



**UNIVERSIDAD AUTONOMA  
DE AGUASCALIENTES**

**CENTRO DE CIENCIAS BASICAS  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA**

**Estudio Ecológico y Biotecnológico  
del Laurel (*Litsea glaucescens*)  
en Aguascalientes, México**

**TESIS PROFESIONAL PRESENTADA POR:  
MC CARLOS ANTONIO DÁVILA FIGUEROA**

**PARA OBTENER EL TITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLOGICAS  
EN EL AREA DE BIOLOGIA VEGETAL**

**TUTOR DE TESIS:  
DR. EUGENIO PÉREZ MOLPHE BALCH**

**COMITÉ TUTORAL:  
DR. FRANCISCO JOSÉ FLORES TENA  
DR. JOSÉ FRANCISCO MORALES DOMÍNGUEZ**

**AGUASCALIENTES, AGS.**

**JUNIO DE 2011**



## Agradecimientos

Al personal del Herbario y Jardín Botánico adscritos al Departamento de Biología de la Universidad Autónoma de Aguascalientes y a su personal por la información proporcionada.

A los Biólogos José Silvestre Delgadillo Díaz de León y Gabriel González Adame por valiosa cooperación durante el trabajo de campo.

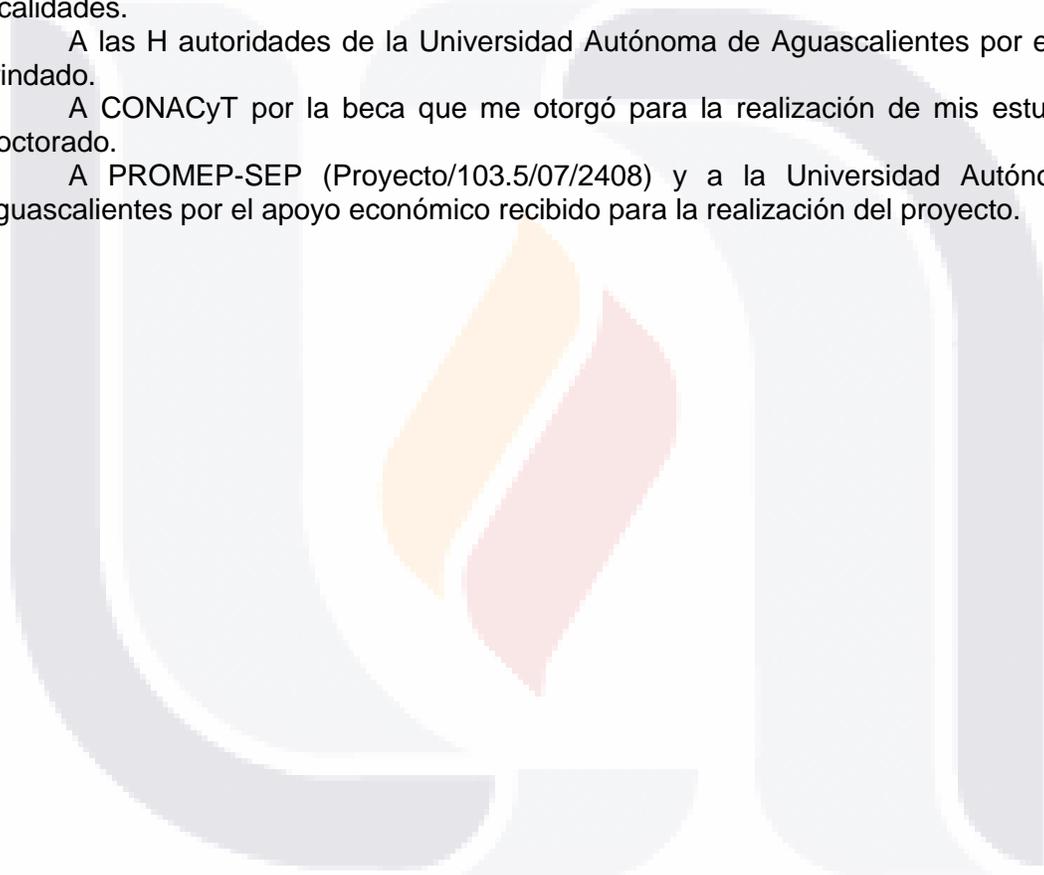
A Juana María Quiroz Neri, su esposo y familia por su apoyo para ingresar a algunas de las localidades.

Al personal del IMAE y PROESPA por la ayuda recibida para ingresar a algunas localidades.

A las H autoridades de la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el apoyo brindado.

A CONACyT por la beca que me otorgó para la realización de mis estudios de Doctorado.

A PROMEP-SEP (Proyecto/103.5/07/2408) y a la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el apoyo económico recibido para la realización del proyecto.



## Dedicatoria

A Claudia y a mis tres hijas por todo su amor y apoyo incondicional en todo momento, sin el cual hubiera sido difícil sortear todos los retos que surgieron durante la realización de mis estudios de Doctorado. Gracias por toda su comprensión en los momentos más difíciles que atravesamos juntos durante este tiempo y por su compañía en el trabajo de campo lo cual nos permitió estrechar aún más los lazos familiares que tenemos.

A mis padres y hermanos por todos los momentos que pasamos y por todo lo que me apoyaron y enseñaron con sus ejemplos y palabras.

A Eugenio por todo el apoyo que me ha demostrado durante todo el tiempo que he permanecido a su lado y por todo lo que me ha enseñado directa o indirectamente.

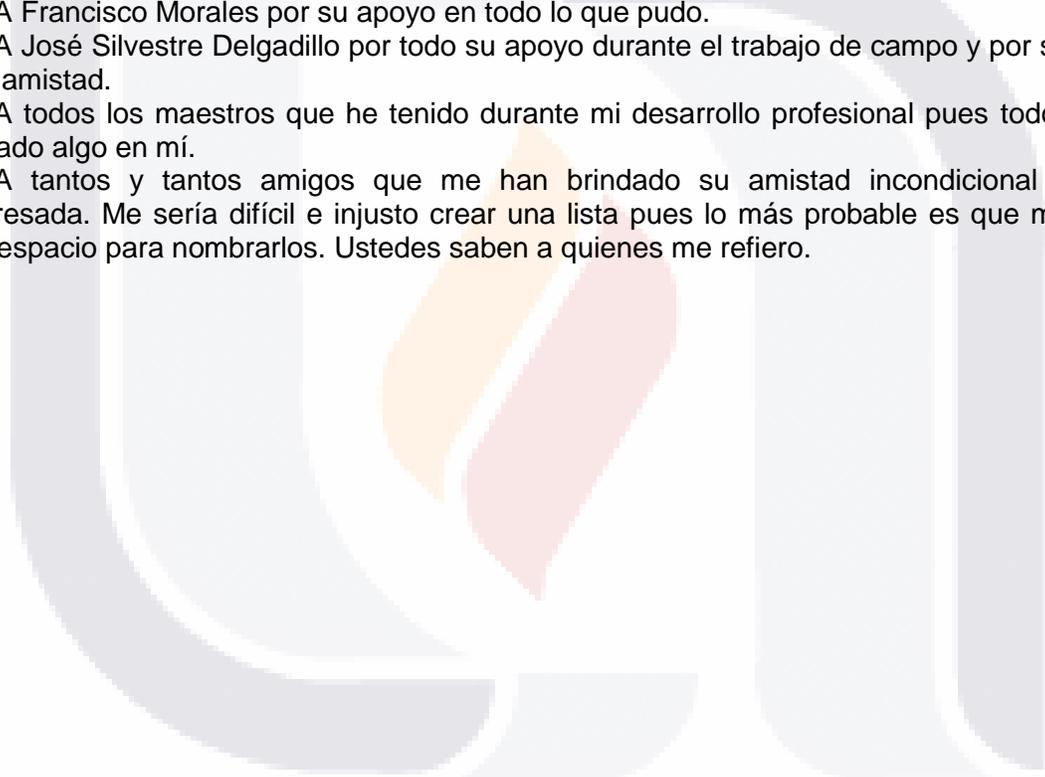
Al Dr. Flores Tena por haber entrado al quite en el desarrollo de esta investigación cuando ya estaba iniciada y por haberlo hecho de manera tan decidida y entusiasta.

A Francisco Morales por su apoyo en todo lo que pudo.

A José Silvestre Delgadillo por todo su apoyo durante el trabajo de campo y por su sincera amistad.

A todos los maestros que he tenido durante mi desarrollo profesional pues todos han dejado algo en mí.

A tantos y tantos amigos que me han brindado su amistad incondicional y desinteresada. Me sería difícil e injusto crear una lista pues lo más probable es que me faltaría espacio para nombrarlos. Ustedes saben a quienes me refiero.



**Cartas de liberación**







UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES



**M. en C. Martha Cristina González Díaz**  
**Decana del Centro de Ciencias Básicas**  
**PRESENTE:**

Estimada M. en C. González Díaz:

Por este medio le comunico que el **M. en C. CARLOS ANTONIO DÁVILA FIGUEROA**, egresado del Doctorado en Ciencias Biológicas, ha concluido satisfactoriamente, tanto su trabajo de tesis, como el escrito derivado del mismo. El título de su proyecto fue: **"Estudio Ecológico y Biotecnológico del Laurel (*Litsea glaucescens*) en Aguascalientes, México"**.

Asimismo, le informo que después de revisar su escrito, así como las correcciones hechas al mismo, considero que ya se tiene una versión final satisfactoria y se puede proceder al examen de grado. Esto considerando también que el M. en C. Dávila Figueroa cuenta también con una publicación aceptada en una revista indizada producto de su proyecto de tesis.

ATENTAMENTE  
"SE LUMEN PROFERRE"

Aguascalientes, Ags. a 20 de Junio de 2011

Dr. Eugenio Pérez Molpère Batich  
Tutor de Tesis  
Departamento de Química  
Centro de Ciencias Básicas





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

M.C. MARTHA CRISTINA GONZÁLEZ DÍAZ  
DECANA DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES  
P R E S E N T E

Por medio de la presente hago de su conocimiento que he revisado el trabajo "ESTUDIO ECOLÓGICO Y BIOTECNOLÓGICO DEL LAUREL (*Litsea glaucescens*) EN AGUASCALIENTES, MÉXICO", que corresponde a la tesis doctoral del M. en C. Carlos Antonio Dávila Figueroa, el cual reúne los requisitos para su impresión y presentación en el examen de grado.

Sin otro particular por el momento le envío un cordial saludo.

Atentamente

Ciudad Universitaria 23 de junio de 2011

Dr. Francisco José Flores Torres

Miembro del Comité Tutorial





M. en C. Martha Cristina González Díaz  
Decana del Centro de Ciencias Básicas  
Presente:

Por este medio le comunico que he revisado la versión final del escrito de la tesis "Estudio Ecológico y Biotecnológico del Laurel (*Litsea glaucescens*) en Aguascalientes, México" presentada por el alumno M en C Carlos Antonio Dávila Figueroa, como requisito para obtener el grado de Doctor en Ciencias Biológicas. A mi juicio, este documento contiene ya todas las correcciones solicitadas por un servidor al hacer la revisión del mismo. Por lo anterior, considero que se puede proceder ya a su impresión definitiva y a la programación del examen de grado.

ATENTAMENTE  
"SE LUMEN PROFERRE"  
Aguascalientes, Ags. A 20 de Junio de 2011

  
Dr. Francisco Merales Domínguez  
Miembro del comité tutorial





Centro de Ciencias Básicas

M. en C. CARLOS ANTONIO DÁVILA FIGUEROA  
ALUMNO (A) DEL DOCTORADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS  
PRESENTE.

Estimado (a) alumno (a) Dávila:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o caso práctico titulado: "Estudio Ecológico y Biotecnológico del Laurel (*Litsea blaucescens*) en Aguascalientes, México", hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

ATENTAMENTE  
Aguascalientes, Ags. 23 de junio de 2011  
"SE LUMEN PROFERRE"  
LA DECANO

M. en C. MARTHA CRISTINA GONZÁLEZ DÍAZ



c.c.p.: Archivo  
MCGD.mjdz



### Carta de aceptación del artículo



JAG.4STCEF - 518/11  
"2011, Año del Turismo en México"  
Coyoacán, D. F., 30 de mayo de 2011.

**DR. EUGENIO PÉREZ MOLPHE BALCH**  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA, CENTRO DE CIENCIAS BASICAS  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES  
P R E S E N T E

Me es grato comunicar a usted que su artículo "Estatus poblacional y niveles de aprovechamiento del laurel silvestre *Litsea glaucescens* Kunth en Aguascalientes" (Exp. 52/10), ha sido considerado para integrar el segundo número de la edición 2011 de la Revista Mexicana de Ciencias Forestales, en una importante etapa de la publicación, debido a que, profundizando los cambios estratégicos del 2010 con respecto a su imagen, edición, formación, impresión, publicación, versión bilingüe, así como acceso a modalidades virtuales de consulta, próximamente una nueva página web y sobre todo, el incremento de periodicidad semestral a bimestral.

Con relación a estos logros, debo informarle que las transformaciones que demandan la modernización, actualización y producción de la revista, necesitan la cooperación de los autores, por lo cual y en acuerdo de la Coordinación de Investigación, Innovación y Vinculación del INIFAP con las Revistas Institucionales de Ciencias Forestales, Agrícolas y Pecuarias, a partir del 2011 el costo por cuartilla publicada será de \$350.00 (trescientos cincuenta pesos, 00/100 m.n.).

Cabe mencionar que este cobro no puede considerarse propiamente como una cuota de recuperación, debido entre otros factores, a que esta aportación alcanzaría a cubrir apenas el 5% del costo total promedio de la publicación de su artículo, que exige, entre varias acciones: su seguimiento, evaluación, edición, traducción, formación, impresión, distribución nacional e internacional y colocación en la página de Internet.

El INIFAP, junto con este Comité Editorial, tienen el compromiso de que la difusión del conocimiento científico forestal se efectúe con parámetros de sustentabilidad financiera. Estamos seguros que contaremos con su valioso apoyo, celebrará las transformaciones y se sentirá complacido de los alcances de la publicación.

**ATENTAMENTE**  
REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS FORESTALES  
EL EDITOR EN JEFE

**M.C. CARLOS MALLÉN RIVERA**

c.c.p. Dr. Salvador Fernández Rivera, Coordinador de Investigación, Innovación y Vinculación del INIFAP.- Presente.  
Lic. Francisco González Naranjo, Director de Eficiencia Financiera y Rendición de Cuentas del INIFAP.- Presente.  
M.C. Ricardo Magaña Figueroa, Director de Promoción y Divulgación del INIFAP.- Presente.  
Dr. Fabián Islas Gutiérrez, Director del CENI-CONEF.- Presente.

CMF/mw.



TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

## ESTATUS POBLACIONAL Y NIVELES DE APROVECHAMIENTO DEL LAUREL SILVESTRE *Litsea glaucescens* Kunth EN AGUASCALIENTES.

Carlos Antonio Dávila Figueroa<sup>1</sup>, Francisco José Flores Tena<sup>1</sup>,  
Francisco Morales Domínguez<sup>1</sup>, Ricardo Clark Tapia<sup>2</sup> y Eugenio Pérez Molphe  
Balch<sup>1</sup>

### RESUMEN

Por sus usos tradicionales y por su potencial de aprovechamiento, el Laurel silvestre (*Litsea glaucescens*) es una de las especies forestales no maderables más importantes de México. Sin embargo, el intenso uso no regulado a la que se ve sometida, así como el desconocimiento del estatus que presentan las poblaciones naturales, han puesto en riesgo su sobrevivencia. Por esto es oficialmente considerada como especie en peligro de extinción. Este proyecto tuvo como objetivo ubicar y conocer la situación actual de las poblaciones de *L. glaucescens* en Aguascalientes, así como determinar el efecto que sobre las mismas tiene la extracción ilegal. Para esto se llevó a cabo una revisión completa de diversas fuentes y un exhaustivo trabajo de campo para delimitar la distribución de esta especie en el Estado. Además, se eligieron tres localidades representativas, con base al régimen de propiedad de la tierra, en las que se cuantificó la extracción para conocer el efecto de ésta sobre la estructura poblacional. Se encontró que aún existen varias poblaciones de *L. glaucescens* en el Estado, pero sólo una puede considerarse en buenas condiciones. Se observó que la tasa de aprovechamiento está relacionada con el régimen de propiedad de la tierra y con la accesibilidad a la localidad. La sobrecolecta está muy relacionada con el uso tradicional de la especie en la ceremonia del "Domingo de Ramos". Ésta afecta de manera directa el reclutamiento sexual en las poblaciones que son sometidas a la misma debido a que impide la producción de semilla.

**Palabras clave:** Aguascalientes, especies amenazadas, especies forestales no maderables, laurel, *Litsea glaucescens*, reclutamiento sexual.

---

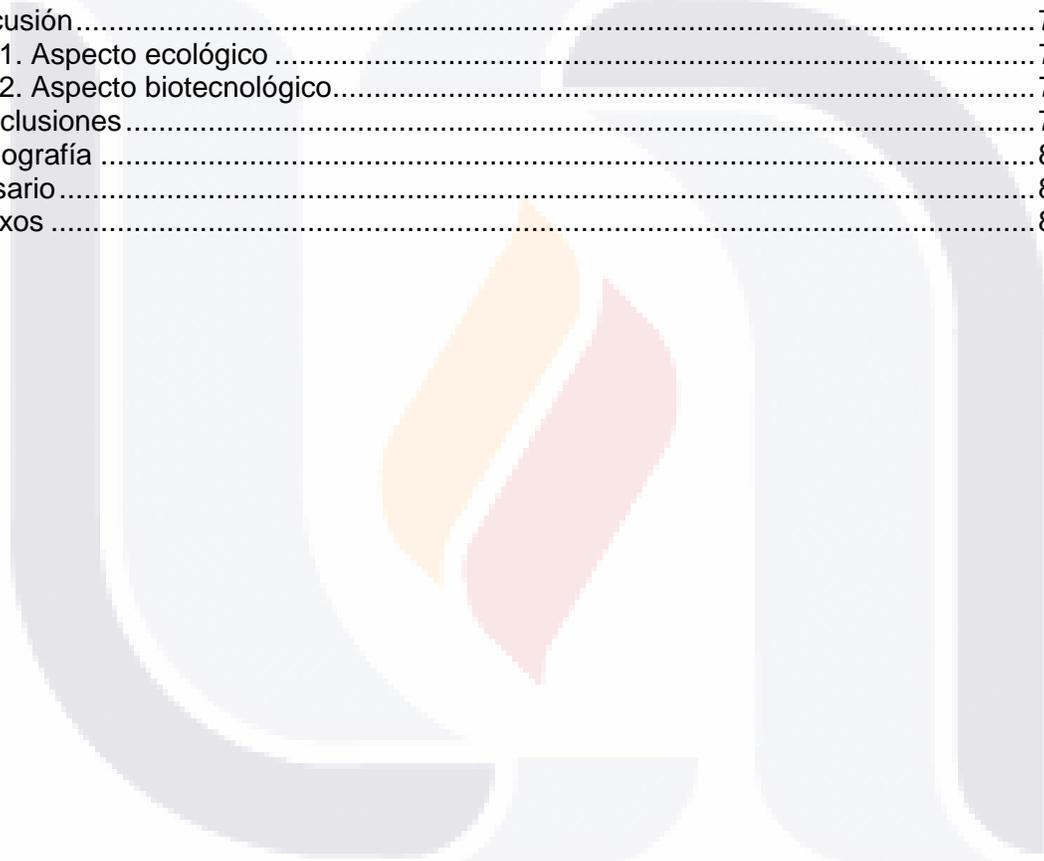
<sup>1</sup>Centro de Ciencias Básicas. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Correo-e: [eperezmb@correo.uaa.mx](mailto:eperezmb@correo.uaa.mx)

<sup>2</sup>Instituto de Estudios Ambientales. Universidad de la Sierra de Juárez, Oaxaca.

## Índice de contenido

1.	Resumen.....	1
2.	Introducción.....	2
3.	<i>Litsea glaucescens</i> .....	3
4.	Plantas y ambiente natural.....	4
	4.1. Factores abióticos.....	4
	4.1.1. Geográficos.....	5
	1) Geología.....	5
	2) Topografía.....	6
	3) Latitud.....	7
	4) Altitud.....	8
	a) Clima.....	9
	b) Temperatura.....	9
	c) Luminosidad.....	10
	d) Precipitación pluvial.....	11
	5) Edafología.....	13
	a) Textura del suelo.....	15
	b) Nutrientes del suelo.....	15
	c) pH.....	18
	d) El agua del suelo.....	20
	e) El aire en el suelo.....	20
	4.2. Factores bióticos.....	21
5.	Cultivo de tejidos vegetales.....	23
6.	Objetivos.....	28
	6.1. Objetivo general.....	28
	6.2. Objetivos específicos.....	28
7.	Materiales y Métodos.....	29
	7.1. Materiales.....	29
	7.2. Métodos.....	30
8.	Resultados.....	36
	8.1. Ecológicos.....	36
	8.1.1. Descripción del hábitat del laurel.....	36
	1) Distribución del laurel en Aguascalientes.....	36
	2) Ambiente abiótico asociados a la distribución del laurel.....	39
	a) Geología.....	39
	b) Suelos dominantes.....	39
	c) Composición del suelo.....	39
	a) Topografía.....	42
	b) Hidrología superficial.....	43
	c) Altitud.....	43
	d) Climatología.....	44
	e) Temperatura.....	46
	f) Heladas.....	46
	3) Ambiente biótico asociados a la distribución del laurel.....	47
	8.1.2. Modelación biogeográfica.....	48
	8.1.3. Estructura poblacional.....	49
	1) Densidad poblacional.....	49
	2) Estructura de tamaños.....	50
	3) Proporción sexual.....	51

4) Producción de semillas.....	52
8.1.4. Caracterización del grado de disturbio .....	58
8.1.5. Determinación de los niveles de extracción de laurel en los sitios de distribución.....	63
8.2. Biotecnológicos .....	63
8.2.1. Establecimiento de cultivos <i>in vitro</i> .....	63
8.2.2. Desarrollo del sistema de propagación <i>in vitro</i> a partir de meristemos preexistentes .....	64
8.2.3. Desarrollo de un sistema para el enraizamiento de brotes adventicios.....	66
8.2.4. Inducción de tejido caloso embriogénico .....	67
8.2.5. Germinación de embriones somáticos .....	71
9. Discusión.....	73
9.1. Aspecto ecológico .....	73
9.2. Aspecto biotecnológico.....	77
10. Conclusiones.....	79
11. Bibliografía .....	81
12. Glosario.....	86
13. Anexos .....	87

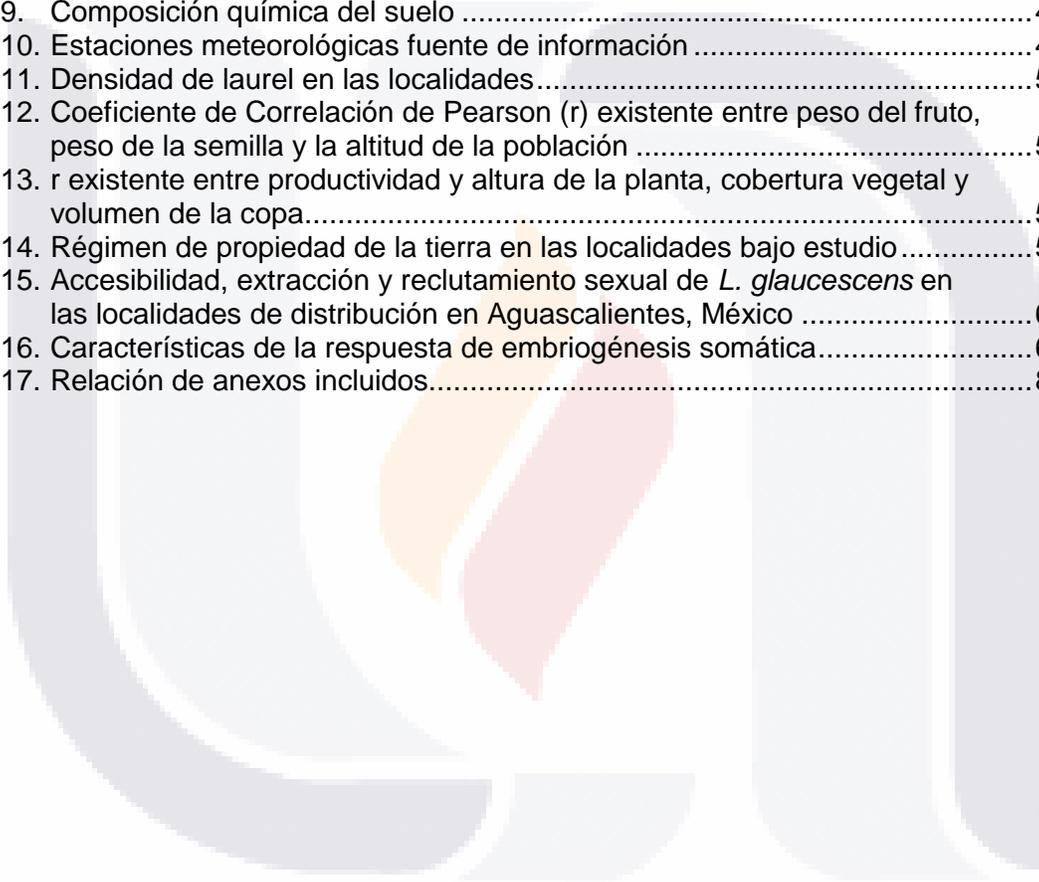


## Índice de figuras

Figura 1.	Biodisponibilidad de los nutrientes del suelo según el pH .....	19
Figura 2.	Diagrama de flujo de la metodología para el trabajo de campo.....	34
Figura 3.	Diagrama de flujo de la metodología para el cultivo <i>in vitro</i> .....	35
Figura 4.	Localización geográfica de las localidades con presencia de <i>L. glaucescens</i> .....	38
Figura 5.	Imágenes de la capa superficial del suelo en donde se desarrolla <i>L. glaucescens</i> .....	41
Figura 6.	Imágenes panorámicas de diferentes localidades.....	42
Figura 7.	Distribución altitudinal de <i>L. glaucescens</i> por localidad.....	43
Figura 8.	Distribución altitudinal del total de ejemplares de <i>L. glaucescens</i> en Aguascalientes.....	44
Figura 9.	Comportamiento anual de la precipitación pluvial promedio por estación meteorológica (1960-2008) .....	45
Figura 10.	Comportamiento anual de la temperatura promedio por estación meteorológica (1960-2008) .....	46
Figura 11.	Comportamiento anual de las heladas (1984-2005).....	47
Figura 12.	Imágenes del sotobosque en que se desarrolla <i>L. glaucescens</i> .....	48
Figura 13.	Mapa de distribución de <i>L. glaucescens</i> en Aguascalientes.....	49
Figura 14.	Estructura de tamaños en cm en diferentes localidades .....	50
Figura 15.	Dimorfismo sexual en las flores de <i>L. glaucescens</i> .....	51
Figura 16.	Variación sexual en las localidades bajo estudio.....	52
Figura 17.	Semillas de dos localidades .....	52
Figura 18.	Peso unitario de frutos y semillas por localidad.....	53
Figura 19.	Relación entre el peso unitario de frutos y semillas y la altitud de la localidad.....	53
Figura 20.	Producción de frutos por planta vs cobertura vegetal.....	54
Figura 21.	Producción de frutos por planta vs volumen de la copa .....	55
Figura 22.	Proceso de maduración de fruto en el laboratorio .....	56
Figura 23.	Secuencia del desarrollo de frutos <i>in situ</i> .....	57
Figura 24.	Indicios de la explotación .....	59
Figura 25.	Evidencias de reclutamiento sexual de <i>L. glaucescens</i> en diferentes localidades.....	61
Figura 26.	Alteraciones fenotípicas de los ejemplares en las localidades con mayores indicios de extracción .....	62
Figura 27.	Tasa de explotación de <i>L. glaucescens</i> .....	63
Figura 28.	Resultados de los experimentos de esterilización .....	64
Figura 29.	Resultados de los experimentos de propagación utilizando explantes colectados en campo .....	65
Figura 30.	Resultados de la brotación de meristemos preexistentes.....	65
Figura 31.	Resultados de los experimentos de propagación utilizando explantes de semillas germinadas <i>in vitro</i> .....	66
Figura 32.	Respuesta de enraizamiento.....	66
Figura 33.	Eficiencia de inducción de tejidos callosos embriogénicos .....	67
Figura 34.	Desarrollo de embriogénesis somática .....	68
Figura 35.	Imágenes al microscopio óptico del desarrollo de ES .....	69
Figura 36.	Imágenes al microscopio electrónico de barrido del desarrollo de ES.....	70
Figura 37.	Resultados de la germinación de los embriones somáticos .....	71
Figura 38.	Germinación de embriones somáticos .....	72

## Índice de cuadros

Cuadro 1.	Elementos químicos esenciales y sus funciones en las plantas.....	17
Cuadro 2.	Tratamientos con reguladores del crecimiento vegetal evaluados .....	29
Cuadro 3.	Tratamientos evaluados para la germinación de ES .....	34
Cuadro 4.	Registro de colectas de laurel silvestre del Herbario de la UAA.....	36
Cuadro 5.	Localidades de distribución registradas y confirmadas .....	37
Cuadro 6.	Distribución de los ejemplares registrados.....	37
Cuadro 7.	Agrupamiento de las localidades por serranía .....	38
Cuadro 8.	Tipos de suelos presentes en las localidades de interés.....	39
Cuadro 9.	Composición química del suelo .....	40
Cuadro 10.	Estaciones meteorológicas fuente de información .....	45
Cuadro 11.	Densidad de laurel en las localidades.....	50
Cuadro 12.	Coeficiente de Correlación de Pearson (r) existente entre peso del fruto, peso de la semilla y la altitud de la población .....	54
Cuadro 13.	r existente entre productividad y altura de la planta, cobertura vegetal y volumen de la copa.....	55
Cuadro 14.	Régimen de propiedad de la tierra en las localidades bajo estudio .....	58
Cuadro 15.	Accesibilidad, extracción y reclutamiento sexual de <i>L. glaucescens</i> en las localidades de distribución en Aguascalientes, México .....	60
Cuadro 16.	Características de la respuesta de embriogénesis somática.....	67
Cuadro 17.	Relación de anexos incluidos.....	87



## 1. Resumen

Por sus usos tradicionales y por su potencial de explotación, el laurel silvestre (*Litsea glaucescens* Kunth) es una de las especies forestales no maderables más importantes de México. Sin embargo, la intensa explotación no regulada a la que se ve sometida, así como el desconocimiento del estatus que presentan las poblaciones naturales, han puesto en riesgo su sobrevivencia. Por esto es oficialmente considerada como especie en peligro de extinción. Este proyecto tuvo como objetivo ubicar y conocer la situación actual de las poblaciones de *L. glaucescens* en Aguascalientes, así como determinar el efecto que sobre las mismas tiene la explotación ilegal. Para esto se llevó a cabo una revisión completa de diversas fuentes y un exhaustivo trabajo de campo para delimitar la distribución de esta especie en el estado. Además, se eligieron tres localidades representativas, con base al régimen de propiedad de la tierra, en las que se cuantificó la extracción para conocer el efecto de ésta sobre la estructura poblacional. Se encontró que aún existen varias poblaciones de *L. glaucescens* en la entidad, pero sólo una puede considerarse en buenas condiciones. Se observó que la tasa de explotación está relacionada con el régimen de propiedad de la tierra y con la accesibilidad a la localidad. La sobrecolecta está muy relacionada con el uso tradicional de la especie en la ceremonia del “Domingo de Ramos”. Ésta afecta de manera directa el reclutamiento sexual en las poblaciones que son sometidas a la misma debido a que impide la producción de semilla.

Por otro lado, durante las visitas a campo se colectó material vegetal para desarrollar un sistema de propagación *in vitro* por las vías de propagación desarrollo de meristemos preexistentes y embriogénesis somática. En todos los casos se tuvieron problemas con oxidación de compuestos fenólicos y la contaminación fue la principal limitante para el establecimiento de los cultivos. La estimulación de la germinación de meristemos preexistentes fue limitada y debido a que la generación de embriones somáticos fue más eficiente se prefirió continuar la investigación por esta vía, la cual fue lograda exitosamente utilizando semillas maduras como fuente de explante.

## 2. Introducción

México es considerado como un país megadiverso ya que junto con Australia, Brasil, China, Colombia, Ecuador, Estados Unidos, India, Indonesia, Madagascar, Perú y República Democrática del Congo albergan en conjunto entre el 60 y 70% de la biodiversidad total del planeta (Mittermeier y Goettsch, 1992).

La extinción es un proceso natural provocado por fragmentación del hábitat y cambios climáticos graduales o drásticos a causa de erupciones volcánicas, asteroides, incendios forestales, fenómenos meteorológicos extremos, etc. (Ridley, 1996), no obstante la extinción ocasionada por el ser humano actualmente es de cien a mil veces más grande que el de procesos naturales (Ricketts *et al.*, 2005). Entre las causas antropogénicas se pueden mencionar el comercio ilegal de especies silvestres, la cacería furtiva, el cambio de uso de suelo, la modificación del hábitat y la introducción de especies exóticas.

México está entre los diez países con los mayores índices de extinción en el mundo y actualmente cuenta con 794 especies amenazadas con la extinción inminente, entre las que se encuentra el laurel (*Litsea glaucescens* Kunth).

El laurel es el recurso forestal no maderable más importante de los bosques de encino o pino-encino de México (Tejeda *et al.*, 2000; Luna-Vega, 2003). Frecuentemente se le encuentra a la orilla de los arroyos. Esta especie es explotada en casi cualquier época del año para diferentes fines que van desde aspectos religiosos hasta alimenticios y medicinales, siendo las hojas las más utilizadas. Esto ha traído como consecuencia una sobreexplotación del recurso en prácticamente toda la zona de distribución. El problema es grave debido a que la colecta de las hojas y ramas causa la pérdida de la superficie fotosintética de la planta y su capacidad de regeneración y reproducción, mismo que ha desembocado en la desaparición de poblaciones naturales de tal manera que hoy en día es considerada oficialmente como una especie no endémica de México en peligro de extinción (NOM-059-SEMARNAT-2010).

La escasa información que existe del laurel en nuestro país es una limitante cuando necesitamos proponer acciones que frenen el deterioro ecológico en las poblaciones de esta especie; además, para que la toma de decisiones sobre manejo, restauración y conservación del laurel sean correctas, es necesario conocer de manera muy precisa el estado actual (viabilidad o estatus de extinción) de las poblaciones en la naturaleza, así como las persistencias de las mismas a corto y a largo plazo, al menos en un área de su distribución geográfica circunscrita al estado de Aguascalientes.

Conociendo la importancia económica del laurel y la escasa información biológica que se tiene de esta especie en México, se decidió llevar a cabo un estudio que generó información ecológica, que permitió caracterizar el hábitat y el estatus del laurel en Aguascalientes, así como el desarrollo de sistemas biotecnológicos para la propagación masiva *in vitro* de esta especie basado en el cultivo de semillas, yemas y ápices para ayudar en la conservación y manejo de esta especie.

### 3. *Litsea glaucescens*

El género *Litsea* (LAURACEAE) comprende alrededor de 400 especies, la mayoría de ellas nativas de Asia oriental, Australia y Nueva Zelanda, y sólo unas cuantas presentes en América. Generalmente son árboles perennes, ricos en compuestos aromáticos. En México, el género está representado únicamente por el laurel silvestre (*Litsea glaucescens* Kunth 1817) (Schroeder, 1990; Luna, 2003). Éste es un árbol o arbusto de 3 a 12 m de alto, habitante común de los bosques húmedos de encino y de encino-pino, así como de los bosques mesófilos de montaña, generalmente en cañadas o a la orilla de arroyos. Crece entre los 800 y 2830 msnm y se distribuye desde el norte de México hasta Costa Rica (van der Werff y Lorea, 1997; SEMARNAT, 2006).

Esta especie posee hojas alternas a opuestas o subverticiladas, penninervadas, rara vez triplinervadas, glabras o pubescentes, domacios ausentes. Sus inflorescencias son pseudoumbeladas, solitarias o agrupadas en racimos cortos, axilares o en ramas áfilas muy cortas, protegidas antes de la anthesis por un involucre de brácteas decusadas. Son flores unisexuales, más bien campanuladas, usualmente con 6 tépalos, elípticos u ovados, semejantes entre sí, pocas veces desiguales, más o menos extendidos, nunca papilosos, tempranamente deciduos. En las flores masculinas los estambres van de 9 a 12, con filamentos bien desarrollados, los internos con glándulas basales, y las anteras con cuatro esporangios, dispuestos en dos pares más o menos verticales; el ovario está atrofiado y es más o menos conspicuo; el hipantio es corto y plano. En las flores femeninas el ovario es globoso, poseen de 9 a 12 estaminodios; el urceolado. El fruto es sostenido por un pedicelo más o menos engrosado y asentado en una cúpula somera o profunda de margen sencillo (Luna-Vega, 2003).

En México, el laurel silvestre se encuentra en varias entidades, generalmente en aquellas que son atravesadas por las principales cadenas montañosas. Sin embargo, también puede encontrarse en cordilleras aisladas, aun enclavadas en las zonas semiáridas, como la Sierra de Catorce en San Luis Potosí (González-Costilla *et al.*, 2007). La especie aparece como componente de la vegetación en varios estudios florísticos realizados en diversas zonas del país. Sin embargo, estos trabajos coinciden en que se trata de una especie que si bien puede ser dominante en una área muy específica, es de manera general poco abundante debido a sus especiales requerimientos en cuanto a su hábitat (Díaz-Gallegos *et al.*, 2002; Newton, 2007).

Esta especie tiene un alto valor comercial por el aprovechamiento de diversos tejidos (Avendaño, 2006; Waizel-Bucay, 2006; Granados, 2007; Camou, 2008):

- Hojas como condimento y en medicina tradicional
- Ramas y hojas en arreglos de festividades tradicionales
- Corteza en medicina tradicional

## 4. Plantas y ambiente natural

Las distintas especies de plantas, como todos los demás organismos vivos, necesitan determinadas condiciones ambientales para desarrollarse y reproducirse. La distribución espacial no aleatoria de especies indica las preferencias por un hábitat que pudieran ser debidas a diversos rasgos funcionales correlacionados con necesidades y tolerancias ambientales como altura del dosel y tamaño de las hojas. La altura máxima de especies arbóreas específicas refleja la competencia por la captura de un gradiente vertical de luz, y el tamaño de las hojas se correlaciona con la relación agua/nutrientes. La persistencia o la riqueza de especies de la capa inferior es controlada por condiciones de luz conjuntamente con las características topográficas. Muchas plantas micrófilas son tolerantes al viento/sequía y están fuertemente asociadas con los márgenes o negativamente con los valles. El patrón espacial no aleatorio puede reflejar diferencias en la susceptibilidad de las especies a la tensión del agua (o viento) a lo largo de un gradiente topográfico. A esto se debe el que determinadas especies de plantas puedan crecer de forma natural en unos determinados países, comarcas o localidades, y en otros no (Kubota *et al.*, 2004).

En el caso de las plantas terrestres los principales factores ambientales que determinan su supervivencia pueden agruparse en factores abióticos y factores bióticos. Una serie de factores abióticos físicos, tales como luminosidad, temperatura, humedad y sustrato, que juntos conforman el clima, influyen sobre la flora, dando lugar a gradientes de distribución de especies (Potrony-Hechavarría y Motito-Marín, 2001). Otra serie de factores abióticos, entre los que podemos citar las características nutritivas, pH, textura y humedad del suelo, topografía, altitud y latitud, dan lugar a diferentes gradientes medioambientales que en última instancia definen el nicho ecológico de las diferentes especies vegetales de manera multi-dimensional.

Generalmente un juego de factores medioambientales, entre los que se encuentran las propiedades específicas del suelo y la riqueza de especies, determina las variables de hábitat de una especie particular (Zavala-Hurtado & Valverde, 2003). La distribución espacial de especies arbóreas es casi siempre atribuible a las propiedades del suelo (agua, nutrientes y pH, etc.). La variación en la composición de especies arbóreas a lo largo de un gradiente topográfico ha sido demostrada en varios ecosistemas forestales (Tateno & Takeda, 2003). La especialización del micro hábitat relacionados a las características topográficas y edáficas afecta la distribución de varios grupos de plantas. La distribución y abundancia de algunas familias de árboles deciduos está relacionada con gradientes ecológicos tales como condiciones edáficas y tolerancia a la sombra. La materia orgánica, nutrientes, textura y humedad del suelo están fuertemente correlacionadas con la diversidad de especies arbóreas. Además, los árboles adultos y las plántulas poseen diferentes asociaciones con estas variables. Otras especies pueden estar especializadas a lo largo de gradientes de humedad, lo que se ve reflejado por el gran número de especies que persisten en áreas protegidas por pendientes o cañadas debido a su altos niveles de humedad en la época seca (Vargas-Rodríguez *et al.*, 2005).

### 4.1. Factores abióticos

Los estudios de diferenciación del nicho en comunidades arbóreas inicialmente se enfocaron en la partición de especies en un gradiente de disponibilidad de luz. Más recientemente, numerosos estudios han revelado las asociaciones que existen entre las especies con la topografía, disponibilidad de agua y nutrientes del suelo. Generalmente un juego de factores medioambientales determina las características de hábitat de una

especie particular (Zavala-Hurtado & Valverde, 2003). Numerosos trabajos han puesto en evidencia el papel de diversos factores del medio en la estructura de las comunidades. La distribución de especies no aleatoria con respecto a gradientes medioambientales ha sido documentada a varias escalas en numerosas comunidades de plantas alrededor del mundo (Comita *et al.*, 2007). Por ejemplo, el gradiente ambiental, asociado a los cambios en la elevación, incluye el movimiento del agua y de los nutrientes en el suelo, variaciones en microclima y el transporte de propágulos de plantas y de animales. Los cambios en estos factores alteran la composición y la abundancia de especies de bosques a lo largo de cuevas (Maltez-Mouro *et al.*, 2005).

Los procesos que limitan la distribución y abundancia de las plantas están en relación directa con las características del paisaje en varios sentidos. Aunque los factores climáticos se consideran importantes en la organización de las comunidades, se confiere una mayor importancia a los factores edáficos (Huerta-Martínez y García-Moya, 2004). Por ejemplo, la profundidad del suelo y el ángulo de inclinación de las laderas ejercen influencia sobre el movimiento vertical, distribución espacial y disponibilidad temporal del agua, lo mismo que la proporción de grava y piedras. En entornos altamente limitados en agua, los suelos arenosos tienden a poseer un régimen hídrico más favorable para el crecimiento de las plantas que en los suelos de texturas más finas ya que la infiltración es más profunda y la evaporación superficial es menor. La latitud y longitud son variables directamente relacionadas con factores del clima (Huerta-Martínez y García-Moya, 2004). Tales observaciones han llevado a los biólogos a suponer una diferenciación de nichos con respecto a los recursos como una explicación para el mantenimiento de la diversidad local en comunidades multiespecies (Comita *et al.*, 2007). Por lo anterior, existe una relación causal entre riqueza de especies y condiciones abióticas (Kubota *et al.*, 2004).

Las preferencias especie-hábitat específico dan lugar a la variación espacial en las abundancias de las especies arbóreas (Kubota *et al.*, 2004), lo cual es un indicativo de que las diversas condiciones del sitio contribuyen al mantenimiento de la riqueza de especies a una escala de paisaje (Webb & Peart, 2000), aunque el grado de especialización es diferente entre los bosques (Kubota *et al.*, 2004). Los modelos teórico predicen la coexistencia de especies en medioambientes heterogéneos donde cada especie está adaptada a un hábitat particular (Comita *et al.*, 2007).

#### **4.1.1. Geográficos**

Los factores geográficos más importantes que tienen incidencia en definir el hábitat de las especies son la geología, inclinación y exposición de las laderas, porcentaje de rocas, grava y piedras, latitud, longitud y profundidad del suelo. Es evidente que existen efectos combinados entre estos factores que ejercen influencia sobre la vegetación (Huerta-Martínez y García-Moya, 2004).

##### **1) Geología**

El carbono, el hidrógeno, el oxígeno y el nitrógeno que las plantas necesitan para su crecimiento y desarrollo provienen del aire y del agua, y los otros 12 elementos químicos esenciales los obtienen del suelo como iones disueltos en el agua (provienen de la roca madre de la que se formó el suelo). Gran parte de la heterogeneidad de un sitio está vinculada con la variación del suelo, lo cual es determinado por los procesos geológicos, climáticos y bióticos que se dan sobre la roca madre para la formación del suelo en diferentes períodos de tiempo (Tuomisto *et al.*, 1995). Al abrigo de organismos como los líquenes, formadores de materia orgánica, se desarrollan colonias de bacterias y hongos heterótrofos. En combinación con agua, el CO<sub>2</sub> producido en la respiración de estos organismos se transforma en ácido carbónico, que ataca las rocas. A medida que

estas se degradan, y que se incorporan restos orgánicos, se va formando suelo, un horizonte apto para la vida vegetal. La interacción entre la fracción biótica y abiótica condiciona la estructura del suelo y la movilidad de los elementos en este medio, lo que tiene implicaciones directas en los procesos edáficos que tienen lugar para su formación. No todos los complejos formados en el suelo tienen el mismo origen, ni cumplen las mismas funciones. La expresión órgano-complejo mineral describe el resultado de una reacción, llamada complejación, que tiene lugar entre los grupos aniónicos de la materia orgánica con los compuestos minerales procedentes de la roca original.

Los procesos geológicos traen diversas capas de roca a la superficie dentro de un área dada, que da lugar a las diferencias en la naturaleza de la roca madre y que tienen un efecto significativo en las características del suelo. Los procesos físicos y químicos son importantes en la determinación de la variación espacial en las características del suelo; determinan su formación y causan variación en sus características en las escalas espaciales locales (John *et al.*, 2007). La profundidad del suelo, la humedad debida al escurrimiento, la temperatura, etc., son diferentes en áreas rocosas que en una desprovista de éstas. Los afloramientos de roca pueden incrementar la escorrentía en las zonas ocupadas por las plantas (Huerta-Martínez y García-Moya, 2004).

## 2) Topografía

A escalas locales (<1 Km<sup>2</sup>), parece ser que las diferencias en el hábitat correlacionan algunas veces con lugares abiertos, pero casi siempre y más claramente con la topografía (Tuomisto *et al.*, 1995); los factores topográficos son más importantes para determinar la distribución de al menos algunas especies arbóreas ya que muchas de ellas muestran preferencias distintivas ya sea por valles o por cañadas (Dalberg-Poulsen *et al.*, 2006, Tuomisto *et al.*, 1995).

La variación topográfica es una fuente de la heterogeneidad en bosques tropicales y ciertas especies tolerantes a la sombra tienen su distribución de adultos predispuesta perceptiblemente hacia ciertas posiciones topográficas (Daws *et al.*, 2005). En el bosque subtropical, la variación topográfica conduce a una heterogeneidad <sup>estructural</sup>/<sub>compositiva</sub>, que es por lo menos en parte una consecuencia de las diferencias en tolerancia de la sombra y/o viento (sequía) más bien que a los requisitos edáficos de las especies. Los efectos de la topografía en la riqueza de especies son atribuibles a la heterogeneidad espacial en la disponibilidad de la luz/agua que crea diversos lugares que pueden ser ocupados por diversas especies. El número de especies, con diversos rasgos funcionales, que pueden crecer y sobrevivir es afectado por la variación ambiental a lo largo de la posición topográfica, conduciendo a diferencias en la productividad y riqueza de especies (Kubota *et al.*, 2004).

Los cambios en el ambiente físico (de la colina al pie de la cuesta) se asocian a un gradiente ambiental complejo, los cuales incluyen cambios en el microclima, drenaje y acumulación del agua, transporte y acumulación de los minerales del suelo, etc. (Maltez-Mouro *et al.*, 2005). Las condiciones topográficas que se desarrollan a lo largo de una pendiente forestal pueden mostrar un gradiente de recursos (Tateno & Takeda, 2003). Todos estos factores afectan directa o indirectamente los patrones espaciales de la distribución y abundancia de las especie vegetales (Kubota *et al.*, 2004).

Los factores relacionados con la posición topográfica que potencialmente afectan la distribución de las especies incluyen tasas de la formación de brechas (Daws *et al.*, 2005), disponibilidad de agua y humedad del suelo (Gibbons & Newbery, 2002; Tateno & Takeda, 2005), determinación de la distribución espacial del almacén y flujo de nutrientes (Tokuchi *et al.*, 1999), ciclo de nutrientes a través de la caída y arrastre de hojas, profundidad del humus orgánico, mezclas de suelo (Wood *et al.*, 2006), altura del dosel y

pH y capacidad del intercambio catiónico (Daws *et al.*, 2005). La variación topográfica también causa la formación catenaria del suelo, que da lugar a la variación espacial en las características químicas de los suelos derivados de la misma roca madre (John *et al.*, 2007).

Las condiciones microclimáticas como temperatura y humedad del suelo son más severas en la parte superior de las cuestas que en la parte inferior, promoviendo el arrastre de la hojarasca de las partes altas a la base de las pendientes (Tateno & Takeda, 2005). Las correlaciones significativas entre la topografía (cuesta, elevación, y convexidad) y los nutrientes son importantes en la determinación de la variación espacial en las características del suelo (John *et al.*, 2007).

La capacidad de cambio de cationes tiende a ser menor en las laderas con pendientes que en las planicies (Wood *et al.*, 2006). La topografía es uno de los factores más importantes que afectan la disponibilidad de nitrógeno (N) del suelo para las plantas. Las tasas de mineralización y nitrificación del N del suelo varían a lo largo de gradientes topográficos de las zonas altas a los valles, aún dentro de una misma pendiente; los decrementos en la disponibilidad de N en el suelo sobre la topografía puede afectar el crecimiento vegetal y la estructura forestal y de ahí la penetración de la luz al suelo forestal (Tateno & Takeda, 2003).

La topografía también afecta las condiciones edáficas y la sensibilidad a disturbios naturales, tales como vientos ciclónicos, y consecuentemente influye los procesos de crecimiento demográfico, mortalidad y reclutamiento vegetal. Los bosques subtropicales tienen alta riqueza de especies y los ejemplares que están expuestos a tifones y vientos frecuentes generalmente tienen bajas estaturas. Los tifones frecuentes permiten que las especies del dosel y del suelo coexistan porque los disturbios traen bastante luz a las especies del suelo (Kubota *et al.*, 2004).

La variación en abundancia de especies y la estructura forestal a lo largo de gradientes topográficos no es uniforme porque algunas fuentes de heterogeneidad espacial son independientes de la topografía. Hirayama & Sakimoto (2003) sugirieron que diversos mecanismos pueden afectar la diferenciación de la vegetación a lo largo de un gradiente topográfico. Por ejemplo, los árboles solos pueden tomar una parte activa en el control y la modulación de los recursos abióticos, conduciendo a la creación de parches heterogéneos a lo largo de la cuesta (Maltez-Mouro *et al.*, 2005). Los estudios también han detectado la existencia de árboles especializados en pendientes. La distribución espacial del recurso suelo puede resultar de la historia de disturbios o diferencias en las características de la pendiente, donde las brechas tienden a ser más abundantes que al pie de la misma. Además, las especies asociadas a las pendientes pueden responder a un gradiente de suelo característico tales como disponibilidad de agua, nutrientes o textura del suelo (Vargas-Rodríguez *et al.*, 2005).

### **3) Latitud**

La latitud tiende a incidir en la diversidad de especies ya que se relaciona con la incidencia de energía solar, la temperatura, la precipitación y la productividad primaria, lo cual muestra su relación con la diversidad de especies (Clark *et al.*, 1998). Muchos estudios han demostrado que la disponibilidad del N controla directamente las tasas de fijación y pérdida de C en los ecosistemas terrestres de latitudes altas (Cleveland & Townsend, 2006). El N es la limitante dominante en suelos jóvenes en las latitudes medias y altas; además existen patrones globales en el N, P, y N/P foliar de plantas superiores en relación a amplios gradientes latitudinales y de temperatura (Reich & Oleksyn, 2004).

#### 4) Altitud

La influencia de la altitud sobre la composición y abundancia de especies es un hecho aceptado. La composición de las especies de los bosques cambian perceptiblemente a lo largo de un gradiente altitudinal (Soethe *et al.*, 2006; Gallego-Fernández, 2004). Sin embargo, el efecto de los cortos gradientes de elevación puede no ser un factor tan relevante en la organización de la comunidad a escalas pequeñas, donde otros factores, tales como suplemento de nutrientes y enemigos naturales, llegan a ser más importantes (Vargas-Rodríguez *et al.*, 2005).

Las diferencias florísticas entre las subunidades de una localidad pueden correlacionar consistentemente con diferencias en la elevación, la cual produce interacciones altamente significativas con todos los grupos de plantas. De las variables del suelo, el contenido de cationes (particularmente Ca), y la mezcla de suelo (especialmente contenido de arena) correlacionan significativamente con la altura (Dalberg-Poulsen *et al.*, 2006). El acceso reducido de las raíces a los nutrientes en suelo mineral a altas altitudes puede implicar que el riesgo potencial del arrastre de nutrientes aumente. La concentración de nitratos y  $N_{min}$  en la solución del suelo es mayor que los presentes en los materiales sólidos por lo cual se tiene un riesgo mayor de perderse por lixiviación, por lo que la concentración de estos elementos es mucho mayor el pie de las pendientes muy inclinadas que en las partes altas (Soethe *et al.*, 2006). Las laderas con pendiente también tienen una menor contenido de arcilla y por tanto menores concentraciones de nutrientes importantes tales como N o P debido a la escasa presencia de materia orgánica en el suelo. Generalmente se espera un mayor contenido de nutrientes debidos a la caída de hojas en los zonas planas que en las laderas con pendiente (Wood *et al.*, 2006).

Con el aumento de altitud, la temperatura disminuye, mientras que la precipitación de la lluvia y de la niebla aumenta generalmente en ecosistemas tropicales de montaña. La profundidad de la capa orgánico superficial, que almacena altas cantidades de nutrientes, es a menudo considerablemente mayor a altitudes mayores (Soethe *et al.*, 2006). La acumulación creciente de materia orgánica en las partes altas es debida probablemente a una mayor duración de la humedad en presencia de temperaturas más bajas, lo que inhibe la descomposición de la misma (Wilcke *et al.*, 2002). En Jamaica, los bosques de niebla de montaña tienen capas orgánicas más gruesas que en cuevas o en boquetes. Así, la altitud controla el grueso de la capa orgánica. Las variaciones en el grueso de la capa orgánica en una altitud dada se pueden explicar por la diversidad de especies vegetales, cada una de las cuales produce diversas cantidades de hojarasca (Wilcke *et al.*, 2002). Así, la distribución de la profundidad de las raíces finas con capacidad de absorber nutrientes puede cambiar a lo largo de gradientes altitudinal (Soethe *et al.*, 2006).

En los bosques tropicales de montaña a menudo se observa que las raíces crecen hacia arriba a lo largo del tronco de los propios árboles o de los árboles vecinos, cubiertos por grueso musgo. Esto también se observa en los bosques tropicales de montaña y se interpreta generalmente como una estrategia para mejorar la competencia por los nutrientes que se lixivian. La distribución más superficial de la raíz en altitudes más altas apoya idea de Cavalier (1992) que dice que especialmente en altitudes más altas de regiones tropicales húmedas muchos nutrientes son tomados directamente de la hojarasca, el corcho de los troncos  $\frac{1}{2}$  el flujo de los lixiviados, lo que nos lleva a pensar que en una altitud más alta, la entrada de nutrientes al suelo no sólo es controlada por los lixiviados de la vegetación sino también por la entrada directa de nutrientes atmosféricos a través de la niebla y de la precipitación (Soethe *et al.*, 2006).

**a) Clima**

Se puede decir que el clima actúa como gran filtro selectivo a nivel regional, pero a nivel local la distribución de las distintas especies de plantas empieza a ser influenciada por otros factores, entre los que se encuentran las propiedades físicas y químicas de los suelos. Otros factores ambientales que actúan a este nivel local son la topografía, las condiciones microclimáticas y las relaciones con otros seres vivos.

El clima influye sobre la distribución de las especies vegetales y de los distintos tipos de vegetación, y determina, en mayor medida, sus límites de distribución. Por este motivo los grandes ecosistemas terrestres o biomas (las selvas lluviosas tropicales, la taiga, el matorral mediterráneo, etc.) están delimitados por el clima y por una vegetación característica.

Si la variación del clima altera la esperanza de vida de las hojas o biomasa foliar por área, estos cambios pueden afectar el N y P foliar, dadas las asociaciones generalmente cercanas de éstos a las cualidades de la hoja. Las especies con follaje perenne tienen N y P más bajos. Las especies perennes tienen una esperanza de vida de las hojas mayor en ambientes más fríos; dado que el N y P disminuyen su concentración reduciendo la tasa metabólica de las hojas, permitiendo una mayor esperanza de vida de las mismas; este rasgo debe conducir a bajar el N y P foliar en especies perennes en climas cada vez más fríos (Reich & Oleksyn, 2004).

El clima es un correlativo importante del P y N/P foliar, con índices que explican una fracción substancial de su variación total, que es importante dado que la variación total en el juego incluye mucha variación local que esta sin relación a la amplia biogeografía (Reich & Oleksyn, 2004).

Las desecaciones estacionales en las zonas con climas que se caracterizan por presentar épocas de lluvia bien definidas, las precipitaciones provocan una restauración del calcio del suelo y como corolario un incremento del pH debido al ascenso por capilaridad de soluciones nutritivas ricas en este catión, que es lixiviado a mayor profundidad en las estaciones más ricas en lluvias (Reich & Oleksyn, 2004).

**b) Temperatura**

Para generalizar las relaciones entre fertilidad de suelo, riqueza de especies y productividad a través de bosques tropicales y subtropicales, necesitamos considerar diferencias en la precipitación y la temperatura, y en la actividad de los microorganismos entre los sitios (Kubota *et al.*, 2004).

Las temperaturas bajas y una pluviosidad abundante propician suelos ácidos. La vegetación también influye en la acidez del suelo, aunque su efecto está condicionado por los factores mencionados, ya que determinan el tipo de flora presente.

La temperatura y la longitud de la estación de crecimiento son probablemente los aspectos más importantes del ambiente termal que influyen patrones geográficos en el N y P de las hojas. Otros factores climáticos, tales como precipitación, podrían también influenciar patrones de la hoja N y P. El N y P foliar varía como resultado de una variedad de conductores potenciales, no sólo de efectos fisiológicos directos de la temperatura (Reich & Oleksyn, 2004).

Las temperaturas frías influyen características físicas tales como viscosidad del agua y permeabilidad de la membrana, que, junto con influencias de los procesos metabólicos, limitan típicamente la actividad microbiana. Por lo tanto, las bajas temperaturas tienen efectos que bien conocidos que afectan las tasas de descomposición y mineralización de la materia orgánica, que reducen la disponibilidad de N y de P y, por lo tanto, probablemente el N y el P foliar. La temperatura y la longitud de la estación de crecimiento son probablemente los aspectos más importantes del ambiente termal que

influencian patrones geográficos en el N y P foliar. La supresión a bajas temperatura del movimiento de nutriente en suelos y de la toma de nutriente por las raíces son también los fenómenos bien conocidos. Por otra parte, las diferencias en el N y P foliar corresponden generalmente con pequeñas diferencias en el N y P, que podrían conducir a la regeneración positiva relacionada con la temperatura en completar un ciclo de nutrientes. Todos estos efectos relacionados con la temperatura sobre biogeoquímica del suelo llevan al aumento del N y P foliar relacionados con la temperatura. Sin embargo, esta relación simple de temperatura-biogeoquímica es hecha más compleja por la historia del suelo, incluyendo disturbios geológicos importantes tales como glaciaciones que han conducido, en promedio, a suelos más viejos, lixiviados en las zonas tropicales, y gradientes de la precipitación, porque la precipitación anual y la lixiviación asociada son, en promedio, mayor en las zonas tropicales (Reich & Oleksyn, 2004).

Las bajas temperaturas y una pluviosidad abundante propician suelos ácidos. La vegetación también influye en la acidez del suelo, aunque su efecto está condicionado por los factores mencionados, ya que determinan el tipo de flora presente.

El crecimiento radical se ve favorecido en la zona cercana a la superficie donde la disponibilidad de nutrientes, resistencia mecánica, aireación y temperatura son más favorables que en la profundidad (Gaitán *et al.*, 2005).

### **c) Luminosidad**

En general, solo 1-2% de la radiación solar alcanza el piso forestal. Las especies arbóreas pueden diferir extensivamente en la forma de la copa con esta variación en las condiciones de luz y, por lo tanto, se ha postulado que las especies se reparten un gradiente de luz. Si las especies están adaptadas a ciertas condiciones de luz, entonces las comunidades dependen de la forma en que se reparte este recurso (Poorter & Arets, 2003).

La disponibilidad de luz en el suelo forestal es también heterogénea en un ecosistema forestal. Por ejemplo, las brechas en el dosel hechas por la caída de árboles crea espacios heterogéneos de los niveles de suelo, luz y humedad diferentes a las del dosel intacto y pueden ser explotadas por especies con habilidades competitivas especializadas, y tal heterogeneidad de luz afecta la regeneración de la comunidad forestal y el mantenimiento de la diversidad de especies arbóreas (Vargas-Rodríguez *et al.*, 2005). Aún sin brechas, la disponibilidad de luz a nivel del suelo forestal varía ampliamente con las diferentes estructuras forestales. La penetración de luz al piso forestal decrece con el desarrollo de la estructura forestal. Por lo tanto, un dosel bien desarrollado da lugar a especies tolerantes a la sombra profunda. Bajo tales condiciones de baja iluminación, los menores requerimientos de las especies tolerantes a la sombra proveen una ventaja sobre las especies no tolerantes a la sombra en los procesos de regeneración. En contraste, las especies no tolerantes a la sombra tienen mayores tasas de crecimiento y sobrevivencia en condiciones de alta iluminación. Por lo tanto, la heterogeneidad en la disponibilidad de luz en el piso forestal es causa y consecuencia de la estructura forestal y afecta los patrones de distribución de especies (Tateno & Takeda, 2003).

La altura máxima de especies arbóreas específicas refleja la competencia para la captura de un gradiente vertical de luz, y el tamaño de la hoja se correlaciona con la relación agua/nutrientes. La persistencia o la riqueza de especies de la capa inferior es controlada por condiciones de luz conjuntamente con el tipo topográfico (Kubota *et al.*, 2004). Todas las especies experimentan niveles incrementados de luz mientras aumentan su tamaño, debido a la mortandad de individuos de baja luz y la proximidad de sus copas a los individuos sobrevivientes. Las diferencias interespecíficas del ambiente luminoso

desaparecen cuando las especies crecen y eventualmente conforman el dosel. Los cambios en los requerimientos de luz que se da entre las especies pueden ocurrir como una respuesta a la ontogenia y durante las diferentes fases de los ciclos de vida (Poorter & Arets, 2003).

La estructura vertical de los bosques también se desarrolla en las partes bajas de las laderas, donde la disponibilidad de N del suelo es alta. Conforme se desarrolla la estructura vertical, la disponibilidad de luz en el suelo forestal decrece en las laderas. La disponibilidad de luz en el piso forestal es altamente dependiente de la estructura y composición de especies forestales. La competencia por la luz es más severa en las partes bajas de las laderas que en las partes altas (Tateno & Takeda, 2003).

Algunas especies muestran patrones de distribución que no son aleatorios en relación a la disponibilidad local de luz, topografía o suelo, implicando que las diferencias de nicho entre las especies puede promover la coexistencia (Tuomisto, 2006). Se ha propuesto que gran parte de la heterogeneidad de la luz y otros factores físicos pueden explicar la coexistencia de especies alrededor de brechas. En muchas comunidades vegetales, la partición del hábitat es más plausible al nivel de plántulas, donde los hábitats pueden ser más heterogéneos que los experimentados al nivel de los adultos (Webb & Peart, 2000).

Las especies arbóreas han sido clasificadas en diferentes grupos funcionales basándose en sus requerimientos de luz. Las especies pioneras pueden germinar en la sombra pero necesitan luz del ambiente para desarrollarse exitosamente y sobrevivir, mientras que las especies no pioneras son capaces de germinar, establecerse y persistir en la penumbra. A su vez, las no pioneras pueden ser subdivididas en especies tolerantes a la sombra y especies no pioneras demandantes de luz. Estas últimas especies tienen requerimientos intermedios de luz; aunque son capaces de persistir en la sombra, necesitan altos niveles de luz para crecer exitosamente hasta alcanzar grandes tamaños. Es bien conocido que las especies pioneras tienen una morfología muy diferente con relación a las especies no pioneras. Sin embargo, estas especies pioneras representan solo una pequeña fracción del total de especies de una selva (Poorter & Arets, 2003). La mayoría de los bosques se caracterizan por una baja disponibilidad de luz. Como consecuencia, las especies tolerantes a la sombra tienden a ser más abundantes que las especies no pioneras demandantes de luz. Aunque las especies se traslapan en su rangos de luz, existe fuerte evidencia de que hay una partición del gradiente de luz (Poorter & Arets, 2003).

Las plántulas de las especies muestran cuatro diferentes patrones de distribución con respecto al dosel abierto, lo cual sugiere que las especies ocupan diferentes nichos a lo largo de un gradiente de luz (Daws *et al.*, 2005). Para la mayoría de las especies la talla está positivamente correlacionada con la luz. El incremento dependiente de la luz se debe principalmente a un incremento en la tasa de asimilación. Las especies demandantes de luz tienen una alta plasticidad fotosintética, y por lo tanto muestran respuestas de crecimiento más fuertes a la luz que las especies tolerantes a la sombra. El desarrollo de los ápices es limitado por la cantidad de luz que son capaces de interceptar (Poorter & Arets, 2003).

#### **d) Precipitación pluvial**

El agua edáfica proviene de la precipitación pluvial o de depósitos subterráneos y contiene concentraciones de sustancias disueltas que llegan a las raíces y son absorbidas por éstas. El agua edáfica que no se une a las partículas de suelo o que no es absorbida por las raíces arrastra a través del suelo a los materiales disueltos en ella (Soethe *et al.*, 2006). Al proceso mediante el cual el suelo pierde a los minerales disueltos en el agua se

le llama lixiviación. También es posible que el agua de los depósitos subterráneos al ascender arrastre consigo materiales disueltos. El agua es el medio para el reciclamiento de nutrientes en un ecosistema. En un bosque el vertedero de agua depende generalmente de variaciones topográficas junto con la combinación de plantas y suelo (Tokuchi *et al.*, 1999).

La variación en la diversidad de especies en el neo trópico puede ser explicada por la precipitación total anual (Vargas-Rodríguez *et al.*, 2005). El mayor índice de mortalidad en las plántulas durante la estación de lluvias comparado con el que se presenta durante la estación seca sugiere que la estación de lluvias es la mayor barrera al establecimiento de las plántulas. Las altas tasas de mortalidad de la estación de lluvias pueden resultar de la precipitación intensa que inhibe el establecimiento de las plántulas o reflejar una actividad más alta de los patógenos de las plántulas resultando de altos niveles de la humedad relativa. Durante la estación de lluvias, las tasas de mortalidad son más altas en pendientes que en sitios planos. Las plántulas en pendientes pueden ser dañadas por flujo por tierra durante la precipitación intensa o el régimen más húmedo puede inducir el ataque bacteriano o fúngico contra las plántulas. Sin embargo, durante la estación de sequía, este patrón es invertido, lo que puede reflejar el potencial mátrico del suelo más alto en las pendientes que reducen el impacto de la sequía de la estación seca (Daws *et al.*, 2005).

Con una precipitación más alta, la disponibilidad de nutrientes del suelo puede aumentar de manera eficaz; así, durante períodos de la alta precipitación, la concentración de nutrientes de la hojarasca puede ser más alta que en períodos más secos. Una relación entre la precipitación alta y el incremento de las concentraciones de nutrientes de la hojarasca alta puede también ser la consecuencia de un aumento en la caída de hojas verdes o el lixiviado del polvo existente en las mismas (Reich & Oleksyn, 2004). A menudo, las precipitaciones extraordinarias traen consigo fuertes vientos que suelen venir cargados con materiales orgánicos de otros ecosistemas. Sin embargo, períodos de lluvia intensa pueden incrementar los índices de pérdida de nutrientes solubles del suelo por lixiviación, así como una disminución en las tasas de descomposición y la mineralización debido a una menor concentración de oxígeno en el suelo (Wood *et al.*, 2005).

Los niveles de  $\text{NO}_3$  en la solución de suelo son más altos cerca de las partes bajas de las pendientes. Después de un arrastre de materiales por la lluvia, la concentración de cationes y  $\text{NO}_3$  se incrementa en las partes bajas de las pendientes. Los patrones de reciclamiento de nutrientes difieren a lo largo de una pendiente a causa del agua a lo largo de un sistema topográficamente bien desarrollado planta-suelo. Además, la nitrificación es estimulada después de disturbios y arrastre de nutrientes. Por lo anterior, la transformación de nitrógeno difiere a lo largo de un sistema planta:suelo y la nitrificación puede estar controlada por los factores del ciclo de nutrientes vía la solución del suelo (Tokuchi *et al.*, 1999).

Debido a que los bosques húmedos tropicales experimentan infrecuentemente sequedad significativa del suelo, la tensión del agua puede conducir a la senectud prematura de hojas (Wood *et al.*, 2005). La caída de hojas sobreviene durante períodos relativamente secos en montaña y bosques de tierra baja (Wilcke *et al.*, 2002). Para las especies sensibles a los cambios en la hidrología del paisaje, cualquier cambio en las condiciones del agua subterránea pueden tener efectos de gran envergadura si se reduce el grado de localizaciones estacional secas dentro de los pantanos de la turba de la tierra baja (Widyatmoko & Burgman, 2006).

## 5) Edafología

Estudios llevados a cabo en diferentes partes de los trópicos a diferentes escalas espaciales difieren mucho en como la importancia de los factores ambientales, especialmente propiedades del suelo, determinan la distribución de especies vegetales (Dalberg-Poulsen *et al.*, 2006). Se ha sugerido que la riqueza local de especies vegetales (diversidad alfa) varía a lo largo de gradientes edáficos en una selva tropical. Varios estudios han indicado que la riqueza se incrementa con la fertilidad del suelo, mientras que otros han encontrado exactamente lo opuesto, un pico de fertilidad intermedio o ninguna relación entre biodiversidad y fertilidad. La distribución de especies en zonas boreales y templadas está fuertemente determinada por las características del suelo (Tuomisto *et al.*, 2002). Los patrones florísticos observados no pueden ser explicados por las distancias geográficas o por la geomorfología, sino que se correlacionan con propiedades del suelo (Kubota *et al.*, 2004). Esto sugiere que los patrones en la composición de especies en una localidad son controlados por factores edáficos específicos (Tuomisto *et al.*, 1995). Existe evidencia de que la distribución de las especies es establecida por el suelo y los factores del paisaje en el hábitat a escalas regionales (John *et al.*, 2007).

A escalas locales (<1 Km<sup>2</sup>), los factores del hábitat y la distribución de las especies muestran agregación espacial comparable, haciendo difícil de distinguir la importancia del nicho y de los procesos de la dispersión. La disponibilidad del recurso del sustrato desempeña un papel importante en el ensamblado de las comunidades de árboles tropicales en las escalas locales (John *et al.*, 2007).

A escala de paisaje y mesoescalas en varios estudios se ha encontrado que los gradientes edáficos, que forman verdaderos mosaicos edáficos con los niveles de la heterogeneidad y segregación espacial y que permiten la cuantificación de los efectos de los factores de la dispersión y del hábitat en distribuciones de las especies y la estructura de la comunidad, son importantes para restringir la distribución de especies arbóreas, pero en otros se ha reportado que la mayoría de las especies aparece en más de un tipo forestal (Dalberg-Poulsen *et al.*, 2006). A nivel de mesoescala los factores edáficos influyen en la distribución de especies; en términos de importancia de los efectos, los factores del suelo tienen una mayor incidencia que la posición topográfica y esta a su vez que el ángulo de inclinación de las laderas. Existe una relación aparente entre los patrones de respuesta a factores edáficos y las historias de vida de las especies. Todas las especies muestran distribución diferencial en relación con factores edáficos sobre los pequeños gradientes medioambientales (Clark *et al.*, 1998). A nivel mesoescala en los neo trópicos, los estudios en árboles, palmas y herbáceas encontraron que las distribuciones estaban relacionadas con el suelo y la topografía (John *et al.*, 2007).

La importancia de los gradientes de suelo en la diversidad de especies arbóreas puede ser cuantificada indirectamente: algunas especies responden fuertemente a un tipo específico de suelo mientras que otras son generalistas, por lo cual la abundancia y diversidad de especies es limitada por la variación en el suelo (Gallego-Fernández, 2004).

La distribución espacial de una fracción substancial de especies está relacionada con la heterogeneidad espacial en distribuciones del recurso del suelo de manera que sugieren la especialización a diversos niveles de recursos esenciales. La discontinuidad en las condiciones edáficas es una característica de los paisajes tropicales (Clark *et al.*, 1998). La topografía influencia la heterogeneidad del suelo influyendo en la distribución de una gran cantidad de especies forestales en cada sitio. Existen fuertes y constantes relaciones entre las distribuciones de especies forestales y nutrientes del suelo (John *et al.*, 2007).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

El crecimiento de los árboles es indirectamente dependiente de las características edáficas debido a su influencia sobre el desarrollo de las raíces. El volumen del suelo disponible para las raíces, determinado por la profundidad y textura del mismo, es uno de los principales factores que influyen en el crecimiento de los árboles al afectar la disponibilidad de agua y nutrientes. Las raíces exploran selectivamente el suelo, concentrándose en los sitios con mayor contenido de materia orgánica (carbono orgánico). La materia orgánica es la variable que mejor se relaciona con la densidad de raíces finas en los bosques templados (Gaitán *et al.*, 2005)

Las raíces constituyen el sistema de fijación para los árboles y efectúan las funciones vitales de absorción y transporte de agua y nutrientes. Las raíces finas son las estructuras principalmente responsables de la absorción de agua y nutrientes ya que representan entre un 90 y 95% de la longitud total del sistema radical y por lo tanto constituyen la superficie de contacto con el suelo. El hábito de arraigamiento, que está relacionado con la forma, dirección y distribución de las raíces gruesas, tiende a estar bajo control genético, mientras que la intensidad del sistema radical, que está asociado con la distribución de raíces finas, es más sensible a las condiciones del suelo. La distribución de raíces finas está estrechamente relacionada con las propiedades físicas y químicas del suelo. La mayor frecuencia de raíces finas se encuentra en los primeros centímetros del suelo, donde las condiciones son más favorables que en la profundidad. Los principales factores que afectan el crecimiento de las raíces de las plantas son: edad, especie, disponibilidad de agua y nutrientes, factores abióticos tales como temperatura, grado de compactación del suelo, aireación y presencia de sustancias tóxicas. La presencia de horizontes arcillosos reduce severamente el desarrollo de las raíces, limitando de esta forma la absorción de agua y nutrientes de las partes más profundas del perfil (Gaitán *et al.*, 2005).

La toma de nutrientes depende de fuente nutriente a la superficie de la raíz y a la absorción activa al lado de las células de la raíz. Es influenciado por varios factores, tales como explotación del suelo por las raíces, concentraciones nutrientes en la solución del suelo, el contenido en agua del suelo, la temperatura del suelo, la compactación de suelo o la simbiosis con micorrizas (Soethe *et al.*, 2006).

El patrón espacial de la adquisición nutriente por las raíces de la planta tiene un impacto grande en flujos nutrientes dentro de ecosistemas del bosque. La adquisición de los recursos del suelo por las plantas y las pérdidas nutrientes del ecosistema lixiviado dependen fuertemente de la explotación del suelo al lado de las raíces. La distribución vertical de la raíz en suelos se relaciona con las características del suelo y de la planta incluyendo disponibilidad nutriente, el suelo pH, el acceso al agua, la inundación, la densidad a granel, la edad del soporte, la composición de la especie, y el tipo de simbiosis con micorrizas. Muchos ecosistemas del bosque son caracterizados por una capa superficial densa arraigada. De otros casos, por ejemplo en regiones más áridas, la densidad fina de la raíz es la más alta varios centímetros debajo de la superficie del suelo (Soethe *et al.*, 2006)

Gran parte de la variación del suelo parece estar correlacionada con factores geológicos y topográficos (Paoli *et al.*, 2006). Por ejemplo, las partes bajas de laderas poseen hasta cuatro veces más cationes en el suelo que las partes altas. La retención de agua en el suelo puede ser un factor muy importante para explicar los patrones de riqueza de especies. Muchas de las propiedades del suelo está correlacionadas con la elevación, la cual correlaciona con la mezcla del suelo y con el drenaje, los roles relativos de estos factores son determinantes en los patrones de riqueza de especies y no pueden ser separados (Dalberg-Poulsen *et al.*, 2006)

Las asociaciones planta-suelo son respuestas direccionales de las plantas a la variación en características del suelo (Widyatmoko & Burgman, 2006). Sin embargo, las especies arbóreas puede influenciar y responder a las características del suelo con entradas y efectos de la caída de las hojas sobre comunidades y las tasas de descomposición microbianas (John *et al.*, 2007)

#### **a) Textura del suelo**

La textura de un suelo se define por las proporciones de arena, limo y arcilla que posee. Es un factor muy importante en la capacidad de retención del agua y de nutrientes. En función del tipo y tamaño de partículas presentes en un suelo, la capacidad de adsorción de moléculas polares e iónicas varía considerablemente. Otros efectos dependientes de la textura son la plasticidad y la cohesión.

Las partículas finas del suelo suelen estar unidas formando agregados o grumos, en la mayoría de los casos gracias a la acción de la materia orgánica (el complejo arcilloso-húmico). Los espacios entre estos agregados se llaman poros, por ellos circulan aire y agua. Determinan hasta el 50% del volumen del suelo. Como se ha dicho, normalmente el aire ocupa la mayor parte de los poros grandes y el agua los pequeños. A su vez, los agregados se juntan formando grupos mayores. La forma en que se unen las diversas partículas recibe el nombre de estructura, y tiene gran importancia sobre las propiedades del suelo. Por ejemplo, un suelo arcilloso, en el que el movimiento del agua es lento y la aireación escasa, puede no presentar estos problemas si existe una buena estructura. Los efectos de las diferencias locales del suelo, tales como los existentes entre suelos arenosos y suelo de textura fina, son generalmente reconocidos pero raramente cuantificados y documentados al menos las variaciones menos conspicuas de suelo local (Dalberg-Poulsen *et al.*, 2006).

Varios factores físicos, incluyendo la disponibilidad de agua y aire y la resistencia mecánica que ofrece el suelo a ser deformado por las raíces en crecimiento, y biológicos pueden limitar el crecimiento radical (Gaitán *et al.*, 2005).

La influencia de la pendiente en la textura y la capacidad de retención de agua del suelo determinan en parte los niveles de nutrientes minerales disponibles, y así el establecimiento y la distribución espacial de la vegetación, sobre todo al pie de las pendientes. Incluso las pequeñas variaciones en la elevación pueden ser importantes en paisajes planos para definir la textura del suelo. Los suelos con escasa pendiente tienden a ser más gruesos y mejor drenados que los de tierras planas donde el drenaje crea acumulaciones de pequeñas partículas del suelo. El ángulo de la pendiente y la cubierta vegetativa determinan la tasa de escurrimiento superficial e infiltración (Widyatmoko & Burgman, 2006).

Existe un vínculo muy importante entre la productividad y el ciclo del nitrógeno. La disponibilidad de N para las plantas es mayor al pie de las pendientes que en las partes altas de las colinas debido a la alta acumulación de nutrientes y formas de N inorgánicas, lo cual resulta en un relativamente menor C/N de las plantas que al pie de las pendientes. La menor C/N de las plantas favorece la mineralización de N. En las partes bajas de las pendientes, los ciclos de nutrientes vía la solución del suelo están caracterizados por grandes flujos internos de  $\text{NO}^{-3}$  y toma de nutrientes por las plantas (Tokuchi *et al.*, 1999).

#### **b) Nutrientes del suelo**

En la Tierra se han encontrado 92 elementos químicos y alrededor de 60 de ellos forman parte de las plantas, pero se ha demostrado que sólo 16 de ellos son esenciales para el crecimiento y desarrollo normal de las plantas (Cuadro 1). A 9 de ellos se les conoce como macronutrientes porque se encuentran en cantidades mayores de 0.05 %

en peso seco y son: el C, H, O, N, P, K, S, Ca y Mg. A los 7 elementos químicos que se encuentran en cantidades menores al 0.05% en peso seco y que son necesarios para el crecimiento y el desarrollo normal de las plantas se les conoce como micronutrientes o elementos traza y son: el Fe, B, Mn, Cu, Mo, Cl y Zn. Los nutrientes esenciales pueden limitar la producción primaria de las plantas a nivel individual y de los ecosistemas completos y pueden jugar un rol esencial en el ensamblado de las comunidades vegetales. Por lo tanto, la correcta interpretación de las interacciones nutrientes-plantas constituye el mayor reto para comprender la ecología de las comunidades vegetales y la biología de los ecosistemas (Daufresne & Hedin, 2005). Existe una diferencia significativa en el contenido de macro nutrientes entre los diferentes tipos de suelos. La variación de P sugiere que las plantas explotan una reserva de nutrientes profunda. La relación negativa entre N, P y C insinúa que la disponibilidad de nutrientes depende de la disponibilidad de C atmosférico. La disponibilidad de K hasta 1 m de profundidad apunta a que la vegetación puede explotar este nutriente del aporte de la materia orgánica y que no es tan limitante como el N y el P (Wood *et al.*, 2006).

Las plantas obtienen del aire y del agua el C, el H, el O y el N que necesitan mientras que los otros 12 elementos químicos esenciales los toman del suelo como iones disueltos en el agua que a su vez tienen su origen en la roca madre de la que se formó el suelo. Cada elemento químico desempeña funciones diferentes en la planta aunque estas suelen encontrarse relacionadas (Cuadro 1).

Los nutrientes del suelo muestran distribuciones desiguales no uniformes que se correlacionan a menudo con las características topográficas tales como pendiente, elevación y disponibilidad de agua e interaccionan entre sí. Típicamente, la distribución de nutriente del suelo muestra una sólida estructura espacial con una auto correlación espacial significativa fuera de los 80-150 m (John *et al.*, 2007).

La bioquímica fisiológica desempeña al parecer un papel importante en el constreñimiento de concentraciones y de cocientes de elementos en la mayoría de los organismos. La temperatura influye directamente en la tasa de virtualmente todos los procesos fisiológicos, y la integración de los controles a escala de la planta en los índices de acumulación y retiro de C, N, y P de las hojas. Si las temperaturas frías limitaran la fijación de C fotosintético más (o menos) que la toma de N o P por parte de la raíz, la relación C/N o C/P de la planta entera cambiará al inverso o pasará a ser igual. El N y P de la hoja regulan los índices de fijación y uso de C, y la cinética del N y los procesos regulados por P son termosensibles; los cambios en N y P pueden compensar los cambios en las temperaturas (Reich & Oleksyn, 2004).

El consumo de agua y nutrientes por parte de las plantas depende de la habilidad de las raíces para absorberlos, de la capacidad del suelo para suministrarlos y de la accesibilidad de los mismos, que está determinada por el tamaño y configuración del sistema radical. La compactación del suelo afecta la configuración del sistema radical y por lo tanto el consumo de agua y nutrientes (Gaitán *et al.*, 2005).

En varios estudios se ha demostrado la habilidad de las plantas para ubicar sus raíces de absorción en las zonas del perfil con mayor disponibilidad de nutrientes. La distribución y configuración del sistema radical es particularmente importante para la absorción de nutrientes poco móviles, tales como fósforo y potasio; estos nutrientes, cuya movilidad ocurre a través del mecanismo de difusión, solo se mueven escasos milímetros debido a su intensa interacción con la matriz del suelo. Los nutrientes móviles (principalmente nitrógeno y azufre) se mueven por convección o flujo masal y se desplazan por mayores distancias en el suelo. Una exploración más intensiva del suelo por parte de las raíces puede no tener incidencia sobre la absorción de nutrientes móviles pero puede incrementar la absorción de fósforo (Gaitán *et al.*, 2005).

**Cuadro 1. Elementos químicos esenciales y sus funciones en las plantas**

Elemento químico	Partícula química en que lo capta	Principales funciones
Azufre	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Componente de algunos aminoácidos y vitaminas
Boro	H <sub>2</sub> BO <sub>3</sub> <sup>1-</sup>	Interviene en el transporte de los carbohidratos a través de la membrana celular y en el aprovechamiento del calcio
Calcio	Ca <sup>2+</sup>	Tiene una función estructural fundamental como componente de la lámina media (capa cementante entre las paredes celulares de las células vegetales adyacentes). Participa en otras actividades fisiológicas de las plantas como la modificación de la permeabilidad de las membranas, además de ser un activador enzimático
Carbono	CO <sub>2</sub>	Materia prima de la fotosíntesis; componente estructural de todas las moléculas orgánicas
Cloro	Cl <sup>1-</sup>	En forma de ion (Cl <sup>1-</sup> ) es esencial para el proceso de la fotosíntesis y también participa en el mantenimiento de la turgencia de las células
Cobre	Cu <sup>1+</sup> , Cu <sup>2+</sup>	Activador enzimático de la fotosíntesis
Fierro	Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup>	Participa en reacciones enzimáticas y en moléculas de transporte de electrones en los procesos de la fotosíntesis, respiración y fijación del nitrógeno
Fósforo	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>1-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Es un componente estructural de ácidos nucleicos, fosfolípidos (esenciales para la membrana celular) y de las moléculas de transferencia de energía como el ATP (en la transferencia de energía)
Hidrógeno	H <sub>2</sub> O	Componente estructural de todas las moléculas orgánicas; importante en las reacciones bioenergéticas
Magnesio	Mg <sup>2+</sup>	Componente fundamental de la estructura de la molécula de la clorofila; activador enzimático en el metabolismo de los carbohidratos
Manganeso	Mn <sup>2+</sup>	Activador de enzimas que participan en la respiración y en el metabolismo del nitrógeno; necesario para la fotosíntesis
Molibdeno	MoO <sub>4</sub> <sup>2+</sup>	Activador de enzimas que participan en el metabolismo del nitrógeno
Niquel	Ni	Participa en reacciones enzimáticas de las leguminosas nitrificantes como el chícharo y el frijol
Nitrógeno	NO <sub>3</sub> <sup>1-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>1+</sup>	Componente de proteínas, ácidos nucleicos, clorofila y algunas coenzimas
Oxígeno	CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O	Componente estructural de todas las moléculas orgánicas; participa en las reacciones bioenergéticas
Potasio	K <sup>1+</sup>	Lo utilizan las plantas en forma de ion (K <sup>+</sup> ) para el mantenimiento de la turgencia de las células mediante el fenómeno de la ósmosis. La presencia del ión K en el citoplasma hace que la célula tenga una mayor concentración de solutos que las células circundantes. También el K participa en la apertura y cierre de los estomas
Zinc	Zn <sup>2+</sup>	Activador de enzimas en la respiración y en el metabolismo del nitrógeno

Los parches con disponibilidad de nutrientes en la selva tropical confieren patrones especiales en la actividad microbiológica del suelo. Altas concentraciones de C, N y P orgánicos son disponibles a la escala de finos micro sitios y atraen a las raíces finas de los árboles circunvecinos y los microorganismos que habitan la rizósfera permiten su absorción. Algunas especies, por ejemplo leguminosas, crean islas de fertilidad con grandes biomásas de suelo microbiano, mineralización de C y N, y N orgánico y total. Por lo tanto, la disponibilidad de parches del intercambio de iones y Mg puede ser determinada por la presencia de ciertas especies vegetales (Vargas-Rodríguez *et al.*, 2005).

En una escala global, los patrones de reciclado de nutrientes difieren considerablemente entre sitios tropicales contrastando la fertilidad del suelo. La eficiencia de reciclamiento (por ejemplo la proporción de nutrientes contenidos en el detritus que no se pierden durante los procesos de reciclado) de un nutriente dado dependen de factores tales como la calidad del detritus producido por las plantas y la aparición de diferentes nutrientes, tales como N y P (Daufresne & Hedin, 2005). En general, un incremento en la fertilidad del suelo está positivamente asociada con la calidad de la hojarasca, concentración de nutrientes en los tejidos de las hojas, las tasas de descomposición y la mineralización de N (John *et al.*, 2007). Además, la disponibilidad de nutrientes juega un papel importante en la capacidad de las plantas de tolerar estreses ambientales. Altos niveles de nutrientes contribuyen a mantener la presión osmótica en las hojas, capacitando a las plantas a soportar un alto grado de estrés por sequía. Por lo tanto, la fertilidad del suelo puede afectar la magnitud y, dependiendo del grado de sequía experimentado, el patrón temporal de flujo de nutrientes a través de la caída de hojas a escala de paisaje (Wood *et al.*, 2006).

### c) pH

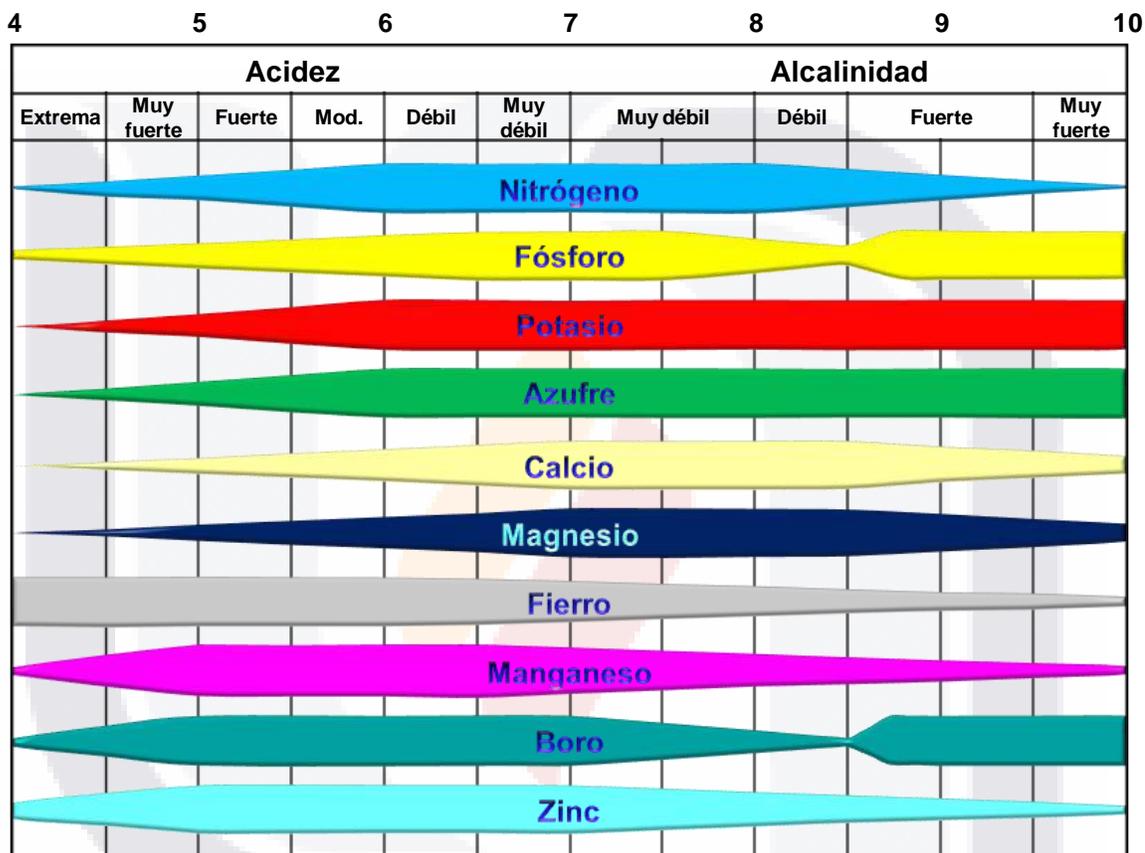
Otro factor que determina la distribución de especies vegetales es el pH. La presencia de especies endémicas no sólo está asociada a factores geográficos como la altitud, sino que también está directamente relacionada con el pH del suelo y la perturbación humana (Gallego-Fernández, 2004).

El pH del suelo es importante porque los vegetales sólo pueden absorber a los minerales disueltos en cierto rango de pH, y la variación del pH modifica el grado de solubilidad de los minerales, por lo cual el pH determina la biodisponibilidad de cada nutriente en el suelo (Figura 1). Por ejemplo, el Al y el Mn son más solubles en el agua edáfica a un pH bajo y al ser absorbidos por las raíces son tóxicos a ciertas concentraciones. La acidez-basicidad-alcalinidad de un suelo determina la biodisponibilidad de los nutrientes para las plantas. Determinadas sales minerales que son esenciales para el crecimiento vegetal, como el fosfato de calcio, son menos solubles a un pH alto, lo que hace que esté menos disponible para las plantas.

El pH del suelo afecta al proceso de lixiviación de las sustancias nutritivas para las plantas. Un suelo ácido tiene una capacidad menor de retención catiónica. En un suelo con pH ácido, los iones  $H^+$  desplazan y reemplazan a los cationes de  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$  y  $K^+$  los cuales son lavados del suelo posteriormente, disminuyendo la riqueza de nutrientes disponibles. En un suelo de pH neutro o básico los iones de Ca, Na y K reemplazan a los de  $H^+$ . Los valores de pH bajos dan lugar a la disponibilidad reducida de Ca, magnesio, K, y P, mientras que los cationes tales como Al, Cu, Mn, y Zn llegan a estar más solubles y disponibles para la asimilación de la planta, particularmente en  $pH < 5$ . Las diferencias en la disponibilidad media de los cationes básicos Ca, Mg, K y Al, son consistentes con estas diferencias en pH. Los suelos fuertemente ácidos ( $pH < 5$ ) también muestran disponibilidad

baja de B debido a la absorción de B en las superficies de Fe y  $Al_2O_3$  de los minerales del suelo. El pH bajo y las concentraciones relativamente altas del Al y del Fe son probablemente responsables de los niveles muy bajos de B en estos sitios. el pH del suelo ejerce indirectamente fuerte influencia en la distribución de las especies en los bosques tropicales (John *et al.*, 2007).

**Figura 1. Biodisponibilidad de los nutrientes del suelo según el pH**



Tomado de Ibáñez, 2007

El pH de la mayor parte de los suelos varía entre 4 y 8, pero algunos se salen de este rango. El pH de algunos bosques varía entre 2.8 y 3.9, es decir, es muy ácido, pero en suelos salinos el pH es mayor de 8.5. El rango óptimo del pH del suelo para el crecimiento de la mayoría de los vegetales es de 6.0 a 7.0 porque la mayor parte de las sustancias nutritivas de las plantas son biodisponibles en este intervalo (Figura 1).

El pH del suelo influye en el desarrollo de las plantas y a su vez el pH del suelo es afectado por los vegetales y otros organismos como resultado de los lixiviados y descomposición de los restos vegetales, así como de la actividad biológica del suelo. Por ejemplo, el intercambio catiónico realizado por las raíces de las plantas reduce el valor del pH del suelo, la descomposición del humus y la respiración celular de los organismos edáficos (Soethe *et al.*, 2006).

#### **d) El agua del suelo**

El agua es el medio para el reciclamiento de nutrientes en un ecosistema. En un bosque el vertedero de agua depende generalmente de variaciones topográficas junto con la diferente combinación de plantas y suelo (Tokuchi *et al.*, 1999).

Como el suelo tiene partes ocupadas por agua y por aire, en términos generales, el agua es retenida en los poros más pequeños del suelo y el aire atmosférico en los poros más grandes.

El agua edáfica proviene de la precipitación pluvial o de depósitos subterráneos y contiene concentraciones de sustancias disueltas que llegan a las raíces y son absorbidas por éstas. El agua edáfica que no se une a las partículas de suelo o que no es absorbida por las raíces arrastra a través del suelo a los materiales disueltos en ella. Al proceso mediante el cual el suelo pierde a los minerales disueltos en el agua se le llama lixiviación. También es posible que el agua de los depósitos subterráneos al ascender arrastre consigo materiales disueltos.

La distribución espacial de especies arbóreas es casi siempre atribuida a las propiedades del suelo, tales como agua, nutrientes y pH. La variación en la composición de especies arbóreas a lo largo de un gradiente topográfico ha sido demostrada en varios ecosistemas forestales. Estas distribuciones de árboles han sido explicadas por las condiciones de agua del suelo que se desarrollan a lo largo del dosel forestal, y las especies arbóreas casi siempre son categorizadas en especies méxicas y xéricas de acuerdo a sus requerimientos de agua (Tateno & Takeda, 2003).

La abundancia de especies con hojas pequeñas en los bosques subtropicales se atribuye a la baja disponibilidad del agua, como resultado del estrés crónico del viento (tifones) y bajas temperaturas del invierno. El patrón espacial no-al azar puede reflejar una diferencia en la susceptibilidad de la especie a la tensión del agua (o viento) a lo largo del gradiente topográfico (Kubota *et al.*, 2004).

Las discontinuidades en el drenaje del suelo causan cambios importantes en la composición de especies de las comunidades tropicales del árboles de las tierras bajas y promueven la coexistencia de especies adaptadas a poner en contraste ambientes edáficos (Paoli *et al.*, 2006).

#### **e) El aire en el suelo**

El suelo tiene numerosos huecos o poros de distintos tamaños entre sus partículas, que están llenos de proporciones variables de aire y agua edáficos. El agua y el aire son necesarios para formar un suelo húmedo y bien aireado que mantenga a las plantas y otros organismos edáficos. El aire atmosférico ocupa los poros que deja el escurrimiento del agua después de la lluvia.

El aire edáfico está formado por los mismos gases que contiene el aire atmosférico, aunque en proporciones diferentes. Por ejemplo, el proceso de la respiración aerobia de los organismos del suelo disminuye la proporción de  $O_2$  e incrementa la cantidad de  $CO_2$  en relación a la proporción del aire atmosférico.

El  $O_2$  que las células radiculares necesitan para la respiración aerobia se difunde desde los espacios aéreos del suelo hacia los espacios intercelulares del córtex (su principal función es de almacenamiento y está formado principalmente por células parenquimatosas de disposición laxa con grandes espacios intercelulares, comprende el grueso de la raíz de una dicotiledónea herbácea) y de aquí a las células de la raíz.

Entre los gases importantes para los proceso que ocurren en el suelo están el  $O_2$  necesario para la respiración aerobia de los organismos edáficos, el N es utilizado por las bacterias fijadoras de N y el  $CO_2$  que es aprovechado por las bacterias y también forma

ácido carbónico ( $H_2CO_3$ ) al reaccionar con el agua favoreciendo el proceso de intemperismo.

La respiración celular puede ser aerobia o anaerobia y los dos procesos son exergónicos, es decir, que liberan energía.

#### **4.2. Factores bióticos**

En general, los organismos vegetales pueden ser considerados como “ingenieros físicos de ecosistemas” porque su mera presencia, crecimiento y reemplazo continuo, y su persistencia a lo largo de períodos de tiempo prolongados, puede conducir a la distribución controlada de los recursos sobre los cuales muchas otras especies de plantas (y animales) son dependientes. La distribución espacial del dosel a lo largo de la pendiente afecta ligeramente el ambiente en el piso del bosque. Además, las características físicas y químicas de las hojas determinan la calidad y la cantidad de acumulación orgánica de la hojarasca. Esto afecta alternadamente la entrada de nutrientes minerales en el piso del bosque (Maltez-Mouro *et al.*, 2005).

Todas las especies dependen del mismo puñado de recursos y los adquieren de manera similar, haciendo difícil explicar su coexistencia a través de la diferenciación de nichos, especialmente en comunidades ricas en especies tales como las selvas tropicales. La parquedad de recursos en la cual los árboles adultos pueden especializarse lleva a pensar en que la partición del hábitat es más crítica durante las primeras etapas de vida y que la coexistencia es posible a través de la partición del ‘nicho regenerado’. Los tipos de hábitat topográficos varían en la disponibilidad de mezclas de suelo y drenaje; sin embargo, existe la posibilidad de que estas asociaciones de especies observadas con el hábitat resulten de eventos históricos, interacciones bióticas, tales como presión de patógenos o herbívoros, o variación de otras variables abióticas tales como disponibilidad de nutrientes (Comita *et al.*, 2007). Los cambios en las interacciones bióticas, así como la existencia de barreras de dispersión y los procesos activos durante la historia geológica o climática, pueden causar diferencias en la composición de especies que se acumulan entre sitios ecológicamente similares, o una menor diferencia entre sitios disimilares a todas las escalas espaciales (Tuomisto *et al.*, 1995).

Si la diferenciación del nicho toma lugar principalmente durante su regeneración, entonces las asociaciones observadas con factores edáficos se espera que surjan durante las primeras etapas de vida, tales como germinación de semillas y establecimiento de plántulas. La aparición y el establecimiento de las plántulas es una etapa del alto riesgo en el ciclo vital de la planta. El mayor índice de mortalidad en la estación húmeda con respecto a la estación seca siguiente sugiere que la estación húmeda es la mayor barrera al establecimiento de las plántulas. Las altas tasas de mortalidad de la estación húmeda pueden resultar de la precipitación intensa que impide el establecimiento de las plántulas o reflejar una actividad más alta de los patógenos de las plántulas como resultado de los altos niveles de humedad relativa. Durante la estación húmeda, las tasas de mortalidad son más altas en las pendientes que en la meseta. Las plántulas en pendientes pueden ser dañadas por flujo de tierra durante la precipitación intensa o la mayor presencia de agua puede estimular el ataque bacteriano o fúngico contra las plántulas. Sin embargo, durante la estación seca, este patrón se ve revertido, lo que puede reflejar el potencial matricial de un suelo más alto en las pendientes que reducen el impacto de la sequía de la estación seca (Daws *et al.*, 2005).

La muerte de los árboles crea parches localizados en el piso foresta donde las plántulas experimentan condiciones del hábitat modificados, incluyendo mucho mayor intensidad luminosa que en la selva intacta (Webb & Peart, 2000). Las plántulas de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

muchas especies responden a dichas brechas, y algunas son dependientes de esas brechas por lo cual son llamadas especialistas en brechas. Consecuentemente, la dinámica de brechas y la interacción de brechas en el dosel y subdosel crean heterogeneidad en la distribución de la luz y por lo tanto influyen en la composición de especies (Vargas-Rodríguez *et al.*, 2005). Además, los requerimientos fisiológicos y la presión selectiva puede cambiar con el tamaño, de tal manera que las preferencias ecológicas de las diferentes especies pueden diferir de un estado de vida a otro (Daws *et al.*, 2005).

La productividad es influenciada por cualidades de la comunidad a lo largo de un gradiente ambiental. El efecto total de la riqueza de especies en el incremento de la biomasa es mayor que de la densidad de árboles, y del incremento lineal creciente de la biomasa con riqueza de especies. El aumento del número de especies causa un mayor incremento de la biomasa debido a una mejor partición y aprovechamiento de los recursos. La riqueza de especies puede incrementar la productividad del ecosistema por la utilización más completa de recursos, más bien que el aumento de la productividad debido a una alta diversidad. Los bosques densos con alta riqueza de especies sufren a menudo de la competencia por los recursos entre los individuos, que entonces conduce a una declinación de la diversidad  $\%$  la productividad debido a la eliminación de las especies menos competitiva. La riqueza de especies tiene una relación lineal positiva con la productividad en la escala local (Kubota *et al.*, 2004).

Una distribución espacial heterogénea de las especies del bosque es producida por la interacción del ambiente geofísico, de los procesos físicos, del impacto de disturbios y de las actividades de los organismos. Es bien sabido que la estructura y la composición florísticas son influenciadas por una combinación de mecanismos, tales como regulación dependiente de la densidad de las poblaciones, de la exclusión competitiva, de la dinámica de la regeneración, del fuego y de otros disturbios, y de formación de boquetes en el dosel. La interacción entre las especies forestales y su ambiente son bidireccionales. Los patrones espacial y temporal de los recursos del suelo afectan la distribución y la abundancia de especies forestales y el funcionamiento de organismos individuales (de plántulas a los árboles adultos). Estos efectos tienen consecuencias importantes para los procesos de la estructura y del ecosistema a nivel de la composición de la comunidad (Maltez-Mouro *et al.*, 2005).

## 5. Cultivo de tejidos vegetales

Las técnicas de propagación masiva por métodos biotecnológicos se han convertido en una herramienta importante para el manejo y conservación de algunas especies forestales. Como en el caso de otras especies forestales (Grossnickle & Sutton, 1999), en el laurel silvestre estas técnicas serían una opción muy atractiva para la generación de plantas con fines de reforestación, esto debido a la dificultad para propagar la especie por métodos convencionales.

El cultivo de tejidos vegetales consiste en un conjunto de técnicas que permiten establecer, mantener y desarrollar células, tejidos, órganos vegetales o individuos completos en medios nutritivos adecuados, bajo condiciones asépticas y en un medio ambiente controlado (cultivo *in vitro* de tejidos; Pérez-Molphe-Balch *et al.*, 1999). Dichas técnicas se iniciaron como una necesidad para demostrar la "Teoría celular", la cual establece que la célula es una unidad autónoma y totipotente, es decir que cada célula de un organismo multicelular es capaz de llevar una vida independiente cuando se le coloca en un medio ambiente apropiado y que además, por derivarse de un cigoto, posee la información genética necesaria para dividirse, diferenciarse y organizarse en los tejidos y órganos que van a conformar al organismo completo. Esta capacidad que tienen las células para recapitular las secuencias del desarrollo que se presentan en plantas completas y así poder regenerar un individuo multicelular es llamada *totipotencia celular* (Ochoa-Alejo, 1991).

Una de las aplicaciones más ventajosas que ofrece el cultivo de tejidos vegetales es la micropropagación la cual nos ofrece la posibilidad de regenerar plantas completas a partir de pequeños segmentos de tejido vegetal (explantes) cultivados en un medio artificial apropiado (Pérez-Molphe-Balch *et al.*, 1999). Cuando los órganos, tejidos o células se cultivan en condiciones apropiadas, se permite a las células competentes demostrar su capacidad para el desarrollo organizado, el cual es un reflejo de una activación selectiva de genes. Es posible inducir la formación de estructuras organizadas y órganos *de novo*, definiéndose como células competentes aquéllas que presentan o que tienen la habilidad para reconocer a los Reguladores del Crecimiento Vegetal (RCV) u otras señales que desencadenan un patrón particular de desarrollo. Este proceso es llamado morfogénesis y se refiere a la regeneración de órganos, embriones  $\frac{1}{10}$  plantas completas en cultivos *in vitro* (Vasil, 1986). Es un tipo de propagación vegetativa de genotipos seleccionados que posibilitan la multiplicación asexual de cualquier especie vegetal, manteniéndose el mismo genotipo del material original.

La regeneración ocurre vía tres patrones de desarrollo diferentes:

- **Desarrollo de ápices y yemas laterales (meristemos):** las yemas pueden ser estimuladas a seguir su patrón normal de desarrollo bajo condiciones de cultivo apropiadas para tal efecto  $\frac{1}{10}$  por escisión de las yemas apicales en el caso de especies con dominancia apical. Este patrón de desarrollo presenta como principales desventajas el que posee un bajo potencial de multiplicación, ya que el número de brotes formados depende directamente del número de yemas apicales y laterales presentes en los explantes, y que una vez que se obtienen los brotes de un tamaño adecuado es necesario inducir la organogénesis de un sistema radical que en el caso de especies leñosas puede ser la principal limitante para tener éxito en el programa de multiplicación; sin embargo su principal ventaja radica en que es una propagación clonal conservativa debido a su capacidad de producir plantas sin cambios genéticos ya que no implica desdiferenciación celular, por lo cual se disminuye el riesgo de generar plantas con variación genética o somaclonal

(Debergh & Zimmerman, 1991), algo deseable cuando se trata de la multiplicación de especies en las que se requiere que el genoma sea conservado sin cambios.

- **Organogénesis:** involucra la formación inicial de brotes adventicios primordiales unipolares (caulogénesis), con subsecuente desarrollo de los brotes formados y su posterior enraizamiento vía formación de primordios radicales (rizogénesis) y desarrollo de la raíz; el desarrollo de los brotes induce a las hebras procambiales a establecer una conexión conductiva entre el brote formado y el tejido materno; esta vía de propagación requiere de la reprogramación celular vía procesos de desdiferenciación-rediferenciación celular por lo que presenta riesgos de variación genética o somaclonal (Debergh & Zimmerman, 1991). Una vez que se obtienen los brotes es necesario llevar a cabo una etapa de elongación antes de inducir la organogénesis de raíces, lo cual puede ser logrado en medio basal al 50 % (Pérez-Molphe-Balch y Ochoa-Alejo, 1997) ya sea con la adición o no de RCV, siendo las auxinas en bajas concentraciones las adecuadas para lograr tal fin. Existen dos patrones de desarrollo de órganos *in vitro* (Pérez-Molphe-Balch *et al.*, 1999):
  - Organogénesis indirecta: el explante primario es inducido a formar una masa de callo a partir del cual se desarrolla la respuesta morfogénica, por lo cual no existe conexión de tejido vascular entre el brote y el tejido materno.
  - Organogénesis directa: no hay intervención de un estado de proliferación de callo; la morfogénesis es obtenida directamente del explante original.
- **Embriogénesis somática:** se forma un nuevo individuo con estructura bipolar de una sola célula somática que no muestra conexiones vasculares con el tejido materno; su estructura es semejante a la de los embriones cigóticos originados por vía sexual, sólo que no hay recombinación genética y la variación que se puede presentar es de tipo somaclonal ya que se presentan procesos de desdiferenciación-rediferenciación celular. Para la obtención de las plántulas solo se requiere que los embriones somáticos (ES) germinen y se desarrollen por lo cual no requiere de etapas posteriores de enraizamiento, proceso que representa la principal limitante cuando se trabaja con especies leñosas (Baltierra *et al.*, 2004). Una de las ventajas más notorias es su alto índice de regeneración comparado con las dos vías anteriores y la posibilidad de permitir la elaboración de semillas artificiales con dormancia controlada (Pérez-Molphe-Balch *et al.*, 1999). Se ha reportado que la embriogénesis somática se está abriendo paso como la vía de regeneración más adecuada para la propagación de especies forestales (Celestino *et al.*, 2005).

En general, el proceso de inducción puede ser dividido en dos fases: inducción y expresión. Durante la fase de inducción las células adquieren competencia embriogénica y proliferan como células embriogénicas generando un tejido calloso aunque en algunas especies se llega a presentar embriogénesis directa. En la fase de expresión las células embriogénicas expresan su competencia embriogénica y se diferencian en embriones somáticos (Namasivayam, 2007).

Las condiciones físicas de incubación también pueden influir en la respuesta organogénica de los cultivos. Así se ha observado que la temperatura y la radiación fotosintética pueden favorecer o inhibir la diferenciación de raíces y brotes (Duran-Vila *et al.*, 1992; Goh *et al.*, 1995).

Los principales factores que influyen en la obtención de plantas completas son el tipo y la fuente de explante, el genotipo y la edad ontológica (Pérez-Molphe-Balch *et al.*, 1999), de tal forma que cada tipo de explante requiere condiciones específicas para generar una respuesta dada y que dichas condiciones difieren entre las especies (Duran-

Vila *et al.*, 1989). Debido a esto es necesario determinar las condiciones de cultivo ideales para la regeneración en cada especie vegetal y en cada genotipo particular.

En especies vegetales de la Familia Lauraceae se ha logrado la regeneración por los tres patrones de desarrollo utilizando diversos tejidos como explantes:

- Desarrollo de ápices y yemas laterales (meristemas):
  - Gupta *et al.* (1983) lograron la propagación de *E. toreiliana* y *E. camaldulensis* utilizando epicotilos provenientes de plantas maduras. Reportaron que solo el 35 y 20% de los explantes respectivamente desarrollaron brotes laterales que presentaron problemas con su elongación por lo cual tuvieron la necesidad de emplear medios adicionados con citocinas para lograr esto. Lograron el enraizamiento en 50 y 70% de los brotes que elongaron para las especies trabajadas respectivamente.
  - Sharma & Ramamurthy (2000) desarrollaron un sistema de micropropagación de *E. tereticornis* usando ápices vegetativos de provenientes de plantas maduras como explantes. Reportaron que el principal problema para el establecimiento de los cultivos *in vitro* fue la oxidación de fenólicos independientemente si se adicionaba al medio o no antioxidantes pero cuando los explantes fueron colectados al inicio de la primavera no se presentó dicho problema. También observaron que la época del año en que se colecta el material vegetal tiene una influencia significativa en las tasas de proliferación y contaminación. Por otro lado detectaron que el agente gelificante influye en la calidad de la respuesta ya que cuando emplearon agar los brotes se desarrollaban lentamente mientras que cuando utilizaban fitagel se presentaban problemas de vitrificación.
  - Bunn E. (2005) reportó que la adición de BA al medio de cultivo de *E. impensa* indujo la proliferación de brotes en explantes provenientes de plantas de invernadero favoreciendo a la vez la producción de compuestos fenólicos con lo cual los cultivos no sobrevivieron más de 3 subcultivos. Para controlar la producción de fenólicos sumergió a los explantes en una solución de 0.1/0.1% de ácido cítrico/ácido ascórbico al momento de realizar el subcultivo. Con esta acción se controló la producción de compuestos fenólicos pero se potenciaron los problemas de hiperhidratación.
  - Bunn *et al.* (2005), obtuvieron entrenudos de plantas de campo para ser utilizados como explantes. Lograron que el 2% de los explantes cultivados en 0.5:0.2  $\mu\text{m}$  de Zea:IAA antes de su transferencia a un medio adicionado con 0.5:0.5 Zea:GA<sub>4</sub> desarrollaran 1.75 brotes por explante. Reportaron que solo el 27.8 % de los brotes alongaron sin problemas de vitrificación u oxidación de fenólicos, de los cuales solo el 37% logró enraizar en un medio suplementado con 5  $\mu\text{m}$  de IBA.
- Organogénesis:
  - Organogénesis indirecta:
    - o Subbaiah & Minocha (1990) lograron la organogénesis indirecta utilizando hojas e hipocotilos de *E. tereticornis* provenientes de plántulas obtenidas *in vitro*. Los callos fueron inducidos en medio B5 adicionado con 0.1:3 mg L<sup>-1</sup> BA:NAA en la oscuridad. Para la diferenciación de los brotes los callos fueron transferidos a medio mWP suplementado con 0.5 mg L<sup>-1</sup> de BA, 500 mg L<sup>-1</sup> de PVPP y 10% de agua de coco. También observaron la organogénesis directa pero solo en hipocotilos cuando éstos fueron cultivados en el medio B5 suplementado con 0.5 mg L<sup>-1</sup> de BA. El enraizamiento fue exitoso en el 100% de los brotes en medio mWP

suplementado con  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$  de IBA. Además obtuvieron microcallos de células en suspensión pero estos fueron incapaces de regenerar brotes o embriones somáticos.

- Laine & David (1994), reportaron la organogénesis indirecta de *E. grandis* utilizando hojas de plantas maduras como explante. El 39% de los callos obtenidos diferenciaron brotes adventicios cuando la incubación inicial fue llevada a cabo en oscuridad y posteriormente se les incubó en luz continua.
- Nugent *et al.* (2001) emplearon cotiledones e hipocotilos de plántulas obtenidas *in vitro* como fuente de explante. Lograron la inducción de organogénesis indirecta en ambos tipos de explantes cuando el medio estuvo adicionado con citosinas, con hasta 5.8 brotes adventicios en el 69% de los cotiledones sometidos a un tratamiento con  $0.2 \mu\text{m}$  de 2,4-D. Para la elongación de los brotes emplearon un medio adicionado con  $5 \mu\text{m}$  de BA en donde obtuvieron una producción de tejido calloso con una proliferación secundaria de hasta 12 brotes por brote adventicio cuando el explante original fue un hipocotilo. No llevaron a cabo el enraizamiento de los brotes debido a las bajas tasas de elongación que obtuvieron.
- Organogénesis directa:
  - Azmi *et al.* (1997) utilizaron cotiledones e hipocotilos de plántulas obtenidas *in vitro* de *E. globulus* como fuente de explante. Observaron que más del 5% de hipocotilos desarrollaron hasta 5 brotes adventicios en un medio MS suplementado con  $0.2 \text{ mg L}^{-1}$  de BA. Detectaron que el uso de TDZ genera problemas con endopoliploidia de los brotes adventicios que se inducen.
  - Arezki *et al.* (2000) reportan que la adición de 0.2% de carbón activado al medio de cultivo suplementado con IBA fue necesaria para la inducción y diferenciación de brotes adventicios de *E. camaldulensis* al absorber IBA y liberarlo poco a poco para permitir su interacción con los reguladores endógenos.
  - Mao *et al.* (2000) utilizaron explantes provenientes de plantas de seis años de edad de *Litsea cubeba* tratados con diferentes combinaciones de auxinas en el medio de cultivo. Reportaron que la mejor tasa de proliferación la obtuvieron en el medio WPM adicionado con  $2.22 \mu\text{m}$  de BA con el 9.29 % de los explantes desarrollando 1.79 brotes por explante. El enraizamiento lo lograron en 93.3% de los brotes después de cuatro semanas de cultivo en el medio WPM adicionando con  $0.54 \mu\text{m}$  de NAA con un 30% de sobrevivencia una vez que fueron transferidos a suelo.
  - Gomes & Canhoto (2003). Compararon la respuesta organogénica entre explantes apicales de plantas de un año de invernadero y plántulas obtenidas *in vitro*. Reportaron que con las plantas de invernadero el principal problema fue la contaminación de los explantes de hasta el 55% además de la pobre respuesta organogénica y que la mejor respuesta fue con explantes de plántulas obtenidas *in vitro* y medio MS diluido al 50% adicionado con  $0.45:0.05 \mu\text{m}$  de BA:NAA. También reportan un muy esporádico enraizamiento de los brotes en todos los medios evaluados para tal fin.

- Trindade *et al.* (2003) obtuvieron estructuras globulares en 84% de los cotiledones de plántulas obtenidas *in vitro* de *E. globulus* usados como explantes en un medio suplementado con 0.25:0.5 mg L<sup>-1</sup> de BA:NAA. El desarrollo de las estructuras globulares solo se presentó cuando agregaron agua de coco al medio de inducción y dieron lugar a brotes adventicios.
- Embriogénesis somática:
  - Arruda *et al.* (2000) reportaron que la adición de 6.12 μm de CaCl<sub>2</sub>•2 H<sub>2</sub>O al medio de cultivo favorece la inducción de embriogénesis somática en hipocotilos de plántulas obtenidas *in vitro* de *E. urophylla*.
  - Pinto *et al.* (2002) reportaron la embriogénesis somática en semillas maduras y cotiledones de plántulas generadas *in vitro* de *E. globulus* utilizados como explantes. La inducción fue llevada a cabo en medio MS suplementado con 3 mg L<sup>-1</sup> de NAA y 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa y se logró en el 30% de los explantes. El NAA en altas concentraciones y el uso de manitol como fuente de carbono inhibieron la inducción. Para la diferenciación los callos fueron transferidos a medio basal. El callo se generó en la superficie de los cotiledones y en todo el embrión. La adición de hidrolizado de caseína y glutamato ocasionaron anomalías en los embriones somáticos. Lograron la conversión de los embriones somáticos a plántulas en el 21% de los casos en medio basal.
  - Prakash & Gurumurthi (2005) reportaron embriogénesis somática utilizando embriones cigóticos maduros de *E. tereticornis* como explantes. La mejor respuesta de inducción se dio cuando los explantes fueron cultivados en medio MS suplementado con 10.74 μm de NAA. Para la diferenciación los callos friables fueron transferidos a medio MS suplementado con 2.22 μm de BA en donde el 54% de los callos desarrollaron embriones somáticos. El enraizamiento fue logrado 80% de los embriones en medio basal.

## 6. Objetivos

### 6.1. Objetivo general

- I. Caracterizar el hábitat e identificar las variables ambientales más importantes que definen la distribución y abundancia del laurel (*Litsea glaucescens*) en Aguascalientes. Al mismo tiempo, identificar los factores de disturbio a los que se enfrentan las poblaciones de esta especie en Aguascalientes.
- II. Establecer un sistema para el cultivo y la propagación masiva *in vitro* del laurel que pudiera ser utilizado para la producción de plantas con fines de reforestación.

### 6.2. Objetivos específicos

- I.1. Establecer las condiciones climáticas y geográficas que definen la distribución del laurel silvestre en Aguascalientes.
- I.2. Conocer las características biológicas del medio natural donde se desarrollan las poblaciones de laurel silvestre en Aguascalientes
- I.3. Generar un modelo biogeográfico para identificar probables sitios de distribución de la especie o localidades potenciales para la introducción de los ejemplares producidos en el esquema de propagación *in vitro* que incluye el presente trabajo.
- I.4. Determinar la estructura poblacional del laurel para establecer el estatus en que se encuentra.
- I.5. Caracterizar el grado de disturbio de las áreas donde se distribuye el laurel.
- I.6. Determinar los niveles de extracción de laurel en los sitios de distribución.
- II.1. Establecer cultivos *in vitro* de laurel a través de la desinfección e inoculación en medios de cultivo de diferentes explantes.
- II.2. Desarrollar un sistema de propagación *in vitro* a través de la producción de brotes a partir de meristemos preexistentes en yemas axilares y apicales.
- II.3. Desarrollar un sistema para el enraizamiento de los brotes generados *in vitro*.
- II.4. Conocer la respuesta de los tejidos ante diversos medios de cultivo y tratamientos diseñados para inducir la generación de brotes a través de la organogénesis directa.
- II.5. Desarrollar un sistema para la adaptación y transferencia a suelo de las plantas de laurel generadas *in vitro*.

## 7. Materiales y Métodos

### 7.1. Materiales

- Material para el trabajo de campo:
  - Cuerda de ixtle
  - Cinta métrica
  - GPS eTrex Legend HCx de Garmin Corporation
  - Pala y picoleta
  - Bolsas de plástico
  - Tijeras para podar
  - Libreta de campo
- Material vegetal: Se utilizaron ramas colectadas en campo, plántulas germinadas *in vitro* y embriones cigóticos inmaduros y maduros como fuente de explantes.
- Medios de cultivo: Las combinación de sales inorgánicas de Murashige y Skoog (1962) fueron usadas como medio de cultivo basal, suplementadas con 3% de sacarosa, 0.1% de PVPP y 0.8% de agar. Cuando se utilizó carbón activado en el medio de cultivo se omitió el uso de PVPP y se ajustó la concentración de agar según el caso.
- Medios de inducción: Se valoró el efecto de los reguladores del crecimiento vegetal (RCV) en la brotación del tejido vegetal, enraizamiento y en la inducción de tejido calloso embriogénico utilizando el medio basal suplementado con varias combinaciones y concentraciones de auxinas:citocininas (Cuadro 2), siempre con un tratamiento control sin RCV. Al menos se utilizaron 20 explantes por tratamiento en dos repeticiones.

**Cuadro 2. Tratamientos con reguladores del crecimiento vegetal evaluados**

Respuesta esperada	Reguladores del crecimiento vegetal [mg • L <sup>-1</sup> ]				Carbón activado [g • L <sup>-1</sup> ]
	BA	CIN	IBA	NAA	
Brotación de meristemos preexistentes	0.5 1 1			0.25	
Enraizamiento			1		
Inducción de Embriogénesis somática	0.5 1				
		1			4

- Medio de diferenciación: Para la diferenciación de los embriones somáticos se utilizó el medio basal adicionado con 0.4 y 1% de carbón activado y agar respectivamente.
- Medio de desarrollo y germinación de embriones somáticos: Para el desarrollo y la germinación de los embriones somáticos se utilizó el medio basal adicionado con 0.5 y 1.2% de carbón activado y agar respectivamente.
- Otros: para el procesamiento y análisis de la información obtenida durante el desarrollo de la investigación:
  - Colectas científicas del Herbario de la UAA
  - Software geográfico MapSource Versión 6.15.3 de Garmin Corporation
  - Software estadístico GraphPad InStat V3.06

- Software Microsoft Office 2007
- Cartografía regional:
  - Carta geológica
  - Carta climatológica
  - Carta edafológica
  - Carta topográfica
  - Carta orográfica
  - Carta fisiográfica
  - Carta hidrológica
  - Carta de agricultura y vegetación

## 7.2. Métodos

I.1. Caracterización de las condiciones climáticas y geográficas que definen la distribución del laurel silvestre en Aguascalientes:

- a) Estudio previo: Como primer paso, se llevó a cabo una búsqueda y análisis de las colectas existentes en el Herbario y Jardín Botánico adscritos al Departamento de Biología de la Universidad Autónoma de Aguascalientes para determinar las localidades de Aguascalientes en las que se tenía registrada la presencia de poblaciones de *L. glaucescens*. Paralelamente, se efectuó una consulta bibliográfica, a personal del IMAE y de la PROESPA, y entrevistas a propietarios, empleados de ranchos y terrenos particulares localizados dentro de la zona del hábitat potencial de la especie para ampliar el posible mapa de distribución de esta especie.
- b) Trabajo de Campo:
  - Con la información generada del estudio previo se visitaron las localidades indicadas, así como las cañadas más cercanas a las mismas entre septiembre de 2006 y marzo de 2010. En las localidades en donde se detectó la presencia de *L. glaucescens* se procedió a georeferenciar un número representativo de ejemplares con el GPS utilizando el Datum NAD27, llevando a cabo el registro de la información en el sistema de coordenadas geográficas UTM, para posteriormente ubicarlos en la cartografía utilizada.
  - Se tomaron muestras de suelo de la superficie hasta una profundidad de 10 cm, con ayuda de una picoleta y una pala. Se muestrearon seis localidades con laurel y dos sitios sin laurel cercanos a dos de las localidades para servir como control, para analizar las condiciones edafológicas en las que se desarrolla dicha especie. Se colectaron al menos 10 repeticiones por localidad para realizar un análisis estadístico ANOVA y definir si existían diferencias significativas entre los parámetros cuantificados.
  - Se recabó y analizó información relativa al ambiente biótico de los sitios de distribución encontrados. Para esto se identificaron las especies vegetales dominantes en el estrato arbóreo.
- c) Análisis de suelo: se realizó en el laboratorio de análisis de suelo del Centro Agropecuario de la Universidad Autónoma de Aguascalientes y se cuantificó:
  - pH
  - Conductividad

- Contenido de materia orgánica
- Macro y micronutrientes
- Grado de saturación
- Textura

d) Elaboración del mapa de distribución de la especie: La información levantada en campo fue procesada con ayuda del software geográfico MapSource 6.16.3. La base de datos con las coordenadas geográficas generada fue utilizada para marcar cada ejemplar ubicado en la carta topográfica 1:50,000 (INEGI, 2008) para trazar una poligonal y de esta manera generar el mapa de distribución *L. glaucescens* en Aguascalientes.

e) Análisis de información geográfica y meteorológica:

- Para establecer las condiciones abióticas asociadas al hábitat del laurel en Aguascalientes, se recabó la información topográfica, altitudinal, geológica y climática (temperatura y precipitación pluvial promedio) de los sitios de distribución encontrados, considerando para esto la cartografía y la información generada en las estaciones meteorológicas y publicada por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI, 2008).
- Una vez ubicados los ejemplares registrados en la carta topográfica se procedió a tomar la altitud de cada punto con base a las curvas de nivel de la misma carta y se agruparon en rangos de 20 m.
- El procesamiento de la información obtenida fue efectuado con el paquete informático Microsoft Office® 2007 obteniendo gráficos para su posterior análisis.

I.2. Se recabó y analizó información relativa al ambiente biótico de los sitios de distribución encontrados. Para esto se identificaron las especies vegetales dominantes en el estrato arbóreo.

I.3. Modelación: Una vez completada la caracterización del hábitat del laurel en Aguascalientes resultante del análisis de la información generada durante la investigación, se procedió a identificar localidades potenciales de distribución diferentes a las detectadas o localidades en las cuales se pueda plantear la introducción de los ejemplares producidos en el esquema de propagación *in vitro* que incluye el presente trabajo. Para llevar a cabo la modelación biogeográfica, se realizó una sobre posición de las cartas geológica, orográfica, topográfica climática, isotérmica, isoyética y de fotografía satelital, considerando como localidad potencial aquellos puntos en donde todos estos elementos se sobrepongan.

I.4. Determinación de la estructura poblacional del laurel para el establecimiento del estatus en que se encuentra.

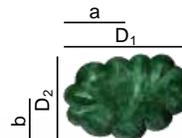
a) Densidad poblacional: Se cuantificó el total de individuos de *L. glaucescens* en cada localidad para calcular la densidad poblacional utilizando la siguiente fórmula:

$$D = \frac{n}{A}$$

en donde D: Densidad, *n*: número de individuos en cada localidad, y A: Área cubierta por la población en cada localidad, en m<sup>2</sup>. Para calcular el área cubierta por la población se trazó la poligonal de distribución en cada caso y se estimó el área de la poligonal utilizando el software mencionado anteriormente.

- b) Estructura de tamaños y cobertura vegetal: En seis de las localidades se trazaron de dos a tres parcelas de 50 x 20 m (1,000 m<sup>2</sup>), centradas en el cauce de agua de la cañada correspondiente. En estas parcelas se cuantificó la altura, el largo y el ancho de cada ejemplar para definir la estructura de tamaños y estimar la cobertura vegetal de los individuos presentes. Para el cálculo de la cobertura vegetal, dado que los ejemplares muestran una forma de tipo ovoide, se empleó la siguiente fórmula:

$$A = \pi a b$$



- c) Proporción sexual: Se determinó la proporción entre plantas masculinas y femeninas cuando esto fue posible gracias a la presencia de flores y/o frutos.
- d) Producción de semillas: Se realizó la cosecha de frutos en aquellas poblaciones en donde se produjeron. Una vez en el laboratorio se registró de manera individual el peso del fruto y de la semilla para cada una de los frutos colectados para su posterior análisis estadístico.
- I.5. Caracterización del grado de disturbio: Dentro de cada población, se buscaron y registraron señales de explotación de la especie. Esta información se completó, cuando fue posible, con entrevistas a los vigilantes o personas relacionadas con las localidades estudiadas.
- I.6. Determinación de los niveles de extracción de laurel en los sitios de distribución.
- a) Se investigó el régimen de propiedad de la tierra en cada sitio en el que se encontraron ejemplares de esta especie. Esto último se hizo consultando las bases de datos de la Secretaría de Planeación y Desarrollo del estado de Aguascalientes (SEPLADE).
- b) Se seleccionaron 3 localidades con diferente régimen de tenencia de la tierra o protección: propiedad ejidal de acceso libre, propiedad ejidal de acceso regulado y propiedad privada y acceso restringido. Acudimos a los sitios elegidos 15 días antes de la festividad de Semana Santa del año 2007 y 15 después, delimitando cuatro parcelas de 50 x 20 m cada una en cada sitio, ubicadas al azar, calculando la cobertura vegetal de cada individuo con la metodología ya señalada para estimar su cobertura vegetal relativa. La extracción se calculó como la pérdida de cobertura vegetal entre los dos períodos de medición. Los resultados fueron analizados estadísticamente con la prueba *t de Student* para muestras relacionadas.
- II.1. Establecimiento de cultivos *in vitro*: para establecer cultivos *in vitro* de laurel a través de la desinfección e inoculación en medios de cultivo de los diferentes explantes se utilizó material vegetal colectado directamente en campo, el cual consistió de ramas jóvenes para obtener ápices y yemas axilares, y semillas maduras para la obtención de plántulas *in vitro*, mismo que fue procesado de la siguiente manera:
- a) Aplicación de varios lavados con agua corriente y jabón desinfectante Dermoclean.
- b) Lavado con etanol al 70% durante 1 minuto.
- c) Enjuagado con agua corriente.
- d) Desinfección con una solución de hipoclorito de sodio (Cloralex) al 20% durante 25 minutos en recipiente sellado.

- e) Enjuagado del material con agua destilada estéril en campana de flujo laminar.
- f) Lavado en campana con una solución de PPM al 1% durante 1 hora.
- g) Disección de los ápices para tomar los diferentes explantes en una solución de ácidos cítrico y ascórbico ( $100 \text{ mg/L}$  cada uno). En el caso de las semillas se eliminó la cubierta protectora de la semilla (testa) bajo condiciones asépticas.
- h) Inoculación en los diferentes tratamientos.
- i) Para la germinación *in vitro* la incubación se realizó en dos fases: una primera fase de oscuridad (primeros 21 días) y una segunda fase con la transferencia a fotoperiodo de 16 h bajo luz fluorescente ( $54 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , lámparas luz diurna) a  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ . En el caso del establecimiento de tejidos provenientes del campo la incubación se realizó en fotoperiodo de 16 h.

#### II.2. Desarrollo del sistema de propagación *in vitro* a partir de meristemas preexistentes:

- a) Se tomaron yemas apicales y axilares provenientes de dos fuentes: tallos tomados directamente de campo y desinfectadas de acuerdo a la metodología antes descrita y plántulas axénicas obtenidas de la germinación *in vitro* de embriones o semillas, las cuales se inocularon en los diferentes tratamientos evaluados (Cuadro 2) con el fin de inducir la brotación múltiple. Dado que se trata de una especie en peligro de extinción se probaron combinaciones de reguladores del crecimiento vegetal en bajas concentraciones para evitar o minimizar el riesgo de variación somaclonal.
- b) Los explantes fueron mantenidos en el medio de brotación durante 30 días y se transfirieron a medio basal para permitir el desarrollo de los brotes generados. Se llevaron a cabo subcultivos cada 60 días o cuando el medio presentaba indicios de oxidación de compuestos fenólicos.
- c) La incubación se realizó en fotoperiodo de 16 h bajo luz fluorescente ( $54 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , lámparas luz diurna) a  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### II.3. Desarrollo de un sistema para el enraizamiento:

- a) Los brotes bien diferenciados de 2-3 cm de longitud fueron sometidos a diversos tratamientos con el fin de inducir su enraizamiento (Cuadro 2).
- b) Se utilizaron 20 repeticiones y se evaluó la diferenciación de raíces mensualmente para cuantificar porcentaje de brotes enraizados, número de raíces y longitud de las mismas, además de observar el vigor de la planta y la diferenciación de tejido calloso en la base del explante.

#### II.4. Inducción de tejido calloso embriogénico:

- a) Se utilizaron embriones cigóticos inmaduros y maduros como explantes para lo cual se procesaron semillas con el procedimiento antes descrito a las que se eliminó la cubierta protectora y se inocularon en el medio de inducción (Cuadro 2).
- b) La incubación se realizó en dos fases: una primera fase de oscuridad (primeros 21 días) y una segunda fase con la transferencia a fotoperiodo de 16 h bajo luz fluorescente ( $54 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , lámparas luz diurna) a  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 21 días. Una vez transcurrido ese tiempo se subcultivó el tejido calloso o se transfirió al medio de diferenciación de embriones somáticos.
- c) El tejido calloso cultivado en el medio de diferenciación fue monitoreado de manera regular bajo el microscopio para verificar la presencia de embriones somáticos en sus diferentes estadios de diferenciación (globular, de corazón y de torpedo), fijando muestras para su análisis bajo el microscopio electrónico de barrido.

d) Cuando los embriones somáticos alcanzaron un tamaño perceptible a la vista fueron transferidos al medio de desarrollo y germinación. Para la germinación se evaluaron tratamientos descritos en el Cuadro 3.

**Cuadro 3. Tratamientos evaluados para la germinación de ES**

Tratamiento	Sales MS (%)	Carbón Activado (g/L)	Agar (g/L)
1	100	5	12
2	50	5	12
3	100	5	13
4	100	5	14
5	100	6	12

II.5. Desarrollo de un sistema para la adaptación y transferencia a suelo: El material utilizado fueron brotes enraizados obtenidos a partir de yemas y embriones somáticos germinados. Se probaron varios sustratos (mezclas de suelo), protocolos de riego y fertilización con el fin de encontrar el más eficiente en cuanto al porcentaje de supervivencia de las plantas generadas *in vitro*. Se contó con cámara bioclimática e invernadero para llevar a cabo esta etapa.

**Figura 2. Diagrama de flujo de la metodología para el trabajo de campo**

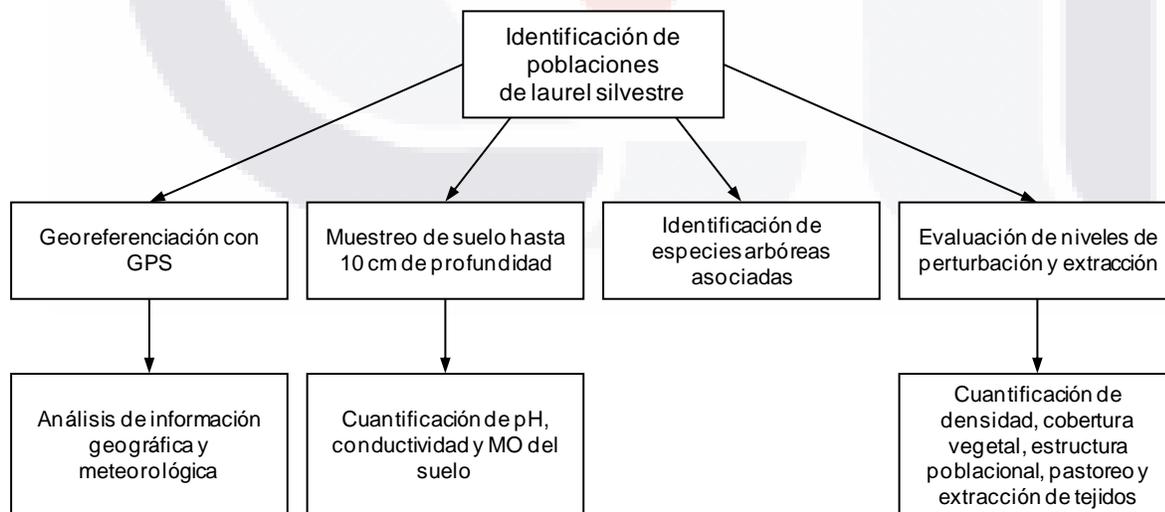
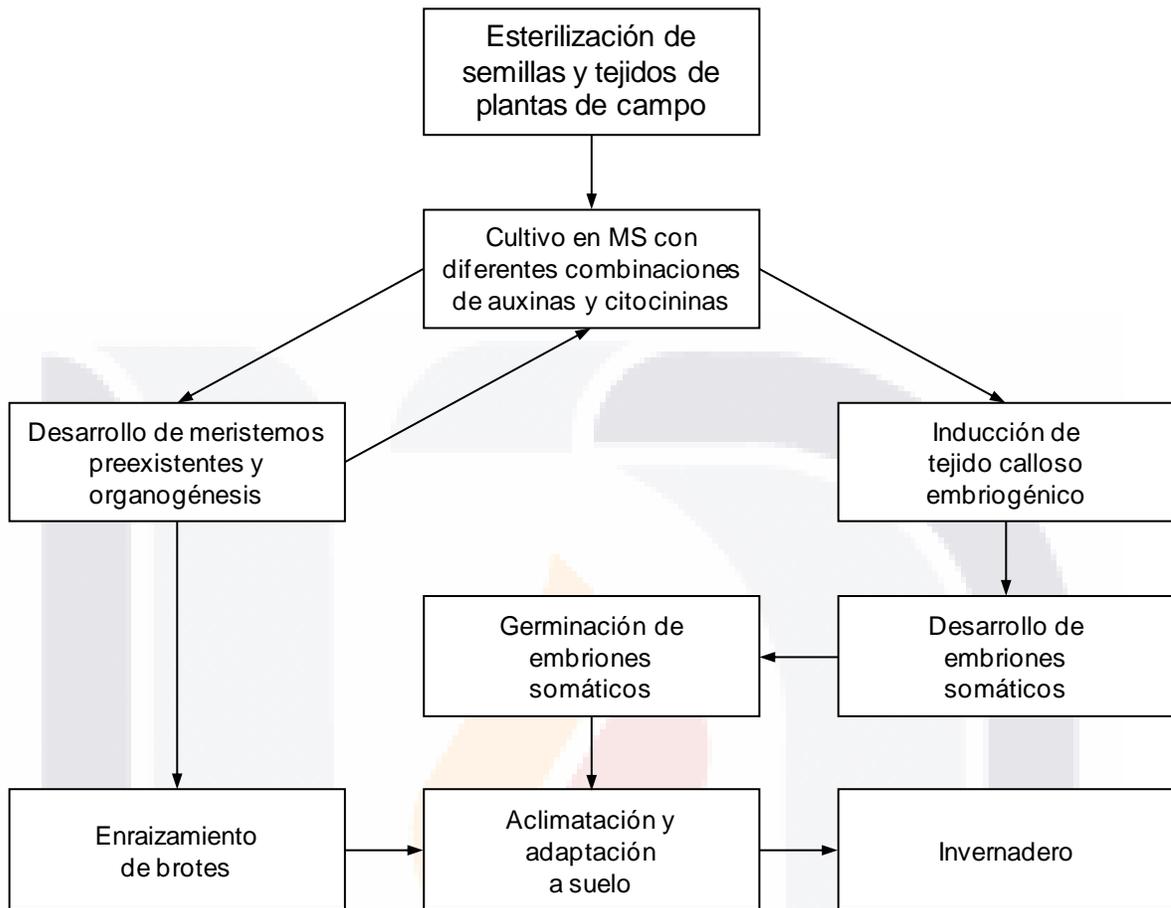


Figura 3. Diagrama de flujo de la metodología para el cultivo *in vitro*



## 8. Resultados

### 8.1. Ecológicos

#### 8.1.1. Descripción del hábitat del laurel

##### 1) Distribución del laurel en Aguascalientes

Del estudio previo que se realizó para determinar las localidades dentro de Aguascalientes en los que se tenía registro de la presencia de laurel se obtuvo como resultado que el Herbario de la UAA contaba con ejemplares colectados en 8 localidades de las zonas serranas de Aguascalientes (Cuadro 4; Anexo 1). Además Montañez-Armenta (2006) reportó la presencia de laurel el Arroyo la Culebra y Barranca Los Alisos y se nos informó de la posible presencia de laurel en una localidad más, Arroyo Los Laureles.

**Cuadro 4. Registro de colectas de laurel silvestre del Herbario de la UAA**

Localidad	Hábitat	No. de registro	Observaciones	Fecha de colecta
Barranca El Palmito	Matorral subespinoso	17187		04/03/02
Barranca Los Alamitos Calvillo	Bosque de encino	15248		07/02/00
		16438		07/02/00
Barranca Los Pilares	Bosque de encino	4200	Muy escaso	
		5819	Escaso	
Barranca Masitas	Bosque de encino-Juniperus	2491	Arbusto de 1.2 m regularmente representado	01/02/81
			Único ejemplar creciendo en arroyo seco	18/10/99
		15348	Escaso	18/10/99
		19941	Escasa en la entidad	05/05/06
Barranca Montoro	Bosque de encino	19357	Escaso	02/04/00
Barranca Oscura	Bosque de encino	2490	Arbusto de 1.8 m de altura abundante	26/03/82
		2493	Muy escaso	13/03/81
		10475		
		14250		07/10/98
El Tejamanil, 14 Km al Norte del Temazcal	Bosque de encino	2492	Escaso	21/08/81
Barranca Ojo de Agua Zarca (hoy Estación Biológica Agua Zarca)	Bosque de encino	5097	Abundancia regular	02/02/85
		16434		02/04/01
		16309		27/07/01

Al realizar la visita de campo a esas localidades solo se detectaron ejemplares de laurel en 6 de las 11 localidades señaladas y en otras 5 no registradas (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Localidades de distribución registradas y confirmadas**

Localidades registradas	Localidades confirmadas
Arroyo la Culebra	
Arroyo Los Laureles	
Barranca El Palmito	Barranca El Palmito
Barranca Los Alamitos, Calvillo	Barranca Los Alamitos, Calvillo
Barranca Los Alisos	Barranca Los Alamitos, Calvillo
Barranca Los Pilares	Barranca El Pilar
Barranca Masitas	Barranca Masitas
Barranca Montoro	
Barranca Ojo de Agua Zarca	Estación Biológica Agua Zarca
Barranca Oscura	Barranca Oscura
El Tejamanil, 14 Km al Norte del Temazcal	Probablemente Barranca Piletas
	Barranca Las Cuatas
	Barranca Piletas
	Barranca Río Blanco
	Barranca Tinajuelas
	Barranca Verde

Derivado del trabajo de campo se registró la información de la ubicación geográfica de un total de 1,679 ejemplares de *L. glaucescens* repartidos en todas las localidades de distribución confirmadas (Cuadro 6; Anexo 2 y Anexo 3).

**Cuadro 6. Distribución de los ejemplares registrados**

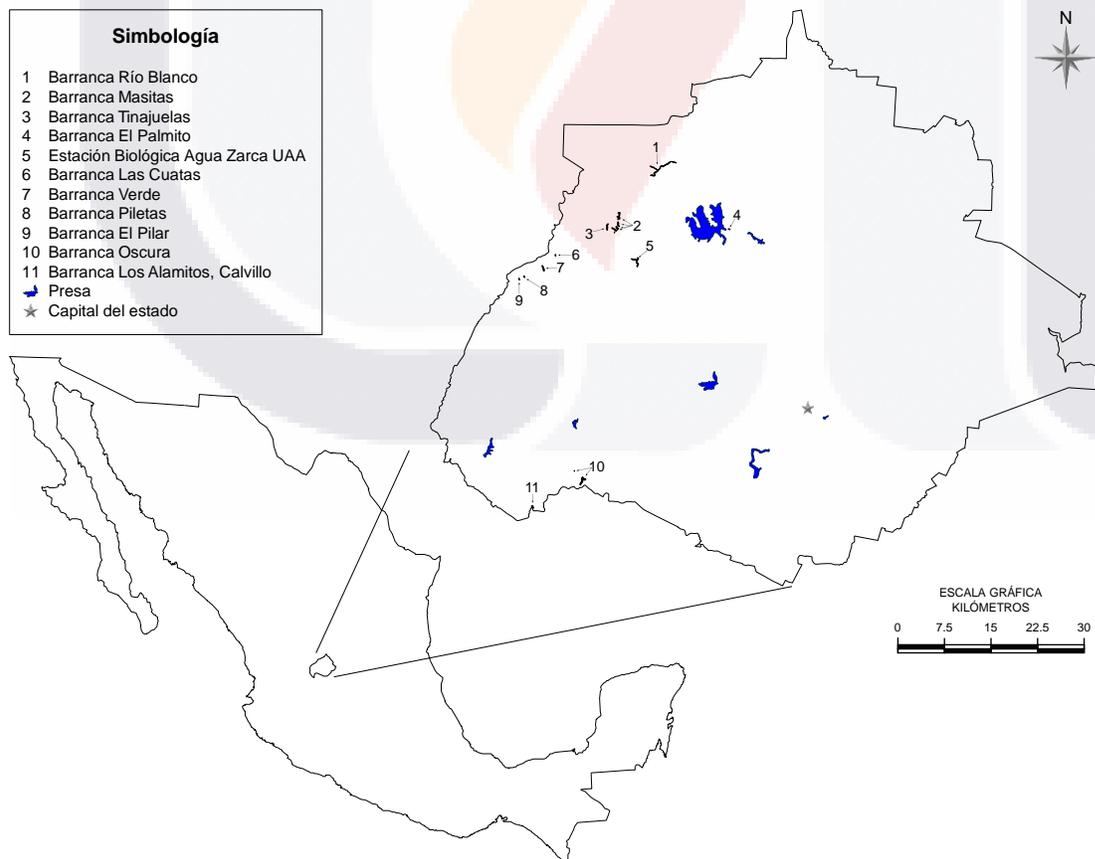
Municipio	Localidad	Posición geográfica		Ejemplares marcados
		Longitud W	Latitud N	
Calvillo	Barranca El Pilar	733,662	2,441,503	7
	Barranca Los Alamitos	736,487	2,404,856	28
	Barranca Oscura	743,917	2,410,130	425
	Barranca Piletas	734,325	2,442,174	4
	Barranca Verde	736,933	2,444,437	108
San José de Gracia	Barranca El Palmito	766,737	2,450,241	1
	Barranca Las Cuatas	738,718	2,445,648	22
	Barranca Masitas	749,073	2,451,645	674
	Barranca Río Blanco	754,201	2,459,396	3
	Barranca Tinajuelas	748,173	2,450,015	126
	Estación Biológica Agua Zarca	752,252	2,444,899	281
<b>TOTAL</b>				<b>1,679</b>

El análisis cartográfico mostró que las diferentes localidades podían ser organizadas según la serranía en que se ubicaban, por lo que fueron agrupadas según se muestra en la Cuadro 7 (Figura 4).

**Cuadro 7. Agrupamiento de las localidades por serranía**

Serranía	Localidad
Sierra Fría	Barranca El Pilar Barranca Las Cuatas Barranca Masitas Barranca Piletas Barranca Río Blanco Barranca Tinajuelas Barranca Verde
Sierra San Blas de Pabellón	Barranca El Palmito
Sierra del Laurel	Estación Biológica Agua Zarca Barranca Los Alamitos, Calvillo Barranca Oscura

**Figura 4. Localización geográfica de las localidades con presencia de *L. glaucescens***



**2) Ambiente abiótico asociados a la distribución del laurel**

**a) Geología**

En todos los casos la roca madre que dio origen al suelo se originó en el Período Terciario de la era Cenozoica (Anexo 4). La unidad litológica corresponde a una Riolita-Toba ácida (Anexo 5), la cual es una roca ígnea volcánica que se produce por la violenta salida de magma ácido rico en sílice (arena), su mezclado con cenizas y restos vegetales y su rápido enfriamiento. Una de sus características más importantes es que posee un alto contenido de poros por lo cual tiene una gran capacidad de retención de agua (INEGI, 1998).

**b) Suelos dominantes**

No obstante que la roca madre que originó el suelo en todas las localidades se formó en el mismo período geológico bajo condiciones tectónicas similares (Anexo 5), el tipo de suelo varió entre las diferentes localidades. Sin embargo, a pesar de esto, es evidente que el suelo de todas las localidades comparte tiene ciertas características: es someros, presenta alto contenido de materia orgánica y un buen drenaje y aireación (Cuadro 8, INEGI 1998).

**Cuadro 8. Tipos de suelos presentes en las localidades de interés**

Grupo	Características	Calificador	Localidad
Feozem	Posee una marcada acumulación de materia orgánica además de estar saturado en bases en su parte superior. Poseen buen drenaje y ventilación. Son poco profundos y casi siempre son pedregosos. En el tipo endoléptico las piedras están debajo de los 10 cm y en los epilépticos sobre la superficie.	Endoléptico	Barranca Masitas Barranca Tinajuelas Estación Biológica Agua Zarca
		Epiléptico	Barranca El Palmito
Leptosol	Suelos someros de menos de 10 cm. Los líticos son suelos jóvenes con abundante grava. Los mólicos poseen alto contenido de materia orgánica. Poseen un buen drenaje y aireación.	Lítico	Barranca Los Alamitos Barranca Oscura
		Mólico	Barranca Río Blanco
Luvisol	Tipo de suelo que se desarrolla dentro de las zonas con suaves pendientes o llanuras, en climas en los que existen notablemente definidas las estaciones secas y húmedas; la arcilla de las capas superiores es lavada y se acumula en las capas inferiores. Son de fertilidad media y presentan buen drenaje	Endoléptico	Barranca El Pilar Barranca Las Cuatas Barranca Piletas Barranca Verde

**c) Composición del suelo**

Los resultados del análisis del suelo mostraron que el suelo en que se desarrolla el laurel silvestre cuenta con alto contenido de arena, limo, arcilla y materia orgánica lo cual le da un nivel de saturación elevado y una buena capacidad de retención de humedad. El pH del suelo, aún en el caso del control negativo, debe de ser considerado como neutro con una conductividad eléctrica alta. De igual manera el contenido de macro y micronutrientes es elevado, en particular el K, Ca y Mg (Cuadro 9).

**Cuadro 9. Composición química del suelo**

Concepto	Unidades	Muestra						
		El Águila	El Abuelo	Masitas	Tinajuelas	Estación Biológica	Barranca Oscura	Control -
Arena	%	52.8	48.8	33.8	32.8	42.8	43.8	48.2
Limo	%	36.0	24.0	38.0	40.0	32.0	32.0	29.5
Arcilla	%	11.2	27.2	28.2	27.2	25.2	24.2	22.3
Saturación	%	54.0	57.0	51.0	54.0	50.0	58.5	54.0
Materia Orgánica	%	6.8	7.4	5.8	7.2	7.4	11.6	5.8
Clase textural		Franco	Franco arenoso arcilloso	Franco	Franco	Franco	Franco arenoso arcilloso	Franco arenoso arcilloso
D.A.		0.7	0.9	1.1	0.6	1.0	0.9	0.8
pH		7.0	5.8	6.2	7.1	5.7	6.5	6.0
Conductividad eléctrica	dS/m <sup>-1</sup>	1.4	2.1	2.0	1.5	1.6	1.7	1.5
N	mg/Kg	33.5	33.5	40.2	23.5	15.1	57.9	17.3
P	mg/Kg	30.4	27.1	11.9	8.6	9.2	16.2	8.1
K	mg/Kg	840.0	663.4	594.6	370.6	751.2	615.3	313.9
Ca	mg/Kg	3,647.7	2,973.9	2,633.0	3,868.6	2,812.4	3,400.4	2,628.2
Mg	mg/Kg	495.4	407.9	332.0	410.1	371.6	493.9	305.0
Na	mg/Kg	3.2	3.2	3.9	3.4	4.2	3.0	2.6
Fe	mg/Kg	29.4	64.8	62.1	40.5	47.1	44.3	44.3
Mn	mg/Kg	39.6	36.7	42.6	43.9	16.9	36.5	38.5
Zn	mg/Kg	2.6	3.8	1.9	5.3	1.5	2.6	2.7
Cu	mg/Kg	0.6	0.7	0.5	0.6	0.3	0.5	0.4
B	mg/Kg	17.8	2.6	2.5	5.3	2.0	3.9	3.2

Figura 5. Imágenes de la capa superficial del suelo en donde se desarrolla *L. glaucescens*

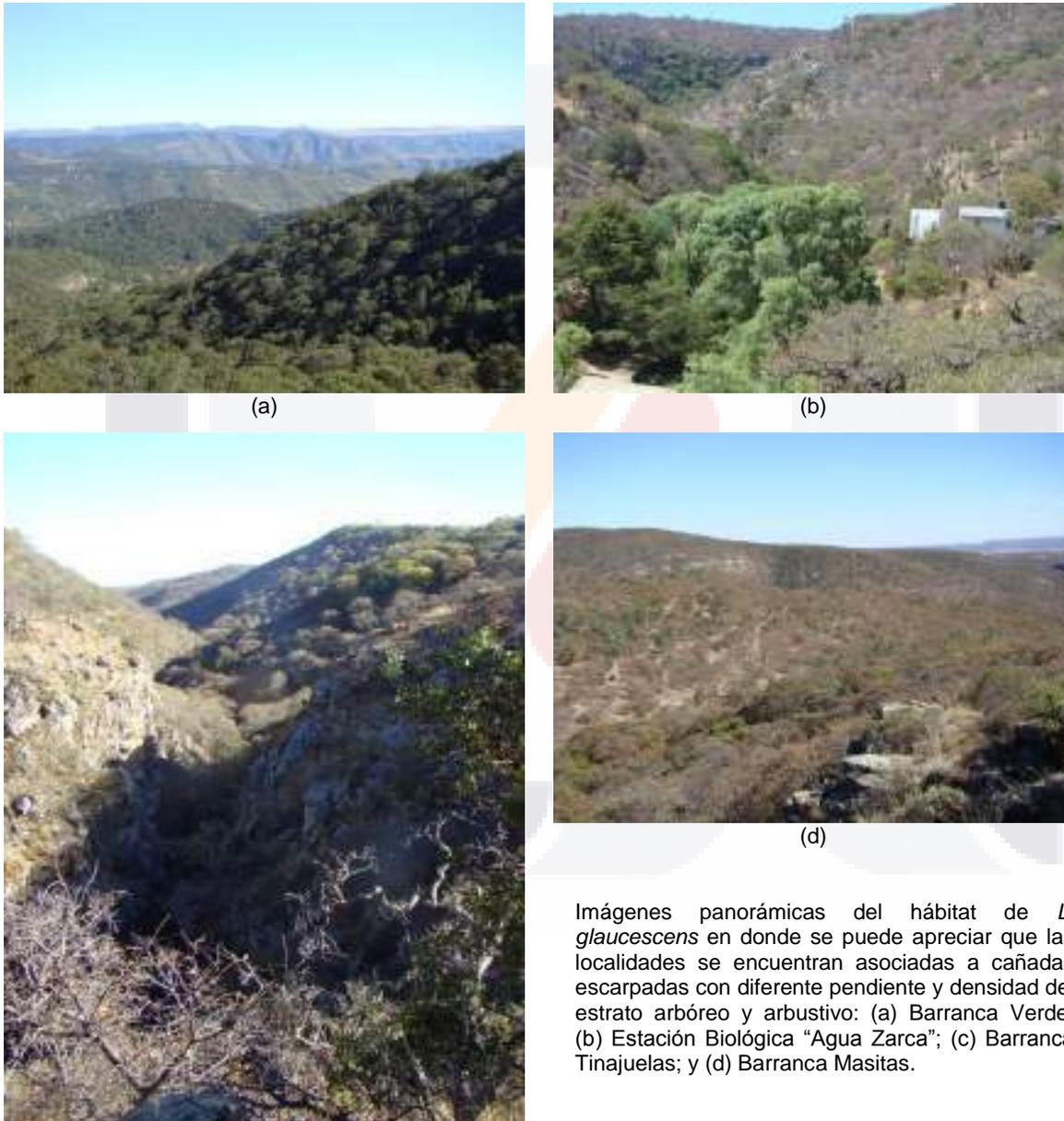


Imágenes de la capa superficial del suelo en donde se desarrolla *L. glaucescens*. Se puede apreciar la acumulación de hojarasca de encino y la presencia de ejemplares de laurel en los sitios en que se acumula la hojarasca, particularmente entre las piedras o cercano a ellas, entre los troncos de los encinos o en las zonas más planas del sotobosque. (a) Barranca Oscura; (b) Barranca Tinajuelas; (c) Barranca Verde; (d) Barranca Masitas; (e) Barranca Tinajuelas; y (f) Barranca El Abuelo.

**a) Topografía**

En todos los casos, las poblaciones de laurel se encuentran una cañada con cauces activos y las mayores densidades se localizan en la zona más profunda y cerrada de las mismas (Anexo 6). Pudimos observar que al inicio o al final de las cañadas, que es en donde éstas son más anchas que profundas, la densidad tiende a ser menor (Anexo 7).

**Figura 6. Imágenes panorámicas de diferentes localidades**



Imágenes panorámicas del hábitat de *L. glaucescens* en donde se puede apreciar que las localidades se encuentran asociadas a cañadas escarpadas con diferente pendiente y densidad del estrato arbóreo y arbustivo: (a) Barranca Verde; (b) Estación Biológica "Agua Zarca"; (c) Barranca Tinajuelas; y (d) Barranca Masitas.

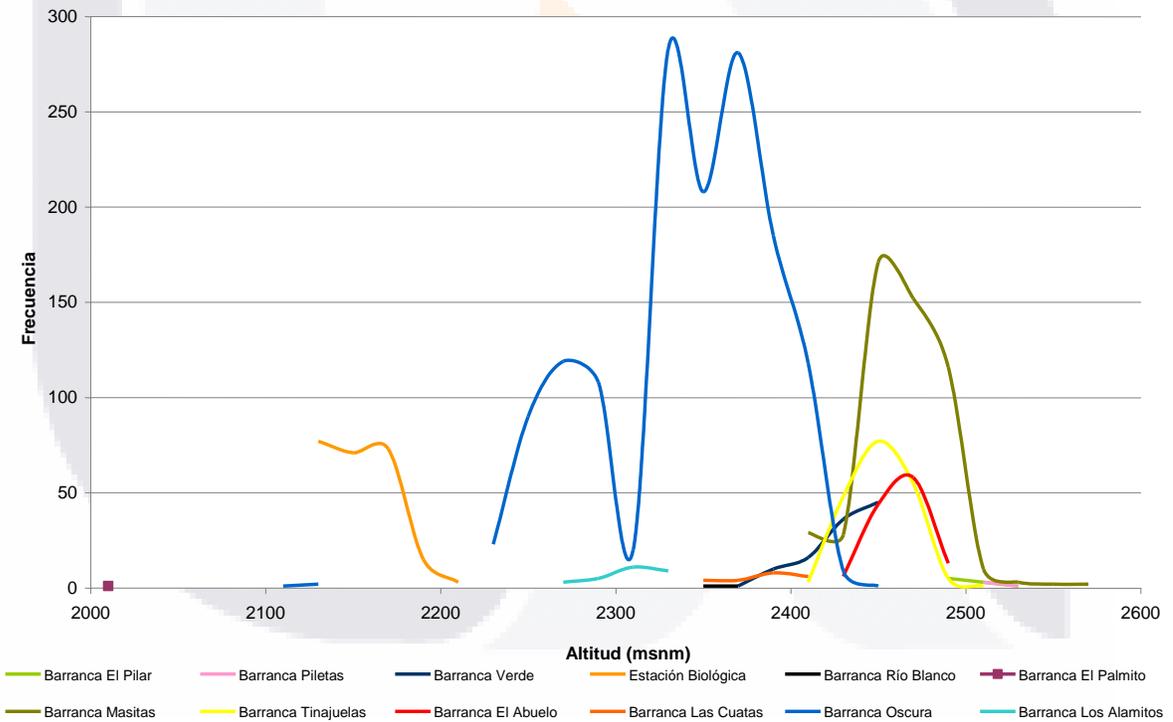
**b) Hidrología superficial**

En todas las localidades las poblaciones de laurel se desarrollan en torno a cauces activos intermitentes y la mayoría de los ejemplares se localiza en los límites o en el trayecto de los mismos (Anexos 5, 6 y 8). Solo algunas localidades se encuentran ubicadas en los márgenes de ríos caudalosos en cuyo caso los ejemplares de laurel se encuentran más alejados de la orilla del mismo.

**c) Altitud**

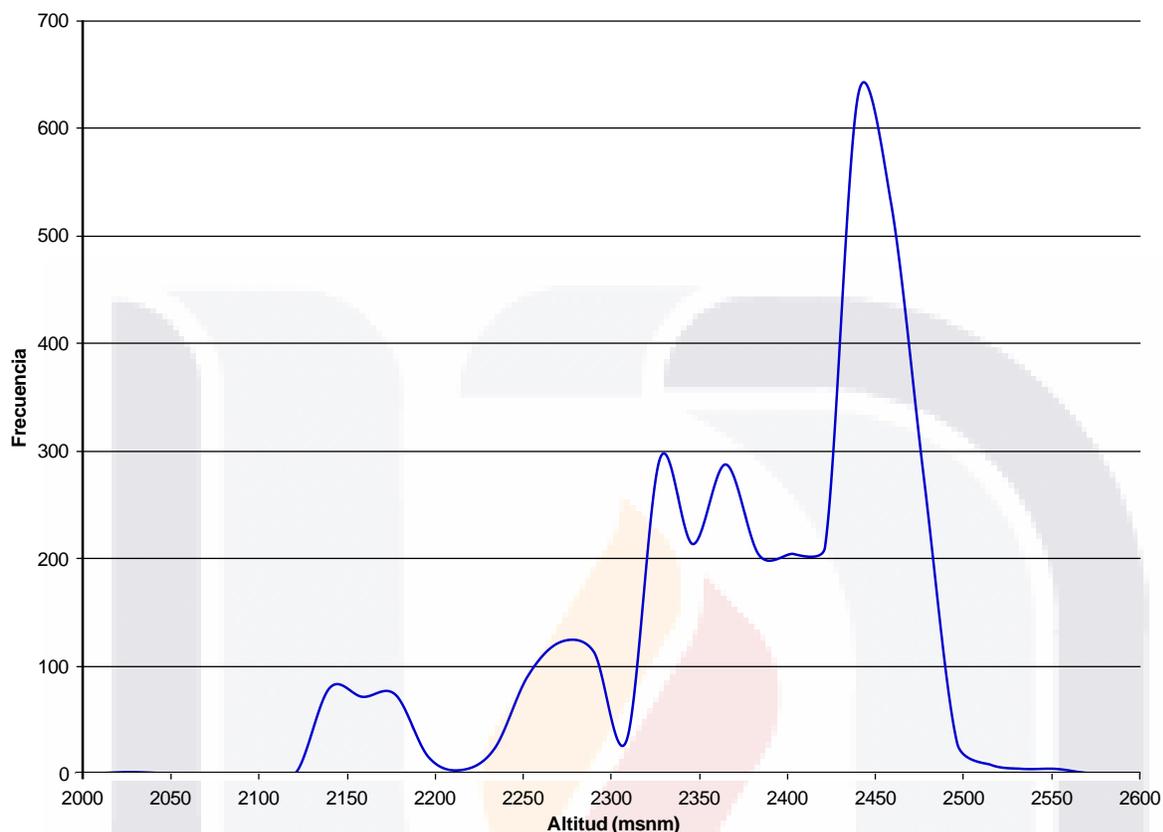
El marcaje de los ejemplares en la cartografía nos permitió observar que el rango de distribución dependiente de la altitud varía en cada localidad y que en cada una de ellas se presenta al menos un pico máximo de distribución el cual coincide con lo más profundo de la cañada (Figura 7, Anexo 6). El análisis geográfico nos reveló que la distribución en la entidad para esta especie va de la cota 2,000 a la cota 2,600 msnm (Anexos 5, 6 y 7).

**Figura 7. Distribución altitudinal de *L. glaucescens* por localidad**



El análisis de distribución por altitud para la totalidad de los individuos indica que la especie muestra una clara preferencia por un rango de altitud entre los 2,400 y 2,500 msnm (Figura 8) además de evidenciar que en los límites de distribución la densidad tiende a ser menor.

**Figura 8. Distribución altitudinal del total de ejemplares de *L. glaucescens* en Aguascalientes**



#### **d) Climatología**

Con excepción de la población ubicada en Barranca El Palmito, en donde el clima es de tipo semiseco templado, en el resto de localidades el clima es de tipo templado subhúmedo con lluvias en verano (Anexo 4).

En el Cuadro 10 se detalla información geográfica relevante de las estaciones meteorológicas consideradas como fuente de información.

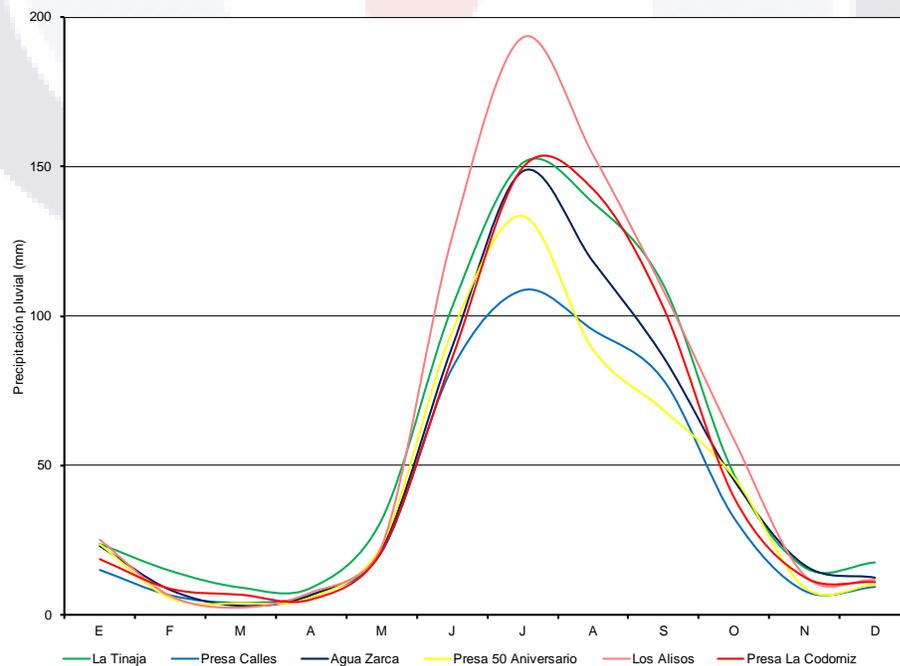
#### **Precipitación pluvial**

Es evidente que las localidades donde habita el laurel se ubican en las zonas más lluviosas de Aguascalientes. Además de esto se debe de tomar en cuenta que las zonas de las cañadas poseen un microclima más húmedo en virtud de la topografía. En las estaciones de Cavillo, La Tinaja y Presa La Codorniz la precipitación pluvial anual oscila entre los 600 y los 680 mm mientras que en la Presa Calles es de 450 a 500 mm. La máxima ocurrencia de lluvias oscila entre los 140 y 160 mm, registrándose en el mes de julio. La mínima se presenta en el mes de marzo con un rango menor de 5 mm. En la Figura 9 se presenta el comportamiento anual de la precipitación pluvial promedio registrada en dichas estaciones meteorológicas de 1960 al 2008 (INEGI, 2009)

**Cuadro 10. Estaciones meteorológicas fuente de información**

Estación meteorológica			Localidad	Distancia Aproximada (Km)
Nombre	Altitud (msnm)	Clima		
La Tinaja	2,425	Templado subhúmedo con lluvias en verano	Barranca El Abuelo	5.2
			Barranca Masitas	2.8
			Barranca Tinajuelas	3.7
Presa 50 Aniversario	2,050	Semiseco templado	Barranca Río Blanco	6.1
Presa Presidente Calles	2,020	Semiseco templado	Barranca El Palmito	0.5
			Estación Biológica Agua Zarca	7.6
Los Alisos	2,040	Templado subhúmedo con lluvias en verano	Barranca Los Alamitos	1.9
			Barranca Oscura	9.9
Presa La Codorniz	1,783	Semiseco templado	Barranca El Pilar	9.8
			Barranca Las Cuatas	11.7
			Barranca Piletas	9.9
			Barranca Verde	10.2

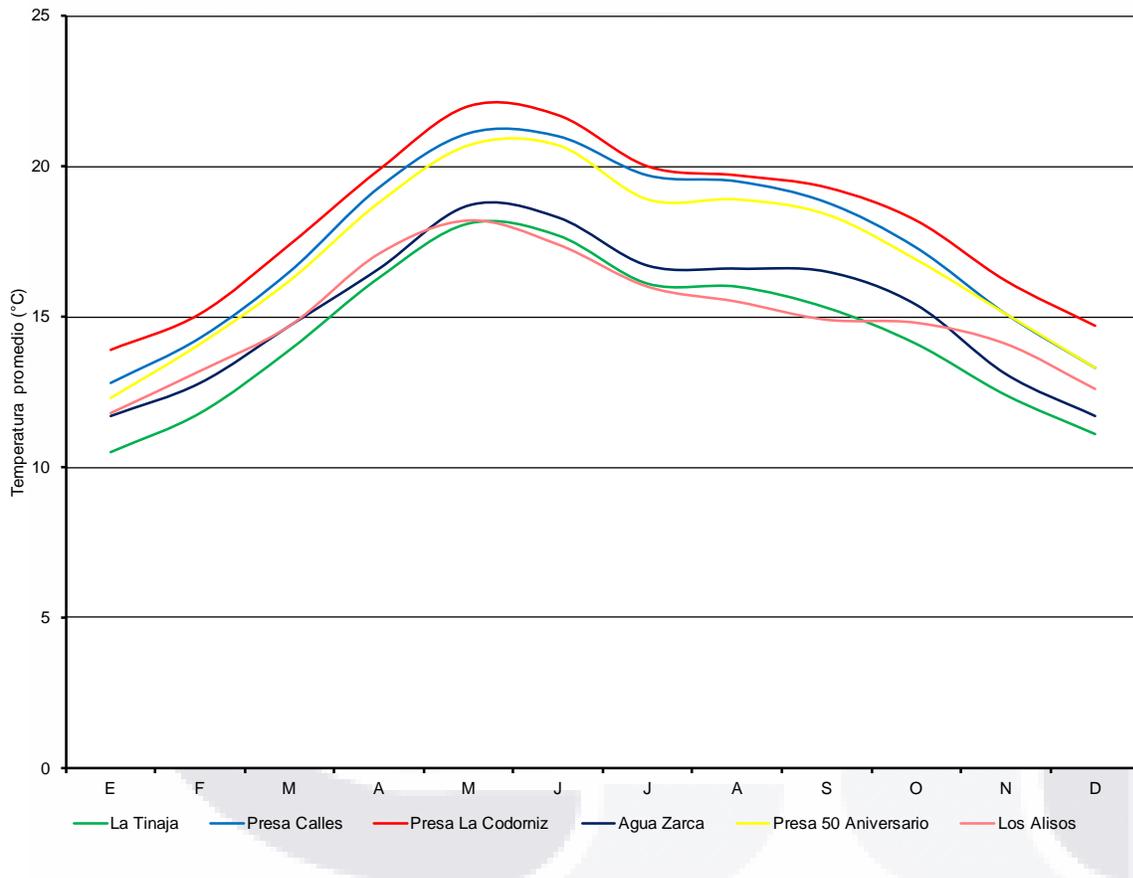
**Figura 9. Comportamiento anual de la precipitación pluvial promedio por estación meteorológica (1960-2008)**



**e) Temperatura**

Con excepción de la Barranca El Palmito, en el resto de localidades la temperatura promedio anual registrada va de los 14 a los 16° C (Anexo 4). El régimen térmico más cálido se registra en mayo con una temperatura entre los 16 y los 23.8° C, siendo el mes más frío enero con una temperatura de 10.5 a 13.9° C. En la siguiente figura se presenta el comportamiento anual de la temperatura promedio registrada en dichas estaciones meteorológicas de 1960 al 2008 (INEGI, 2009)

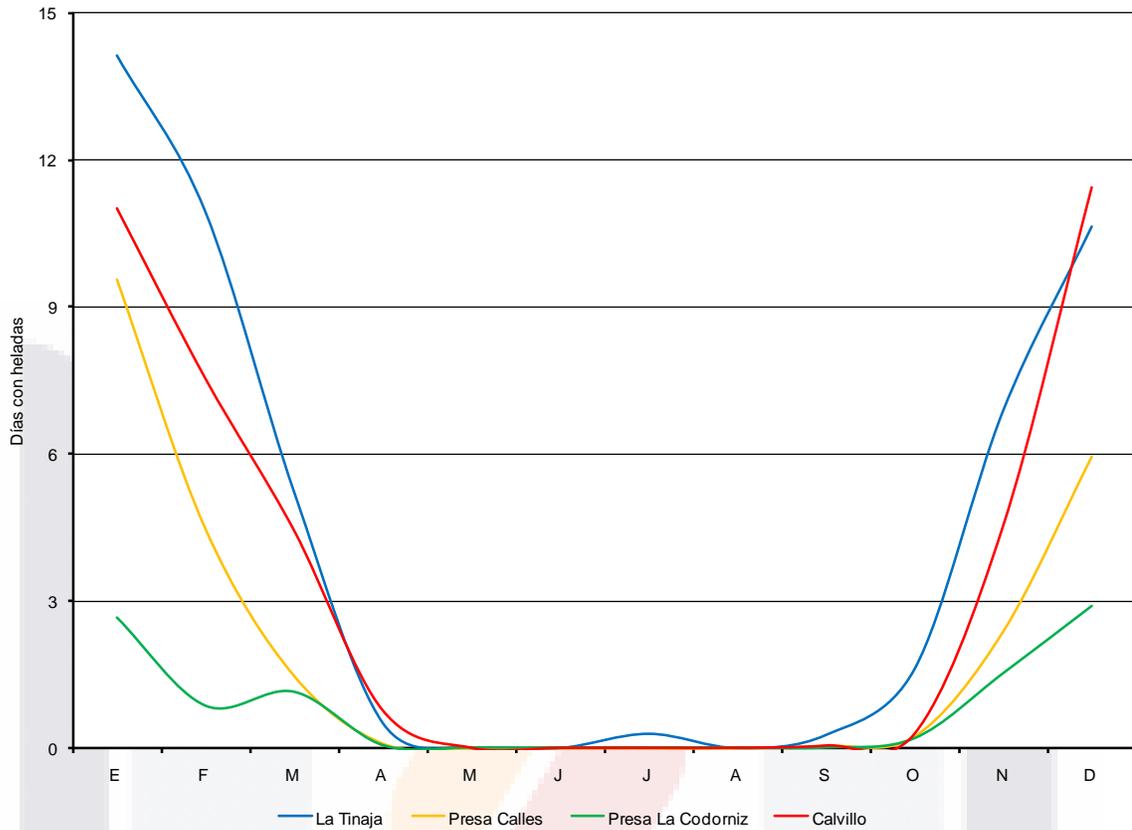
**Figura 10. Comportamiento anual de la temperatura promedio por estación meteorológica (1960-2008)**



**f) Heladas**

El régimen de heladas va de octubre a abril en todos los sitios con la mayor incidencia durante enero (Figura 11). El registro del número de heladas varia de manera perceptible entre todas las estaciones meteorológicas presentándose con mayor frecuencia en La Tinaja (INEGI, 2008).

**Figura 11. Comportamiento anual de las heladas (1984-2005)**



**3) Ambiente biótico asociados a la distribución del laurel**

En todas las localidades se observó que el laurel se desarrolla como un elemento del sotobosque en áreas donde el tipo de vegetación corresponde a un bosque de encino el cual presenta indicios de disturbio en mayor o menor grado (Anexo 9). En las zonas de distribución de laurel la especie predominante era *Q. rugosa* seguida por *Q. eduardii*. De estas dos especies *Q. rugosa* fue la única constante en todas las localidades y su distribución también estuvo asociada a las cañadas; fue evidente la coexistencia que mantiene con el laurel ya que en donde se distribuye éste existen ejemplares de tal encino y viceversa. A diferencia de *Q. rugosa*, *Q. eduardii* es una especie de amplia distribución en las serranías de Aguascalientes y se pudo constatar que no necesariamente existe laurel en aquellas cañadas con presencia de este encino. Otra especie que se presentó de manera regular en las localidades bajo estudio fue el Capulín (*Prunus salicifolia*) aunque este último solo se encontró en los ecotonos entre el bosque de encino y la selva baja caducifolia. Fue evidente que en estas zonas la densidad de laurel fue cada vez menor y desapareció completamente al pasar del bosque de encino a la selva baja caducifolia. En el Anexo 9 se presentan las imágenes satelitales y la sobreposición de las poligonales de distribución establecidas con la información registrada en campo de los ejemplares de laurel silvestre.

Figura 12. Imágenes del sotobosque en que se desarrolla *L. glaucescens*



(a)



(b)



(c)

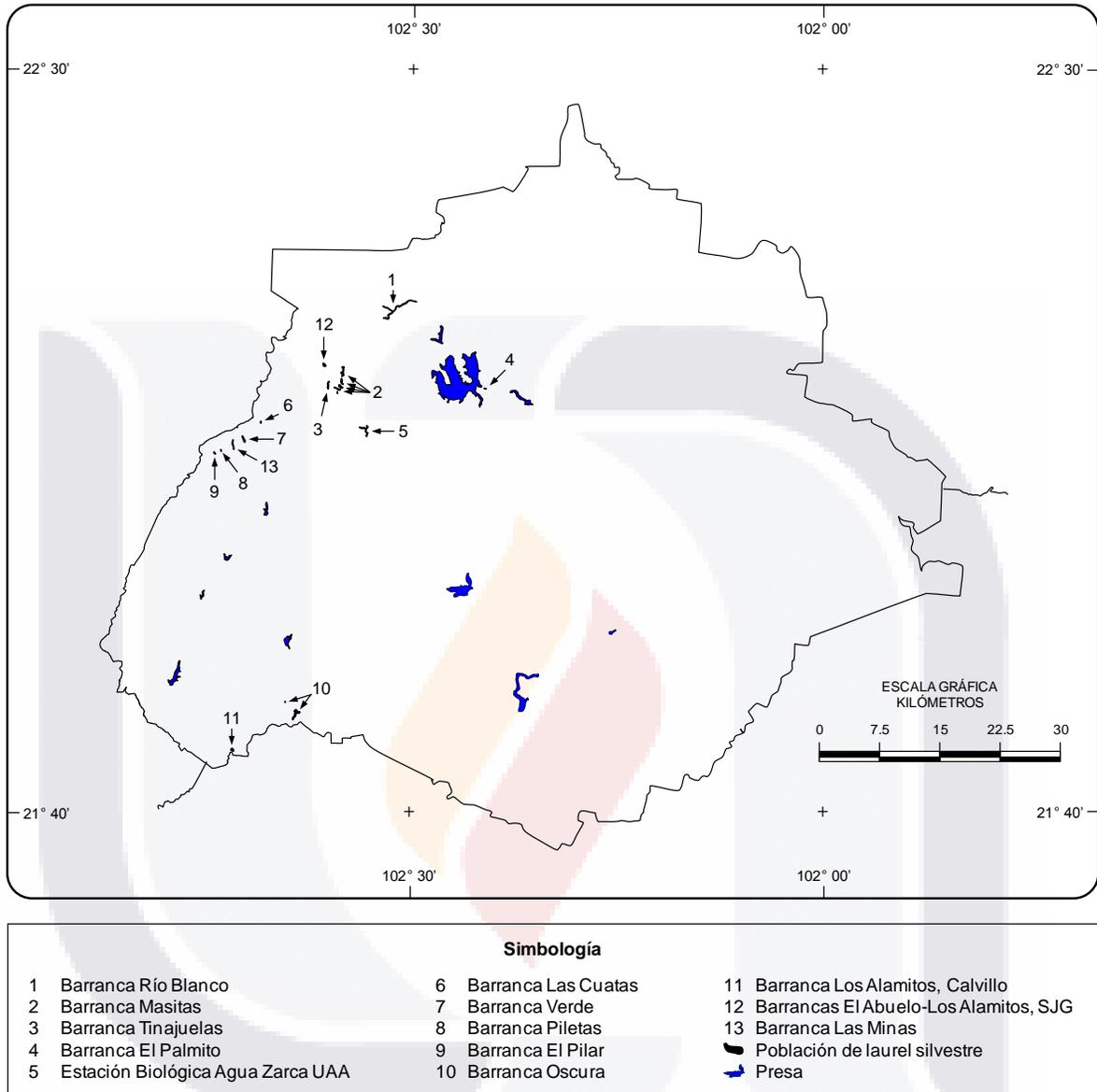
Se puede apreciar que son sitios en que el dosel, constituido principalmente por las copas de los encinos altos, permite el paso de luz. (a) Barranca Masitas; (b) Barranca El Abuelo; y (c) Barranca Oscura.

### 8.1.2. Modelación biogeográfica

Como resultado de la modelación biogeográfica, se identificaron cinco localidades potenciales de distribución, eligiéndose dos de ellas para visitar, con base en la posibilidad de acceder a las mismas. Las localidades elegidas fueron Barranca las Minas, en el municipio de Calvillo y coordenadas geográficas UTM 736,269 Longitud W 2'444,277 Latitud N, y Barranca Los Alamitos-El Abuelo, en el municipio de San José de Gracia y coordenadas geográficas 746,896 Longitud W 2'452,752 Latitud N, con altitud de 2,440 y 2,360 msnm respectivamente.

Como resultado de las visitas a estas dos localidades, ambas en terrenos de propiedad privada, se logró confirmar la presencia de ejemplares de laurel en los puntos seleccionados en densidades de 45 y 179 individuos/ha. Estos resultados fueron utilizados para completar la Figura 4 y trazar el mapa mostrado en la Figura 13.

**Figura 13. Mapa de distribución de *L. glaucescens* en Aguascalientes**



### 8.1.3. Estructura poblacional

#### 1) Densidad poblacional

La densidad varió entre las diferentes localidades desde 4 hasta 850 individuos por ha. Al correlacionar la densidad con la altitud en la que se desarrolla la población de laurel se observó que no existe una relación directa entre estos parámetros y solo en los extremos de altitud las densidades tienden a ser más bajas (Cuadro 11, Figura 7).

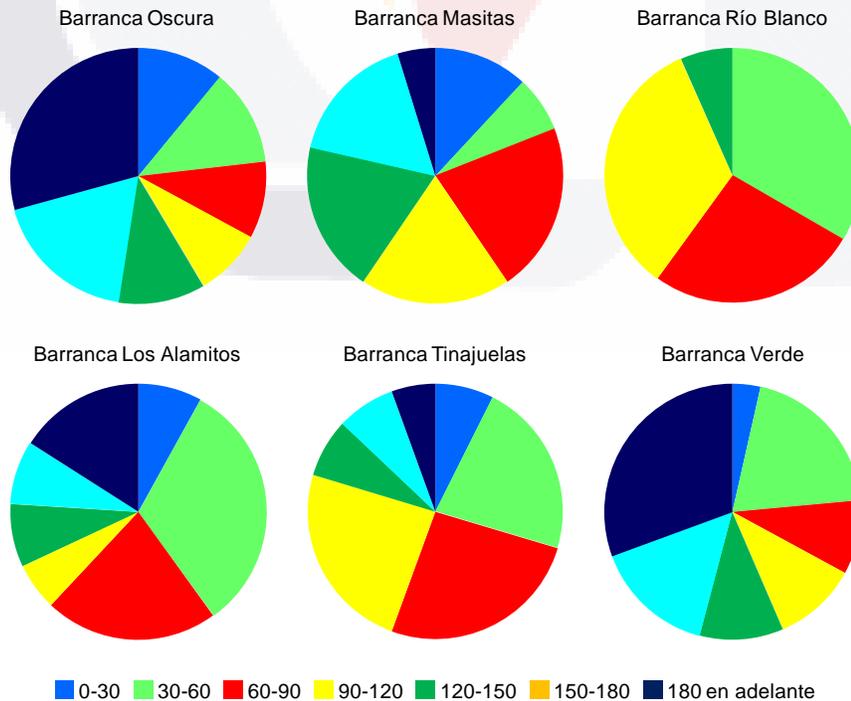
**Cuadro 11. Densidad de laurel en las localidades**

Localidad	Altitud (msnm)		Densidad
	Mínima	Máxima	
Barranca El Palmito	1,980	2,000	6
Estación Biológica Agua Zarca	2,120	2,200	273
Barranca Los Alamitos	2,260	2,340	95
Barranca Oscura	2,250	2,420	850
Barranca Río Blanco	2,280	2,400	267
Barranca El Abuelo	2,330	2,380	580
Barranca Masitas	2,340	2,450	717
Barranca Tinajuelas	2,340	2,400	184
Barranca Las Cuatas	2,360	2,420	22
Barranca Verde	2,390	2,460	392
Barranca El Pilar	2,490	2,520	7
Barranca Piletas	2,500	2,520	4

**2) Estructura de tamaños**

Se agruparon los ejemplares en categorías de 30 cm. Se observó que la estructura de tamaños varía entre las diferentes localidades y en algunas de ellas predominan los ejemplares de escasa estatura mientras que en otras se encuentran representadas todas las categorías (Figura 14).

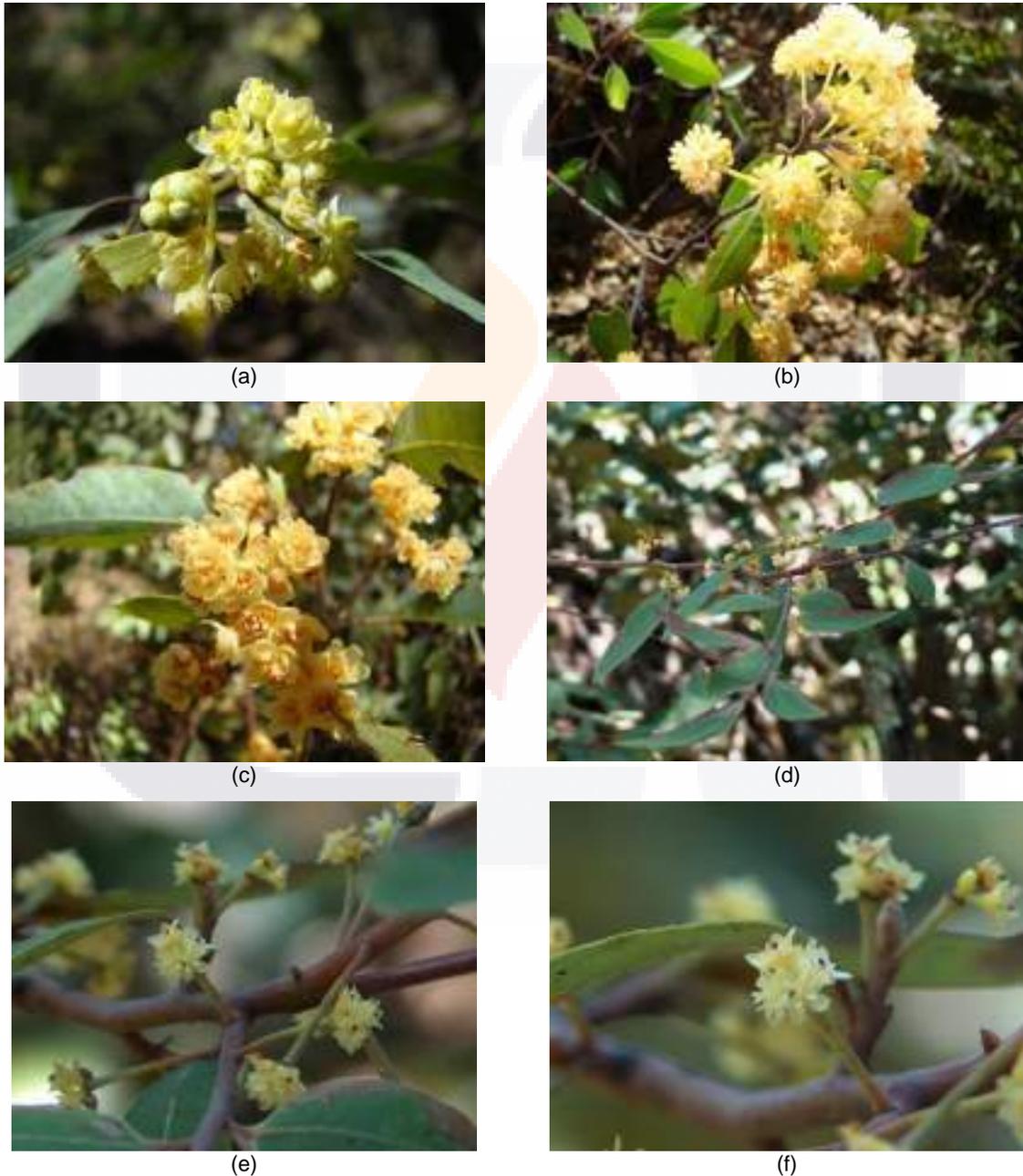
**Figura 14. Estructura de tamaños en cm en diferentes localidades**



**3) Proporción sexual**

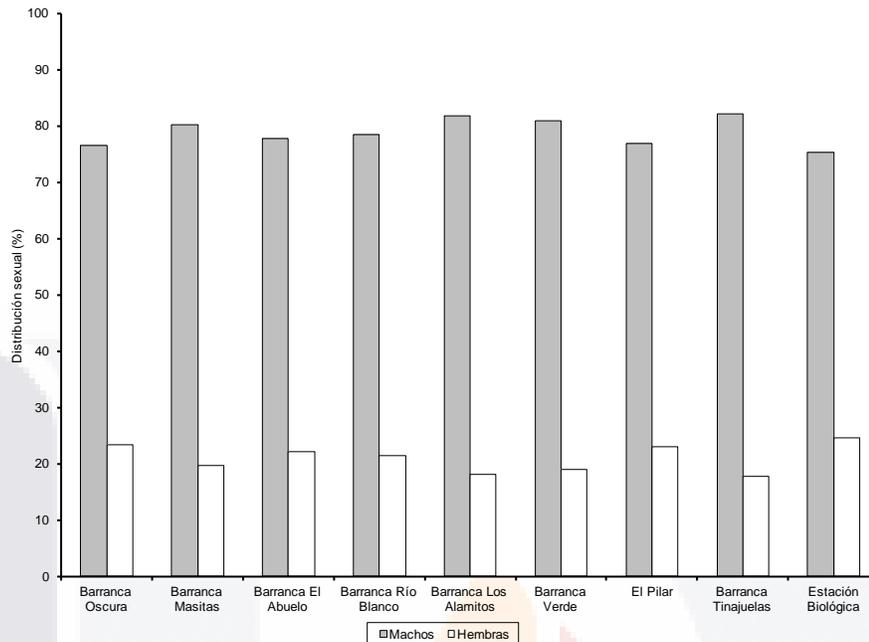
El sexado fue posible debido a que existe claro dimorfismo sexual entre las flores masculinas y femeninas (Figura 15). Sin embargo, no en todas las localidades fue posible esto debido a que en algunas de ellas no se detectaron estructuras reproductivas durante el período que duró el trabajo de campo. En las que sí fue posible llevar a cabo el sexado la estructura sexual mostró una mayor proporción de plantas masculinas que de plantas femeninas a razón de 3 a 4 plantas masculinas por cada planta femenina (Figura 16).

**Figura 15. Dimorfismo sexual en las flores de *L. glaucescens***



(a), (b) y (c) Flores masculinas; (d), (e) y (f) Flores femeninas. Nótese que en las inflorescencias masculinas las flores son más abundantes que en las inflorescencias femeninas.

**Figura 16. Variación sexual en las localidades bajo estudio**



**4) Producción de semillas**

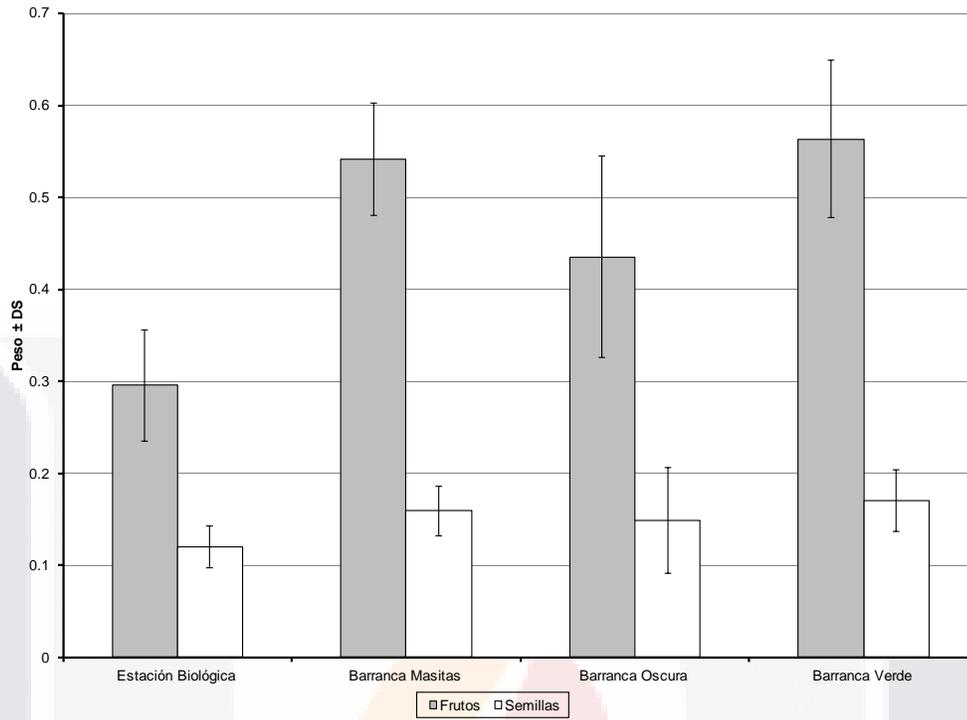
El peso de frutos y semillas varió en las poblaciones en que fue posible su colecta (Figura 18). Al relacionar el peso de frutos y semillas con la altitud a la que se desarrollan los ejemplares en cada localidad se observó un comportamiento similar entre estos dos factores (Figura 19). El coeficiente de correlación de Pearson indicó una fuerte correlación directa entre estos parámetros (Cuadro 12).

**Figura 17. Semillas de dos localidades**

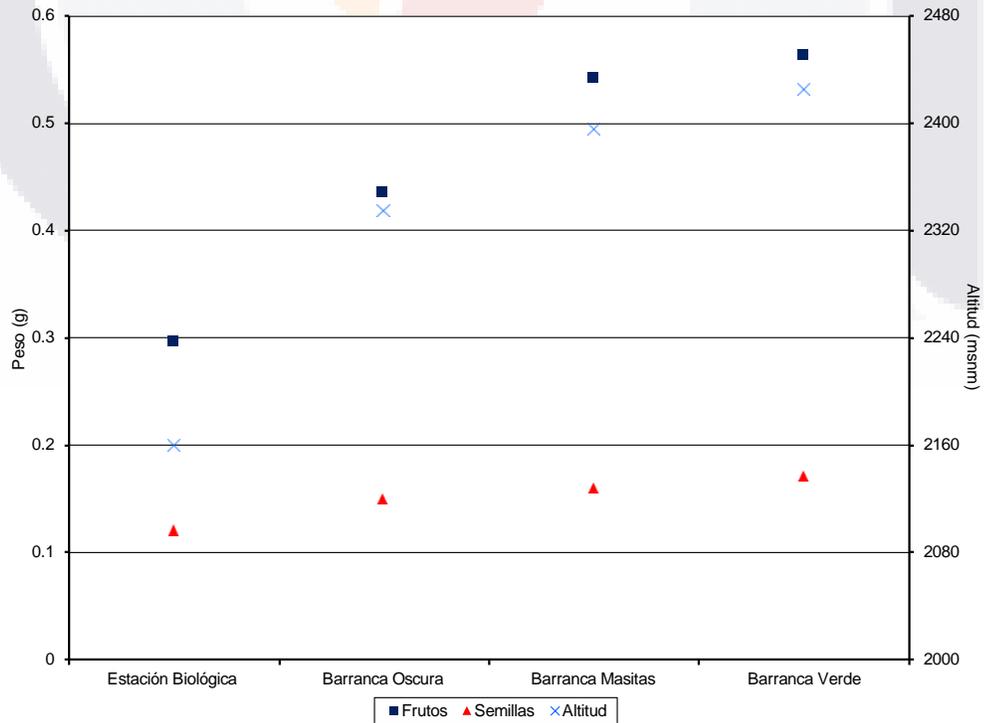


A la derecha una semilla colectada en Barranca Verde y a la izquierda una colectada en la Estación Biológica Agua Zarca, UAA. Nótese las evidentes diferencias en el tamaño de la semilla.

**Figura 18. Peso unitario de frutos y semillas por localidad**



**Figura 19. Relación entre el peso unitario de frutos y semillas y la altitud de la localidad**

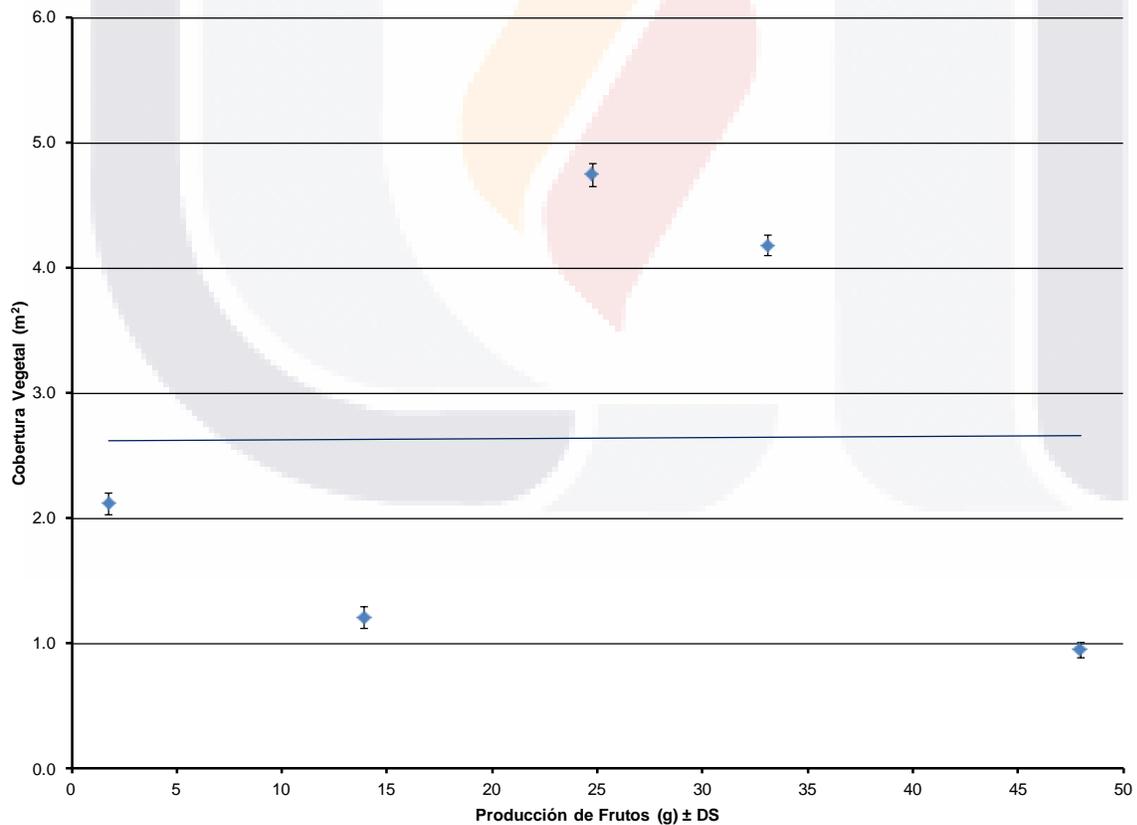


**Cuadro 12. Coeficiente de Correlación de Pearson (r) existente entre peso del fruto, peso de la semilla y la altitud de la población**

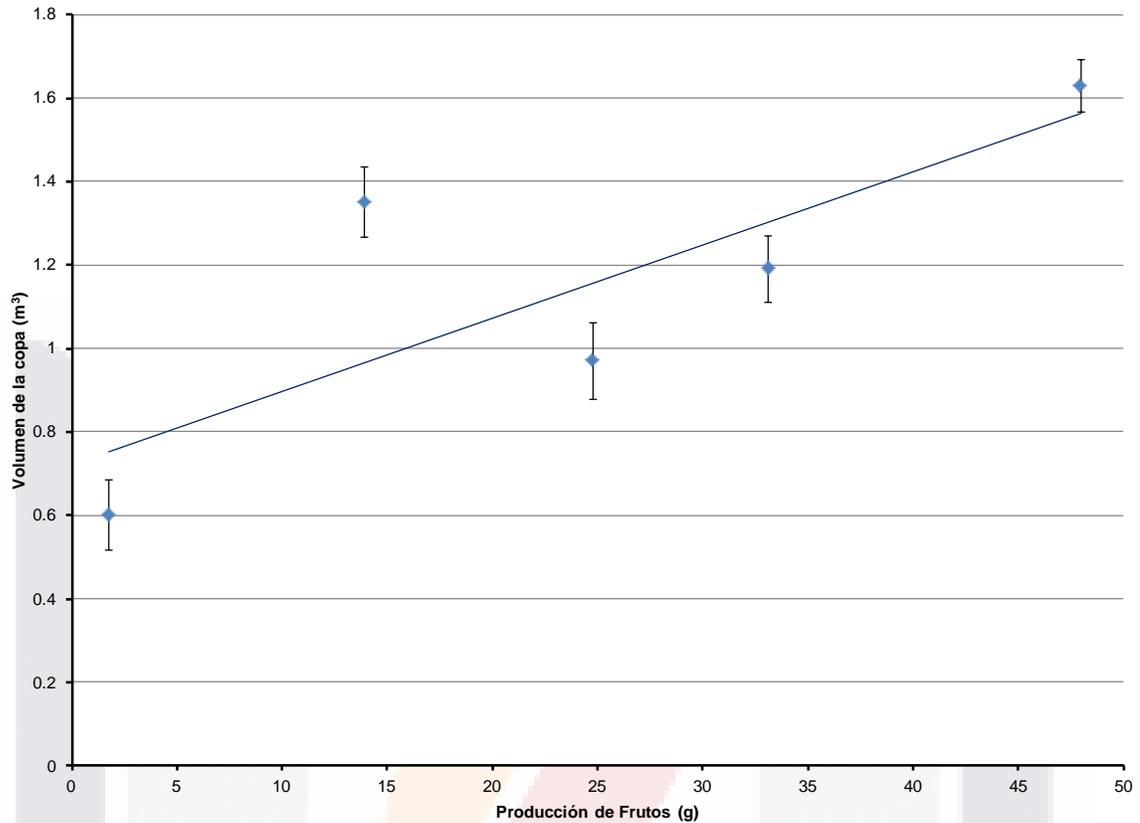
Localidad	Coeficiente de correlación de Pearson (r)	
	Peso fruto:peso semilla	Peso semilla:Altitud
Estación Biológica	0.9623	0.9717
Barranca Oscura	0.9647	0.9925
Barranca Masitas	0.9702	0.9486
Barranca Verde	0.9654	0.9320

No se observó relación directa entre la producción total de frutos por planta y la cobertura vegetal (Figura 20); sin embargo, dicha interacción si existe si se relaciona la producción total de frutos con el volumen de la copa (Figura 21). El coeficiente de correlación de Pearson indica que existe una correlación significativa entre el volumen de la copa y el total de frutos producidos de tal manera que al incrementarse volumen de la copa y aumenta proporcionalmente la producción total de frutos (Cuadro 13).

**Figura 20. Producción de frutos por planta vs cobertura vegetal**



**Figura 21. Producción de frutos por planta vs volumen de la copa**



**Cuadro 13. r existente entre productividad y altura de la planta, cobertura vegetal y volumen de la copa**

Característica	Correlación r contra altura de la planta	Correlación r contra cobertura vegetal	Correlación r contra volumen de la copa
Peso del fruto	-0.6489	-0.0331	-0.2450
Peso de la semilla	-0.8356	-0.9799	-0.9568
Total de frutos (g)	0.4334	0.1125	0.2466
Total de semillas (g)	0.2389	0.7406	0.8542
Altura de la planta		-0.4550	-0.0817
Cobertura vegetal	-0.4550		0.9149
Volumen de la copa	-0.0817	0.9149	

Por otro lado, el proceso de maduración del fruto indica que ésta es una especie que produce frutos climatéricos (Figura 22 y Figura 23).

Finalmente se pudo observar en las visitas a las poblaciones que como parte de la biología reproductiva que muestra esta especie la producción de flores en las plantas hembra sexualmente competentes se inicia inmediatamente después de que se completa la maduración de los frutos, mismos que son liberados de la planta madre durante las lluvias intensas cayendo al suelo de donde son arrastrados por acción mecánica del agua. Los ejemplares macho también inician una producción abundante de flores para el mismo período. Independientemente del sexo de la planta, los botones florales se desarrollan durante el verano de tal manera que para finales del mismo prácticamente han completado su desarrollo, llegando incluso a presentarse floración invernal en algunos ejemplares macho, y permanecen de esta manera hasta el inicio de la primavera, período en el que se da la floración y eventual polinización y fecundación.

**Figura 22. Proceso de maduración de fruto en el laboratorio**



09082008



23082008



27082008



14092008

Figura 23. Secuencia del desarrollo de frutos *in situ*



**8.1.4. Caracterización del grado de disturbio**

La consulta de la base de datos de la SEPLADE del régimen de propiedad de la tierra permitió agrupar los terrenos en donde se distribuye esta especie en cuatro categorías (Cuadro 14).

**Cuadro 14. Régimen de propiedad de la tierra en las localidades bajo estudio**

Régimen de propiedad de la tierra	Localidad
Terrenos sobre el derecho de vía del camino	Barranca El Palmito
	Barranca El Pilar
Terrenos ejidales	Barranca Río Blanco
	Barranca Tinajuelas
Terreno perteneciente a una U.M.A.	Barranca Masitas
Terrenos de propiedad privada	Barranca El Abuelo- Los Alamitos SJG
	Barranca Las Cuatas
	Barranca Las Minas
	Barranca Los Alamitos, Calvillo
	Barranca Oscura
	Barranca Piletas
	Barranca Verde
	Estación Biológica Agua Zarca-U.A.A.

Se detectaron señales claras de explotación del recurso en todas las localidades estudiadas (Figura 24), independientemente del régimen de propiedad de la tierra del que se tratara. En el estudio, las localidades de *L. glaucescens* de fácil acceso presentaron un mayor grado de explotación. El aprovechamiento de ramas, hojas o individuos se realiza principalmente en terrenos donde la vigilancia o la restricción para el acceso son mínimas (Cuadro 15).

**Figura 24. Indicios de la explotación**



Evidencias de extracción detectadas: (a) Troceo de ramas con la mano; (b) corte con navaja; (c) corte con tijera para podar; (d) corte con sierra; (e) corte con machete; y (f) extracción de meristemos apicales y florales. Nótese los anillos de crecimiento en algunos tallos (e).

**Cuadro 15. Accesibilidad, extracción y reclutamiento sexual de *L. glaucescens* en las localidades de distribución en Aguascalientes, México**

Localidad	Accesibilidad	Extracción	Reclutamiento sexual
Barranca El Palmito	+++	xxx	0
Barranca El Pilar	+++	xxx	0
Barranca Río Blanco	+++	xxx	0
Barranca Tinajuelas	+++	xxx	0
Barranca Masitas	++	xx	1
Barranca El Abuelo-Los Alamitos, SJG	+	x	2
Barranca Las Cuatas	+	x	0
Barranca Las Minas	+	x	0
Barranca Piletas	+++	xxx	0
Barranca Verde	++	xx	1
Barranca Los Alamitos	+	x	2
Barranca Oscura	+	x	2
Estación Biológica Agua Zarca	++	x	1

+: Dificil                      x: Escasa  
 ++: Moderada                xx: Moderada  
 +++: Fácil                      xxx: Abundante  
 0: No se detectó  
 1: Escaso  
 2: Moderado

La evidencia en campo sugiere que la extracción de las ramas se realiza trozando las ramas con la mano (Figura 24a) o utilizando diversos medios y herramientas como navajas (Figura 24b), tijeras para podar (Figura 24c), sierras (Figura 24d), machetes (Figura 24e) y hachas. En ejemplares de menor talla se llega incluso a extraer la planta completa (Figura 24e). Se observó que los tejidos preferidos por quienes realizan la extracción son los extremos apicales de las ramas (Figura 24f), en los cuales se desarrollan los meristemas florales en esta especie, lo que limita en gran medida la producción de flores en esta especie y evita el incremento de talla de la planta. El período de mayor extracción en Aguascalientes coincide con la principal época de floración del laurel. Esto explica la razón por la que el reclutamiento sexual sea muy escaso o nulo en las localidades con mayor extracción (Cuadro 15, Figura 25).

Por otro lado, fue notorio que en las localidades con mayor tasa de extracción la mayoría de los ejemplares mostraron un fenotipo atípico para la especie ya que en lugar de crecer como un árbol o arbusto se desarrollan como densos matorrales unidos a un único sistema radical que no obstante que llega a formar manchones de hasta 30 m<sup>2</sup> no desarrollan altura y no se observaron indicios de producción de flores y frutos por lo cual estas plantas solo están ganando edad ontológica pero no altura ni están dejando descendencia sexual (Figura 26).

Figura 25. Evidencias de reclutamiento sexual de *L. glaucescens* en diferentes localidades



(a) Barranca Los Alamitos, Calvillo, (b) Barranca El Abuelo; (c) Barranca Masitas; (d) Barranca Verde, (e) Barranca Oscura y (f) Estación Biológica "Agua Zarca". Nótese en todos los casos que las plántulas se desarrollan en sitios en donde se acumula y degrada la hojarasca de *Q. rugosa*.

**Figura 26. Alteraciones fenotípicas de los ejemplares en las localidades con mayores indicios de extracción**



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



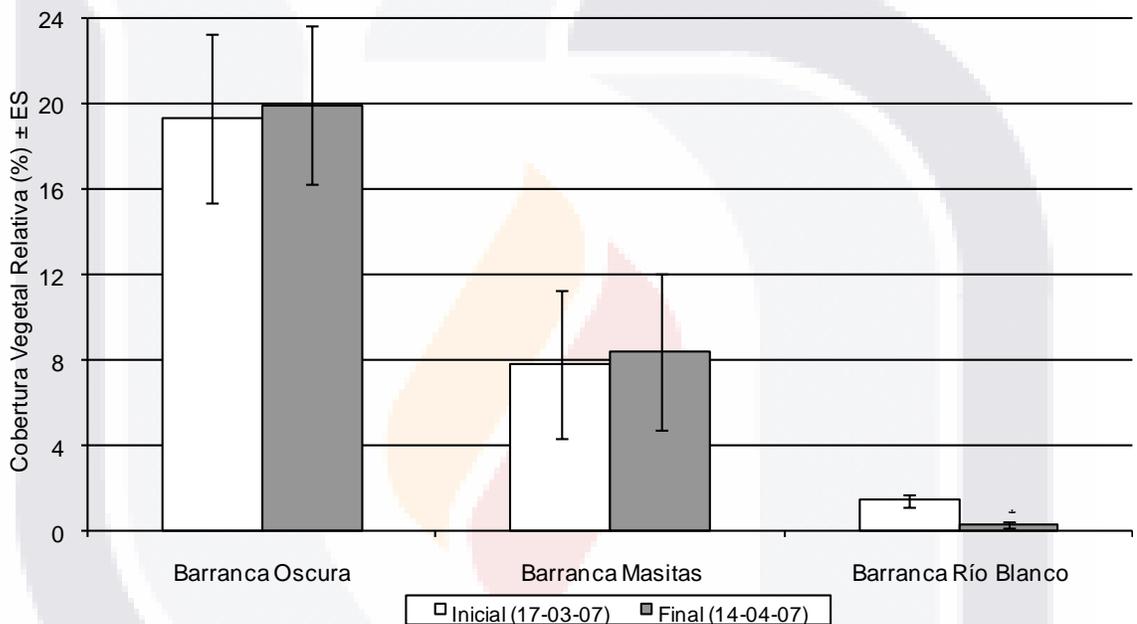
(f)

Alteraciones fenotípicas observadas en las localidades: ejemplares tipo en (a) Barranca Oscura y (b) Barranca Verde; ejemplares con fenotipo alterado en (c) Barranca Masitas; (d) Barranca Verde, (e) Barranca Tinajuelas y (f) Barranca Verde. Nótese que en el caso de los ejemplares tipo siempre existe un tronco principal a partir del cual aparecen ramificaciones a diferentes alturas mientras que en los ejemplares con fenotipo alterado no existe tal tronco sino muchos troncos secundarios que generalmente emergen cercanos a un punto central, además de que las plantas presentan escasa altura.

**8.1.5. Determinación de los niveles de extracción de laurel en los sitios de distribución**

Con el fin de cuantificar la extracción, una vez que se identificaron las localidades y se marcaron en la cartografía topográfica, seleccionamos tres sitios con diferente régimen de propiedad o protección: propiedad ejidal de acceso libre (Barranca Río Blanco), propiedad ejidal de acceso regulado (Barranca Masitas, ubicado dentro de la SEMARNAT-UMA-EX0015-AGS del Ejido “Col. Progreso”) y propiedad privada y acceso restringido (Barranca Oscura). Sólo se presentaron diferencias significativas en cobertura vegetal antes y después de la colecta de Semana Santa en la Barranca Río Blanco.

**Figura 27. Tasa de explotación de *L. glaucescens***



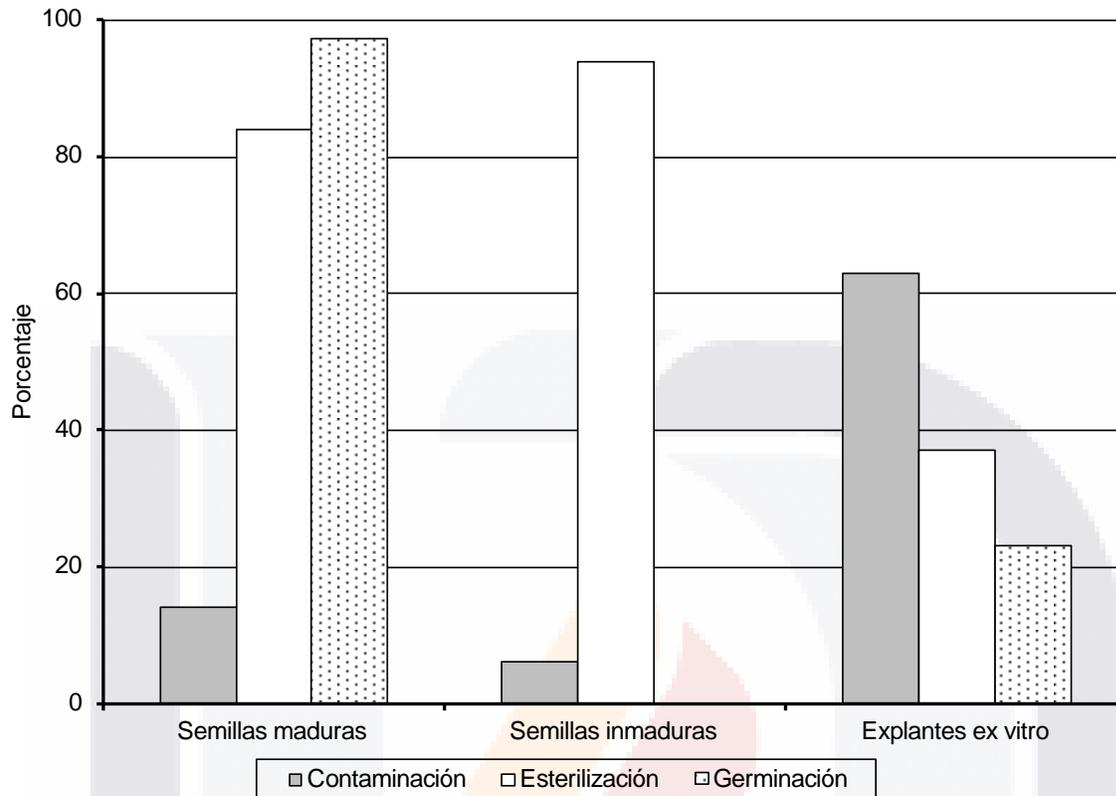
Tasa de explotación medida como cobertura vegetal relativa antes y después de la colecta de Semana Santa (\* p<0.05).

**8.2. Biotecnológicos**

**8.2.1. Establecimiento de cultivos *in vitro***

Se logró la esterilización en todos los explantes evaluados con eficiencia diferente dependiendo de la fuente del mismo. Los tejidos colectados en campo mostraron una alta incidencia de hongos y se presentó un alto porcentaje de necrosis por oxidación en aquellos explantes en los que la esterilización fue exitosa. La esterilización de semillas inmaduras no mostró resultados satisfactorios dado que a pesar de que si se eliminaron los agentes bióticos contaminantes en un alto porcentaje, los explantes se necrosaron completamente. De acuerdo a los resultados obtenidos es claro que la mejor fuente de explantes son semillas maduras gracias a la eficiencia de esterilización-germinación lograda (Figura 28). La eliminación de la testa aceleró el proceso de germinación ya que las semillas con testa tardaron de 4 a 6 meses en germinar mientras que sin testa la germinación se presentó entre el primer y segundo mes.

**Figura 28. Resultados de los experimentos de esterilización**



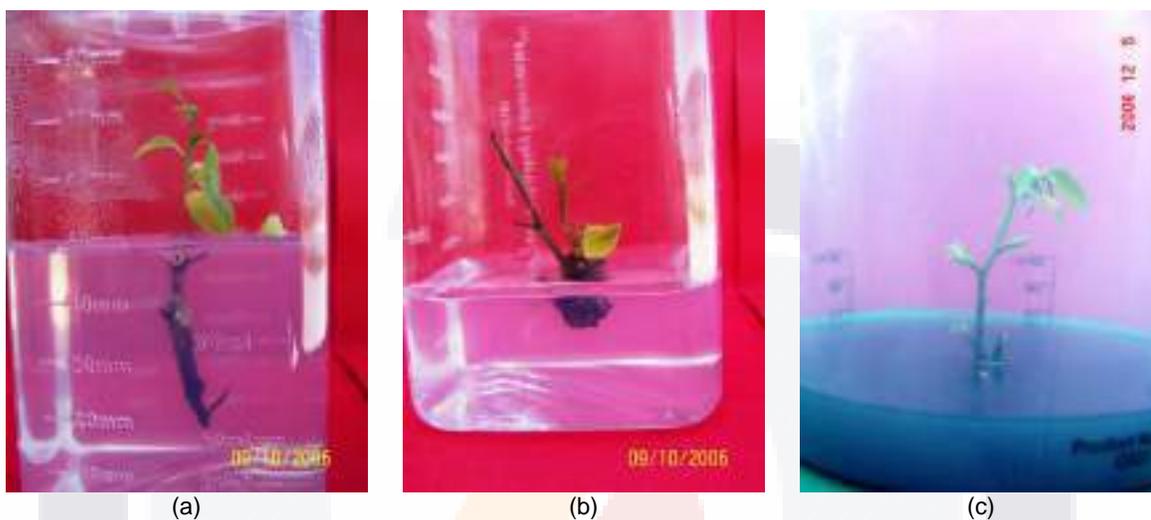
**8.2.2. Desarrollo del sistema de propagación *in vitro* a partir de meristemos preexistentes**

Los primeros experimentos se llevaron a cabo utilizando tallos colectados directamente de campo como fuente de explantes, los cuales presentaron un alto índice de contaminación y necrosis por oxidación. En los explantes tratados con 0.5 mg/L de BA se logró una pobre respuesta sin la aparición de tejido calloso en la base del explante. Con 1 mg/L de BA los explantes desarrollaron tejido calloso en la base del mismo que eventualmente se oxidó y necrosó junto con la parte aérea. La adición de NAA al medio de cultivo dio como resultado una mayor producción de tejido calloso y finalmente una necrosis más rápida de los tejidos debido a problemas de oxidación. Sin embargo se observó que cortos períodos de inducción en medio de germinación, 2 semanas, para la posterior transferencia de los explantes a medio basal adicionado con carbón activado inhibía el desarrollo de tejido calloso, pero desafortunadamente los explantes terminaban necrosándose antes del subcultivo (Figura 29).

Otra fuente de explantes fueron las plántulas germinadas *in vitro*, las cuales si mostraron respuesta positiva ante los diferentes tratamientos evaluados (Figura 30). Con 0.5 mg/L de BA desarrollaron pocos brotes pero elongaron rápidamente y generaron muchos entrenudos que pudieron ser utilizados para más experimentos de propagación; con 1 mg/L de BA se obtuvo una proliferación más abundante pero con tejido calloso en la base de los explantes, mismo que eventualmente desarrolló embriones somáticos en algunos de ellos; desafortunadamente este tejido calloso terminó necrosando por oxidación de fenólicos con lo cual se necrosó todo el explante. La adición de la auxina

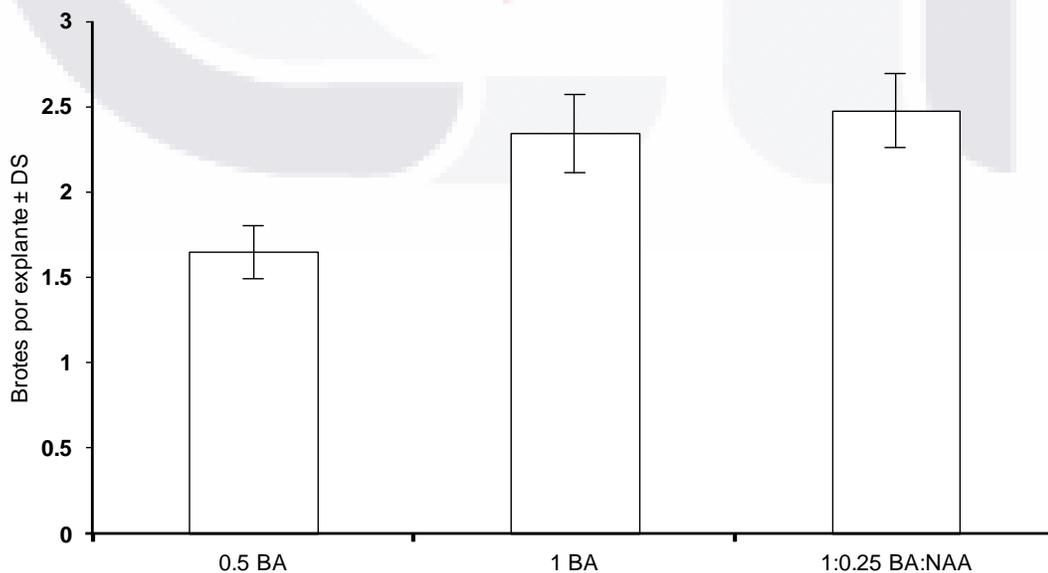
NAA al medio de brotación indujo una mayor proliferación a la vez que el desarrollo de tejido calloso en la base del explante del cual eventualmente se diferenciaron raíces; sin embargo los explantes terminaron necrosando por oxidación (Figura 31).

**Figura 29. Resultados de los experimentos de propagación utilizando explantes colectados en campo**



Respuesta obtenida con los tratamientos para la germinación de meristemos preexistentes en explantes colectados en el campo: (a) con 0.5  $\text{mg/L}$  de BA, en donde se aprecia el inicio del desarrollo de tejido calloso en la parte del explante sumergida en el medio; (b) con 1  $\text{mg/L}$  de BA en donde se aprecia el desarrollo abundante de tejido calloso en la base del explante, (c) con 1  $\text{mg/L}$  BA durante 15 días de inducción para su transferencia a medio basal adicionado con 0.4% de carbón activado.

**Figura 30. Resultados de la brotación de meristemos preexistentes**



**Figura 31. Resultados de los experimentos de propagación utilizando explantes de semillas germinadas *in vitro***



(a)



(b)



(c)

Respuesta obtenida con los tratamientos para la germinación de meristemos preexistentes con explantes obtenidos de semillas germinadas *in vitro*: (a) con 0.5 mg/L de BA; (b) con 1 mg/L de BA; y (c) con 1 y 0.25 mg/L de BA y NAA respectivamente.

**8.2.3. Desarrollo de un sistema para el enraizamiento de brotes adventicios**

El tratamiento con medio MS diluido al 50% para inducir el enraizamiento provocó la necrosis de los explantes en todos los casos. El tratamiento con 1 mg/L de IBA permitió que el 64% de los explantes sometidos a este tratamiento desarrollaran raíces y una vez que eran transferidos a medio basal estas se desarrollaban rápidamente favoreciendo el crecimiento de la planta.

**Figura 32. Respuesta de enraizamiento**



(a)



(b)



(c)

Respuesta obtenida con los tratamientos para la enraizamiento, en donde se aprecia el vigor de la planta y el desarrollo de tejido calloso en la base del explante a partir del cual se diferenciaron raíces.

### 8.2.4. Inducción de tejido caloso embriogénico

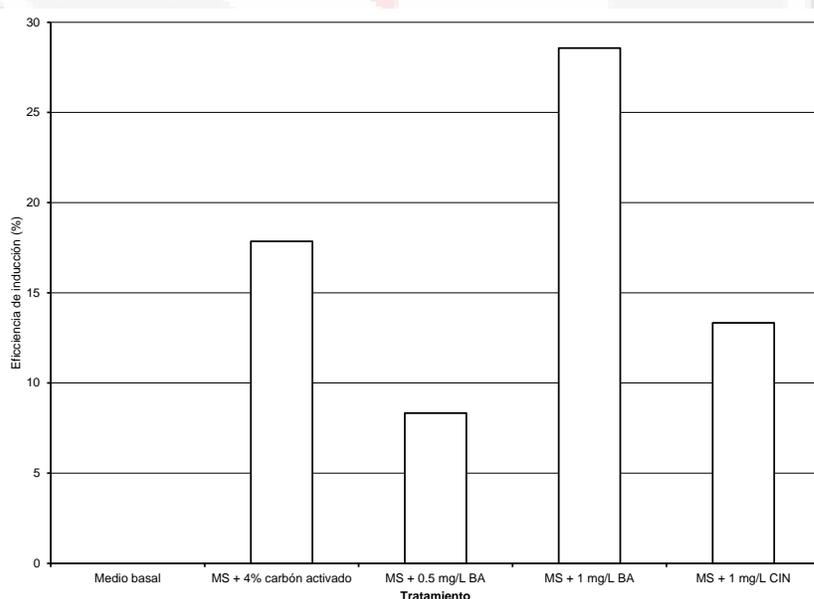
La inducción de tejido caloso embriogénico utilizando semillas inmaduras como explante no fue posible debido a que el 100% de los explantes se necrosaron. Sin embargo, con excepción del tratamiento control en el cual las semillas germinaron dando lugar a plántulas (Cuadro 16), esta inducción se logró cuando los explantes fueron semillas maduras sin testa en todos los tratamientos evaluados (Figura 33).

Una vez que se transfirió el tejido caloso embriogénico al medio de diferenciación los embriones somáticos (ES) iniciaron su desarrollo y en aproximadamente 45 días fue posible detectarlos visualmente (Figura 34).

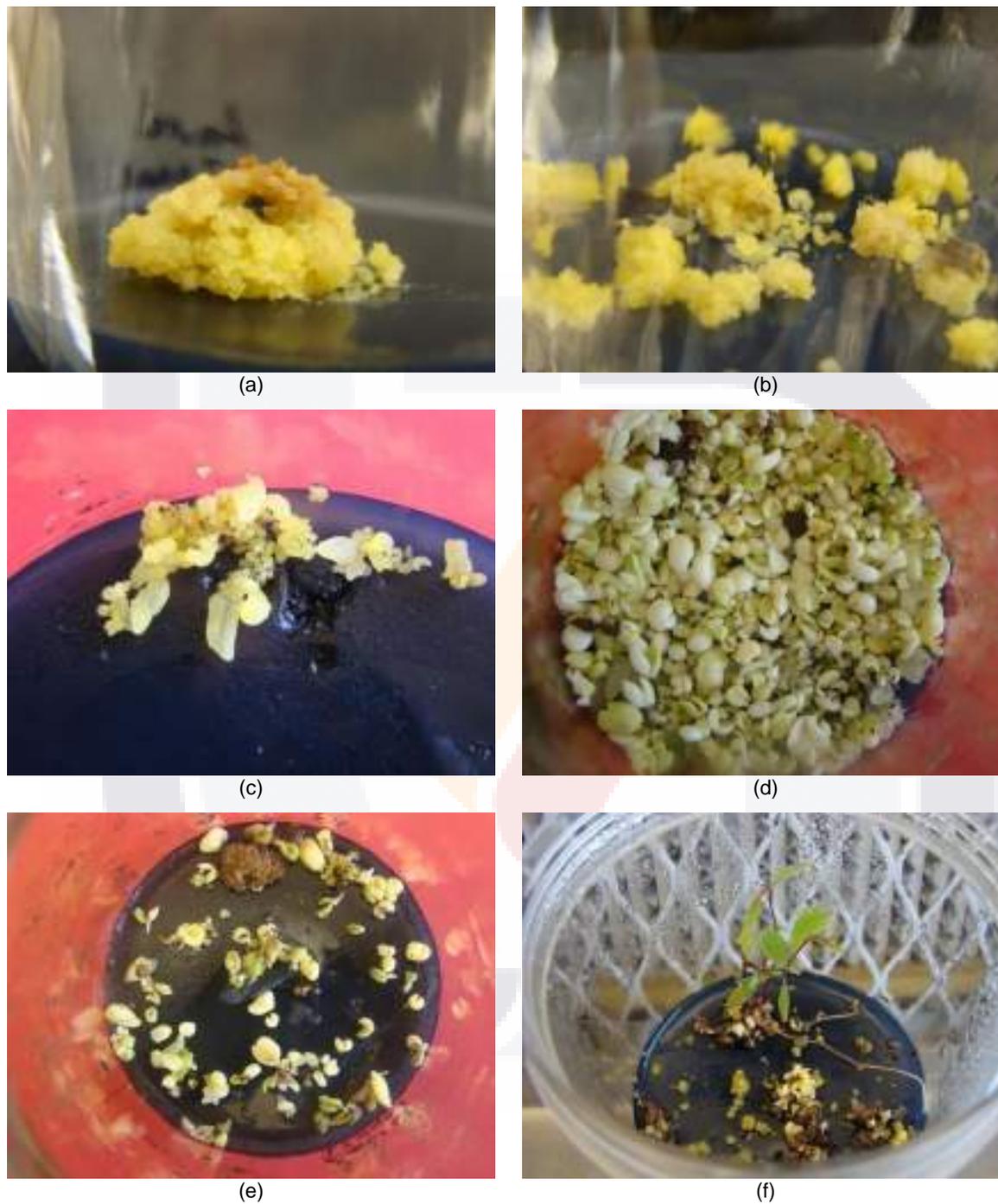
**Cuadro 16. Características de la respuesta de embriogénesis somática**

Trat	Reguladores crecimiento vegetal RCV	Reguladores crecimiento vegetal [mg/L]	Carbón activado (g/L)	Observaciones
1				Los embriones sexuales que se sometieron al tratamiento solo germinaron y desarrollaron plántulas.
2			4	El callo que se generó era friable y presentaba clorofila; el proceso de diferenciación de embriones somáticos inició aproximadamente después del 3 subcultivo. A partir de esta etapa los subcultivos se realizaron cada 2.5 meses.
3	BA	0.5		El callo que se generó era friable y carecía de clorofila. No fue sino hasta que se transfirieron los callos al medio de diferenciación cuando comenzaron a pigmentarse. La diferenciación inició después del segundo subcultivo en este medio.
4	BA	1		
5	Cin	1		El tejido caloso friable que se generó no produjo clorofila ni aun cuando fue transferido al medio de inducción; sin embargo, sí se desarrollaron embriones somáticos etiolados los que finalmente terminaron con problemas de vitrificación y necrosis.

**Figura 33. Eficiencia de inducción de tejidos calosos embriogénicos**

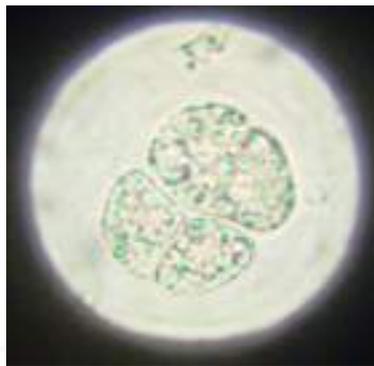


**Figura 34. Desarrollo de embriogénesis somática**

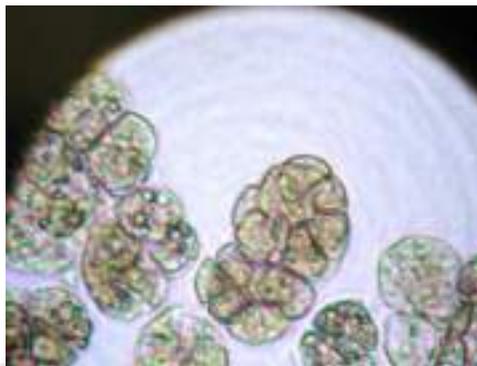


(a) Inducción de tejido caloso embriogénico (b) transferencia del callo embriogénico al medio de diferenciación; (c) inicio de la diferenciación de ES; (d) maduración de ES; (e) inicio de la germinación de ES; y (f) obtención de plántulas.

Figura 35. Imágenes al microscopio óptico del desarrollo de ES



(a)



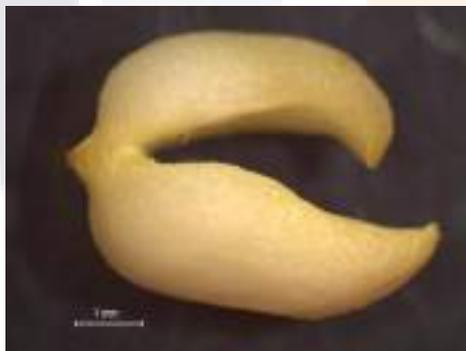
(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



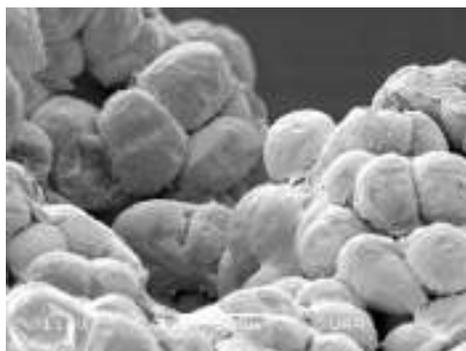
(g)



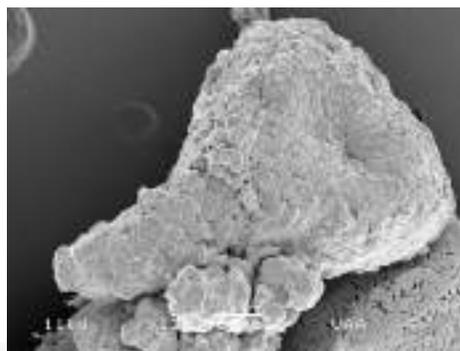
(h)

(a) Proembrión de cuatro células; (b) etapa globular; (c) etapa corazón; (d) etapa cotiledonaria I; (e) etapa cotiledonaria II; (f) ES maduro; (g) inicio de la germinación; y (h) desarrollo radical.

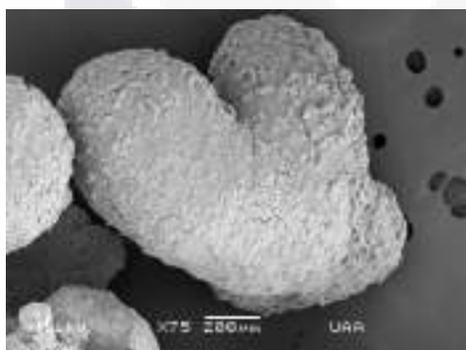
Figura 36. Imágenes al microscopio electrónico de barrido del desarrollo de ES



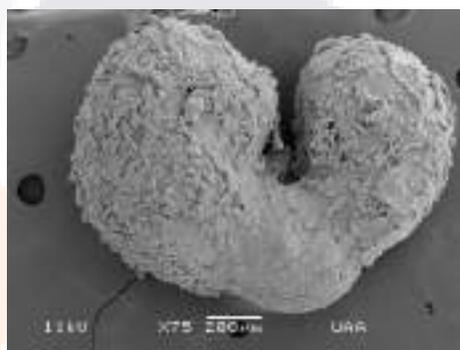
(a)



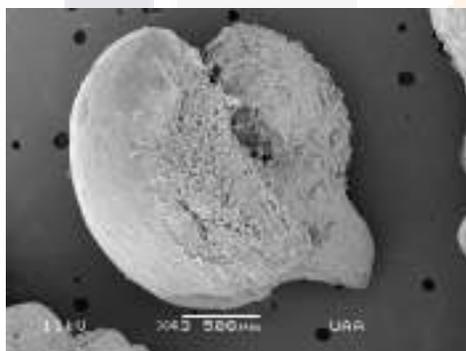
(b)



(c)



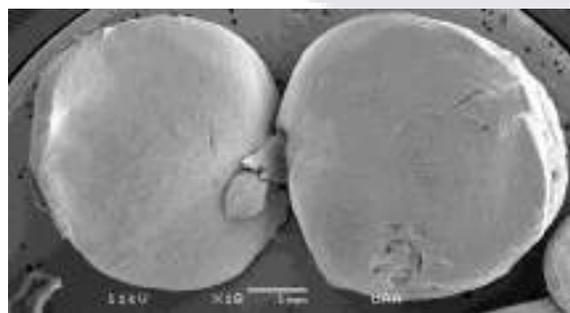
(d)



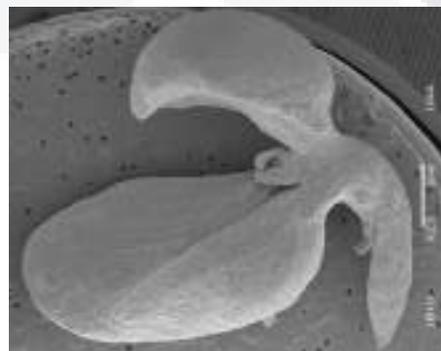
(e)



(f)



(g)



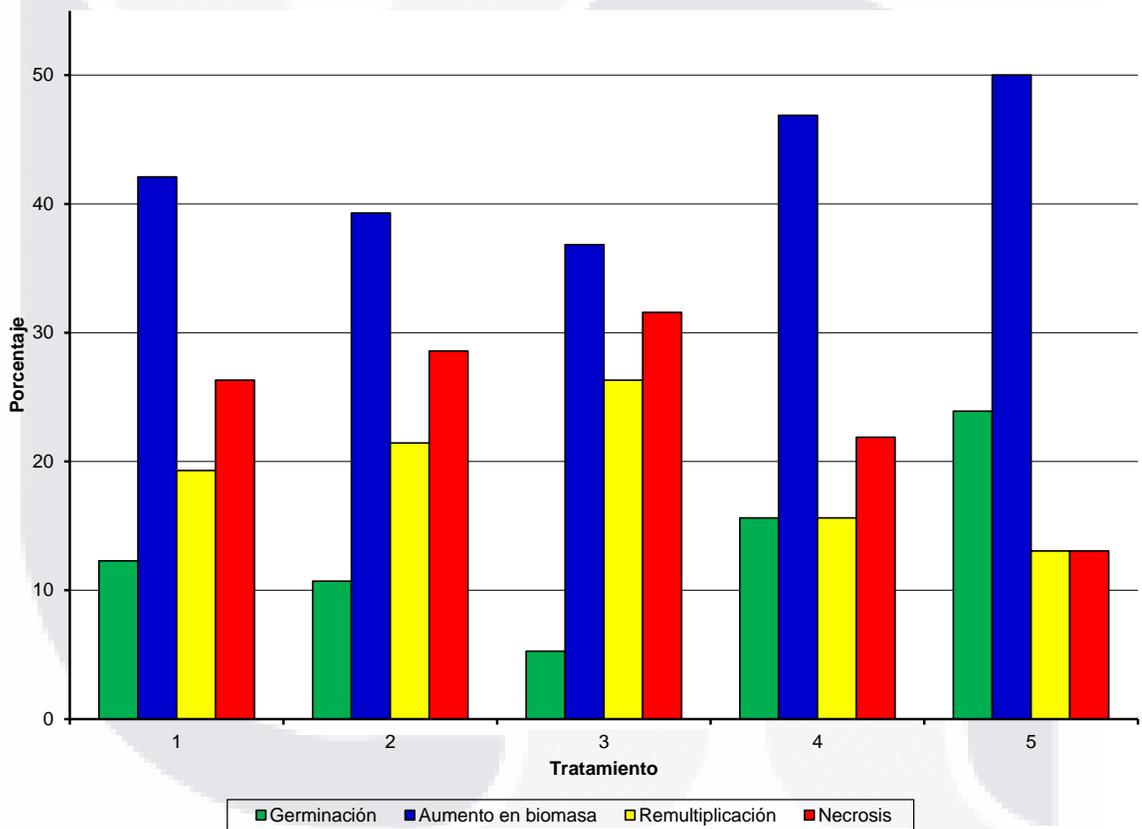
(h)

(a) Proembriones; (b) etapa corazón; (c) etapa torpedo; (d) etapa cotiledonaria I; (e) etapa cotiledonaria II; (f) ES maduro; (g) inicio de la germinación; y (h) desarrollo radical.

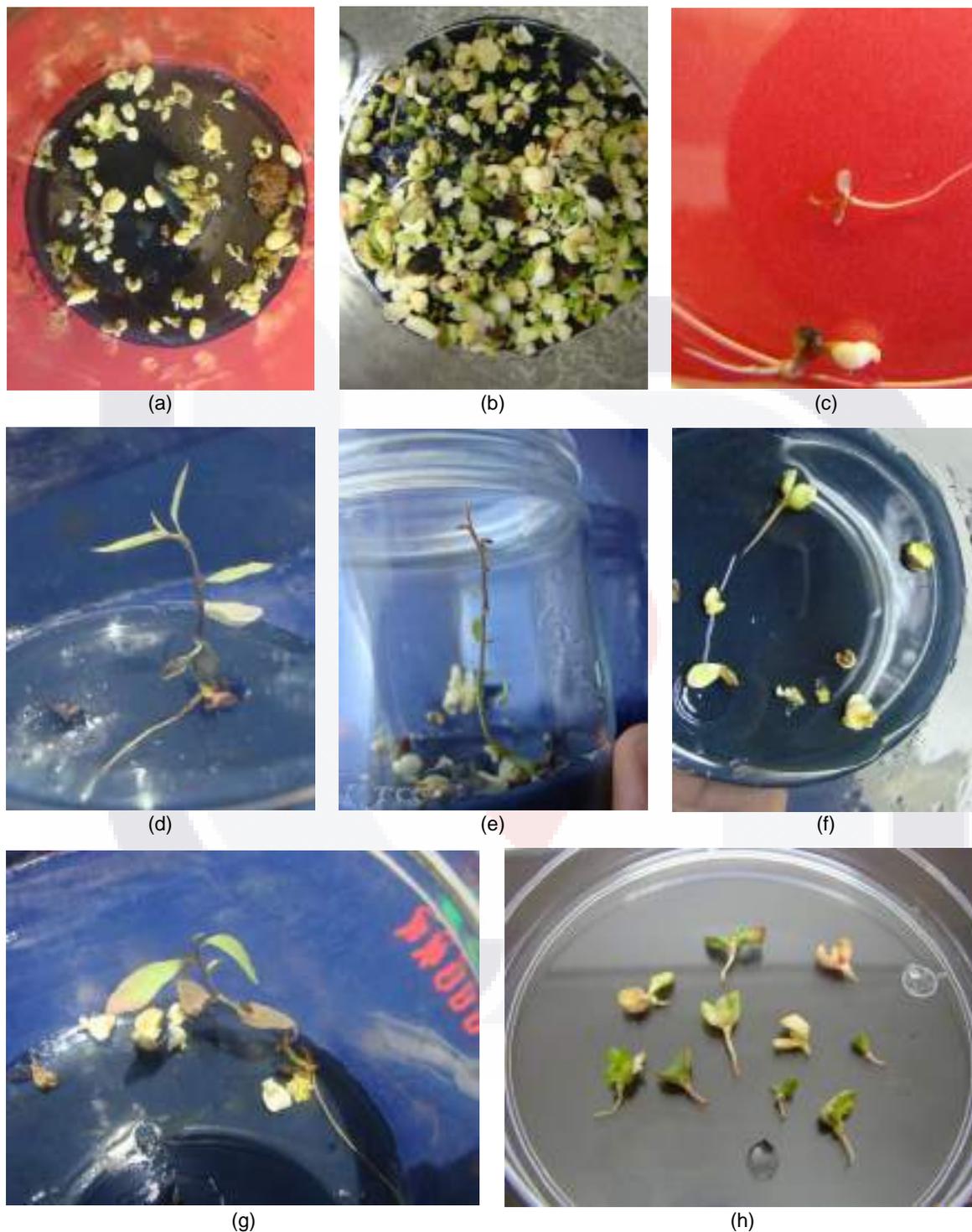
### 8.2.5. Germinación de embriones somáticos

Los tratamientos de germinación de los embriones somáticos desarrollaron cuatro respuestas diferentes: germinación, aumento en biomasa, remultiplicación o necrosis. En la Figura 37 se presentan los resultados obtenidos en los experimentos de germinación de embriones somáticos. Pudimos observar que la presencia de carbón activado favorece el proceso de germinación de los ES ya que a mayor concentración respuesta más homogénea. De la misma manera apreciamos que el aumento en la concentración de agar originó algunas alteraciones en el fenotipo de la plántula como el desarrollo de hojas pequeñas (Figura 38)

Figura 37. Resultados de la germinación de los embriones somáticos



**Figura 38. Germinación de embriones somáticos**



(a) y (b) ES al inicio de la germinación; (c) ES con ambos polos desarrollados; (d) plántula lista para su aclimatación y adaptación a suelo; (e) plántula germinada con el tratamiento 4; (f) y (g) vista de las diferentes respuestas observadas en los experimentos de germinación; (h) ES germinados en el tratamiento 5.

## 9. Discusión

### 9.1. Aspecto ecológico

Se confirmó la distribución de laurel en 14 localidades en Aguascalientes. Al igual que otras especies de la familia Lauraceae (Sri-Gernyuang *et al.*, 2003), *L. glaucescens* muestra una estrecha relación ecológica con especies del género *Quercus*, por lo que en los sitios en que el bosque de encino presenta síntomas de disturbio, los ejemplares de *L. glaucescens* se vuelven más escasos o incluso desaparecen. En particular en Aguascalientes la asociación vegetal más importante de *L. glaucescens* se establece con *Q. rugosa* llegando incluso a hacerse notorio en todas las localidades que la mayoría de ejemplares de laurel crecen al pie o cercanos al tronco de ejemplares de este encino, lo cual puede deberse a que además de que lo utilizan como planta nodriza, quizás compartan micorrizas. Otra posibilidad es la consistencia que le da este encino al suelo gracias a la hojarasca que produce y deposita en el suelo, misma que es de lento reciclamiento, lo que es evidente por el nivel de acumulación detectado en las localidades, condición que le confiere al suelo de un pH relativamente neutro. Esto es contrario a lo que señala la literatura ya que el suelo con alto contenido de materia orgánica generalmente es un suelo húmedo que presenta un pH ácido debido a la oxidación de la misma, condición que permite la liberación de compuestos ácidos durante su descomposición (Bot & Benitez, 2005; Ritchie & Dolling, 1985; Oades, 1984). Las observaciones en campo indican que la distribución de *L. glaucescens* depende de la disponibilidad de materia orgánica en el suelo, lo que puede sugerir que una vez que caen al suelo las semillas son atrapadas entre la hojarasca, y que el contenido de humedad y la temperatura promedio que esta última le provea a la semilla representa un microambiente ideal para su germinación.

En general, se observó que la distribución de *L. glaucescens* es discontinua en varias de las localidades analizadas y que su abundancia es mayor en el sotobosque. La discontinuidad es un fenómeno normal en las especies que presentan amplia distribución, lo cual es un reflejo de la diversidad geológica y de la distribución irregular de los elementos edafológicos (Rzedowski y Calderón, 1998; Brown *et al.*, 2002), lo que es particularmente evidente en especies endémicas o con requerimientos de hábitat muy específicos (Casazza *et al.*, 2005). Sin embargo, esta discontinuidad también puede ser como consecuencia de la fragmentación del hábitat, dado que este es un proceso por el cual una superficie extensa y continua queda reducida en área, y dividida en dos o más parches de hábitat separados por una matriz de paisaje altamente modificado o degradado; se ha documentado que la discontinuidad se ve incrementada al fragmentar las poblaciones naturales (Williams 2002; Rowden *et al.*, 2004).

Las estadísticas climatológicas fueron tomadas de las estaciones meteorológicas más cercanas a las localidades bajo estudio a pesar de que en algunos casos éstas se ubican en regiones geográficas con diferente tipo de clima con respecto a la localidad de interés. Sin embargo, la información cartográfica nos indica que el régimen pluviométrico y de temperatura es similar en la zona de influencia de las estaciones meteorológicas y en las localidades de interés (Anexo 4) por lo cual consideramos válido tomar en cuenta la información climatológica registrada en tales estaciones. No obstante debemos resaltar que el curso normal del agua del entorno de una cañada la lleva siempre al interior de la misma. Por tal motivo la información climatológica puede ser engañosa debido a que el microclima existente en el interior de las cañadas suele ser diferente al que se presenta fuera de las mismas en virtud de que las características topográficas e hidrológicas funcionan como elemento que regulan temperatura, humedad relativa e iluminación dentro de la cañada.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

No obstante que el tipo de suelo difiere entre las localidades se observó que las características del mismo son muy similares entre ellas siendo la cantidad de materia orgánica el elemento más constante. Esto podría ser debido a que las plantas que se desarrollan en un determinado lugar llegan a modificar las características del mismo para adaptarlo a sus necesidades particulares (Riha, 1986) y si se toma en cuenta que las especies vegetales clave que se desarrollan en estos sitios son las mismas no es de extrañar que los análisis de suelo practicados no presenten diferencias significativas entre muestras.

Otro elemento abiótico constante en las localidades donde habita *L. glaucescens* es la presencia de un cauce activo lo cual puede indicarnos que esta especie tiene altos requerimientos de humedad para su establecimiento y sobrevivencia, algo que puede ser corroborado por el tipo de roca madre presente en el área ya que se ha reportado que ésta posee una alta capacidad de retención de agua debido a su alta porosidad (INEGI, 1998).

Al igual que en otras especies de la familia Lauraceae (Sri-Ngernyuang *et al.*, 2003), aparentemente el factor abiótico más relevante que define el hábitat del laurel directa o indirectamente es la topografía; en este estudio observamos que todas las localidades encontradas se localizan en el fondo de cañadas con cauces activos. Esto es importante ya que entre los factores microclimáticos que dependen de la topografía se encuentran la temperatura y humedad del suelo (Tateno & Takeda, 2005), además de la disponibilidad y distribución de nutrientes (John *et al.*, 2007). Los ciclos climáticos de temperatura y humedad bajo los que se desarrolla esta especie, además de su persistencia como elemento del sotobosque, señalan que es una especie muy vulnerable a altos niveles de iluminación, altas y bajas temperaturas y a la sequía, algo que es confirmado por su permanencia en el fondo de cañadas cercana a escurrimientos de agua o arroyos en donde el ambiente es más cálido y húmedo.

Sólo se encontraron ejemplares de *L. glaucescens* en altitudes que van desde los 1980 a los 2520 msnm. La población en mejor estado general, y en la que se encontró la más alta densidad (850 individuos/ha), fue Barranca Obscura (también llamada Boca Obscura), localizada en la llamada Sierra del Laurel. En una situación menos favorable, se encontraron las poblaciones existentes en las barrancas El Pilar y Piletas, en la llamada Sierra Fría, las cuales mostraron muy bajas densidades de la especie (7 y 4 individuos/ha, respectivamente). La razón de esto podría ser el que se encuentran en el límite altitudinal superior del rango de distribución de *L. glaucescens* (van der Werff y Lorea, 1997), por lo que se desarrollan bajo condiciones climáticas menos favorables (Aguirre *et al.*, 2003), escenario que hace a la especie más vulnerable a la explotación. Las otras poblaciones estudiadas, tanto en la Sierra Fría, como en la Sierra del Laurel, se encuentran en una situación intermedia con respecto a las antes mencionadas.

La localidad de Barranca El Palmito, localizada en la base de la cortina de la Presa Presidente Calles, muestra condiciones del entorno atípicas para la especie. Este es un caso particular ya que aparentemente no conforman una población natural como tal. Probablemente estos ejemplares fueron plantados por los habitantes de la cabecera municipal de San José de Gracia, adyacente a la barranca, ya que cuando se construyó la cortina de la Presa Presidente Calles (1928) la zona fue deforestada por completo para permitir los trabajos de la obra civil, por lo cual pensamos que no conforman una población natural como tal.

Se detectaron señales claras de explotación del recurso en todas las localidades estudiadas, independientemente del régimen de propiedad de la tierra del que se tratara. Esto indica que su estatus como especie en peligro de extinción, y por lo tanto, la condición ilegal de su explotación, no detienen este fenómeno. Se pudo constatar que la

accesibilidad a las localidades y el régimen de tenencia de la tierra son los factores que inciden directamente sobre los niveles de extracción, lo que coincide con lo reportado por Castillo *et al.*, (2007). En el estudio, las localidades de fácil acceso con *L. glaucescens* presentaron un mayor grado de explotación. La extracción de ramas, hojas o individuos se realiza principalmente en terrenos donde la vigilancia o la restricción para el acceso son mínimas, como es el caso de la Barranca Río Blanco, única localidad que presentó diferencias significativas en cobertura vegetal antes y después de la colecta de Semana Santa. La extracción en propiedad de régimen privado fue significativamente menor comparada con propiedades de derecho de vía o ejidal. La razón de esto puede ser que los propietarios utilizan al laurel sólo con fines de autoconsumo y no para la comercialización  $\%$ , a la dificultad de ingresar a la propiedad privada por parte del público en general.

Se observó que los tejidos preferidos por quienes realizan la extracción son los extremos apicales de las ramas, en los cuales se desarrollan los meristemos florales en esta especie, lo que limita en gran medida la producción de flores y evita el incremento de talla de la planta. El período de mayor extracción en la entidad coincide con la principal época de floración del laurel. Esto explica la razón por la que el reclutamiento sexual sea muy escaso o nulo en las localidades con mayor extracción. Además, la evidencia observada en campo indica que a consecuencia de la explotación a que se ve sometida esta especie los ejemplares presentan un fenotipo alterado ya que en lugar de presentar la morfología típica de un arbusto, se llegan a desarrollar en forma de matorrales con clonas de hasta 30 m<sup>2</sup> de superficie, pero talla escasa agrupadas en torno a un mismo sistema radical, estrategia que si bien permite la sobrevivencia de estos ejemplares no favorece su reproducción sexual en virtud de que sólo las plantas que poseen al menos 90 cm de altura producen flores y semillas, por lo cual estas clonas solo están acumulando edad ontológica pero no altura y por lo tanto no están contribuyendo al reclutamiento sexual. En las localidades en donde la extracción es moderada o escasa están representadas todas las etapas ontológicas, condición que permite que los ejemplares ganen talla y edad lo que les permite contar con una mayor biomasa en la edad reproductiva y por ende producir una mayor cantidad de semillas, lo que se ve reflejado en un reclutamiento sexual más abundante.

Además de la explotación a la que se ve sometida *L. glaucescens* en los sitios de distribución, el deterioro del bosque de encino en algunas de las localidades, como consecuencia de la extracción de madera, está siendo otro factor que está incidiendo en el proceso de erradicación de esta importante especie forestal.

Una especie con tamaños poblacionales pequeños  $\%$ , tamaños efectivos bajos es más susceptible a tener problemas genéticos a futuro, tales como endogamia o pérdida de alelos, poniendo en riesgo su adaptabilidad y sobrevivencia (Hartl & Clark, 2007), por lo que es necesario incrementar las medidas de protección de *L. glaucescens* en las localidades con mayor incidencia de extracción, o en su caso realizar actividades de restauración y conservación. Desafortunadamente, la situación antes descrita para el laurel silvestre no es un caso aislado, ya que existe evidencia que probablemente cerca de la mitad de las especies de la familia Lauraceae que habitan en México están bajo algún grado de amenaza (Lorea-Hernández, 2002). Especies asiáticas del mismo género enfrentan actualmente problemas similares, en este caso debidos a la pérdida y fragmentación de su hábitat. Esta es la situación de *Litsea szemaois*, endémica de Yunnan en China (Ci *et al.*, 2008).

La distribución sexual diferenciada de plantas de *L. glaucescens* a razón de cuatro plantas masculinas por cada planta femenina en las localidades puede estar contribuyendo a la variabilidad genética dentro de las poblaciones además de incrementar

la reproducción sexual, al igual que lo reportado en otras especies (Stehlik *et al.*, 2008), ya que una misma planta femenina puede recibir una mayor cantidad de polen con la ventaja de que ese polen puede originarse en diferentes plantas masculinas.

Por otro lado, el seguimiento de la producción de frutos permitió constatar que esta es una especie con frutos climatéricos, algo no reportado en la literatura y que permitió el obtener información en cuanto a su producción. Dadas sus características físicas suponemos que es fotosintético por lo cual parte de su llenado y desarrollo se debe en cierta medida a la actividad fotosintética que se lleva a cabo en el mismo fruto.

Fue evidente que el tamaño del fruto varía entre las localidades en donde fue posible la colecta y que a mayor altitud el fruto y la semilla es hasta 42% más grande que en las localidades que se desarrollan a menor altitud. Esto es importante para la sobrevivencia de las plántulas dado que una semilla más grande garantiza una mayor reserva de nutrientes para la plántula durante las primeras etapas del ciclo de vida, algo relevante si se considera que a mayor altitud las condiciones climáticas son más estresantes.

Tal parece que las plantas femeninas que tienen una producción abundante de frutos producirán pocas flores a final del verano por lo cual para el año venidero tendrán una menor producción de frutos y viceversa, con lo cual es de esperarse que la producción abundante de frutos en una planta madura se de cada dos años si las condiciones ambientales lo permiten. Creemos que esto puede deberse a que la aparición y desarrollo de los botones florales se da inmediatamente después de la maduración de frutos, por lo cual las plantas que destinan mucha energía y recursos nutricionales para dar lugar a una fructificación abundante dispondrán de poca energía para producir flores para el siguiente ciclo, por lo cual para el año siguiente es de esperarse una menor producción de frutos.

Las localidades de las barrancas El Abuelo, Masitas, Tinajuelas y Los Alamitos en San José de Gracia pertenecen a un único sistema topográfico conocido como “El Abuelo”, en donde se pudo constatar que el bosque de encino presenta fragmentación en los sitios más cercanos a las vías de acceso, esto debido a la extracción de madera y al cambio de uso de suelo a actividades ganaderas. Esto indica que los ejemplares existentes en estas barrancas pudieran ser parches, partes de una misma población fragmentada o con discontinuidad, los cuales están separados 718 m en línea recta en promedio.

En el caso de las localidades de las barrancas El Pilar, Piletas, Las Minas, Verde y las Cuatas, éstas se encuentran conectadas al mismo sistema topográfico pero para pasar de una localidad a otra es necesario pasar por la selva baja caducifolia, ambiente no favorable para la distribución del laurel, por lo cual pudiera tratarse de poblaciones independientes que pudieran intercambiar genotipos a través de la dispersión de semillas por parte de vertebrados ya que la distancia que separa una y otra en línea recta se encuentra en el rango de 1.75 Km en promedio.

Si bien la sobreposición de mapas e información climatológica permitió la modelación para la identificación de localidades con presencia de *L. glaucescens* ésta no es 100% confiable ya que no se cuenta con la información necesaria de la distribución de *Q. rugosa* en el estado. Sin embargo, esta modelación puede ser utilizada para detectar y completar el mapa de distribución de la especie en Aguascalientes además de permitir ubicar localidades potenciales para la introducción de ejemplares de esta especie.

## 9.2. Aspecto biotecnológico

El establecimiento de cultivos *in vitro* partiendo de extremos apicales colectados en campo fue llevado a cabo con dos colectas, una en Barranca Tinajuelas y otra en Barranca Masitas y no mostró resultados satisfactorios dada la alta contaminación que se presentó además de la necrosis de los tejidos como consecuencia del proceso de esterilización. Los altos niveles de contaminación pudieron ser un reflejo del período del año en que se llevó a cabo las colectas que fue precisamente al final de la época de lluvias, lo que concuerda con lo publicado por Sharma & Ramamurthy (2000). Por otro lado, los resultados del estudio ecológico nos permiten pensar que la colecta de los ápices infería daños en la planta madre e incidía en la producción de flores y semillas contribuyendo de esta manera al problema de extracción en esta especie, por lo cual se dejó de lado la experimentación con este tipo de tejido.

El establecimiento de cultivos *in vitro* a partir de semillas inmaduras no fue posible dado que todos los explantes se necrosaron en el 100% de los casos. Como previamente había sido reportado, esto pudo deberse a la misma fragilidad de estos tejidos además de que durante la eliminación de la testa se llegaba a causar daño físico en la semilla debido al tamaño del explante, condición que favoreció la liberación y eventual oxidación de compuestos fenólicos (Bunn, 2005).

Las semillas maduras mostraron los mejores índices de germinación y esterilización por lo cual se optó por seguir todo el desarrollo de la investigación con este tipo de tejido. La germinación de la semilla completa se llevó un tiempo considerable y se requirió de subcultivos para la obtención de las plántulas. La eliminación de la testa aceleró el proceso de germinación. Es importante señalar que el lote de semillas colectado durante la cosecha de 2009 mostró un alto grado de contaminación. Esto pudo deberse a que en ese año el período de lluvias se retrasó en el estado y las semillas fueron colectadas durante días con precipitación pluvial y alta humedad ambiental, lo cual pudo favorecer la incidencia de hongos y bacterias en los frutos (Sharma & Ramamurthy 2000).

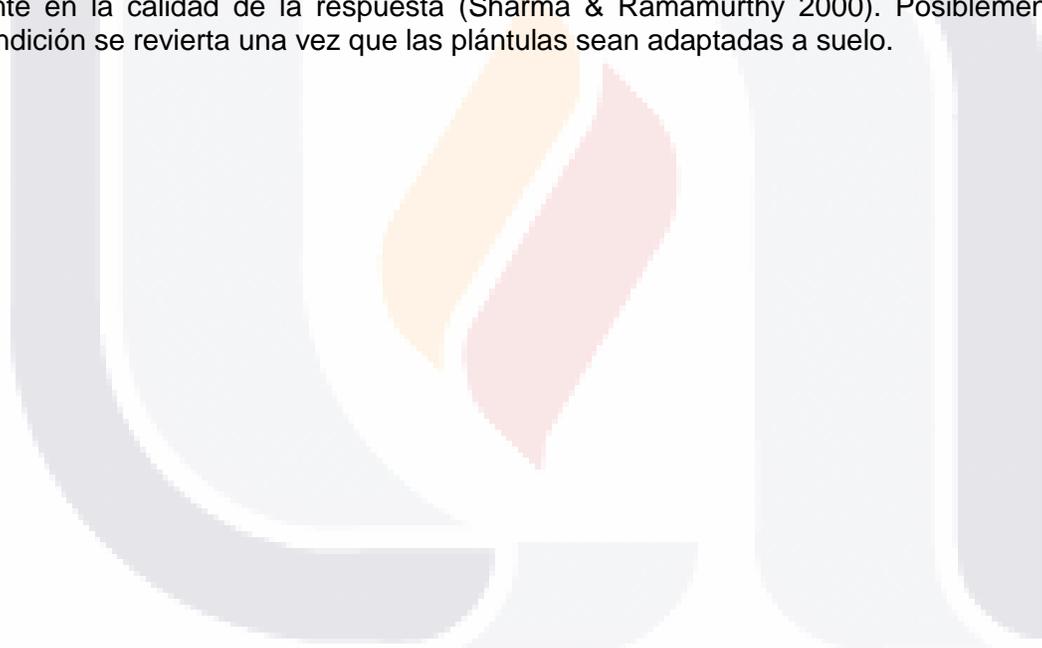
Al igual que lo reportado por Bunn (2005), la adición de auxinas en el medio de cultivo favoreció la brotación de los meristemos preexistentes. Sin embargo, la presencia de auxinas en el medio de brotación indujo la aparición de tejido calloso en la base del explante. Este tejido calloso era de naturaleza friable por lo que las raíces que se llegaron a desarrollar en él no garantizaban la sobrevivencia del brote dado que se ha reportado que generalmente no existe continuidad de los vasos basculares entre el brote y las raíces (Vasil, 1986). Además, al momento de la transferencia a medio basal este tejido se separaba del tejido materno y provocaba la oxidación con lo cual el brote terminaba necrosándose.

Contrariamente a lo reportado por Gomes & Canhoto (2003), el uso de medios diluidos al 50% para inducir el enraizamiento de los brotes no mostró resultados favorables ya que los explantes fueron incapaces en desarrollar raíces o se necrosaron posiblemente a causa del estrés osmótico al que se vieron sometidos, además de que la evidencia de campo indica que esta es una especie que requiere de medios enriquecidos en nutrientes. La adición de IBA al medio basal indujo el enraizamiento en una alta proporción de los brotes los cuales una vez que desarrollaban las raíces mostraban un crecimiento vigoroso con eficiencias similares a lo previamente reportado (Gupta *et al.*, 1983) pero inferior a los resultados obtenidos con otra especie del género *Litsea* (Mao *et al.*, 2000).

La embriogénesis somática fue lograda en todos los tratamientos evaluados con diferente eficiencia con resultados superiores a los previamente reportados para otras especies del grupo (Pinto *et al.*, 2002). Al igual que en otros trabajos publicados, la

inducción fue posible en medio basal adicionado con bajas concentraciones de citocininas (Prakash & Gurumurthi, 2005). Además, se logró la inducción de tejido caloso embriogénico aún en ausencia de RCV. Por otra parte, fue posible observar todas las etapas de desarrollo de los embriones somáticos. Los embriones somáticos no mostraron alteraciones fenotípicas visibles por lo cual se puede descartar la variación somaclonal en los cultivos. Esto puede deberse al hecho de que para la inducción se están utilizando concentraciones bajas de reguladores del crecimiento vegetal o se están omitiendo del medio de inducción.

Finalmente pudimos observar que la adición de carbón activado al medio de cultivo favorece el proceso de embriogénesis somática al estimular el desarrollo y germinación de los embriones somáticos diferenciados, lo que concuerda con el reporte previo de que la adición de carbón activado favorece la respuesta a los reguladores del crecimiento vegetal (Arezki *et. al.*, 2000; Prem *et. al.*, 2008). Por otro lado se logró que los embriones somáticos se desarrollaran aún en ausencia de tratamientos con RCV, algo diferente a lo logrado con otras especies (Prakash & Gurumurthi, 2005). Además fue evidente que el incremento en la concentración del agar como agente gelificante tiene un efecto directo en la calidad del embrión somático en desarrollo ya que induce la generación de hojas más pequeñas de lo normal, lo cual puede deberse a la influencia que puede tener el agente gelificante en la calidad de la respuesta (Sharma & Ramamurthy 2000). Posiblemente esta condición se revierta una vez que las plántulas sean adaptadas a suelo.



## 10. Conclusiones

### • Ecológicas

- Se detectó la presencia de *L. glaucescens* en 14 localidades de Aguascalientes, en densidades poblacionales que variaron entre 4 y 850 individuos/ha. Sin embargo, sólo hay una localidad en la que se encuentra una población que puede considerarse en buen estado (Barranca Obscura), y por lo tanto su conservación debe ser una prioridad.
- Entre los factores abióticos que más definen el hábitat del laurel se encuentran: las características del suelo en el que se desarrolla (alto contenido de materia orgánica y pH relativamente neutro lo que redundo en la mayor biodisponibilidad de nutrientes), la altitud y la topografía (definen el microclima húmedo y templado).
- La especie muestra una alta dependencia de la asociación vegetal que establece con *Q. rugosa*.
- La extracción de tejidos de esta especie en las poblaciones silvestres de Aguascalientes está influenciada por el régimen de propiedad del terreno, y por la accesibilidad a los sitios, de tal manera que los de propiedad comunal  $\frac{1}{3}$  de fácil acceso presentan los mayores síntomas de deterioro.
- La sobreexplotación está limitando en gran medida la capacidad reproductiva y de reclutamiento sexual en las poblaciones que más presión tienen, afectando su abundancia.
- En las localidades con mayor grado de extracción esta especie ha desarrollado como estrategia de sobrevivencia el proliferar como matorral lo que es un reflejo de su capacidad regenerativa.
- Existe una mayor proporción de ejemplares masculinos en las poblaciones a razón de 4 a 1 con respecto a los femeninos. Este permite una mayor variabilidad genética en la descendencia.
- La especie presenta frutos climatéricos.

### • Biotecnológicas

- El establecimiento de cultivos *in vitro* partiendo de ápices colectados en campo no es adecuado ya que se presentan problemas de contaminación severos.
- Bajas concentraciones de citocininas permiten un mejor desarrollo de los meristemos preexistentes.
- La adición de auxinas en bajas concentraciones favorece la proliferación de las yemas laterales pero también la generación de tejido calloso en la base del explante.
- La presencia de un sistema radical favorece el proceso de propagación *in vitro*.
- Es posible la obtención de callo embriogénico utilizando semillas maduras como explante.
- La presencia de BA y CIN en bajas concentraciones durante la germinación es capaz de inducir características embriogénicas en el embrión cigótico.
- El aumento en la concentración de agar en el medio de cultivo favorece la germinación de los embriones somáticos pero induce la aparición de alteraciones fenotípicas.
- La presencia de carbón activado en el medio de diferenciación de embriones somáticos favorece la expresión de la capacidad embriogénica al fomentar el desarrollo y germinación de los embriones somáticos.

- **General**

- Se generó información relevante de esta importante especie forestal, la cual puede ser utilizada para elaborar programas de manejo que favorezcan su preservación y uso razonado sin afectar a las poblaciones naturales.



## 11. Bibliografía

- Aguirre C. O. A., Jiménez P., Kramer J. H. & Akça A. (2003). Análisis estructural de ecosistemas forestales en el Cerro del Potosí, Nuevo León, México. *Ciencia UANL* 6(2): 219-225.
- Arruda S. C. C., Souza G. M., Almeida M. & Gonçalves A. N. (2000). Anatomical and biochemical characterization of the calcium effect on *Eucalyptus urophylla* callus morphogenesis *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 63: 143–154
- Arezki O., Boxus P., Kevers C. & Gaspar T. (2000). Hormonal Control of Proliferation in Meristematic Agglomerates of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* —Plant 36: 398–401
- Avendaño R. S. y Acosta R. I. (2006). Plantas utilizadas como cercas vivas en el Estado de Veracruz. *Madera y Bosques* 6: 55-71.
- Azmi A., Noin M., Landré P., Prouteau M., Boudet A. M. & Chriqui D. (1997), High frequency plant regeneration from *Eucalyptus globulus* Labill. hypocotyls: Ontogenesis and ploidy level of the regenerants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 51: 9–16
- Baltierra X. C., Montenegro G. & De García E. (2004). Ontogeny of *in Vitro* Rooting Processes in *Eucalyptus globulus*. *In Vitro Cell. Dev. Biol.*—Plant 40: 499–503
- Bot A. & Benites J. (2005). The importance of soil organic matter. Key to drought-resistant soil and sustained food production. *FAO Soils Bulletin* 80.
- Brown, A. D., Grau A., Lomáscolo T. y Gasparri I. (2002). Una estrategia de conservación para las selvas subtropicales de montaña (yungas) de Argentina. *ECOTROPICOS* 15(2): 147-159.
- Bunn E. (2005). Development of *in vitro* methods for *ex situ* conservation of *Eucalyptus impensa*, an endangered mallee from southwest Western Australia. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 83: 97–102
- Bunn E., Senaratna T., Sivasithamparam K. & Dixon K. W. (2005). *In Vitro* Propagation of *Eucalyptus phylacis* L. Johnson & K. Hill., A Critically Endangered Relict from Western Australia. *In Vitro Cell. Dev. Biol.*—Plant 41: 812–815
- Camou G., A., Reyes G., Martínez V. R. & Casas M. A. (2008). Knowledge and Use Value of Plant Species in a Rarámuri Community: A Gender Perspective for Conservation. *Human Ecology* 36: 259-272.
- Casazza, G., Barberis G. & Minuto L. (2005). Ecological characteristics and rarity of endemic plants of the Italian Maritime Alps. *Biological Conservation* 123: 361-371.
- Castillo S. M. A., Hellier A., Tipper R. & H. de Jong J. B. (2007). Carbon emissions from land-use change: an analyses of causal factors in Chiapas, Mexico. *Mitig Adapt Strat Glob Change* 12: 1213-1235.
- Celestino C., Hernández I., Carneros E., López-Vela D. y Toribio M. (2005). La embriogénesis somática como elemento central de la biotecnología forestal. *Investigación Agraria: Sistema de Recursos Forestales* 14(3): 345-357
- Ci, X., Chen J., Li Q. & Li J. (2008). AFLP and ISSR analysis reveals high genetic variation and inter-population differentiation in fragmented populations of the endangered *Litsea szemaonis* (Lauraceae) from Southwest China. *Plant Syst Evol.* 273: 237–246.
- Clark D. B., Clark D. A. & Read J. M. (1998). Edaphic variation and the mesoscale distribution of tree species in a neotropical rain forest. *Journal of Ecology* 86: 101–112
- Cleveland C. C. & Townsend A. R. (2006). Nutrient additions to a tropical rain forest drive substantial soil carbon dioxide losses to the atmosphere. *The National Academy of Sciences of the USA* 103 (27): 10316–10321
- Comita L.S., Condit R. & Hubbell S.P. (2007). Developmental changes in habitat associations of tropical trees. *Journal of Ecology* 95: 482–492
- Dalberg-Poulsen A., Tuomisto H. & Balslev H. (2006). Edaphic and Floristic Variation within a 1-ha Plot of Lowland Amazonian Rain Forest. *BIOTROPICA* 38(4): 468–478
- Daufresne T. & Hedin L.O. (2005). Plant coexistence depends on ecosystem nutrient cycles: Extension of the resource–ratio theory. *The National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (26): 9212–9217

- Daws M.I., Pearson T.R.H., Burslem D.F.R.P., Mullins C.E. & Dalling J.W. (2005). Effects of topographic position, leaf litter and seed size on seedling demography in a semi-deciduous tropical forest in Panama. *Plant Ecology* 179: 93–105
- Debergh P.C. & Zimmerman R.H. (1991) *Micropropagation: Technology and Application*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 469 pp.
- Díaz-Gallegos J.R., Castillo-Acosta O. y García-Gil G. (2002). Distribución espacial y estructura arbórea de la selva baja subperennifolia en un ejido de la Reserva de la Biósfera de Calakmul, Campeche, México. *Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Universidad y Ciencia* 18(35): 11-28.
- Duran-Vila N., Ortega Y. & Navarro L. (1989). Morphogenesis and tissue cultures of three citrus species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 16: 123–133
- Duran-Vila N., Gogorcena Y., Ortega V., Ortiz J. & Navarro L. (1992) Morphogenesis and tissue culture of sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osb.): Effect of temperature and photosynthetic radiation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 29: 11–18
- Gaitán J.J., Peñón E.A. y Costa M.C. (2005). Distribución de raíces finas de *Eucalyptus globulus* spp. Maidenii y su relación con algunas propiedades del suelo. *Ciencia Florestal* 15 (01): 33–41
- Gallego-Fernández J.B. (2004). Factores que condicionan el espectro de distribución del matorral mediterráneo de la Sierra de Grazalema, Sur de España. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 61 (01): 73-80
- Gibbons J.M. & Newbery D.M. (2002). Drought avoidance and the effect of local topography on trees in the understorey of Bornean lowland rain forest. *Plant Ecology* 164: 1–18
- Goh C.J., Sim G.E., Morales C.L. & Loh C.S. (1995). Plantlet regeneration through different morphogenic pathways in pommelo tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 43: 301–303
- Gomes F. & Canhoto J. M. (2003). Micropropagation of *Eucalyptus nitens* Maiden (shining gum). In *Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant* 39: 316–321
- González-Costilla O., J. Jiménez de Azcárate J. García-Pérez y Aguirre-Rivera J.R. (2007). Flora Vascular de la Sierra de Catorce y Territorios Adyacentes, San Luis Potosí, México. *Acta Botánica Mexicana* 78: 1-38.
- Gupta P. K., Mehta U. J. & Mascarenhas A. F. (1983), A Tissue Culture Method for Rapid Clonal Propagation of Mature Trees of *Eucalyptus torelliana* and *Eucalyptus camaldulensis*. *Plant Cell Reports* 2:296-299
- Granados S. D., López G. F., R. y Hernández G. M. A. (2007). Ecología y Silvicultura en bosques templados. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 13(1): 67-83.
- Grossnickle S. C. & Sutton B. C. S. (1999). Applications of biotechnology for forest regeneration. *New Forests* 17: 213–226.
- Hartl, D. L. & A. G. Clark. (2007). *Principles of population genetics*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. USA. 652 p.
- Hirayama K. & Sakimoto M. (2003). Spatial distribution of canopy and subcanopy species along a sloping topography in a cool-temperate conifer-hardwood forest in the snowy region of Japan. *Ecological Research* 18 (4): 443-454
- Huerta-Martínez F.M. y García-Moya E. (2004). Diversidad de especies perennes y su relación con el ambiente en un área semiárida del centro de México: implicaciones para la conservación. *Interciencia* 29 (08): 435–441
- INEGI, 1998. Base de Datos Geográficos: Diccionario de datos de la carta edafológica 1:50,000.
- INEGI, 2008. Anuario Estadístico del Estado de Aguascalientes, Edición 2008.
- INEGI, 2009. Anuario Estadístico del Estado de Aguascalientes, Edición 2009.
- John R., Dalling J.W., Harms K.E., Yavitt J.B., Stallard R.F., Mirabello M., Hubbell S.P., Valencia R., Navarrete H., Vallejo M. & Foster R.B. (2007). Soil nutrients influence spatial distributions of tropical tree species. *The National Academy of Sciences of the USA* 104 (3): 864–869
- Kubota Y., Murata H. & Kikuzawa K. (2004). Effects of topographic heterogeneity on tree species richness and stand dynamics in a subtropical forest in Okinawa Island, southern Japan. *Journal of Ecology* 92: 230–240

- Ibañez J. J. (2007). Biodisponibilidad de los Nutrientes por las Plantas, pH del Suelo y el Complejo de Cambio o Absorbente. <http://www.madrimasd.org/blogs/universo/2007/05/09/65262> (fecha de acceso 15/03/2008).
- Laine E. & David A. (1994), Regeneration of plants from leaf explants of micropropagated clonal *Eucalyptus grandis*. Plant Cell Reports 13: 473-476
- Lorea-Hernández F.G. (2002). La Familia Lauraceae en el Sur de México: Diversidad, Distribución y Estado de Conservación. Boletín de la Sociedad Botánica de México 71: 59-70.
- Luna-Vega M. I. (2003). *Litsea glaucescens*. Taxones del bosque mesófilo de montaña de la Sierra Madre Oriental incluidos en la norma oficial mexicana. Herbario FCME, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto W025. México. D.F.
- Maltez-Mouro S., García L. V., Marañón T. & Freitas H. (2005). The combined role of topography and overstorey tree composition in promoting edáficas and floristic variation in a Mediterranean forest. Ecol Res 20: 668–677
- Mao A. A., Wetten A., Fay M. F., Caligari P. D. S. (2000). *In vitro* propagation of *Litsea cubeba* (Lours.) Pers., a multipurpose tree. Plant Cell Reports 19: 263–267
- Mittermeier R. y Goettsch C. (1992). La importancia de la diversidad biológica de México. En: Sarukhán J. y Dirzo R. (comps.). México ante los retos de la biodiversidad. Conabio. México
- Montañez-Armenta, M. P., 2006. Proceso de organización social para el aprovechamiento del Laurel Silvestre (*Litsea glaucescens*) en la Sierra del Laurel, Aguascalientes. Tesis Maestría en Ciencias. Instituto en Socioeconomía, Estadística e Informática, Desarrollo Rural. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. México. 110 p.
- Namasivayam P. (2007). Acquisition of embryogenic competence during somatic embryogenesis. Plant Cell Tiss Organ Cult 90: 1–8
- Newton, A. C. (2007). Biodiversity Loss and Conservation in Fragmented Forest Landscapes. The forests of Montane Mexico and Temperate South America. CABI, Cambridge. 411 p.
- Nugent G., Stephen F., Chandler F., Whiteman P. & Stevenson T. W. (2001). Adventitious bud induction in *Eucalyptus globulus* Labill. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 37: 388-391.
- Oades J. M. (1984), Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. Plant and Soil 76 (1-3): 319-337
- Ochoa-Alejo N. (1991) Cultivo de tejidos vegetales. En: Introducción a la Biología Molecular e Ingeniería Genética de Plantas, Rivera R., Torres-Pacheco I., Garzón-Tiznado J. A., Herrera-Estrella L. (Eds.). SARH, CINVESTAV, INIFAP, Celaya, Mexico: 29-43.
- Paoli G. D., Curran L. M. & Zak D. R. (2006). Soil nutrients and beta diversity in the Bornean Dipterocarpaceae: evidence for niche partitioning by tropical rain forest trees. Journal of Ecology 94: 157–170
- Pérez-Molphe-Balch E. & Ochoa-Alejo N. (1997) *In vitro* plant regeneration of mexican lime and mandarin by direct organogenesis. Hortscience 32(5): 931–934
- Pérez-Molphe-Balch E., Ramírez-Malagón R., Núñez-Palenius H. & Ochoa-Alejo N. (1999) Introducción al Cultivo de Tejidos Vegetales. UAA, Aguascalientes, México
- Pinto G., Santos C., Neves L. & Araújo C. (2002). Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Eucalyptus globulus* Labill. Plant Cell Rep 21: 208–213
- Poorter L. & Arets E. J. M. M. (2003). Light environment and tree strategies in a Bolivian tropical moist forest: an evaluation of the light partitioning hypothesis. Plant Ecology 166: 295–306
- Potrony-Hechavarría M. E. y Motito-Marín A. (2001). Composición y afinidades geográficas de los musgos de la Sierra Maestra en Cuba. Foresta Veracruzana 3 (002): 13–18
- Prakash M. G. & Gurumurthi K. (2005). Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Eucalyptus tereticornis* Sm. Current Science 88 (8): 1311-1316
- Prem D., Gupta K., Sarkar G., Agnihotri A. (2008). Activated charcoal induced high frequency microspore embryogenesis and efficient doubled haploid production in *Brassica juncea*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 93:269–282
- Reich P. B. & Oleksyn J. (2004). Global patterns of plant leaf N and P in relation to temperature and latitude. The National Academy of Sciences of the USA 101 (30): 11001–11006
- Ricketts T. H., Dinerstein E., Boucher T., Brooks T. M., Butchart S. H. M., Hoffmann M., Lamoreux J. F., Morrison J., Parr M., Pilgrim J. D., Rodrigues A. S. L., Sechrest W., Wallace G. E., Berlin

- K., Bielby J., Burgess N. D., Church D. R., Cox N., Knox D., Loucks C., Luck G. W., Master L. L., Moore R., Naidoo R., Ridgely R., Schatz G. E., Shire G., Strand H., Wettengel W., & Wikramanayake E. (2005). Pinpointing and preventing imminent extinctions. *PNAS* vol. 102, no. 51: 18497–18501
- Ridley M. (1996), *Evolution* 2nd Edition. Blackwell Science, Australia
- Riha S. J., James B. R., Senesac G. P. & Pallant E. (1986) Spatial Variability of Soil pH and Organic Matter in Forest Plantations. *Soil Sci Soc Am J* 50:1347-1352
- Ritchie G. S. P. & Dolling P. J. (1985). The role of organic matter in soil acidification. *Australian Journal of Soil Research* 23(4) 569 - 576
- Rowden A., Robertson A., Allnutt T., Heredia S., Williams L.G. y Newton A.C. (2004). Conservation genetics of Mexican beech, *Fagus grandifolia* var. *Mexicana*. *Conservation Genetics* 5: 475–484.
- Rzedowski J., y Calderón de R. G. (1998). Dos especies de *Ambrosia* (Compositae, Heliantheae) adventicias en el centro de México. *Acta Botánica Mexicana* 43: 57-66.
- SEMARNAT, 2006. <http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/LitseaGlaucescens.html>, (fecha de acceso 09/03/2006).
- Schroeder, C. A., 1990. Useful Fruits of Avocado Relatives. California Avocado Society 1990 Yearbook 74: 243-245.
- Secretaría de Gobernación (SEGOB), 2010. Diario Oficial de la Federación. 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 Segunda Sección, Jueves 30 de diciembre de 2010.
- Sharma S. K. & Ramamurthy V. (2000). Micropropagation of 4-year-old elite *Eucalyptus tereticornis* trees. *Plant Cell Reports* 19:511–518
- Sri-Ngernyuang K., Kanzaki M., Mizuno T., Noguchi H., Teejuntuk S., Sungpalee C., Hara M., Yamakura T., Sahunalu P., Dhanmanonda P. & Bunyavejchewin S. (2003). Habitat differentiation of Lauraceae species in a tropical lower montane forest in northern Thailand. *Ecological Research* 18: 1-14.
- Soethe N., Lehmann J. & Engels C. (2006). The vertical pattern of rooting and nutrient uptake at different altitudes of a south Ecuadorian mountain forest. *Plant Soil* 286:287–299
- Stehlik I., Friedman J. & Barrett S. C. H. (2008). Environmental influence on primary sex ratio in a dioecious plant. *PNAS* 105 (31): 10847–10852
- Subbaiah M. M. & Minocha S. C. (1990). Shoot regeneration from stem and leaf callus of *Eucalyptus tereticornis*. *Plant Cell Reports* 9:370-373
- Tateno R. & Takeda H. (2003). Forest structure and tree species distribution in relation to topography-mediated heterogeneity of soil nitrogen and light at the forest floor. *Ecological Research* 18: 559–571
- Tateno R., Aikawa T. & Takeda H. (2005). Leaf-fall phenology along a topography-mediated environmental gradient in a cool–temperate deciduous broad-leaved forest in Japan. *Journal Forestry Research* 10: 269–274
- Tejeda G., C., Zamora M. M. C. & Sánchez R. L. (2000). Nonwood forest products in Mexico: Current status and perspectives. En: North American Forestry Commission. Proceedings of the Forest Products Study Group Workshop. Forest Products Society- USDA Forest Service. pp. 35-50.
- Tokuchi N., Takeda H., Yoshida K. & Iwatsubo G. (1999). Topographical variations in a plant-soil system along a slope on Mt Ryuoh, Japan. *Ecological Research* 14: 361-369
- Trindade H. & Pais M. S. (2003) Meristematic nodule culture: a new pathway for *in vitro* propagation of *Eucalyptus globulus*. *Trees* 17: 308–315
- Tuomisto H., Ruokolainen K., Kalliola R., Linna A., Danjoy W. & Rodriguez Z. (1995), Dissecting Amazonian Biodiversity. *Science* 269 (7): 63–66
- Tuomisto H., Ruokolainen K., Dalberg-Poulsen A. & Moran R. C. (2002). Distribution and Diversity of Pteridophytes and Melastomataceae along Edaphic Gradients in Yasuni National Park, Ecuadorian Amazonia'. *Biotropica* 34(4): 516–533

- Tuomisto H. (2006). Edaphic niche differentiation among *Polybotrya* ferns in western Amazonia: implications for coexistence and speciation. *Ecography* 29: 273–284
- Van der Werff H., & Loerea F. (1997). Flora del Bajío y de Regiones adyacentes: Familia Lauraceae. Instituto de Ecología A.C., Fascículo 56: 25-31.
- Vargas-Rodríguez Y. L., Vázquez-García J. A. & Williamson G. B. (2005). Environmental correlates of tree and seedling–sapling distributions in a Mexican tropical dry forest. *Plant Ecology* 180: 117–134
- Vasil, IK (1986), *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*, Vol 3. Advisory Board, Academic Press, Inc. USA.
- Waizel-Bucay J. (2006). Plantas con utilidad en las diferentes terapéuticas. *In: Waizel-Bucay, J. (Editor). Las Plantas Medicinales y las Ciencias. Instituto Politécnico Nacional, México. pp. 321-344.*
- Webb C. O. & Peart D. R. (2000). Habitat associations of trees and seedlings in a Bornean rain forest. *Journal of Ecology* (88): 464–478
- Widyatmoko D. & Burgman M. A. (2006). Influences of edaphic factors on the distribution and abundance of a rare palm (*Cyrtostachys renda*) in a peat swamp forest in eastern Sumatra, Indonesia. *Austral Ecology* 31, 964–974
- Wilcke W., Yasin S., Abramowski U., Valarezo C. & Zech W. (2002). Nutrient storage and turnover in organic layers under tropical mountain rain forest in Ecuador. *European Journal of Soil Science* 53, 15-27
- Williams L., G., 2002. Tree species richness complementarity, disturbance and fragmentation in a Mexican tropical montane cloud forest. *Biodiversity and Conservation* 11: 1825–1843.
- Wood T. E., Lawrence D. & Clark D. A. (2005). Variation in leaf litter nutrients of a Costa Rican rain forest is related to precipitation, *Biogeochemistry* 73: 417–437
- Wood T. E., Lawrence D. & Clark D. A. (2006). Determinants of Leaf Litter Nutrient Cycling in a Tropical Rain Forest: Soil Fertility Versus Topography. *Ecosystems* 9: 700–710
- Zavala-Hurtado J. A. & Valverde P. L. (2003). Habitat restriction in *Mammillaria pectinifera*, a threatened endemic Mexican cactus. *Journal of Vegetation Science* 14: 891–898

## 12. Glosario

**Cañada.** Del lat. *canna*, caña. Espacio de tierra entre dos alturas poco distantes entre sí.

**Barranco.** De origen incierto, quizá prerromano. Despeñadero, precipicio. Quebra profunda producida en la tierra por las corrientes de las aguas o por otras causas. Borde en pendiente de un terreno.

**Unidad litológica.** Área caracterizada por la predominancia de algún tipo de roca.



### 13. Anexos

**Cuadro 17. Relación de anexos incluidos**

Anexo	Descripción
1	Registro de colectas de laurel silvestre del Herbario de la UAA
2	Base de datos de la información de la ubicación geográfica del total de ejemplares de <i>L. glaucescens</i> marcados durante el trabajo de campo de la presente investigación
3	Software MapSource 6.16.3 necesario para poder revisar el Anexo 2. Para mayor información consultar: <a href="http://www.garmin.com">http://www.garmin.com</a>
4	Ubicación de los sitios de interés en la Cartografía Estatal
5	Ubicación de los sitios de interés en la Cartografía Regional
6	Cartografía topográfica de los sitios de interés
7	Modelos 3D de las localidades con <i>Litsea glaucescens</i> sin red hidrológica
8	Modelos 3D de las localidades con <i>Litsea glaucescens</i> con red hidrológica
9	Imágenes satelitales de los sitios de interés

Para consultar los anexos ver disco incluido.