

Variabilidad intraespecie y efecto del nitrógeno sobre rendimiento de fruto seco en *Karwinskia parvifolia* Rose

Intraspecific variability and nitrogen effects on dry fruit yield in *Karwinskia parvifolia* Rose

Luján-Rangel R¹, E Olivares-Sáenz², RE Vázquez-Alvarado², L Garza-Ocañas¹,
O Torres-Alanís^{1(†)}, HJ Garza-Ulloa¹

Resumen. *Karwinskia parvifolia* Rose sintetiza una toxina (PA1) que tiene potencial como fármaco el tratamiento de algunos tipos de tumores. La variabilidad entre plantas y el efecto del nitrógeno fueron evaluados entre 16 plantas de *K. parvifolia* sobre el rendimiento de fruto seco. El experimento se realizó con un diseño cruzado, dos secuencias de tratamiento y dos ciclos de producción. Las variables estudiadas fueron: rendimiento de fruto seco (RFSP); peso de fruto seco (PFS) y peso de endocarpios secos (PHS) por planta. Los resultados indicaron que en el Ciclo 1, el grupo de plantas que recibió suplemento nitrogenado (CN) produjo rendimientos superiores al grupo que no recibió suplemento nitrogenado (SN). En este grupo de plantas, los cocientes CN/SN fueron 1,68 (RFSP); 1,43 (PFS) y 1,18 (PHS). En el Ciclo 2 los valores se invirtieron. Los cocientes CN/SN fueron 0,85 (RFSP); 0,82 (PFS) y 0,87 (PHS). Los rendimientos en la secuencia CN-SN, fueron superiores a los rendimientos en la secuencia SN-CN en ambos ciclos de producción. El análisis de varianza mostró efectos estadísticamente significativos de plantas y de ciclo de producción sobre RFSP; PFS y PHS, indicando la existencia de variabilidad entre las plantas de *K. parvifolia*.

Palabras clave: Peroxisomicina A1; *Karwinskia parvifolia*; *Karwinskia humboldtiana*; Estructuras secretorias; Domesticación.

Abstract. *Karwinskia parvifolia* Rose synthesizes a toxin (PA1), which might be used to treat some types of tumors. Variability from 16 plants of *K. parvifolia* and the effect of nitrogen was evaluated on its dry fruit yield. The experiment was carried out using a crossover design, two treatment sequences and two production cycles. Collected data were: dry fruit yield (DFY), dry fruit weight (DFW) and dry endocarp weight (DWE) per plant. During Cycle 1, the group of plants that received additional nitrogen (CN) produced higher yields than the group that received no additional nitrogen (SN). Ratios of CN/SN were 1.68 (DFY), 1.43 (DFW) and 1.18 (DWE). In Cycle 2, we obtained reversed values: ratios of CN/SN were 0.85 (DFY), 0.82 (DFW) and 0.87 (DWE). In both production cycles, yields were greater in the CN-SN than in the SN-CN sequences. Analysis of variance showed statistically significant effects of plants and production cycles on DFY, DFW and DWE. These results indicate the existence of variability among plants for fruit yield in the study species.

Keywords: Peroxisomicine A1; *Karwinskia parvifolia*; *Karwinskia humboldtiana*; Secretory structures; Domestication.

¹ Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, U. A. N. L., Av. Gonzalitos 235 Norte, Monterrey, N. L., C. P. 64460. México.

² Subdirección de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Agronomía, U.A.N.L., Carr. Zuazua-Marín, Km. 17.5, Marín, N. L. C.P. 66700. México.

Address Correspondence to: E. Olivares-Sáenz, e-mail emolivares@gmail.com; Rubén Luján-Rangel, e-mail rlujanran@yahoo.com, rlujan@fm.uanl.mx

Recibido / Received 4.X.2010. Aceptado / Accepted 25.VII.2011.

INTRODUCCIÓN

Las especies *Karwinskia humboldtiana* y *Karwinskia parvifolia*, son de particular interés en el área médica. Esto es debido a que diversos estudios sobre algunas toxinas sintetizadas por estas plantas, particularmente relacionados con peroxisomicina A1 (PA1), indican que algunos tipos de cáncer se podrían tratar con estos compuestos (Garza et al., 1992; Piñeyro et al., 1994; Piñeyro y Waksman, 2000; Gómez et al., 2005). Recientemente, Salazar et al. (2006) reportaron que PA1 posee actividad antimicrobiana.

Considerando el potencial farmacológico de PA1, está en curso la introducción y domesticación de *Karwinskia humboldtiana* y *Karwinskia parvifolia*. A las plantas del género *Karwinskia* se las clasifica como leñosas, nanófitas, entomógamas, multidendricales, no crasifolias, inermes, planifolias, simplicifolias, parvi y minimifolias, hojas no viscidas (Miranda, 1955, citado por Rzedowski, 1988). En estudios previos se ha observado que *K. humboldtiana* presenta apariencia fenotípica relativamente sana la mayor parte del año en plantas cultivadas bajo condiciones de riego; *K. parvifolia*, sin embargo, presenta buena apariencia fenotípica sólo en algunos meses del año, principalmente de junio a octubre. A fines del otoño esta especie disminuye su crecimiento vegetativo, y su apariencia se torna enfermiza durante los meses invernales (Luján, 1999). Henselová et al. (2004) trabajaron con el aislamiento de cloroplastos de especies del género *Karwinskia* bajo condiciones de cultivo *in vitro*, y reportaron mayor actividad en los cloroplastos de *K. humboldtiana* que en *K. parvifolia*. Esto contribuiría a explicar la intensa actividad fotosintética y el amplio rango de distribución geográfica de *K. humboldtiana*.

Además de la variabilidad genética en cantidad y calidad de la substancia de interés (Waksman et al., 1997; Luján, 1999), el ambiente es un factor que influye sobre la síntesis de PA1.

Hanáčková (1999) estudió diferentes partes de la planta y cuantificó mayores concentraciones de PA1 en testas+endocarpios que en exocarpios o embriones de *K. parvifolia*; esto se correlacionó con grandes cantidades de estructuras secretorias en la testa pero no en embriones. Dentro del fruto, las testas son el sitio de mayor contenido de toxinas (Natham, 1987; Hanáčková et al., 1997; Hanáčková, 1999), entre las cuales se encuentra PA1.

Luján (1999) reportó que el período de cosecha, riego y especie influyen sobre la concentración de PA1 en frutos de *K. humboldtiana* cultivadas en vivero. Masarovičová et al. (2000) reportaron que el suplemento de nitrógeno influyó significativamente sobre la concentración de PA1 en las hojas de *K. humboldtiana* y *K. parvifolia*. En otros cultivos es conocido que con el uso de fertilizantes se obtienen mayores rendimientos en la producción de campo, particularmente con el nitrógeno (Mengel et al., 2001).

Por otro lado, es muy importante la identificación de plantas de alto rendimiento en peso de fruto seco y/o síntesis de

PA1, combinado con prácticas agronómicas para incrementar la productividad en *K. parvifolia*, si la síntesis de PA1 es una cualidad genética en las especies del género *Karwinskia* y si se requieren aproximadamente diez kilogramos de endocarpios secos para la obtención de un gramo de PA1 purificada.

Como resultado, se evaluó el efecto del nitrógeno sobre la productividad de fruto seco en 16 plantas cultivadas de *K. parvifolia*. En una investigación relacionada, Luján et al. (2007) reportaron que el suplemento de sulfato de amonio influyó en los porcentajes de germinación para endocarpios de *K. parvifolia*.

Los objetivos de la investigación fueron: (1) identificar las plantas de *K. parvifolia* con alto rendimiento en base a peso de fruto seco, y (2) incrementar la productividad de fruto seco en *K. parvifolia* por medio de la aplicación de nitrógeno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar la variabilidad entre plantas y el efecto del nitrógeno sobre la productividad de fruto, se usó un diseño cruzado estándar 2x2 (dos secuencias de tratamientos y dos ciclos de producción) (Tabla 1).

Tabla 1. Diseño cruzado estándar 2x2 (dos secuencias y dos períodos).

Table 1. Crossover design 2x2 (two sequences, two periods).

n total	Asignación de plantas a cada secuencia de tratamientos		Ciclo de producción		
			1		2
16 plantas	Aleatorización	Grupo 1 (plantas: 1, 2, 3, 7, 10, 11, 14 y 15)	SN (Sin nitrógeno)	Período de descanso	CN (Con nitrógeno)
		Grupo 2 (plantas: 4, 5, 6, 8, 9, 12, 13, 16)	CN (Con nitrógeno)		SN (Sin nitrógeno)

Se utilizaron 16 plantas de *Karwinskia parvifolia*, cultivadas en vivero, las cuales fueron numeradas sucesivamente del 1 al 16.

Se formaron al azar dos grupos de 8 plantas cada uno. El Grupo 1 (plantas: 1, 2, 3, 7, 10, 11, 14 y 15) fue cultivado *sin nitrógeno* (SN) en el primer ciclo, y *con nitrógeno* (CN) en el segundo ciclo. El Grupo 2 (plantas: 4, 5, 6, 8, 9, 12, 13, 16) fue cultivado *con nitrógeno* (CN) y *sin nitrógeno* (SN), durante el primero y segundo ciclo, respectivamente (Tabla 1).

Como fertilizante nitrogenado se utilizó sulfato de amonio $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ a razón de 500 gramos de nitrógeno por árbol.

En ambos ciclos de producción, el fertilizante fue aplicado e incorporado en una zanja de 15 cm de ancho x 15 cm de profundidad dentro de la zona de goteo. Se efectuaron dos aplica-

ciones de fertilizante: 70% en la segunda quincena de diciembre (previo a la emisión de botón floral) y 30% en la segunda quincena de mayo (emisión de brotes vegetativos y botones florales en forma generalizada en la mayoría de las plantas).

Después de cada fertilización se aplicaron riegos en todas las plantas, y éstos se repitieron de manera constante cada tres semanas durante el experimento. También se (1) desmalezó, (2) rompió la costra del suelo (para una mejor circulación de aire), y (3) mantuvieron los arriates (que delimitan la zona de riego en cada planta) entre la aplicación de los riegos. Además, se obtuvieron los datos de precipitación pluvial (PP).

Toda planta que presentó madurez en la mayoría de sus frutos fue cosechada en su totalidad, incluyendo los frutos verdes. Todas las plantas fueron cosechadas durante los meses de septiembre a octubre en ambos ciclos de producción.

Se determinaron las siguientes variables: peso de 100 frutos secos (PFS); peso de 100 endocarpios secos (PHS); rendimiento de fruto fresco por planta (RFFP) y rendimiento de fruto seco por planta (RFSP).

Tanto la cosecha total, como las muestras, se colocaron a temperatura ambiente de laboratorio (22 a 24 °C) por un período de 30 días. Después de este período, se tomó el peso de 100 frutos secos (PFS); el peso de 100 endocarpios secos (PHS) y peso total de rendimiento de fruto seco por planta (RFSP). Este procedimiento se repitió en las 16 plantas durante los 2 ciclos de producción, con lo cual se completó la información de campo para un total de 32 datos por cada una de las variables: PFS, PHS, RFFP y RFSP.

Considerando la alta correlación entre la concentración de peroxisomicina A1 (PA1) y el PFS (Luján, 2008), se identificaron las plantas con mayor y menor peso de fruto seco, así como las plantas con valores intermedios. En esta investigación, que utilizó 16 plantas, se identificaron las 4 plantas que produjeron el mayor o menor PFS, y se las clasificó como plantas tipo Kp1 o Kp3, respectivamente. Las 8 plantas que produjeron valores intermedios de PFS se identificaron como Kp2.

Para el análisis de varianza se utilizó el programa Win-NonLin® 2.1. Se estableció un $\alpha = 0,05$ para indicar significancia estadística en el análisis de varianza.

RESULTADOS

La emisión de botón floral se presentó en las primeras 2 plantas durante el mes de marzo (plantas 4 y 8, las cuales fueron cosechadas en los meses de septiembre y octubre, respectivamente); en 12 plantas dicha fase fenológica se inició durante el mes de mayo (plantas 3, 5, 9, 10, 11, 13, 15 y 16, las cuales fueron cosechadas en el mes de septiembre, y plantas 2, 7, 12 y 14, las cuales se cosecharon en el mes de octubre). Las últimas 2 plantas alcanzaron el estadio de botón floral durante el mes de junio (plantas 6 y 1, las cuales se cosecharon en los meses de septiembre y octubre, respectivamente). Para el mes de julio se observó el reinicio de la floración en forma intensa,

la cual coincidió con el crecimiento y maduración de frutos en la misma planta. Esta nueva floración fue disminuyendo gradualmente hasta ser prácticamente nula la emisión de botón floral para el mes de octubre.

Hubo diferentes períodos de floración entre plantas. Las plantas 1, 6 y 7 tuvieron el período más corto en la emisión de botón floral, con una duración de 3 meses; en 9 plantas (2, 3, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14), el período de floración fue de 4 meses; en 3 plantas (8, 15, 16) dicho período fue de 5 meses, y 1 planta (4) prolongó su floración durante 6 meses.

En el mes de julio, se observaron frutos verdes en crecimiento, en proceso de maduración y completamente maduros (Fig. 1). Se observó además la emisión de botón floral (Fig. 1).



Fig. 1. Floración, polinización (entomófila), crecimiento y maduración de fruto en *Karwinskia parvifolia*. En la figura se observa una abeja polinizando una flor en el mes de julio.

Fig 1. Flowering, pollination (Insect), growth and ripening of *Karwinskia parvifolia* fruits. A bee pollinating a flower during July is shown.

El mesocarpio de frutos maduros mostró estructuras secretorias (ES), las cuales estuvieron correlacionadas positivamente con la concentración de peroxisomicina A1 (PA1) (Fig. 2a). La cara visible de la testa de la semilla estuvo recubierta de ES, que le dieron una apariencia rugosa (Fig. 2b) En la semilla desnuda, sin testa, hubo ausencia de ES (Fig. 2b).

Las cosechas en los Ciclos 1 y 2 se realizaron durante los meses de septiembre y octubre. Durante el mes de septiembre se cosecharon 10 plantas y en el mes de octubre las 6 plantas restantes.

Para el mes de mayo, período en que la floración se generalizó en las plantas (14 de 16 plantas), la PP acumulada fue de 223,8 mm en el Ciclo 1, y 73,4 mm en el Ciclo 2. Previo a la cosecha en agosto, la PP acumulada en el Ciclo 1 fue de 589,6 mm, y la correspondiente al Ciclo 2 de 223,8 mm (Fig. 3).

El largo y ancho de las hojas en las 16 plantas fue de $29,6 \pm 5,9$ y $10,8 \pm 1,7$ mm. La longitud del peciolo fue de $5,1 \pm 1,5$ mm, y la distancia entre nudos de $8,4 \pm 2,3$ mm ($n = 160$ datos para todas las variables).

Rendimientos de fruto fresco y seco por planta. El rendimiento total de fruto fresco (RFFP) de los dos ciclos de producción en las 16 plantas de *K. parvifolia* fue de 64481,7 g, con promedio general de $2015,1 \pm 2054,5$ g ($n=32$) por planta. Este fruto fresco, después de secarse a temperatura ambiente de laboratorio, resultó en un rendimiento de 23717 g de fruto seco (RFSP), con promedio general de $741,2 \pm 768,9$ g de peso seco (Tabla 2).

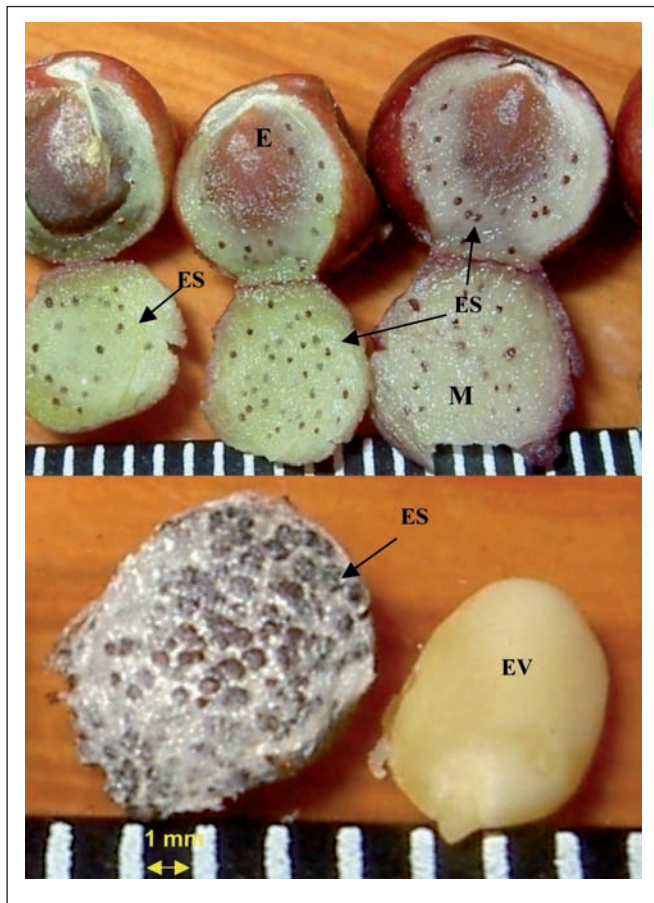


Fig. 2a. Estructuras secretorias (ES) en mesocarpio (M) de frutos maduros de *K. parvifolia*.

Fig. 2b. Semilla con testa (izquierda) y semilla desnuda (derecha) de *Karwinskia parvifolia*. En la figura se observan ES que le dan una apariencia rugosa a la testa de la semilla, así como un embrión viable (EV) de una semilla sin testa. Dentro del fruto, las testas son el sitio de mayor contenido de toxinas, entre las cuales se encuentra PA1.

Fig 2a. Secretory structures (ES) in the mesocarp (M) of ripe fruits of *K. parvifolia*.

Fig 2b. Seed coat (left) and naked seed (right) of *Karwinskia parvifolia*. Secretory structures give a rough appearance to the seed coat; we also see a viable embryo (EV) in a seed without testa. Within the fruit, the greatest toxin content (i.e., like PA1) is in the testa.

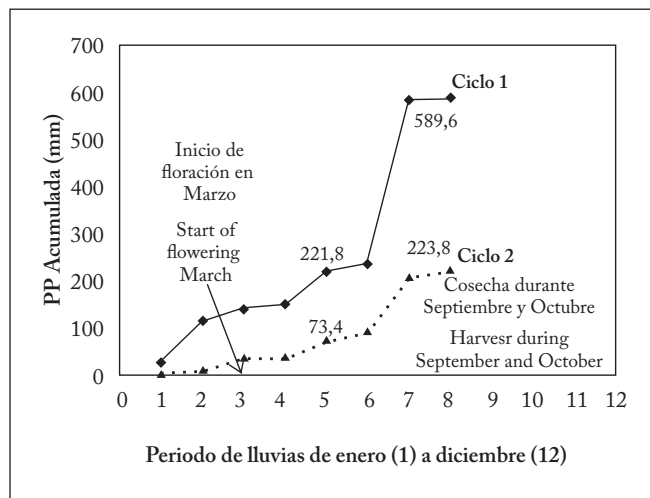


Fig. 3. Precipitación pluvial (mm) acumulada entre enero (1) y agosto (8) en los Ciclos 1 y 2.

Fig. 3. Accumulated precipitation (mm) between January (1) and August (8) during Cycles 1 and 2.

Peso de 32 muestras de 100 frutos y de 100 endocarpios secos. El promedio general de peso de 32 muestras de 100 frutos secos fue de $9,0 \pm 3,5$ por muestra. El peso de 100 endocarpios secos fue de $3,7 \pm 1,0$ g por muestra.

Los resultados por ciclo, grupo y tratamiento (Tabla 2), indican que en el Ciclo 1 (C1), el Grupo 2 [que recibió suplemento nitrogenado (CN)] produjo rendimientos superiores al Grupo 1, que no recibió suplemento nitrogenado (SN). El cociente CN/SN fue de 1,63 (RFFP); 1,68 (RFSP); 1,43 (PFS) y 1,18 (PHS). En el Ciclo 2 (C2) los valores se invirtieron. El cociente CN/SN resultó en 0,78 (RFFP); 0,85 (RFSP); 0,82 (PFS) y 0,87 (PHS).

La producción promedio de PHS en las plantas del Grupo 1 y en el C1 fue de 3,7 gramos, y en el C2 de 3,2 gramos, lo cual representó una disminución de 13,5% [(3,7-3,2)/3,7]. En las plantas del Grupo 2, el peso promedio fue de 4,3 y 3,7 gramos en los ciclos 1 y 2, respectivamente, lo que representó una disminución de 14,0% [(4,3-3,7)/4,3] en el peso promedio de 100 endocarpios secos. Hubo una disminución de los valores promedio desde el Ciclo 1 al 2 en ambos grupos de plantas (Tabla 2).

La producción promedio de PFS en las plantas del Grupo 1 y en el C1 fue de 8,1 gramos, y en el C2 fue de 7,3 gramos, lo cual representó una disminución de 9,9% [(8,1-7,3)/8,1]. En las plantas del Grupo 2, el peso promedio fue de 11,5 y 8,9 gramos en los ciclos 1 y 2, respectivamente, lo que representa una disminución de 22,6% [(11,5-8,9)/11,5] en el promedio del peso de 100 frutos secos (Tabla 2).

El rendimiento promedio de fruto seco en las plantas del Grupo 1 y en el C1 fue de 683,3 gramos, y en el C2 de 522,6 gramos. Esto representó una disminución de 23,5% [(683,3-522,6)/683,3]. En las plantas del Grupo 2, el rendimiento promedio fue de 1144,9 y 613,9 gramos por planta en los ciclos 1 y 2, respectivamente, lo que determinó una disminución

Tabla 2. Resultados promedio \pm (DE) por tratamiento y por ciclo de producción para las variables: RFFP; RFSP; PFS y PHS. Rendimiento total (g) y promedio general \pm (DE).

Table 2. Average results \pm (SD) by treatment and production cycle for the variables: FFYP; DFYP; DFW and DWE. Total yield (g) and general mean \pm (SD).

Variable	Ciclo 1			Ciclo 2			Rendimiento total (g)	Promedio general (DE) (n = 32)
	Grupo 1 SN	Grupo 2 CN	CN/SN	Grupo 2 SN	Grupo 1 CN	CN/SN		
RFFP (DE)	1655,5 (1931,0)	2690,9 (2456,6)	1,63	2088,6 (2149,7)	1625,1 (1859,8)	0,78	64481,7	2015,1 (2054,5)
RFSP (DE)	683,3 (762,9)	1144,9 (1026,5)	1,68	613,9 (610,6)	522,6 (588,9)	0,85	23717,0	741,2 (768,9)
PFS (DE)	8,1 (3,5)	11,5 (4,9)	1,43	8,9 (2,4)	7,3 (1,3)	0,82		9,0 (3,5)
PHS (DE)	3,7 (1,1)	4,3 (1,2)	1,18	3,7 (0,7)	3,2 (0,6)	0,87		3,7 (1,0)
RFSP/RFFP	0,41	0,43		0,29	0,32			0,37
PHS/PFS	0,46	0,37		0,42	0,44			0,42

RFFP = rendimiento de fruto fresco por planta; RFSP = rendimiento de fruto seco por planta; PFS = peso de 100 frutos secos; PHS = peso de 100 endocarpios secos; SN = sin nitrógeno; CN = con nitrógeno; DE = desviación estándar. Grupo 1 (secuencia SN-CN) y Grupo 2 (secuencia CN-SN), con 8 plantas por grupo.

RFFP = fresh fruit yield per plant; RFSP = dry fruit yield per plant; PFS = dry weight of 100 fruits; PHS = dry weight of 100 endocarps; SN = without nitrogen, CN = with nitrogen; SD = standard deviation. Group 1 (SN-CN sequence) and Group 2 (CN-SN sequence), with eight plants per group.

de 46,4% [(1144,9-613,9)/1144,9] en el rendimiento de fruto seco por planta.

El rendimiento promedio de fruto fresco en las plantas del Grupo 1 y en el C1 fue de 1655,5 gramos, y en el C2 de 1625,1 gramos. Esto determinó una disminución de 18% [(1655,5-1625,1)/1655,5]. En las plantas del Grupo 2, el rendimiento promedio fue de 2690,9 y 2088,6 gramos por planta en los ciclos 1 y 2, respectivamente. Esto representó una disminución de 22,4% [(2690,9-2088,6)/2690,9] en el rendimiento de fruto fresco por planta.

Prueba de hipótesis en RFSP. En esta variable se observó diferencia estadística altamente significativa por efecto de *planta* ($p=0,0036$). No se observó diferencia significativa por efecto de *Ciclo* ($p=0,0509$), ni por efecto de *tratamiento* ($p=0,2721$).

Prueba de hipótesis en PFS. En esta variable no se observaron diferencias estadísticas significativas por efecto de *planta* ($p=0,0711$), *Ciclo* ($p=0,0866$) o *tratamiento* ($p=0,3331$).

Prueba de hipótesis en PHS. En esta variable se observaron diferencias estadísticamente significativas por efecto de *planta* ($p=0,0186$) y *Ciclo* ($p=0,0379$). No se observaron diferencias significativas por efecto de *tratamiento* ($p=0,6921$).

Por otro lado, en los grupos Kp1 y Kp3, con 4 plantas cada uno, se observaron valores promedio de 12,83 y 5,81 gramos de PFS, respectivamente. Los valores promedio observados en la variable PHS fueron de 4,86 y 2,74 gramos en los grupos Kp1 y Kp3, respectivamente. En los mismos grupos Kp1

y Kp3, se observaron cocientes PHS/PFS*100 de 38,67 y 47,34%, respectivamente (Tabla 3). El grupo Kp2 resultó con valores promedio de 8,59 y 3,68 gramos para las variables PFS y PHS, respectivamente, y de 43,06% para el cociente PHS/PFS*100.

Tabla 3. Resultados promedio y error estándar (EE) en PFS, PHS y cociente de (PHS/PFS)*100 por grupo de plantas de *K. parvifolia* (con dos repeticiones cada planta).

Table 3. Average results and standard error (SE) in PFS, PHS and ratio (PHS / PFS) * 100 per *K. parvifolia* plant group (two replicates each plant).

Grupo	PFS (EE)	PHS (EE)	(PHS/PFS)*100 (EE)
Kp1 (Plantas: 3, 4, 6 y 16)	12,83 (2,68)	4,86 (0,37)	38,67 (5,31)
Kp2 (Plantas: 5, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15)	8,59 (0,97)	3,68 (0,30)	43,06 (2,22)
Kp3 (Plantas: 1, 2, 7 y 11)	5,81 (0,96)	2,74 (0,39)	47,34 (2,49)

PFS = peso de 100 frutos secos; PHS = peso de 100 endocarpios secos; Kp1 = grupo de plantas con alto rendimiento en PFS; Kp2 = grupo de plantas con rendimiento intermedio en PFS; Kp3 = grupo de plantas con bajo rendimiento en PFS.

PFS = dry weight of 100 fruits; PHS = dry weight of 100 endocarps; Kp1 = plant group with high PFS yield; Kp2 = plant group with intermediate PFS yield; Kp3 = plant group with low PFS yield.

DISCUSIÓN

En general, se observó que bajo condiciones de cultivo y riego en *Karwinskia parvifolia*, la floración se inició durante el mes de marzo, y la madurez del fruto se concentró durante los meses de septiembre y octubre.

En ambos grupos se observaron plantas tanto precoces (marzo) como tardías (junio) en el inicio de la floración. En ambos grupos, algunas plantas presentaron floración por períodos cortos (3 meses), y otras plantas por períodos más prolongados (5 meses). También se observaron plantas de ambos grupos con períodos intermedios (4 meses). Estos resultados sugieren que las diferencias en los procesos de floración-fructificación serían inherentes a la variabilidad genética intraespecie, más que al efecto ambiental o del suplemento nitrogenado.

En plantas silvestres de *Karwinskia parvifolia*, Luján (1999) reportó que el inicio de la floración se observó a fines de junio, y que la madurez del fruto ocurrió durante el mes de octubre.

Las testas son el sitio de mayor contenido de toxinas, (Natham, 1987; Hanácková et al., 1997; Hanácková, 1999), entre las cuales se encuentra PA1. Como resultado, la presencia de **ES** en el mesocarpio, además del endocarpio y testa de la semilla observados en esta investigación, estaría sugiriendo un mayor contenido de PA1 (Luján, 2008). Esto es importante porque el fruto completo como fuente de PA1 significaría un mayor índice de cosecha, comparado con endocarpios, que han sido la principal fuente de PA1.

En cuanto al efecto del nitrógeno durante el C1, se observó que las 16 plantas seleccionadas se desarrollaron bajo condiciones de menor competencia por recursos tales como nutrientes, agua, luz, y esto propició un mayor crecimiento vegetativo para todas las plantas en general, particularmente para aquellas que recibieron fertilización nitrogenada en este ciclo. En comparación con el C1, para el C2 las plantas reiniciaron su crecimiento a partir de una mayor estatura y área foliar, lo que generó una mayor demanda de nutrientes y agua, comparado con las necesidades del C1. No obstante esa mayor demanda de agua, se mantuvo la frecuencia de riegos cada tres semanas. Para la etapa en que las plantas reiniciaron su crecimiento vegetativo y floración en el C2, las precipitaciones registradas durante el C2 fueron menores que aquellas durante el C1. Los procesos de disociación del sulfato de amonio, nitrificación y absorción del suplemento nitrogenado se verían favorecidos en el C1, a causa de una mayor disponibilidad de humedad en el suelo.

El Grupo 2, cultivado con suplemento nitrogenado durante el C1, produjo los mayores valores para PHS, PFS, RFSP y RFFP, pero estos valores disminuyeron (en todas las variables mencionadas) en la cosecha del C2, período en que no recibieron suplemento nitrogenado (Tabla 2).

El Grupo 1, cultivado en el C1 sin suplemento nitrogenado, produjo valores más bajos de PHS, PFS, RFSP y RFFP comparado con el Grupo 2 en este ciclo. Esto se explicaría por efecto del suplemento nitrogenado que recibió el Grupo 2 en el C1. Sin embargo, estos valores del Grupo 1 disminuyeron en todas las variables en la cosecha del C2, período en que se esperaba un incremento en sus valores promedio por efecto del suplemento nitrogenado, tal como se observó en los valores del Grupo 2 durante el C1.

Una explicación sería que las plantas del Grupo 2 recibieron suplemento nitrogenado en el C1, y las condiciones de humedad en el suelo fueron más favorables durante el C1 que durante el C2. Esto determinó que el efecto del nitrógeno se viera más marcado en el C1. En la cosecha del C2, no se manifestó el efecto del suplemento nitrogenado, quizá por una menor disponibilidad de agua en el suelo, a pesar del riego cada tres semanas que se aplicó durante los dos ciclos de producción.

Luján (2008) observó (1) la variabilidad entre plantas de *K. parvifolia* en la síntesis de PA1, con valores que fluctuaron entre 43,9 y 872,7 μg de PA1 por gramo de peso seco, y (2) que la precipitación influye positivamente sobre la concentración de PA1 en *K. parvifolia*. La síntesis de PA1, tanto en *K. humboldtiana* como en *K. parvifolia* se incrementó con la aplicación de riego adicional a la precipitación pluvial (Luján, 1999).

El análisis de varianza bajo un diseño cruzado permite evaluar con mayor eficiencia relativa el efecto de *tratamiento*, porque es posible evaluar y separar la variabilidad entre *plantas*, así como el efecto de *ciclo* de producción. Sin embargo, los resultados promedio por grupo, tratamiento y ciclo de producción, muestran una interacción en la cual estaría confundido el efecto del nitrógeno. Por lo tanto, un indicador del suplemento nitrogenado sobre la productividad serían los resultados del C1. Estos resultados indicaron que las plantas que fueron suministradas con sulfato de amonio tuvieron valores promedio superiores a los obtenidos en las plantas que no recibieron suplemento nitrogenado. Los resultados sugieren incrementar la frecuencia de riego, y efectuar futuras investigaciones acerca del efecto de la humedad sobre la concentración de peroxisomicina A1 en las especies bajo estudio.

AGRADECIMIENTOS

In memoriam: Al Dr. med. Alfredo Piñeyro López^(†), pionero en las investigaciones acerca del género *Karwinskia* por su potencial farmacológico.

In memoriam: Al Dr. med. Oscar Torres Alanís^(†), por su apoyo para la realización de esta investigación.

Agradecemos a la Química Daniela J. Padilla-Alonso por su apoyo en el análisis cromatográfico. Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, U. A. N. L.

REFERENCIAS

- Garza-Ocañas, L., G.C. Hsieh, D. Acosta, O. Torres-Alanís y A. Piñeyro-López (1992). Toxicity assessment of toxins T-514 and T-544 of Buckthorn (*Karwinskia humboldtiana*) in primary skin and liver cell cultures. *Toxicology* 73: 259-267.
- Gómez-Silva, M., L. Garza-Ocañas, N. Waksman, V. Rivas y A. Piñeyro-López (2005). *In vitro* metabolism and toxicity assessment of toxin T-514 (Peroxisomicine A1) of *Karwinskia humboldtiana* in microsomes and primary cultured hepatocytes. *Toxicology in Vitro* 19: 47-53.
- Guerrero, G.A. (2000). El Suelo, los Abonos y la Fertilización de los Cultivos. Ed. Mundi-Prensa. Barcelona, España. 206 p.
- Hanáčková, Z., N. Waksman, M. Mikuš, A. Lux, D. Lišková y E. Masarovičová (1997). Structure, physiology and toxin content in leaves of *Karwinskia humboldtiana* *in vivo* and *in vitro*. *Acta F. R. N. Univ. Comen. Physiologia Plantarum* XXIX: 95-100.
- Hanáčková, Z. (1999). Ontogénesis de las estructuras internas y algunas características anatómicas y embriológicas de *Karwinskia parvifolia* (Rhamnaceae). Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Comeniana, Bratislava, Eslovaquia. 65 p.
- Henselová, M. Regecová y A. Sováková (2004). Isolation of chloroplasts in the *Karwinskia* species and determination of their photochemical activity under *in vitro* conditions. *Plant Soil Environmental* 50: 149-156.
- Lišková, D., A. Lux, A. Piñeyro L. y R. Luján R. (1999). *Karwinskia* Species (Buckthorn): *in vitro* culture, micropropagation, and the production of toxin anthracenone. En: Y. P. S. Bajaj (ed), pp. 223-242. *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Medicinal and Aromatic Plants XI*. Vol. 43. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Loomis, R.S. y D.J. Connor (2002). *Ecología de Cultivos. Productividad y Manejo en Sistemas Agrarios*. Ediciones Mundi-Prensa. Impreso en España. 591 p.
- Luján R., R. (1999). Efecto del período de cosecha, tamaño del fruto, riego y especie sobre el contenido de Peroxisomicina A1 (T-514) en plantas del género *Karwinskia*. Tesis de Maestría. Facultad de Agronomía, U. A. N. L., Marín, N. L., México. 115 p. <http://cdigital.dgb.uanl.mx/te/1080110309/1080110309.html>
- Luján R., R. E. Olivares-Sáenz, R.E. Vázquez-Alvarado, L. Garza-Ocañas y O. Torres-Alanís (2007). Germinación como parámetro de selección en *Karwinskia* por su potencial de productividad en peroxisomicina A1. *Phyton, International Journal of Experimental Botany* 76: 61-77.
- Luján R., R. (2008). Efecto del nitrógeno y variabilidad intraespecie sobre síntesis de peroxisomicina A1 (PA1) en *Karwinskia parvifolia*: rendimiento de fruto, concentración y contenido de PA1 por planta. Tesis Doctoral. Facultad de Agronomía, U.A.N.L., Marín, N.L., México. 100 p.
- Masarovičová, E., R. Welschen, A. Lux, H. Lambers, K. Argalášová, E. Brandsteterová y A. Caniova (2000). Photosynthesis, biomass partitioning and peroxisomicine A1 production of *Karwinskia* species in response to nitrogen supply. *Physiologia Plantarum* 108: 300-306.
- Mengel K., E.A. Kirkby, H. Kosegarten y T. Appel (2001). *Principles of Plant Nutrition*. 5ª ed. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands. 849 p.
- Natham, P.J. (1987). Contribución química al estudio multidisciplinario de la tullidora (*Karwinskia humboldtiana*). *Revista de la Academia de Artes y Ciencias de Puerto Rico* 2: 19-23.
- Navarro, G. (2003). *Química agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. 2da. Ed. Ediciones Mundi Prensa, Madrid, España. 487 p.
- Piñeyro-López, A., L. Martínez de Villarreal y R. González-Alanís (1994). *In vitro* selective toxicity of toxin T-514 from *Karwinskia humboldtiana* (buckthorn) plant on various human tumor cell lines. *Toxicology* 92: 217-227.
- Piñeyro-López, A. y N. Waksman (2000). Chemistry, Structure and Biological Activity of Anthracenones of the *Karwinskia* Genus. En: Atta-ur-Rahman (ed), *Natural Products Chemistry*. Elsevier Science B. V. 22: 555-606.
- Rzedowski, J. (1988). *Vegetación de México*. Ed. LIMUSA, S.A. de C.V. México, D.F. p. 114, 203, 247 y 256.
- Salazar, R., V. Rivas, G. González y N. Waksman (2006). Antimicrobial activity of coupled hydroxyanthracenones isolated from plants of the genus *Karwinskia*. *Fitoterapia* 77: 398-400.
- Waksman N, A. Santoyo y R. Ramírez (1997). Cuantificación de T-514 (Peroxisomicina A1) en dos plantas del género *Karwinskia*. *Polibotanica* 5: 13-19.