



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

**Escuela Nacional de Estudios Profesionales  
Iztacala**

**POSIBLE PARTICIPACION DEL FITOCROMO Y EL ACIDO  
GIBERELICO EN LA GERMINACION DE SEMILLAS DE  
Amaranthus hipochondriacus L. (ALEGRIA).**

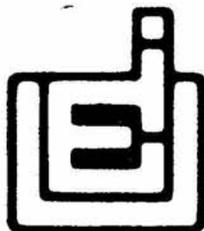
**T E S I S**

Para obtener el título de :

**B I O L O G O**

**P r e s e n t a**

**MA. DE LA LUZ FRANCO ESPINOSA**



**México, D. F.**

**1989**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres

Por su apoyo moral y económico  
que siempre me han brindado.

A mis segundos padres (Tere y Tele), hermanos,  
sobrinos y a mi abuelita Juanita.

A mi focolar

"El dolor es capaz de producir la  
felicidad que los hombres y los  
jóvenes han esperado".

Agradesco a la Bióloga Elba Martínez por la dirección del presente trabajo. Así mismo a los M. en C. Ofelia Grajales, Sergio González, Ernesto Aguirre, Gabriel Camarena y al Biólogo Alberto Arriaga por la revisión y las sugerencias aportadas.

También Agradesco a Francisco Camacho su ayuda incondicional y al Dr. Velis Fintos por las sugerencias en la parte estadística.

Mi especial agradecimiento a mi madre y a las personas que me ayudaron a terminar este trabajo.

## C O N T E N I D O.

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	
II.1 Generalidades del Amarantho	2
II.2 Germinación	5
II.3 La participación del fitocromo en la germinación	8
II.4 El papel de la giberelina en la germinación	14
II.5 Trabajos afines al género <u>Amaranthus</u>	19
III. MATERIALES Y METODOS	24
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	32
V. CONCLUSIONES	62
VI. REFERENCIAS	64

## I. INTRODUCCION.

Dada la crisis económica por la que atraviesa nuestro país, en donde los alimentos básicos están cada día mas fuera del alcance de los sectores de bajos recursos, se hace necesario buscar alimentos que los sustituyan proporcionando los nutrientes necesarios. Un posible candidato puede ser el amaranto debido a sus características nutritivas.

Estudios bromatológicos realizados por el Instituto de Nutrición indican que las semillas de amaranto contienen grasas, carbohidratos, minerales y proteínas, con aminoácidos esenciales como la lisina y metionina que no es común en los cereales y limita su valor biológico. Por otra parte esta planta es — ampliamente aprovechada, pues de las semillas se extrae harina para preparar — tortillas, galletas o pan, también se consume en forma de dulce (alegría) y las partes verdes se utilizan para preparar ensaladas, sopa o guisos (Marroqui, 1980).

Cuando una especie tiene importancia económica o alimenticia, como es el caso de Amaranthus hypochondriacus es necesario conocer los diferentes aspectos de la misma, como las condiciones adecuadas para su cultivo, su ecología, su fisiología etc. Una parte importante de este último aspecto es la germinación.

Los factores involucrados en la germinación son endógenos y exógenos. — Estos últimos son: agua, gases, temperatura y luz. La sensibilidad a la luz es modulada por un pigmento fotorreceptor llamado fitocromo. Sobre este aspecto existe muy poca información (Kendrick & Frankland, 1969; Taylorson & Hendricks, 1971; Kendrick et. al 1969; Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985), la cual no es sobre A. hypochondriacus sino sobre otras especies del género Amaranthus.

Por esta razón el presente trabajo tiene los siguientes objetivos:

- a) Conocer las condiciones óptimas para la germinación de las semillas de A. hypochondriacus.
- b) Analizar la posible intervención del fitocromo en la germinación de esta — especie.
- c) Conocer el efecto del ácido giberélico ( $GA_3$ ) exógeno en la germinación de A. hypochondriacus.

## II. ANTECEDENTES

### II.1 Generalidades del amaranto

Las familias *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae* y *Polygonaceae* son conocidos en la terminología vulgar como pseudocereales quizás por producir granos o semillas del tipo común a los cereales pero de tamaño más pequeño. En dicho grupo está comprendido el género *Amaranthus* con más de 50 especies, cuyo grano y sus hojas poseen valiosos componentes químicos que lo sitúan entre los alimentos naturales más nutritivos (Marroqui, 1980). Esto ha sido comprobado por estudios bromatológicos realizados por el Instituto de Nutrición, los cuales indican — que las semillas de amaranto contienen el 14.7 de proteínas; 3.1 de grasas y el 60.7 de carbohidratos; es muy rica en minerales tales como el calcio (510 mg.), fósforo (397 mg.) y hierro (11 mg.); además contienen todos los aminoácidos — esenciales incluyendo lisina y metionina, los cuales no se presentan en los — cereales limitando esto su valor biológico, (Marroqui, 1980).

Es muy probable que el amaranto sea originario de América, pero no está claro cuál de las especies silvestres dió origen a las cultivadas; sólo se sabe que *A. leucocarpus* es morfológicamente similar a dos especies silvestres *A. hybridus* y *A. powellii*, ambas muy disímiles en el Norte y Centroamérica. *A. oruenthus* es más parecida a *A. dibius* de América central y las indias occidentales; mientras *A. caudatus* y *A. edulis* son más cercanas a una especie silvestre sudamericana. En fin, es muy difícil determinar si las especies cultivadas se derivan de ésta o de otras similares por selección simple o bien son de origen híbrido complejo (Marroqui, 1980).

Cualquiera que sea el origen de estas plantas se debe reconocer que el amaranto paniculado (*A. hypochondriacus*) creció en México y en el suroeste de Estados Unidos en tiempos precolombinos (Marroqui, 1980).

El amaranto fue domesticado por los indios mexicanos desde hace 4000 años, al grado que ocupó el lugar de alimento básico al lado del maíz, frijol y calabaza. Sin embargo hubo una confusión con respecto de los nombres indígenas

y la descripción botánica; así por ejemplo, los términos vulgares de Tzcoale, huauhtli, guegui y bledo parece en ocasiones referirse al género Chenopodium - pero Urbina & Sifad (cit. por Marroqui, 1980) han aclarado que el término huauhtli se refiere especialmente a la alegría o sea a la planta, extendiéndose a los que lites y plantas comunes.

Los indígenas aparte de utilizar el amaranto como alimento también lo empleaban en ceremonias religiosas en donde construían a su dios de semillas de amaranto, preparaban atole y tamales de lo mismo. Al terminar la ceremonia se comían todo incluyendo la figura del dios (Martínez, 1959).

En México la especie comúnmente utilizada para el cultivo es A.hipochondriacus (se le considera la más antigua en el área, posiblemente después pasó a Europa y Asia) También A.cruentus (A.papiculatus) A.hibridus y A.retroflexus (Marroqui, 1980).

En la cuenca de México se cultivan dos variedades de A.hipochondriacus la roja y la blanca; en el estado de México se cultivan tres:

- a) Cacahuacente.- sus semillas son de color amarillo bajo, tirando a blanco, grandes y de muy buena calidad, es la más estimada por su alto rendimiento.
- b) "ojo de pajarero"
- c) Quitlacoche.- Esta última es la menos estimada por su bajo rendimiento y el tamaño de sus semillas, que es muy pequeño (Marroqui, 1980).

Crece en climas templados y con una altura como la de Tulyehualco en donde su período vegetativo es de 7 meses y alcanza una altura de 2.5 m. También se puede cultivar en climas tropicales y subtropicales, en donde su período vegetativo es de 5 meses y alcanza una altura de 2 m. (Xalapa, 1984).

Los suelos deben ser sueltos, fértiles, húmedos y permeables. Estas plantas son resistentes a la sequía y heladas anticipadas; estas últimas destruyen las hojas pero el grano no se ve afectado (Marroqui, 1980).

La planta florece en septiembre y agosto, la cosecha es a fines de octubre y principios de noviembre, los campesinos recolectan las panojas antes de que se pongan duras, pues en este estado es muy fácil que se desgranen. Las panojas se ponen a secar en surcos, después se desgranarían azotándolos

con una vara sobre una tela extendida en el suelo. El vareo no siempre basta para desprender todas las semillas, así que se frota las panojas con las manos, después se ciernen y se colocan en sacos en un lugar seco (Marroqui, 1980).

Dado que este cultivo es agotante se aconseja hacer rotación de cultivos con frijol y otras leguminosas (Martínez, 1959; Marroqui, 1980).

En México se cultivan en los estados de Jalisco (aislado o asociado con maíz) Oaxaca, Guerrero, Sonora, Durango, Tlaxcala y Nayarit, en los dos últimos con un rendimiento de 600 Kg./Ha. en el valle de México se cultiva principalmente en Tulyehualco, ya sea por chinampas o por siembra directa, con un rendimiento de 800 Kg./Ha. (Marroqui, 1980).

Desde la época precolombina el amaranto se utiliza para preparar atole, tamales, pinole y otros productos primitivos, que actualmente se sigue comiendo en algunas regiones. En nuestros tiempos se extrae harina de las semillas para preparar tortillas, galletas o pan; las partes verdes se consumen en ensaladas y sopas o guisos. El más conocido y el que más se produce es el dulce llamado "Alegria" (Marroqui, 1980).

## II. 2 Germinación.

Una semilla está formada por un embrión y su provisión almacenada de alimento, rodeadas ambas por cubiertas protectoras. Es definida como un sistema vivo en reposo o estado de latencia, ya que sus procesos metabólicos se lleva a cabo muy lentamente o se encuentran detenidos, pero poseen la información genética necesaria para desarrollar en condiciones espacio-temporales dadas una plántula que manifestará las características fenotípicas de sus antecesores (Cruz, 1984).

El aletargamiento de los procesos metabólicos de la semilla es suspendido cuando se inicia la germinación, la cual es definida como la reanudación del crecimiento activo del embrión provocando la ruptura de la cubierta protectora y la emergencia de una plántula joven (Copelan, 1976; Hudson & Dale, 1980).

Se distinguen tres etapas que son: la imbibición y activación de la síntesis proteica; digestión y traslocación y por último división y alargamiento celular.

La germinación está controlada por mecanismos intrínsecos de la semilla y es disparada por factores ambientales externos a la misma. En el primer caso se dice que la semilla está latente y en el segundo está quiescente (Hudson & Dale, 1980). En consecuencia, para que la germinación empiece se deben llenar tres condiciones:

- a) la semilla debe ser viable, esto es, el embrión debe estar vivo y tener capacidad para germinar.
- b) Las condiciones internas de la semilla deben ser favorables para la germinación, esto es, deben haber desaparecido las barreras físicas o químicas para la germinación.
- c) Las semillas deben encontrarse en las condiciones ambientales apropiadas, como son:

- 1.- El agua: es esencial para la activación enzimática. La humedad óptima del suelo para la germinación de algunas especies (frijol, apio y lechuga) por lo

general es la capacidad de campo, por el contrario algunas especies ( la espinaca) germinan cuando el suelo presenta el punto de marchitez permanente. La humedad afecta tanto el porcentaje, como la velocidad de germinación.

Cuando las semillas se colocan en agua se inicia la imbibición, cuya velocidad varía en función del tiempo notándose tres fases:

- a) una absorción inicial rápida en la cual la mayor parte es de imbibición.
- b) Un período lento.
- c) Un segundo incremento al emerger la radícula y desarrollarse la plántula (Hudson & Dale, 1980).

2.- Gases: Los componentes del aire son: 20 % de oxígeno, el .03 % de dióxido de carbono y el 80 % de gases nitrogenados. Se ha observado que la mayoría de las semillas retardan su germinación cuando se presentan bajas concentraciones de oxígeno, por el contrario algunas especies como el arroz y algunas plantas acuáticas germinan con elevadas tensiones de dióxido de carbono (Copelan, 1976). El oxígeno es esencial para los procesos respiratorios que se efectúan durante la germinación. En general la absorción de oxígeno es proporcional a la actividad metabólica.

Un exceso de agua provoca poca solubilidad y lenta difusibilidad del oxígeno en el medio, limitando la provisión de éste para la semilla.

3.- Temperatura.- Tal vez es el factor de mayor importancia que regula la germinación y el crecimiento subsecuente de las plántulas. La temperatura se refiere a mínima, óptima y máxima, ésta va a variar dependiendo de la especie y el lugar donde se desarrollen. Así encontramos especies que germinan a temperaturas bajas de alrededor de 4.5°C, hasta menores de 25°C y se les denomina semillas de estación fría (Hudson & Dale, 1980). Algunas especies tales como la lechuga el apio y la escarola presentan sensibilidad a temperaturas elevadas o termoletargo. Por lo común el termoletargo de semillas secas va asociado con la sensibilidad a la luz y otros fenómenos de letargo y tienden a desaparecer con almacenamiento en seco (Hudson & Dale, 1980).

La calabaza, frijol, pimienta, tomate y espárrago se les clasifica de estación cálida y crecen en regiones tropicales y subtropicales (Hudson & Da-

le, 1980).

La temperatura afecta el porcentaje y la velocidad de germinación; por lo general la velocidad aumenta en forma directa con la temperatura, presentándose un descenso cuando se acerca a temperaturas letales.

La temperatura óptima es la más favorable para la germinación de una planta, en las semillas quiescentes la temperatura óptima es de 26 a 35 °C (Hudson & Dale, 1980).

La temperatura también afecta la velocidad de imbibición; con el incremento de ésta se incrementa la velocidad de absorción.

4.- La luz. Mientras la humedad, el oxígeno y la temperatura son esenciales para la germinación de todas las semillas, la luz no lo es pues ésta puede inhibirla o estimularla dependiendo de la especie. Algunas especies de los siguientes géneros son inhibidas en su germinación por la luz (Phacelia, Nigella, Amaranthus y Phlox); a diferencia de Atriplex hastata, Stachys sylvatica y Mysotis arvensis, así como algunas especies empleadas para el cultivo (Apio, lechuga y tabaco), epífitas (Muérdagos e higera estranguladora) requieren de la luz para germinar.

Los requerimientos de luz tienden a desaparecer con el almacenamiento en seco, enfriamiento, alternancia de temperatura o tratamiento químico con nitrato de potasio, ácido giberélico, quinetina o tiourea (Hudson & Dale, 1980).

De acuerdo al tipo de factores que inhiban la germinación, las semillas se clasifican en latentes y quiescentes. En la primera la inhibición producida por mecanismos internos, propios de la semilla. Se habla de quiescencia cuando la semilla es capaz de germinar en cuanto se le exponga a las condiciones ambientales adecuadas.

## II. 3 La participación del fitocromo en la germinación.

Uno de los factores que afectan la germinación es la luz, ya sea estimulándola o inhibiéndola, en base a esto las semillas se clasifican en fotoblásticas positivas o negativas respectivamente; también existen otras semillas — que son indiferentes a la luz, es decir que germinan tanto en la luz como en la oscuridad, a éstas se les denomina no fotoblásticas.

El fotorreceptor que detecta la presencia o ausencia de luz es una cromoproteína de nombre fitocromo. Esta molécula constituida por un cromóforo y una proteína, que existe en dos conformaciones interconvertibles: fitocromo rojo ( $P_r$ ) el cual absorbe 660 nm. y el fitocromo rojo lejano ( $P_{fr}$ ) absorbe — 730 nm. (Smith cit. por Smit & Morgan, 1976). La primera forma del fitocromo ( $P_r$ ) es termodinámicamente estable e inactiva fisiológicamente; al contrario de la segunda, la cual revierte en la mayoría de los casos a  $P_r$  en la oscuridad (Munford & Butler cit. por Kendrick, 1976) o puede experimentar una irreversible pérdida de fotorevertibilidad llamada destrucción (Buter, Lint cit. por Spruit & Kendrick, 1977). Las reacciones de fototransformación involucran una reacción inicial seguida por una reacción de relajación; esta última ocurre en la oscuridad (Kendrick & Spruit, 1977).

Existen diversos trabajos en los cuales se comprueba la participación del fitocromo en el desarrollo y crecimiento de las plantas (Smith & Morgan, 1976; Hilton & Johnson, 1978; Wall & Jahnson, 1983; Oelmüer & Mohr, 1984) así como en la germinación (Chandoeuf-Hannel & Taylorson, 1985; Taylorson & Hendricks, 1972; Takaki & Zaia, 1984; Vander Woud & Toole, 1980).

Morgan & Smith, 1976 y posteriormente Johnson & Hilton (1978) han establecido numerosas respuestas de las plantas que crecen en la luz, las cuales están relacionadas cuantitativamente con el fotoequilibrio del fitocromo.

Ellos encontraron que cuando el fotoequilibrio es bajo por irradiación con luz "rojo lejano", provoca extremadas modificaciones en particular en la elongación del tallo y las ramas; también en la floración y la pigmentación de las hojas. Por su parte Johnson & Hilton (1978) observaron que la luz causa incre-

mentos en los niveles del fitocromo, mientras la oscuridad un decremento, también que la cantidad de fitocromo detectable durante la irradiación continua - esta relacionada con el fotoequilibrio. Por su parte Wall & Jahnsen (1983) con cluyen que la forma del fitocromo que controla las respuestas morfogénicas es el  $P_{fr}$  o bien es un componente activo que interviene en la fotoconversión, pues el  $P_{fr}$  no puede estimarse por aspectos críticos de su respuesta.

Oelmüller & Mohr (1984) encuentran que la morfogénesis es mediada por el fitocromo ya sea por un proceso de modulación (síntesis del NADPH-dependiente<sup>1</sup> y de la antocianina tardía) o por inducción (síntesis de la antocianina temprana) de la expresión genética.

Sólo en algunas semillas se observa la participación del fitocromo en la germinación como en Amaranthus albus, Lactuca sativa, Rumex crispus, Amaranthus retroflexus ya sea inhibiéndola o estimulándola.

Dicha participación se ve afectada por diversos factores físicos tales como, la temperatura (Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985; Taylorson & Hendricks 1972; Takaki & Zaia, 1984; Taylorson & Hendricks, 1971; Vander Woud & Toole, 1980) la irradiación (Taylorson & Hendricks, 1971; Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985; Takaki & Zaia, 1984; Hilton, 1982; Johnson & Hilton, 1978; Kendrick et. al. 1969; Kendrick & Frankland, 1969; Spruit & Mancinelli, 1969; Copelan, 1976 Khan, 1977; Mayer & Plojakoff-Mayber, 1975; Hudson & Dale, 1984) y el tiempo - de imbibición (Kendrick, 1976; Taylorson & Hendricks, 1971). También hay sustancias químicas que provocan que algunas semillas sean sensibles a la luz; como en el caso de Maize caryopses que cuando es imbibido en agua germinan - igualmente en la luz y en la oscuridad, pero cuando se colocan en una solución de manitol, se manifiesta el control del fitocromo respondiendo a estímulos - luminosos, el autor indica que este comportamiento se debe a que el manitol - causa un estrés osmótico (Thanos & Mitrakos, 1979).

1.- glyceraldehydro- 3 phosphate dehydrogenase.

Por su parte Suzuki & Taylorson (1981) encontraron que la germinación de las semillas de Potentilla norvegica es estimulada por la irradiación fluorescente durante 24 horas pero es inhibida por el etileno, dicha inhibición disminuye cuando se aplica un día después de la irradiación.

Como mencionamos anteriormente la temperatura puede alterar el control del fitocromo en la germinación, Takaki & Zaia (1984) encontraron que si exponían las semillas de Lactuca sativa cv. repolhuta a altas temperaturas promovían la germinación en la oscuridad, la cual era invertida por la irradiación con luz "rojo lejano". Esto mismo fue observado posteriormente en las semillas de A. albus pero en ellas el "rojo lejano" no inhibía la estimulación producida por la temperatura elevada (Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985). En ocasiones las temperaturas elevadas permiten anular la inhibición de la germinación producidas por algunas sustancias químicas como el etileno (Suzuki & Taylorson, 1981).

Por otra parte se menciona que un tratamiento de temperaturas alternantes puede estimular la germinación en la oscuridad, esto se ha observado en Rumex crispus (Taylorson & Hendricks, 1972) y en A. retroflexus (Taylorson & Hendricks, 1971). También un tratamiento de preenfriamiento, llamado estratificación, estimula la germinación de algunas semillas, dicho método consiste en exponer a las semillas a temperaturas muy bajas (Vander Woud & Toole, 1980).

Diversos autores han tratado de explicar la interacción que existe entre la temperatura y el fitocromo, la cual logra estimular o inhibir la germinación. Taylorson & Hendricks (1972); Takaki & Zaia (1984) sugieren que las temperaturas elevadas y alternantes actúan por el decremento del fitocromo rojo lejano, pues estas semillas posiblemente requieren niveles muy bajos del  $P_{fr}$  (aproximadamente el 2 % del fitocromo total inicialmente presente en la semilla quiescente) para germinar. A este respecto Taylorson & Hendricks (1971) consideran que la fracción del  $P_{fr}$  originalmente presente en la semilla se hidrata y desahidrata parece por lo que el  $P_{fr}$  que participa en la germinación es sintetizado a partir del  $P_r$ , posiblemente este proceso tenga un coeficiente de temperatura más bajo que el requerido por el agente de la inactivación del  $P_{fr}$ , evitando la

fotodestrucción del fitocromo total. Estos mismos autores en 1969 encontraron que el  $P_{fr}$  tiene un coeficiente de temperatura muy elevada para ser inactivado, lo cual puede provocar una reversión al  $P_r$  o la destrucción. También suponen que la actividad está relacionada con la organización de la membrana, la cual depende de la temperatura; esta suposición es apoyada por Vander Woude & Toole (1980) y por Chadoeuf-Hannel & Taylorson (1985), ellos consideran que la temperatura puede alterar el sitio en el cual el  $P_{fr}$  puede actuar, dado que a temperaturas elevadas existe una pobre organización de la membrana por lo que requiere de niveles elevados del  $P_{fr}$  para que se presente la germinación. Por el contrario a temperaturas de  $32^{\circ}\text{C}$  incrementa la organización de los lípidos en la membrana, esto ha sido comprobado mediante pruebas fluorescentes ANS (Kendricks & Taylorson, 1978), a pesar de esto se ha encontrado que el fitocromo  $P_{fr}$  se establece antes de la reducción de la temperatura (Taylorson & Hendricks, 1971) por otra parte Vander Woude & Toole (1980) observan que el presentamiento altera la viscosidad de la membrana por un cambio en el orden y la composición de los lípidos.

Como se mencionó anteriormente existen semillas cuya germinación se ve estimulada por la luz (Atriplex hastata, Stachyn sylvatica y Myasolis arvensis) y otras que se ven inhibida (A. caudatus, Bromus steriliss) asimismo la calidad de la luz es muy importante y depende de la especie en cuestión; por ejemplo para A. caudatus la región inhibitoria es la luz azul y "rojo lejano" (Kendricks & Frankland, 1969) también para A. albus y Lactuca sativa (Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985; Takaki & Zaia, 1984 respectivamente). Lo contrario pasa en las semillas de Bromus steriliss donde la irradiación con luz roja permite un porcentaje de germinación similar al obtenido cuando las semillas se colocan en la oscuridad (Hilton, 1982).

La luz roja estimula la germinación de diversas especies A. retroflexus (Kadman-Zahavi cit. por Kendrick & Frankland, 1969) Lactuca sativa (Takaki & Zaia, 1984) y A. albus (Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985) e inhibe a Bromus sterilis (Hilton, 1982).

La respuesta del fitocromo a la luz se ha tratado de explicar básica-

mente por las dos conformaciones que presenta el fitocromo  $P_{fr}$  y  $P_r$  las cuales son interconvertibles. La información más reciente supone que las semillas que germinan en la oscuridad contienen o son capaces de producir en estas condiciones cierta cantidad del  $P_{fr}$  el cual induce la germinación, esta puede ser inhibida por la luz roja al convertirse el  $P_{fr}$  al  $P_r$  (Hilton, 1982). Este mismo autor encontró que las semillas de Bromus sterilis contiene poco  $P_{fr}$  pre existente y no es producido en la oscuridad, y que verdaderamente el  $P_{fr}$  una vez formado por la luz es inhibitorio para la germinación.

En cuanto a las semillas fotoblásticas positivas se indica que éstas contienen la forma inactiva del fitocromo, que al ser irradiadas con luz roja se convierte a la activa permitiendo la germinación, a su vez ésta puede ser inhibida por la irradiación prolongada con luz "rojo lejano", por la fotoconversión (Copelan, 1976; Khan, 1977; Mayer & Poljakoff-Mayber, 1975; Hudson & Dale, 1984).

Por otra parte, en relación a la hidratación de las semillas Kendrick - (1976) considera que es un factor muy importante pues la deshidratación en la que se encuentra la semilla madura no permite la completa fotoconversión del fitocromo e indica que al menos las semillas de Lactuca sativa requieren del 15 % del contenido de agua para una completa eficiencia de la luz roja en la promoción de la germinación. En el caso de E. sterilis la respuesta a los pulso de luz roja después de 10 minutos de imbibición es muy ligera, observándose una máxima sensibilidad entre una y dos horas después del remojo (Hilton, 1982).

A este respecto Kendrick & Spruit (cit. por Kendrick, 1976) indica que la adecuada hidratación del fitocromo permite un incremento en los cambios de absorvancia tanto en la región del rojo y del "rojo lejano".

A pesar de los diversos trabajos en los que se observa la intervención del fitocromo en la germinación y la morfogénesis, aún no se ha podido precisar el mecanismo de acción y el sitio donde actúa. En la morfogénesis se propone que el fitocromo puede controlar por dos reacciones la de baja alta energía y el mecanismo de acción en ambas es a nivel de la membrana (Kendrick & Spruit, 1977). Estos mismos autores indican que la fototransformación de las conformaciones  $P_r$  y  $P_{fr}$  del fitocromo se realiza a través de intermediarios, lo cual se

ha comprobado por que se han observado diferencias espectrales, aunque la posi  
ción absoluta de sus bandas de abasorción no se conocen actualmente.

Por otra parte Hendrick & Taylorson (1978) han hecho diversas pruebas las cuales muestran la posible asociación de la actividad del fitocromo con la membrana. Ellos trataron las semillas con sustancias que destruyen la membrana como octanato tris y etanol, observando un decremento en la germinación; también trabajaron con fragmentos de membrana aislada de *A. retroflexus* y una — prueba fluorescente de 1,8- anilino-naftaleno sulfanato (ANS), observando que a bajas temperaturas (menores de 32°C) el orden estructural de la membrana aumentaba. Esta suposición es apoyada por Chadoeuf-Hannel & Taylorson (1985) y Vander Woude & Toole (1980).

Otra hipótesis sobre el mecanismo de acción del fitocromo es la de Mohr (cit. por Cruz, 1984), él sugiere la intervención del sistema fitocromo a nivel genético. A este respecto Carbineau & Come (1985) suponen la existencia de una sustancia (X) requerida para traducción de la cadena entre la fototransformación del fitocromo y la expresión de éste en la germinación.

Cruz (1984) considera que las hipótesis antes mencionadas no son mutuamente excluyentes y que la acción del sistema fitocromo involucra un efecto primario sobre las propiedades membranales que pudieran conducir a la liberación de metabolitos importantes de ciertos comportamientos, los cuales entonces podrían interactuar ya sea directa o indirectamente con el genoma, y originar la desrepresión y represión de genes específicos.

#### II.4 El papel de la giberelina en la germinación.

La giberelina es una fitohormona que aumenta la longitud del tallo, el tamaño de los frutos y tiene un efecto singular en la estimulación de la germinación.

Este último efecto se observa tanto en semillas latentes como quiescentes (Lang, Stokes cit. por Khan, 1977) por lo que se ha postulado que juega un papel universal en la germinación de las mismas (Amen cit. por Khan, 1977).

En las semillas latentes se logra estimular la germinación mediante distintas técnicas (Temperaturas bajas, almacen en seco etc.) en las cuales siempre se observa un aumento en los niveles de giberelina, o bien en sustancias semejantes a ésta. Finfiel et. al (cit. por Khan, 1977) reportó un incremento en la actividad biológica de sustancias semejantes a la giberelina (GA) en semillas de Stachys alpina, durante el enfriamiento. Un incremento similar lo encontraron Sreeramulu et. al (cit. por Khan, 1977) en semillas de cacahuete y pino de incienso. Marthur et. al (cit. por Hudson & Dale, 1980) encontró que en las semillas latentes del durazno, sustancias estimuladoras del crecimiento que identificó como GA, se encontraban en concentraciones bajas, y que iban aumentando durante el enfriamiento.

La técnica del almacen en seco es empleada principalmente para los cereales. Simpson (cit. por Khan, 1977) encuentra que la latencia que presentan las semillas de Avena fatua puede ser anulada por la técnica anteriormente mencionada o por un tratamiento con GA. e indica que durante este proceso el embrión adquiere la capacidad de producir sustancias parecidas a la GA y dicha síntesis puede ser inhibida por CCC (un inhibidor de la síntesis de la GA.).

Algunos autores (Salisbury & Ross, 1978; Copelan, 1977; Corbineau & Come cit. por Carbineau & Come, 1985) encontraron que la GA podía substituir los — requerimientos de luz y temperatura en algunas semillas promoviendo la germinación. Algo semejante observaron Bineau & Come (1985) ellos encontraron que el ácido giberélico incrementa la sensibilidad a la luz sobre todo en concentraciones elevadas ( $10^{-4}$ ).

Por otra parte Gemrich (1982) indica que la  $GA_3$  y la luz roja incrementa dramáticamente la actividad de las enzimas lipasa o isocitrato liasa, — permitiendo la completa degradación de los lípidos en esporas de *Anemia phillipidis*. También aumenta la actividad de alfa galactocidasa por varias horas antes de completarse la germinación (Leung & Bewley, 1981). Por su parte Kohler (cit. por Khan, 1977) observa un incremento en las sustancias semejantes a la giberelina después de irradiar con luz roja las semillas de lechuga.

En base a lo anterior se trató de encontrar la relación entre la luz roja y la  $GA_3$ . Black y sus colegas trabajaron sobre las semillas de lechuga e indican que el efecto rápido producido por  $F_{fr}$  puede no afectar directamente los niveles de  $GA$ . Por otra parte estos mismos autores indicaron que la síntesis de  $GA_3$  ocurría independientemente de la luz. Para Jones & Stoddard (1977) las conclusiones propuestas por Black et. al son contradictorias y no concluyentes e indica que existen otros trabajos más recientes que explican la relación o el papel del fitocromo en la regulación de los niveles de  $GA_3$ .

Por otra parte Lewak & Khan (1977) trabajaron con semillas de lechuga un lote lo trataron con  $GA$  y otro con luz roja, encontrando que la  $GA$  afectaba el porcentaje y el porcentaje final de germinación; mientras la luz roja solo afecta el porcentaje, pero no el porcentaje final. Estos resultados sugieren diferencias en el modo de acción del  $GA$  y la luz durante la germinación. Ellos indican que la diferente clase de procesos están involucrados en el control bioquímico de la germinación.

La síntesis de la giberelina se efectúa en el eje embrionario esto ha sido comprobado pues cuando se extrae el eje embrionario de la semilla no hay producción de la  $GA$  (Khan, 1977). Dicha síntesis ocurre por un aparato celular preexistente en la semilla, el cual es reactivado durante la hidratación (Khan 1977). A este respecto Leung & Bewley (1981) observaron que la presencia del eje era crucial para el desarrollo de la actividad de la alfa galactocidasa, — pero si era removida durante las dos primeras horas después del tratamiento, no había incremento en la enzima. Estos mismos autores encontraron que el  $GA$  en presencia de Benziladenina puede reemplazar el requerimiento del eje irradiado.

Stoddard et. al (cit. por Khan, 1977) aplicó actinomicina D a embriones de cebada, la proyección de la raíz y coleoptilo no fueron reprimidos por el inhibidor de la transcripción, y por lo tanto puede ser una expresión de la información preexistente en la semilla. En base a esta información Khan (1977) supone que la síntesis y/o reactivación de la GA es independiente de la transcripción de DNA e indica que la síntesis de GA durante la germinación se realiza a expensas de diferentes precursores cíclicos.

En cuanto al mecanismo de acción de la GA, en la germinación de las semillas, se tiene una hipótesis unificada por Amen Galston & Davies (cit por Khan, 1977). La cual indica que la giberelina induce la acción enzimática o -- síntesis de-novo de la alfa-amilasa y otras enzimas hidrolíticas, las cuales -- se encargan de la movilización del endospermo, esto se ha observado en las semillas de cebada.

Una hipótesis alternativa fue propuesta por Atzorn & Weiller (1983) -- usando ensayos inmunológicos. La hipótesis que sugieren indica que la GA<sub>1</sub> es producida por el embrión de la cebada e induce la síntesis de novo de la GA<sub>4</sub> en la capa de la aleurona y ésta última induce la síntesis del alfa-amilasa. Posteriormente Gilmour & Macmillan trabajaron con la misma especie, obteniendo resultados distintos, por lo que consideran que la hipótesis anterior es dudosa, aunque suponen que esta diferencia se debe a que se usaron distintas cajas de grano. Atzorn et. al (1984) concluyen que la giberelina fisiológicamente activa no se libera del embrión, sino se origina en las células de la aleurona en respuesta a un estímulo inductor no conocido.

Leung & Bewley (1981) encuentran que la luz roja incrementa la actividad de la enzima hidrolítica alfa-galactocidasa y que la "luz rojo lejano" inhibe la germinación pero no afecta la actividad de la enzima, lo cual indica que -- existen distintas reacciones controladas por el fitocromo. Posteriormente estos autores encuentran que la GA también puede incrementar la actividad de la alfa-galactocidasa pero en menor tiempo que la luz roja. También la germinación se presenta más rápido con el GA que con la luz roja (Leung & Bewley, 1981).

El incremento producido en la actividad de algunas enzimas por el GA -- probablemente resulta de un aumento en la cantidad de RNAm de isocitrato-liasa aislado de los polisomas, muestra que el GA no estimula específicamente la producción de esta enzima (Martin & Northcote, 1983).

En cuanto a la naturaleza de la primera interacción de la GA a nivel -- subcelular, se considera que sea el mismo de las hormonas animales, donde se involucran un receptor específico probablemente de naturaleza proteica. Dicho receptor se va a unir con la hormona y se dirige a los lados de la membrana -- nuclear, posteriormente dentro del núcleo se une con los cromosomas por medio de la cromatina y proteínas, dicha asociación permite la expresión de nueva -- información genética (Khan, 1977). Aunque no se ha encontrado una asociación -- (hormona-receptor) como la anterior, se ha observado una de las consecuencias de este mecanismo la cual es la emergencia de nuevas especies de RNAm del núcleo (Khan, 1977). Esto es comprobado por Higgins et. al (cit. por Khan, 1977) quienes trabajaron con las capas de la aleurona de la cebada y observan que la GA incrementa los RNAm para alfa-amilasa. Por su parte Martin & Northcote (1983) al agregar ácido giberélico a las semillas de Ricinus communis, observaron un aumento en la formación de polisomas durante los primeros cuatro días de la -- germinación y un aumento del RNAm asociado con polisomas en los primeros tres días de la germinación.

Otra pregunta muy importante es ¿Cómo actúa la giberelina? la mas -- aceptada de las consideraciones es en la que se sugiere que la giberelina modifica la permeabilidad de la membrana, esto ha sido demostrado por Wood & Paleg (cit. por Khan, 1977) ellos observaron que la GA puede modificar la permeabilidad hacia la glucosa en un modelo de sistemas de membranas (liposoma). A este respecto Khan (1977) considera que la suposición de que la giberelina puede -- actuar generalmente modificando la permeabilidad de la membrana, es lógico pues la giberelina es una estructura de origen lipofílico y tiene afinidad por la -- membrana.

Este mismo autor indica que la giberelina es abundante en las zonas de

rápido crecimiento o diferenciación igual que otros reguladores del crecimiento.

En las semillas los sitios de acción pueden ser divididos en dos distintas — categorías:

- a) aquellos relacionados con la activación y la temprana extensión y crecimiento del eje embrionario.
- b) los sitios relacionados con la movilización de los materiales de reserva no existen diferencias físicas entre los dos grupos, pues los sitios relacionados con la movilización son activados por la GA sintetizada o liberada del eje — embrionario, por lo que no existen ciertas células que se encargen de disparar la giberelina permitiendo la germinación, sino que los sitios de acción están ampliamente distribuidos en las células y todos los órganos que sufren crecimiento y extensión (Khan, 1977; Atzorn & Weiler, 1983).

## II.5 Trabajos afines al género Amaranthus.

Se han presentado evidencias de que la germinación de las semillas de varias especies de Amaranthus es promovida por exposiciones a la luz roja (Taylorson & Hendricks, 1971; Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985; Kendrick et. al, 1969; Kendrick & Frankland, 1969) e inhibida por continua luz "rojo lejano" y blanca (Kendrick et. al, 1969; Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985; Taylorson & Hendricks, 1969; Kendrick & Frankland, 1969; Schenbeck & Egley, 1980). Este fotocontrol ha sido atribuido al fitocromo (Kendrick & Frankland, 1969; Taylorson & Hendricks, 1969; Hendricks & Taylorson, 1971).

El porcentaje de síntesis, de transformación del fitocromo así como el porcentaje de germinación dependen de la temperatura, la irradiación el tiempo de imbibición y otras condiciones.

Kendrick & Frankland (1969) encontraron que al colocar las semillas en la oscuridad a distintas temperaturas el porcentaje de germinación no varía, - por el contrario cuando se expusieron las semillas a la luz blanca el porcentaje de germinación era baja en las temperaturas de 10 a 20°C y en las de 25 a 40°C se obtuvo el 100 % semejante al obtenido de las semillas en la oscuridad. Resultados similares obtuvieron Chadoeuf-Hannel & Taylorson (1985) en semillas de Amaranthus albus. Estos últimos indican que este comportamiento se debe a un aumento en la síntesis del fitocromo el cual se incrementa con el aumento de la temperatura; a este respecto Duke et.al (cit. por Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985) indicaron que se debe a un cambio en los niveles del fitocromo.

Por otra parte Kendrick & Frankland (1969) encontraron que a temperaturas bajas (20°C) la luz "rojo lejano" reduce el porcentaje final de germinación al 2 % y con las temperaturas de 30°C se eleva el porcentaje a 84 %, ellos indican que este aumento o decremento en la inhibición de la germinación a altas temperaturas puede deberse a:

- a) Un incremento del ( $P_{f_2 S}$ )
- b) Un incremento en la producción de S (es un sustrato o cofactor de reacciones catalizadas por el fitocromo) el cual es normalmente limitado.

c) Un incremento en la producción del  $P_{fr}$ .

Resultados similares obtuvieron Taylorson & Hendricks (1971) y Chadoeuf-Hannel & Taylorson (1985) en A. retroflexus y A. albus respectivamente. En el primer trabajo unas semillas las colocaron en la oscuridad y las otras en la luz "rojo lejano" continua a 35°C y midieron el porcentaje de  $P_{fr}$  y de germinación, e indicaron que se requiere 10 veces el doble del fitocromo como  $P_{fr}$  para que se presente la germinación en las semillas que se imbibieron en la luz, en comparación con las de oscuridad. Posiblemente el requerimiento de altos niveles de  $P_{fr}$  para que se presente la germinación se deba a que, en altas temperaturas (40°C) la región de la membrana donde se une el  $P_{fr}$  está pobremente organizada (Hendricks & Taylorson, 1978).

Por su parte Chadoeuf-Hannel & Taylorson (1985) indican que la disminución en la sensibilidad se debe a la destrucción del fitocromo causado por la luz "rojo lejano".

Otros experimentos en donde se observa la dependencia que presenta el fitocromo con la temperatura, fueron realizados por Taylorson & Hendrick (1969) ellos observaron que la germinación en la oscuridad de A. retroflexus a 35°C se ve incrementada después de varios días de preenfriamiento a 20°C o más bajas. Este comportamiento lo atribuyen a la preexistencia del  $P_{fr}$  dentro de la semilla, el cual se inactiva en temperaturas elevadas. Además observaron que si irradiaban las semillas con luz "rojo lejano" al inicio del preenfriamiento la germinación a 35°C se veía inhibida, pero si se aplica en las últimas horas del preenfriamiento el efecto se reducía; ellos sugieren que esto se debe a que mayor número de semillas completaban su requerimiento del  $P_{fr}$  antes de que el fitocromo rojo se presente por fotodestrucción.

Por su parte Scheibe & Lang (cit. por Taylorson & Hendricks, 1969) en sus semillas de lechuga encontraron que el efecto estimulador de las temperaturas bajas en la germinación en la oscuridad es más probable que se deba a una prevención o retardo de la transformación del fitocromo fisiológicamente activo.

Posteriormente estos mismos autores (Taylorson & Hendricks, 1971) encontraron que la germinación de las semillas de A. retroflexus a 35°C se ve aumentada si se les proporciona una adecuada irradiación con luz "rojo lejano", para establecer un estado fotoestable y se expone a un período de preenfriamiento (26°C por 16 minutos) y se ve que si se aplica la irradiación, antes del preenfriamiento el porcentaje de germinación es mayor, que si se irradian después de éste. Scheeibe & Lang (cit. por Taylorson & Hendricks, 1969) consideran que probablemente se deba a que las bajas temperaturas retardan o previenen la transformación del fitocromo fisiológicamente activo al inactivo.

Por su parte Taylorson & Hendricks (1971) proponen que la necesidad de que el estado fotoestable se establezca antes del período de enfriamiento indica que el  $P_{fr}$  es requerido para dar una respuesta rápida cuando en la membrana se presente un cambio. Este fue comprobado posteriormente por Hendricks & Taylorson (1978) con pruebas fluorescentes 1,8 anilino-naftaleno sulfato (ANS) sus resultados indican que hay una respuesta fisiológica que correlaciona la acción del  $P_{fr}$  con el cambio en una región organizada de la membrana e indica que a temperaturas menores de 32°C la organización de los lípidos en la membrana incrementa. Este comportamiento se debe probablemente a que las temperaturas elevadas incrementan el coeficiente de inactivación del  $P_{fr}$  ya sea por que se presente una reversión al  $P_r$  o por destrucción (Taylorson & Hendricks, 1969).

El incremento de la germinación que se presenta cuando el enfriamiento le sigue al establecimiento del estado fotoestable es evidente que una parte del proceso tiene un coeficiente de temperatura más baja que el mismo agente causante de la inactivación del  $P_{fr}$  (Taylorson & Hendricks, 1971).

Chadoeuf-Hannel & Taylorson (1985) indican que los cambios bruscos de temperatura (alternancia de temperatura ya sea por pocos minutos o varias horas) aumenta la sensibilidad de varias clases de semillas entre ellas de A. albus a la luz roja, este comportamiento está relacionado con la forma  $P_{fr}$  pues altera los sitios de la membrana en los que actúa dicha forma.

Como se mencionó anteriormente, un factor importante en el funcionamiento del fitocromo es la hidratación del mismo, la cual varía según la especie. Para A. retroflexus su rehidratación se completa después de 12 horas, absorbiendo el 10 % de agua, si no es así la semilla no responde al enfriamiento a 10°C - (Taylarson & Hendricks, 1969).

En las semillas de Lactuca sativa se requiere del 15 % de agua para la respuesta eficiente a la luz roja y completa interconversión del  $P_r$  al  $P_{fr}$  (Kendrick, 1971).

La óptima hidratación del fitocromo está asociado con la segunda fase - de captación de agua la cual a su vez está asociada con la germinación (Kendrick et. al, 1969). La imbibición está relacionada con la respuesta a la luz roja en semillas de A. retroflexus incrementando la sensibilidad con el aumento del periodo de imbibición (Taylarson & Hendricks, 1971).

Otros procesos que trata de explicar el comportamiento del fitocromo en la germinación de las semillas de Amaranthus es la reversión oscura inversa (Kendrick et. al, 1969) la cual consiste en la producción del  $P_{fr}$  en la oscuridad este proceso también se observa en las semillas de Cucumis sativus (Spruit & Mancinelli, 1969) así como en Lactuca sativa y Nemophila insignis (Boisar et. al por Kendrick et. al, 1969).

Posteriormente Kendrick & Spruit (1977) concluyen que hay dos tipos de reversión oscura inversa, la reacción Spruit-Mancinelli que representa una --- ligera regeneración del  $P_{fr}$  a partir del producto intermediario meta-Fa formado por la luz "rojo lejano" y la reacción más rápida de Boisar que puede ser explicada por la relajación del Meta-Rb formado por la luz roja para formar el  $P_{fr}$ . Desgraciadamente no se tuvo acceso a literatura más reciente que nos asegure la veracidad de este proceso.

En cuanto al comportamiento del género Amaranthus en presencia del  $GA_3$  solo se tiene lo observado por Kendrick & Frankland (1969) en A. caudatus, --- ellos indican que al colocar las semillas irradiadas con luz "rojo lejano" con tinua en presencia de varias concentraciones de  $GA_3$ , hay un retardo en la ger-

minación obtenida con 10 mg/l siendo la más efectiva el de 100 mg/l con retardo de cinco horas. También observaron que el retardo disminuía considerablemente con el incremento en la concentración del  $GA_3$  y no tuvo efecto sobre el tiempo de germinación (Kendrick & Frankland, 1969).

### III. MATERIALES Y METODOS

Para este trabajo se utilizó el siguiente material:

- a) Semillas de Amaranthus hypochondriacus, las cuales se colocaron en lotes de 100 semillas por tratamiento con cinco repeticiones cada uno.
- b) La imbibición se realizó en un vaso de precipitados (600 ml.), forrado con papel aluminio y conteniendo agua destilada. Durante este tiempo las semillas se mantuvieron en una germinadora a la temperatura deseada.
- c) Sembrado.- Se hizo en cajas petri de 9 cm. forradas igualmente con papel aluminio, a fin de evitar que las semillas se expusieran a cualquier tipo de luz; con el mismo propósito la siembra se realizó en una campana de extracción a la cual se le colocó una cortina de papel celofán verde (Martínez, 1983).
- d) Irradiación.- Se realizó en una cámara de madera (Fig. 1) cubierta con fra-nela de color negro, la cual se le introdujo en una campana de extracción a la que se le cubrió la ventana con papel aluminio y se cerraba en el momento de irradiar, para evitar la incidencia de otro tipo de luz.

Las fuentes luminosas son: para el "rojo lejano" una lámpara incandescente General Electric de 60 vatios y un filtro de dos capas de papel celofán rojo y dos azul (Fig. 2); para la luz roja son dos lámparas fluorescentes de 20 vatios marca solar 20 w/T 38/BC/AP (precalentamiento 20), acabado blanco cálido y un filtro de dos capas de papel celofán rojo (Fig. 3). La calidad de luz utilizada fue: Roja (640 nm.) y "Rojo lejano" (730 nm.).

Para la determinación del espectro de transmisión del papel celofán que se utilizó como filtro se siguió la técnica descrita por Ross (1974) utilizando un espectrofotómetro "Spectronic 20".

El material a irradiar se colocó a 35 cm. de la fuente luminosa, para el tratamiento de luz "rojo lejano" se puso un cristalizador con agua de la llave, como se observa en la Fig. 2, con el fin de disminuir el calor producido por la fuente.

e) Incubación.- Durante ésta las semillas se mantuvieron humedecidas con agua

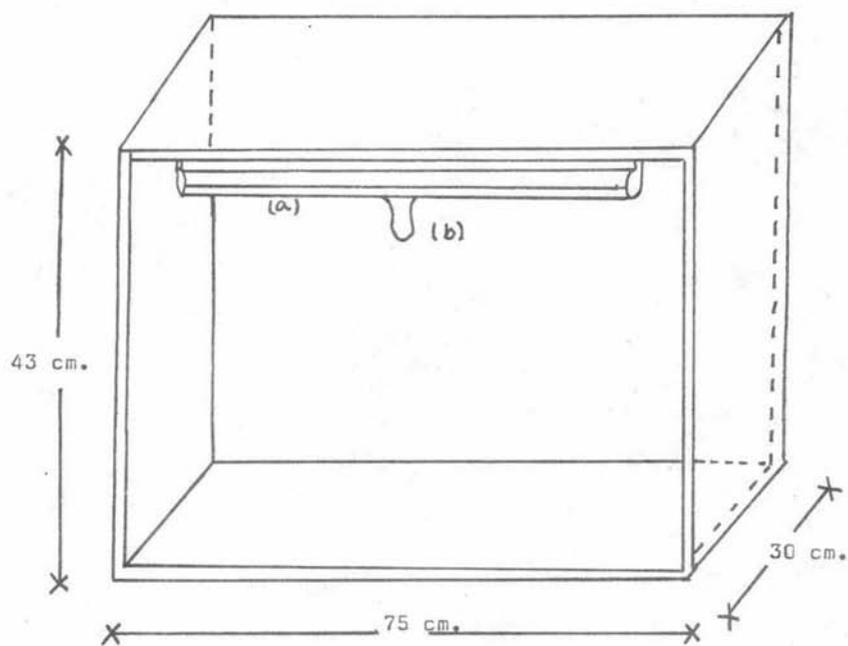


Figura 1.- Cámara de irradiación. a) lámpara fluorescente de 20 vatios, b) lámpara incandescente de 60 vatios.

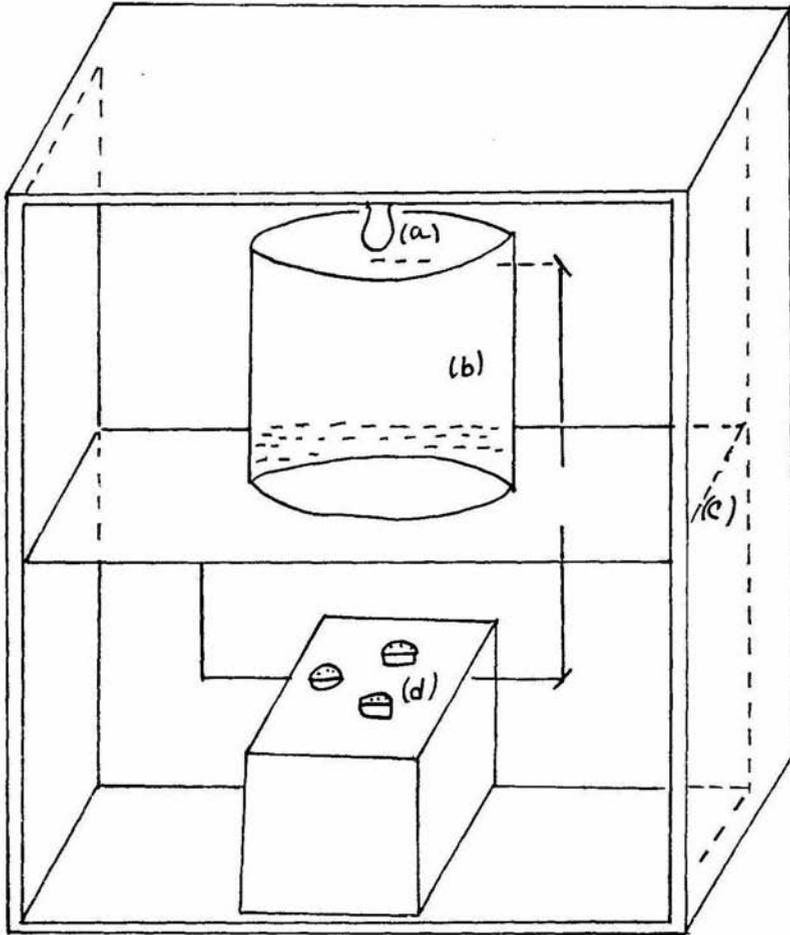


Figura 2.- Irradiación para "rojo lejano". a) Lámpara incandescente de 60 vatios, b) cristizador con 2 cm. de agua, c) Filtro de papel celofán rojo y azul, d) semillas en irradiación.

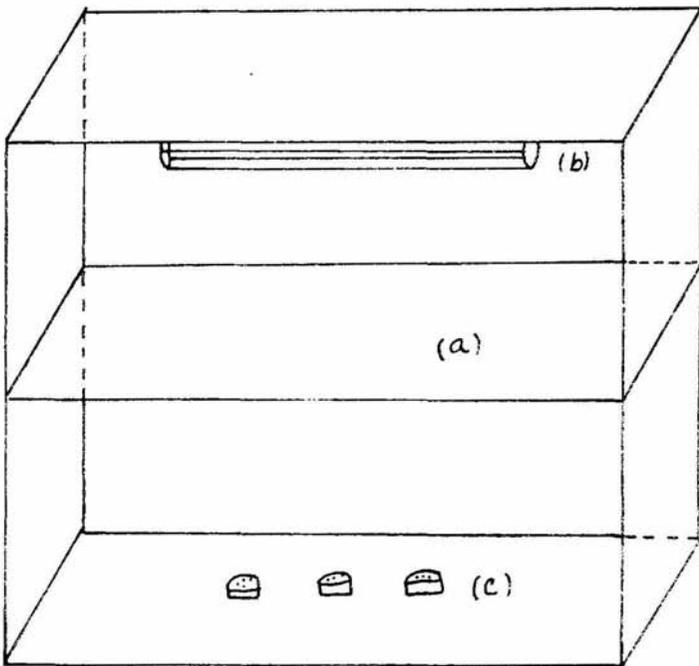


Figura 3.- Irradiación para luz roja. a) filtro de papel celofán rojo, b) lámpara fluorescente acabado blanco cálido, c) semillas en irradiación.

destilada y se colocaron dentro de una germinadora a la temperatura deseada.

El trabajo experimental se dividió en tres fases, realizándose en el siguiente orden:

- a) Determinación del periodo óptimo de imbibición el cual es necesario para la respuestas a la irradiación, pues la adecuada hidratación de las membranas permite el acoplamiento del fitocromo rojo lejano ( $P_{fr}$ ), también favorece la completa fotoconversión del fitocromo (Kendricks, 1976).
- b) Determinación del posible fotoblastismo.
- c) Efecto del ácido giberélico ( $GA_3$ ) sobre la germinación de las semillas de Amaranthus hipochondriacus.

a) DETERMINACION DEL PERIODO OPTIMO DE IMBIBICION.- Se obtuvo mediante el pesaje de 100 semillas por tratamiento, en una balanza analítica, antes y después de los diferentes periodos de remojo (5,15,30,60,90,120,240,360 minutos, 12, 24 y 48 horas) a distintas temperaturas (25,30 y 35°).

Debido a que la semilla de Amaranthus hipochondriacus es muy pequeña, la manipulación de muchos lotes de 100 semillas se vuelve complicado por lo que, cada lote se colocó en unos costalitos elaborados de Myleon, facilitando así su manejo. Dicho procedimiento fue utilizado siempre que las semillas fueron sometidas a imbibición.

Una vez contadas las semillas se pesaban en la balanza, posteriormente se colocaban en los costalitos y se sumergían en el agua destilada, la cual se encontraba a la temperatura deseada, los vasos con los costalitos se colocaban nuevamente en la germinadora durante el tiempo en el que se estaba trabajando, al cabo de este tiempo se volvieron a pesar las semillas.

La cantidad de agua absorbida por las semillas se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ cambio de peso} = \frac{\text{peso final} - \text{peso inicial}}{\text{peso inicial}} \times 100$$

Los resultados obtenidos se reportaron en porcentaje.

b) DETERMINACION DEL POSIBLE FOTOBLASTISMO.- Consistió en la exposición de las semillas a la luz roja o "rojo lejano" durante diferentes tiempos.

- "LUZ ROJO LEJANO".

Primeramente se trabajó con tres diferentes temperaturas (25, 30 y 35°C) las cuales se usaron tanto en la imbibición como en la incubación. Se utilizó primero este tipo de luz ("rojo lejano" porque se suponía que las semillas de A. hypochondriacus eran fotoblásticas positivas por su tamaño tan pequeño. El procedimiento seguido en todos los tratamientos de irradiación es el siguiente: las semillas previamente imbibidas durante 90 minutos, se sembraron en las cajas petri forradas con papel aluminio dentro de la campana de extracción y fueron trasladadas a la cámara de irradiación, los tiempos de exposición fueron: 5,15,20,30,50 y 60 minutos, como se muestra en la figura 2., después de concluir el período de irradiación, se incubaron en la germinadora a la temperatura deseada. Para el testigo se siguió el mismo procedimiento sólo que después del sembrado se mantuvieron en la campana de extracción hasta que concluyera la irradiación de las otras semillas, para incubar las al mismo tiempo.

Los conteos se realizaron cada 24 horas en la campana de extracción con el fin de evitar la exposición de las semillas a otro tipo de luz. Se consideró que una semilla había germinado cuando la radícula fuera visible, dicha consideración se tomó porque la germinación de las semillas de A. hypochondriacus se efectúa muy rápido (24 horas aproximadamente).

Posteriormente se trabajó con una sola temperatura (30°C) pues se observó que a 35°C la germinación concluía en tres días en comparación con las temperaturas de 25 y 30°C la cual concluía en 24 horas. Se eligió esta última temperatura (30°C) porque es la más recomendada por la literatura para otras especies de este género. En este caso los tiempos de irradiación con luz "rojo lejano" fueron: 1,3,5,15,20,30,50,60,90,120,150,180,210,240,270 minutos 5,12,18,24 y 48 horas. Los conteos se efectuaron cada 60 minutos. La revisión continua y el aumento de períodos de irradiación se hizo con el fin de detec

tar si la irradiación efectivamente causaba cambios en el porcentaje de germinación de las semillas de A. hypochondriacus. La temperatura utilizada tanto para la imbibición como para la incubación fue de 30°C. El procedimiento que se siguió fue descrito anteriormente. Los resultados también se expresaron en porcentajes.

- LUZ ROJA.

Los períodos de irradiación utilizados fueron: 1,3,5,15,20,30,50,60,90, 120,150,180,210,240,270 minutos,5,12,18,24 y 48 horas, esto se efectuó como se efectuó como se muestra en la figura 3, los conteos se realizaron cada 60 minutos la temperatura de imbibición e incubación de 30°C, el tiempo de imbibición fue de 90 minutos.

c) EFECTO DEL ACIDO GIBERELICO SOBRE LA GERMINACION DE LAS SEMILLAS DE A.hipochondriacus.

Este tratamiento se efectuó de la siguiente manera:

- 1.- Se prepararon soluciones con distintas concentración molar ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ) de ácido giberélico, su nombre comercial es — activol.
- 2.- Se imbibieron las semillas en las distintas soluciones, durante 90 minutos, mientras el testigo era imbibido en agua destilada, durante el mismo tiempo. — Para la imbibición las semillas estaban dentro de los costalitos de Mylion, la temperatura fue de 30°C la cual fue mantenida constante mediante la germinadora.
- 3.- Los conteos se realizaron cada 60 minutos, pues la germinación de estas — semillas es tan rápida que no permite apreciar los cambios producidos por los tratamientos, sobre el porcentaje de germinación, con intervalos demasiado — largos. La temperatura de incubación fue la misma que la imbibición (30°).

Al concluir la imbibición de las semillas tanto en  $GA_3$  como en agua destilada, eran trasladadas a la campana de extracción para su sembrado y posteriormente incubados en la germinadora. Los resultados se exponen en forma de porcentajes.

## PRESENTACION DE RESULTADOS.

Los resultados finales de imbibición se reportaron como porcentajes, — que fueron el promedio de cinco lotes de 100 semillas c/u. Los porcentajes de germinación fueron obtenidos después de tres días de incubación ( $35^{\circ}\text{C}$ ) y de 24 horas de incubación ( $25$  y  $30^{\circ}\text{C}$ ) en la oscuridad.

A estos resultados se les aplicó la transformación Arco seno porcentaje pues los experimentos en los que se hacen conteos o se obtienen porcentajes la distribución no es normal, sino frecuentemente se tiene distribución de tipo - Poisson o binomiales (Reyes, 1978), con dicha transformación la distribución - se hace casi normal.

En todos los casos se calculó de cinco lotes, su error standar y como - prueba estadística se utilizó el análisis de varianza con un índice de confiabilidad del 0.05 %. Dado que el análisis de varianza no indica cuales medidas son iguales o cuáles son diferentes, se hace necesario realizar una prueba de significación de las diferencias entre los tratamientos, que en este caso será la prueba de Tukey, con un índice de confiabilidad de 0.05 %.

El análisis estadístico sólo se aplicó a los resultados obtenidos en la primera hora que se presentaba la germinación, esto se logró saber gracias a los conteos que se realizaban cada hora. Esta medida se tomó porque el porcentaje de germinación obtenido en este momento realmente indicaba si la luz o el ácido giberélico aceleraba o retardaba la germinación, conforme va pasando el tiempo el porcentaje de germinación puede disminuir en algunos tratamientos y en otros aumentar, pero ya no se debe al tratamiento sino a que la germinación esta por concluir o se disparó.

Se elaboraron dos tipos de gráficas:

- a) Donde se colocaron todos los tratamientos (exposición a la luz roja y a la "rojo lejano" o las distintas concentraciones de ácido giberélico), en esta - gráfica se exponen el porcentaje de germinación obtenidos en la primera hora que hubo germinación.
- b) En el otro tipo de gráfica se expusieron los porcentajes de absorción a distintas temperaturas ( $25, 30$  y  $35^{\circ}\text{C}$ ).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

Los resultados obtenidos en la primera fase del trabajo (Determinación del período óptimo de imbibición) se presenta en la tabla 1

TABLA 1. Porcentaje de agua absorbida por las semillas de Amaranthus hypochondriacus a distintas temperaturas (25, 30 y 35 °C) y diferentes periodos de remojo (Porcentaje  $\pm$  Error standar). Los datos fueron transformados al Arco seno porcentaje

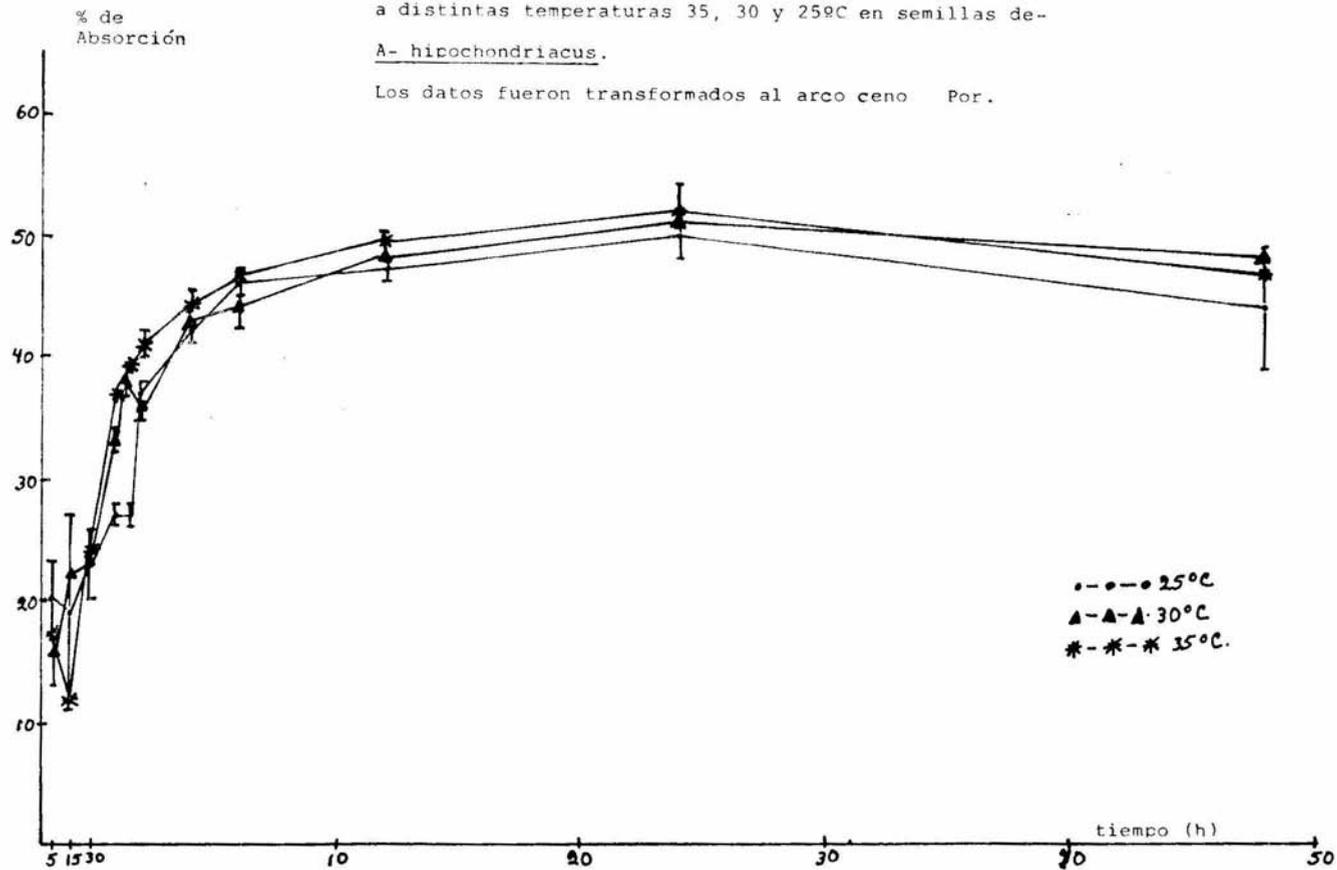
5 min.	20.36 $\pm$ 2.9	16.39 $\pm$ 3.5	17.35 $\pm$ 2.1
15 "	19.03 $\pm$ 7.6	22.43 $\pm$ 2.6	11.85 $\pm$ 3.2
30 "	23.06 $\pm$ 3.4	22.70 $\pm$ 1.9	24.06 $\pm$ 2.4
60 "	27.28 $\pm$ 0.9	33.46 $\pm$ 0.7	37.00 $\pm$ 0.6
90 "	27.53 $\pm$ 1.3	37.94 $\pm$ 0.9	39.15 $\pm$ 0.9
2 horas	36.80 $\pm$ 0.6	36.55 $\pm$ 0.9	41.39 $\pm$ 0.5
4 "	42.07 $\pm$ 0.2	43.09 $\pm$ 0.5	44.36 $\pm$ 0.6
6 "	45.83 $\pm$ 1.5	43.80 $\pm$ 1.6	46.16 $\pm$ 0.3
12 "	46.64 $\pm$ 0.1	48.17 $\pm$ 1.6	49.18 $\pm$ 0.7
24 "	50.55 $\pm$ 2.5	51.74 $\pm$ 3.4	52.23 $\pm$ 0.4
48 "	43.85 $\pm$ 4.8	48.09 $\pm$ 0.2	47.99 $\pm$ 0.7

Al graficar los resultados (Fig. 1) se observa que el porcentaje de absorción asciende en forma notoria desde los 5 minutos de imbibición hasta los 90, debido al alto grado de deshidratación de las semillas. De las dos horas a las 12, la absorción es más ligera y de las 24 a las 48 horas se mantiene más constante. Este comportamiento se observa en las tres temperaturas utilizadas (25, 30 y 35 °C).

Esto indica que las semillas de A. hypochondriacus no tiene ningún problema en cuanto a la captación de agua, por el contrario se observa que es demasiado rápido (gráfica 1) a tal grado que gráficamente no se logra distin-

Gráfica 1 Tiempos de imbibición vs. Porcentaje de agua absorbida a distintas temperaturas 35, 30 y 25°C en semillas de A- hipochondriacus.

Los datos fueron transformados al arco seno Por.



guir las fases que citan algunos autores (Hudson & Dale, 1980; Martínez, 1983) posiblemente esto se deba a que los tiempos de imbibición propuestos fueron — demasiados amplios.

Estadísticamente tenemos que los resultados obtenidos se deben tanto a la temperatura como al tiempo de imbibición, principalmente a este último pues es altamente significativo (Cuadro 2) es decir que los porcentajes obtenidos — en los distintos tiempos de imbibición, difieren uno de otro significativamente.

Aunque gráficamente (Fig. 1) no se logra distinguir una diferencia considerable entre los porcentajes obtenidos a distinta temperatura, el análisis estadístico nos indica que las diferencias si son significativas, observando la tabla 1 se encuentra que los porcentajes de absorción son más altos en la temperatura de 35 °C, esto se debe a que con la elevación de la temperatura, la — energía cinética de las moléculas aumentó, alterando el movimiento azaroso de las mismas (Giese, 1985; Mayer & Paljakoff-Mayber, 1975); o bien el aumento de la temperatura pudo haber alterado la viscosidad de las moléculas de agua, la cual desciende cuando la temperatura sube, facilitando así la difusión de — moléculas o iones disueltos (Giese, 1985; Mayer & Paljakoff-Mayber, 1975).

Por otra parte las semillas secas que no tienen cubiertas impermeables tienen un gran poder de absorción, cuando son colocadas en agua, a consecuencia del bajo potencial hídrico de sus tejidos (Hartman & Kester, cit. por Martínez, 1983). Este potencial irá aumentando conforme los coloides vayan fijando el — agua, posiblemente por esta razón los porcentajes más altos se presentan en los tiempos de imbibición más prolongados (12, 24 y 48 horas).

Al comparar las medias por medio de la prueba de tukey se observa que los tres primeros tiempos de imbibición (5, 15 y 30 minutos) no existen diferencias significativas (Cuadro 3) excepto en la temperatura de 25 °C en donde la similitud se establece hasta los 90 minutos (gráfica 1), esto indica que la absorción es constante en este tiempo. A la temperatura de 30 y 35 °C se presenta — diferencias significativas a los 60 minutos, lo que indica que hubo absorción, después permanece constante pues 60 minutos no difiere significativamente del

CUADRO 2 Análisis de varianza de los porcentajes obtenidos durante la hidratación en agua destilada de las semillas de *A. hypochondriacus* a diferente temperatura (25, 30 y 35 °C) y diferente tiempo de imbibición. Los datos fueron transformados al Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

Causas	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Varianza	F
Tratamientos	32	23190.73	724.71	
A= Temperatura	2	191.94	95.97	3.65 *
B= Tiempo de imbibición	10	21899.32	2189.93	83.40 * *
Interacción AB	20	1099.47	54.97	2.09 N.S.
Error	128	3360.53	26.25	

N.S. = No significativo

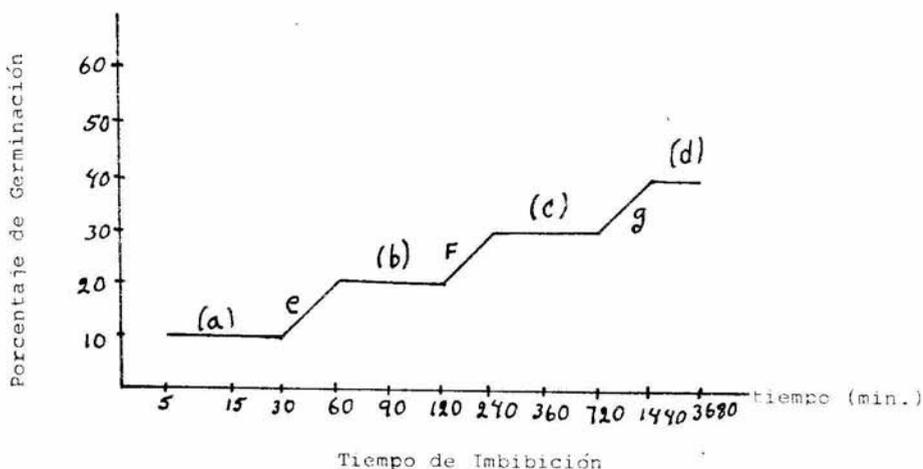
\* = Diferencias significativas

CUADRO 3 Prueba de Tukey de los porcentajes obtenidos durante la hidratación en agua destilada de las semillas de *A. hypochondriacus* a diferente temperatura (25, 30 y 35 °C) y diferente tiempo de imbibición. El nivel de significancia fue de 0.05. Los datos fueron transformados al Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

25 °C	30 °C	35 °C
40.55	51.74	52.23
46.64	48.17	49.18
45.83	48.09	47.99
43.85	43.80	46.16
42.07	43.09	44.36
36.80	37.94	41.39
27.53	36.55	39.15
27.28	33.46	37.00
23.06	22.43	24.06
20.36	22.70	17.35
19.03	16.49	11.85

porcentaje obtenido a los 90 minutos y dos horas (Cuadro 3), incrementándose posteriormente a las 4 y 24 horas.

Estadísticamente los porcentajes de absorción obtenidos en las tres temperaturas (25, 30 y 35 °C) presentan el mismo comportamiento, el cual gráficamente sería:



En donde las mesetas (a, b, c y d) indican que no hay absorción de agua pues no logran diferenciarse los porcentajes de absorción uno del otro; los incrementos (e, f y g) indican que la semilla absorbe la suficiente cantidad de agua como para hacer diferir los porcentajes.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Martínez (1983) en las semillas de *Stenocercus griseus*, las cuales presentan tres fases de incorporación y dos fases estacionarias. Lo que sugiere que la absorción de agua en las distintas semillas muestran curvas similares, aunque la especie no sea la misma.

En base a estos resultados se procedió a elegir el tiempo óptimo de hidratación para las semillas de *A. hypochondriacus*. Este tiempo se consideró

como el momento en que el fitocromo se ha hidratado y puede responder a la luz pues permite la fotoconversión del  $P_r$  al  $P_{fr}$  (Kendrick, 1976; Kendrick & Spruit, 1977); También es el momento en el que las semillas restablecen su sistema membranaral.

Para la elección del tiempo óptimo de hidratación nos basamos en la información proporcionada por algunos autores (Taylarson & Hendricks, 1971; Taylarson & Hendricks cit. por Martínez, 1983) que trabajaron con A. retroflexus ellos indican que el fitocromo está hidratado cuando las semillas contienen — del 10 al 25 % de agua. En el caso de A. hypochondriacus contiene 25 % de agua a los 60 minutos de imbibición (Tabla 1), pero como estadísticamente el porcentaje obtenido en este tiempo no difería significativamente del de 90 minutos, se decidió tomar este último, en donde las semillas de A. hypochondriacus contenían del 27 al 39 % de agua según la tabla 1.

La razón por la cual se eligió el contenido de agua mayor (25 %) propuesto por los autores citados anteriormente, fue con el fin de asegurar que el fitocromo estaba debidamente hidratado y las membranas debidamente restablecidas, lo cual es importante para la fijación del  $P_{fr}$  a la membrana permitiendo la germinación (Kendrick & Spruit, 1977) y para que sea posible la fotoconversión del  $P_r$  al  $P_{fr}$  (Kendrick, 1976; Kendrick & Spruit, 1977).

La segunda fase del trabajo experimental (Determinación del fotoblastismo) consistió en irradiar las semillas de A. hypochondriacus con luz roja y "rojo lejano". Al principio se trabajó con las tres temperaturas (25, 30 y 35°C), con el fin de encontrar la temperatura más adecuada para la germinación de estas semillas. Dicha temperatura se utilizó en la incubación e imbibición, esta última fue durante 90 minutos, la irradiación fue con luz "rojo lejano" durante: 1, 3, 5, 15, 20, 30, 50 y 60 minutos con conteos diarios. La razón por la que se empezó a trabajar con luz "rojo lejano" fue porque el tamaño de las semillas de A. hypochondriacus hacía suponer que era fotoblásticas positivas y que la luz "rojo lejano" inhibiría su germinación. El tamaño de estas semillas es muy — pequeño, así que el material de reserva (endospermo) era muy poco, por lo que

la germinación debía ocurrir poco después de que la semilla cae al suelo se -- hidrate y esté expuesta a la luz (Nayer & Paljakoff-Mayber, 1975).

Los resultados de esta primera parte se resume en los Cuadros 4 y 5. En el primero se reportan los resultados que se obtuvieron al irradiar las semillas con luz "rojo lejano" y se incubaron e imbibieron a 35<sup>o</sup> C. Al graficar dichos resultados (gráfica 2) se observa que el porcentaje de germinación es mayor en los testigos que en las semillas irradiadas con luz "rojo lejano", por lo menos en los tres primeros tratamientos (3,5 y 15 min.). El análisis estadístico de estos resultados (Cuadro 6) indica que no existen diferencias significativas - entre los porcentajes obtenidos en las semillas irradiadas con luz "rojo lejano" y sus testigos. Sino que la diferencia que se observa en los resultados es debida al tiempo de exposición, al comparar los distintos tratamientos (Cuadro 7) por medio de la prueba de Tukey se observa que cuando las semillas son irradiadas con luz "rojo lejano" existen diferencias entre los porcentajes de germinación; los cinco primeros tratamientos difieren de los tres últimos, por el contrario en los testigos todos los tratamientos son iguales entre si, es decir que tuvieron el mismo efecto.

Posiblemente esto se deba no precisamente a la luz "rojo lejano", pues ya indicamos anteriormente que el análisis estadístico muestra que la luz no es la causa de la diferencia entre los porcentajes pues la varianza resultó no significativa; sino a la temperatura existente dentro de la cámara de irradiación, pues los porcentajes de germinación más altos se presentan cuando la irradiación es un poco más prolongada (60,50 y 30 min.) (Cuadro 4), lo cual permitía una ligera elevación en la temperatura, favoreciendo la germinación. Esta ligera elevación no se presenta cuando las semillas se irradian durante 1, 3 y 5 minutos, dado que la exposición era muy corta.

Al contrario de las irradiadas, los testigos permanecieron a una temperatura mas o menos constante, por esta razón posiblemente los porcentajes de germinación obtenidos en ellos fueron estadísticamente similares.

Esto indica que a 35<sup>o</sup> C no inhibe la germinación de las semillas de --

CUADRO 4 Porcentaje de germinación de las semillas irradiadas con luz "rojo lejano" y sus testigos, a diferente período de exposición. (Porcentaje - error standar).  
Los datos fueron transformados al Arco seno  $\sqrt{\text{Porcentaje}}$ .

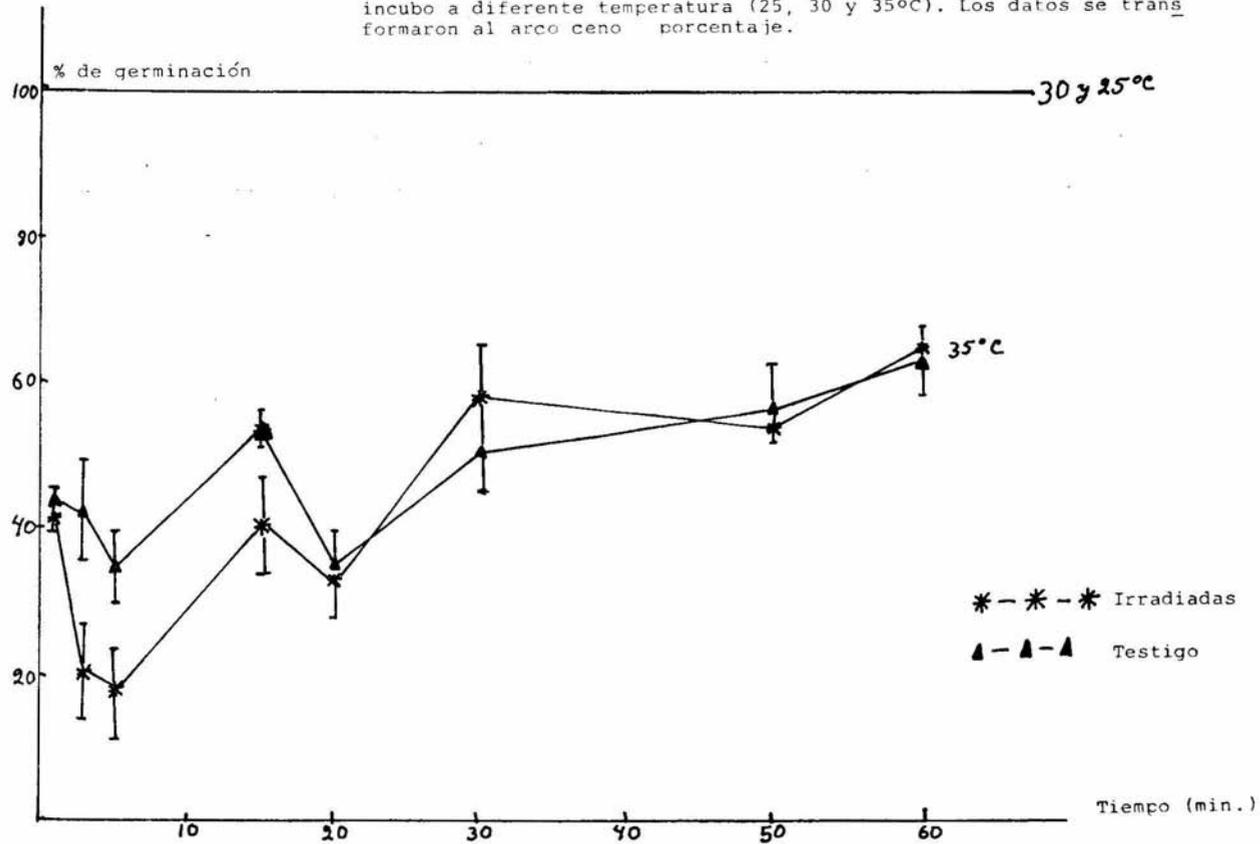
Semillas imbibidas 90 min. en agua tratada destilada, irradiadas con luz "rojo lejano", temperatura de incubación e imbibición 35°C.		testigo, semillas imbibidas 90 min. en agua destilada, permanecieron en oscuridad, temperatura de incubación e imbibición 35°C.
60 min.	65.12 $\pm$ 4.1	62.48 $\pm$ 8.1
50 "	52.78 $\pm$ 3.5	55.55 $\pm$ 9.6
30 "	57.87 $\pm$ 11.5	50.05 $\pm$ 8.5
20 "	33.68 $\pm$ 8.8	34.64 $\pm$ 12.1
15 "	39.57 $\pm$ 9.7	53.00 $\pm$ 4.9
5 "	18.45 $\pm$ 9.7	36.27 $\pm$ 6.7
3 "	19.89 $\pm$ 10.1	42.65 $\pm$ 9.6
1 "	40.62 $\pm$ 3.6	42.91 $\pm$ 1.7

CUADRO 5 Porcentaje de germinación de las semillas irradiadas con luz "rojo lejano" y sus testigos, a diferentes períodos de exposición (Porcentaje - error standar).

Semillas imbibidas 90 min. en agua tratada destilada, irradiadas con luz "rojo lejano", temperatura de incubación e imbibición 30°C.		Testigo en oscuridad, semillas imbibidas 90 min. en agua destilada, temperatura de incubación e imbibición 30°C.
60 min.	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0
50 "	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0
30 "	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0
20 "	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0
15 "	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0
5 "	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0
3 "	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0
1 "	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0

Nota: La temperatura de 25°C es idéntica al cuadro de resultados obtenidos a 30°C.

Gráfica 2 Porcentaje de germinación vs. tiempo de Irradiación de semillas de *A. hypochondriacus*. Irradiadas con luz rojo lejano, previa Imbibición de 90 min. e incubación posterior en oscuridad se Imbibido e incubo a diferente temperatura (25, 30 y 35°C). Los datos se transformaron al arco seno porcentaje.



CUADRO 6 Análisis de varianza de los porcentajes de germinación obtenida al irradiar las semillas de A.hipochondriacus a 35°C y diferentes tiempos de exposición. Los datos fueron transformados al Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

Causas	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Varianza	F
Tratamientos	15	14149.88		
A= Luz "rojo lejano"	1	767.998	767.998	1.80 N.S.
B= tiempo de irradiación	7	11405.05	1629.29	3.82 *
Interacción AB	7	1976.83	282.40	0.66 N.S.
Error	64	27260.70	425.95	

N.S. = No significativo

\* = diferencia significativa

CUADRO 7 Prueba de Tukey de los porcentajes de germinación obtenidos al irradiar las semillas de A.hipochondriacus con luz "rojo lejano" a diferentes tiempos de exposición. La incubación e imbibición fue a 35°C. El nivel de significancia fue de 0.05. Los datos fueron transformados al:

Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

Luz "rojo lejano"	Testigo
65.12	62.48
57.87	55.55
52.78	53.00
40.62	50.05
39.57	42.91
33.68	42.65
19.89	36.27
18.45	34.64

Amaranthus hypochondriacus, como sucede generalmente en las semillas fotoblásticas positivas.

En el cuadro 5 se resumen los resultados obtenidos al irradiar las semillas con luz "rojo lejano" incubadas e imbibidas a 25 y 30°C, se observa un comportamiento similar que las incubadas e imbibidas a 35°C, pues el porcentaje de germinación obtenido al irradiar las semillas con luz "rojo lejano" es igual al porcentaje obtenido en las semillas que permanecieron en la oscuridad (testigo). En este caso no fue necesario el análisis estadístico pues en todos los tratamientos se obtuvo el 100 % de germinación. Esto indica que tampoco en estas dos temperaturas (25 y 30°C) inhibió la germinación la luz "rojo lejano".

Por otra parte se observó que incubando a 35°C, la germinación concluía en tres días mientras que a 25 y 30°C concluía en 24 horas. Esto nos indica que la velocidad de germinación era mayor en las dos últimas temperaturas. Esto posiblemente se deba a que 25 y 30°C entra dentro del rango de la temperatura óptima para la germinación de las semillas de A. hypochondriacus, pues Mayer & Faljakoff-Mayber (1975) indican que la temperatura óptima para la germinación es aquella en la que se alcanza el máximo porcentaje de germinación en el mismo tiempo, además que por arriba y por debajo de esta temperatura la germinación es retardada pero no inhibida; a este respecto Hudson & Dale (1980) indican que la velocidad de germinación disminuye cuando se acerca a temperaturas letales. O bien a que en temperaturas elevadas la organización de la membrana no es la ideal para el acoplamiento del fitocromo y síntesis de proteínas (Hendricks & Taylorson, 1978; Vander Woude & Toole, 1980; Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985).

Por esta razón se considero que 30°C era la temperatura adecuada para la incubación de las semillas de A. hypochondriacus, pues a 35°C la germinación se retardaba. No se eligió la de 25°C porque en la literatura consultada (Chadoeuf-Hannel & Taylorson, 1985; Taylorson & Hendrick, 1971; Taylorson & Hendrick 1969; Kendrick & Frankland, 1969), se cita que la temperatura óptima para especies de este género es de (30,35 y 40°C).

Como la germinación ocurría muy rápido a  $30^{\circ}\text{C}$ , no se lograba detectar - las posibles alteraciones producidas por la irradiaciones de las semillas, con luz "rojo lejano", así que se decidió realizar los conteos cada hora.

En esta temperatura ( $30^{\circ}\text{C}$ ) se aplicó luz "rojo lejano y luz roja, esta última no se había utilizado porque como se mencionó anteriormente el tamaño - de las semillas de A. hypochondriacus hacía suponer que era fotoblásticas posi- tivas. Los tiempos de exposición para ambos tipos de luz fueron: 1,3,5,15,20, 30,50,60,90,120,150,180,210,240 y 270 minutos,5,12,24 y 48 horas. Las semillas se imbibieron durante 90 minutos antes de ser irradiadas, la temperatura de - imbibición e incubación de  $30^{\circ}\text{C}$ .

Primeramente se analizarán los resultados obtenidos con irradiación con luz roja (Cuadro 8). Al graficar estos resultados (gráfica 3) se observa una - gran discontinuidad en los porcentajes de germinación obtenidos en los distintos tiempos de exposición a la luz roja pues los porcentajes de germinación incre- mentan constantemente. Cabe aclarar que en los tratamientos 12,18 y 24 horas, la germinación se inició 4 horas después de ser incubadas, a diferencia de los otros tratamientos, en los cuales la germinación se inició 6 horas después de ser incubadas. En la gráfica 3, también se observa que el porcentaje obtenido al irradiar las semillas con luz roja no difieren significativamente del obte- nido en el testigo como es el caso de 1,3,30,5 min. y 5 horas.

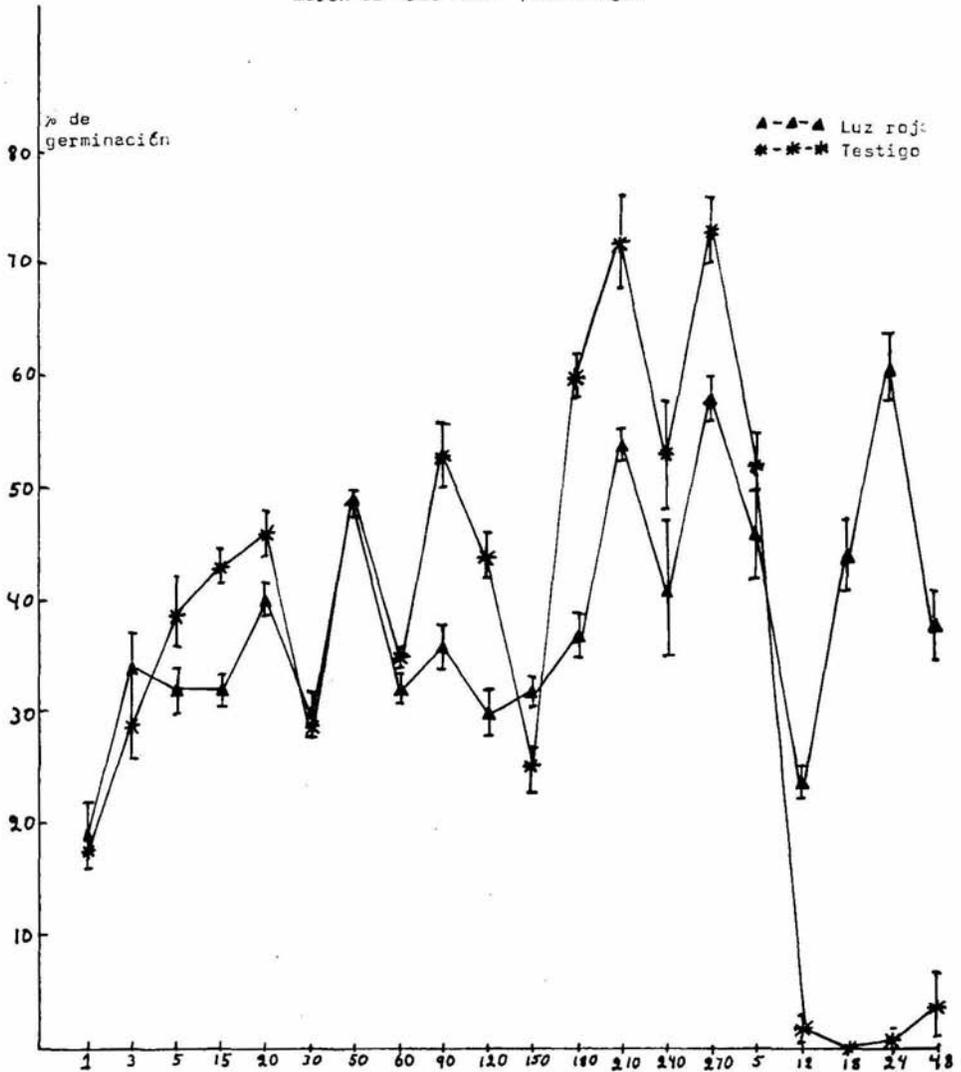
Al analizar los resultados estadísticamente (Cuadro 9) se observa que - las diferencias que se presentan en los resultados no se debe a la luz roja o a la oscuridad, sino al tiempo de exposición. Al comparar estadísticamente (Prue- ba de Tukey) los tratamientos entre si (Cuadro 10) se observa que tanto en el testigo como en las semillas irradiadas con luz roja, algunos tratamientos son iguales; pero hay uniformidad en los porcentajes de germinación de las semillas irradiadas con el testigo (Cuadro 8). Esto posiblemente se debe nuevamente a la temperatura existente en la cámara de irradiación pues al ir aumentando el tiempo de exposición, también aumentaba la temperatura por el calor desprendido de la fuente luminosa. Posiblemente por esta misma razón las semillas de los

CUADRO 8 Porcentaje de germinación obtenidos al irradiar las semillas de A.hipochondriacus con luz roja y también los porcentajes obtenidos en los testigos, la incubación y la imbibición de estas semillas se efectuó a 30°C. (Porcentaje  $\pm$  error standar). Los datos se transformaron al Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

Tratamientos.	Semillas imbibidas 90 min. en agua destilada, irradiadas con luz roja Tem. de incubación e imbibición 30°C.	Testigo en oscuridad semillas imbibidas 90 min. en agua destilada Tem. de incubación e imbibición 30°C.
1 min.	18.98 $\pm$ 2.9	17.73 $\pm$ 4.2
3 "	33.77 $\pm$ 2.8	29.58 $\pm$ 2.8
5 "	32.44 $\pm$ 2.5	38.95 $\pm$ 3.3
15 "	32.24 $\pm$ 1.4	42.94 $\pm$ 1.0
20 "	40.37 $\pm$ 1.4	45.79 $\pm$ 1.7
30 "	29.57 $\pm$ 1.8	29.21 $\pm$ 1.5
50 "	49.27 $\pm$ 1.2	49.27 $\pm$ 1.0
60 "	32.05 $\pm$ 1.0	35.40 $\pm$ 1.0
90 "	36.36 $\pm$ 2.2	52.94 $\pm$ 3.3
120 "	30.14 $\pm$ 2.2	44.52 $\pm$ 1.8
150 "	32.14 $\pm$ 1.2	25.55 $\pm$ 2.1
180 "	37.60 $\pm$ 2.1	60.52 $\pm$ 2.2
210 "	53.80 $\pm$ 1.4	71.77 $\pm$ 4.5
240 "	41.02 $\pm$ 5.6	53.41 $\pm$ 4.8
270 "	58.12 $\pm$ 1.9	72.65 $\pm$ 2.7
5 horas	45.82 $\pm$ 3.6	52.09 $\pm$ 2.7
*12 "	24.15 $\pm$ 1.0	2.3 $\pm$ 1.3
*18 "	44.85 $\pm$ 3.2	0.0 $\pm$ 0.0
*24 "	60.56 $\pm$ 3.5	1.15 $\pm$ 1.0
48 "	38.19 $\pm$ 3.3	14.04 $\pm$ 2.9

Nota: Los tratamientos que tienen asterisco (\*) germinaron 4 horas después de iniciada su incubación; el resto 6 horas después.

Gráfica 3 Porcentaje de germinación VS. los distintos tiempos de irradiación con luz roja 6 horas después de incubadas, se incubaron e imbibición a 30°C. Los datos se transformaron al Arco seno porcentaje.



CUADRO 9 Análisis de varianza de los porcentajes de germinación obtenidos al irradiar las semillas de A.hipochondriacus con luz roja a diferentes tiempos de exposición. La imbibición e incubación fue a 30°C. Los datos fueron transformados al:  
Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

Causas	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Varianza	F
Tratamientos	39	56940.36		
A= Luz roja	1	124.33	124.33	2.89 N.S.
B= Tiempo de irradiación	19	35439.10	1865.22	43.40 *
Interacción AB	19	21376.93	1125.10	26.18 *
Error	156	6704.40	42.98	

N.S. = No significativo

\* = Diferencias significativa

CUADRO 10 Prueba de Tukey de los porcentajes de germinación obtenidos al irradiar las semillas de A.hipochondriacus con luz roja a diferentes tiempos de exposición. La incubación e imbibición fue a 30°C. El nivel de significancia fue de 0.05. Los datos fueron transformados al Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

Luz roja	Testigo
60.56	72.65
58.12	71.77
53.80	60.52
49.27	53.41
45.82	52.94
44.85	52.09
41.02	49.27
40.37	45.79
38.19	44.52
37.60	42.94
36.26	38.95
23.77	35.40
32.44	29.58
32.24	29.21
32.14	25.55
32.05	17.73
30.14	14.04
29.57	2.3
24.15	1.15

tratamientos 12, 18 y 24 horas, germinaron dos horas antes que el resto de los tratamientos, inclusive en el cual se irradiaron las semillas durante 48 horas.

Posiblemente la temperatura en éste último tratamiento ya era demasiado elevada lo que no permitió que las semillas germinaran cuatro horas después de incubadas, ésto puede deberse a que las temperaturas elevadas provocan la reversión del  $P_{fr}$  al  $P_r$  o bien la destrucción del primero (Taylarson & Hendrick, -- 1969); también que las altas temperaturas alteren la organización de la membrana y con esto los sitios en donde actúa el  $P_{fr}$ ; en estos casos se hacen necesarios niveles elevados de esta forma del fitocromo, para que se presente la germinación (Taylarson & Hendrick, 1969; Vander & Toole, 1980; Chadoeuf-Hannel & Taylarson, 1985).

Esta sensibilidad a la temperatura se ha observado también en A. albus en donde los cambios bruscos de temperatura aumenta la sensibilidad a la luz roja (Chadoeuf-Hannel & Taylarson, 1985). Es posible que en el caso de A. hypochondriacus, la temperatura elevada anulara o disminuyera la sensibilidad de las semillas a la luz.

Estos resultados hacen suponer que las semillas de A. hypochondriacus no tienen ningún problema para germinar en la oscuridad, esto es apoyado por el hecho de que en los tratamientos (12,18,24 y 48 horas) no se podía sembrar al mismo tiempo las semillas que se iban a irradiar y sus testigos, pues éste germinaba más pronto, aún antes de que concluyera el período de irradiación. El hecho de que las semillas de A. hypochondriacus germinen en la oscuridad -- posiblemente se deba a que las semillas contienen una relación  $P_r - P_{fr}$  adecuada (Kendrick, 1976; Taylarson & Hendrick, 1971) y que solo es necesaria la hidratación para su acción. También es posible que la alternancia de temperatura a la que estuvieron sometidas las semillas, al ser transportadas de la germinadora al lugar del sembrado y viceversa, y en la misma irradiadora debido al calor desprendido por la fuente luminosa, se alanzaban temperaturas elevadas esto pudo provocar que el requerimiento de luz tendiera a desaparecer (Hudson & Dale, 1980). Estos mismos autores indican que el almacenamiento en seco tam-

bién puede anular los requerimientos de luz.

Otro proceso que podría explicar la causa por la cual las semillas de A. hypochondriacus germinan en la oscuridad es la reversión oscura inversa la cual consiste en la producción del  $P_{fr}$  en la oscuridad (Kendrick et. al, 1969; Kendrick & Spruit, 1977).

El porcentaje de germinación más alto de las semillas irradiadas con luz roja se obtuvo en el tratamiento de 24 horas (60.56 %) además de que germinaron más rápido (4 horas después de incubadas) que el resto de los tratamientos, -- junto con los tratamientos 12 y 18 horas de irradiación. Esto posiblemente se debe a que la temperatura en este momento era la más adecuada para la germinación.

En estos tres tratamientos (12, 18 y 24 h.) los testigos germinaron muy poco, aún menos que el resto de los tratamientos, esto se puede deber a que las semillas irradiadas se hidrataron antes que los testigos, lo que provocó el inicio anticipado de su germinación; por el contrario, el testigo se imbibió momentos antes de sacar de irradiación a los tratamientos para someterlos a incubación al mismo tiempo. Obviamente las semillas tratadas ya habían iniciado su germinación, antes que el testigo, favoreciendo así el resultado del tratamiento. Esto fue un error experimental, debido a que si sembrábamos al mismo tiempo las semillas que se iban a irradiar y su testigo, germinaba más pronto éste, aún antes de que concluyera el período de irradiación.

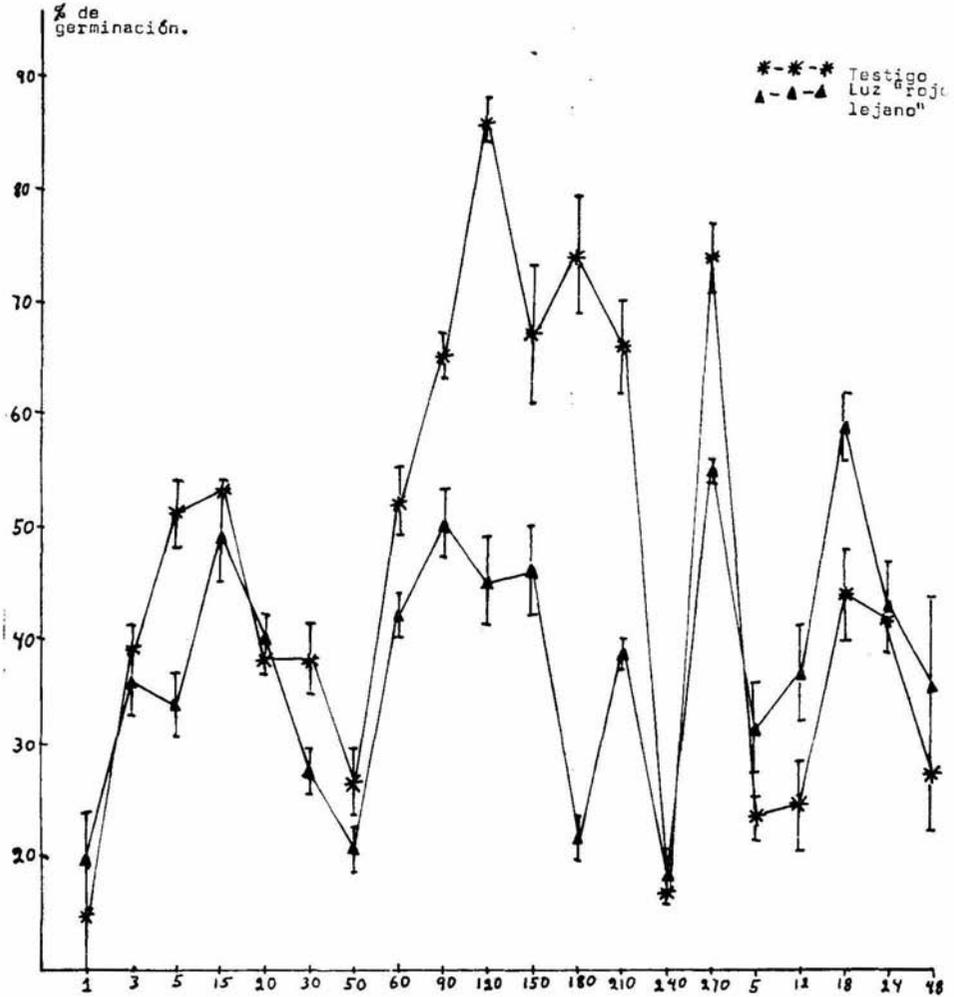
Dado que en el primer tratamiento con luz "rojo lejano" las exposiciones fueron muy breves, se quiso detectar el comportamiento de las semillas con exposiciones mayores. Los resultados obtenidos se resumen en el cuadro 11 y son representados gráficamente en la figura 4 la cual muestra una serie de incrementos y descensos en el porcentaje de germinación tanto en las semillas irradiadas como en los testigos.

Al analizar estadísticamente estos resultados (Cuadro 12) se observa -- que existen diferencias entre los porcentajes de germinación obtenidos al irradiar las semillas con luz "rojo lejano" y los obtenidos en las semillas que

CUADRO 11 Porcentaje de germinación obtenidos al irradiar las semillas de *A.hipochondriacus* con luz "rojo lejano" y también los porcentajes obtenidos en los testigos la incubación y la imbibición de estas semillas se efectuó a 30°C. Los datos fueron transformados al Arco seno√porcentaje. (Porcentaje - error estándar).

Tratamiento.	Semillas imbibidas 90 min. en agua destilada, irradiadas con luz rojo lejano. Tem. de incubación e imbibición 30°C.	Testigo en oscuridad semillas imbibidas 90 min. en agua destilada Tem. de incubación e imbibición 30°C.
1 min.	29.36 ± 4.4	14.95 ± 5.0
3 "	36.29 ± 3.5	36.74 ± 2.1
5 "	33.99 ± 2.9	51.29 ± 3.3
15 "	49.34 ± 4.3	53.06 ± 1.4
20 "	39.75 ± 1.9	38.72 ± 1.1
30 "	28.52 ± 2.3	37.78 ± 2.6
50 "	20.62 ± 2.3	27.08 ± 2.8
60 "	41.96 ± 2.1	52.09 ± 2.6
90 "	49.64 ± 2.6	64.71 ± 2.5
120 "	45.14 ± 3.8	86.02 ± 2.5
150 "	46.25 ± 4.4	67.24 ± 6.1
180 "	22.41 ± 2.1	74.28 ± 5.0
210 "	38.63 ± 0.8	66.13 ± 4.3
240 "	18.80 ± 1.9	17.00 ± 0.6
270 "	55.25 ± 1.4	74.13 ± 2.7
5 horas	32.16 ± 4.5	23.81 ± 2.9
12 "	37.92 ± 4.0	25.50 ± 4.0
18 "	58.75 ± 3.5	44.15 ± 3.7
24 "	43.22 ± 4.3	41.74 ± 1.8
48 "	36.20 ± 8.5	28.55 ± 4.7

Gráfica 4 Porcentaje de germinación JS. tiempo de irradiación con luz "rojo lejano" 6 horas después de sembradas, se incubaron e imbibieron a  $-30^{\circ}\text{C}$ . Los datos fueron transformados al: Arco seno porcentaje.



CUADRO 12 Análisis de varianza de los porcentajes de germinación obtenidos al irradiar las semillas de A.hipochondriacus con luz "rojo lejano" a diferentes tiempos de exposición. La tem. de incubación e imbibición es de 30°C. Los datos fueron transformados al arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

Causas	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Varianza	F
Tratamientos	39	56747.90		
A= Luz "rojo lejano"	1	3684.34	3684.34	46.4 * *
B= Tiempo de irradiación	19	38695.78	2036.62	25.7 * *
Interacción AB	19	14367.78	756.20	9.5 * *
Error	156	12378.14	79.35	

N.S. = No significativo

\* = Diferencia significativa

permanecieron en la oscuridad; también causa variación en los porcentajes de germinación, el tiempo de irradiación.

En base a esto y volviendo a la gráfica 4, observamos que los tratamientos (5,30,50,60,90,120,150,180,210 y 270 minutos) presentan mayor porcentaje de germinación en los testigos que en las semillas irradiadas, esto sugiere que la luz "rojo lejano" disminuyó el porcentaje de germinación, como sucede en las semillas fotoblásticas positivas. Este efecto de la luz "rojo lejano" sobre la germinación, posiblemente se deba a que este tipo de luz altera el fotoequilibrio (Martínez, 1983) disminuyendo severamente la cantidad del  $P_{fr}$  y aumentando el del  $P_r$ .

Por el contrario cuando se irradiaron las semillas con luz "rojo lejano" durante (5,12 y 18 h.) (gráfica 4) se observa que el porcentaje de germinación es mayor en las semillas irradiadas que en los testigos. Lo que indica que en estos tratamientos la luz "rojo lejano" no disminuyó el porcentaje de germinación. Es posible que esto se deba a una disminución en la sensibilidad a la luz "rojo lejano" debido a las temperaturas elevadas y a los períodos de exposición a este tipo de luz. (Chadoeuf-Hannel & Taylarson, 1985). Estas condiciones se presentan en los tratamientos (5,12 y 18 h.) de irradiación, en donde por la exposición prolongada a la luz "rojo lejano" se eleva la temperatura, a causa del calor desprendido de la fuente luminosa.

La diferencia en el porcentaje de germinación entre las semillas irradiadas con luz "rojo lejano" y sus testigos en los tratamientos 12 y 18 h. — También se pudo deber a la hidratación, pues las semillas que se iban a irradiar, se sembraron antes que el testigo; por lo que las semillas irradiadas ya tenían sus membranas y el fitocromo completamente hidratados, listas para iniciar la germinación; por el contrario el testigo se imbibió momentos antes de concluir la irradiación de estos tratamientos, con el fin de incubarlos al mismo tiempo. Obviamente el testigo estaba en desventaja, aunque la cantidad de agua necesaria para la germinación está fijada genéticamente, así que la semilla puede seguir absorbiendo agua pero ya no altera la germinación.

Indudablemente fue un error manejar de esta manera el experimento, pero se sabía que si sembrábamos al mismo tiempo las semillas que se iban a irradiar y sus testigos, germinarían más pronto estos últimos, aún antes que concluyera el período de irradiación.

El hecho de que la luz "rojo lejano" inhiba la germinación de las semillas de A. hypochondriacus apoya el hecho de que estas semillas contienen una cierta cantidad de  $P_{fr}$  como las semillas que germinan en la oscuridad (Hilton, 1982).

Otro factor aparte de la luz que explica los resultados obtenidos al irradiar las semillas con luz "rojo lejano", es la temperatura, pues se observa que los tratamientos en donde el testigo presenta el porcentaje de germinación más alto, tienen períodos de irradiación corta; por el contrario cuando la exposición es prolongada el porcentaje de germinación es más alto en las semillas irradiadas, posiblemente en la exposición corta no se genera una temperatura adecuada para la germinación, por el contrario cuando la exposición es prolongada la fuente luminosa si logra generar un aumento considerable en la temperatura favoreciendo la germinación.

Los resultados obtenidos al comparar los tratamientos entre si por medio de la prueba de Tukey se muestra en el cuadro 13, en el cual se observa que el efecto de algunos tratamientos es igual, por ejemplo cuando se irradian las semillas durante 18 horas se obtiene un porcentaje de germinación similar que si se irradian durante 270, 90, 15 y 120 min.

El porcentaje de germinación mas bajo se obtuvo cuando se irradian las semillas durante 180 min. el cual estadísticamente tiene el mismo efecto que cuando se irradian durante 30, 50, 1 y 240 minutos.

Por último en el experimento que se trabajó con luz "rojo lejano" con las tres temperaturas (25, 30 y 35°C) no se observa ningún efecto causado por la luz, esto pudo deberse a que los conteos no se realizaron continuamente como en este último experimento, lo que no permitió detectar los cambios producidos por la luz.

CUADRO 13 Prueba de Tukey de los porcentajes de germinación obtenidos al irradiar las semillas de A.hipochondriacus con luz "rojo lejano" a diferentes tiempos de exposición. La tem. de incubación e imbibición a 30°C. El nivel de significancia fue 0.05 % los datos fueron transformados al Arco seno√porcentaje.

Luz "rojo lejano"	Testigo
58.75	86.02
55.25	74.28
49.64	74.13
49.34	67.24
46.25	66.13
45.14	64.71
43.22	53.72
41.96	52.00
39.75	51.29
38.63	44.15
37.92	41.74
36.29	38.74
36.20	38.72
33.99	37.78
32.16	28.55
28.52	27.08
22.41	25.50
20.62	23.81
20.36	17.00
18.80	14.95

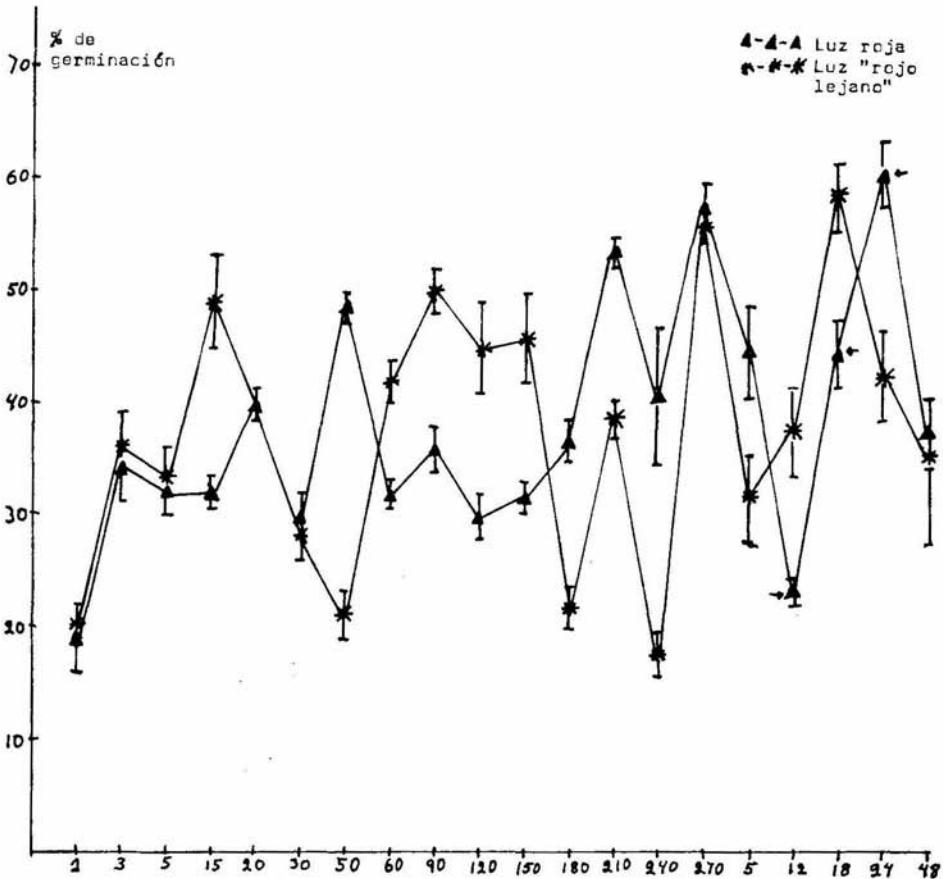
Por otra parte al graficar los porcentajes de germinación obtenidos al irradiar las semillas con luz roja y "rojo lejano" (gráfica 5) se observa que de 1 a 180 minutos el porcentaje de germinación obtenidos al irradiar las semillas con luz roja es menor que cuando se irradian con luz "rojo lejano"; esto posiblemente se debe al fotoequilibrio (Martínez, 1983; Chadoeuf-Hannel & Taylorson 1985), dado que las temperaturas no son elevadas en este intervalo y la destrucción o reversión del  $P_{fr}$  no son significativas. Así que hay gran cantidad de  $P_{fr}$  el cual inhibe la germinación; o bien la luz no es la causa del porcentaje de germinación obtenidos pues las dos curvas (luz roja-luz "rojo lejano") describen comportamientos similares, sino a otros factores como la temperatura.

Existe un período (60 a 150 minutos) donde es notorio que el porcentaje de germinación es menor cuando se irradia con luz roja que cuando se irradia con luz "rojo lejano", esto posiblemente se debe a que en este tiempo el fitocromo está completamente hidratado (Ikuma & Thimann cit. por Cruz, 1984; Kendrick 1976; Kendrick & Spruit, 1977) y responde con más eficacia a la luz y la fotoconversión se puede realizar. También esta diferencia en el porcentaje puede deberse al fotoequilibrio (Martínez, 1983; Chadoeuf-Hannel, & Taylorson, 1985), con luz roja hay menor germinación porque la cantidad de  $P_{fr}$  es mayor, este aumento en los niveles de esta forma del fitocromo se debe a que la luz roja estimula su producción al convertir el  $P_r$  al  $P_{fr}$ . Por el contrario cuando se irradian las semillas con luz "rojo lejano" se observa que la inhibición es menor que la luz roja debido a que esta luz convierte el  $P_{fr}$  en  $P_r$ , así posiblemente los niveles de  $P_{fr}$  sean un poco bajos, pero suficiente para estimular la germinación.

En los últimos períodos de irradiación (210 min. a 48 horas) es menor el porcentaje de germinación al irradiar las semillas con luz "rojo lejano" que cuando se irradian con luz roja; esto puede deberse a que la temperatura elevada causa la destrucción o la reversión del  $P_{fr}$ , entonces los niveles de esta forma del fitocromo es baja y favorece la germinación. Nuevamente se observa que ambas curvas (luz roja-luz "rojo lejano") tienen comportamientos

Gráfica 5 Comparación de los porcentajes de germinación obtenidos 6 h. después de incubadas las semillas de *A. nigrochondriacus* previamente imbibidas en agua destilada durante 90 min. e irradiadas con luz roja y "rojo lejano". La imbibición e incubación fue a 30°C. Los datos fueron transformados al: Arco seno porcentaje.

Nota: Los tratamientos señalados con una flecha (→) germinaron 4 horas después de incubadas



similares así que es posible que la luz no sea la causa de estos resultados, - sino que sea la temperatura.

Los resultados obtenidos en la tercera fase del trabajo experimental ( Efecto del ácido giberélico sobre la germinación de las semillas de A. hypochondriacus) se exponen en el cuadro 14. Al graficar estos resultados (gráfica 6) se observa que algunos tratamientos ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$  molar) el porcentaje de germinación es mayor en semillas imbibidas en ácido giberélico ( $GA_3$ ) que sus testigos. Esto indica que la  $GA_3$ , sí estimulo la germinación.

Al analizar los resultados estadísticamente (Cuadro 15) se observa que el  $GA_3$  (Factor A) no causa diferencias significativas entre los porcentajes, la variación es debida a las concentraciones (Factor B).

Al comparar entre sí las concentraciones (Cuadro 16) por medio de la prueba de Tukey encontramos que la concentración que obtuvo mayor porcentaje de germinación es el  $10^{-8}$  y estadísticamente es igual a  $10^{-10}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-3}$  y a  $10^{-9}$ , siendo estadísticamente diferente de las demás concentraciones.

En cuanto a los testigos tenemos que el porcentaje de germinación mayor se presenta en la concentración  $10^{-8}$  y que la mayoría de los testigos son iguales excepto  $10^{-2}$  y  $10^{-6}$ . Esto indica que no hay diferencia en el efecto de las concentraciones, pues la mayoría son estadísticamente iguales, es decir que causa efectos similares.

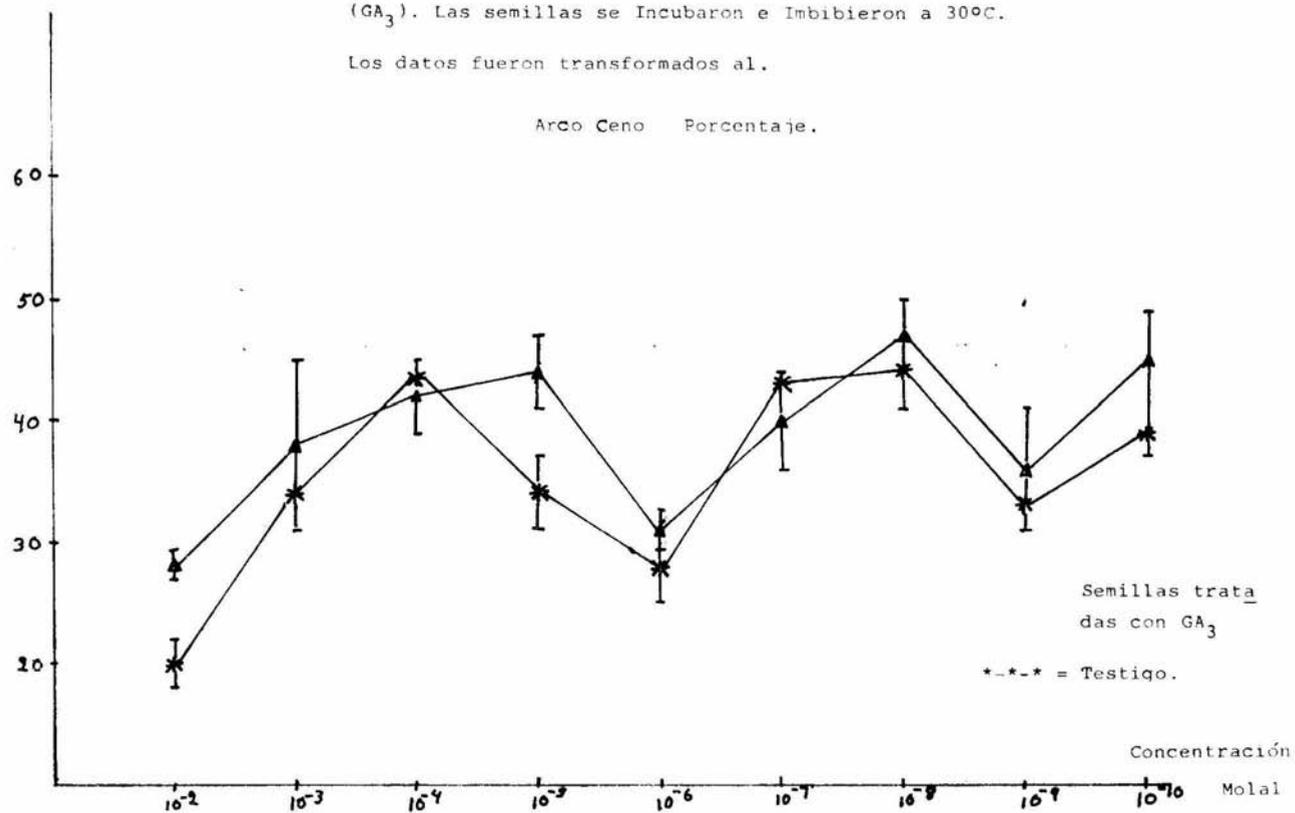
Por lo tanto el  $GA_3$  no estimuló la germinación de las semillas de A. hypochondriacus; esta falta de efecto posiblemente se deba a que las semillas de esta especie, ya tenia los niveles necesarios de  $GA_3$  y no requieren de  $GA_3$  externo, como sucede en las semillas fotoblásticas positivas.

Por otra parte Kendrick & Frankand (1969) han observado que si las semillas de A. caudatus eran tratadas con  $GA_3$  sin exponerla a una pequeña irradiación con luz "rojo lejano", esta no producía en el porcentaje de germinación alteración alguna. Es posible que en A. hypochondriacus suceda lo mismo y que también requiera de una pequeña exposición a la luz "rojo lejano", esto nos -

CUADRO 14 Porcentaje de germinación obtenido al remojar las semillas de A.hipochondriacus en  $GA_3$  y en agua destilada (testigo) incubadas e imbibidas a  $30^{\circ}C$ . Los datos fueron transformados al Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ . (Porcentaje  $\pm$  error standar).

Tratamientos.	Semillas imbibidas en diferentes concentraciones de $GA_3$ durante 90 min.	Testigo: semillas imbibidas en agua destilada durante 90 min.
$10^{-2}$ molar	28.11 - 1.4	19.64 - 2.0
$10^{-3}$ "	37.67 - 7.1	34.18 - 2.6
$10^{-4}$ "	41.94 - 3.4	43.52 - 3.5
$10^{-5}$ "	44.21 - 2.8	34.21 - 3.0
$10^{-6}$ "	30.79 - 1.4	27.86 - 2.8
$10^{-7}$ "	40.33 - 3.6	42.99 - 1.9
$10^{-8}$ "	47.52 - 3.3	44.03 - 2.7
$10^{-9}$ "	36.34 - 5.5	32.65 - 4.0
$10^{-10}$ "	45.11 - 4.2	39.22 - 2.4

Gráfica 6 Porcentaje de Germinación de las semillas de *Amaranthus  
hitchondriacus* vs. concentración del ácido Giberélico-  
(GA<sub>3</sub>). Las semillas se Incubaron e Imbibieron a 30°C.  
Los datos fueron transformados al.



CUADRO 15 Análisis de varianza de los porcentajes de germinación obtenidos al imbibir las semillas de A. hypochondriacus en  $GA_3$ , con diferentes concentraciones. La tem. de incubación e imbibición fue de  $30^{\circ}C$ . Los datos fueron transformados al Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

Causas	grados de Libertad	Suma de cuadrados	Varianza	F
Tratamientos	17	4666.95		
A= Imbibición en $GA_3$	1	315.85	315.85	3.89 N.S.
B= Concentración.	8	4010.63	501.33	6.17 *
Interacción AB	8	340.47	42.56	0.52 N.S.
Error	68	5524.17	81.24	

N.S. = no significativo

\* = Diferencia significativa

CUADRO 16 Prueba de Tukey de los porcentajes de germinación obtenidos al imbibir las semillas de A. hypochondriacus en diferentes concentraciones. La tem. de incubación e imbibición es de  $30^{\circ}C$ . El nivel de significancia fue de 0.05 % los datos fueron transformados al: Arco seno  $\sqrt{\text{porcentaje}}$ .

Imbibidas en $GA_3$	testigo
47.52	44.03
45.11	43.52
44.21	42.99
41.94	39.22
40.33	34.21
37.67	34.18
36.34	32.65
30.79	27.86
28.11	19.64

indica que el  $GA_3$  no puede actuar si hay  $P_{fr}$  en el medio, pues el hecho de que tenga que irradiar con luz "rojo lejano", apoya la suposición de que las semillas que germinan en la oscuridad contienen  $P_{fr}$  preexistente, el cual al ser irradiado con luz "rojo lejano" es convertido al  $P_r$  y entonces puede actuar el  $GA_3$ .

## V. CONCLUSIONES.

La información que se obtuvo de las distintas etapas experimentales - indican que las semillas de A. hipochondriacus no son fotoblásticas pues al comparar los resultados obtenidos en ambos tipos de luz (rojo y "rojo lejano") (gráfica 7) se observa un comportamiento similar. Generalmente la luz estimula o inhibe la germinación, en el caso de las semillas de A. hipochondriacus no se puede hablar de inhibición pues siempre hubo germinación, o bien el análisis estadístico indican que la luz no era la causa de la diferencia en los porcentajes de germinación (Cuadro 6 y 14). Esto sugiere que los resultados obtenidos se deben a otros factores como la hidratación, la temperatura etc. y no precisamente a la luz. El sembrado del testigo y las semillas irradiadas en distinto tiempo de los últimos tratamientos de irradiación (12,18,24 y 48 horas), nos lleva a pensar que las semillas pueden germinar en la oscuridad sin ningún problema; los resultados de los experimentos nos indican que también lo pueden hacer en presencia de los dos tipos de luz con un porcentaje de germinación aceptable.

Aunque los factores mencionados anteriormente pudieran haber alterado el comportamiento del fitocromo esto no implica que el fitocromo no participe en la germinación de A. hipochondriacus, pues se ha encontrado que el fitocromo regula la permeabilidad de la membrana, la cual es necesaria para los procesos metabólicos, como la actividad del sistema enzimático membranaral (Cruz, 1983). También controla la transcripción, como la síntesis de el RNAm que codifica la cadena de Ribulosa-difosfato carboxilasa, enzima clave en el ciclo de Calvin (Tobin, cit por Cruz, 1983) y estimula la intensidad de fosforilación oxidativa.

En la última fase de germinación y después de ésta el sistema fitocromo continuará controlando la expresión y los niveles de algunos sistemas enzimáticos como Beta-Fruktosidasa (Zouaghi cit. por Cruz, 1983).

Por otra parte se encontró que el GA<sub>3</sub> externo no interviene en la germinación de las semillas de A. hipochondriacus.

- El periodo óptimo de hidratación de las semillas es de 90 minutos de imbibición.
- La temperatura adecuada para la germinación es de 30°C.

## B I B L I O G R A F I A.

- 1.- Atzorn, R. & W.E. Weller (1983) The role of endogenous gibberellins in the formation of amylase by aleurone layer of germinating barley caryopses. *Planta* 159: 289-299
- 2.- Chadoeuf-Hannel, R. & R. B. Taylorson (1985) Enhanced phytochrome sensitivity and its reversal in Amaranthus albus seeds. *Planta physiol* 78: 228-231.
- 3.- Copelan, L. O. (1976) Principales of seeds and technology. Burgess publishing company, Mineapolis Minnesota PP. 55-77
- 4.- Corbinea, F. & D. Come (1985) Effect of temperature, oxygen and gibberellin acid on the development of photosensitivity in Oldenlandia corymbosa L. seeds during their incubation in darkness *Plant physiol* 79: 411-414
- 5.- Cruz, N. X. (1984) Aspectos de acción del sistema fitocromo en germinación Tesis Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan UNAM PP. 67
- 6.- Giese, C. A. (1986) Fisiología celular y general. Quinta edición, Ed. Interamericana, México PP. 245
- 7.- Gilmour, J. S. & J. Macmillan (1984) Effect of inhibitors of gibberellin biosynthesis on the induction of amylase in embryoless Caryopses of Hodeum vulgare cv. himalaya. *Planta* 162: 89-90
- 8.- Hendricks, B. S. & R. B. Taylorson (1978) Dependence of phytochrome action in seeds on membrane organization. *Plant physiol* 61: 17-19
- 9.- Hilton, R. J. (1982) An unusual effect of the Far-red absorbing form of phytochrome: Photoinhibition of seed germination in Bromus sterilis L. *Planta* 155: 524-528
- 10.- Hudson, T.H. & E.K. Dale (1984) Propagación de plantas principios y práctica, Cuarta edición, Ed. Continental, México. PP.

- 11.- Johnson, B. C. & J. Hilton (1978) Effects of light on phytochrome in Cauliflower curd. *Planta* 144: 13-17
- 12.- Kendrick, E.R. (1976) Photocontrol of seed germination. *Sci. Prog. Oxf.* 63: 347-367
- 13.- Kendrick, E. R. & B. Frankland (1969) Photocontrol of germination in Amaranthus caudatus *Planta (berl.)* 85: 326-339
- 14.- Kendrick, E. R. et. al. (1969) Phytochrome in seeds of Amaranthus caudatus. *Planta (Berl.)* 88: 293-302
- 15.- Kendrick, E. R. & C. J. Spruit (1977) Phototransformations of phytochrome. *photochemistry and photobiology.* 26: 201-214
- 16.- Khan, A. A. (1977) The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. Elsevier North-Holland biomedical press PP. 81-105; 181-190
- 17.- Leung, M. W. D. & D. J. Bewley (1981) Immediate phytochrome action in inducting. *Nature* 289: 587-588
- 18.- Leung, M.W. D. & D. J. Bewley (1981 a) Red-light and gibberellic-acid - enhanced galactosidase activity in germinating lettuce - seeds cv. grand rapids. *Planta* 152: 436-441
- 19.- Lewak, S. & A.A. Khan (1977) Ti mode of action of gibberellic acid and light on lettuce seed germination. *Plant physiol (Bethesda)* 60(4) 575-577.
- 20.- Marroqui, S. A. (1980) Potencial agroindustrial del Amarantho. Centro de estudios economicos y sociales del tercer mundo, México PP. 15-25; 89-96; 105-134.
- 21.- Martínez, H. E. (1983) Dterminación de algunos parametros ambientales que influyen en la ruptura de la latencia en semillas de Stenocercus griseus (Haw) Buxbaum (Pitayo de mayo) tesis Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM.
- 22.- Martínez, M. (1959) Pantas utiles de la flora mexicana. *Botas* PP. 17-22
- 23.- Martin, C. & D.H. Northcote (1983) The action of exogenous gibberellic

- acid on polysome formation and translation of mRNA in germinating castor-bean seeds. *Planta* 158: 16-26
- 24.- Mayer, M. A. & Poljakoff-Mayber (1975) The germination of seeds. Segunda edición, Pergamon press, Oxford. PP. 70-73, 127-130
- 25.- Morgan, C. D. & H. Smith (1976) Linear relationship between phytochrome photoequilibrium and growth in plants under simulated natural radiatio. *Nature* 262: 210-212.
- 26.- Oelmüller, R. & H. Mohr (1984) Induction versus modulation in phytochrome regulated biochemical processes. *Planta* 161: 165-171.
- 27.- Ross, W. C. (1974) Plant physiology laboratory manual. Wadsworth publishing Co. Inc. Belmont California, USA. PP. 165-170
- 28.- Reyes, C. P. (1978) Diseño de experimentos aplicados, Ed. Trillas, México. PP. 93-109.
- 29.- Salisbury, B. F. & C. W. Ross (1978) Plant physiology. Segunda edición Wadsworth publishing company, Inc. Belmont California PP. 247-253; 290-296.
- 30.- Suzuki, S. & B. R. Taylorson (1981) Ethylene inhibition of phytochrome induce germination in Potentilla norvegica L. seeds. *Plant physiol.* 68: 1385-1388.
- 31.- Takaki, M. & M.V. Zaia (1984) Effect of light and temperature on the germination of lettuce seeds. *Planta* 160: 190-192.
- 32.- Taylorson, B. R. & B. S. Hendricks (1969) Action of phytochrome during prechiling of Amaranthus retroflexus L. seeds. *Plant physiol* 44: 821-825.
- 33.- Taylorson, R. B. & B. S. Hendricks (1971) Change in phytochrome expressed by germination of Amaranthus retroflexus L. seeds. *Plant physiol.* 47: 619-622.
- 34.- Taylorson, B. R. & B. S. Hendricks (1972) Phytochrome control of germination of Rumex crispus L. seed induced by temperature shifts. *Plant physiol* 50: 645-648.

- 35.- Thanos, C. A. & K. Miltrakos (1979) Phytochrome-mediated germination control of Maize caryopses. *Planta* 146: 415-417.
- 36.- Vanderwoude, J. W. & K.V. Toole (1980) Studies of the mechanism of enhancement of phytochrome dependent lettuce seed germination by prechilling. *Plant physiol* 66: 220-224.