morfología y Anatomía de la semilla <i>O. macrocalyx</i>						■						■						■		■						
3. ESTANCIAS Y PROCESAMIENTO DE DATOS																										
Estancia Externa													◆						◆							
Procesamiento de datos obtenidos							■												■	■	■	■				
Análisis e Interpretación de datos																◆	◆									
4. REDACCIÓN Y TITULACIÓN																										
Edición y formato de Tesis																				◆						
Redacción de artículo																			◆	◆						
Envío del artículo a revista especializada																				◆						
Presentación del examen de Grado																									◆	

REFERENCIAS CITADAS

- Ceballos-Freire, Á. J., & López-Ríos, J. A. (2008). Conservación de la calidad de semillas forestales nativas en almacenamiento. *Cenicafé*, 58(4), 265-292.
- Cernusak, L. A., Winter, K., Martínez, C., Correa, E., Aranda, J., García, M., et al. (2011). Responses of legume versus nonlegume tropical tree seedlings to elevated CO₂ concentration. *Plant Physiology*, 157(1), 372–385. <https://doi.org/10.1104/pp.111.180586>
- Fernandes, H. E., Neto, E. L. D. S., Cabral, K. P., Marques, R. B., Siebeneichler, S. C., & Erasmo, E. A. L. (2018). Quebra de dormencia em *Acacia mangium* WILLD e *Ormosia arborea* (VELL.) HARMS. *Revista Ciência Agrícola*, 16(2), 73-79. <https://doi.org/10.28998/rca.v16i2.4103>
- Foster, M. S., & Delay, L. S. (1998). Dispersal of mimetic seeds of three species of *Ormosia* (Leguminosae). *Journal of Tropical Ecology*, 14(3), 389–411. <https://doi.org/10.1017/S0266467498000303>
- Foster, M. S. (2008). Potential effects of arboreal and terrestrial avian dispersers on seed dormancy, seed germination and seedling establishment in *Ormosia* (Papilionoideae) species in Peru. *Journal of Tropical Ecology*, 24(6), 619-627. <https://doi.org/10.1017/S0266467408005439>
- González-Valdivia, Noel, Ochoa-Gaona, Susana, Ferguson, Bruce G., Pozo, Carmen, Kampichler, Christian, & Pérez-Hernández, Isidro. (2012). Análisis comparativo de la estructura, diversidad y composición de comunidades arbóreas de un paisaje agropecuario en Tabasco, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 83(1), 83-99. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S187034532012000100011&lng=es&tlng=es.
- Gurski, C., Dias, E. S., & Mattos, E. A. D. (2012). Caracteres das sementes, plântulas e plantas jovens de *Ormosia arborea* (Vell.) Harms E *Ormosia fastigiata* Tul. (Leg-papilionoideae). *Revista Árvore*, 36(1), 37-48. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622012000100005>
- Hay, F. R., Davies, R. M., Dickie, J. B., Merritt, D. J., & Wolkis, D. M. (2022). More on seed longevity phenotyping. *Seed Science Research*, 32(3), 144-149. <https://doi.org/10.1017/S0960258522000034>

- Hernández Epigmenio, S., Rodríguez-Trejo, D. A., Granados Sánchez, D., & Cadena Meneses, J. A. (2021). Latencia física, morfoanatomía y análisis proximal de la semilla de *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. *Entreciencias: Diálogos en la Sociedad del Conocimiento*, 9(23). <https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2021.23.79675>
- Hernández-Sánchez, G., Obrador-Olán, J. J., Juárez-López, J. F., Arreola-Enríquez, J., García-López, E., & Castillo-Arias, E. de los Á. (2021). Plant quality index of caracolillo (*Ormosia macrocalyx* Ducke), in nursery stage with controlled release fertilizers. *Agro Productividad*, 14(10), 147–155. <https://doi.org/10.32854/agrop.v14i10.1862>
- Internacional Seed Testing Association. (2018). International rules for seed testing: Introduction to the ISTA rules, chapters 1–19 (2018 ed.). International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- Linington, S. H., & Pritchard, H. W. (2001). Gene banks. En S. A. Levin (Ed.), *Encyclopedia of biodiversity* (Vol. 3, pp. 165–181). Academic Press.
- López-Curto, Ma. L., Márquez-Guzmán, J., & Murguía-Sánchez, G. (2005). Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas: Libro de laboratorio (2da ed.). Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias.
- Menges, E. S., Guerrant, E. O., & Hamzé, S. (2004). Effects of seed collection on the extinction risk of perennial plants. *Ex situ plant conservation: Supporting species survival in the wild*, 305-324.
- Ochoa-Gaona, S., Villanueva-López, G., Hernández-Margalli, I., & Pérez-Hernández, I. (2008). *Manual de semillas de especies forestales de las montañas de Tenosique, Tabasco*. El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México.
- Pérez-Hernández, I., Ochoa-Gaona, S., Vargas-Simón, G., Mendoza-Carranza, M., & González-Valdivia, N. A. (2011). Germinación y supervivencia de seis especies nativas de un bosque tropical de Tabasco, México. *Madera y Bosques*, 17(1), 71-91. <https://doi.org/10.21829/myb.2011.1711155>.
- Ríos García, C. A., Orantes García, C., Moreno Moreno, R. A., & Farrera Sarmiento, O. (2018). Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y germinación de dos especies arbóreas tropicales. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 5(13), 103-109. <https://doi.org/10.19136/era.a5n13.1161>

- Sandoval, Z. E. (2005). Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2010, 30 de diciembre). *Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental—Especies nativas de México de flora y fauna silvestres—Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación.*
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales 2014. Manual para la producción de planta forestal en vivero. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Ciudad de México, México.
- Silva, A. L. D., Dias, D. C. F. D. S., Lima, L. B. D., & Morais, G. A. D. (2014). Methods for overcoming seed dormancy in *Ormosia arborea* seeds, characterization and harvest time. *Journal of Seed Science*, 36(3), 318-325. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v36n31012>
- Silva, B. M. D. S. E., Silva, C. D. O. E., Mõro, F. V., & Vieira, R. D. (2015). Morphoanatomy of fruit, seed and seedling of *Ormosia paraensis* Ducke. *Journal of Seed Science*, 37(4), 192-198. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v37n4151436>
- Silva, B. M. D. S. E., Silva, C. D. O. E., Mõro, F. V., & Vieira, R. D. (2018). Seed anatomy and water uptake and their relation to seed dormancy of *Ormosia paraensis* Ducke. *Journal of Seed Science*, 40(3), 237-245. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n3177599>
- Vargas-Simón, G., Martínez-Zurimendi, P., Domínguez-Domínguez, M., & Pire, R. (2017). Seed germination in *Ormosia macrocalyx*, an endangered tropical forest tree. *Botanical Sciences*, 95(2), 329-341. <https://doi.org/10.17129/botsci.823>
- Vargas-Simón, G., Núñez-Piedra, M. L., Domínguez-Domínguez, M., Alegría-González, W. R., & Martínez-Zurimendi, P. (2018). Distribución de *Ormosia macrocalyx* en México y delimitación de sus áreas de ocupación. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89(4), 1201–1211. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.4.2412>
- Werth, A. Virtual Munsell Color Wheel. Andrew Werth. Recuperado 17 de junio de 2024. <https://www.andrewwerth.com/aboutmunsel> (accessed on 17 June 2024).

CAPÍTULO II

Fruit Morphology and Seed Anatomy of *Ormosia macrocalyx* Ducke



Portada Interior

Nombre del artículo: Fruit Morphology and Seed Anatomy of *Ormosia macrocalyx* Ducke

Autores: Jackelin Ruiz-Vidal ¹ 232g25009@alumno.ujat.mx

Georgina Vargas-Simón ^{1*} georgina.vargas@ujat.mx

Guillermo Angeles ² guillermo.angeles@inecol.mx

José Ángel Gaspar-Génico ¹ genico220@gmail.com

Lilia María Gama Campillo ¹ lilia.gama@ujat.mx

Nelly del Carmen Jiménez-Pérez ¹ nelly.jimenez@ujat.mx

Pablo Martínez-Zurimendi ^{3,4} pmartinez@ecosur.mx

Jesús Ascencio-Rivera ¹ manuel.ascencio@ujat.mx

Institución de adscripción de cada autor:

¹ División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Km 0.5, Carretera Villahermosa-Cárdenas, Villahermosa 86039, Tabasco, Mexico.

² Departamento de Ecología Funcional, Instituto de Ecología, Asociación Civil. Carretera Antigua a Coatepec 351, Xalapa 91073, Veracruz, Mexico.

³ El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Villahermosa-Reforma Km 15.5, Ranchería Guineo, II Sección, Villahermosa 86280, Tabasco, Mexico.

⁴ Instituto de Gestión Forestal Sostenible (IUFOR), Universidad de Valladolid-INIA, Av. Madrid 44, 34004 Palencia, Spain.

Abstract

Ormosia macrocalyx grows in tropical forests and is endangered in Mexico. The species has ecological and economic importance. To evaluate the relationship between fruit length and seed number, Pearson correlation and principal component analysis were used. A linear mixed-effects model was also applied. Pearson correlation, principal components analysis (PCA) and a Linear Mixed-Effects Model (LMM) were performed on an exploratory basis. In addition, seed coat and cotyledon anatomy were examined, and histochemical tests for secondary metabolites were carried out. Two high correlations and two components were obtained from the PCA, and the LMM showed that fruit length influenced the number of seeds per fruit. In the seed coats, differentiated layers of macrosclereids and osteosclereids were identified, where the hilar region presented macrosclereids and a pyriform bar of tracheids, the reserved cotyledons showed double-walled cells and simple plasmodesmata, the

histochemical analyses demonstrated the presence of cellulose, condensed tannins, lipids, alkaloids, and proteins, and no starch was present. This study provides the first description of seed coat and cotyledon anatomy in *O. macrocalyx*, as well as the first report of secondary metabolites in storage cotyledons. These results could be useful for further studies of this species.

Keywords: correlation; histochemistry; plasmodesmata; reserve cotyledons; secondary metabolites; seed coat; tracheids

Enviado a: *Seeds*.

Nombre de la editorial: MDPI AG, Basilea, Suiza.

Fecha de publicación: 30 de abril de 20

Fruit Morphology and Seed Anatomy of *Ormosia macrocalyx* Ducke

Jackelin Ruiz-Vidal ¹, Georgina Vargas-Simón ^{1,*}, Guillermo Angeles ², José Ángel Gaspar-Génico

Lilia María Gama Campillo ¹, Nelly del Carmen Jiménez-Pérez ¹, Pablo Martínez-Zurimendi ^{3,4}
and Jesús Ascencio-Rivera ¹

- ¹ Posgrado en Ciencias Ambientales, División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Km 0.5, Carretera Villahermosa-Cárdenas, Villahermosa 86039, Tabasco, Mexico; 232g25009@alumno.ujat.mx (J.R.-V.); genico220@gmail.com (J.Á.G.-G.); lilia.gama@ujat.mx (L.M.G.C.); nelly.jimenez@ujat.mx (N.d.C.J.-P.); manuel.ascencio@ujat.mx (J.A.-R.)
- ² Departamento de Ecología Funcional, Instituto de Ecología, Asociación Civil. Carretera Antigua a Coatepec 351, Xalapa 91073, Veracruz, Mexico; guillermo.angeles@inecol.mx
- ³ El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Villahermosa-Reforma Km 15.5, Ranchería Guineo, II Sección, Villahermosa 86280, Tabasco, Mexico; pmartinez@ecosur.mx
- ⁴ Instituto de Gestión Forestal Sostenible (IUFOR), Universidad de Valladolid-INIA, Av. Madrid 44, 34004 Palencia, Spain
- * Correspondence: georgina.vargas@ujat.mx

Abstract

Ormosia macrocalyx grows in tropical forests and is endangered in Mexico. The species has ecological and economic importance. To evaluate the relationship between fruit length and seed number, Pearson correlation and principal component analysis were used. A linear mixed-effects model was also applied. Pearson correlation, principal components analysis (PCA) and a Linear Mixed-Effects Model (LMM) were performed on an exploratory basis. In addition, seed coat and cotyledon anatomy were examined, and histochemical tests for secondary metabolites were carried out. Two high correlations and two components were obtained from the PCA, and the LMM showed that fruit length influenced the number of seeds per fruit. In the seed coats, differentiated layers of macrosclereids and osteosclereids were identified, where the hilar region presented macrosclereids and a pyriform bar of tracheids, the reserved cotyledons showed double-walled cells and simple plasmodesmata, the histochemical analyses demonstrated the presence of cellulose,

Academic Editor: José Antonio Hernández Cortés

Received: 4 February 2026

Revised: 27 April 2026

Accepted: 29 April 2026

Published: 30 April 2026

Copyright: © 2026 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the [Creative Commons Attribution \(CC BY\)](#) license.

condensed tannins, lipids, alkaloids, and proteins, and no starch was present. This study provides the first description of seed coat and cotyledon anatomy in *O. macrocalyx*, as well as the first report of secondary metabolites in storage cotyledons. These results could be useful for further studies of this species

Keywords: correlation; histochemistry; plasmodesmata; reserve cotyledons; secondary metabolites; seed coat; tracheids

1. Introduction

The genus *Ormosia* (Fabaceae: Papilionoideae, tribe Sophoreae) includes approximately 130 species distributed in the tropical regions of America, Asia, Australia, and China [1]. This genus is characterized by species that produce woody fruits and hard-shelled, brightly colored seeds with an important ecological role in zoochoric dispersal [2]. They are also economically important due to the commercial and cultural value of their wood. The seeds are used for handcrafted jewelry, and they contain secondary metabolites with medicinal potential [3]. *Ormosia macrocalyx* Ducke is a tree species whose distribution is restricted to the zone of the tropical high evergreen and sub-evergreen forests that extend from southeastern Mexico to South America. The species is listed as “Least Concern” on the IUCN Red List [4].

In Mexico, the distribution and conservation status of the species were evaluated, with its largest populations identified in remnants of tropical humid forest and in agroecosystems. The areas of greatest occupancy were determined, and it was concluded that the species could be considered vulnerable as a result of its specialized and fragmented habitat [5]. The species is listed in the Mexican standard NOM-059-SEMARNAT-2010 as endangered [6].

Low species population results in the absence of or reduction in interactions with its natural dispersers. This is relevant because the fauna ingest the seeds, which alters the integrity of the seed coat and facilitates imbibition, thereby breaking physical dormancy [7]. The absence of these mechanisms in fragmented populations or those with low disperser activity could contribute to the impermeability of *O.*

macrocalyx seeds, which limits their germination under natural conditions [8]. The seeds of this species have been shown to exhibit physical dormancy, possibly due to the presence of sclerenchyma tissue in the seed coat, particularly macrosclereids and osteosclereids, as described in *Ormosia paraensis* Ducke, *Ormosia hosiei* Hemsl. and Wils., and *Ormosia henryi* Prain [2,3,9].

Morphological and anatomical characterization of fruits and seeds is essential for understanding the reproductive biology and germination behavior of forest species, as these organs exhibit most of the structural features associated with embryo protection, dispersal, and germination [10]. In the family Fabaceae, legume-type fruits and seeds exhibit significant variability in shape, size, and tissue organization. Sclerenchymatous layers in the seed coat regulate water permeability, influencing vigor and the germination process. Various morphoanatomical studies of the genus *Ormosia* have described woody, dehiscent fruits and bitegumentous ovules, exalbuminous seeds with tissues directly related to physical dormancy [2,11]. Additionally, the importance of anatomical analysis for the management and conservation of forest seeds has been highlighted [3].

Despite being an endangered species in Mexico, studies on the morphoanatomy of *O. macrocalyx* fruits and seeds are scarce. The present research describes the morphology of the fruits and seeds, as well as the anatomical structure of the seed coat, and the presence or absence of secondary metabolites in the storage cotyledons. This information could serve as a basis for examining subsequent physiological processes, such as imbibition, germination, and dormancy.

2. Materials and Methods

2.1. *Ormosia macrocalyx* Fruit and Seed Morphology

Since the species has a small population in the study area, two groups of individuals (each comprising three adult trees) were identified in two different locations in the state of Tabasco. A total of

500 fruits with seeds were collected from the six trees, with samples taken from these trees.

Fruits were collected from three adult trees during the first week of June 2024 in the municipality of Centro in Tabasco, Mexico ($18^{\circ}00'29.84''$ N, $92^{\circ}57'53.82''$ W), and from three trees in a living fence in San Pedro in the municipality of Balancán in Tabasco, Mexico ($17^{\circ}46'59.99''$ N, $91^{\circ}09'31.4''$ W) (Figure 1). The former site is in an urban area with an elevation of 10 m, a warm humid climate (Am), a mean annual temperature of 27.3°C , and an annual total precipitation of 2000 mm. The latter site has an elevation of 30 m and soil classified as a Chromic Cambisol by Palma López [12]. It has a warm, subhumid climate with summer rains (Aw), a mean annual temperature of 22°C , and annual precipitation between 1500 and 2000 mm. The climatic data were defined according to the Köppen classification, modified by García [13].

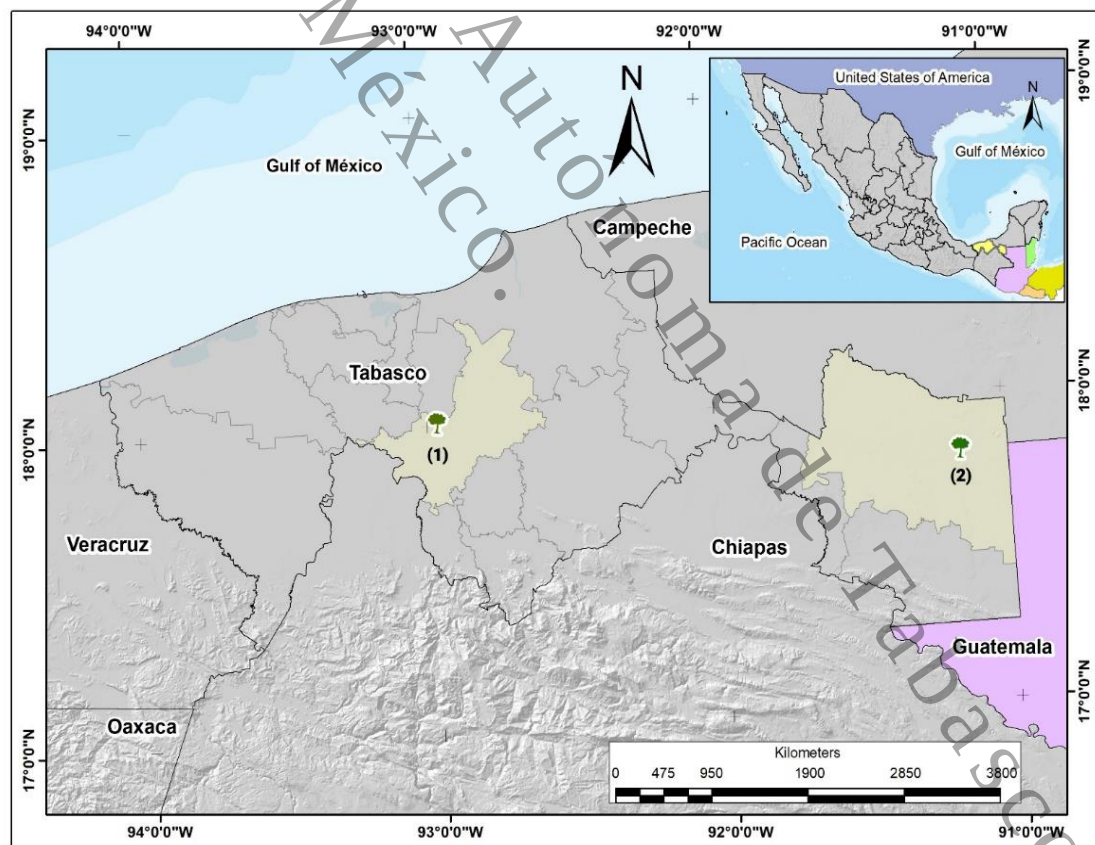


Figure 1. Location of the collection sites in the municipalities: (1) Centro and (2) Balancán in Tabasco, Mexico. Prepared by Manuel L. Núñez-Piedra.

A total of 250 fruits were collected from each site and transported to the Plant Physiology Laboratory of the Academic Division of Biological Sciences at Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Morphological data were recorded from each tree at the sites. Of the total number of fruits, 786 seeds were obtained, and 500 seeds were randomly selected for analysis.

The following variables were recorded for each fruit: color [14], length, width, and thickness, using a digital Vernier caliper (model HER-411, Electrónica Steren S.A. de C.V. Mexico City, Mexico)). The number of seeds per fruit was also recorded. The length, width, and thickness of 500 harvested seeds were measured. Their shape, size, and seed coat color were identified using the Munsell system [15]. The moisture content and mass of 100 seeds were determined according to the International Seed Testing Association rules [16].

As part of the seed characterization, the positions of the hilum, raphe, antiraphe, and lens were identified. Additionally, the hilum shape was described following the criteria proposed by Martin [17] and Niembro [18]. Also, the hilum length and width were measured in 100 seeds using an Olympus SZX7 stereoscopic microscope (Oberkochen, Germany) and Zen software 3.0. Photographic recording was conducted with an AxioCam ERc5s camera.

2.2. Statistical Analysis

Descriptive statistical parameters were calculated, including the mean, standard error, and coefficient of variation: fruit length, width, and thickness; number of seeds per fruit; seed length; seed width; and seed thickness. Additionally, total mass, seed moisture content, and the number of seeds per kilogram were calculated.

2.2.1. Pearson Correlation

A Pearson's correlation analysis was performed to assess the linear relationship between the variables FL, FW, NSF, SL, SW, and ST. This procedure yielded a matrix of bivariate correlations, and the pairwise deletion method was used to handle missing values. Two-tailed tests with significance levels of 0.01 and 0.05 were used to identify statistically significant associations between the analyzed

morphometric variables. Pearson's correlation analysis was conducted to demonstrate the relationship among the variables and obtain a bivariate correlation matrix.

2.2.2. Principal Component Analysis (PCA)

Principal component analysis (PCA) was conducted strictly for exploratory purposes [19], aiming to identify general patterns of covariation among fruit and seed morphometric traits. The PCA was performed on the correlation matrix of seven morphometric traits: FL, FW, NSF, SL, SW, ST, and SM. All variables were standardized (z-score) beforehand, and missing values were listwise deleted ($N = 497$). Prior to analysis, we assessed the sample's suitability using the Kaiser–Meyer–Olkin (KMO) measure, which yielded a value of 0.491. This value indicated the dataset's limited suitability for formal factor reduction. Thus, PCA was not used for confirmatory inferences but solely as a descriptive tool.

Bartlett's test of sphericity was significant ($\chi^2 = 759.59$; $df = 21$; $p < 0.001$), showing the existence of sufficient correlations to justify a preliminary exploration of the multivariate pattern and rule out the identity matrix. PCA was performed on the standardized correlation matrix, and Varimax rotation was used to identify general groupings among the variables. Finally, the rotated components were represented graphically.

2.2.3. Linear Mixed-Effects Model (LMM)

Because the fruits were collected from six trees, the observations exhibit within-group dependence, which must be considered to obtain valid inferences. To model this hierarchical structure, a mixed linear model (LMM) [20] was employed in which the tree (TN) was included as a random effect, and each of the 500 fruits collected was treated as a sampling unit nested within that effect. Based on Pearson's correlation and principal component analysis (PCA), the relationship between fruit length (FL) and the number of seeds per fruit (NSF) was selected, as it explained the greatest variation in the phenomenon.

The following model was fitted for this purpose:

$$NSF_{ij} = \beta_0 + \beta_1 FL_{ij} + \mu_i + \varepsilon_{ij}$$

where

NSF_{ij} : is the number of seeds in fruit j of tree i ,

FL_{ij} : corresponds to the length of the fruit,

β_0 and β_1 : represent the intercept and slope of the fixed effect,

$\mu_i \sim N(0, \sigma^2_{TN})$: is the random intercept associated with each tree,

$\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$: is the residual error.

Model fitting was conducted using restricted maximum likelihood (REML) with JASP software (version 0.18), a linear mixed model module. Prior to analysis, variables were inspected for outliers and unusual patterns. Given the limited variation observed in the NSF variable, results should be interpreted with caution. The model estimates included fixed effects and variance components for the random effect and residual.

The statistical analysis was performed using IBM® SPSS® Statistics v26 and JASP v0.18.

2.3. Seed Anatomy

2.3.1. Histochemical Preparation

Ten seeds were used for transverse sections and ten for longitudinal sections to obtain samples of the seed coat and hilum region. Twenty freehand cuts were made on each seed using a trapezoidal steel blade (32 mm × 18.95 mm × 61.5 mm in height) until fragments measuring approximately 1 cm by 1 cm were obtained. The material was fixed in FAA (40% formaldehyde, 96% ethanol, distilled water, and glacial acetic acid at a ratio of 10:50:35:5). Permanent preparations were produced using the histological dehydration protocols described by López *et al.* [21] and Sandoval [22]. Histochemical staining procedures were applied to enhance tissue differentiation.

2.3.2. Embedding and Sectioning

Thirty seeds were embedded in paraffin of histological quality, after dehydration according to Ter-butyl alcohol, following the Johansen technique [23].

To obtain thinner sections (up to 6 microns thick), Polystyrene Monomer (Morgantown, PA, USA) was used to embed small seed segments, approximately 2 mm by side, following in accordance with the specifications set out in the Technical Data Sheets (Electron Microscopy Sciences) [24].

A rotary microtome (Leica RM2125 RTS, Deer Park, IL, USA) was used to obtain 12–16 μm thick transverse sections of paraffin-embedded samples, which were stained with a solution of Safranin O (1%; C.I. 75100) and Astra Blue (C.I. 48048), both prepared in 50% ethanol. The dyes were used in combination to visualize tissue organization in the seed coat Novikov *et al.* [25]. To analyze the hilar region, 4–6 μm thick sections were prepared from polystyrene embedded samples. These sections were stained with toluidine blue, mounted in synthetic resin, and examined under a microscope. Three fields per section of the seed coat were examined to measure the cuticle, sclerenchymatic tissue (macroscleireids and osteoscleireids), and parenchyma. Means and standard deviations were calculated.

2.4. Histochemical Tests of the Reserve Cotyledons

Histochemical tests were performed to identify various metabolic compounds, such as starch, cellulose, alkaloids, tannins, lipids, and proteins, in the reserve cotyledons of the seeds. Ten freshly obtained paraffin transverse sections per seed were tested for starch, after paraffin removal with xylenes and rehydrating the tissue with decreasing concentrations of ethanol solutions. After rinsing with tap water, concentrated Lugol's solution was applied. After removing Lugol's excess with tap water, a coverslip was applied and pictures were taken under bright field. The following reagents were used: Lugol's iodine solution for starch, chlorzinc iodide for cellulose, 10% vanillin for tannins, Sudan III for lipids, Wagner's reagent for alkaloids, and 1% aqueous eosin solution for proteins [22].

Lugol iodine test observations were carried out using a trinocular polarized light microscope (epi-illumination Motic BA310EpiPol, Kawloon Bay, Kawloon, Hong Kong) with a 40× objective. All tissues were examined at 10× and 40× magnification using an Olympus BX41 microscope (Oberkochen, Germany), equipped with an AxioCam ERc5s camera and ZEN microscopy software 3.0.

These tests used reagents acquired from Sigma-Aldrich® (Burlington, MA, USA), Química Meyer® (Tlahuac, Mexico City, Mexico), and Reactivos HYCEL® (Zapopan, Jalisco, Mexico).

3. Results

3.1. Fruit and Seed Morphology in *Ormosia macrocalyx*

The fruits were dehiscent and coriaceous. They were oblong-elongated and very dark brown (7.5YR 2.5/2) or brown-black (10YR 2/1), according to the Munsell® color system [14] (Figure 2a). The velvety consistency of the epidermis was due to the presence of fine white pubescence. Most fruits contained only one seed, though the number of seeds per fruit ranged from one to five (Figure 2b).



Figure 2. Fruit of *Ormosia macrocalyx*. (a) External view of ripe fruit, (b) internal view of the fruit and the quantity of seeds. a: apex, en: endocarp, ep: epicarp, es: stipe, fu: funiculus, p: pedicel, se: seed, ds: dorsal suture. The scale bar represents 2 cm

The seeds are deep red (7.5R 5/18) to dark red (7.5R 4/14) [15], rounded or ovoid in shape, with a smooth, coriaceous, very shiny surface. Funiculus, hilum and micropyle details are observed in Figure

3b. The raphe and antiraphe, which are not very prominent in this species, are also visible. Figure 3a also shows a lateral view of this region where the funicle is attached to the hilar zone. The hilar zone is a scar on the mature seed and was originally the region of the ovule where the funicular cord was inserted. The hilar zone is white, elliptical, and has an average length of 1.65 ± 0.25 mm and a width of 1.12 ± 0.18 mm. Figure 3b shows the hilar slit (hs), the almost imperceptible micropyle (m), located very close to the hilar zone (h), and the lens (le).

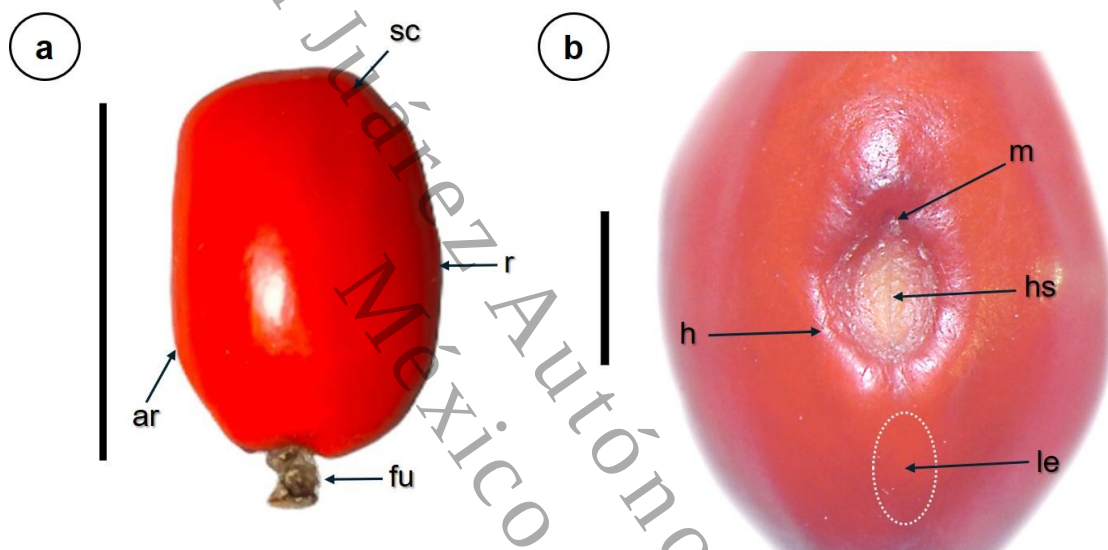


Figure 3. Seed morphology in *Ormosia macrocalyx*. (a) Lateral view: seed coat (sc), antiraphe (ar), raphe (r), funiculus (fu). The scale bar represents 1 cm; (b): detailed view of the hilar zone: micropyle (m), hilar zone (h), hilar slit (hs), and lens (le), the circle indicates the area corresponding. The scale bar represents 1 mm.

The measurements taken of the fruits and seeds are presented in Table 1. The average length of the fruits was 46.66 mm, and the average width was 26.91 mm. In the case of the seeds, the average length was 10.73 mm, the average width was 9.70 mm, and the average thickness was 7.25 mm. In average, there were 1923 seeds per kilogram, and the average weight of 100 seeds was 52.24 g. The unit weight was 0.52 g, and the moisture content was 8.0%. The coefficient of variation for fruit length was the highest calculated value (37.77%) of all the analyzed variables.

Table 1. Dimensions and weights of the fruits and seeds of *Ormosia*

Variable	Maximum	Minimum	Mean	Standard Deviation	CV (%)
Fruit length (mm)	64.20	29.91	46.66	17.60	37.77
Fruit width (mm)	30.16	23.66	26.91	3.25	12.08
Seed length (mm)	11.66	9.80	10.73	0.93	8.67
Seed width (mm)	10.59	8.81	9.70	0.89	9.18
Seed thickness (mm)	7.89	6.61	7.25	0.64	8.83
Number of seeds per fruit	2.47	0.68	1.57	0.89	56.84
Mass of 100 seeds (g)	52.91	51.57	52.24	0.67	6.41

Seeds = 500. Mass of 100. CV: coefficient of variation.

The data for these variables for other species in this genus are shown in Table 2. It should be noted that only the *weight* of 1000 *O. henryi* seeds was measured (328.16 g), and an approximation was added to the table.

Table 2. Comparison of morphological dimensions of fruits and seeds of some species of the genus *Ormosia*.

Species	Fruit Length (mm)	Fruit Width (mm)	Fruit Thickness (mm)	Seed Length (mm)	Seed Width (mm)	Seed Thickness (mm)	Seed Mass (g) ¹	Reference
	46.6 ± 17.6	26.9 ± 3.2		10.7 ± 0.9	9.7 ± 0.8	7.2 ± 0.6	0.5 ± 0.6	This study
<i>O. macrocalyx</i>	-	-	-	10.8 ± 0.5	9.9 ± 0.5	-	0.6 ± 0.08	[26]
	25–70	20–25	-	10.1 ± 0.8	9.4 ± 0.5	7.5 ± 0.4	0.5 ± 0.08	[7]
	30–100	20–35	-	10–13	10.0	7.8	-	[27]
<i>O. arborea</i>	12.9	11.3	8.5	11.5	7.5	9.2	0.8	[28]
<i>O. henryi</i>	-	-	-	-	-	-	≈0.3	[29]
<i>O. neillii</i>	35	20	-	10	10	-	-	[30]
<i>O. paraensis</i>	44.0	39.0	20.0	12.4	9.7	8.0	-	[2]

¹ N for seed mass = 1.

3.2. Pearson Correlation

According to the correlation analysis (Table 3), several positive and highly significant relationships were confirmed, including those between fruit length and the number of seeds per fruit ($r = 0.8524$, $p \leq 0.01$) and between seed thickness and seed width ($r = 0.353$, $p \leq 0.0000$). Additionally, seed length was highly significant in relation to seed thickness ($r = 0.3535$, $p \leq 0.01$), though the relationship is inverse. Additionally, a statistically significant correlation was found between the number of seeds per fruit and seed thickness ($r = 0.097$

$p \leq 0.003$), as well as between seed width and length ($r = -0.115$, $p \leq 0.000$), which is an inverse proportional relationship.

Table 3. Pearson correlation matrix between biometric fruit and seed characteristics in *Ormosia macrocalyx* Ducke.

Variable	FL	FW	NSF	SL	SW	ST
FL	1	−0.036	0.852 **	−0.036	0.005	0.131 **
FW	−0.036	1	0.074	0.037	0.042	−0.044
NSF	0.852 **	0.074	1	−0.027	0.025	0.097 *
SL	−0.036	0.037	−0.027	1	−0.115 *	−0.186 **
SW	0.005	0.042	0.025	−0.115 *	1	0.353 **
ST	0.131 **	−0.044	0.097 *	−0.186 **	0.353 **	1

* Significant $p \leq 0.05$ ** Highly significant $p \leq 0.01$. Fruit length (FL), fruit width (FW), number of seeds per fruit (NSF), seed length (SL), seed width (SW), and seed thickness (ST).

3.3. Principal Component Analysis (PCA)

After the Varimax rotation, the results of the principal component analysis (PCA) showed that the first two components together explained 47.37% of the total observed variability. The first component (CP1), which represents 27.22% of the variance, is mainly influenced by fruit length and the number of seeds per fruit. The second component (CP2) explains 20.14% of the total variance and is primarily influenced by seed width and thickness (Table 4).

Table 4. Principal component analysis (PCA) of the morphological characteristics of the fruit and seeds of *Ormosia macrocalyx*. FL: fruit length; NSF: number of seeds per fruit; SW: seed width; ST: seed thickness; SL: seed length; SM: seed mass; FW: fruit width.

Variables	Components	
	1	2
FL	0.929 †	−0.244
NSF	0.926 †	−0.259
SW	0.190	0.717 †
ST	0.344	0.714 †
SL	−0.165	−0.493
SM	0.052	0.093
FW	0.020	−0.087
Variance explained (%)	27.224	20.146
Variance accumulated (%)	27.224	47.370

† Variables of greatest contribution to each principal component.

Figure 4 shows that, according to principal component analysis (PCA), fruit dimensions such as length, width, and number of seeds per fruit are grouped prominently on the first component. In contrast, seed-related variables, length, width, thickness, and mass cluster on the second component. This reveals a second axis of variance in which the seed attributes remain relatively independent of the fruit characteristics.

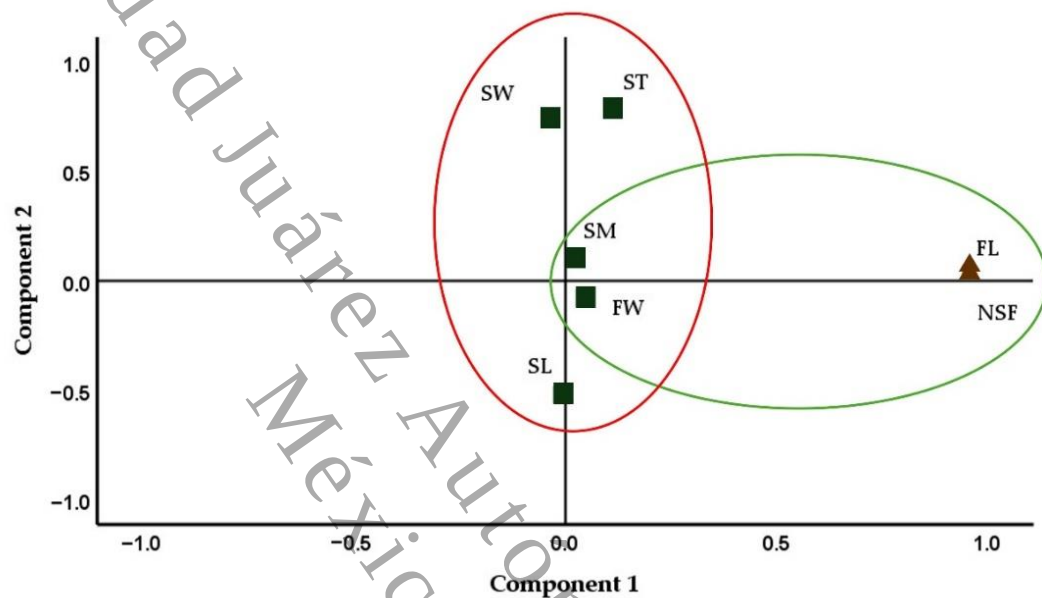


Figure 4. Principal component analysis (PCA), showing six morphometric variables. Fruit length (FL), number of seeds per fruit (NSF), fruit width (FW), seed mass (SM), seed thickness (ST), seed length (SL), and seed width (SW).

3.4. The Linear Mixed Model (LMM)

The fitted linear mixed model (LMM) revealed a significant association between fruit length (FL) and the number of seeds per fruit (NSF) ($F_{1,4.31} = 376.3$; $p < 0.001$) (Table 5). This association was detected despite NSF exhibiting a narrow range of variance. This condition generated warnings during the REML fit due to the limited dispersion of the response variable. The model included a random intercept for the tree (TN). The variance component corresponding to this random effect was small, indicating that differences between trees accounted for only a small proportion of the total variance in NSF. In contrast, the residual variance associated with differences between

fruits within the same tree accounted for most of the variance explained by the model. A fixed coefficient that was significantly different from zero was used to estimate the positive relationship between FL and NSF, and this effect remained stable across trees, as indicated by the low variance attributed to the random intercept. This suggests that the slope of the fixed effect adequately describes the observed pattern in all sampled individuals. Overall, the model confirmed the dependence between observations taken from the same tree and quantified the effect of FL on NSF within that hierarchical structure.

Table 5. Summary of the mixed effects linear model for the effect of fruit length (FL) on the number of seeds per fruit (NSF).

Effect	Df	F	p
FL	1, 4.31	376.3	<0.001

Note. Model terms tested with Satterthwaite method. The following variable is used as a random effects grouping factor: 'TN'. Type III sum of squares.

PCA provided a concise representation of the overall organization of the morphometric variables. Despite the low KMO value (0.491), the first two components had eigenvalues greater than one (PC1 = 1.906; PC2 = 1.410), explaining 47.47% of the total trait variance. This pattern indicates sufficient co-variation trends for exploratory analysis. Some variables, such as FL (0.923) and NSF (0.925), contributed more consistently to the explained variance. Other variables, such as thickness (0.629) and seed width (0.550), provided moderate information. Variables such as fruit width (0.008) and seed mass (0.011) showed reduced contributions. These results suggest that the first two components are useful for representing the phenomenon in the linear mixed model (LMM).

3.5. Seed Anatomy

The seed coat has a thin, waxy outer cuticle with an average thickness of $3.2 \pm 0.91 \mu\text{m}$ (Figure 5). There are three distinct layers of tissue. The first layer consists of macrosclereids, which are

elongated, lignified cells arranged in a compact, well-defined band that is $71.20 \pm 2.71 \mu\text{m}$ thick. The second layer is a single intermediate layer of osteosclereids that is $17.3 \pm 1.86 \mu\text{m}$ thick. The third layer is formed by parenchyma and is characterized by an irregular, dispersed cellular pattern that is $51.59 \pm 7.47 \mu\text{m}$ thick. The testa was $143.32 \mu\text{m}$ thick (Figure 5).

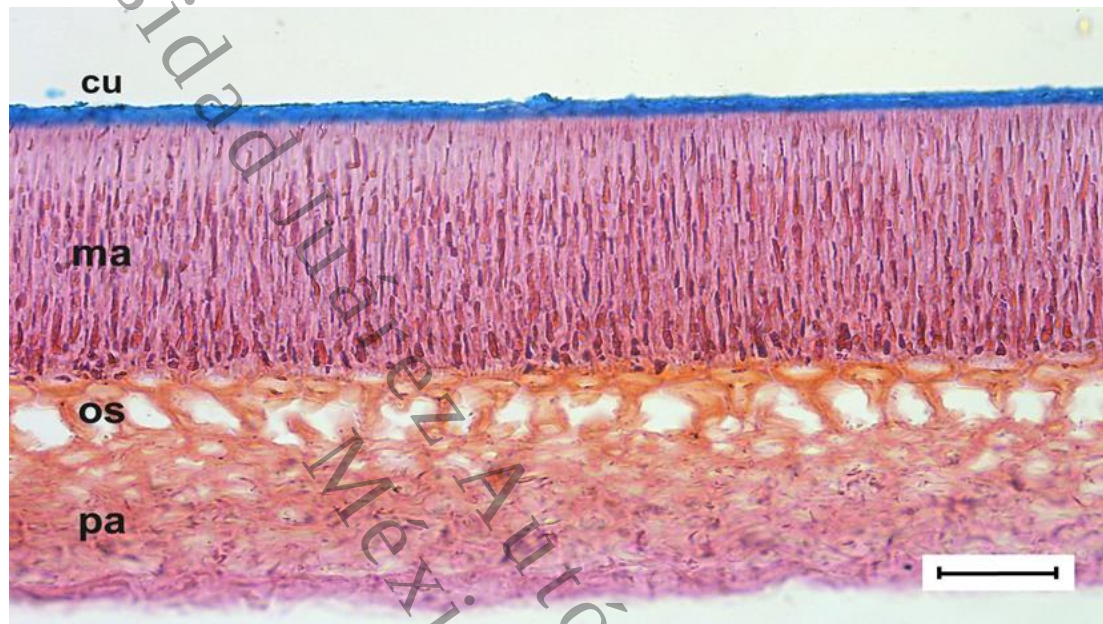


Figure 5. Transverse cut of the *Ormosia macrocalyx* seed coat, showing the cuticle (cu), macrosclereids (ma), osteosclereids (os), parenchyma (pa). Tissue stained with Safranin O and Astra blue. The scale bar represents $50 \mu\text{m}$.

A longitudinal section of the hilar zone (h) revealed different tissues: remnants of the funiculus (fu) and a compact, double layer of macrosclereids (ma). These tissues are located on both sides of the hilar slit (hs). Below that is the pyriform bar of tracheids (tb), which has a radial arrangement and is surrounded by parenchyma (pa) (Figure 6a). Figure 6b shows the set of tracheids and their scalariform thickening pattern in detail.

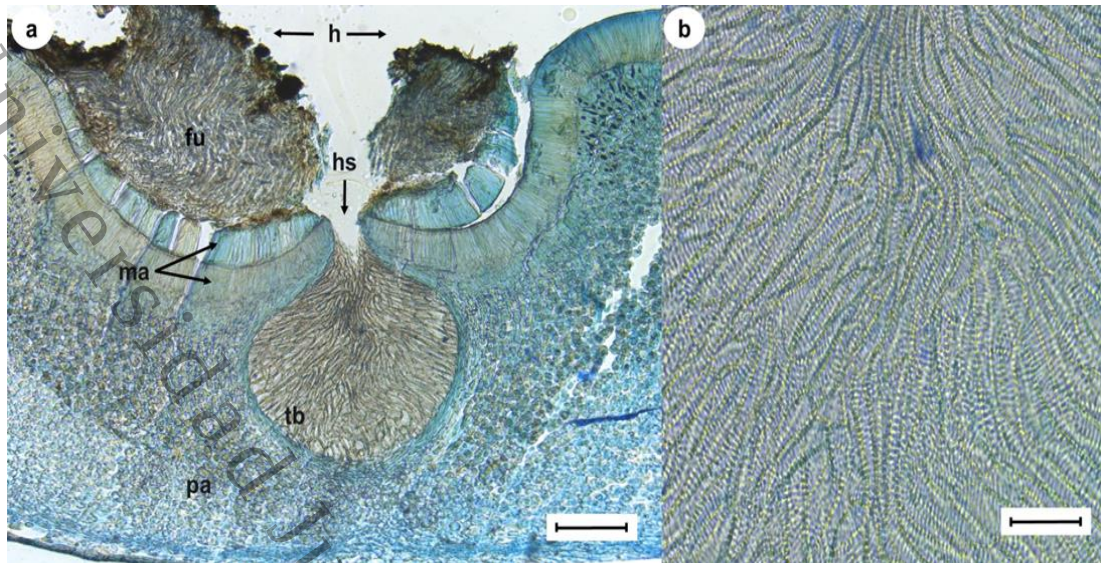


Figure 6. Longitudinal section of the hilar area of *Ormosia macrocalyx* seeds: (a) hilar zone (h), funiculus remnants (fu), hilar slit (hs), macrosclereids (ma), tracheid bar (tb), parenchyma (pa); (b) detail of the tracheid bar (tb). Stained with toluidine blue. The scale bar represents 50 μm .

Figure 7 shows a transverse section of the storage cotyledons of the *O. macrocalyx* seeds. Thick-walled cells are observed, joined to neighboring cells by a middle lamella (lm). Plasmodesmata (pl) can also be seen connecting neighboring cells' cytoplasms (cy) passing through cell walls (cw). According to the classification of Bayer *et al.* [31], the plasmodesmata are simple and straight.

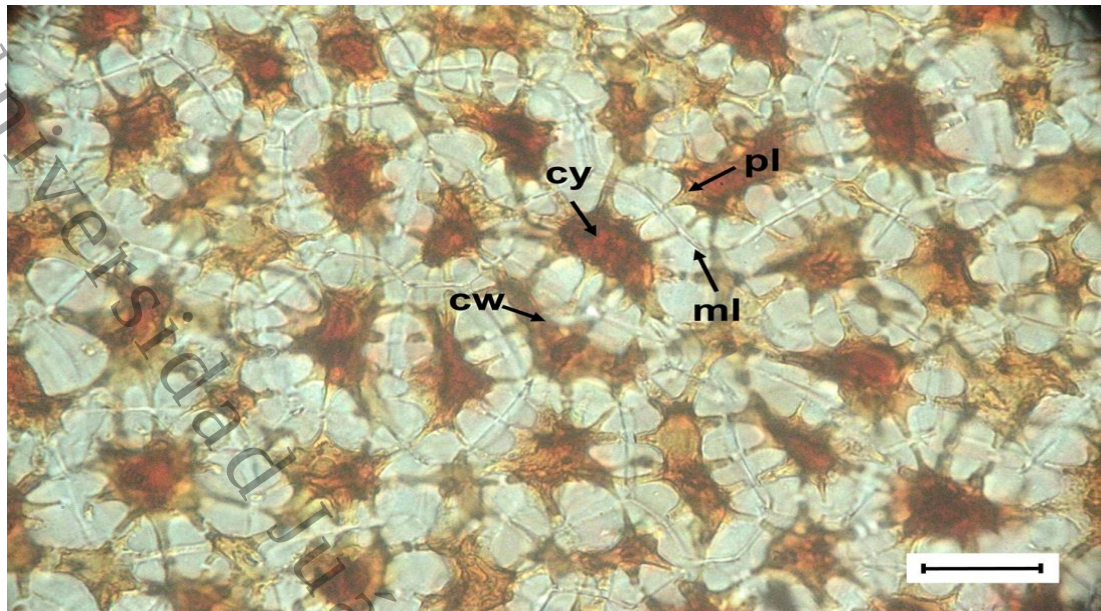


Figure 7. Transverse section of the storage cotyledons of *Ormosia macrocalyx* seeds: middle lamella (ml), plasmodesmata (pl), cytoplasm (cy), cell wall (cw). Stained with Lugol's reagent. The scale bar represents 50 μm .

3.6. Histochemistry of the Reserve Cotyledons

Table 6 describes the histochemical reactions of various metabolites in the storage cotyledons of *O. macrocalyx* seeds. Figure 8 shows histological sections stained according to the corresponding metabolites.

Table 6. Results of the histochemical tests of the storage cotyledons of *Ormosia macrocalyx*.

Reagents	Metabolites	Result	Characteristics
Lugol	Starch	–	No blue or black-stained granules were observed.
Chlor-zinc iodide	Cellulose	+	Violet staining in the cell wall
Vanillin 10%	Tannins condensates	+	Brown staining in the cells
Sudan III	Lipids	+	Staining of the oleosomes, bright red in color
Wagner	Alkaloids	+	Staining of reddish color
Aqueous eosin 1%	Proteins	+	Staining of reddish to purple color

Note: The symbol (+) indicates a positive histochemical reaction, evidenced by the characteristic coloration with the reagent; the symbol (–) indicates no reaction for the metabolite evaluated.

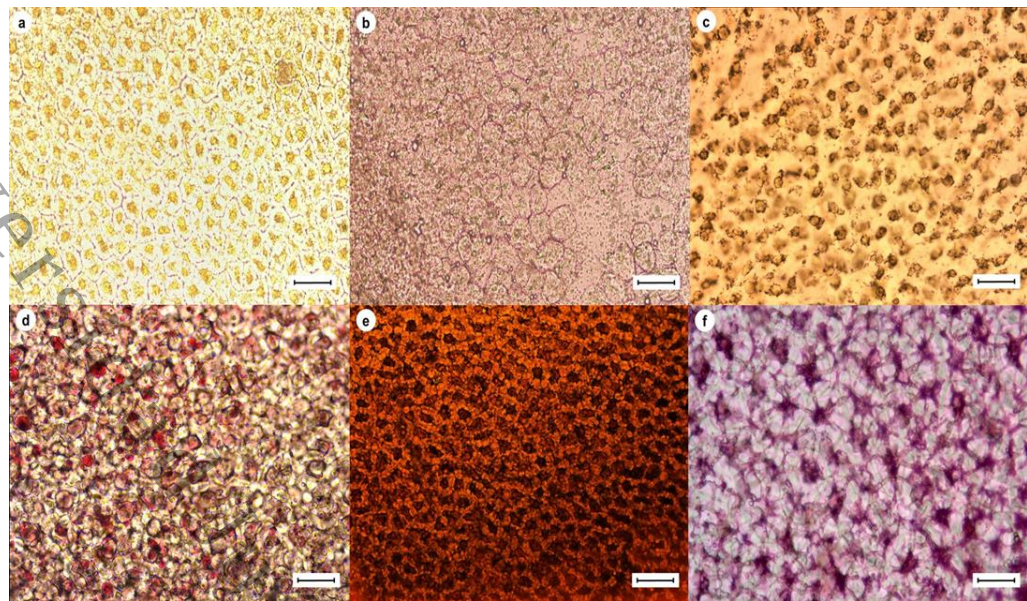


Figure 8. Histochemical reactions of different secondary metabolites in the storage cotyledons of *Ormosia macrocalyx* seeds: (a) starch, (b) cellulose, (c) tannins, (d) lipids, (e) alkaloids, (f) proteins. The scale bar represents 50 µm.

4. Discussion

4.1. Morphology of the Fruits and Seeds

In this study, we used a combination of fruit morphometrics, seed morphology, seed coat anatomy, and histochemical analyses to create a comprehensive characterization of *Ormosia macrocalyx*, contributing to our understanding of the biology of the identified fruits and seeds.

The morphometric values obtained for *O. macrocalyx* fruits were consistent with those reported for *O. macrocalyx* and *O. paraensis* (Table 3) [7,26,27]. The average fruit length (4.6 cm) and width (2.6 cm) fall within the previously described range for the genus (Table 2). The relatively high coefficient of variation in fruit length (37.7%) suggests considerable variability, which may reflect environmental, physiological, or genetic influences on fruit development. For instance, the Linear Mixed-Effects Model (LMM) revealed a statistically significant difference in fruit length and number of seeds between the two collection sites (Centro municipality and Balancan municipality); in this species, longer fruits contain more seeds (five units). At the Centro site, greater number of seeds per fruit were produced. Such variation

could influence seed production and dispersal performance; however, the relationship to the environment was not directly evaluated here.

The seed dimensions were similar to those reported by Rudd [27], Foster & Delay [7], and Pozo [26]. The low variability observed among seeds from different populations may be related to evolutionary mechanisms, such as natural selection, mutations, genetic drift, and reproductive biology, in fragmented environments where self-fertilization can occur. While all of these mechanisms affect genetic variability, in-depth genetic analyses using appropriate molecular tools are required to determine which mechanisms are actively affecting the populations. This hypothesis requires genetic confirmation at the population level. Similar patterns were reported by Yang *et al.* [32] in natural populations of *Ormosia microphylla* in southern China.

The correlation analysis revealed only two associations of sufficient magnitude to be considered robust statistical association between the evaluated variables. The relationship between fruit length and the number of seeds per fruit showed a high correlation coefficient ($r = 0.852$), indicating a clear and consistent correlation between the two variables. This result suggests that some variation in reproductive capacity is closely associated with fruit development, constituting the strongest association identified in the analysis.

Significant correlations between seed width and thickness suggest coordinated radial growth during seed development. This pattern is consistent with species possessing lignified seed coats and well-developed cotyledons, such as members of the Sophoreae tribe [33], including *Ormosia paraensis* (Vell.) Harms and *O. paraensis*. In these species, fruit size is associated with fertility and resource allocation capacity [2,34]. Similarly, fruit length is recognized as a reliable predictor of the number of seeds per pod in *Glycine max* (L.) Merr [35,36]. The observed morphometric integration may reflect developmental constraints rather than adaptive optimization per se.

Additionally, a moderate correlation was observed between seed width and thickness ($r = 0.353$). This indicates a stable morphometric pattern that could reflect growth patterns constraints or the integration

of seed dimensions. Although this could suggest relatively uniform resource distribution during embryo development, as observed in other dehiscent Fabaceae, experimental studies are needed to confirm this hypothesis. The inverse relationship between seed length and width suggests morphological compensation, producing more elliptical shapes. Similar patterns have been described in hard-seeded Fabaceae [3,37,38], although functional implications remain speculative.

Principal component analysis identified two axes of variation: PC1 (27.22%) was primarily associated with fruit length and the number of seeds per fruit. PC2 (20.14%) was linked to seed width and thickness. This separation supports the interpretation that fruit- and seed-level traits vary along partially independent axes. Cucinotta *et al.* [39] and Bobrov and Romanov [40] have reported similar relationships between gynoeceum size and seed number, although the present data do not address developmental mechanisms.

Overall, the results suggest that the variation in fruit and seed traits in *O. macrocalyx* is structured and partially independent. Fruit size appears to be more closely related to reproductive output, while seed traits seem to reflect embryo development and storage accumulation. These patterns are consistent with previous studies in the Fabaceae family, although their ecological significance requires further investigation.

The strong association between FL and NSF in PC1 is consistent with the findings of Cucinotta *et al.* [39], who demonstrated that gynoeceum size directly influences the number of potential ovules and seeds formed. This pattern suggests that fruit development determines reproductive capacity in the species studied, possibly through carpel structure or ovary fusion events that modify the volume available for seed development. Bobrov & Romanov [40] consistently indicate that gynoeceum architecture and fruit morphology dictate the space available for ovules, which explains why longer or more voluminous fruits harbor greater numbers of seeds.

PC2 groups the morphometric variables of the seed, primarily width and thickness. This reflects the fact that seed development follows a relatively autonomous pattern guided by embryo development, cotyledon filling, and storage accumulation [3,11]. Vargas-Simón *et al.* observed that fruit variation in *O. macrocalyx* does not correlate with seed weight or vigor, which supports the independence of these processes [8].

The intermediate position of seed mass (SM) relative to the two components indicates that this trait integrates both internal (the capacity to accumulate reserves) and external (the available space in the fruit) factors, as Paulino *et al.* [41] reported for polycarpic Leguminosae.

A hierarchical analysis of the morphometric data allowed us to assess the relationship between fruit length (FL) and the number of seeds per fruit (NSF) while considering the dependency structure resulting from multiple fruits on the same tree. Mixed linear models showed that FL was significantly associated with NSF after controlling for tree effects, confirming that these fixed effects explained part of the variation in NSF.

The random effect corresponding to the intercepts of the parent tree had a small variance compared to the residual variance. This indicates that inter-tree differences contributed minimally to total NSF variation.

The estimate of the fixed effect of FL remained stable within this hierarchical structure, as evidenced by the small variability attributed to the random intercepts. In this context, the greatest variation was observed among fruits within each tree, which is consistent with the distribution of NSF. Although the low NSF variance triggered REML warnings, model estimates remained valid because the hierarchical structure accounted for non-independence among fruits from the same tree. This is because model explicitly accounts for the lack of independence between fruits from the same tree. Overall, the mixed model quantified the relationship between FL and NSF within an

analytical framework that accounted for the hierarchical organization of the sampling.

To conserve the species, collecting longer fruits is recommended to maximize seeds yield while reducing collection effort. Longer fruits contain more seeds, increasing propagule yield with less sampling. In this species, seeds are readily identified by external protuberances along the fruit wall, each corresponding to the locule occupied by an individual seed.

4.2. Seed Anatomy

The seed coat of *O. macrocalyx* shows the typical stratified organization of Fabaceae [42]. It consists of a thin outer cuticle ($3.2 \pm 0.91 \mu\text{m}$), defined as a continuous layer that covers the seed, except on the hilar zone. It is considered the most external barrier to imbibition due to its wax content [33]. The next layer consists of elongated lignified macrosclereids ($71.20 \pm 2.71 \mu\text{m}$), an intermediate layer of osteosclereids ($17.3 \pm 1.86 \mu\text{m}$) and an inner parenchymatous layer. The combined thickness of these tissues ($143.4 \mu\text{m}$) suggests a mechanically robust structure commonly associated with Fabaceae [43].

Comparisons with other species in the genus reveal a similar tissue organization, which supports the anatomical stability of these traits within the Sophoreae tribe [42]. Some authors state that differences in layer thickness among species (e.g., *O. hosiei* and *O. henryi*) may influence seed coat permeability [3,29].

In the hilar region, the macrosclereid layer forms a double structure adjacent to the hilar slit. Comparable arrangements have been described in *Swartzia* spp.[44]. *O. paraensis* and *O. henryi* [2,29]. Beneath this layer, precisely at the hilar slit, the tracheid bar is clearly visible, featuring a scalariform pattern; this structure is characteristic of the Papilionoideae subfamily [45]. Within the genus, it has been identified in the seeds of *O. calavensis* and *O. henryi*. In [29,45,46], it was found in *Erythrina speciosa* seeds that the hilar slit is the main point of water imbibition and the tracheid bar functions as a receptor; furthermore, the authors confirmed the absence of a cuticle

and sclerenchymatic tissue that might prevent water from entering the seed.

The storage cotyledons exhibited double-walled cells with a distinct middle lamella, simple plasmodesmata, and clearly defined cytoplasm. Reports of these specific structural features are scarce in legumes, making this observation a significant anatomical contribution. Plasmodesmata are dynamic channels that constitute a symplastic network and their function is the transport of metabolites and signaling molecules, amongst other substances through parenchyma cells of cotyledons, which act as sink and storage structures for the subsequent germination process; this organization is characteristic of Fabaceae [47–49].

4.3. Histochemistry of the Storage Cotyledons

Histochemical analyses revealed a metabolic profile consisting of lipids, proteins, cellulose, condensed tannins, and alkaloids, but no detectable starch. The absence of starch is consistent with previous reports on *O. henryi* and other eudicot species lacking endosperm [3,32,50].

The presence of cellulose-rich cell walls in the cotyledons is consistent with previous observations in Fabaceae [51,52] and reflects the structural reinforcement and integrity of cell walls. The alkaloids detected here coincide with previous analyses of *O. macrocalyx* seeds and other species of this genus that are distributed across South America and Asia [53–56]. Previous authors identified compounds such as angustifoline, 5,6-dehydrolupanine, β -isosparteine, 5-lupanine, ormosanine, 17-oxolupanine, panamine, sparteine, 13 α -tiglyoxylupanine, and α -isoangustifoline. The presence of these compounds is associated with low seed predation [7,54].

Condensed tannins were also detected, consistent with their widespread occurrence in *Ormosia* sp., *O. coarctata*, and other tropical Fabaceae. Their function is defense against herbivores, as reported for alkaloids [54,57,58]

The cotyledons of *O. macrocalyx* showed the presence of lipids, represented by oleosomes in cells. Analyses in *O. hosiei* showed a

high concentration of these compounds during germination [3]. This indicates that lipids are a significant energy reserve for this species, consistent with reports on other tropical legumes, and these compounds account for concentrations of 25–44% [52]. The presence of proteins further supports the importance of storage reserves in the cotyledons as a source for enzyme synthesis, similar to the protein patterns described in *O. arborea*, *O. coarctata*, and *O. henryi* [3,53,57]. Protein content of 16.5% was detected in intact *O. coarctata* seeds; it is stated that this plays a significant role in providing amino acid reserves for embryonic development [57].

5. Conclusions

This study describes the key morphological characteristics of *Ormosia macrocalyx* fruits. Variations in seed shape and color were observed, with intense red and dark red being the most prevalent colors. A highly significant positive correlation was observed between fruit length (≤ 4.6 cm) and the number of seeds per fruit, which is typically 1.5 seeds per fruit. A significant positive relationship was observed between seed width and thickness, reflecting proportional and stable internal growth. Additionally, the number of seeds per kilogram was determined to be 1923, which is key information for propagation strategies for the species. The seed coat has a highly differentiated structure consisting of macrosclereids, osteosclereids, and parenchyma, with the sclerenchymatous tissue representing 61.5% of the total thickness. Similarly, new insights are provided into the anatomy and cellular histology of the species.

The hilar region exhibits a complex internal architecture in which remnants of the funicle and a double layer of macrosclereids delineate the hilar slit. Just below this area, the pyriform bar of tracheids with a scalariform pattern was identified. The reserve cotyledons are composed of parenchyma tissue. The cells are characterized by two layers of cell walls divided by a well-defined middle lamella, as well as a compact cytoplasm. Intercellular plasmodesmata were also identified. Histochemical tests on the storage cotyledons confirmed that it is an exalbuminous seed due to the absence of starch. This

preliminary qualitative study identified various secondary metabolites in the storage cotyledons. Further phytochemical studies using modern technology are required to analyze their chemical structure and physiological function.

Author Contributions: Data curation, investigation and writing—review & editing J.R.-V., supervision, investigation, visualization and writing—review & editing G.V.-S., supervision, methodology, investigation and writing—review & editing G.A., formal analysis, methodology, visualization and writing—review & editing J.Á.G.-G., investigation, visualization and writing—review & editing L.M.G.C., investigation, visualization and writing—review & editing N.d.C.J.-P., investigation, visualization and writing—review & editing P.M.-Z., investigation, visualization and writing—review & editing J.A.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Data Availability Statement: The data has been made available at <https://data.mendeley.com/datasets/hfsz4v7bd9/1> (accessed on 15 January 2026).

Acknowledgments: The first author would like to thank the Secretariat of Science, Humanities, Technology and Innovation of the Mexican government (SECIHTI) for the Masters scholarship awarded to the first author No. 1298278 (CVU), To Manuel L. Nuñez Piedra, Carolina Madero Vega, Jaquelina Gamboa Aguilar, Meritxell Sanlúcar González, Silvia Arias García, Bernardino Hernández Cardoza.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Azani, N.; Babineau, M.; Bailey, C.D.; Banks, H.; Barbosa, A.R.; Pinto, R.B.; Boatwright, J.S.; Borges, L.M.; Brown, G.K.; Bruneau, A.; *et al.* A New Subfamily Classification of the Leguminosae Based on a Taxonomically Comprehensive Phylogeny: The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). *Taxon* **2017**, *66*, 44–77. <https://doi.org/10.12705/661.3>.

2. Silva, B.M.D.S.E.; Silva, C.D.O.E.; Môro, F.V.; Vieira, R.D. Morphoanatomy of Fruit, Seed and Seedling of *Ormosia paraensis* Ducke. *J. Seed Sci.* **2015**, *37*, 192–198. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v37n4151436>.
3. Dai, L.; Chen, Y.; Wei, X. Hard Seed Characteristics and Seed Vigor of *Ormosia hosiei*. *Agriculture* **2023**, *13*, 1077. <https://doi.org/10.3390/agriculture13051077>.
4. International Union for Conservation of Nature (IUCN). The IUCN Red List of Threatened Species. Available online: <https://www.iucnredlist.org/> (accessed on 23 May 2024).
5. Vargas-Simón, G.; Núñez-Piedra, M.L.; Domínguez-Domínguez, M.; Alegría-González, W.R.; Martínez-Zurimendi, P. Distribución de *Ormosia macrocalyx* en México y delimitación de sus áreas de ocupación. *Rev. Mex. Biodivers.* **2018**, *89*, 1201–1211. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.4.2412>.
6. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. *NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección Ambiental—Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres—Categorías de Riesgo y Especificaciones Para Su Inclusión, Exclusión o Cambio—Lista de Especies En Riesgo*; SEMARNAT: Mexico City, Mexico, 2010.
7. Foster, M.S.; Delay, L.S. Dispersal of Mimetic Seeds of Three Species of *Ormosia* (Leguminosae). *J. Trop. Ecol.* **1998**, *14*, 389–411.
8. Vargas-Simón, G.; Martínez-Zurimendi, P.; Domínguez-Domínguez, M.; Pire, R. Seed Germination in *Ormosia macrocalyx*, an Endangered Tropical Forest Tree. *Bot. Sci.* **2017**, *95*, 329–341. <https://doi.org/10.17129/botsci.823>.
9. Ge, M.; Wei, X.; Fan, Y.; Wu, Y.; Fan, M.; Tian, X. The Physiological and Biochemical Mechanisms Bioprimered by Spermosphere Microorganisms on *Ormosia henryi* Seeds. *Microorganisms* **2025**, *13*, 1598. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13071598>.
10. Carta, A.; Vandeloos, F.; Ramírez-Barahona, S.; Chen, S.-C.; Dickie, J.; Steinbrecher, T.; Thanos, C.A.; Moles, A.T.; Leubner-Metzger, G.; Mattana, E. The Seed Morphospace, a New Contribution towards the Multidimensional Study of Angiosperm Sexual Reproductive Biology. *Ann. Bot.* **2024**, *134*, 701–710. <https://doi.org/10.1093/aob/mcae099>.
11. Silva, B.M.D.S.E.; Silva, C.D.O.E.; Môro, F.V.; Vieira, R.D. Seed Anatomy and Water Uptake and Their Relation to Seed Dormancy of *Ormosia paraensis* Ducke. *J. Seed Sci.* **2018**, *40*, 237–245. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n3177599>.
12. Palma-López, D.J.; Domínguez, J.C.; Cáliz, E.M.; Ramírez, J.A.R. *Suelos de Tabasco: Su Uso y Manejo Sustentable*; Primera; Colegio de Postgraduados-ISPROTAB-Fundación Produce Tabasco: Villahermosa, Mexico, 2007.
13. García, E. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen*, 5th ed.; Libros; Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM): Mexico City, Mexico, 2004.

14. Munsell Color. *Munsell Soil Color Charts*, 2009 Revised ed.; Munsell Color/X-Rite Inc.: Grand Rapids, MI, USA, 2009.
15. Andrew Werth. Virtual Munsell Color Wheel. Available online: <https://www.andrewwerth.com/aboutmunsell> (accessed on 17 June 2024).
16. International Seed Testing Association. *International Rules for Seed Testing: Introduction to the ISTA Rules, Chapters 1–19*, 2018th ed.; ISTA: Bassersdorf, Switzerland, 2018.
17. Martin, A.C. The Comparative Internal Morphology of Seeds. *Am. Midl. Nat.* **1946**, *36*, 513. <https://doi.org/10.2307/2421457>.
18. Niembro Rocas Aníbal. *Semillas de Árboles y Arbustos: Ontogenia y Estructura*, 1st ed.; LIMUSA: Mexico City, Mexico, 1988.
19. Jolliffe, I.T.; Cadima, J. Principal Component Analysis: A Review and Recent Developments. *Philos. Trans. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci.* **2016**, *374*, 20150202. <https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>.
20. Bates, D.; Mächler, M.; Bolker, B.; Walker, S. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using Lme4. *J. Stat. Softw.* **2015**, *67*, 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>.
21. de Lourdes, L.C.M.; Judith, M.G. *Técnicas Para el Estudio del Desarrollo en Angiospermas: Libro de Laboratorio*, 2nd ed.; Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Ciencias: Mexico City, Mexico, 2005.
22. Sandoval Z.E. *Técnicas Aplicadas al Estudio de la Anatomía Vegetal*, 1st ed.; Cuadernos del Instituto de Biología; Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM): Mexico City, Mexico, 2005; Volume 38.
23. Johansen, D.A. *Plant Microtechnique*; McGraw-Hill Publications in the Botanical Sciences; McGraw-Hill Book Company, Inc.: New York, NY, USA; London, UK, 1940.
24. Electron Microscopy Sciences. Styrene Monomer Polyester Resin Embedding—Technical Data Sheet. Available online: <https://www.emsdiasum.com/docs/technical/datasheet/14650> (accessed on 13 February 2025).
25. Novikov, A.; Sup-Novikova, M. Modified Staining Protocol with Safranin O and Astra Blue for the Plant Histology. *Plant Introd.* **2021**, *89–90*, 110–113. <https://doi.org/10.46341/PI2021005>.
26. Pozo Gómez, B.K.; Orantes García, C.; Pozo Gómez, D.M.; Verdugo Valdez, A.G.; Sánchez Cortés, M.S.; Moreno Moreno, R.A. Germinación de *Ormosia Macrocalyx* Ducke (Fabaceae), Árbol Nativo En Peligro de Extinción. *Polibotánica* **2026**, *0*, doi:10.18387/polibotanica.61.10.
27. Rudd, V.E. Leguminosae of Mexico—Faboideae: I. Sophoreae and Podalyrieae. *Rhodora* **1968**, *70*, 492–532.

28. Silva, A.L.; Dias, D.C.F.S.; Lima, L.B.; Morais, G.A. Methods for overcoming seed dormancy in *Ormosia arborea* seeds, characterization and harvest time. *Journal of Seed Science* **2014**, *36*(3), 318–325. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v36n31012>.
29. Shang, N.; He, Y.; Su, L.; Wei, X. Insights into Water Absorption Pathways and Structural Barriers of *Ormosia henryi* Prain Revealed by Multimodal Imaging Techniques. *Sci. Hortic.* **2025**, *349*, 114237. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114237>.
30. Guevara-Andino, J.E.; Clark, J.L.; Navas-Muñoz, D. *Ormosia neillii* (Fabaceae), a remarkable new tree species from the Cordillera del Cóndor plateaus in Ecuador. *PhytoKeys* **2025**, *256*, 21–35. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.256.147923>.
31. Bayer, E.M.; Benitez-Alfonso, Y. Plasmodesmata: Channels Under Pressure. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2024**, *75*, 291–317. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-070623-093110>.
32. Yang, Y.; Sang, J.; He, G.; Zou, R.; Gao, L.; Chai, S.; Li, D.; Jiang, Y.; Tang, J.; Wei, X. Isolation Effects and Soil Properties Drive Genetic Differentiation in *Ormosia microphylla* Populations. *Sci. Rep.* **2025**, *15*, 25824. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-09432-x>.
33. Smýkal, P.; Vernoud, V.; Blair, M.W.; Soukup, A.; Thompson, R.D. The Role of the Testa during Development and in Establishment of Dormancy of the Legume Seed. *Front. Plant Sci.* **2014**, *5*, 351. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00351>.
34. Oliveira, P.D.; Benevides, C.R.; Greco, A.V.; Leão, L.C.S.; Rodarte, A.T.D.A.; Lima, H.A.D. Fruiting Phenology and Dispersal Syndromes in a Sandy Coastal Plain in Southeastern Brazil. *Rodriguésia* **2022**, *73*, e02012019. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202273047>.
35. Chang, F.; Lv, W.; Lv, P.; Xiao, Y.; Yan, W.; Chen, S.; Zheng, L.; Xie, P.; Wang, L.; Karikari, B.; *et al.* Exploring Genetic Architecture for Pod-Related Traits in Soybean Using Image-Based Phenotyping. *Mol. Breed.* **2021**, *41*, 28. <https://doi.org/10.1007/s11032-021-01223-2>.
36. Zhang, Q.; Tu, B.; Liu, C.; Liu, X. Pod Anatomy, Morphology and Dehiscing Forces in Pod Dehiscence of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Flora* **2018**, *248*, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.08.014>.
37. Pothasin, P.; Paradis, E.; Brockelman, W.Y.; Nathalang, A.; Khemrugka, T.; Lomwong, N.; Thripob, P.; Saenprasert, R.; Chanthorn, W. Seed Size Variation of Trees and Lianas in a Tropical Forest of Southeast Asia: Allometry, Phylogeny, and Seed Trait-Plant Functional Trait Relationships. *Front. Plant Sci.* **2022**, *13*, 852167. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.852167>.
38. Wang, Z.; Wang, L.; Liu, Z.; Li, Y.; Liu, Q.; Liu, B. Phylogeny, Seed Trait, and Ecological Correlates of Seed Germination at the Community Level in a Degraded Sandy Grassland. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 1532. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01532>.

39. Cucinotta, M.; Di Marzo, M.; Guazzotti, A.; De Folter, S.; Kater, M.M.; Colombo, L. Gynoecium Size and Ovule Number Are Interconnected Traits That Impact Seed Yield. *J. Exp. Bot.* **2020**, *71*, 2479–2489. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa050>.
40. Bobrov, A.V.F.C.; Romanov, M.S. Morphogenesis of Fruits and Types of Fruit of Angiosperms. *Bot. Lett.* **2019**, *166*, 366–399. <https://doi.org/10.1080/23818107.2019.1663448>.
41. Paulino, J.V.; Prenner, G.; Mansano, V.F.; Teixeira, S.P. Comparative Development of Rare Cases of a Polycarpellate Gynoecium in an Otherwise Monocarpellate Family, Leguminosae. *Am. J. Bot.* **2014**, *101*, 572–586. <https://doi.org/10.3732/ajb.1300355>.
42. Faried, A.M.; El-Karemy, Z.A.; Hosni, H.A.; Saleh, S.M.; Aboulela, M. Diversity of Seed-Coat Structure and Thickness among Six Genera Representing Tribes Sophoreae, Crotalarieae, and Genisteae (Papilionoideae, Fabaceae) in Egypt. *Braz. J. Bot.* **2022**, *45*, 713–728. <https://doi.org/10.1007/s40415-022-00803-6>.
43. Zhang, R.; Dan, L.; Su, L.; Wei, X. Tissue-Specific Partitioning of Flavonoids and Phenolic Acids Coordinates Bioactivities in *Ormosia henryi* Prain. *BMC Plant Biol.* **2025**, *25*, 1309. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-07390-0>.
44. Torres Dos Santos Barbosa, T.C.; De Mendonça, M.S.; Muniz Do Nascimento, L.L.D.A.; Pires Morim, M. Morphoanatomical and Histochemical Study of Seeds of Four Species of *Swartzia* (Fabaceae-Papilionoideae) at Tupé Sustainable Development Reserve AM/Brazil. *Bot. Sci.* **2021**, *99*, 863–876. <https://doi.org/10.17129/botsci.2759>.
45. Lersten, N.R. Tracheid Bar and Vestured Pits in Legume Seeds (Leguminosae: Papilionoideae). *Am. J. Bot.* **1982**, *69*, 98–107. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1982.tb13238.x>.
46. Magalhães, C.R.; Oliveira, D.M.T. Testa Structure in *Erythrina speciosa* (Leguminosae): The Role of the Mucilaginous Stratum in the Acquisition of Physical Dormancy. *Acta Bot. Bras.* **2020**, *34*, 592–598. <https://doi.org/10.1590/0102-33062020abb0044>.
47. Patrick, J.W.; Offler, C.E. Compartmentation of Transport and Transfer Events in Developing Seeds. *J. Exp. Bot.* **2001**, *52*, 551–564.
48. Seabra, A.R.; Vieira, C.P.; Cullimore, J.V.; Carvalho, H.G. Medicago Truncatula Contains a Second Gene Encoding a Plastid Located Glutamine Synthetase Exclusively Expressed in Developing Seeds. *BMC Plant Biol.* **2010**, *10*, 183. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-183>.
49. Hernández-Hernández, V.; Benítez, M.; Boudaoud, A. Interplay between Turgor Pressure and Plasmodesmata during Plant Development. *J. Exp. Bot.* **2019**, *71*, 768–777. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz434>.

50. Borisjuk, L.; Walenta, S.; Rolletschek, H.; Mueller-Klieser, W.; Wobus, U.; Weber, H. Spatial Analysis of Plant Metabolism: Sucrose Imaging within *Vicia faba* Cotyledons Reveals Specific Developmental Patterns. *Plant J.* **2002**, *29*, 521–530. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2002.01222.x>.
51. Mosele, M.M.; Hansen, Å.S.; Hansen, M.; Schulz, A.; Martens, H.J. Proximate Composition, Histochemical Analysis and Microstructural Localisation of Nutrients in Immature and Mature Seeds of Marama Bean (*Tylosema esculentum*)—An Underutilised Food Legume. *Food Chem.* **2011**, *127*, 1555–1561. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.017>.
52. Soriano, D.; Orozco-Segovia, A.; Márquez-Guzmán, J.; Kitajima, K.; Gamboa-de Buen, A.; Huante, P. Seed Reserve Composition in 19 Tree Species of a Tropical Deciduous Forest in Mexico and Its Relationship to Seed Germination and Seedling Growth. *Ann. Bot.* **2011**, *107*, 939–951. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr041>.
53. Cheng, M.; Zeng, X.-S.; Yin, Z.-Y.; Xie, X.-Y.; Zhu, J.-W.; Wang, J.-F.; Sheng, Y.-K.; Xu, J.-B. (+)-/(-)-Ormohenins A and B, Two Pairs of Ormosanine-Type Enantiomers and Their Derivatives with Neuroprotective Activity from *Ormosia henryi* Prain. *Nat. Prod. Bioprospect.* **2025**, *15*, 58. <https://doi.org/10.1007/s13659-025-00539-2>.
54. Guimarães, P.R.; José, J.; Galetti, M.; Trigo, J.R. Quinolizidine Alkaloids in *Ormosia Arborea* Seeds Inhibit Predation but Not Hoarding by Agoutis (*Dasyprocta leporina*). *J. Chem. Ecol.* **2003**, *29*, 1065–1072. <https://doi.org/10.1023/A:1023817203748>.
55. Kinghorn, A.D.; Hussain, R.A.; Robbins, E.F.; Balandrin, M.F.; Stirton, C.H.; Evans, S.V. Alkaloid Distribution in Seeds of *Ormosia*, *Pericopsis* and *Haplormosia*. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 439–444. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)83116-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)83116-9).
56. Ricker, M.; Daly, D.C.; Veen, G.; Robbins, E.F.; Sinta V.M.; Chota I.J.; Czygan, F.-C.; Kinghorn, A.D. Distribution of Quinolizidine Alkaloid Types in Nine *Ormosia* Species (Leguminosae-Papilionoideae). *Brittonia* **1999**, *51*, 34. <https://doi.org/10.2307/2666554>.
57. Reis, L.P.; Borges, E.E.D.L.E.; Souza, G.A.D.; Brito, D.S. Relationships between Substrate and the Mobilization of Reserve with The temperature during Seed Germination of *Ormosia coarctata* Jack. *J. Seed Sci.* **2020**, *42*, e202042017. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42223509>.
58. Wink, M. Evolution of Secondary Metabolites in Legumes (Fabaceae). *S. Afr. J. Bot.* **2013**, *89*, 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.006>.

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the

editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO III

Efecto del tiempo y temperaturas en la viabilidad de las semillas de *Ormosia macrocalyx* Ducke y crecimiento preliminar en condiciones de invernadero



Portada Interior

Nombre del artículo: Efecto del tiempo y temperaturas en la viabilidad de las semillas de *Ormosia macrocalyx* Ducke y crecimiento preliminar en condiciones de invernadero

Autores: Jackelin Ruiz-Vidal ¹ 232g25009@alumno.ujat.mx

Georgina Vargas-Simón ^{1*} georgina.vargas@ujat.mx

Guillermo Angeles ² guillermo.angeles@inecol.mx

José Ángel Gaspar-Génico ¹ genico220@gmail.com

Pablo Martínez-Zurimendi ^{3,4} pmartinez@ecosur.mx

Jesús Ascencio-Rivera ¹ manuel.ascencio@ujat.mx

Institución de adscripción de cada autor:

¹ División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Km 0.5, Carretera Villahermosa-Cárdenas, Villahermosa 86039, Tabasco, México.

² Departamento de Ecología Funcional, Instituto de Ecología, Asociación Civil. Carretera Antigua a Coatepec 351, Xalapa 91073, Veracruz, México.

³ El Colegio de la Frontera Sur, Carretera Villahermosa-Reforma Km 15.5, Ranchería Guineo, II Sección, Villahermosa 86280, Tabasco, México.

⁴ Instituto de Gestión Forestal Sostenible (IUFOR), Universidad de Valladolid-INIA, Av. Madrid 44, 34004 Palencia, Spain.

Resumen

Antecedentes: Las semillas presentan dormancia física, faltan estudios que demuestren su viabilidad en función del tiempo y temperaturas de almacenamiento. También de su fenología de crecimiento preliminar.

Preguntas: ¿Habrá efectos en la viabilidad de las semillas bajo diferentes condiciones de almacenamiento y en el tiempo? ¿Cuánto crecerán las plántulas bajo condiciones de invernadero?

Especie de estudio: *Ormosia macrocalyx*.

Sitio y período de estudio: México, 2024-2025.

Métodos: Se evaluó la viabilidad de las semillas por 12 meses, se estableció un DCA con arreglo factorial: tratamiento pregerminativo con escarificación o semillas intactas y temperaturas de almacenamiento [ambiente (27°C) y refrigeración (4°C)]. En plántulas se midieron variables tradicionales de crecimiento hasta 280 días después de la germinación (ddg).

Resultados: Germinación: en semillas en refrigeración y escarificadas pasó del 98% en semillas recién cosechadas a 52%. Las escarificadas y almacenadas a 27°C germinaron 81%. Las semillas intactas tuvieron 32.5%, en ambiente y en refrigeración al final del experimento. Las plantas juveniles alcanzaron en promedio una altura de tallo de 37.0 cm y un diámetro basal de 5.47 mm. Se formaron 11.7 hojas simples y una trifoliolada; el área foliar fue de 51.5 cm². Las TCR fueron muy bajas en ambas variables.

Conclusiones: Las semillas escarificadas e intactas de *O. macrocalyx* disminuyen su viabilidad a los 12 meses de almacenamiento en un 46% (escarificadas) y 63% (intactas) en condiciones de refrigeración. En cuanto a 27°C, la merma en escarificadas fue de 17% y en intactas 30%. Sin embargo, las semillas intactas posiblemente permanecen en dormición hasta 12 meses. Las plantas juveniles, crecieron lentamente en los 280 ddg de revisión.

Palabras clave: Almacenamiento, escarificación, germinación, plántulas, tasa de crecimiento relativa.

Enviado a: Botanical science

Nombre de la editorial: Sociedad Botánica de México, A.C.

Fecha de envió: 10 de junio 2026

Effect of time and temperature on the viability of *Ormosia macrocalyx* Ducke seeds and preliminary growth under greenhouse conditions

Autores: Jackelin Ruiz-Vidal¹ 232g25009@alumno.ujat.mx, Georgina Vargas-Simón^{1*} georgina.vargas@ujat.mx, Guillermo Angeles ² guillermo.angeles@inecol.mx, José Ángel Gaspar-Génico¹ genico220@gmail.com, Lilia María Gama Campillo ¹ lilia.gama@ujat.mx, Nelly del Carmen Jiménez-Pérez ¹ nelly.jimenez@ujat.mx, Pablo Martínez-Zurimendi ^{3,4} pmartinez@ecosur.mx and Jesús Ascencio-Rivera ¹ manuel.ascencio@ujat.mx

¹ División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, Mexico.

² Departamento de Ecología Funcional, Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, Mexico.

³ El Colegio de la Frontera Sur, Villahermosa, Tabasco, Mexico.

⁴ Instituto de Gestión Forestal Sostenible (IUFOR), Universidad de Valladolid-INIA, Palencia, Spain.

***Corresponding author:** georgina.vargas@ujat.mx

Background: Effect of time and temperature on the viability of *Ormosia macrocalyx* Ducke seeds and preliminary growth under greenhouse conditions

Questions and / or Hypotheses: Will there any effects on seed viability under different storage environments and overtime? How much will the seedlings grow under greenhouse conditions?

Studied species: *Ormosia macrocalyx*

Study site and dates: Mexico, 2024-2025

Methods: Seed viability was evaluated over a 12-mont period, and a factorial arrangement was established: pre-germination treatment with scarification or intact seeds, and storage temperatures [environment (27°C) y refrigeration (4°C)]. Traditional growth variables were measured in seedlings up to 280 days after germination (dag).

Results: Germination: For refrigerated and scarified seeds, the germination rate dropped from 98% in freshly harvested seeds to 52%. Scarified seeds stored at 27°C germinated at a rate of 81%. Intact seeds had a germination rate of 32.5% at room temperature and were under refrigerated conditions at the end of the experiment. Juvenile plants reached an average stem height of 37.0 cm and a basal diameter of 5.47 mm. They produced 11.7/plant simple leaves and one trifoliate leaf; the leaf area was 51.5 cm². The RGR values were very low for both variables.

Conclusions: The viability of scarified and intact *O. macrocalyx* seeds decreases by 46% (scarified) and 63% (intact) after 12 months of storage under refrigerated conditions. At 27°C, the decline in viability was 17% for scarified seeds and 30% for intact seeds. However, intact seeds may remain dormant for up to 12 months. The young plants grew slowly at the 280 dag test rate.

Keywords: Germination, scarification, seedlings, storage, relative growth rate.

Resumen:

Antecedentes: Las semillas presentan dormancia física, faltan estudios que demuestren su viabilidad en función del tiempo y temperaturas de almacenamiento. También de su fenología de crecimiento preliminar.

Preguntas y / o Hipótesis: ¿Habrá efectos en la viabilidad de las semillas bajo diferentes condiciones de almacenamiento y en el tiempo? ¿Cuánto crecerán las plántulas bajo condiciones de invernadero?

Especie de estudio: *Ormosia macrocalyx*.

Sitio y período de estudio: México, 2024-2025. Sitio y años de estudio:

Métodos: Se evaluó la viabilidad de las semillas por 12 meses, se estableció un Diseño DCA con arreglo factorial: tratamiento pregerminativo con escarificación o semillas intactas y temperaturas de almacenamiento [ambiente (27°C) y refrigeración (4°C)]. En plántulas se midieron variables tradicionales de crecimiento hasta 280 días después de la germinación (ddg).

Resultados: Germinación: en semillas en refrigeración y escarificadas pasó del 98% en semillas recién cosechadas a 52%. Las escarificadas y almacenadas a 27°C germinaron 81%. Las semillas intactas tuvieron 32.5%, en ambiente y en refrigeración al final del experimento. Las plantas juveniles alcanzaron en promedio una altura de tallo de 37.0 cm y un diámetro basal de 5.47 mm. Se formaron 11.7 hojas simples y una trifoliolada; el área foliar fue de 51.5 cm². Las TCR fueron muy bajas en ambas variables.

Conclusiones: Las semillas escarificadas e intactas de *O. macrocalyx* disminuyen su viabilidad a los 12 meses de almacenamiento en un 46% (escarificadas) y 63% (intactas) en condiciones de refrigeración. En cuanto a 27°C, la merma en escarificadas fue de 17% y en intactas 30%. Sin embargo, las semillas intactas posiblemente permanecen en dormición hasta 12 meses. Las plantas juveniles, crecieron lentamente en los 280 ddg de revisión.

Palabras clave: Almacenamiento, escarificación, germinación, plántulas, tasa de crecimiento relativa.

Introducción

La propagación de especies forestales depende en gran medida de la calidad fisiológica de las semillas, la cual está determinada por factores como las condiciones de almacenamiento, el tiempo de conservación y la presencia de dormancia. Estos factores influyen directamente sobre la viabilidad, la germinación exitosa y el establecimiento de las plántulas, procesos clave para programas de conservación, restauración y producción forestal (Baskin & Baskin 2004).

El género *Ormosia* (Leguminosae, Papilionoideae, tribu Sophoreae) se distribuye principalmente en regiones tropicales y subtropicales de América Central y del Sur, así como en Asia y Oceanía (Azani *et al.* 2017). Sus especies presentan una elevada importancia ecológica, económica y cultural, debido al valor de su madera, al uso artesanal de sus semillas y a su potencial farmacológico (Foster, 2008; Armando *et al.*, 2020; Lokman *et al.*, 2025). En México, *Ormosia macrocalyx* Ducke se encuentra asociada a regiones tropicales húmedas, en ecosistemas

altamente fragmentados, por tal motivo se encuentra bajo la categoría “en peligro de extinción (P)”;

aunque a nivel global está caracterizada como “de Preocupación Menor (LC)” (SEMARNAT 2010, IUCN 2024).

En especies arbóreas de la familia Fabaceae la dormancia física asociada a la impermeabilidad de la testa constituye una de las principales limitantes para la germinación uniforme en condiciones en vivero. Este tipo de dormancia se origina por la presencia de capas celulares en empalizada altamente lignificadas (macroesclereidas) que restringen la imbibición de agua, y ha sido interpretado como una estrategia adaptativa para sincronizar la germinación con condiciones favorables de humedad y temperatura, incrementando la probabilidad de supervivencia durante las etapas iniciales del desarrollo (Baskin & Baskin 2004; de Souza *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2018).

En semillas con dormancia física, la viabilidad puede conservarse durante periodos prolongados siempre que las condiciones de conservación sean idóneas. El mantenimiento de la viabilidad durante el almacenamiento depende de la interacción entre el contenido de la humedad, la temperatura de conservación y las propiedades de la cubierta seminal (Vargas-Simón *et al.*, 2017; Pinheiro *et al.*, 2021).

En Fabaceae, la humedad regula la profundidad de la dormancia y la permeabilidad de la testa, mientras que la temperatura puede inducir cambios estructurales que permiten la imbibición y la activación metabólica (Baskin & Baskin 2004; Cuenca-Lombraña *et al.*, 2024). Para semillas de *O. macrocalyx*, se ha documentado que el almacenamiento bajo refrigeración (4°C) durante periodos prolongados reduce significativamente la germinación y retrasa su inicio, evidenciando pérdida de vigor asociada al tiempo de almacenamiento (Vargas-Simón *et al.*, 2017). Así mismo, temperaturas elevadas pueden generar estrés oxidativo y afectar negativamente los procesos fisiológicos durante la germinación (Reis *et al.*, 2022).

Por otra parte, evaluar la viabilidad en semillas con dormancia física pudiera representar un reto metodológico, ya que las pruebas de germinación convencionales pueden subestimar el potencial fisiológico real (Jaganathan & Biddick, 2021). El ensayo de tetrazolio se ha consolidado como una herramienta complementaria confiable para estimar la viabilidad embrionaria en especies con germinación lenta o restringida por dormancia (ISTA 2018, da Silva *et al.*, 2021). Además, la calidad fisiológica de la semilla se refleja en el crecimiento inicial de las plántulas, el cual constituye un indicador relevante del establecimiento temprano de las plantas (Guzmán *et al.*, 2023; Pozo *et al.*, 2025).

De esta forma, el presente estudio tiene por objetivo evaluar el efecto de diferentes condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad fisiológica de las semillas *O. macrocalyx*. Asimismo, se evalúan el crecimiento inicial, el desarrollo morfológico foliar y las tasas de crecimiento relativo de las plantas, con el fin de generar información que contribuya a su propagación, manejo y conservación de la especie.

Materiales y métodos

La colecta de frutos maduros con semillas se realizó en tres árboles ubicados en cerco vivo en San Pedro, municipio de Balancán, Tabasco, México (17°46'60.00" N, 91°09'31.4" W), el área tiene una altitud de 30 m, su suelo se clasificó como Cambisol crómico (Palma-López *et al.*, 2007). La región presenta un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano (Aw), de acuerdo con la clasificación de Köppen modificada por García (2004). La temperatura media anual es de 22 °C y la precipitación anual oscila entre 1500 y 2000 mm. Los frutos fueron trasladados al Laboratorio de Fisiología Vegetal (LFV) de la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiología) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, donde se realizó la extracción de semillas.

Este estudio constó de dos experimentos: 1. Viabilidad de las semillas bajo tres tratamientos de almacenamiento y 2. Evaluación del crecimiento preliminar en semillas recién cosechadas.

Experimento 1: Viabilidad de las semillas bajo condiciones de almacenamiento y tratamientos pregerminativos.

En este experimento se evaluó la viabilidad y la germinación de las semillas *O. macrocalyx* bajo dos condiciones de almacenamiento y bajo dos tratamientos pregerminativos, complementados con una prueba topográfica de viabilidad con cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolio (TZ). Todas las semillas se desinfectaron mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 3 minutos, posteriormente, se colocaron en bandejas con papel servitoalla para su presecado a la sombra durante cinco días.

Se establecieron tres tratamientos, basados en los tiempos de almacenamiento T0, semillas recién cosechadas (sin almacenamiento); T6 semillas almacenadas durante seis meses; y T12, semillas almacenadas durante doce meses. En cada uno de los tratamientos se determinó el contenido de humedad de las semillas con una termobalanza (OHAUS FineRanger™, precisión 0.01 mg): en semillas recién cosechadas el contenido de humedad fue de 8.0%. En condiciones de temperatura ambiente el contenido de humedad a los seis meses fue 6.1% y a los 12 meses fue 7.5%. En ambiente de refrigeración, a los seis meses fue 5.4% y a los 12 meses fue 5.9%.

En cada frasco hermético de vidrio (de apertización) de 500 mL de capacidad se guardaron 200 semillas por envase. Los frascos se mantuvieron bajo dos condiciones de almacenamiento: refrigeración a 4 °C (TR) y a temperatura ambiente (TA) en el LFV, durante periodos de 6 y 12 meses. Las temperaturas registradas se observan en la Tabla 1.

Tabla 1. Temperaturas ambientales registradas durante el almacenamiento de semillas de *O. macrocalyx* a los seis meses (T6) y a los doce meses (T12). Promedios y desviación estándar.

Tratamientos	Temperatura promedio (°C)	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Humedad relativa
T6	28.5 ± 4.6	31.1 ± 4.8	26.0 ± 4.5	59.5 ± 11.4
T12	29.1 ± 4.7	31.4 ± 4.9	26.9 ± 4.6	62.4 ± 12.4

La germinación se evaluó en los tres tiempos de almacenamiento (T0, T6 y T12), a su vez se sometieron a dos tratamientos pregerminativos: (TE) escarificación mecánica con lija y (TI)

semillas intactas. La escarificación se realizó en la región contraria al hilum durante 5 segundos utilizando lija de madera de grano mediano (100-120) de acuerdo con Vargas-Simón *et al* (2017). Previamente a la siembra, las semillas se retiraron de los frascos y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 24 horas; en cada evaluación las semillas fueron desinfectadas de la forma previamente descrita.

El sustrato utilizado fue una mezcla de peat moss (60 %), vermiculita G2 8.5 (20 %) y agrolita hidro (20 %). A la mezcla base se le adicionaron 250 g de fertilizante de liberación controlada: Multicote® 8 (18-06-12 de N-P-K). Todos los componentes se mezclaron manualmente hasta lograr una distribución homogénea, siguiendo las recomendaciones de SEMARNAT (2014). Las semillas se sembraron de manera alternada (en una cavidad sí y en la siguiente, no) en las cavidades de charolas forestales de polipropileno con 54 cavidades, cada una con una capacidad de 220 cm³.

Las charolas se colocaron en un invernadero de 4 × 12 m, equipado con paredes de malla antiáfidos y techo de plástico verde para invernadero (calibre 720). Las condiciones ambientales registradas se pueden observar en el Tabla 2. Los datos se obtuvieron con termómetro de máximas y mínimas, un termohigrómetro y un quantómetro Apogee DLI-600 (Apogee Instruments® Logan, UT United States of America). Las mediciones se realizaron cada tercer día a las 9:00 h. El riego se realizó *ad libitum* con agua de la red de suministro público.

Tabla 2. Condiciones ambientales del invernadero durante la germinación de semillas de *O. macrocalyx* en diferentes tiempos de almacenamiento: recién cosechadas (T0), a los seis meses (T6) y a los doce meses (T12). Promedios y desviación estándar.

Tratamientos	Temperatura promedio (°C)	Temperatura Máxima (°C)	Temperatura Mínima (°C)	Humedad relativa (%)	PAR $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
T0	31.5 ± 1.8	33.0 ± 2.0	30.3 ± 1.6	70.5 ± 12.2	63.6 ± 11.5
T6	30.3 ± 2.1	31.3 ± 2.3	29.3 ± 2.0	64.9 ± 13.7	55.5 ± 14.4
T12	30.8 ± 3.7	32.5 ± 4.0	29.2 ± 3.0	66.9 ± 12.0	55.1 ± 15.3

Prueba topográfica de tetrazolio

Para esta prueba de viabilidad se utilizó una muestra de 100 semillas, aplicado a cada tiempo de almacenamiento (T0, T6 y T12). A cada semilla se le realizó un corte en la testa contrario al hilum, utilizando un bisturí. Posteriormente, se sometieron a un prerremojado en agua destilada por una hora. Transcurrido este tiempo se colocaron en la solución de cloruro de tetrazolio al 1.0% y se mantuvieron en oscuridad a 30 °C durante 18 horas.

Al término de la tinción, las semillas se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso del colorante. La viabilidad se evaluó con base en la intensidad y uniformidad de la coloración roja presente en los cotiledones de reserva y en el embrión, los patrones de tinción de las semillas viables correspondieron a las clases 1 y 2 modificados (ISTA 2018) (Tabla 3).

Tabla 3. Patrones de clasificación de viabilidad modificados para semillas de *Ormosia macrocalyx* (Normas ISTA, 2018).

Clase	Patrón de tinción	Interpretación
Viable	1.-Tinción roja intensa y uniforme en el embrión y cotiledones de reserva (zonas esenciales). Sin áreas no teñidas.	Tejido completamente viable. Actividad deshidrogenasa máxima. Alta capacidad germinativa.
	2.-Tinción intensa. Áreas no teñidas <50% en zonas no esenciales.	Semilla viable con daño menor en tejido no esencial. Germinación esperada normal.
No viable	1.-Tinción débil o irregular en los cotiledones de reserva y embrión.	Daño en estructuras esenciales. Germinación improbable o plántula anormal esperada.
	2.-Sin tinción en toda la semilla.	Semilla muerta. Deterioro irreversible.

Evaluación de la germinación

La germinación se evaluó en semillas almacenadas de los tres tratamientos (T0, T6 y T12), mediante conteos cada siete días durante un periodo de 119 días para los tres tratamientos de almacenamiento. Se consideraron semillas germinadas cuando los cotiledones de reserva emergieron y se elevaron por encima de la superficie del sustrato.

Se evaluaron las siguientes variables:

Porcentaje de germinación (PG): se calculó como la proporción de semillas germinadas respecto al total de semillas sembradas, expresada en porcentaje.

Tasa de germinación (TG): Se estimó mediante la sumatoria del porcentaje de germinación acumulada por día de la evaluación puntual (Vargas-Simón *et al.*, 2017) de acuerdo con la expresión:

$$TG = \Sigma(PG/D)$$

donde: PG es el porcentaje de germinación en cada día de evaluación y D es el día de la evaluación.

El inicio de la germinación (IG) se determinó como el número de días transcurridos desde la siembra hasta la aparición de los primeros cotiledones de reserva sobre el sustrato.

Análisis Estadístico

Se empleó un diseño factorial 3×2×2 conformado por tres factores experimentales: almacenamiento (6 y 12 meses), Temperatura de conservación (4°C y 27°C) y tratamientos pregerminativos (escarificación mecánica vs. semilla íntegra). Las variables de respuesta evaluadas fueron el porcentaje de germinación (PG), la tasa de germinación (TG) y el inicio de la germinación (IG); en el caso del PG, se hizo una transformación arcoseno $\sqrt{x}$ con el fin de estabilizar la varianza y aproximar la normalidad. Se evaluó supuesto de la normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk. Todos los análisis se realizaron con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ con el software Statgraphics Centurion XVIII versión 18.1.13 (Statgraphics Technologies, Inc., The Plains, Virginia, USA).

Experimento 2. Evaluación del crecimiento preliminar en semillas recién cosechadas.

Las plántulas obtenidas a partir de semillas recién cosechadas y escarificadas fueron evaluadas con el fin de analizar su desarrollo y crecimiento durante 280 días posteriores a la germinación (ddg).

Se registraron variables morfológicas de crecimiento incluyendo altura del tallo (medida desde el cuello hasta el meristemo apical) y diámetro basal (medido a nivel del sustrato). La altura se

determinó con un flexómetro y el diámetro con un calibrador vernier digital (modelo HER-411, Electrónica Steren S.A. de C.V. Ciudad de México, México).

Con estos datos se calcularon las tasas de crecimiento relativo de la altura de tallo (TCRa) y del diámetro basal de tallo (TCRd), de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

La tasa de crecimiento relativo de la altura de tallo se calculó mediante:

$$TCR_h = \frac{\ln(h_2) - \ln(h_1)}{(t_2 - t_1)}$$

donde h_1 corresponde a la altura inicial, h_2 a la altura final, y $t_2 - t_1$ al intervalo de tiempo expresado en días entre evaluaciones consecutivas.

De manera similar, la tasa de crecimiento relativo del diámetro basal de tallo se estimó como:

$$TCR_d = \frac{\ln(d_2) - \ln(d_1)}{(t_2 - t_1)}$$

donde d_1 corresponde a la altura inicial, d_2 a la altura final

Además, se registró el día de la emisión de los cotiledones foliáceos (días) y la aparición de hojas verdaderas (eófilos), se cuantificó el número de eófilos producidos y se identificó su filotaxia, los cotiledones foliáceos y eófilos se caracterizaron morfológicamente. El área foliar se determinó en 87 plantas, mediante análisis digital de imágenes, se seleccionaron cinco hojas apicales y subapicales por planta. Las hojas fueron fotografiadas con una cámara de teléfono celular de resolución de 16 MP con una escala de referencia y procesadas con el software ImageJ®.v1.54s6.

La lignificación del tallo se evaluó visualmente mediante el cambio de coloración del tejido (de verde herbáceo a parduzco), estimándose como porcentaje. Así mismo, la conformación del cepellón se determinó evaluando su estructura y firmeza, estas variables se midieron al finalizar el experimento (Landis *et al.*, 2009). Durante el desarrollo del experimento se registraron las variables ambientales de temperatura máxima y mínima, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa (RAF).

Análisis Estadístico

Las tasas de crecimiento relativo de altura de tallo (TCRa) y diámetro basal de tallo (TCRd) se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con medidas repetidas, considerando tres períodos de evaluación, en días después de la germinación (67, 91 y 122 ddg). La normalidad de los datos se evaluó mediante los valores estandarizados de asimetría y curtosis (criterio ± 2), la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene y la esfericidad mediante la prueba de Mauchly. En caso de violación del supuesto de esfericidad, se aplicaron correcciones de Greenhouse-Geisser o Huynh-Feldt según correspondiera. Los datos expresados como proporciones fueron transformados mediante la función $\sqrt{x}$ antes del análisis estadístico, con el fin de estabilizar la varianza y aproximar la normalidad. Todos los análisis se realizaron con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Resultados

Experimento 1 Viabilidad y germinación bajo condiciones de almacenamiento

La escarificación promovió los porcentajes de germinación acumulada más altos en la totalidad de los tratamientos evaluados. El valor máximo se registró en semillas recién cosechadas (TRCE), con un 98% en el día 14. En comparación las semillas escarificadas almacenadas en refrigeración (TRE) durante 6 y 12 meses que presentaron los porcentajes más bajos dentro de este tratamiento, alcanzando un 51% y 52 % a los 119 días, respectivamente; lo que representa una reducción de aproximadamente 46 % y 47 % con respecto a las semillas recién cosechadas (Figura 1E). La conservación a temperatura ambiente de semillas escarificadas (TAE) durante 6 meses promovió una germinación de 87 % y 81% a los 12 meses de almacenamiento, en ambos casos a los 21 días después de la siembra (Figura 1D).

En las semillas intactas se registraron bajos porcentajes de germinación. Las semillas recién cosechadas alcanzaron el 57 % de germinación a los 119 días de evaluación. Bajo refrigeración, la germinación disminuyó 47 % y 37.0% tras 6 y 12 meses de almacenamiento. Las semillas

almacenadas a temperatura ambiente registraron 51% y 40 % en los mismos tiempos de conservación.

En la figura 1 se muestra el comportamiento germinativo acumulado de las semillas de *O. macrocalyx* sometidas a distintas condiciones de almacenamiento. La escarificación facilitó el inicio de la germinación, registrándose a los 7 días de la siembra en semillas recién cosechadas (Figura 1A) y en semillas almacenadas durante 6 meses (Figura 1B), independientemente del ambiente en que se almacenó; solo se retrasó a 14 días en semillas almacenadas en refrigeración por 12 meses (Figura 1E).

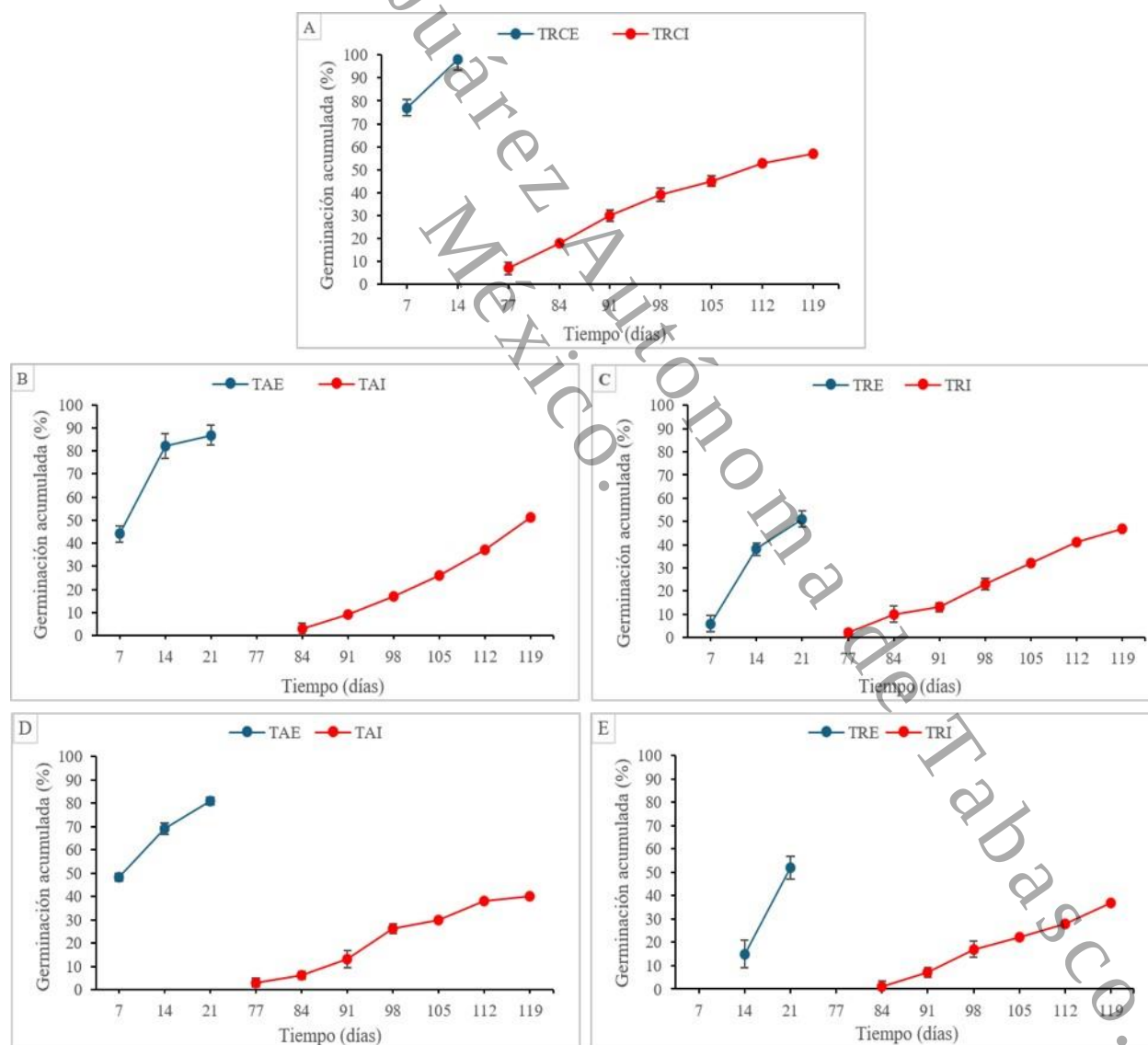


Figura 1. Germinación acumulada de semillas de *O. macrocalyx* después de diferentes tiempos de tratamiento, temperatura y almacenamiento: (A): TRCE: recién cosechadas y escarificadas; TRCI: recién cosechadas e íntactas. (B): almacenadas por 6 meses a temperatura ambiente, escarificadas (TAE) e íntactas (TAI). (C): almacenadas por 6 meses a temperatura de refrigeración, escarificadas (TRE) e íntactas (TRI). (D) almacenadas por 12 meses a temperatura ambiente, escarificadas (TAE) e íntactas (TAI). (E): almacenadas por 12 meses a temperatura de refrigeración, escarificadas (TRE) e íntactas (TRI). Las barras representan los errores estándar.

El análisis de varianza factorial mostró efectos significativos de los tres factores evaluados sobre el porcentaje de germinación (PG) de *O. macrocalyx* (Tabla 4). El tratamiento pregerminativo presentó el mayor efecto ($F = 532.52$; $P < 0.001$), seguido por la temperatura ($F = 161.88$; $P < 0.001$) y el tiempo de almacenamiento ($F = 98.75$; $P < 0.001$), indicando que la respuesta germinativa está fuertemente determinada por el tratamiento pregerminativo.

Tabla 4. Resultados del ANOVA factorial para el porcentaje de germinación de semillas de *O. macrocalyx* sometidas a distintos tiempos y condiciones de almacenamiento.

Fuente de variación	SC	gl	CM	F	p-valor
Tiempo (meses)	527.61	1	527.61	98.75	<0.001
Temperatura (°C)	864.96	1	864.96	161.88	<0.001
Tratamiento pregerminativo	2845.31	1	2845.31	532.52	<0.001
Tiempo × Temperatura	1.95	1	1.95	0.26	0.5518
Tiempo × Tratamiento	32.9	1	32.9	3.58†	0.068†
Temperatura × Tratamiento	559.38	1	559.4	60.79	<0.001
Tiempo × Temp × Tratamiento	0.44	1	0.44	0.08	0.7778
Error	128.22	24	5.34	—	—
Total	4960.77	31			

† Valor de F y p -valor corregidos usando $CM_{error} = 9.20$ (ANOVA factorial puro, $gl = 30$), en sustitución del CM_{error} del modelo completo (5.34, $gl = 24$). SC = Suma de cuadrados; gl = grados de libertad; CM = cuadrado medio; EE = error estándar.

Entre las interacciones, se observó un efecto significativo entre temperatura x tratamiento pregerminativo ($F = 60.79$; $P < 0.001$), lo que evidencia que la eficacia del tratamiento pregerminativo depende de la temperatura del almacenamiento. Las interacciones tiempo x temperatura ($F = 0.26$; $P = 0.5518$) y la interacción triple tiempo × temperatura × tratamiento ($F = 0.08$; $P = 0.7778$) no fueron significativas. La interacción tiempo × tratamiento mostró una tendencia estadística ($F = 3.58$; $P = 0.068$), sin alcanzar el umbral de significancia. El modelo

presentó un bajo error experimental ($CM = 5.34$), lo que respalda la confiabilidad de los resultados.

Con lo que respecta a la tasa de germinación de *O. macrocalyx*, en la Figura 2 se muestran los resultados bajo los diferentes tratamientos evaluados. Se observa que la escarificación incrementa la viabilidad de la germinación por día en los tratamientos independientemente de la temperatura de almacenamiento. Aunque con el tiempo, las tasas disminuyen en todos los tratamientos. Los valores de los contenidos de humedad de los tratamientos evaluados son los siguientes:

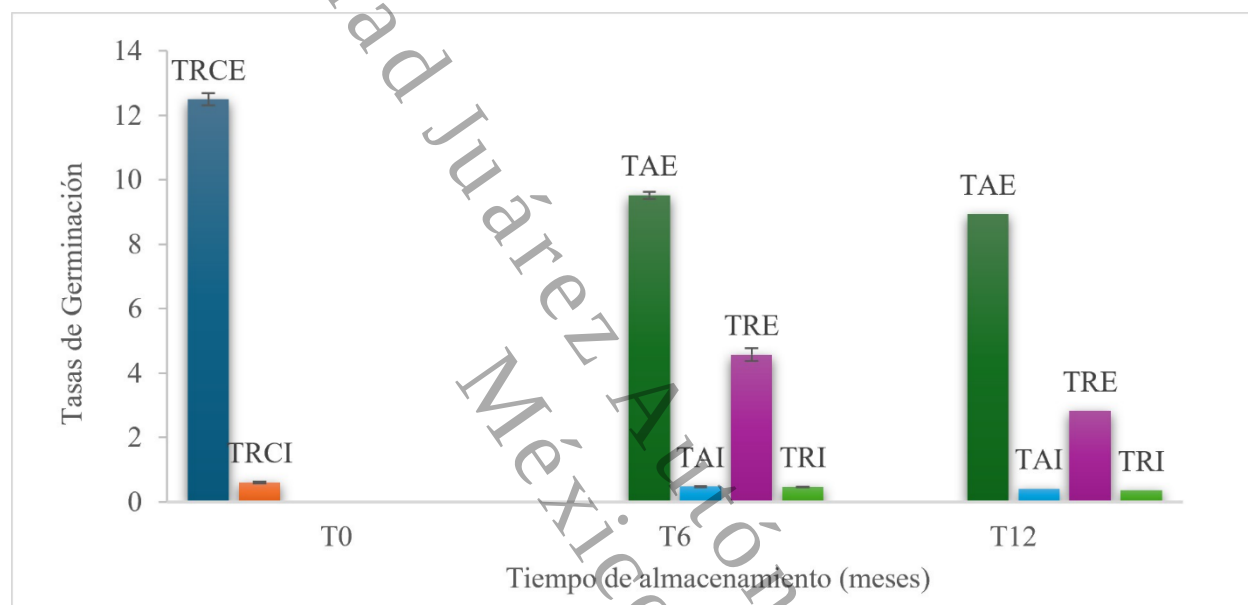


Figura 2. Tasas de germinación de semillas de *Ormosia macrocalyx* en diferentes tiempos de almacenamiento: T0: recién cosechadas; T6: 6 meses; T12: 12 meses. Bajo dos ambientes de almacenamiento: TA (temperatura ambiente), TR (temperatura refrigeración) y dos tratamientos pregerminativos: TE (semillas escarificadas), TI (semillas intactas, sin tratamiento). Las barras representan la media $\pm$ error estándar

En semillas recién cosechadas y escarificadas (TRCE) se presentaron las tasas más altas ($12.5 \text{ PG} \cdot \text{día}^{-1}$), mientras que las semillas intactas (TRCI) presentaron valores bajos ($0.61 \text{ PG} \cdot \text{día}^{-1}$). Conforme pasó el tiempo de almacenamiento los valores de esta variable disminuyeron, a los 6 meses, en semillas escarificadas se obtuvo $9.52 \text{ PG} \cdot \text{día}^{-1}$ y $4.57 \text{ PG} \cdot \text{día}^{-1}$, para los tratamientos de temperatura ambiente y refrigeración, respectivamente, mientras que en semillas intactas, los datos fueron todavía menores: $0.48 \text{ PG} \cdot \text{día}^{-1}$ y $0.47 \text{ PG} \cdot \text{día}^{-1}$ en los mismos tratamientos respectivamente.

A los 12 meses, se repitió el mismo patrón que en el tiempo de conservación anteriormente mencionado. Siendo las tasas de germinación para semillas escarificadas de $8.93 \text{ PG} \cdot \text{día}^{-1}$ y de

2.83 PG·día⁻¹, en los tratamientos de temperatura ambiente y refrigeración. Para semillas intactas se registraron tasas de 0.41 PG·día⁻¹ y 0.36 PG·día⁻¹.

Prueba topográfica de tetrazolio

La viabilidad de las semillas de *O. macrocalyx* evaluada mediante la prueba de tetrazolio (TZ), conforme a las normas ISTA (2018) se muestra en la Tabla 5, para este análisis todas las semillas fueron escarificadas, mostrando una reducción progresiva en función del tiempo y de las condiciones de almacenamiento.

Tabla 5. Viabilidad de semillas de *Ormosia macrocalyx* por tratamiento de almacenamiento (prueba de tetrazolio, ISTA 2018).

Condición de almacenamiento	Semillas viables (%)	Semillas no viables (%)
Recién cosechadas	96	4
6 meses / temp. ambiente	90	10
6 meses / refrigeración	70	30
12 meses / temp. ambiente	88	12
12 meses / refrigeración	65	35

En la Figura 3 se muestra gráficamente a las semillas viables y no viables, las figuras 3A, 3B, 3C y 3D corresponden a semillas viables ya que las estructuras fundamentales (cotiledones de reserva y embrión) están teñidas totalmente. Las figuras 3E, 3F y 3G se consideran no viables porque la tinción es débil e irregular. La figura 3H es definitivamente no viable ya que no presenta ninguna pigmentación.



Figura 3. Evaluación de la viabilidad en semillas de *Ormosia macrocalyx* mediante la prueba de tetrazolio. (A–D) Semillas viables, caracterizadas por tinción uniforme o parcial de cotiledones y embrión; (E–H) semillas no viables,

con ausencia de tinción o daño en estructuras críticas. La interpretación se realizó conforme a criterios establecidos en International Rules for Seed Testing (ISTA, 2018). Fuente: elaboración propia.

Experimento 2. Evaluación del crecimiento preliminar en semillas recién cosechadas.

La germinación de *O. macrocalyx* fue epígea fanerocotilar con cotiledones de reserva. El proceso germinativo inició a los 7 días después de la siembra con la emisión de los cotiledones de reserva, aún protegidos por la testa. Posteriormente ocurrió la separación de la cubierta seminal y la emergencia del epicótilo. A los 10 días se observó el par de paracotiledones, estos se caracterizaron por ser opuestos de color verde brillante, limbo de forma ovada, base redondeada, ápice marcadamente acuminado y margen entero. El primer eófilo se desarrolló a los 15 días, mientras que el segundo eófilo a los 28 días (Figura 4).

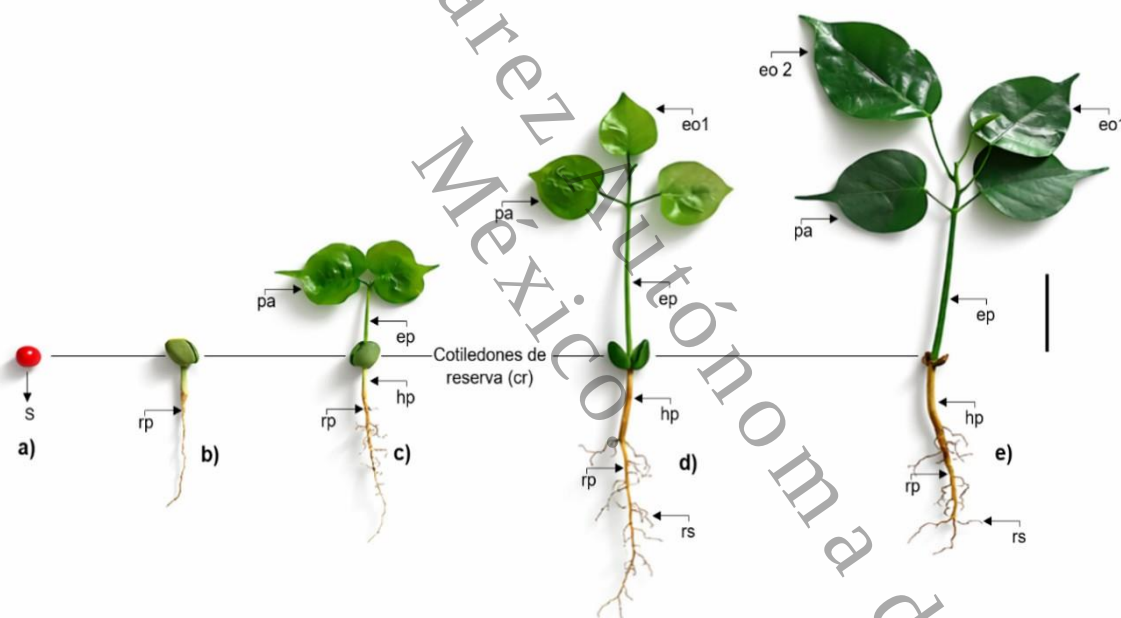


Figura 4. Etapas de desarrollo de las plántulas: a) semilla, b) inicio de germinación (7 días) c) plántulas 10 días con par de paracotiledones d) plántulas (15 días) con un eófilo, e) plántulas (28 días) con dos eófilos. cr - cotiledones de reserva; rp - raíz primaria; rs - raíces secundarias; hp - hipocótilo; ep - epicótilo; pa - paracotiledones; eo1 - primer eófilo; eo2 - segundo eófilo. La línea de la escala representa 5 cm

Al final del experimento, a los 280 días después de la germinación, las plantas alcanzaron una altura de tallo de 37.0 ± 3.96 cm y un diámetro basal de tallo de 5.47 ± 1.46 mm (Figura 5). Los tallos presentaron un grado de lignificación estimado entre 50 y 75% de la longitud total.

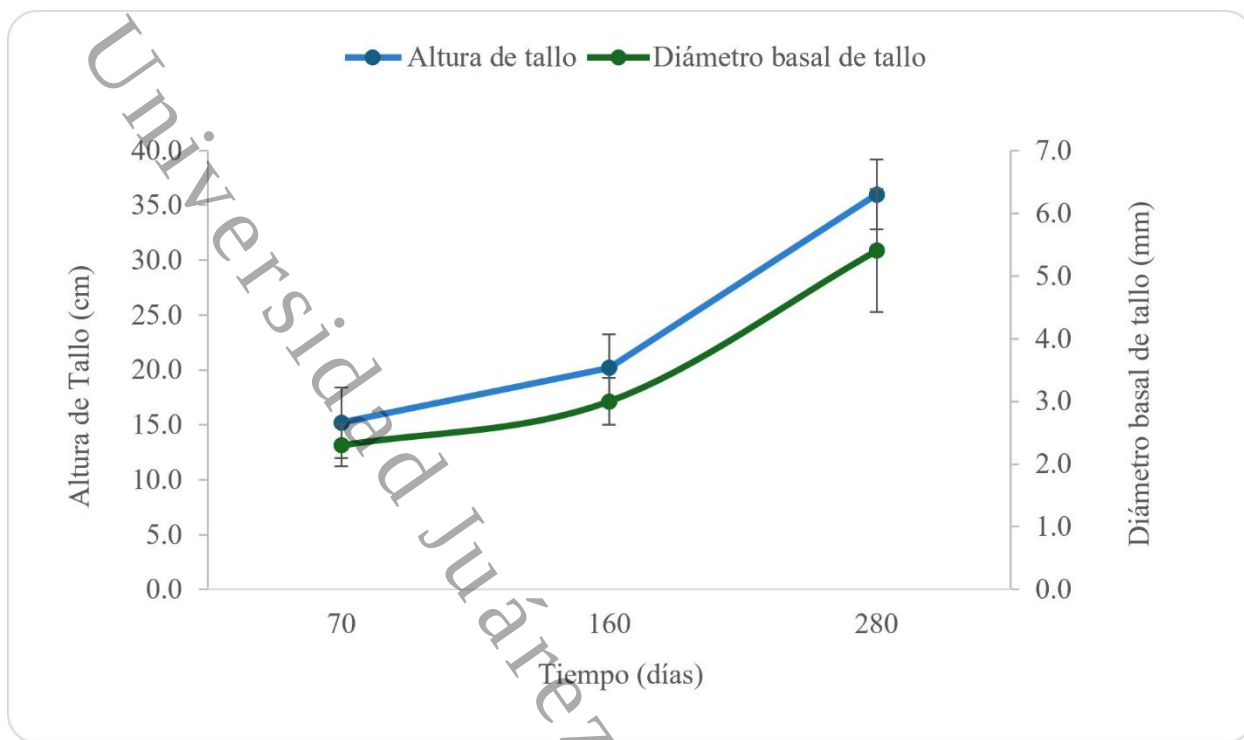


Figura 5. Crecimiento en altura de tallo y diámetro basal del tallo de plántulas de *Ormosia macrocalyx* 280 ddg, bajo condiciones de invernadero.

Asimismo, el cepellón mostró una conformación estructural adecuada, caracterizada por un eje central y raíces laterales bien distribuidas, sin deformaciones visibles y con múltiples puntos de crecimiento activo, ocupando aproximadamente entre el 80 y 95 % del volumen del contenedor (Figura 5 a). También, se observaron nódulos radiculares probablemente de bacterias fijadoras de nitrógeno, los cuales se presentaron tanto de forma aislada como en agregados compactos distribuidos principalmente en las raíces laterales (Figura 5 b y c).

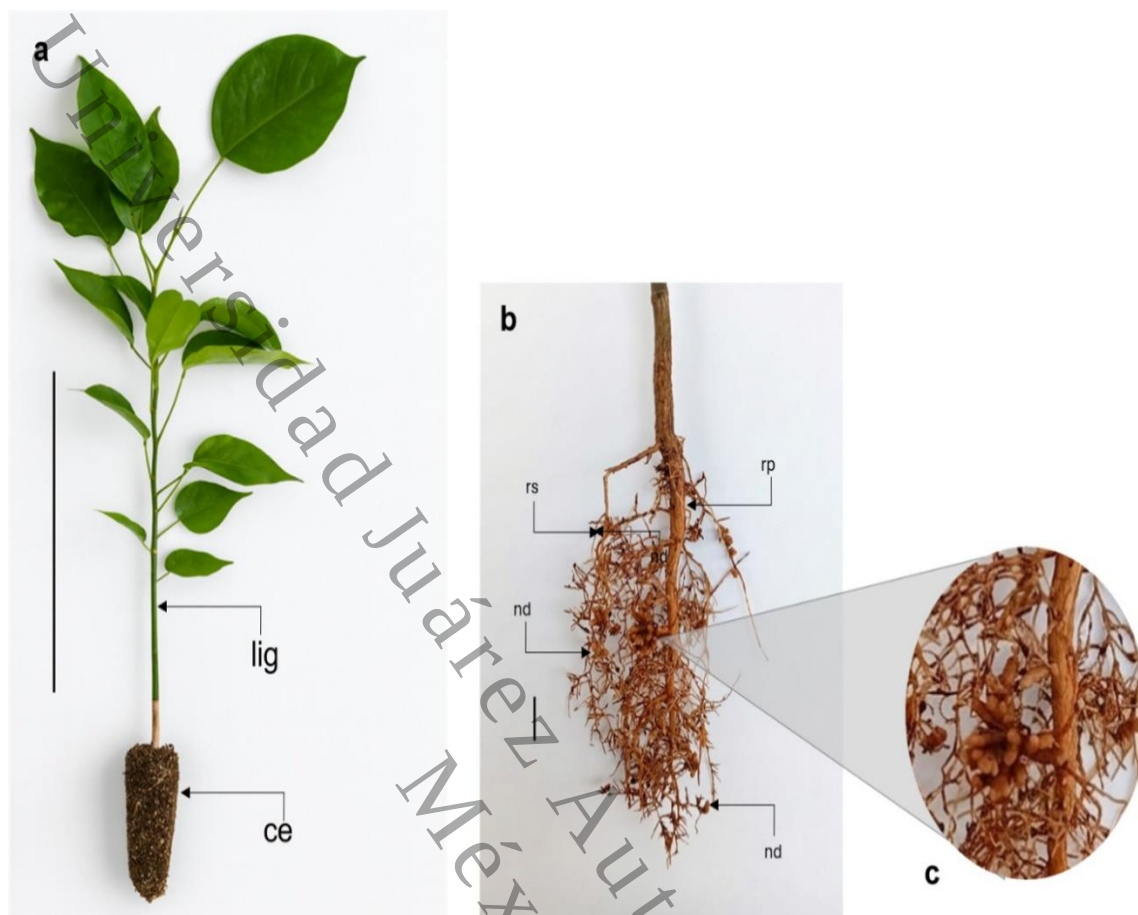


Figura 6. Morfología de la planta juvenil de *Ormosia macrocalyx*: a) Vista general de la planta, mostrando filotaxia alterna, lignificación del tallo (lig) y el cepellón (ce). La línea representa 20 cm. b) Sistema radicular, indicando la raíz principal (rp), raíces secundarias (rs) y nódulos radiculares (nd). c) Detalle de nódulos radiculares. La línea representa 1 cm.

Emisión de hojas y área foliar

La emisión de estructuras foliares mostró un incremento progresivo durante el periodo de evaluación. El número promedio de eófilos simples por planta fue 11.72 ± 2.99 a los 280 ddg, en esta última evaluación se desarrollaron hojas trifolioladas con un promedio de 1.57 ± 0.60 eófilos por planta (Tabla 6).

En una primera etapa (hasta 160 ddg), los eófilos se caracterizaron por tener una lámina ovada a ampliamente elíptica, margen entero, ápice agudo y base redondeada; la superficie fue glabra, de textura subcoriácea y color verde brillante en el haz. Con una vena principal conspicua y nervaduras secundarias poco evidentes (Figura 7a). Al final del experimento (280 ddg) se observó que los eófilos simples y el eófilo trifoliolado presentaron una lámina de forma más lanceolada y una base menos atenuada, el ápice menos acuminado, evidenciando una fenología

gradual en la morfología foliar durante el desarrollo juvenil (Figura 7b). El área foliar por planta promedio registrada fue $51.55 \pm 22.71 \text{ cm}^2$ a los 280 ddg.

Tabla 6. Número de eófilos simples y trifoliolados, y área foliar en plantas juveniles de *Ormosia macrocalyx* en condiciones de invernadero en diferentes tiempos (días después de la germinación: ddg). Datos expresados como media $\pm$ desviación estándar.

Variable	70 ddg	160 ddg	280 ddg
Eófilos simples por planta	2.13 ± 0.75	4.21 ± 1.37	11.72 ± 2.99
Eófilos compuestos (3 folíolos/planta)	—	—	1.57 ± 0.60

N = 100

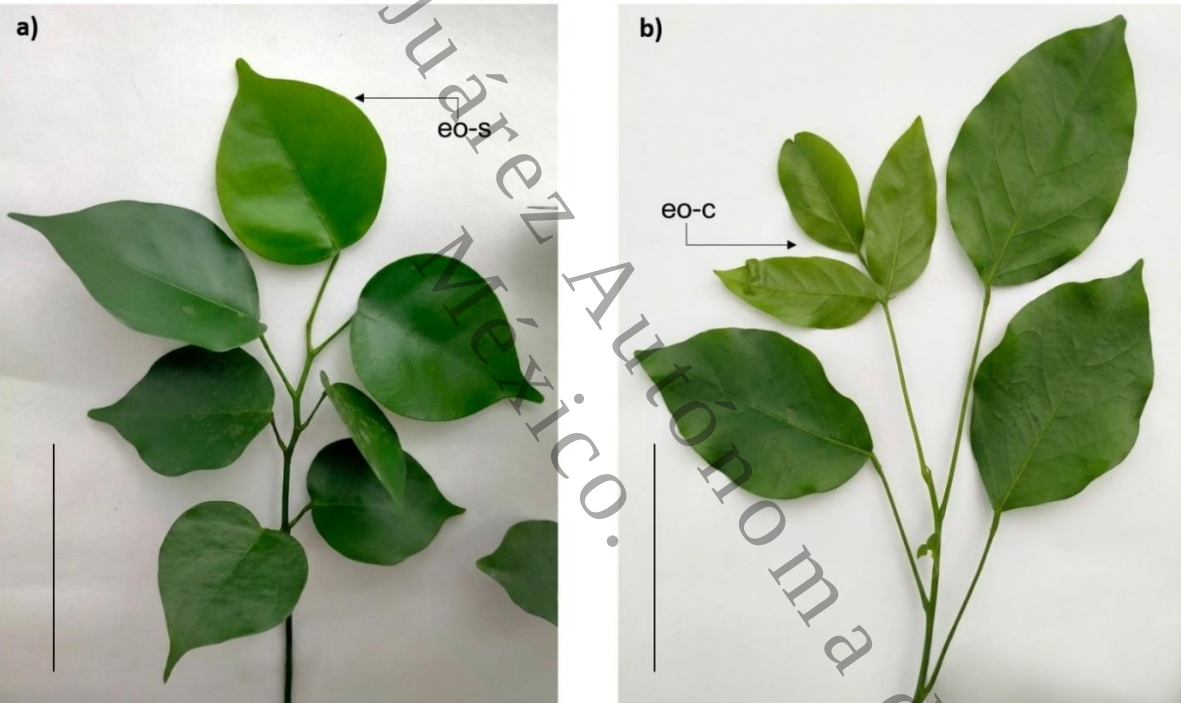


Figura 7. Morfología foliar en plantas juveniles de *Ormosia macrocalyx*. (a) Eófilos simples juveniles observadas a los 160 (ddg), (b) eófilos simples y un eófilo compuesto trifoliolado a los 280 ddg. La línea representa 10 cm.

Tasa de Crecimiento de altura de tallo y diámetro basal de tallo (TCR).

La TCR en altura del tallo presentó diferencias estadísticas significativas entre los periodos evaluados ($F = 4216.92$; $P < 0.001$) y en el diámetro basal de tallo, también se obtuvieron diferencias estadísticas significativas ($F = 389.43$; $P < 0.001$). En la Figura 8 se muestra la tendencia de las tasas de crecimiento relativa durante el experimento, en esta etapa preliminar de crecimiento las tasas fueron decrecientes en este proceso.

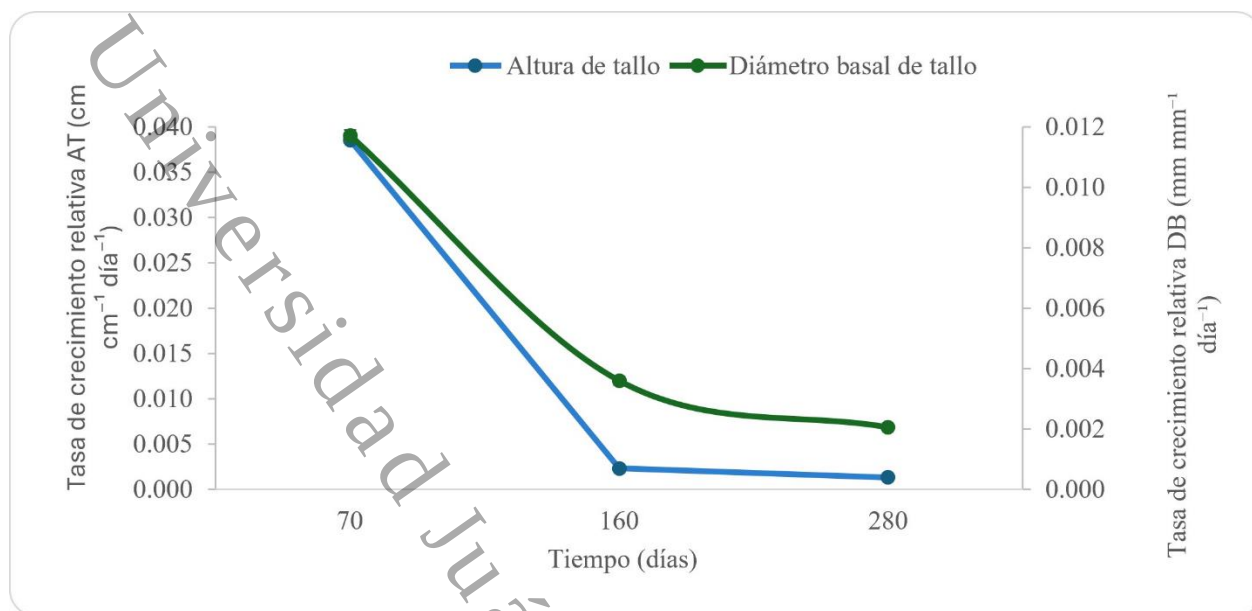


Figura 8. Tasa de crecimiento relativa para altura de tallo (cm cm⁻¹ día⁻¹) y diámetro basal de tallo (mm mm⁻¹ día⁻¹).

Discusión

Experimento 1:

Los resultados de este estudio confirman que las semillas de *O. macrocalyx* presentan dormancia física asociada a la impermeabilidad de la testa, un rasgo ampliamente documentado en Fabaceae (Baskin & Baskin, 2004; Silva *et al.*, 2018). La escarificación mecánica se identificó como el factor determinante para romper dicha dormancia, alcanzando hasta 98 % de germinación en semillas recién cosechadas. Este valor es superior al reportado por Vargas-Simón *et al.* (2017) para la misma especie, quienes observaron 68 % de germinación con escarificación mecánica y 20 % en el control, utilizando semillas almacenadas en refrigeración, lo que sugiere una posible reducción de viabilidad o cambios fisiológicos asociados al almacenamiento. De forma consistente, Pozo-Gómez *et al.* (2026) registraron 83 % de germinación en semillas escarificadas frente a 31.33 % en el control, confirmando la dependencia de la ruptura mecánica de la testa para la activación del proceso germinativo. Patrones similares han sido descritos en otras especies del género *Ormosia*, como *Ormosia arborea* (Vell.) Harms y *Ormosia nítida* Vog donde la escarificación mecánica incrementa significativamente la germinación respecto a semillas no tratadas (Lopes *et al.*, 2006; Gonçalves *et al.*, 2011).

La dormancia física constituye una estrategia adaptativa que sincroniza la germinación con condiciones ambientales favorables (Baskin & Baskin, 2004). Esta dormancia es consecuencia de la impermeabilidad de la testa, condición estructural vinculada a la presencia de capas de

macroesclereidas altamente lignificadas que impiden la imbibición de agua (de Souza *et al.*, 2015).

La evidencia anatómica para *O. macrocalyx* reportada por Ruiz-Vidal *et al.* (2026), basada en análisis histológicos de la semilla, confirma también la presencia de tejidos esclerenquimáticos en la cubierta seminal compuesta por una capa de macroesclereidas y una de osteoesclereidas. Hallazgos similares se encontraron en *Ormosia paraensis* Ducke, *Ormosia hosiei* Hemsl. & E.H. Wilson y en *Ormosia henryi* Prain (Silva *et al.*, 2018; Dai *et al.*, 2023; Shang *et al.*, 2025).

Cabe resaltar que la testa de estas semillas tiene un área que carece de tejido esclerenquimático, ubicada en la región hilar (Ruiz-Vidal *et al.*, 2026). Estudios basados en resonancia magnética (MRI), experimentos con colorantes (azul de metileno y fluoresceína), microtomografía computarizada de rayos X (Micro CT) y microscopía electrónica (SEM) han demostrado que la imbibición del agua se produce en dicha zona, se transporta a la chalaza por medio de haces vasculares remanentes, mientras que la mayor parte de la cubierta seminal permanece impermeable (Silva *et al.*, 2018; Dai *et al.*, 2023; Shang *et al.*, 2025).

La temperatura de conservación tuvo un efecto significativo sobre la viabilidad de *O. macrocalyx*, siendo la refrigeración a 4 °C la condición asociada con la mayor reducción del porcentaje de germinación tras 12 meses. Este comportamiento difiere del patrón esperado en semillas ortodoxas de Fabaceae, donde el almacenamiento a bajas temperaturas y bajo contenido de humedad prolonga la viabilidad (Baskin & Baskin, 2004; De Vitis *et al.*, 2020), estudios posteriores serían esenciales para determinar su comportamiento frente al almacenamiento. Sin embargo, coincide con lo reportado específicamente para esta especie, donde la refrigeración reduce tanto la germinación como el vigor fisiológico durante el almacenamiento prolongado (17 meses) (Vargas-Simón *et al.*, 2017).

Un patrón similar fue descrito en *Coccoloba uvifera* (L.) Jacq., cuyas semillas conservaron mayor viabilidad a temperatura ambiente que bajo refrigeración, evidenciando un deterioro progresivo durante el almacenamiento a bajas temperaturas (Vargas-Simón & Pire, 2010). Estos antecedentes sugieren que algunas especies arbóreas tropicales pueden presentar una respuesta desfavorable a la refrigeración prolongada, en contraste con el comportamiento esperado para semillas ortodoxas (De Vitis *et al.*, 2020).

En cuanto a las semillas intactas, su baja respuesta germinativa en todos los tratamientos confirma que, sin la ruptura mecánica de la testa, el agua y los gases no logran atravesar

eficientemente la cubierta seminal, manteniendo al embrión en un estado de latencia prolongada (Baskin, 2003).

La prueba de tetrazolio mostró una alta viabilidad inicial en las semillas recién cosechadas de *O. macrocalyx* (96%). Esta prueba se basa en la actividad de las enzimas deshidrogenasas presentes en los tejidos vivos, la cuales reducen la sal incolora de cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio (TTC) a formazán, un compuesto insoluble de color rojo carmín que se acumula únicamente en las células metabólicamente activas (França-Neto & Krzyzanowski, 2019). La clasificación de viabilidad se determinó con base en la intensidad de la tinción de los embriones y los cotiledones de reserva lo que indica que la mayoría de los embriones mantenían actividad respiratoria activa y una adecuada integridad fisiológica al momento de la evaluación. Los patrones de tinción coincidieron con los criterios establecidos por la *International Seed Testing Association* (ISTA 2018).

Este resultado coincide con lo reportado por Pozo-Gómez *et al.* (2026) para la misma especie, quienes documentaron elevados porcentajes de germinación y viabilidad en semillas recién recolectadas. Asimismo, estudios realizados en *O. arborea* han demostrado que el ensayo de tetrazolio constituye una herramienta eficiente para identificar semillas viables mediante la evaluación de la integridad de los tejidos embrionarios (Silva *et al.*, 2021).

La pérdida de viabilidad durante el almacenamiento coincidió con la reducción progresiva del número de semillas con tejidos embrionarios funcionales. Aunque la prueba de tetrazolio no permite determinar directamente las causas del deterioro fisiológico, sí proporciona una estimación rápida y confiable del estado metabólico de los tejidos vivos a través de la actividad de las enzimas deshidrogenasas (França-Neto & Krzyzanowski, 2019). Esto se comprobó en las semillas almacenadas bajo refrigeración que se consideraron no viables por el deterioro de sus tejidos

Experimento 2:

El patrón germinativo de *O. macrocalyx* corresponde al tipo fanerocotilar epigeo con cotiledones de reserva de acuerdo con la clasificación propuesta por Pérez-Harguindeguy *et al.* (2013). Este patrón se caracteriza por la elongación del hipocótilo, que eleva los cotiledones por encima de la superficie del sustrato, mientras éstos mantienen principalmente una función de almacenamiento de reservas. El modelo observado en *O. macrocalyx* coincide con las descripciones realizadas previamente para esta especie por Vargas-Simón *et al.* (2017). Cabe resaltar que este rasgo funcional es diferente en otras especies del género, como *O. arborea*, *Ormosia coccinea* (Aubl.)

Jacks, *O. paraensis* y *Ormosia smithii* Rudd., las cuales se han caracterizado por mostrar germinación criptocotilar hipógea con cotiledones de reserva y en *Ormosia coutinhoi* Ducke, *O. panamensis*, *Ormosia discolor* Spruce ex Benth. y *Ormosia fastigiata* Tul, presentan germinación fanerocotilar hipógea con cotiledones de reserva (Hartmann y Rodrigues 2015). Estas diferencias reflejan diversas estrategias regenerativas dentro del género *Ormosia* para establecerse y evidencian la utilidad de los caracteres morfofuncionales de las plántulas para estudios sistemáticos de especies tropicales en la sucesión ecológica (Pérez Harguindeguy *et al.*, 2013).

La morfología de los paracotiledones en *O. macrocalyx*, caracterizada por su disposición opuesta, forma ovada y ápice acuminado, coincide en varios aspectos con lo descrito para *O. paraensis* en estudios morfoanatómicos de semillas y plántulas (Silva *et al.*, 2015; Vargas-Simón *et al.*, 2017). De manera similar, otras especies del género, como *O. arborea* y *O. fastigiata*, muestran patrones comparables durante las fases iniciales de desarrollo (Gurski *et al.*, 2009). Este conjunto de evidencias sugiere que existen rasgos compartidos en la etapa de plántula dentro de *Ormosia*, aunque su expresión no es completamente uniforme entre especies, especialmente cuando se consideran variables de crecimiento y respuesta funcional reportadas en estudios comparativos (Jia *et al.*, 2019; He *et al.*, 2020). En el caso de las Leguminosae-Papilionoideae, la morfología de plántulas ha sido ampliamente utilizada como fuente de caracteres con valor taxonómico y sistemático (Rodrigues & Tozzi, 2007).

La altura del tallo de *O. macrocalyx* fluctuó entre 33.0-40.9 cm a los 280 ddg y diámetro basal promedio de tallo fue 5.47mm a los 280 ddg. Estos valores son superiores a los reportados para la misma especie por Hernández-Sánchez *et al.* (2021) en condiciones de vivero, aunque su tiempo de evaluación consistió en 105 días. A nivel de género, los valores de altura y diámetro basal alcanzados por *O. macrocalyx* son consistentes con los registrados por He *et al.* (2025) para *O. henryi* y *O. hosiei*, documentaron patrones de crecimiento de magnitud similar, aunque en individuos de tres años, lo que sugiere que *O. macrocalyx* presenta un crecimiento inicial relativamente comparable con el género. En especies del género *Ormosia*, el crecimiento de las plántulas presenta diferencias entre procedencias y responde tanto a factores genéticos como ambientales, evidenciando una marcada plasticidad durante las etapas iniciales de desarrollo (Jia *et al.*, 2019).

Los estándares mínimos establecidos por la Norma Mexicana NMX-AA-170-SCFI-2016 para especies latifoliadas, establecen una altura de 20 a 25 cm y diámetro basal 5 mm como indicadores de calidad de planta. Entonces, las variables obtenidas en *O. macrocalyx* de este experimento pudieran considerarse válidas.

El grado de lignificación observado en los tallos de *O. macrocalyx* fue de 2/3 al final del experimento cumpliendo con los criterios de calidad establecidos en la NMX-AA-170-SCFI-2016, donde se estipula que una planta de vivero debe tener esa proporción de dureza para obtener una alta supervivencia en campo. Landis (2009) sugiere que esta característica representa la formación de tejido secundario y diferenciación de tejidos de conducción, etapas consideradas importantes en la producción de plantas forestales de calidad.

La presencia de nódulos en el sistema radicular de *O. macrocalyx* (observada al final del experimento), localizados principalmente en raíces laterales y dispuestos tanto de manera aislada como en agregados compactos (Figura 6), sugiere la capacidad potencial de esta especie para establecer asociaciones simbióticas con bacterias fijadoras de nitrógeno, proceso que deberá ser comprobado. Mecanismos simbióticos ampliamente conocidos en las Fabaceae y constituye una estrategia adaptativa relevante para la adquisición de nitrógeno (Werner 2005, Sprent *et al.* 2013). Se comprobó esta asociación en un estudio en *O. hosiei* donde, las plantas se inocularon con *Rhizobium tropici* para incrementar su crecimiento (Zhu *et al.*, 2026).

Así mismo, la formación de un cepellón íntegro y bien cohesionado constituye un criterio importante en la evaluación de la calidad de planta producida en contenedores. Un sistema radicular que ocupa gran parte del volumen disponible del recipiente favorece la cohesión del sustrato y presenta numerosos ápices radiculares activos, los cuales incrementan el potencial de emisión de nuevas raíces después del trasplante. Esta capacidad promueve una rápida exploración del suelo, mejora la absorción de agua y nutrientes y contribuye a disminuir el estrés asociado al establecimiento en campo (Grossnickle & MacDonald, 2018). El objetivo mencionado se obtuvo en la planta producida de *O. macrocalyx* (Figura 6); además hubo una ausencia de raíces deformadas lo que indica que las condiciones de cultivo permitieron un desarrollo radicular adecuado y su supervivencia en campo podría ser alta (NMX-AA-170-SCFI-2016).

La emisión foliar mostró un incremento en número de eófilos simples, patrón que coincide con el crecimiento juvenil descrito en el género *Ormosia*, donde la producción foliar se incrementa conforme avanza el crecimiento (Jia *et al.* 2019). La formación tardía de eófilos trifoliolados es consistente con lo reportado en *O. henryi* y otras especies del género, donde la transición de eófilos simples a compuestos ocurre en etapas avanzadas del desarrollo juvenil y se asocia a ajustes funcionales del sistema fotosintético, con alta influencia de la variación genética y ambiental (Jia *et al.* 2019; He *et al.* 2025). En Fabaceae arbóreas se ha documentado que esta transición ontogénica se asocia con plasticidad fenotípica y ajustes en la arquitectura foliar

durante el crecimiento preliminar, asociado a variación en la velocidad de desarrollo individual (Tomaz *et al.* 2018)

Estudios en plantas de *O. paraensis* demostraron que el área foliar constituye un rasgo morfofuncional estrechamente asociado con la capacidad de interceptación de luz y el intercambio gaseoso, por lo que su evaluación permite inferir el desempeño fotosintético durante las primeras etapas de crecimiento (dos Santos *et al.*, 2018). De manera similar, en plántulas de *Ormosia olivacea* H.Y.Chen, *Ormosia pachycarpa* Champ. ex Benth.y *Ormosia sericeolucida* H.Y.Chen se observó que las diferencias en atributos foliares estuvieron relacionadas con variaciones en la capacidad fotosintética y en el aprovechamiento de recursos, evidenciando la importancia de las características de la hoja en el crecimiento de especies amenazadas del género (Yan *et al.*, 2025). En especies arbóreas tropicales, además, el área foliar ha sido reconocida como un indicador funcional del potencial de captura de radiación y acumulación de biomasa durante la fase de vivero (Brito-Rocha *et al.*,2016).

Las características foliares de los eófilos en este estudio son completamente diferentes a las hojas de los árboles adultos. Rudd (1964) reporta hojas imparipinnadas con 7–11 folíolos; sin embargo, en este trabajo solo hay concordancia en la forma de los folíolos, en que son glabros y de consistencia ovada a ovado-oblonga. Este patrón coincide con los cambios ontogénicos descritos en otras especies de *Ormosia* durante las etapas tempranas de crecimiento (Gurski *et al.*, 2012). Estas similitudes sugieren la presencia de rasgos morfológicos conservados en algunas especies del género *Ormosia*, aunque su desarrollo foliar muestra variaciones entre la fase juvenil y en la adulta de acuerdo con referencias bibliográficas (Chitwood & Sinha, 2016; Nicotra *et al.*, 2011).

Tasas de crecimiento relativa

Las condiciones de luz que se registraron como radiación fotosintéticamente activa (RFA) durante el experimento (280 ddg), fueron entre 28.5-41.06 $\mu\text{m}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, registrándose bajas tasas de crecimiento en *O. macrocalyx* a lo largo del periodo experimental. Este comportamiento es consistente con la estrategia ecológica de las especies de sucesión tardío, en las cuales la disminución de la disponibilidad de luz limita progresivamente en el crecimiento y reduce las tasas de crecimiento relativo en las plántulas (Díaz-Talamantes *et al.*, 2025). Este patrón coincide con lo reportado por Krause *et al.* (2012) quienes demostraron que *O. macrocalyx* está adaptada al establecimiento en condiciones de sombra, donde mantiene un mejor desempeño fisiológico, mientras que la exposición a irradiación elevada reduce la asimilación del CO_2 y el crecimiento debido a procesos de fotoinhibición. De manera consistente, Vargas-Simón *et al.* (2017) señalan

a *O. macrocalyx* como una especie que se establece naturalmente bajo el dosel del bosque, donde las condiciones de baja disponibilidad de luz favorecen el establecimiento de las plantas. Bendezú (2025) documentó que, en una plantación de 25 años de edad en Perú, la especie alcanzó un diámetro a la altura pecho (DAP) promedio de 15.0 cm y una altura total de 12.0 m, además de presentar un crecimiento inferior al de las demás especies forestales evaluadas. Complementariamente, Pérez-Hernández *et al.* (2011) recomendó 60% de sombra para un mejor desempeño en su crecimiento inicial. Resultados similares se registraron en plántulas de *Eugenia stipitata* y *Theobroma cacao*, en condiciones de $150 \mu\text{m}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ de RFA, dichas especies tienen un estatus sucesional tardía (Ortiz *et al.*, 2021).

Los ambientes de baja intensidad lumínica limitan la tasa fotosintética en especies heliófilas, estas requieren valores de RFA $>100 \mu\text{m}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, para que se promueva una mayor apertura estomática y en consecuencia la elevación de la conductancia estomática, y la transpiración (Lv *et al.*, 2024). Patrón similar se observó en árboles de algunas especies de diferente estatus sucesional creciendo en luz difusa y RAF menores a $400 \mu\text{m}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ (Berry & Golsmith, 2020).

Conclusión

La viabilidad de las semillas de *Ormosia macrocalyx* fue afectada por el tiempo (12 meses) y por la temperatura fría (4°C) en las que se mantuvieron almacenadas. Las pruebas de germinación y las topográficas con cloruro de tetrazolio demostraron su pérdida de viabilidad en 65 % en semillas escarificadas y 35% en intactas; siendo la temperatura ambiente ($23.9\text{-}33.8^{\circ}\text{C}$) y la escarificación los mejores tratamientos para su conservación por dicho período de tiempo y para conservar una viabilidad de 81%. Las tasas de germinación en semillas intactas fueron bajas en todos los tiempos de evaluación, pasaron del 57% a 40% en temperatura ambiente. Este experimento indica que el tratamiento pregerminativo facilita la rapidez y la homogeneidad en la germinación, pero existe un deterioro progresivo después de un año de almacenamiento.

La germinación de *O. macrocalyx* fue fanerocotilar epígea con cotiledones de reserva, en las condiciones de invernadero se promovió una altura de tallo promedio de 37.0 cm y 5.47 mm de diámetro basal promedios, en 280 días después de la germinación, su filotaxia se consideró alterna. Se obtuvieron 11.7 eófilos simples en promedio por planta y 1.57 eófilos trifoliolados. Se observaron nódulos radiculares a comprobar su eficiencia simbiótica, el sistema radicular formó un cepellón bien estructurado y se obtuvo una lignificación del tallo entre 50-75 %, estándares mínimos determinados por la norma mexicana para especies latifoliadas establecidas en vivero para su trasplante en campo. Aunque, para alcanzar estas características, requiere alrededor de 9 meses, esto se demostró por sus bajas tasas de crecimiento relativo calculadas, entonces

estaría considerada como una especie de lento crecimiento y desarrollo. Sin embargo, dado que es una especie amenazada, este estudio aporta datos importantes para su propagación y su conservación.

Agradecimientos

La primera autora agradece a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) del Gobierno de México por la beca de maestría (CVU No. 1298278).

Literatura Citada

- Armando, L., Marina, J., & Sinbad, G. 2020. Propiedades tecnológicas de la madera de *Ormosia paraensis* Ducke proveniente de la Amazonía suroriental del Perú. En: Barros-Justo JL, editor. *Engenharia Industrial Madeireira: Tecnologia, Pesquisa e Tendências*. Editora Científica Digital, Brasil. p. 286–304. <https://doi.org/10.37885/201101950>
- Azani N, Babineau M, Bailey CD, Banks H, Barbosa AR, Pinto RB, Zimmerman E, et al. 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon* 66: 44–77. <https://doi.org/10.12705/661.3>
- Baskin JM, Baskin CC, Li X. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Species Biology* 15: 139–152. <https://doi.org/10.1046/j.1442-1984.2000.00034.x>
- Baskin JM, Baskin CC. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14: 1-16. <https://doi.org/10.1079/SSR2003150>
- Flores Bendeزú Y. 2025. Evaluación del crecimiento y biomasa aérea de cuatro especies forestales nativas en plantación forestal en Ucayali, Perú. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable* 7: 42–53. <https://doi.org/10.25127/agrops.20251.1135>
- Berry ZC, Goldsmith GR. 2020. Diffuse light and wetting differentially affect tropical tree leaf photosynthesis. *New Phytologist* 225: 143-153. <https://doi.org/10.1111/nph.16121>
- Brito-Rocha E, Schilling AC, Dos Anjos L, Piotto D, Dalmolin AC, Mielke MS. 2016. Regression models for estimating leaf area of seedlings and adult individuals of Neotropical rainforest tree species. *Brazilian Journal of Biology* 76: 983-989. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.05515>
- Cernusak LA, Winter K, Martínez C, Correa E, Aranda J, Garcia M, Turner BL. 2011. Responses of legume versus nonlegume tropical tree seedlings to elevated CO2 concentration. *Plant Physiology* 157: 372-385. <https://doi.org/10.1104/pp.111.182436>
- Chitwood DH, Sinha NR. 2016. Evolutionary and environmental forces sculpting leaf development. *Current Biology* 26: R297-R306. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.02.033>

- Cuena Lombraña A, Dessì L, Podda L, Fois M, Luna B, Porceddu M, Bacchetta G. 2024. El efecto del choque térmico en la liberación y germinación de latencia de semillas en dos especies raras y en peligro de extinción de *Astragalus* L. (Fabaceae). *Plants* 13: 484. <https://doi.org/10.3390/plants13040484>
- Da Silva AL, Carlos HCV, Rivaben RC, Silva LJ, Dias DCFS, Morais GA, Lima LB. 2021. Tetrazolium and interaction of temperature and light under seed germination in *Ormosia arborea* (Fabaceae). *Revista de Agricultura Neotropical* 8: e5206. <https://doi.org/10.32404/reaan.v8i1.5206>
- Dai L, Chen Y, Wei X. 2023. Hard seed characteristics and seed vigor of *Ormosia hosiei*. *Agriculture* 13: 1077. <https://doi.org/10.3390/agriculture13051077>
- De Vitis M, Hay FR, Dickie JB, Trivedi C, Choi J, Fiegenger R. 2020. Seed storage: maintaining seed viability and vigor for restoration use. *Restoration Ecology* 28: S249-S255. <https://doi.org/10.1111/rec.13174>
- de Souza TV, Torres IC, Steiner N, Paulilo MT. 2015. Seed dormancy in tree species of the Tropical Brazilian Atlantic Forest and its relationships with seed traits and environmental conditions. *Brazilian Journal of Botany* 38: 243-264. <https://doi.org/10.1007/s40415-014-0129-3>
- dos Santos RO, Neto Soares R, Pimentel MPQ, de Abreu JC, de Lima RB, da Silva e Silva BM. 2018. Modeling the leaf area of *Ormosia paraensis* Ducke by statistical models and artificial neural networks. *Chilean Journal of Agricultural Research* 78: 511-520. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392018000400511>
- Foster MS. 2008. Efectos potenciales de dispersores arbóreos y terrestres de aves en la dormancia de semillas, germinación y establecimiento de plántulas en especies de *Ormosia* (Papilionoideae) en Perú. *Journal of Tropical Ecology* 24: 619-627. <https://doi.org/10.1017/S0266467408005439>
- França-Neto JDB, Krzyzanowski FC. 2019. Use of the tetrazolium test for estimating the physiological quality of seeds. *Seed Science and Technology* 50: 31-44. <https://doi.org/10.15258/sst.2022.50.1.s.03>
- García E. 2004. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. 5a ed. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gonçalves EP, Soares FSDJ, Silva SDS, Tavares DDS, Viana JS, Cardoso BCC. 2011. Dormancy breaking in *Ormosia arborea* seeds. *International Journal of Agronomy* 2011: 524709. <https://doi.org/10.1155/2011/524709>

- Grossnickle SC, MacDonald JE. 2018. Seedling quality: history, application, and plant attributes. *Forests* 9: 283. <https://doi.org/10.3390/f9050283>
- Gurski C, Dias ES, Mattos EAD. 2012. Caracteres das sementes, plântulas e plantas jovens de *Ormosia arborea* (Vell.) Harms e *Ormosia fastigiata* Tul. (Leg-papilionoideae). *Revista Árvore* 36: 37-48. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622012000100005>
- Hartmann LDS, Rodrigues RS. 2015. Morfología de plântulas de *Ormosia smithii* Rudd y su relevancia sistemática en *Ormosia* (Leguminosae, Papilionoideae). *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi - Ciências Naturais* 10: 279-288. <https://doi.org/10.46357/bcnaturais.v10i2.487>
- He G, Jiang H, Li X, Lu L, Feng S, Zou R, Wei X, Tang J. 2025. Effect of light intensity on the functional traits of two *Ormosia* species. *Agronomy* 15: 2729. <https://doi.org/10.3390/agronomy15122729>
- Hernández-Sánchez G, Obrador-Olán JJ, Juárez-López JF, Arreola-Enríquez J, García-López E, Castillo-Arias EDLA. 2021. Plant quality index of caracolillo (*Ormosia macrocalyx* Ducke), in nursery stage with controlled release fertilizers. *Agro Productividad* 14: 147-155. <https://doi.org/10.32854/agrop.v14i10.1862>
- Hong TD, Ellis RH. 1996. *A protocol to determine seed storage behaviour*. Rome: Bioversity International.
- ISTA [International Seed Testing Association]. 2018. *International rules for seed testing*. Bassersdorf: International Seed Testing Association.
- IUCN [International Union for Conservation of Nature]. 2024. *The IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2024-1. <https://www.iucnredlist.org/> (accessed May 23, 2024).
- Jaganathan GK, Biddick M. 2021. Experimental warming hastens physical dormancy break and germination in tropical Fabaceae. *Frontiers in Plant Science* 12: 782706. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.782706>
- Jia Q, Deng H, Mo X, Liu L. 2019. Ritmos de crescimento de três espécies de mudas *Ormosia* de diferentes origens. *Revista Árvore* 43: e430606. <https://doi.org/10.1590/1806-90882019000600006>
- Landis TD, Luna T, Dumroese RK. 2009. Contenedores: aspectos técnicos, biológicos y económicos. In: Landis TD, Dumroese RK, Haase DL, eds. *Producción de plantas en viveros forestales*. Washington D.C.: Reforestation, Nursery, and Genetics Resources, pp. 1-38.
- Lokman M, Ali ML, Sami SA, Mannan NB, Islam MR, Proma NM, Hossain MK. 2025. Evaluación farmacológica del extracto de hoja de metanol *Ormosia robusta* frente a radicales libres,

- citotoxicidad e inflamación: una investigación *in vitro* e *in silico*. *South Asian Research Journal of Natural Products* 8: 173-191. <https://doi.org/10.9734/sarjnp/2025/v8i1190>
- Lopes JC, Dias PC, Macedo CMPD. 2006. Tratamentos para acelerar a germinação e reduzir a deterioração das sementes de *Ormosia nitida* Vog. *Revista Árvore* 30: 171-177. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622006000200003>
- Lv Y, Gu L, Man R, Liu X, Xu J. 2024. Response of stomatal conductance, transpiration, and photosynthesis to light and CO₂ for rice leaves with different appearance days. *Frontiers in Plant Science* 15: 1397948. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1397948>
- Nicotra AB, Leigh A, Boyce CK, Jones CS, Niklas KJ, Royer DL, Tsukaya H. 2011. The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms. *Functional Plant Biology* 38: 535-552. <https://doi.org/10.1071/FP11057>
- Ortiz D, Moreno F, Díez MC. 2021. Photosynthesis, growth, and survival in seedlings of four tropical fruit-tree species under intense radiation. *Acta Amazonica* 51: 1-9. <https://doi.org/10.1590/1809-4392202000752>
- Palma-López DJ, Domínguez JC, Cáliz EM, Ramírez JAR. 2007. *Suelos de Tabasco: su uso y manejo sustentable*. Cárdenas: Colegio de Postgraduados, ISPROTAB, Fundación Produce Tabasco.
- Pérez-Harguindeguy N, Díaz S, Garnier E, Lavorel S, Poorter H, Jaureguiberry P, Cornelissen JHC. 2016. Corrigendum to: New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 64: 715-716. https://doi.org/10.1071/BT12225_CO
- Pérez-Hernández I, Ochoa-Gaona S, Vargas-Simón G, Mendoza-Carranza M, González-Valdivia NA. 2011. Germinación y supervivencia de seis especies nativas de un bosque tropical de Tabasco, México. *Madera y Bosques* 17: 71-91. <https://doi.org/10.21829/myb.2011.1711155>
- Pinheiro RDM, Soares VN, Gadotti GI, Silva EJSD, Almeida ADS. 2021. Germinative performance of mulungú seeds (*Ormosia grossa* Rudd) after dormancy overcoming. *Revista Árvore* 45: e4532. <http://dx.doi.org/10.1590/1806-908820210000032>
- Pozo Gómez BK, Orantes García C, Pozo Gómez DM, Verdugo Valdez AG, Sánchez Cortés MS, Moreno Moreno RA. 2026. Germinación de *Ormosia macrocalyx* Ducke (Fabaceae), árbol nativo en peligro de extinción. *Polibotánica* 61: 10. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.61.10>
- Reis LP, de Lima e Borges EE, Bernardes RC, Santos Junior AD, Machado VM. 2022. Heat stress negatively affects physiology and morphology during germination of *Ormosia coarctata*

- (Fabaceae, Papilionoideae). *Protoplasma* 259: 1427-1439. <https://doi.org/10.1007/s00709-022-01743-4>
- Rodrigues RS, Tozzi AMGDA. 2007. Morphology of seedlings of five tree genistoid legumes from Brazil (Leguminosae-Papilionoideae). *Acta Botanica Brasilica* 21: 599-607. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062007000300007>
- Rudd VE. 1968. Leguminosae of Mexico — Faboideae: I. Sophoreae and Podalyrieae. *Rhodora* 70: 492-532.
- Ruiz-Vidal J, Vargas-Simón G, Angeles G, Gaspar-Génico JÁ, Campillo LMG, Jiménez-Pérez NDC, Martínez-Zurimendi P, Ascencio-Rivera J. 2026. Fruit morphology and seed anatomy of *Ormosia macrocalyx* Ducke. *Seeds* 5: 26. <https://doi.org/10.3390/seeds5030026>
- Secretaría de Economía. 2016. *Norma Mexicana NMX-AA-170-SCFI-2016: Certificación de operación de viveros forestales*. Ciudad de México: Secretaría de Economía. <http://www.economia-nmx.gob.mx/normasmx/consulta.nmx> (accessed May 2026).
- SEMARNAT [Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales]. 2010. *NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental—Especies nativas de México de flora y fauna silvestres—Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de especies en riesgo*. Ciudad de México: Diario Oficial de la Federación. 30 de diciembre de 2010.
- SEMARNAT [Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales]. 2014. *Manual para la producción de planta forestal en vivero*. Ciudad de México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Shang N, He Y, Su L, Wei X. 2025. Insights into water absorption pathways and structural barriers of *Ormosia henryi* Prain revealed by multimodal imaging techniques. *Scientia Horticulturae* 349: 114237. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2025.114237>
- Silva BMDS, Silva CDOE, Môro FV, Vieira RD. 2018. Seed anatomy and water uptake and their relation to seed dormancy of *Ormosia paraensis* Ducke. *Journal of Seed Science* 40: 237-245. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n3177599>
- Sprent JI, Ardley JK, James EK. 2013. From North to South: a latitudinal look at legume nodulation processes. *South African Journal of Botany* 89: 31-41. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.06.011>
- Tomaz JS, Lopes MTG, Valente MSF, Lima Júnior MDJV, Muniz GIB, Rosado SIP. 2018. Genetic evaluation of seed germination and development of seedlings in *Ormosia excelsa* Benth. *Floresta* 48: 331-342. <https://doi.org/10.5380/rf.v48i3.52799>

- Vargas-Simón G, Pire R, Alpartado A. 2010. Efecto de dos condiciones de almacenamiento en la germinación de semillas de uva de playa (*Coccoloba uvifera* (L.) Jacq.). *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia* 27: 559-573.
- Vargas-Simón G, Martínez-Zurimendi P, Domínguez-Domínguez M, Pire R. 2017. Seed germination in *Ormosia macrocalyx*, an endangered tropical forest tree. *Botanical Sciences* 95: 329-341. <https://doi.org/10.17129/botsci.823>
- Vargas-Simón G, Núñez-Piedra ML, Domínguez-Domínguez M, Alegría-González WR, Martínez-Zurimendi P. 2018. Distribución de *Ormosia macrocalyx* en México y delimitación de sus áreas de ocupación. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 89: 1201-1211. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.4.2412>
- Werner D, Newton WE. 2005. *Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology, and the Environment*. Vol 4. Dordrecht: Springer.
- Yan J, He G, Li X, Feng S, Wu Y, Zou R, Tang J. 2025. Comparative study on leaf functional traits and environmental adaptability of seedlings of the endangered plants *Ormosia olivacea*, *Ormosia pachycarpa*, and *Ormosia sericeolucida*. *Agronomy* 15: 2512. <https://doi.org/10.3390/agronomy15112512>
- Zhang K, Zhang Y, Sun J, Meng J, Tao J. 2021. Deterioration of orthodox seeds during ageing: influencing factors, physiological alterations and the role of reactive oxygen species. *Plant Physiology and Biochemistry* 158: 475-485. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.031>
- Zhu M, Su L, Shang N, Wei X. 2026. The phosphate-solubilizing capacity of *Rhizobium tropici* LNP6 and its growth-promoting effects on *Ormosia hosiei* seedlings. *BMC Plant Biology* 26: 418. <https://doi.org/10.1186/s12870-2>

CAPÍTULO IV

Conclusiones generales

Conclusiones generales

Ormosia macrocalyx presentan frutos < 4.6 cm con 1.5 semillas en promedio, semillas con cubierta seminal rojo intenso a rojo oscuro y con 1923 semillas/kg. La cubierta seminal esta compuesta por macroesclereidas, osteoesclereidas y parénquima, con el 61.5% de tejido esclerenquimáticos, y la región hilar presenta doble capa de macroesclereidas y barra piriforme de traqueidas con patrón escalariforme. Los cotiledones son exalbuminosos, sin almidón, con metabolitos secundarios aún no caracterizados químicamente.

El almacenamiento a 4°C durante 12 meses redujo la viabilidad en 65% en semillas escarificadas y 35% en intactas, mientras que la escarificación a temperatura ambiente (23.9–33.8°C) conservó el 81% de viabilidad. La germinación en semillas intactas descendió de 57% a 40% en el mismo periodo, confirmando que el tratamiento pregerminativo mejora la rapidez de germinación sin evitar el deterioro fisiológico.

La germinación es fanerocotilar epígea; a los 280 días las plántulas alcanzaron 37.0 cm de altura, 5.47 mm de diámetro basal, 11.7 eófilos simples y 1.57 trifoliolados, con 50–75% de eófilos simples y 1.57 trifoliolados, con 50–75% de lignificación del tallo, cumpliendo la norma mexicana para trasplante en un lapso de 9 meses, lo que evidencia crecimiento lento.

Los resultados morfoanatómicos y fisiológicos obtenidos constituyen información de base para el diseño de protocolos de manejo de semillas, almacenamiento y producción de planta en vivero de *Ormosia macrocalyx*, especie catalogada como amenazada, con aplicación directa en programas de propagación y conservación.

ANEXOS

Principios Bioéticos

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio
Institucional

Principios Bioéticos

La recolección, manejo y procesamiento de las semillas de *Ormosia macrocalyx* Ducke se realizaron bajo principios de responsabilidad ambiental y respeto a la conservación de la especie. La obtención del material vegetal se llevó a cabo de conformidad con las disposiciones ambientales aplicables y con el respaldo de la documentación emitida por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), correspondiente a la recolección y manejo del material biológico de la especie [SBRA/DGVS/00158/25], bajo la modalidad B por proyecto de investigación.

Las actividades experimentales se realizaron con fines exclusivamente científicos, procurando minimizar la afectación a los individuos y al ambiente. Las semillas recolectadas fueron destinadas a la evaluación de su viabilidad, germinación, comportamiento durante el almacenamiento y crecimiento preliminar en condiciones de invernadero, con el propósito de generar información que contribuya al conocimiento y establecimiento de estrategias para la conservación ex situ de *O. macrocalyx*.



Medio Ambiente

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales



Subsecretaría de Biodiversidad y Restauración Ambiental
Dirección General de Vida Silvestre
Oficio N° SBRA/DGV5/00158/25
Ciudad de México, a 21 de marzo de 2025

Dra. Georgina Vargas Simón

Profesora de la División Académica de Ciencias Biológicas
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT)
Andador Luis Jaidar, no. 205
Colonia Las Gaviotas Norte
Villahermosa, Centro, Tabasco
C.P. 86068 - México
Tel: 993 224 7063, E-mail: georgina.vargas@ujat.mx
P R E S E N T E

En atención a la solicitud de licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza, en materia de vida silvestre "Modalidad B por proyecto", recibida en esta Dirección General el 11 de febrero de 2025, a la cual se le asignó la bitácora 09/K5-0497/02/25, considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigación y colecta científica de flora y fauna silvestres en territorio mexicano y con fundamento los artículos 27 Tercer Párrafo de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos; 2, fracción I, 10, 26 Fracción VIII y 32 Bis, Fracciones I, III, y XXXIX de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal, Artículos 1, 3, apartado A, fracción I, inciso c), 4, 8, 9 fracción XXV y 13, fracciones I, VI, XVIII y XXIII del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 14 de marzo de 2025; 79, 80 fracción I, 82, 83 y 87 párrafo cuarto de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; Artículos 9°, fracción XII, 97 y 98 de la Ley General de Vida Silvestre; 12, 123 fracción IV y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre y la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección Ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo, publicada en el Diario Oficial de la Federación (DOF) el 30 de Diciembre de 2010, su modificación y fe de erratas del Anexo Normativo III, Lista de especies en riesgo de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambios-Lista de especies en riesgo, publicada en el DOF el 14 de noviembre de 2019 y 04 de marzo de 2020, respectivamente, la Dirección General de Vida Silvestre **autoriza** la licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre por proyecto, sobre especies o poblaciones en riesgo o sobre hábitat crítico, para desarrollar las siguientes actividades inherentes al proyecto denominado: "**Conservación y manejo de germoplasma nativo en San Miguel Adentro y Guanal, Jalapa, Tabasco, México**", con el objetivo de promover el manejo sustentable y la conservación del recurso vegetal nativo prioritario en San Miguel Adentro y Guanal, Jalapa, Tabasco, México:

- Colecta de hasta mil (1000) frutos de la especie *Ormosia macrocalyx* "caracolillo", distribuido en las localidades de colecta, mediante el uso de tijeras de poda telescópicas, los propágulos caerán en una malla mosquitera para impedir el contacto con el suelo y así evitar infecciones, y se embolsarán en bolsas tipo Kraft para su traslado a laboratorio.

Página 1 de 3



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Avenida Ejército Nacional No. 223, Col. Anáhuac 1 Sección C.P. 11320, Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México
Tel: (55) 5628 0600 www.gob.mx/semarnat



Medio Ambiente

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales



Subsecretaría de Biodiversidad y Restauración Ambiental
Dirección General de Vida Silvestre
Oficio N° SBRA/DGVS/00158/25
Ciudad de México, a 21 de marzo de 2025

Las actividades se llevarán a cabo en las siguientes coordenadas: **División Académica Ciencias Biológicas, Centro (17°59'25.44"N, 92°58'24.12"O), Parque Tabasco "Doña María", Centro (18°0'29.84"N, 92°57'53.82"O) y San Pedro, Balancán (17°46'60.00"N, 91°09'31.4"O), fuera de Áreas Naturales Protegidas, estado de Tabasco.** Esta autorización tendrá una vigencia a partir de la fecha de emisión de la presente hasta el **31 de diciembre de 2025.**

Las actividades se realizarán con el aval de la Dirección de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, con la colaboración del Dr. José Ángel Génico Gaspar, la Dra. Nelly del Carmen Jiménez Pérez, la Biól. Jackelin Ruiz Vidal, así como el apoyo de los integrantes de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, la titular y sus colaboradores quedan sujetos a las siguientes condiciones:

- 1.- Deberá cumplir con las disposiciones Administrativas, Fiscales y de Sanidad exigibles por las autoridades competentes en la materia, sean Federales, Estatales o Municipales, así como con las disposiciones establecidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente, y demás disposiciones legales aplicables.
- 2.- En la realización del proyecto propuesto, se responsabilizará a la titular de la investigación de cualquier impacto significativo que resulte sobre las poblaciones de la flora o fauna silvestre y sus hábitats, por lo que deberá considerar el riesgo de perturbación del ecosistema, antes de su ejecución y no llevarlo a cabo si existe algún riesgo.
- 3.- Previo al inicio de las actividades de campo, deberá enviar obligatoriamente por escrito y utilizando cualquier medio su programa de trabajo a la Oficina de Representación de la SEMARNAT en el estado de **Tabasco** (993) 310 1428, enviando copia del mismo a la Dirección General de Vida Silvestre. De igual manera, al término de dichas actividades lo notificará a esas Oficinas de Representación de la SEMARNAT, enviándole un reporte detallado por escrito.
- 4.- La totalidad del material colectado deberá destinarse a los fines específicos del proyecto, objeto de la presente autorización. Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre, los frutos serán trasladados al Laboratorio de Fisiología Vegetal de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para su germinación y análisis, la titular de la autorización asume la responsabilidad de remitir a esta Dirección General, copia de la(s) constancia(s) del(os) depósito(s) debidamente firmado(s), especificando la cantidad del material depositado.
- 5.- Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre, la responsable del proyecto deberá someter a la consideración de la Dirección General de Vida Silvestre, en un plazo no mayor de 30 (TREINTA) días de concluida la vigencia de la presente, un informe que describa detalladamente las actividades realizadas, los resultados obtenidos, la problemática del área trabajada, las potenciales alternativas de solución y en su oportunidad, la(s) publicación(es) y sobre todo producto de la investigación.

Página 2 de 3



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Avenida Ejército Nacional No. 223, Col. Anáhuac I Sección C.P. 11320, Alcaldía Miguel Hidalgo, Ciudad de México
Tel: (55) 5628 0600 www.qob.mx/semarnat



Medio Ambiente

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales



Subsecretaría de Biodiversidad y Restauración Ambiental
Dirección General de Vida Silvestre
Oficio N° SBRA/DGVS/00158/25
Ciudad de México, a 21 de marzo de 2025

6.- Queda estrictamente prohibido efectuar cualquier aprovechamiento de las especies de flora y fauna silvestres, cualquiera que sea su estatus, excepto lo aquí autorizado, así como realizar actividades en áreas naturales protegidas de México, sean Estatales o Federales, sin previa autorización.

7.- De acuerdo al Artículo 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y al Capítulo IV, Artículo 97 de la Ley General de Vida Silvestre, esta autorización no ampara el aprovechamiento de los especímenes colectados para fines comerciales, ni de utilización en biotecnología.

Se recomienda que durante sus actividades de campo, en el caso de encontrar ejemplares de especies listadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, se notifique de ello (la especie, ubicación geográfica y la fecha) a esta Dirección General, en el informe de actividades antes mencionado.

La presente autorización es personal e intransferible y habrá de mostrarse a las Autoridades Federales, Estatales y Municipales cuantas veces lo soliciten. Así mismo y tomando en consideración lo establecido en el Artículo 87 de la Ley General de Vida Silvestre el titular de la presente deberá contar con el consentimiento previo, expreso informado de los legítimos propietarios de la(s) tierra(s) donde pretende desarrollar el proyecto.

El incumplimiento de las condiciones aquí establecidas, dará origen a la instauración de un procedimiento administrativo ante la autoridad competente, para proceder a la cancelación de la autorización y a la aplicación de la legislación correspondiente, según sea el caso.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
El Director General



M.V.Z., M. en C. Fernando Gual Sill

"Por un uso eficiente del papel, las copias de conocimiento de este asunto son remitidas vía electrónica".

C.c.e.p. Subsecretaría de Biodiversidad y Restauración Ambiental: sparn@semarnat.gob.mx
Dirección General de Inspección y Vigilancia de Vida Silvestre, Recursos Marinos y Ecosistemas Costeros de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente
vida.silvestre@profepa.gob.mx
Gloria Sandoval Salas.- Unidad Coordinadora de Oficinas de Representación y Gestión Territorial de la SEMARNAT: gloria.sandoval@semarnat.gob.mx y
cecilia.castro@semarnat.gob.mx
Mayra Cecilia Villagómez de los Santos.- Encargada de Despacho de la Oficina de Representación de Protección Ambiental de la PROFEPA en el estado de Tabasco.-
mayra.villagomez@profepa.gob.mx
Omar Eduardo Rocha Gutiérrez.- Director de Conservación de la Vida Silvestre.- omar.rocha@semarnat.gob.mx

Archivo General 09/K5-0497/02/25
c:oscar/colecta cientifica/Permiso_Georgina Vargas (*Ormosia macrocalyx*- fuera de ANP) SUNIVS (21-03-25)

Página 3 de 3



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Avenida Ejército Nacional No. 223, Col. Anáhuac I Sección C.P. 11320, Alcaldía Miguel Hidaigo, Ciudad de México
Tel: (55) 5628 0600 www.gob.mx/semarnat

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis:	Estudio anatómico-fisiológico de la semilla y evaluación del crecimiento de <i>Ormosia macrocalyx</i> Ducke para su conservación <i>ex situ</i>
Autora de la Tesis:	Biol. Jackelin Ruiz-Vidal
ORCID:	https://orcid.org/0009-0001-1732-7259
Resumen de la Tesis:	La investigación abordó diferentes estudios sobre <i>Ormosia macrocalyx</i> Ducke, especie forestal amenazada: morfología de frutos y anatomía de semillas; viabilidad de semillas con respecto al tiempo y crecimiento preliminar en condiciones de invernadero. Todo esto con el objetivo de generar información para su conservación y propagación. Se aplicaron diferentes métodos, de acuerdo con las necesidades de la descripción y experimentos establecidos, que incluyeron cortes anatómicos e histoquímicos de la cubierta seminal y cotiledones de reserva de la semilla; evaluación del porcentaje de germinación en semillas escarificadas e intactas en diferentes tiempos de conservación y temperatura; así como, el registro de crecimiento y desarrollo de plántulas durante 280 días. Los resultados mostraron que la longitud de los frutos influye significativamente en el número de semillas por fruto. Se obtuvo la descripción anatómica de la cubierta seminal y de los cotiledones de reserva, identificándose tejido esclerenquimático en la testa y células de parénquima con doble pared celular y plasmodesmos en los cotiledones. Presencia de diversos metabolitos secundarios como alcaloides y compuestos fenólicos.

	es una semilla exalbuminosa. La viabilidad de las semillas disminuyó durante el almacenamiento, siendo mayor la pérdida bajo refrigeración, mientras que las semillas intactas aparentemente conservaron su dormancia por más tiempo. Las plantas alcanzaron valores de altura de tallo, diámetro basal y conformación de cepellón que indican una calidad morfológica y estructural adecuada, desarrollaron nódulos radiculares, aunque tuvo crecimiento lento. Se concluye que estos hallazgos aportan información científica para fortalecer las estrategias de preservación y manejo de <i>O. macrocalyx</i>.
Palabras claves de la Tesis:	Viabilidad de semillas, esclerénquima, alcaloides, cotiledones de reserva, escarificación.
Referencias citadas:	Ceballos-Freire, Á. J., & López-Ríos, J. A. (2008). Conservación de la calidad de semillas forestales nativas en almacenamiento. <i>Cenicafé</i>, 58(4), 265-292. Cernusak, L. A., Winter, K., Martínez, C., Correa, E., Aranda, J., García, M., et al. (2011). Responses of legume versus nonlegume tropical tree seedlings to elevated CO₂ concentration. <i>Plant Physiology</i>, 157(1), 372–385. https://doi.org/10.1104/pp.111.180586 Fernandes, H. E., Neto, E. L. D. S., Cabral, K. P., Marques, R. B., Siebeneichler, S. C., & Erasmo, E. A. L. (2018). Quebra de dormencia em <i>Acacia mangium</i> WILLD e <i>Ormosia arborea</i> (VELL.) HARMS. <i>Revista Ciência Agrícola</i>, 16(2), 73-79. https://doi.org/10.28998/rca.v16i2.4103

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco	Foster, M. S., & Delay, L. S. (1998). Dispersal of mimetic seeds of three species of <i>Ormosia</i> (Leguminosae). <i>Journal of Tropical Ecology</i>, 14(3), 389–411. https://doi.org/10.1017/S0266467498000303 Foster, M. S. (2008). Potential effects of arboreal and terrestrial avian dispersers on seed dormancy, seed germination and seedling establishment in <i>Ormosia</i> (Papilionoideae) species in Peru. <i>Journal of Tropical Ecology</i>, 24(6), 619-627. https://doi.org/10.1017/S0266467408005439 González-Valdivia, Noel, Ochoa-Gaona, Susana, Ferguson, Bruce G., Pozo, Carmen, Kampichler, Christian, & Pérez-Hernández, Isidro. (2012). Análisis comparativo de la estructura, diversidad y composición de comunidades arbóreas de un paisaje agropecuario en Tabasco, México. <i>Revista mexicana de biodiversidad</i>, 83(1), 83-99. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S187034532012000100011&lng=es&tlng=es. Gurski, C., Dias, E. S., & Mattos, E. A. D. (2012). Caracteres das sementes, plântulas e plantas jovens de <i>Ormosia arborea</i> (Vell.) Harms E <i>Ormosia fastigiata</i> Tul. (Leg-papilionoideae). <i>Revista Árvore</i>, 36(1), 37-48. https://doi.org/10.1590/S010067622012000100005 Hay, F. R., Davies, R. M., Dickie, J. B., Merritt, D. J., & Wolkis, D. M. (2022). More on seed longevity phenotyping. <i>Seed Science Research</i>, 32(3),
---	---

	144-149. https://doi.org/10.1017/S0960258522000034 Hernández Epigmenio, S., Rodríguez-Trejo, D. A., Granados Sánchez, D., & Cadena Meneses, J. A. (2021). Latencia física, morfoanatomía y análisis proximal de la semilla de <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Jacq.) Griseb. <i>Entreciencias: Diálogos en la Sociedad del Conocimiento</i>, 9(23). https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2021.23.79675 Hernández-Sánchez, G., Obrador-Olán, J. J., Juárez-López, J. F., Arreola-Enríquez, J., García-López, E., & Castillo-Arias, E. de los Á. (2021). Plant quality index of caracolillo (<i>Ormosia macrocalyx</i> Ducke), in nursery stage with controlled release fertilizers. <i>Agro Productividad</i>, 14(10), 147–155. https://doi.org/10.32854/agrop.v14i10.1862 Internacional Seed Testing Association. (2018). International rules for seed testing: Introduction to the ISTA rules, chapters 1–19 (2018 ed.). International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland. Linington, S. H., & Pritchard, H. W. (2001). Gene banks. En S. A. Levin (Ed.), <i>Encyclopedia of biodiversity</i> (Vol. 3, pp. 165–181). Academic Press. López-Curto, Ma. L., Márquez-Guzmán, J., & Murguía-Sánchez, G. (2005). Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas: Libro de
--	--

	laboratorio (2da ed.). Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias. Menges, E. S., Guerrant, E. O., & Hamzé, S. (2004). Effects of seed collection on the extinction risk of perennial plants. <i>Ex situ plant conservation: Supporting species survival in the wild</i>, 305-324. Ochoa-Gaona, S., Villanueva-López, G., Hernández-Margalli, I., & Pérez-Hernández, I. (2008). <i>Manual de semillas de especies forestales de las montañas de Tenosique, Tabasco</i>. El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México. Pérez-Hernández, I., Ochoa-Gaona, S., Vargas-Simón, G., Mendoza-Carranza, M., & González-Valdivia, N. A. (2011). Germinación y supervivencia de seis especies nativas de un bosque tropical de Tabasco, México. <i>Madera y Bosques</i>, 17(1), 71-91. https://doi.org/10.21829/myb.2011.1711155 Ríos García, C. A., Orantes García, C., Moreno Moreno, R. A., & Farrera Sarmiento, Ó. (2018). Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad y germinación de dos especies arbóreas tropicales. <i>Ecosistemas y Recursos Agropecuarios</i>, 5(13), 103-109. https://doi.org/10.19136/era.a5n13.1161 Sandoval, Z. E. (2005). Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Universidad Nacional Autónoma de México.
--	--

	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2010, 30 de diciembre). <i>Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental—Especies nativas de México de flora y fauna silvestres—Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio—Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación.</i> Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales 2014. Manual para la producción de planta forestal en vivero. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Ciudad de México, México. Silva, A. L. D., Dias, D. C. F. D. S., Lima, L. B. D., & Morais, G. A. D. (2014). Methods for overcoming seed dormancy in <i>Ormosia arborea</i> seeds, characterization and harvest time. <i>Journal of Seed Science</i>, 36(3), 318-325. https://doi.org/10.1590/23171545v36n31012 Silva, B. M. D. S. E., Silva, C. D. O. E., Mõro, F. V., & Vieira, R. D. (2015). Morphoanatomy of fruit, seed and seedling of <i>Ormosia paraensis</i> Ducke. <i>Journal of Seed Science</i>, 37(4), 192-198. https://doi.org/10.1590/2317-1545v37n4151436 Silva, B. M. D. S. E., Silva, C. D. O. E., Mõro, F. V., & Vieira, R. D. (2018). Seed anatomy and water uptake and their relation to seed dormancy of <i>Ormosia paraensis</i> Ducke. <i>Journal of Seed Science</i>, 40(3), 237-245.
--	---

	https://doi.org/10.1590/2317-1545v40n3177599 Vargas-Simón, G., Martínez-Zurimendi, P., Domínguez-Domínguez, M., & Pire, R. (2017). Seed germination in <i>Ormosia macrocalyx</i>, an endangered tropical forest tree. <i>Botanical Sciences</i>, 95(2), 329-341. https://doi.org/10.17129/botsci.823 Vargas-Simón, G., Núñez-Piedra, M. L., Domínguez-Domínguez, M., Alegría-González, W. R., & Martínez-Zurimendi, P. (2018). Distribución de <i>Ormosia macrocalyx</i> en México y delimitación de sus áreas de ocupación. <i>Revista Mexicana de Biodiversidad</i>, 89(4), 1201–1211. https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.4.2412 Werth, A. Virtual Munsell Color Wheel. Andrew Werth. Recuperado 17 de junio de 2024. https://www.andrewwerth.com/aboutmunsel (accessed on 17 June 2024).
--	--