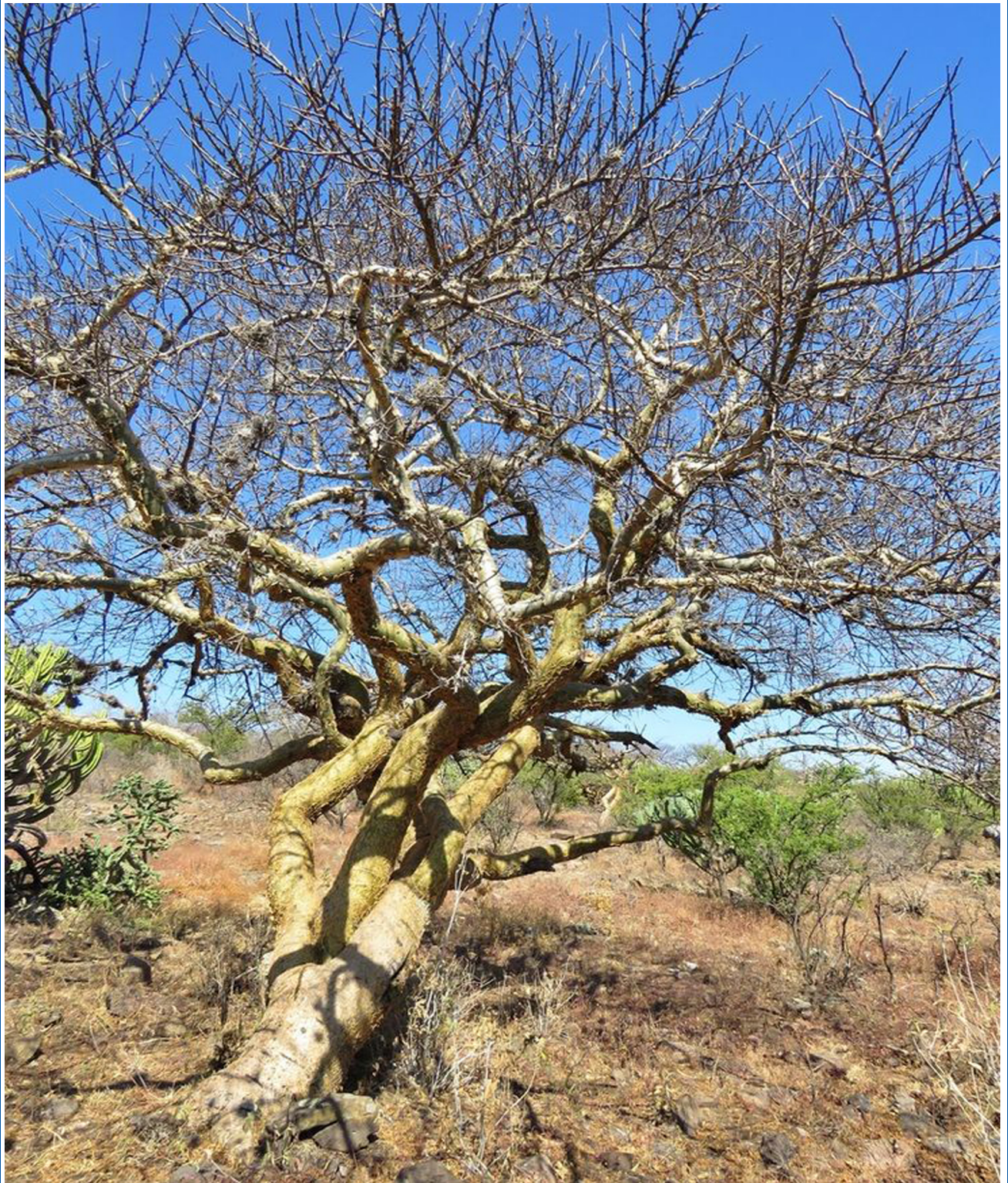


# POLIBOTÁNICA

ISSN 1405-2768

ISSN 2395-9525



Núm. 60

 **CONAHCYT**  
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES  
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS

Julio 2025



PÁG.

CONTENIDO

- 1 *Mammillaria scoria* (cactaceae) una nueva especie de Querétaro, México  
*Mammillaria scoria* (Cactaceae) a new species from Querétaro, México  
Pedro González-Zamora | David Aquino | Daniel Sánchez
- 15 Revisión del género *Karwinskia* (Rhamnaceae) en México  
Review of the *Karwinskia* genus (Rhamnaceae) in Mexico  
Rafael Fernández Nava | María de la Luz Arreguín Sánchez
- 39 Diversidad florística de las áreas verdes urbanas de Miahuatlán, una ciudad pequeña de Oaxaca, México  
Floristic diversity of the urban green areas of Miahuatlán, a small city from Oaxaca, Mexico  
Víctor Gutiérrez Pacheco | Deisy Coromoto Rebolledo López
- 61 Caracterización morfológica de especies del género *Hylocereus* (Cactaceae) en una unidad de cultivo localizada en Molcaxac, Puebla, México  
Morphological characterization of species of the genus *Hylocereus* (Cactaceae) in a cultivation unit located in Molcaxac, Puebla, Mexico  
Vianey del Rocío Torres Pelayo
- 79 Estandarización del proceso de diafanización vegetal en las especies: *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) y una Spermatophyta *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder Rosaceae  
Standardization of the plant diaphanization process; of *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) and one Spermatophyta *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae)  
Ruth Concepción Márquez Juárez | Arantxa Chowell-López | Diego Martínez Mata | Gabriela Sánchez Fabila Sánchez Fabila | Roberto Moreno Colín | Pilar Amellali Badillo-Suárez | Irma Estrella Beatriz Manuell Cacheux | Rogelio Monterrubio Valdivia
- 91 Análisis de la estructura de un bosque en una región del suroeste del estado de Durango  
Analysis of the structure of a forest in a southwestern region of the state of Durango  
Manuel Antonio Díaz-Vásquez | Pedro Antonio Domínguez-Calleros | Norberto Domínguez-Amaya | Héctor Manuel Loera-Gallegos | Jesús Alejandro Soto-Cervantes
- 107 Estructura y diversidad arbórea de una selva mediana perennifolia en el complejo ecoturístico Agua Selva, Tabasco, México  
Tree structure and diversity of a medium evergreen forest in the Agua Selva ecotourism complex, Tabasco, Mexico  
Manuel Pérez de la Cruz | Josué García León | José del Carmén Gerónimo Torres | Facundo Sánchez Gutiérrez | Miguel Alberto Magaña Alejandro | Aracely de la Cruz Pérez
- 123 Diversidad del sotobosque; un atributo de evaluación en reforestaciones utilizadas como estrategias de restauración forestal  
Understory diversity; an evaluation attribute in reforestations used as a forest restoration strategy  
Francisca Ofelia Plascencia Escalante | Isidoro Herrera Ávila | Marfín Pérez Suárez | Patricia Hernández De La Rosa | Gregorio Ángeles Pérez
- 141 Estructura y diversidad arbórea bajo dos esquemas de manejo forestal e influencia de la orientación geográfica en un bosque de Durango, México  
Tree structure and diversity under two forest management schemes and the influence of geographic orientation in a forest in Durango, Mexico  
José de Jesús Graciano Luna | Eduardo Alanís Rodríguez | Oscar Aguirre Calderón | César Martín Cantú Ayala | José Yerena Yamalle | Cristian Martínez Adriano | José Luján Soto
- 163 Reserva de carbono orgánico y nitrógeno en Luvisol bajo diferentes usos de suelo en Oaxaca, México  
Organic carbon and nitrogen reserve in Luvisol under different land uses in Oaxaca, México  
Celestino Sandoval García | Israel Cantú Silva
- 177 Estimación de carbono a nivel árbol individual en bosque natural mediante vehículos aéreos no tripulados (VANT)  
Carbon estimation at individual tree level in natural forest using unmanned aerial vehicles (UAV)  
Jaime Briseño Reyes | Susana Isabel Hinojosa-Espinoza | José Javier Corral-Rivas | Jesús Aguirre-Gutiérrez | Daniel José Vega-Nieva | Héctor Manuel De los Santos Posadas
- 199 Variación morfométrica y espacial urbana de tres especies arbóreas en función del ancho de camellón en calles de la ciudad de San Luis Potosí, México  
*Morphometric and urban spatial variation of three tree species in relation to street median width in the city of San Luis Potosí Mexico*  
Andrea Candia Lomelí | Carlos Renato Ramos Palacios | Jonathan Hammurabi González Lugo | Fredy Alexander Alvarado Roberto
- 229 Descripción inicial de la fenología de *Quercus durifolia* Seemen ex Loes. árbol endémico de la Sierra Madre Occidental  
Initial description of the phenology of *Quercus durifolia* Seemen ex Loes. endemic tree of the Sierra Madre Occidental  
Rosa Elvira Madrid Aispuro | José Ángel Prieto Ruíz | Arnulfo Aldrete | Silvia Salcido Ruiz | Eduardo Daniel Vivar Vivar | Laura Elena Martínez Nevárez
- 245 Registro polínico en miel de *Apis mellifera* L. de dos localidades de la Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán, Jalisco, México  
Pollen record on honeybee honey of *Apis mellifera* L. of Sierra of Manantlan Biosphere Reserve, Jalisco, México  
Xochilt Morales Najarro | Iris Grisel Galván Escobedo | Monserrat Vázquez Sánchez | Montserrat Medina Acosta

PÁG.

CONTENIDO

- 263 Efecto de complejos orgánicos en la micropropagación de *Phalaenopsis* var. Dudu  
Effect of organic complexes on micropropagation of *Phalaenopsis* var. Dudu  
Amaury Arzate Fernández | Sandra Martínez Martínez | Tomás Norman Mondragón | María Mariezcurrena Berazain | Arely Piña Sampedreño
- 273 Evaluación de las respuestas de tres variedades de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) inoculadas con bacterias cuando se cultivan en condiciones de estrés por aguas residuales y sulfato de cobre.  
Evaluation of the responses of three tomato varieties (*Solanum lycopersicum* L.) inoculated with bacteria when grown under stress conditions due to wastewater and copper sulfate  
Abdul Khalil Gardezi | Leticia Manuela Inzunza Medina | Guillermo Carrillo Castañeda | Hector Manuel Ortega Escobar | oscar raul mancilla villa | Juan Enrique Rubiños Panta | Jorge flores Velazquez | Mora Meraz Maldonado | Sergio Roberto Marquez Berber | Hector Flores Magdaleno | Gabriel Haro Aguilar
- 291 Especies de *Meloidogyne* asociadas a cultivos hortícolas en el Valle de Tepeaca, Puebla, México  
Perineal patterns and isozyme phenotypes for the identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in vegetables from the Tepeaca Valley, Puebla, Mexico  
María Gabriela Medina Canales | Ana Karen Alquicira Jimenez | Norma García Aguilar | Iliá Mariana Escobar Ávila | Alejandro Tovar Soto
- 307 Efecto de las propiedades físicas y químicas del suelo en el estado nutrimental del nopal-verdura (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill variedad Milpa Alta  
Effect of soil physical and chemical properties on the nutritional status of nopal-vegetable (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill variety Milpa Alta  
Bertha Patricia Zamora Morales | Aurelio Báez Pérez | Leticia Bonilla-Valencia | Jorge Artemio Zegbe Domínguez | Marisela Cristina Zamora Martínez | Abel Quevedo-Nolasco
- 325 Evaluación fitoquímica de extractos de la resina de *Bursera fagaroides* (Kunth) Engl.  
Phytochemical evaluation of resin extracts of *Bursera fagaroides* (Kunth) Engl.  
Luis Antonio Flores-Hernández | Fanny Imelda Pastenes-Felizola | Fanny Imelda Pastenes-Felizola | Jose Luis Díaz-Núñez | Pablo Noé Núñez-Aragón
- 337 Callogénesis y análisis fitoquímico de *Euphorbia nutans* Lag.  
Callogenesis and phytochemical analysis of *Euphorbia nutans* Lag.  
Daniel Aguilar Jiménez | Benito Reyes Trejo | José Luis Rodríguez De la O | Juan Martínez Solís
- 355 Evaluación de dos métodos de desinfección de sustratos para la producción de *Pleurotus ostreatus*  
Evaluation of two substrate disinfection methods for the production of *Pleurotus ostreatus*  
Rosa Elena Hernández Hernández | Veronica Rosales Martinez | Carolina Flota Bañuelos | Mónica Leticia Osnaya González | Porfirio Morales Almora
- 367 Conservación genómica de dos especies del orden Asparagales con cariotipo bimodal, empleando hibridación genómica *in situ* (GISH)  
Genomic conservation of two species of the order Asparagales with bimodal karyotype, using genomic *in situ* hybridization (GISH)  
María José García Castillo | Luis Carlos Rodríguez Zapata | Lorenzo Felipe Sanchez Teyer
- 381 Prácticas de manejo para la producción de (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) en productores del Municipio de Pungarabato, Guerrero, México  
Management practices for the production of (*Vigna unguiculata* [L.] Walp) in producers of the Municipality of Pungarabato, Guerrero, Mexico  
Jaime Olivares | Santos Rodríguez Mejía | Saúl Rojas Hernández | Teolincacihualt Romero Rosales | Miguel Ángel Damian Valdéz | Vania Jiménez Lobato | Lucero Sarabia Salgado
- 395 Manejo del ramón *Brosimum alicastrum* Sw. en huertos familiares de Tzucacab, Yucatán, México  
Ramón (*Brosimum alicastrum* Sw.) management in home gardens of Tzucacab, Yucatán, México  
Rosalba Esther Mex Mex | Juan José Jiménez Osornio | Patricia Irene Montañez-Escalante | Héctor Estrada Medina | Guadalupe del Carmen Reyes Solis
- 411 Rescate y conservación del conocimiento tradicional sobre plantas medicinales en la sierra de Taxco, Guerrero, México: El caso del Toronjil (*Agastache mexicana* subsp. *mexicana*)  
Rescue and conservation of traditional knowledge on medicinal plants in the Sierra de Taxco, Guerrero, Mexico: The case of Toronjil (*Agastache mexicana* subsp. *mexicana*)  
Judith Morales Barrera | Blas Cruz-Lagunas | Miguel Angel Gruintal-Santos | Mirna Vázquez-Villamar | Teolincacihualt Romero-Rosales | Saúl Rojas-Hernández | Tania de Jesús Adame Zambrano
- 441 Etnobotánica de los chiles silvestres en dos comunidades ch'oles de Tacotalpa, Tabasco, México  
Ethnobotany of wild chili peppers in two ch'ol communities of Tacotalpa, Tabasco, Mexico  
Guadalupe Morales Valenzuela | María Isabel Villegas Ramírez
- 459 Caracterización sensorial para la diferenciación de mezcal ancestral de dos zonas productoras de Oaxaca, México  
Sensory characterization for the differentiation of ancestral mezcal from two producing areas of Oaxaca, Mexico  
Susana Yareth López García | Anastacio Espejel García | Arturo Hernández Montes | Landy Hernández Rodríguez | Ariadna Isabel Barrera Rodríguez

# REVISTA BOTÁNICA INTERNACIONAL DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## EDITOR EN JEFE

*Rafael Fernández Nava*

## EDITORA ASOCIADA

*María de la Luz Arreguín Sánchez*

## COMITÉ EDITORIAL INTERNACIONAL

*Christiane Anderson*  
University of Michigan  
Ann Arbor, Michigan, US

*Delia Fernández González*  
Universidad de León  
León, España

*Heike Vibrans*  
Colegio de Postgraduados  
Estado de México, México

*José Angel Villarreal Quintanilla*  
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro  
Saltillo, Coahuila, México

*Hugo Cota Sánchez*  
University of Saskatchewan  
Saskatoon, Saskatchewan, Canada

*Luis Gerardo Zepeda Vallejo*  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México

*Fernando Chiang Cabrera*  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Ciudad de México, México

*Claude Sastre*  
Muséum National d'Histoire Naturelle  
Paris, Francia

*Thomas F. Daniel*  
California Academy of Sciences  
San Francisco, California, US

*Mauricio Velayos Rodríguez*  
Real Jardín Botánico  
Madrid, España

*Francisco de Asis Dos Santos*  
Universidad Estadual de Feira de Santana  
Feira de Santana, Brasil

*Noemi Waksman de Torres*  
Universidad Autónoma de Nuevo León  
Monterrey, NL, México

*Carlos Fabián Vargas Mendoza*  
Instituto Politécnico Nacional  
Ciudad de México, México

*Julieta Carranza Velázquez*  
Universidad de Costa Rica  
San Pedro, Costa Rica

*José Luis Godínez Ortega*  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Ciudad de México, México

*Tom Wendt*  
University of Texas  
Austin, Texas, US

*José Manuel Rico Ordaz*  
Universidad de Oviedo  
Oviedo, España

*Edith V. Gómez Sosa*  
Instituto de Botánica Darwinion  
Buenos Aires, Argentina

*Edith V. Gómez Sosa*  
Instituto de Botánica Darwinion  
Buenos Aires, Argentina

*Dr. Juan Ramón Zapata Morales*  
Universidad de Guanajuato  
Guanajuato, México

*Jorge Llorente Bousquets*  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Ciudad de México, México

## DISEÑO Y FORMACIÓN ELECTRÓNICA

*Luz Elena Tejeda Hernández*

## OPEN JOURNAL SYSTEM Y TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN

*Pedro Aráoz Palomino*

POLIBOTÁNICA, revista botánica internacional del Instituto Politécnico Nacional, incluye exclusivamente artículos que representen los resultados de investigaciones originales en el área. Tiene una periodicidad de dos números al año, con distribución y Comité Editorial Internacional.

Todos los artículos enviados a la revista para su posible publicación son sometidos por lo menos a un par de árbitros, reconocidos especialistas nacionales o internacionales que los revisan y evalúan y son los que finalmente recomiendan la pertinencia o no de la publicación del artículo, cabe destacar que este es el medio con que contamos para cuidar el nivel y la calidad de los trabajos publicados.

## INSTRUCCIONES A LOS AUTORES PARA LA PUBLICACIÓN DE TRABAJOS

Se aceptarán aquellos originales que se ajusten a las prescripciones siguientes:

POLIBOTÁNICA incluye exclusivamente artículos que representen los resultados de investigaciones originales que no hayan sido publicados.

1. El autor deberá anexar una carta membretada y firmada dirigida al Editor, donde se presente el manuscrito, así como la indicación de que el trabajo es original e inédito, ya que no se aceptan trabajos publicados o presentados anterior o simultáneamente en otra revista, circunstancia que el autor(es) deberá declarar expresamente en la carta de presentación de su artículo.
2. Al quedar aceptado un trabajo, su autor no podrá ya enviarlo a ninguna otra revista nacional o extranjera.
3. Los artículos deberán estar escritos en español, inglés, francés o portugués. En el caso de estar escritos en otros idiomas diferentes al español, deberá incluirse un amplio resumen en este idioma.
4. Como parte de los requisitos del CONACYT, POLIBOTÁNICA ahora usa la plataforma del Open Journal System (OJS); para la gestión de los artículos sometidos a la misma. Así que le solicitamos de la manera más atenta sea tan amable de registrarse y enviar su artículo en la siguiente liga: [www.polibotanica.mx/ojs/index.php/polibotanica](http://www.polibotanica.mx/ojs/index.php/polibotanica)
  - a) cargar el trabajo en archivo electrónico de office-word, no hay un máximo de páginas con las siguientes características:
  - b) en páginas tamaño carta, letra times new roman 12 puntos a doble espacio y 2 cm por margen
5. Las figuras, imágenes, gráficas del trabajo deben estar incluidas en el documento de Word original:
  - a) en formato jpg
  - b) con una resolución mínima de 300 dpi y un tamaño mínimo de 140 mm de ancho
  - c) las letras deben estar perfectamente legibles y contrastadas
6. Todo trabajo deberá ir encabezado por:
  - a) Un título tanto en español como en inglés que exprese claramente el problema a que se refiere. El formato para el título es: negritas, tamaño 14 y centrado;
  - b) El nombre del autor o autores, con sus iniciales correspondientes, sin expresión de títulos o grados académicos. El formato para los autores es: alineados a la izquierda, cada uno en un párrafo distinto y tamaño 12. Cada autor debe tener un número en formato superíndice indicando a qué afiliación pertenece;
  - c) La designación del laboratorio e institución donde se realizó el trabajo. La(s) afiliación(es) debe(n) estar abajo del grupo de autores. Cada afiliación deberá estar en un párrafo y tamaño

12. Al inicio de cada afiliación estará el número en superíndice que lo relaciona con uno o más autor/es.

d) El autor para correspondencia deberá estar en el siguiente párrafo, alineado a la izquierda, tamaño 12.

7. Todo trabajo deberá estar formado por los siguientes capítulos:

a) RESUMEN y ABSTRACT. Palabras clave y Key Words. El resumen debe venir después de la afiliación de los autores, alineado a la izquierda, tamaño 12. La palabra “Resumen: / Abstract:” debe venir en negritas y con dos puntos. El texto del resumen debe empezar en el párrafo siguiente, tamaño 12 y justificado. El texto “Palabras clave / Key Words:” debe venir en negritas seguido de dos puntos. Cada una de las palabras clave deben estar separadas por coma o punto y coma, finalizadas por punto.

b) INTRODUCCIÓN y MÉTODOS empleados. Cuando se trate de técnicas o métodos ya conocidos, solamente se les mencionará por la cita de la publicación original en la que se dieron a conocer. El formato para todas las secciones en esta lista es: negritas, tamaño 16 y centrado.

c) RESULTADOS obtenidos. Presentación acompañada del número necesario de gráficas, tablas, figuras o diagramas de tamaño muy cercano al que tendrá su reproducción impresa (19 x 14 cm).

d) DISCUSIÓN concisa de los resultados obtenidos, limitada a lo que sea original y a otros datos relacionados directamente y que se consideren nuevos.

e) CONCLUSIONES.

#### ESPECIFICACIONES DE FORMATO PARA EL CUERPO DEL TRABAJO

1. Secciones/Subtítulos de párrafo: Fuente tamaño 16, centrado, en negritas, con la primera letra en mayúscula.
2. Subsecciones/Subtítulos de párrafo secundarios : Fuente tamaño 14, centrado, en negritas, con la primera letra en mayúscula. Cuando existan subsecciones de subsección formatear en tamaño 13 negrita y centrado.
3. Cuerpo del texto: Fuente tamaño 12, justificado. NO debe haber saltos de línea entre párrafos.
4. Las notas de pie de página deben estar al final de cada página, fuente tamaño 12 justificadas.
5. Cita textual con mas de tres líneas: Fuente tamaño 12, margen izquierdo de 4 cm.
6. Título de imágenes: Fuente tamaño 12, centrado y en negritas, separado por dos puntos de su descripción. Descripción de las imágenes: tamaño 12.
7. Notas al pie de las imágenes: Fuente tamaño 12 y centradas con respecto a la imagen, la primera letra debe estar en mayúsculas.
8. Imágenes: deben estar en el cuerpo del texto, insertadas en formato png o jpg, a por lo menos 300 dpi de resolución y centradas. Las imagenes deben estar en línea con el texto. Se consideran imágenes: gráficos, cuadros, fotografías, diagramas y, en algunos casos, tablas y ecuaciones.
9. Tablas de tipo texto: El título de las columnas de las tablas debe estar en negritas y los datos del cuerpo de la tabla con fuente normal. Los nombres científicos deben estar en itálicas. Se recomienda utilizar las Tablas como imágenes, estas deberán de ir centradas (a por lo menos 300 dpi de resolución).
10. Notas al pie de la tabla: Fuente tamaño 12 y centradas con respecto a la tabla, la primera letra debe estar en mayúsculas.
11. Ecuaciones pueden estar en Mathtype 1 o en imagen. En este último caso, seguir instrucciones del punto 8.
12. Citas del tipo autor y año deben estar entre paréntesis, con el apellido del autor seguido por el año (Souza, 2007), primera letra en mayúscula.

- 8. LITERATURA CITADA**, Se tomara como base el Estilo APA para las Referencias Bibliográficas, formada por las referencias mencionadas en el texto del trabajo y en orden alfabético. Es obligatorio utilizar Mendeley® (software bibliográfico). El propósito de utilizar este tipo de software es asegurar que los datos contenidos en las referencias están correctamente estructurados y corresponden a las citas del cuerpo del texto.

## ESTRUCTURA Y FORMATO DE LOS AGRADECIMIENTOS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Los Agradecimientos deberán estar después de la última sección del cuerpo del texto. Esta información debe tener como título la palabra “Agradecimientos”, o su equivalente en otro idioma, en negritas, tamaño 12 y centrado. El texto de esta información debe estar en tamaño 12 justificado.
2. Las Referencias bibliográficas deben estar en orden alfabético sin salto de línea de párrafo, alineados a la izquierda, en tamaño 12.
3. Apéndices, anexos, glosarios y otros materiales deben incluirse después de las referencias bibliográficas. En caso de que estos materiales sean extensos deberán ser creados como archivos PDF.

## 9. REVISIÓN Y PUBLICACIÓN

Todos los artículos enviados a la revista para su posible publicación serán sometidos a una revisión “doble ciego”, se enviarán por lo menos a un par de árbitros, reconocidos especialistas nacionales o internacionales que los revisarán y evaluarán y serán los que finalmente recomienden la pertinencia o no de la publicación del artículo, cabe destacar que este es el medio con que contamos para cuidar el nivel y la calidad de los trabajos publicados.

Una vez aceptado el trabajo, se cobrarán al autor(es) \$299 por página más IVA, independientemente del número de fotografías que contenga.

## PUBLICATION GUIDELINES

POLIBOTÁNICA, an international botanical journal supported by the National Polytechnic Institute, only publishes material resulting of original research in the botanic area. It has a periodicity of two issues per year with international distribution and an international Editorial Committee.

All articles submitted to POLIBOTÁNICA for publication are reviewed by at least a couple of referees. National or international recognized experts will evaluate all submitted materials in order to recommend the appropriateness or otherwise of a publication. Therefore, the quality of published papers in POLIBOTÁNICA is of the highest international standards.

### FOR PUBLICATION OF ARTICLES

Originals that comply with the following requirements will be accepted:

1. POLIBOTÁNICA includes only items that represent the results of original research which have not been published. The author should attach an official and signed letter to Editor stating that the work is original and unpublished. We do not accept articles published or presented before or simultaneously in another journal, a fact that the author (s) must expressly declare in the letter.
2. When an article has been accepted, the author can no longer send it to a different national or foreign journal.
3. Articles should be written in Spanish, English, French or Portuguese. In the case of be written in

languages other than Spanish, it should include an abstract in English.

4. The article ought to be sent to the POLIBOTÁNICA's Open Journal System <http://www.polibotanica.mx/ojs> in an office-word file without a maximum number of pages with the following features:

a) on letter-size pages, Times New Roman font type, 12-point font size, double-spaced and 2 cm margin

5. The figures, images, graphics in the article must be attached as follows:

a) in jpg format

b) with a minimum resolution of 300 dpi and a minimum size of 140 mm wide

c) all characters must be legible and contrasted

6. All articles must include:

a) a title in both Spanish and English that clearly express the problem referred to. The format for this section is: bold, font size 14 and centered.;

b) the name of the author or authors, with their initials, no titles and no academic degrees. The format for this section is: font size 12, aligned to the left, each name in a different paragraph but without spaces in-between and a superscript number indicating the affiliation;

c) complete affiliations of all authors (including laboratory or research institution). The format for this section is: font size 12, aligned to the left, each name in a different paragraph but without spaces in-between and a superscript number at the beginning of the affiliation;

d) correspondence author should be in the next paragraph, font size 12 and aligned to the left.

7. All work should be composed of the following chapters:

a) RESUMEN and ABSTRACT. Palabras clave y Key Words. The format for this section is: bold, font size 12 and centered. Both words (RESUMEN: and ABSTRACT:) must include a colon, be in bold and aligned to the left. The body of the abstract must be justified and in font size 12. Both palabras clave: and keywords: must include a colon, be in bold and aligned to the left. Keywords must be separated by a comma or semicolon, must be justified and in font size 12.

b) INTRODUCTION y METHODS. In the case of techniques or methods that are already known, they were mentioned only by appointment of the original publication in which they were released.

c) RESULTS. Accompanied with presentation of the required number of graphs, tables, figures or diagrams very close to the size which will be printed (19 x 14 cm).

d) DISCUSSION. A concise discussion of the results obtained, limited to what is original and other related directly and considered new data.

e) CONCLUSIONS. The format for sections Introduction, Results, Discussion and Conclusions is: bold, font size 16 and centered.



## FORMAT SPECIFICATIONS FOR THE BODY OF WORK

1. Sections: Font size 16, centered, bold, with the first letter capitalized.
2. Subsections / Secondary Subtitles: Font size 14, centered, bold, with the first letter capitalized. When there are second grade subsections format in size 13 bold and centered.
3. Body: Font size 12, justified. There should NOT be line breaks between paragraphs.
4. Footnotes should be at the bottom of each page, font size 12 and justified.
5. Textual quotation with more than three lines: Source size 12, left margin of 4 cm.
6. Image Title: Font size 12, centered and bold, separated by two points from its description. Description of the images: size 12.
7. Images Footnotes: Font size 12 and centered with respect to the image, the first letter must be in capital letters.
8. Images: must be in the body of the text, inserted in png or jpg format, at least 300 dpi resolution and centered. Images should be in line with the text. Graphs, charts, photographs, diagrams and, in some cases, tables and equations are considered images.
9. Text Tables: Only The title of the columns of the tables must be in bold. Scientific names must be in italics. It is recommended to use the Tables as images, they should be centered (at least 300 dpi resolution).
10. Footnotes: Font size 12 and centered with respect to the table, the first letter must be in upper case.
11. Equations can be in Mathtype 1 or in image. In the latter case, follow the instructions in point 8.
12. Quotations of the author and year type must be in parentheses, with the author's last name followed by the year (Souza, 2007), first letter in capital letters.

8. LITERATURE CITED. All references must be cited using the APA stile. POLIBOTÁNICA requires the use of Mendeley® (free reference manager) for the entire bibliography.

## STRUCTURE AND FORMAT OF ACKNOWLEDGMENTS AND BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

1. Acknowledgments must be after the last section of the body of the text. This information should be titled the word "Acknowledgments", or its equivalent in another language, in bold, size 12 and centered. The text of this information must be in size 12 justified.
2. Bibliographical references should be in alphabetical order without paragraph line jump, aligned to the left, in size 12.
3. Appendices, annexes, glossaries and other materials should be included after the bibliographic references. If these materials are extensive they should be created as PDF files.

## 9. REVIEW AND PUBLICATION

All articles submitted to the journal for publication will undergo a review "double-blind", they will be sent at least a couple of referees, recognized national or international experts that reviewed and evaluated and will be finally recommended the relevance or the publication of the article, it is noteworthy that this is the means that we have to take care of the level and quality of published articles.

Once accepted the article, the author will be charged \$15 USD per text page, regardless of how many pictures it contains.

Toda correspondencia relacionada con la revista deberá ser dirigida a:

**Dr. Rafael Fernández Nava**  
Editor en Jefe de

## POLIBOTÁNICA

Departamento de Botánica  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional  
Apdo. Postal 17-564, CP 11410, Ciudad de México

Correo electrónico:  
*polibotanica@gmail.com*  
*rfernand@ipn.mx*

Dirección Web  
*http://www.polibotanica.mx*

POLIBOTÁNICA es una revista indexada en:

CONAHCYT, índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología.

SciELO - Scientific Electronic Library Online.

Google Académico - Google Scholar.

DOAJ, Directorio de Revistas de Acceso Público.

Dialnet portal de difusión de la producción científica hispana.

REDIB Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico.

LATINDEX, Sistema regional de información en línea para revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal.

PERIODICA, Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias.



**ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE  
DIAFANIZACIÓN VEGETAL EN LAS  
ESPECIES: *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae),  
*Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae)  
Y UNA SPERMATOFITA *Pyracantha koidzumii*  
Hayata Rehder (Rosaceae)**

**STANDARDIZATION OF THE PLANT  
DIAPHANIZATION PROCESS; OF *Adiantum*  
*pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.)  
Schott (Nephrolepidaceae) AND ONE  
SPERMATOPHYTA *Pyracantha koidzumii* Hayata  
Rehder (Rosaceae)**

**Márquez Juárez, R.C., A. Chowell-López, D. Martínez Mata, G. Sánchez Fabila, R. Moreno Colín, P.A. Badillo-Suárez, I.E.B. Manuell Cacheux, R. Monterrubio Valdivia**

ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE DIAFANIZACIÓN VEGETAL EN LAS ESPECIES: *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) Y UNA SPERMATOFITA *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae)

STANDARDIZATION OF THE PLANT DIAPHANIZATION PROCESS; OF *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) AND ONE SPERMATOPHYTA *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae)



**Estandarización del proceso de diafanización vegetal en las especies: *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) y una spermatofita *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae)**

**Standardization of the plant diaphanization process; of *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) and one Spermatophyta *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae)**

Márquez Juárez, R.C.,  
A. Chowell-López, D. Martínez  
Mata, G. Sánchez Fabila,  
R. Moreno Colín,  
P.A. Badillo-Suárez,  
I.E. B. Manuell Cacheux,  
R. Monterrubio Valdivia

ESTANDARIZACIÓN DEL  
PROCESO DE  
DIAFANIZACIÓN VEGETAL  
EN LAS ESPECIES: *Adiantum  
pedantum* L. (Pteridaceae),  
*Nephrolepis exaltata* (L.) Schott  
(Nephrolepidaceae) Y UNA  
SPERMATOPHYTA *Pyracantha  
koidzumii* Hayata Rehder  
(Rosaceae)

STANDARDIZATION OF  
THE PLANT  
DIAPHANIZATION  
PROCESS; OF *Adiantum  
pedantum* L. (Pteridaceae),  
*Nephrolepis exaltata* (L.) Schott  
(Nephrolepidaceae) AND ONE  
SPERMATOPHYTA  
*Pyracantha koidzumii* Hayata  
Rehder (Rosaceae)

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 60: 79-89. Julio 2025

DOI:  
10.18387/polibotanica.60.5

**Ruth Concepción Márquez Juárez** <https://orcid.org/0009-0004-6818-7403>  
Cabecera de Botánica Facultad de Estudios Superiores Iztacala  
Av. De los Barrios 1, Los Reyes Iztacala, 54090, Tlalnepantla, Estado de México

**Arantxa Chowell-López** <https://orcid.org/0009-0007-8256-2910>  
**Diego Martínez Mata** <https://orcid.org/0009-0002-7947-9394>  
**Gabriela Sánchez Fabila** / [gsfabila@gmail.com](mailto:gsfabila@gmail.com)   
<https://orcid.org/0000-0003-0342-5402>

**Roberto Moreno Colín** <https://orcid.org/0000-0003-2155-1226>  
Laboratorio de Química y Fisicoquímica  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Av. De los Barrios 1  
Los Reyes Iztacala, 54090, Tlalnepantla, Estado de México

**Pilar Amellali Badillo-Suárez** <https://orcid.org/0000-0002-3933-4476>  
**Irma Estrella Beatriz Manuell Cacheux** <https://orcid.org/0009-0001-3683-0888>  
Laboratorio de Química y Fisicoquímica Facultad de Estudios Superiores  
Iztacala, Av. De los Barrios 1, Los Reyes Iztacala, 54090  
Tlalnepantla, Estado de México

**Rogelio Monterrubio Valdivia** <https://orcid.org/0009-0005-3427-6843>  
Taller de Equipo para Laboratorio de Enseñanza  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Av. De los Barrios 1  
Los Reyes Iztacala, 54090, Tlalnepantla, Estado de México

**RESUMEN:** La diafanización de plantas es una técnica que permite distinguir los diversos tipos de arquitectura vegetal. Sin embargo, ha sido subestimada debido a las complicaciones que presentan técnicas previas, como la técnica 5-5-5 (Arambarri, 2018), como lo es el uso del hidrato cloral el cual es un componente que conduce a la sedación, deprimiendo el sistema nervioso central.

Los objetivos de este trabajo fueron: Estandarizar la técnica de diafanización 5,5,5 en las especies de *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae) y *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) y *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae) evitando el uso de hidrato cloral; así como comparar la eficacia de diferentes colorantes.

Como pruebas preliminares, se analizaron flores, hojas y tallos de siete especies diferentes, y finalmente se seleccionaron hojas de dos especies de helechos *Adiantum pedantum* L. y *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott, así como tallos y hojas de *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae). Se tomó como referencia la técnica de clarificación 5-5-5 (Arambarri, 2018), reduciendo el tiempo de exposición de la solución clarificante para optimizar la absorción de los colorantes.

Se seleccionaron siete colorantes y dos combinaciones. Mediante el uso de azul de toluidina (AT), TS, ST, azul de metileno (AM) y violeta cristal (GV), se observó tejido vascular, esporangios en las pinnas del helecho y estomas.

Se identificó que el tiempo de diafanización varía según el tejido; se diferenciaron diversas estructuras mediante el uso de los 7 colorantes, consiguiendo una reducción del



77% del tiempo de realización y una disminución del 20% del costo, además al evitar el uso de hidrato cloral se reduce el costo, haciendo más accesible la técnica para la elaboración de material didáctico.

**Palabras clave:** Diafanización, histología, colorantes, tejidos vegetales, clarificación.

**ABSTRACT:** Plant diaphanization is a technique that allows to distinguish the various types of plant architecture; however, it has been underutilized due to complications associated with previous

techniques, such as the 5-5-5 method proposed by Arambarri (2018); such as the use of chloral hydrate, which is a component that leads to sedation, depressing the central nervous system.

The aims of this work were: Standardize the diaphanization technique 5,5,5, in the species *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae), *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) and *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae) avoiding the use of chloral hydrate; and compare the effectiveness of different dyes.

As preliminary tests, flowers, leaves, stems of 7 different species were analyzed, and finally the leaves of ferns of the species *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott and *Adiantum pedantum* L. as well as stems, leaves of *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder were selected. The 5-5-5 clarification technique (Arambarri, 2018) was taken as a reference, reducing the exposure time of the clarifying solution material to optimize the absorption of dyes.

Seven dyes and two combinations were selected. By using toluidine blue (AT), TS, ST, methylene blue (AM) and crystal violet (GV), the vascular tissue, sporangia could be observed in the pinnae of the fern and stomata.

It was identified that the diaphanization time varies depending on the tissue, several structures were differentiated from the use of the 7 dyes; achieving a 77% reduction in completion time and a 20% reduction in cost, furthermore, by avoiding the use of chloral hydrate, the cost is reduced, making the technique more accessible for the production of didactic materials.

**Key words:** Diaphanization, histology, dyes, plant tissue, clarify.

## INTRODUCCIÓN

Identificar las características anatómicas de las plantas resulta una herramienta básica para la investigación y la enseñanza en diferentes disciplinas de la botánica. Cada uno de los órganos de la planta (raíz, tallo, hoja y flor) está formado por diferentes tejidos, que derivan todos, por medio de la proliferación y la diferenciación celular (Apóstolo, 2021). Los tejidos pueden estar conformados por un solo tipo de células formando un tejido simple o por varios tipos celulares formando tejidos complejos (Valencia, 2014). De acuerdo con la clasificación propuesta por el botánico alemán Sachs, en el siglo XIX, los tejidos maduros se pueden agrupar en tres sistemas de acuerdo con su función y continuidad en el cuerpo vegetal: sistema fundamental, sistema de protección y sistema vascular, también se pueden usar otras clasificaciones basándose en el origen, la función o diferenciación morfológica (Megías *et al.*, 2020). Por ejemplo, los tejidos meristemáticos que pueden considerarse tejidos embrionarios que persisten en la planta durante toda su vida y son responsables del crecimiento permanente de la planta. Los tejidos meristemáticos primarios dan origen a otros tejidos y están relacionados con el crecimiento de las plantas, posibilitan el crecimiento en longitud y los meristemas secundarios permiten el crecimiento en espesor de las plantas dicotiledóneas leñosas y gimnospermas (Chuncho, 2019). Posteriormente aparecen los tejidos diferenciados o adultos, cuyas células han alcanzado diversos grados de maduración. Se incluyen aquí a la epidermis, tejidos mecánicos o de sostén, tejidos conductores, y el parénquima (Lavalle y Mengascini, 1998).

Para la determinación de caracteres anatómicos el estudio de los tejidos vegetales tiene un valor significativo en diferentes áreas por ejemplo, la industria alimentaria, la medicina, la paleontología, la industria del papel y la académica; esto comprueba que los análisis anatómicos son necesarios para realizar estudios interdisciplinarios para lo cual se han utilizado diversas

técnicas de estudio como: inclusiones en parafina, disociados, así como, técnicas de tinción y diafanización (Apóstolo, 2021).

La diafanización es la obtención de material transparente (clarificación) a partir de una técnica que aclara el tejido blando para equilibrar el índice de refracción de la luz en un organismo preservándolo, además de despigmentar las estructuras, dependiendo de su composición y función (Sandoval *et al.*, 2017). Esta técnica es comúnmente empleada en estudios de morfofisiología vegetal para resaltar principalmente la vascularización de las hojas y formar una imagen tridimensional del tejido.

Es importante recalcar que, la técnica de diafanización en las plantas facilita la observación de tejido vascular, células epidérmicas, y utilizando la safranina como colorante, permite observar la pared celular. Este pigmento es el más utilizado en la tinción vegetal ya que presenta afinidad por las paredes secundarias lignificadas, mientras que para teñir paredes no lignificadas (paredes celulares primarias) es común usar el cristal violeta o verde rápido.

A su vez, las plantas presentan pigmentos naturales como la clorofila, antocianinas y carotenos, los cuales facilitan la observación directa con el microscopio óptico, las paredes celulares también favorecen en la delimitación celular y la identificación de algunos tejidos con ciertas características morfológicas. De acuerdo con (Armiñana R. J. y Breijo G. F., 2006), en las técnicas de histología vegetal se pueden emplear tinciones, en las cuales la coloración se produce simplemente por inmersión en el colorante, como la tinción con Safranina, o se pueden utilizar colorantes metacromáticos, como el Violeta de Cresilo el cual tiñe de manera diferencial distintas estructuras, por ejemplo, tiñe color rojo violáceo paredes primarias no lignificadas y de color verde azulado las paredes secundarias lignificadas. Además, se puede recurrir a las combinaciones de colorantes, de forma sucesiva o simultánea, no obstante, en ocasiones las laminillas no alcanzan la calidad o nitidez necesaria por lo que se tendrían que combinar con alguna otra técnica como la diafanización.

En el caso de la técnica de clarificación 5-5-5 (Arambarri, 2018), los reactivos utilizados son Hidróxido de sodio (NaOH) al 5%, Hipoclorito de sodio (NaClO) al 5 % y 50% e Hidrato de cloral ( $C_2H_3Cl_3O_2$ ) al 5%, en el caso de este último reactivo debido a su condición de sustancia regulada por ser un compuesto con propiedades sedantes, hipnóticas y anticonvulsivas es difícil de obtener y con costo aproximado de \$950.00 MXN por lo que, se optó por hacer una modificación a la técnica original de diafanización, reduciendo el costo y evitando el uso de hidrato cloral cuya manipulación de este reactivo puede representar un factor de riesgo para los estudiantes, en caso de que ellos preparen las muestras.

Lo anteriormente mencionado deja en evidencia la relevancia que tendría el estandarizar la técnica de diafanización en los tejidos vegetales por lo que, este estudio tuvo como objetivo estandarizar la técnica de diafanización 5,5,5 en las especies de *Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae) y *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) y *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae) (<https://tropic.org/home>).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales biológicos empleados

Se obtuvieron muestras de material fresco recolectado en el Jardín Botánico de Iztacala (JABIZ) de la FES Iztacala en el mes de marzo de 2024, considerando un total de 10 muestras por género. Aunque inicialmente se analizaron flores, hojas, tallos y frutos de siete géneros, los datos sobre las especies completas no fueron detallados en los análisis comparativos previos. En este estudio, las especies que fueron evaluadas a profundidad fueron (*Adiantum pedantum* L. (Pteridaceae) y *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) y una Spermatophyta *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder (Rosaceae).

Después del proceso de diafanización, las preparaciones se observaron en un Microscopio óptico compuesto binocular “Motic” en el Laboratorio de Microscopía de la FES- Iztacala.

### Diafanización vegetal

**Tabla 1.** Comparación de la técnica de clarificación 5-5-5 (Arambarri, 2018) y las modificaciones realizadas.

**Table 1.** Comparison and modification of the 5-5-5 clarification technique (Arambarri, 2018).

	<b>Técnica de clarificación 5-5-5</b>	<b>Modificación</b>
Tratamiento previo	Material en fresco se fija 15 días en etanol al 50% o en FAA	El material fresco no se fijó en etanol, se sometió de inmediato al tratamiento clarificante.
Aclaramiento	Material en solución 1:1 de NaOH al 5% y NaClO al 5%, conservándolo a temperatura ambiente. El tiempo de decoloración, de acuerdo al material es altamente variable desde horas a 15 días, siendo el promedio 4 a 5 días.	Material en solución 1:1 de NaOH al 5% y NaClO al 5%. Tiempo de decoloración de 2-7 días.
	Retirar y lavar en cajas petri con agua corriente o agua destilada.	-Retirar y lavar con agua corriente 30 segundos.
	Colocar material en solución hipoclorito de sodio al 50% unos segundos o minutos.	-Colocar las muestras en etanol [80%] durante 5 días.
	Retirar y lavar con agua destilada 3-5 veces.	
	Una vez lavado el material se coloca en solución de hidrato cloral al 5% mínimo 24 horas.	
	En caso de obtener una total decoloración en la mezcla inicial de NaOH (5%) + NaClO (5%), se saltará el paso de la decoloración con hipoclorito de sodio (50%) y continuará con el lavado y sumersión en hidrato de cloral (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) al 5%, para su clarificación. El material puede permanecer varios días (nunca menos de un día).	
<b>Tiempo total</b>	25- 30 días dependiendo de la especie	7 días

Se tomó como referencia la técnica de clarificación 5-5-5 (Arambarri, 2018) misma que consiste en la diafanización de tejido vegetal usando [NaClO 5%], [NaOH 5%] y (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) al 5%, con un promedio de decoloración de 5 días en dicha solución.

La estandarización consistió en someter de inmediato el material vegetal a las soluciones clarificantes sin utilizar el hipoclorito de sodio al 50% y el hidrato cloral.

#### Tinción y montaje

En la técnica de clarificación 5,5,5, se utiliza Safranina al 1%, Safranina a saturación en alcohol 80% y Fucsina básica 0,5%. Para este estudio se optó por utilizar como colorante control la solución de safranina (S) y se probó con otros colorantes acuosos que suelen ser utilizados en diferentes técnicas histológicas como, azul de toluidina (AT), azul de metileno (AM), gelatina cristal-violeta (GV) o solo violeta de genciana (V), también se hicieron las combinaciones de azul de toluidina y violeta de genciana (TV) y Azul de Toluidina-gelatina safranina (ST). Como pruebas adicionales se utilizó la Fucsina básica (F) y la tinta china (TC).

Para el montaje de las muestras se utilizó gelatina-glicerina y se le agregaron los colorantes safranina y cristal violeta, las gelatinas se colocaron en baño María durante 10 minutos hasta que estuvieran en estado líquido, posteriormente se tomó cada una de las muestras y se colocó sobre el portaobjetos nuevo y limpio, adicionando una gota de la gelatina y finalmente se colocó el cubreobjetos limpio y seco en ángulo de 45° y se dejó caer suavemente.

**Tabla 2.** Procedimiento de tinción y montaje de las hojas diafanizadas.

**Table 2.** Staining and assembly procedure of the diaphanized leaves.

Colorantes	Técnica de clarificación 5,5,5	Modificación
-Safranina al 1% -Azul de Toluidina -Azul de Metileno -Cristal violeta 0.5% -Fucsina básica 0,5% -Tinta china -Gelatina cristal-violeta -Azul de Toluidina-violeta de genciana -Azul de Toluidina-gelatina safranina	Para la coloración con safranina se puede seguir la técnica indicada por Dizeo de Strittmatter (1973), el material se somete a etanol al 70% por 10 minutos, posteriormente se sumerge el material en solución saturada de safranina en etanol al 80%. Montaje en directo en gelatina-safranina y gelatina-fucsina	La mitad de las muestras se sometieron directamente a los colorantes, y la otra mitad se colocó en etanol por 5 días y posteriormente se enjuagaron en agua corriente durante 30 segundos después de realizar el proceso de tinción.

## RESULTADOS

Con el método anteriormente descrito se logró una buena diafanización en las hojas de *Adiantum pedantum*, *Nephrolepis exaltata* y *Pyracantha koidzumii*. En el proceso de diafanización las muestras fueron colocadas en una solución de [NaClO 5%] e [NaOH 5%] por 5 días tal como se menciona en la técnica original omitiendo el paso de colocar el material en hidrato de cloral al 5%. Considerando los tiempos propuestos por Arambarri en el 2018 la técnica de diafanización podría completarse en un tiempo de 25 a 30 días dependiendo la especie. Sin embargo, como se observa en la Tabla 1, con las modificaciones sugeridas la diafanización podría efectuarse en un tiempo promedio de 7 días logrando una reducción al menos del 77% del tiempo y al evitar el uso de hidrato cloral se puede reducir entre 15- 20% del costo.

Dentro de las pruebas se observó que las hojas de *Adiantum pedantum*, *Nephrolepis exaltata* y *Pyracantha koidzumii*, mostraron resultados favorables ya que se observó un mejor contraste pudiendo identificar fácilmente el tejido vascular, en el caso de *Nephrolepis exaltata* se observaron los esporangios, soros y las células epidérmicas. El proceso de clarificación fue de dos a 7 días, diafanizando rápidamente las hojas de las tres especies.

Inicialmente las pinnas de *Nephrolepis exaltata* estuvieron 5 días en solución de [NaClO 5%] e [NaOH 5%], sin embargo, la manipulación no fue sencilla, por lo que fue necesario reducir el tiempo de exposición en un rango de 24 a 48 horas.

Como se mencionó anteriormente para poder realizar las tinciones, se enjuagó el material con agua corriente por 30 segundos, la mitad de las muestras se sometieron directamente a los colorantes, y la otra mitad fue colocada en etanol por 5 días y un enjuague de 30 segundos para después realizar el proceso de tinción.

Como primeros resultados se notó que la fucsina no se impregnó en las muestras, la fucsina básica se utiliza como colorante de contraste y corresponde al reactivo denominado Violeta Ácido ( $C_{20}N_3H_{17}O_9S_3Na_2$ ), la función específica de contraste se explica por la presencia tanto de los anillos como del grupo  $NH_2$  es un colorante básico que se utiliza en histología vegetal para resaltar ciertas estructuras y componentes conargas negativas,

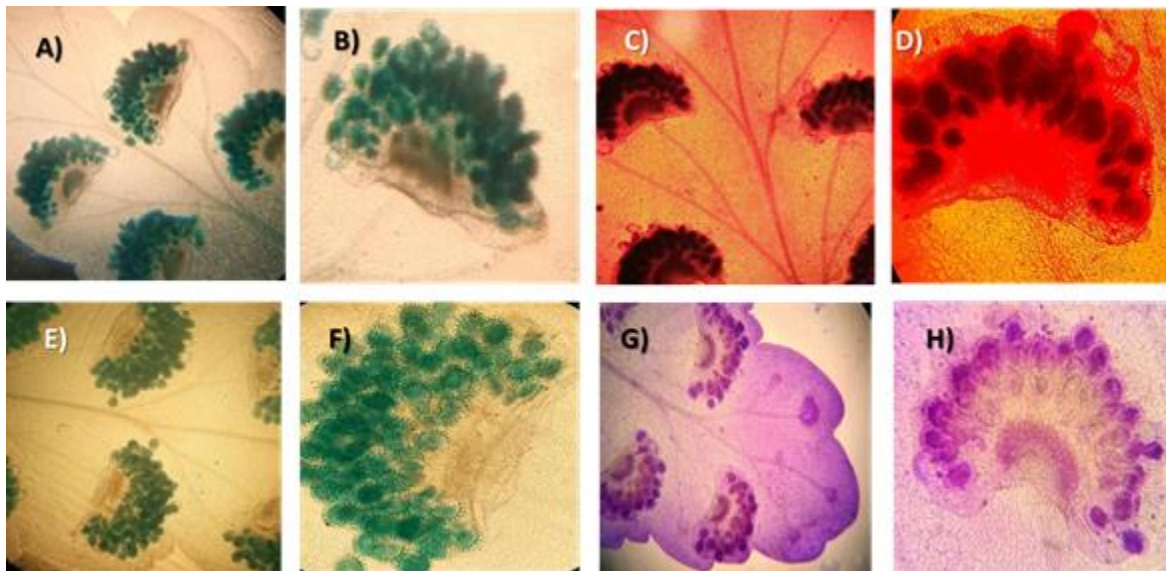
Por otro lado, el AM, así como el AT resultaron efectivos con tiempos de 10, 20 y 30 minutos, las mejores tinciones fueron las que se sumergieron en los colorantes 30 minutos después de estar en etanol [80%] por 5 días. La S y la tinta china sobresaturó el tejido de todas las muestras dejando



residuos en la preparación al momento del montaje e impidiendo la observación de estructuras vegetales nítidas, por lo que se descartaron. El uso de gelatina-glicerina, cristal violeta y safranina (GV, GS), ya sea solas o en las combinaciones de azul de toluidina-violeta de genciana y azul de toluidina - gelatina-glicerina- safranina (TV o TS) tuvieron resultados favorables, ya que, se lograron observar diferentes estructuras celulares.

De todas las preparaciones que se realizaron en ensayos previos no se lograron buenos resultados con flores y tallos. Sin embargo, los resultados fueron satisfactorios para las hojas de *Adiantum pedantum*, *Nephrolepis exaltata* y *Pyraecantha koidzumii* teñidas con AT, AM, GS, GV, TV y TS, descartando los colorantes que no se impregnaron o dejaron residuos en las muestras, ya que impedían la identificación de estructuras vegetales.

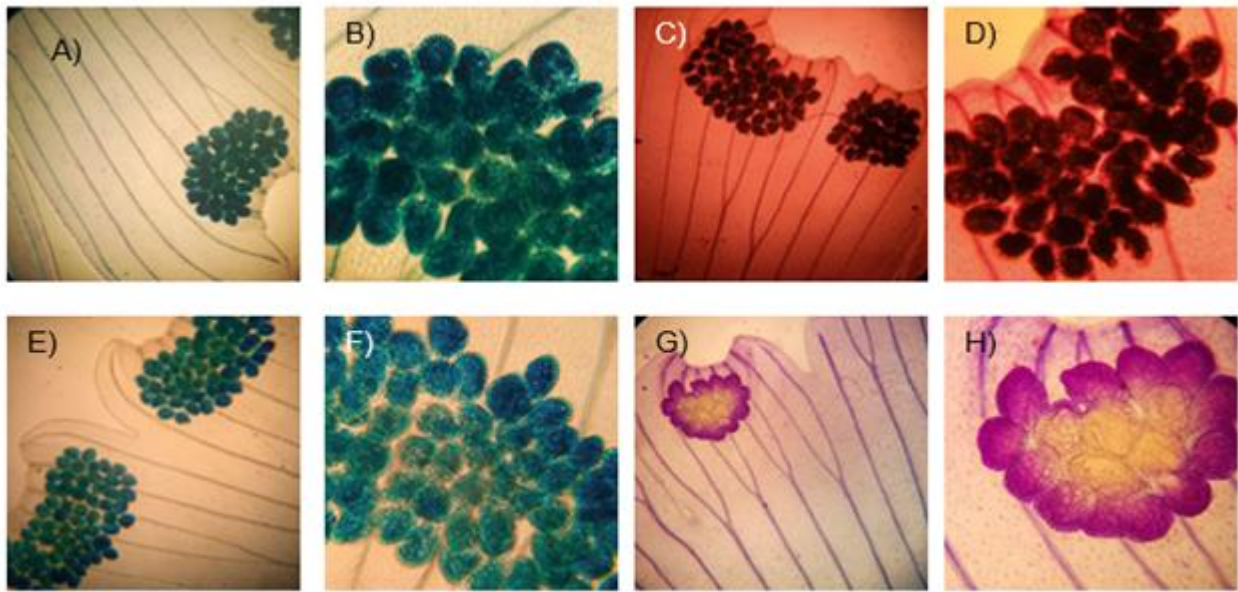
Al usar el AT, TS, AM y GV en las pinnas del helecho se pudo observar el tejido vascular y los soros, tal como se observa en la Figura 1.



**Figura 1.** Pinna de *Nephrolepis exaltata* (L.), se aprecia la pinna con esporangios a diferentes aumentos 4x (A, C, E, G) y (10x (B, D, F, H), resaltando la venación y los soros. A) Soros AT (30 min), B) Soros AT (30 min), C) Soros ST (30 min), D) Soros ST (30 min), E) Soros AM (30 min), F) Soros, AM (30 min), G) Pinna, GV (0 min), H) Soro GV (30 min).

**Figure 1.** Pinna de *Nephrolepis exaltata* (L.), the pinna with sporangia can be seen at different magnifications 4x (A, C, E, G) and (10x (B, D, F, H)., highlighting the venation and sori. A) Soros AT (30 min), B) Soros AT (30 min), C) Soros ST (30 min), D) Soros ST (30 min), E) Soros AM (30 min), F) Soros, AM (30 min), G) Pinna, GV (0 min), H) Soro GV (30 min).

En las preparaciones de AT, GV y TV se potencia el contraste de estructuras pues permite diferenciar el tejido vascular y los soros con más claridad. Sin embargo, al usar TS se pierde la claridad en la diferenciación de las estructuras.

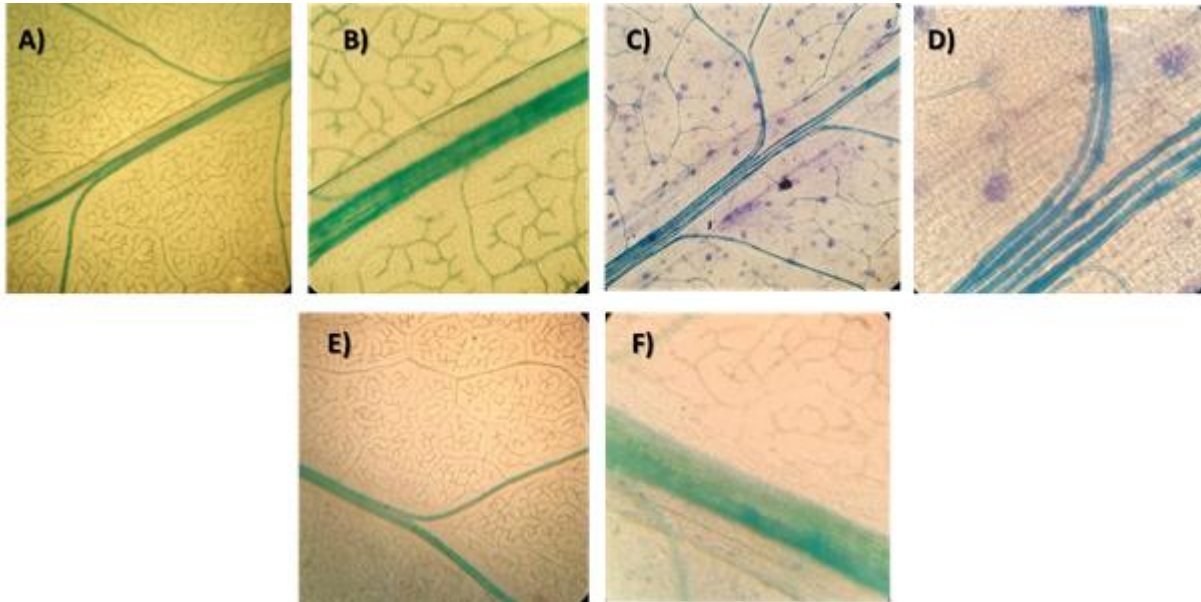


**Figura 2.** Pinna de *Adiantum pedantum* L. se aprecia la pinna con esporangios marginales en diferentes aumentos 4x (A, C, E, G) y (10x (B, D, F, H). A) Soros AT (30 min), B) Esporangio, AT (30 min), C) Soros ST (30 min) D) Esporangio ST (30 min) E) Soros AM (30min), F) Esporangio AM (30min), G) Pinna GV, H) Esporangio, GV.

**Figure 2.** Pinna de *Adiantum pedantum* L. The pinna with marginal sporangia can be seen at different magnifications 4x (A, C, E, G) and (10x (B, D, F, H). A) Soros AT (30 min), B) Sporangium AT (30 min), C) Soros ST (30 min) D) Sporangium ST (30 min) E) Soros AM (30min), F) Sporangium AM (30min), G) Pinna GV, H) Sporangium GV.

Cuando se utiliza únicamente GV se tiñen con mayor intensidad las paredes celulares, pero se pierden detalles de la pinna del helecho, en el caso de ST se tiñen bien las paredes celulares, sin embargo, el color rojo se impregna de tal forma que impide ver con claridad la diafanización del tejido tanto en los helechos como en *Pyraecantha koidzumii*.

En la figura 3 la tinción con AM en *Pyraecantha koidzumii* presenta una coloración más clara en comparación con AT y TV, el AM tiñó con claridad las venaciones de la hoja, sin embargo, 30 minutos no fue suficiente para que se impregnará el colorante por lo que no se observaron con nitidez las paredes celulares.



**Figura 3.** Hoja de *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder se aprecia las venas y el tejido epidérmico en diferentes aumentos 4x (A, C, E, G) y (10x (B, D, F, H). A) AT (30min) B) Hoja AT (30min)10 C) Hoja TV (30min) D) Hoja TV (30min) E) Hoja AM (30min) F) Hoja AM (30min).

**Figure 3.** Leaf of *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder the veins and epidermal tissue can be seen at different magnifications 4x (A, C, E, G) and (10x (B, D, F, H). A) AT (30min) B) Hoja AT (30min)10 C) Hoja TV (30min) D) Hoja TV (30min) E) Hoja AM (30min) F) Hoja AM (30min).

## DISCUSIÓN

El método de Arambarri (2018) describe cuatro etapas, que son el tratamiento previo, la clarificación, la tinción y el montaje. El método propuesto en este artículo consta de cinco procesos en dos etapas omitiendo la fijación en alcohol y comenzando el proceso de aclaración vegetal en las soluciones clarificantes NaOH al 5% y NaClO al 5% (1:1), se excluyeron las fases de introducir el material en hipoclorito de sodio al 50%, retirar y lavar de 3 a 5 veces, y colocar el material en solución de hidrato cloral al 5%.

Arambarri indica que el tratamiento previo es importante, considerando que el trabajo con material fresco generalmente es más difícil que hacerlo con material herborizado, sin embargo, depende del órgano y su composición química. En la técnica original se menciona que debe permanecer el material fresco por lo menos 15 días en etanol [50%] antes de comenzar la clarificación. En la modificación que se realizó, los materiales fueron colocados de inmediato en la solución clarificante con un tiempo menor a los 5 días indicados por Arambarri para posteriormente ser fijados en etanol [80%] por 5 días.

En la técnica 5-5-5 Arambarri (2018) utiliza safranina líquida al 1% con agua destilada y etanol al 80%, este método se aplicó en las muestras, pero en cuanto se sumergieron en la safranina el tejido se sobresaturó, por lo que se optó por utilizar gelatina-safranina para montar y teñir, sin embargo, se perdió la transparencia y nitidez de las estructuras vegetales.

Se usó fucsina básica como una alternativa más en las tinciones, pero al someter las muestras en esta solución no se tiñó la muestra, contrario a lo realizado por Arambarri, quien utilizó gelatina con fucsina básica, el cual es un colorante catiónico, esta característica le confiere afinidad por las estructuras celulares y los componentes ácidos de los tejidos. Por lo tanto, se utiliza ampliamente en técnicas de tinción para resaltar y visualizar estructuras como los núcleos celulares, considerando que permite una tinción selectiva de ciertos componentes celulares, las muestras vertidas en este colorante no se pigmentaron por lo que también fue descartado.

Se observó que las pinnas de helechos pueden ser un modelo adecuado para la diafanización por su resistencia a la solución clarificante, un fácil manejo a la tinción y montaje, además al teñirlas con AM y AT, solos o con una doble tinción genera un contraste de color lo que permite ver con claridad el tejido vascular, estomas y soros. Estas observaciones concuerdan con las de Tejero, et al., 2010, quien por medio de la diafanización de las hojas pudo identificar patrones de venación en *Polypodium plesiosorum sensu Moran* (Polypodiaceae) junto con la posición de los soros usando hidróxido de sodio al 2% en lugar de 1%, con la modificación propuestas en este trabajo la estructura de los esporangios y esporas se observan más nítidamente, lo que implica una buena alternativa para la identificación taxonómica de dichas estructuras.

Los métodos de aclaración en las hojas son utilizados principalmente para observar la arquitectura foliar y caracteres específicos que ayudan a diferenciar los taxones, tal como lo reportan Rodríguez y Romero en 2007 en donde observaron los patrones de venación, areolas y estomas en hojas de diez especies de encinos, en esta investigación seleccionaron hojas que sometieron a un proceso de aclaramiento, para lo cual se sumergieron en una solución de hidróxido de sodio (NaOH) a 5% y se dejaron hervir durante 10 minutos, después se lavaron en agua corriente y se colocaron en una solución caliente de hipoclorito de sodio (NaClO) a 30% hasta que quedaron blancas, enseguida se lavaron con agua corriente. Para realizar la tinción, las hojas aclaradas se colocaron en safranina alcohólica a 1% durante 45 minutos. Después se hicieron cambios graduales de alcohol, a 60%, 70%, 80% y 96%, de 15 minutos cada uno; posteriormente se colocaron en xilol hasta lograr su aclaramiento.

Por otro lado, Hernández y colaboradores en 2021, estudiaron las hojas de diez especies de *Gouania* (Rhamnaceae) para México con el propósito de identificar aspectos morfológicos y anatómicos foliares que pudieran permitir la diferenciación de los taxones. Las hojas completas de cada una de las especies fueron diafanizadas por separado mediante la técnica de Aguirre-Claverán y Arreguín-Sánchez (1988, p. 11). Las láminas aclaradas permanecieron en cajas de Petri con agua y se tomaron fotografías de este material. Posteriormente una parte de las hojas, fueron teñidas con dos gotas de azul de metileno comercial fish care por un minuto y después se pasaron a otra caja con agua. A la otra parte de las láminas foliares se les añadió dos gotas de safranina por dos minutos y se colocaron en cajas de Petri con agua, como medio de montaje se utilizó una solución de miel de maíz con agua 1:1 y trazas de fenol, para posteriormente tomar fotografías de este material.

Cabe mencionar que en los métodos de montaje se deben de considerar el objetivo del estudio, el origen y características de la muestra, por ejemplo, se pueden obtener preparados frescos en donde el medio de montaje es agua o glicerina-agua y los preparados se descartan posterior a su visualización, en los preparados semipermanentes, como medio de montaje se utiliza glicerina-agua o gelatina-glicerina. Los bordes del cubreobjeto se sellan sobre el portaobjeto con esmalte o un adhesivo, para reducir la deshidratación y el ingreso de contaminantes. Este tipo de preparados duran varios meses o años, dependiendo del cuidado durante la manipulación de la muestra, montaje y sellado y finalmente los preparados permanentes, generalmente la secuencia se organiza como conservación, fijación, deshidratación, inclusión, cortado, pegado, coloración, montaje y observación. El resultado es un preparado que puede utilizarse por décadas (Suárez *et. al.*, 2022).

Es importante destacar que en la FES Iztacala contamos con materiales limitados para la preparación de muestras sobre todo para la enseñanza, por lo cual se utilizaron los materiales con los que se disponía en el laboratorio.

## CONCLUSIONES

Se redujeron costos ya que se utilizó para el lavado agua corriente en lugar de agua destilada y se omitió el uso de hipoclorito de sodio al 50% e hidrato cloral.

Las mejores tinciones fueron las que se sumergieron en los colorantes 30 minutos después de estar en etanol [80%] por 5 días.



En hojas diafanizadas de *Adiantum pedantum* L., *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott (Nephrolepidaceae) y *Pyracantha koidzumii* Hayata Rehder, se compararon siete tinciones con colorantes simples y dos combinaciones, considerando que los de mayor efectividad fueron cristal violeta, azul de toluidina, azul de metileno, gelatina cristal violeta, azul de toluidina, y la combinación de azul de toluidina-violeta de genciana.

Finalmente es importante destacar que los estudios anatómicos e histológicos del tejido vegetal se relacionan con diferentes intereses científicos, tecnológicos y educativos, por ello la técnica propuesta puede ser útil y de bajo costo para generar colecciones para la docencia e investigación.

## LITERATURA CITADA

- Aguirre Claverán, R., & Arreguín Sánchez, M. (1988). *Claves de Familias, géneros, especies y variedades de Pteridofitas de Nuevo León*. 29–41.
- Apóstolo, M. Nancy. (2021). *Atlas de Anatomía Vegetal* (1a ed.). Editorial Universidad Nacional de Lujan.
- Chuncho, V. Guillermo A., Chuncho M. Carlos G., & Aguirre M. Zhofre H. (2019). *Anatomía y Morfología Vegetal* (1a ed.). EDILOJA Cia. Ltda.
- Hernández-Peñaloza, K., Fernández-Nava, R., & Arreguín-Sánchez, M. L. (2021). Arquitectura foliar y anatomía epidérmica de las especies mexicanas del género *Gouania* (Rhamnaceae). *Polibotánica*, 0(52), 151–174. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.52.11>
- Lavalle, M. M. A. (1998). *Manual de Temas Botánicos* (2a ed.). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.
- Suarez, A. S., Albana Di Palma, M., Cardozo, G. P., & Travaglia N. C. (2022). *Técnicas de Histología Vegetal. Un Abordaje para su Utilización en Microscopía Óptica* (1a ed.). UniRío.
- Arambarri, A. M. (2018). La “técnica de clarificación 5-5-5”, un método natural para el tratamiento de material vegetal. *Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica*, 53(4), 1–10. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.V53.N4.21980>
- Armiñana, R. J., & Breijo G. F. (2006). *Técnicas de histología vegetal* (Vol. 16). Jardín Botánico de Valencia.
- Megías, M., Molist, P., & A. Pombal, M. (2020). *Tejidos vegetales vasculares* (Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud., Ed.; Vol. 5). Facultad de Biología. Universidad de Vigo. <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/v-conduccion.pdf>
- Rodríguez, R. I. S., & Romero R. S. (2007). *Arquitectura foliar de diez especies de encino (Quercus, Fagaceae) de México*. *Acta Botánica Mexicana*. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-71512007000400002&script=sci\\_abstract&tlng=es](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-71512007000400002&script=sci_abstract&tlng=es)
- Sandoval, D., Tellez, J., Rivera, G., Moreno, S., & Moreno, F. (2017). Técnica de diafanización para describir el desarrollo embrionario del sistema óseo. Revisión de la literatura. *Universitas Médica*, 57(4), 488–501. <https://doi.org/10.11144/JAVERIANA.UMED57-4.TDDD>
- Tejero, D. J. D., Aguilar R. S., Terrazas, T., & Pacheco, L. (2010). Arquitectura y anatomía foliar del complejo *Polypodium plesiosorum* sensu Moran (Polypodiaceae). *Revista de Biología Tropical*, 58(3), 955–976. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442010000300012&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442010000300012&lng=en&nrm=iso&tlng=es)
- Valencia, A. S. (2014). *Introducción a las embriofitas*. Dirección General de Publicaciones y Fomento Editorial UNAM. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=1wqnDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA6&dq=introduccion+a+las+embriofitas&ots=XF6ei5dbwq&sig=orn7dMRnVWRAE\\_odC u2DYc92nQM#v=onepage&q=introduccion%20a%20las%20embriofitas&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=1wqnDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA6&dq=introduccion+a+las+embriofitas&ots=XF6ei5dbwq&sig=orn7dMRnVWRAE_odC u2DYc92nQM#v=onepage&q=introduccion%20a%20las%20embriofitas&f=false)
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 18 May 2025 <<https://tropicos.org>>