



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

5
2ej.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS EN
SEMILLAS DE MANZANO (*Malus sp*) VC. Golden"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERO AGRICOLA
P R E S E N T A :
JAIME CRUZ ALTAMIRANO

ASESOR: ING. FRANCISCO CRUZ PIZARRO.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

268133



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.



GOBIERNO NACIONAL
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
P R E S E N T E

AT'N: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de: Tesis

"Tratamientos pregerminativos en semillas de manzano (Malus sp)
CV. Golden"

que presenta el pasante: Jaime Cruz Altamirano
con número de cuenta: 7962646-0 para obtener el TÍTULO de:
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

ATENTAMENTE,
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 5 de Agosto de 1998

PRESIDENTE	Ing. Hilda Carina Gómez Villar	
VOCAL	Ing. Guillermo Basante Butrón	
SECRETARIO	Ing. Francisco Cruz Pizarro	
PRIMER SUPLENTE	Ing. Salvador del Castillo Rabadan	
SEGUNDO SUPLENTE	Ing. Miguel Bayardo Parra	

DEDICATORIA

A mis padres :

Isidro Cruz José

Juana Altamirano García

Por sus desvelos, sacrificios y
todo el apoyo brindado durante mis estudios

A mi esposa

Virginia Parra Hernández

Por su amor, paciencia y apoyo brindado durante el desarrollo de este trabajo, también por esos momentos felices y los tiempos difíciles compartidos, deseando sigamos juntos por siempre.

A mis hijos :

Víctor

Hugo

Por los momentos de alegría que me han proporcionado y por que sepan afrontar los obstáculos que impone la vida y sepan salir adelante.

AGRADECIMIENTOS

- ◆ A la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO por dame la oportunidad de ser un profesionista conduciéndome por las fronteras del conocimiento .
- ◆ A la FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN y al cuerpo académico de ingeniería agrícola
- ◆
- ◆ Al Ingeniero Francisco Cruz Pizarro por su amistad y apoyo brindado y la asesoría de este trabajo
- ◆
- ◆ A la Ingeniero Hilda Carina Gómez Villar por valiosas sugerencias y revisión de este trabajo
- ◆
- ◆ Al Ingeniero Guillermo Basante Butron, por la revisión y los comentarios recibidos sobre este trabajo
- ◆
- ◆ Al Ingeniero Miguel Boyardo Parra, por la revisión y sus valiosa aportaciones a este trabajo
- ◆
- ◆ A la Profesora Consuelo Armas Rodríguez por su invaluable apoyo brindado durante la realización de este trabajo
- ◆
- ◆ A la Profesora Silvia Cisneros por ese apoyo mostrado durante el desarrollo de este trabajo
- ◆
- ◆ A las señoritas Carmen Carranza
Esther Cruz Feliciano
Marlenne Dorantes Jaramillo
Por ese apoyo tan valioso que me han brindado.

A TODOS USTEDES GRACIAS

CONTENIDO

	PAG.
ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE CUADROS	IV
ÍNDICE DE GRÁFICAS	V
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
III. GERMINACIÓN	4
3.1 Conceptos	4
3.1.1 Semillas	4
3.1.2 Germinación	4
3.2 Anatomía de la semilla	5
3.3 Factores que afectan la germinación	8
3.4 El proceso de la germinación	11
3.5 Tipos de germinación	18
3.5.1 Germinación hipógea	18
3.5.2 Germinación epígea	19
IV REGULADORES DE CRECIMIENTO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS	20
4.1 Regulador de crecimiento	20
4.2 Giberelinas	22
4.3 Auxinas	24
4.4 Citocininas	26
4.5 Ácido abscísico (ABA)	28
V DORMANCIA	31
5.1 Definición de conceptos	31
5.1.1 Quiescencia	31
5.1.2 Dormancia	31
5.2 Dormición de semillas	31
5.2.1 Mecanismos causantes de la dormición	32
5.2.2 Clasificación de los tipos de dormición	33
5.2.2.1 Dormición por cubiertas de semillas	33
5.2.2.1.1 Dormición física	35
5.2.2.1.2 Dormición mecánica	36
5.2.2.1.3 Dormición química	37
5.2.2.2 Dormición morfológica.	39
5.2.2.2.1 Dormición por embriones rudimentarios	39
5.2.2.2.2 Dormición por embriones no desarrollados	40

	PAG.
5.2.2.3 Dormancia interna	40
5.2.2.3.1 Dormancia fisiológica	40
5.2.2.3.2 Dormancia fisiológica leve	42
5.2.2.3.3 Dormancia fisiológica intermedia y profunda	43
5.2.2.4 Dormancia doble	46
5.2.2.5 Dormancia secundaria	46
5.2.2.6 Dormancia morfofisiológica	48
VI. ACUMULACIÓN DE FRÍO EN SEMILLAS DE FRUTALES CADUCIFOLIOS	49
6.1 Fisiología del reposo en semillas	49
6.2 Requerimiento de frío	51
6.2.1 Método para el cálculo de horas frío	52
6.3 Horas calor	55
6.3.1 Cálculo de unidades calor	55
6.4 Requerimiento de frío en frutales	56
6.4.1 Necesidades de frío en algunos cultivares de manzano	56
VII. MATERIALES Y METODOLOGÍA	58
7.1 Material vegetativo	58
7.2 Diseño experimental	58
7.3 Tratamientos	58
7.4 Variables a cuantificar	59
7.5 Extracción y secado de la semilla	59
7.6 Desinfección del sustrato	60
7.7 Preparación de soluciones	61
7.8 Imbibición de la semilla	63
7.9 Estratificación de la semilla	63
7.10 Siembra de la semilla	64
VIII. RESULTADOS Y ANÁLISIS	66
8.1 Imbibición de la semilla de manzano	66
8.2 Prueba de viabilidad con cloruro de tetrazolio	70
8.3 Estratificación	70
8.4 Germinación de semillas de manzano	73
8.4.1 Método de análisis	73
8.4.2 Tratamiento con diferentes concentraciones de AG ₃ y con períodos de 10, 20 y 30 días de estratificación	74
8.4.3 Tratamientos con diferentes concentraciones de citocinina (TDZ) y con períodos de estratificación de 10, 20 y 30 días	77
IX. CONCLUSIONES	86
X. BIBLIOGRAFIA	88

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAG.
1	Absorción de agua por una semilla seca	11
2	Semilla y fruto del manzano	15
3	Germinación de la semilla en plantas de dicotilédnea	16
4	Acción funtamental de las fitohormonas	21
5	Anillo del gibano y estructura química del ácido giberélico	22
6	Biosíntesis del ácido indolacético	24
7	Estructura química del Thidiazurón	26
8	Fórmula desarrollada del ABA	29
9	Cambios en la concentración del ácido absclísico y de sustancias similares a la giberelina en semillas de ciruelo durante el enfriamiento en número	30
10	Descripción esquemática de los cambios en la respiración y hormonales en relación al reposo	42
11	Vasos de precipitado indicando las sustancias y su concentración y el período de estratificación	62
12	Charolas indicando las sustancias y su concentración, así como los días de su estratificación	65

INDICE DE CUADROS

CUADRO		PAG.
1	Transformaciones químicas durante la germinación en semillas	13
2	Comparacion entre los tipos de germinación	19
3	Clasificación de los tipos dormición en semillas	34
4	Modelo de control hormonal de la germinación	41
5	Características de los subtipos de dormición fisiológica	45
6	Periodo necesario para inducir la dormición secundaria en semillas de <i>Acer tataricum</i> a diferentes temperaturas	47
7	Necesidades de horas frío de algunas especies de frutales	50
8	Eficiencia de diferentes temperaturas en el modelo de horas frío ponderadas, para terminar el reposo en yemas de durazno.	53
9	Eficiencia de diferentes rangos de temperaturas en el modelo UTAH para terminar el reposo en semillas de durazno y cuantificación de horas frío.	54
10	Requerimiento de frío en algunos cultivares de manzano	57
11	Imbibición de semillas de manzano (<i>Malus sp</i>) C V. Golden en ácido giberélico AG ₃ y citocinina (TDZ) a diferentes concentraciones y agua destilada como testigo durante 45 hrs.	67
12	Comparación de incrementos de peso en semillas de manzano (<i>Malus sp</i>) C. V. Golden en imbibicion y estratificación a 10, 20 y 30 días y a diferentes concentraciones de AG ₃ y TDZ.	72

13	Germinación de semillas de manzano (<i>Malus sp</i>) C. V. Golden tratados con diferentes concentraciones de giberelinas y con 10, 20 y 30 días de estratificación.	76
14	Germinación de semillas de manzano (<i>Malus sp</i>) C. V. Golden, tratadas con diferentes concentraciones de citocinina (TDZ) y con 10, 20 y 30 días de estratificación.	79

INDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA		PAG.
1 y 2	Ganancia de peso en la Imbibición de semillas de manzano (<i>Malus sp</i>) CV. Golden a diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG ₃), Tridiazurón (TDZ) y agua destilada como testigo durante 45 horas.	68
3	Porcentaje de semillas germinadas después de 10 días (240 hrs) : de estratificación fría a 5°C en manzano (<i>Malus sp</i>) CV. Golden	80
4	Porcentaje de semillas germinadas después de 20 días (480 hrs.)- de estratificación a 5°C en manzano (<i>Malus sp</i>) CV. Golden	82
5	Porcentaje de semillas germinadas, después de 30 días (720 hrs) de estratificación a 5°C en manzano (<i>Malus sp</i>) CV. Golden.	84

I. INTRODUCCION

La mayoría de las semillas de plantas cultivadas (anuales) secas, maduras y sanas, germinan tan pronto, se siembran en suelo con buenas condiciones de humedad, temperatura, oxígeno y luz. Pero sucede que cuando estas semillas se hacen germinar en épocas diferentes a las acostumbradas, se presentan problemas, obteniéndose bajos porcentajes en la germinación.

Este fenómeno es mucho más frecuente en las semillas de plantas herbáceas cultivadas cuyo producto comercial no es la semilla o el grano (hortalizas, forrajeras, ornamentales). Estos problemas pasan inadvertidos en la práctica a causa de las elevadas cantidades de semillas empleadas en la siembra. Sin embargo este problema se agrava en semillas de especies arbóreas y arbustivas (frutales y forestales), ello hace necesario la utilización de técnicas especiales como la estratificación, escarificación y el uso de fitohormonas para asegurar un alto porcentaje de germinación y la obtención de plántulas sanas, vigorosas y normales.

Si en lugar de utilizar plantas cultivadas utilizamos plantas silvestres, los problemas que se presentan en la germinación son tan grandes y complejos y en su mayoría desconocidos; se llega a la conclusión de que la germinación rápida y uniforme es más bien una rara excepción que una regla general.

La dormición o letargo es una fase en la vida de la semilla, posterior a la maduración y al desprendimiento de la planta madre, en la que el desarrollo se encuentra detenido debido a factores internos (estructurales y/o fisiológicos) de la semilla. En la fase del reposo o quiescencia el desarrollo se encuentra detenido por la falta de condiciones ambientales adecuadas, como la humedad, el oxígeno y la temperatura.

La dormancia es la condición general y primitiva de la semilla después de su maduración y la quiescencia, frecuente en semillas cultivadas, es una condición derivada del manejo y selección por parte del hombre.

Existen varios tipos de dormancia y casi ninguno de ellos parece tener una causa única, se ha demostrado que la dormancia es resultado del proceso adaptativo de las plantas a las condiciones adversas del medio ambiente.

Gran número de plantas silvestres y cultivadas (frutales, hortalizas) que crecen o tuvieron su origen en regiones de clima frío o templado, necesitan de un cierto número de horas frío para que las semillas puedan germinar. Estas semillas al caer al suelo pasan el invierno bajo una capa de nieve y se hidratan con las lluvias otoñales; si estas semillas no estuvieran durmientes, un otoño suave permitiría la germinación total y con las siguientes heladas destruiría las plántulas nacidas, eliminando a la totalidad de la población. Pero debido a que las semillas se encuentran durmientes, la mayoría de estas no germinan aunque se encuentren hidratadas, pasando por varios períodos de enfriamiento durante los cuales la semilla va perdiendo la condición de dormancia, ello permite la germinación y el desarrollo adecuado de la plántula en clima benigno.

Existen plantas en las que se conoce como lograr la germinación de sus semillas durmientes, pero hay muchas en las que no se conoce como lograrlo e incluso se ignoran los mecanismo que convierten en durmientes a las semillas.

Esta problemática merece ser investigada, puesto que muchos de los recursos vegetales con que cuenta nuestro país han recibido poca atención, ignorándose la forma de incrementarlos.

II. OBJETIVOS

☞ OBJETIVO GENERAL

Interrumpir el estado de reposo en semillas de manzano, para promover el proceso de la germinación en un menor tiempo posible.

☞ OBJETIVOS PARTICULARES

- * Evaluar el efecto del ácido giberélico (AG_3) a diferentes concentraciones en la germinación de semillas de manzano.
- * Evaluar el efecto de la citocinina (TDZ) a diferentes concentraciones en la germinación de semillas de manzano.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para que la semilla de manzano germine, se requiere de 800 a 1200 horas frío, (temperaturas que van de 1°C a 7°C) esta cantidad de horas frío reduce las concentraciones de fitohormonas inhibitoras de la germinación y al mismo tiempo permite el incremento en los niveles de fitohormonas promotoras de la germinación y promueve la postmaduración del embrión, se piensa que estas condiciones desencadenan los procesos que dan origen a la germinación.

HIPOTESIS

Considerando que el incremento en los niveles de fitohormonas promotoras presentes en el embrión de la semilla, desencadenan los procesos de la germinación. Si se incrementa la concentración de fitohormonas promotoras en la semilla (embrión) de manzano, entonces, se desencadenan los procesos fisiológicos que dan origen a la germinación, reduciéndose de esta manera la cantidad de horas requeridas para iniciar la germinación.

III GERMINACIÓN

3.1. Conceptos

3.1.1. Semilla:

La semilla, medio de reproducción de las espermatofitas, gimnospermas y angiospermas, se define en un sentido botánico, como un óvulo fecundado, independiente de la planta madre, que ha madurado hasta adquirir la diferenciación y capacidad fisiológica para originar un nuevo vegetal.

En sentido más amplio, la semilla es la unidad de dispersión de las espermatofitas, o sea, el conjunto de tejidos que integran los propágulos sexuales de estas plantas y que incluyen además de los tejidos derivados del óvulo, otras como el pericarpio, perianto y brácteas, que protegen a los primeros, y que ayudan tanto a diseminar los propágulos en el ambiente, como a controlar el crecimiento de los meristemas. (Ruiz 1985, Camacho 1994, Hartman 1995).

Las semillas cuando han madurado son liberados por la planta madre para que se diseminen en el medio y muchas de estas semillas pasan a formar parte de las poblaciones o bancos de semillas presentes en el suelo (Camacho Morfin 1994)

3.1.2. Germinación.

Por germinación se entiende al proceso mediante el que un embrión adquiere el metabolismo necesario para reiniciar el crecimiento y transcribir las porciones del programa genético que la convertirán en una planta adulta. (Camacho 1994), o bien, es el crecimiento y continuación del desarrollo del embrión, hasta el momento de romper sus envolturas (Pericarpio o testa), para que la radícula y el talluelo o gemula broten y salgan, siendo esta definición de orden práctico.

Una semilla se considera germinada cuando la radícula a horadado los tegumentos; o bien si se trata de un embrión desnudo, cuando la radícula se ha alargado visiblemente (Côme 1973). De acuerdo con (Harrington citado por Hartman 1995) una semilla se considera germinada cuando ha producido una plántula capaz de crecer normalmente.

Para que la germinación se inicie, se requiere que la semilla reúna tres condiciones:

Primera: La semilla debe ser viable, es decir, que el embrión este vivo, completamente desarrollado y tenga la capacidad de germinar.

Segunda: Debe tener condiciones internas favorables para la germinación, para que esto ocurra, se deben reducir al mínimo las barreras físicas, químicas y los bloqueos fisiológicos que frenan el proceso de la germinación (Hartman 1995, Camacho 1994)

Tercera: Debe contar con las condiciones ambientales apropiadas, tales como la disponibilidad de agua, temperatura adecuada, buena provisión de oxígeno y para algunas especies de semillas como la lechuga, se debe contar con determinadas longitudes de onda de la luz (Hartman 1995, Camacho 1994).

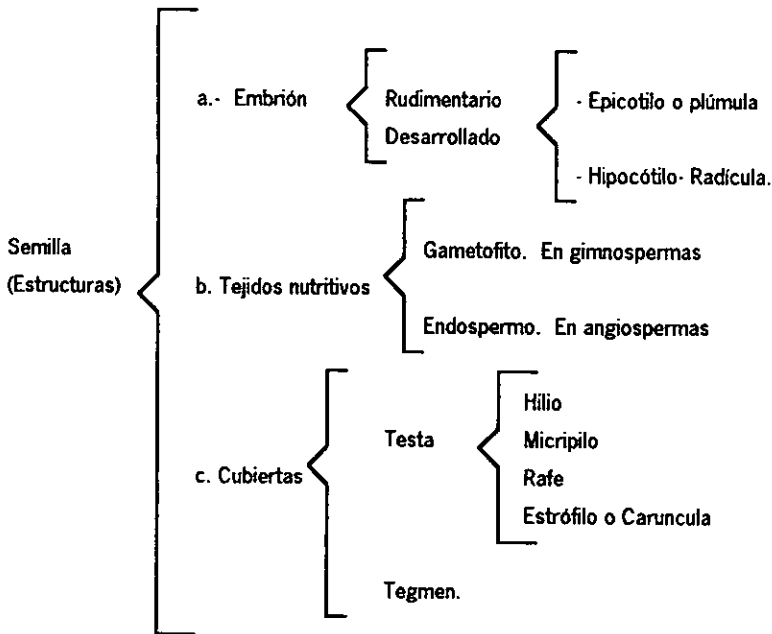
3.2 Anatomía de la semilla:

La semilla esta formada básicamente por tres estructuras anatómicas, que son: el embrión los tejidos nutritivos y la cubierta. (Delorit et al 1979)

a. El embrión. Da origen al nuevo vegetal, algunas plantas tienen semillas con embriones rudimentarios, estas son pequeñas y poco diferenciadas, en otras plantas este se encuentra formando la mayor parte de la semilla y posee una morfología definida, en este último caso, el embrión es un eje embrionario, es decir un tejido de forma alargada con un meristemo en cada extremo y según la especie presenta una o más hojas modificadas llamadas cotiledones.

a.1 Epicotilo. o plumula, forma uno de los extremos del embrión que da origen al tallo de la planta y tiene el meristemo cubierto con primordios de hojas. (Camacho Morfin 1994)

a.2 Hipocótilo: Es una parte del eje embrionario, inmediatamente abajo del cotiledon, es una región de transición entre el tallo y la raíz. El hipocótilo se prolonga en la base hacia la radícula que se convierte en la raíz primaria de la plántula. La radícula puede o no estar externamente diferenciada del hipocotilo, y este último término algunas veces incluye también a la radícula. Ciertas veces la radícula consiste sólo en un grupo de células meristematicas en el extremo del hipocótilo (Cronquist 1977).



b. Tejidos nutritivos: Tienen la función de alimentar al embrión hasta que la fotosíntesis cubra las necesidades de la planta. En las gimnospermas el tejido nutritivo es el gametofito femenino haploide, en el caso de las angiospermas es el endospermo siendo este un tejido triploide. En muchos casos el tejido nutritivo rodea al embrión ubicado en la cavidad embrionaria, hay casos como en las gramíneas, en las que el embrión está a un lado de los tejidos nutritivos y en otras está rodeándolos.

En las dicotiledóneas es frecuente que el endospermo sea digerido total o parcialmente durante la maduración de las semillas, en estos casos los cotiledones efectúan la función de los tejidos nutritivos, los cuales ocupan la mayor parte de la semilla.

El alimento almacenado en la semilla incluye proteínas, carbohidratos y grasas y las proporciones varían de acuerdo a la especie de semillas que se trate, pero ha menudo hay mayor cantidad de carbohidratos que el total de proteínas y grasas.

Las semillas tienen una proporción más alta en proteínas y grasas que los órganos vegetativos de almacenamiento. Las proteínas y grasas tienen más energía potencial por unidad de volumen y peso que los carbohidratos. Las semillas de leguminosas tienen un alto contenido de proteínas. El endospermo de maíz tiene una parte dura y córnea, con una buena cantidad de proteínas, y una parte más suave y amilácea, con una alta proporción de almidón. Junto a la cubierta de la semilla y el pericarpio, se forma una capa de 1 a 3 células de aleurona del endospermo y constituida principalmente por proteínas. (Cronquist 1977)

c. **Cubiertas:** Proceden de las capas externas del óvulo o rudimento seminal, que suelen ser dos, aunque a veces el óvulo esta cubierto por una sola capa (Diehl R. et. al. 1985)

Las cubiertas envuelven y protegen a la almendra, la cual esta formada por el embrión y los tejidos nutritivos, las cubiertas tienen como función el control en los intercambios de agua y oxígeno con el exterior, también controlan la salida de algunos fitoreguladores que inhiben la germinación y en general general el control de la germinación en semillas.

Las cubiertas formadas a partir de las envolturas del óvulo se llaman testa (externa) y tegmen (interna) generalmente están demasiado unidas que resulta difícil de distinguir una de la otra. En semillas de manzano la testa es de un color oscuro gruesa y rígida, cuando se humedece se vuelve tersa, brillante y aumenta de tamaño.

Sobre la testa se localiza el Hilio, el cual es una cicatriz que deja la inserción del funículo en el óvulo (Camacho 1994), el MICROPILO, este tiene la forma de un canal formado por la extensión del tegumento del óvulo por debajo del ápice del núcleo reconocible en semillas maduras como por diminuto en la cubierta seminal, por el que entra agua y aire a la semilla (Jiménez Ortega 1984).

3.3 Factores que afectan la germinación.

Para que la germinación se realice son necesarios dos tipos de condiciones: De tipo internas, que están referidas a propias semilla y otras de tipo externas las cuales dependen del medio ambiente. (Jean-Prost 1970). Estos factores del medio ambiente son: la humedad, el oxígeno (O_2) temperatura, la naturaleza del suelo y la luz

Humedad:

Una curva de absorción de agua por las semillas tiene tres partes: a) una absorción inicial rápida en lo cual la mayor parte es de imbibición, b) Un periodo lento y c) un segundo periodo al emerger la radícula y desarrollarse la plántula. Debido a la naturaleza coloidal, las semillas secas tienen un gran poder de absorción de agua, tanto en almacenamiento como en el medio de germinación, dependiendo de la naturaleza de la semilla, la disponibilidad de agua en el medio circundante y de la temperatura. A temperaturas altas aumenta la absorción de agua . Cuando la semilla ha germinado, la provisión de agua de la plántula, está en función de la capacidad de la radícula para crear y ramificarse para absorber agua.

La humedad proporcionada a la semilla en germinación puede afectar al porcentaje y la velocidad de germinación. El porcentaje de germinación tiende a ser igual en la mayor parte del rango de disponibilidad de agua en el suelo desde que está a su capacidad de campo (CC) hasta el punto de marchitez permanente (PMP). Las diferencias entre especies se hacen evidentes conforme el suelo tiende a la sequedad (PMP). Algunas semillas germinan solo con humedad superior al PMP, otras pueden germinar con contenidos inferiores al PMP.

La velocidad de la emergencia de las plántulas de la cama de las semillas, está influida sobre todo, por la provisión de humedad disponible.

Son importantes dos propiedades del medio de germinación denominadas potencial de matriz y potencial osmótico.

Potencial de matriz: Es la capacidad del agua para moverse por capilaridad de los pasos del suelo a la semilla. La velocidad del movimiento depende de la estructura porosa del medio de germinación y de la cercanía y distribución del contacto entre suelo y semilla. A medida que la semilla resta agua del suelo, el área más próxima a ella se seca y la humedad debe volverse a proveer de agua que encuentre en poros más lejanos.

Potencial osmótico depende de la presencia de solutos (sales) en la solución del suelo. Un exceso de sales solubles en el medio de germinación puede inhibirla y reducir la población de plántulas.

Las sales pueden originarse en el suelo y en otros materiales usados en el medio de germinación, en el agua de riego o por fertilización excesiva. Como los efectos de la salinidad se vuelven más agudados cuando la provisión de humedad es reducida y por lo mismo se incrementa la concentración de sales, es de particular importancia mantener una provisión elevada de humedad en las camas de las semillas donde existen posibilidades de que haya una salinidad elevada.

Puede resultar difícil mantener una provisión continua y adecuada de agua debido a que la germinación se efectúa en la superficie del medio de germinación, la cual está sujeta a fluctuaciones de la temperatura y la provisión de humedad.

La provisión de la humedad puede mantenerse mediante las siguientes prácticas: 1) Riegos frecuentes, 2) Empleo de medio de germinación con la densidad adecuada y apretando el suelo en forma adecuada en torno a la semilla, 3) Siembra profunda, 4) Aplicación de mantillo en la superficie y 5) Mantenimiento en la sombra al medio de germinación.

Oxígeno:

Los gases que pueden afectar a la germinación de la semilla son el oxígeno (O_2) y el dióxido de carbono (CO_2) y posiblemente el etileno ($CH_2 = CH_2$).

El oxígeno es esencial en los procesos respiratorios que se desarrollan durante la germinación de la semilla (Hartman 1995), debido a que, en esta se llevan a cabo numerosos procesos germinativos (Diehl 1985).

La absorción de O_2 puede medirse poco después de iniciar la imbibición, la tasa de absorción de O_2 es un indicador del avance de la germinación y del vigor de esta.

La provisión de oxígeno está limitada por un exceso de humedad en el medio de cultivo, cuando el suelo está compactado (Hartman 1995) o por gas carbónico desprendido por la fermentación del estiércol fresco enterrado en un suelo cálido, o bien como el CO_2 es un producto de la respiración y debido a una mala aireación del suelo este gas puede acumularse.

Estos elementos que limitan la provisión de oxígeno a la semilla pueden provocar una acción inhibidora de la germinación (Diehl 1985).

Temperatura:

La temperatura es un factor ambiental que regula los procesos de la germinación y en general el crecimiento y desarrollo de las plantas. Durante el proceso de germinación, las semillas se ven afectadas por temperaturas mínimas, óptimas y máximas, así como por las fluctuaciones estacionales (verano-invierno) o por la marcha diaria de la temperatura (día-noche) (Jeams-Prost 1970, Diehl 1985, Hartman et. al. 1995)

Estos factores no son necesariamente constantes, se ha encontrado que pueden sufrir cambios con el tiempo o pueden interactuar con otros factores.

Por debajo de la temperatura mínima o por arriba de la temperatura máxima no es posible la germinación, aunque este rango es difícil de determinar, se considera que muchas plantas germinan en un rango que va de 4.5°C hasta un máximo de 40°C

Existe un grupo de semillas que pueden clasificarse como de estación fría, por su capacidad para germinar en temperaturas bajas, como semillas de hortalizas y frutales de clima frío (pera, manzano), que requieren temperaturas no superiores a 25°C.

La temperatura óptima es aquella que resulta más favorable tanto para la germinación de la semilla, como para el crecimiento de la plántula, quedando en el rango en que se produce el mayor porcentaje de plántulas con la velocidad de germinación más alta, esta temperatura para la mayoría de las plantas se sitúa entre los 25 y 30°C.

Naturaleza del suelo:

La semilla para germinar toma el agua del suelo y es donde se desarrollan sus primeras raíces. La preparación superficial, sus propiedades físicas y su contenido de agua afectan a la germinación.

Un suelo mal preparado, formado por poros gruesos, terrones, con grandes espacios huecos, mal drenado, y con pH ácidos o alcalinos constituyen un medio no apropiado para la germinación de las semillas. (Diehl 1985)

Un suelo bien mullido, sin partículas gruesas (sin terrones), con buen contenido de humedad, bien aireados, con un pH casi neutro, son adecuados para una buena germinación de semillas.

3.4. EL PROCESO DE LA GERMINACIÓN

En este proceso se distinguen tres etapas, la de activación de la germinación, digestión y traslocación y la etapa de crecimiento de la plántula. (Hartman 1995)

ETAPA I ACTIVACIÓN

-a) Imbibición de agua: La semilla seca absorbe agua y el contenido de agua al principio se incrementa con rapidez.

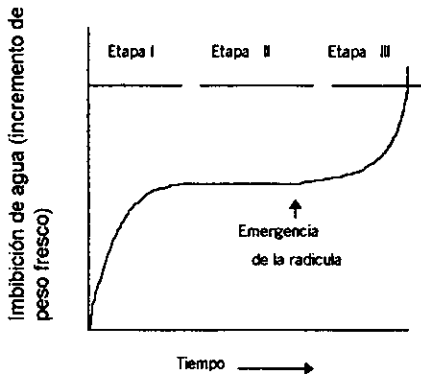


Fig. 1 Absorción de agua por una semilla seca. La emergencia de la radícula es la primera evidencia visible de la germinación (Hartman 1995).

Cada especie debe absorber una determinada cantidad de agua antes que principie la germinación. Esta cantidad depende de la composición y la estructura de la semilla. El maíz absorbe el 40 %, el chícharo el 70 %, la manzana (*Malus sp*) absorbe el 100 % (Toole en semillas 1980)

La absorción inicial implica la imbibición de agua por las coloides de la semilla seca, esta se hincha y aumenta de tamaño a medida que absorbe agua, siendo posible que se rompan las cubiertas (delorit 1979, Hartman et.al. 1995)

El agua suaviza las cubiertas e hidrata el protoplasma y el embrión de la semilla.

Cabe recordar que la imbibición es un fenómeno físico y que puede efectuarse aún en semillas muertas.

Síntesis de enzimas. La actividad enzimática empieza poco después del inicio de la germinación, a medida que se hidrata la semilla, siempre que se hayan eliminado las inhibidores endógenas de la germinación. Esta activación resulta en parte de la reactivación de enzimas previamente almacenadas que se formaron durante el desarrollo del embrión y en parte de las síntesis de nuevas enzimas al comenzar la germinación.

De acuerdo con Overbeek 1970, Garcidueñas 1993, Grierson 1991 y Camacho 1994, después de la imbibición de agua por la semilla, en el embrión inicia la producción de ácido Geberelico (GA_3) (ver figura) este es trascolado a la capa de aleurona y la induce a sintetizar enzimas. como la α amilasa y otras. Las células de aleurona son pequeñas, tienen paredes gruesas y un citoplasma densamente empaquetado, la aleurona esta formada por 3 o 4 capas de células que rodean al endospermo.

Actualmente se piensa que GA Y GA_3 pueden estar activas en la capa de aleurona y se les atribuyen dos efectos separados sobre esta: a) Originan la producción de nuevas enzimas hidrolíticas, b) Contribuyen al establecimiento de mecanismos para la secreción y liberación de enzimas preexistentes y nuevas al exterior de las células. (Grierson 1991).

La adición de GA a la semilla da lugar a la liberación de enzimas tales como β -1,3 gluconasa y ribonucleasa y también la producción y liberación de α amilasa y proteasa, todas estas enzimas son sintetizadas durante el proceso de la germinación, pero la α amilasa y la proteasa necesitan de la presencia de GA (Grierson 1991).

ETAPA II

DIGESTIÓN Y TRASLOCACIÓN

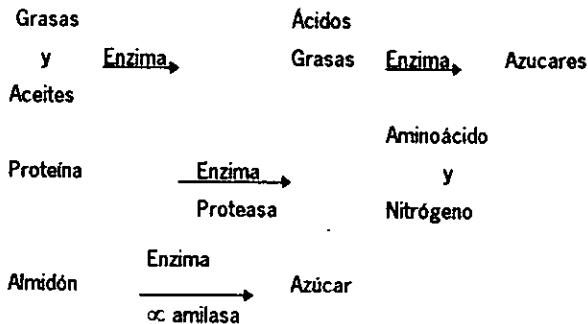
Las grasas, proteínas y carbohidratos se almacenan en el endospermo, cotiledones, perispermo o en el gamitofito femenino (coníferas).

Estos compuestos son digeridos a sustancias más simples y luego trascoladas a las partes de crecimiento del eje embrionario.

Las grasas y aceites por acción de las enzimas son convertidos a ácidos grasos y finalmente en azúcares. Las proteínas son fuente de aminoácidos y nitrógeno esencial para la plántula en crecimiento. El almidón por acción de enzimas se convierte en azúcar.

Los procesos metabólicos que ocurren durante la germinación implican la activación de enzimas en la secuencia apropiada y la regulación de su actividad. El control es ejercido (dentro de la célula) por varios procesos bioquímicos y que pueden depender de la presencia de sustancias químicas.

Fuente de Energía Procesos Enzimáticos



Cuadro 1 Transformaciones químicas durante la germinación de la semilla

SUSTANCIAS DE RESERVA	DIAS Y TASAS RESPONSABLES DE LAS TRANSFORMACIONES	SUSTANCIAS PRODUCIDAS
Almidón	Maltasa Amilasa	Maltosa Glucosa
Celulosas	Celulasa	Glucosa
Lípidos	Lipasa	Ácidos grasos Glicerina
Protidos (Proteínas)	Proteasa	Aminoácido y nitrógeno

(Jean-Prost 1970)

Durante la movilización de las reservas acumuladas en los órganos de reserva (cotiledones en manzano) estos llegan a licuarse parcialmente. Por cortes transversales al endospermo a diferentes tiempos después de la imbibición se demuestra que los procesos de solubilización comienzan en el exterior, en asociación con las células de la capa de aleurona, y van progresando hacia el interior del órgano de almacenamiento. No se produce solubilización si se extrae el embrión en la fase inicial de la imbibición. Estas observaciones llevaron a al conclusión de que un factor estimulante difusible se desplaza desde el embrión a la capa de aleurona, y se ha identificado químicamente como ácido giberelico (AG₃) (Grierson 1991)

Este ácido promueve la formación y la activación de enzimas en la capa de aleurona, este a su vez vierte las enzimas sobre los órganos de almacenamiento, para desdoblar las sustancias de reserva que ahí se encuentran, para luego ser trasladadas a los puntos de crecimiento del embrión.

La absorción de agua y la respiración permanecen constantes. Los sistemas celulares se han activado y la síntesis de proteínas está funcionando para producir nuevas enzimas, materiales estructurales, compuestos reguladores, funciones y ácidos nucleicos para realizar las funciones celulares.

ETAPA III

CRECIMIENTO DE LA PLÁNTULA

El desarrollo de la plántula resulta de la división celular en los puntos de crecimiento del eje embrionario seguido por la expansión de las estructuras de la plántula. La iniciación de la división celular, en las puntas de crecimiento del eje embrionario, es independiente de la elongación celular.

La secuencia de proceso en la 3ª. etapa de la germinación son los siguientes:

1. Cuando comienza el crecimiento en el eje embrionario, se incrementa el peso fresco y el peso seco de la plántula, pero disminuye el peso total de los tejidos de almacenamiento.
2. La tasa de respiración, medida por la absorción de oxígeno, aumenta constantemente con el progreso del crecimiento.
3. Los tejidos de almacenamiento de la semilla dejan de intervenir en las actividades metabólicas, con excepción de las plantas con germinación epigea, en estas plantas las cotiledoneas efectúan la fotosíntesis contribuyendo con alimento a la plántula.
4. La absorción de agua aumenta en forma constante a medida que las nuevas raíces exploran el medio de germinación y el peso fresco de la plántula aumenta.
5. A medida que progresa la germinación, se vuelven visibles las estructuras de la plántula. El embrión formado por un eje que porta uno o más cotiledones. La radícula, emerge de la base del embrión. La Plúmula, localizada en el extremo superior del eje embrionario. El tallo de la plántula se divide en hipocótilo, que es la sección localizada por abajo de los cotiledones, y el epicótilo sección localizada por arriba de los cotiledones.

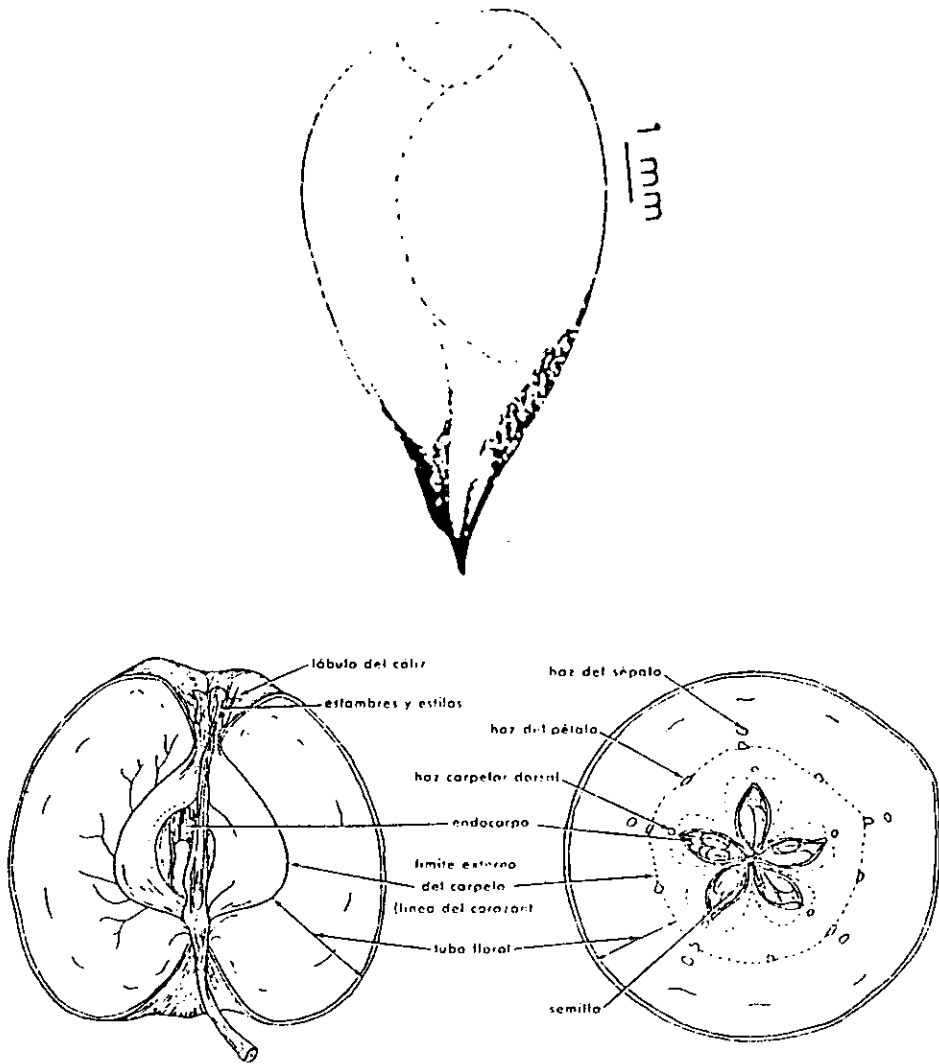


Fig. 2 Semilla (arriba) y fruto de manzano (*Malus sp*) sección media del fruto (izquierda), sección transversal del fruto (derecha)

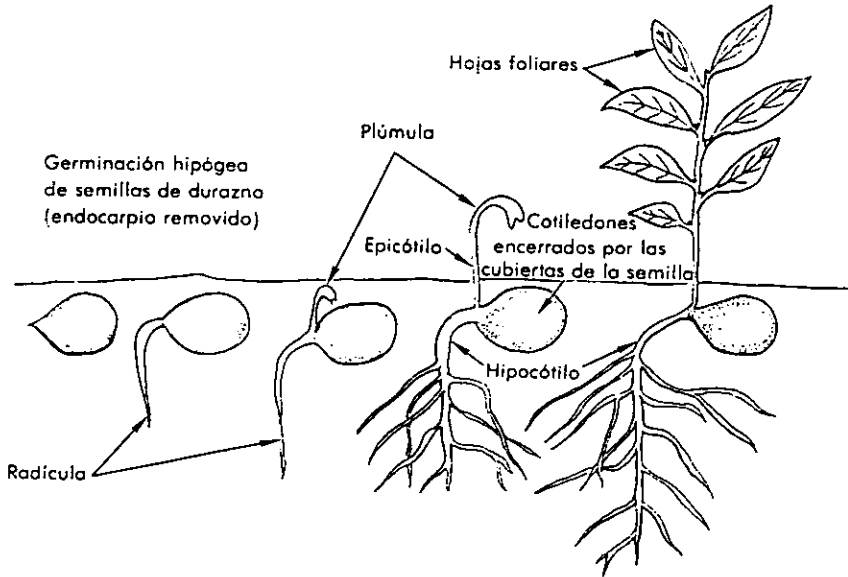
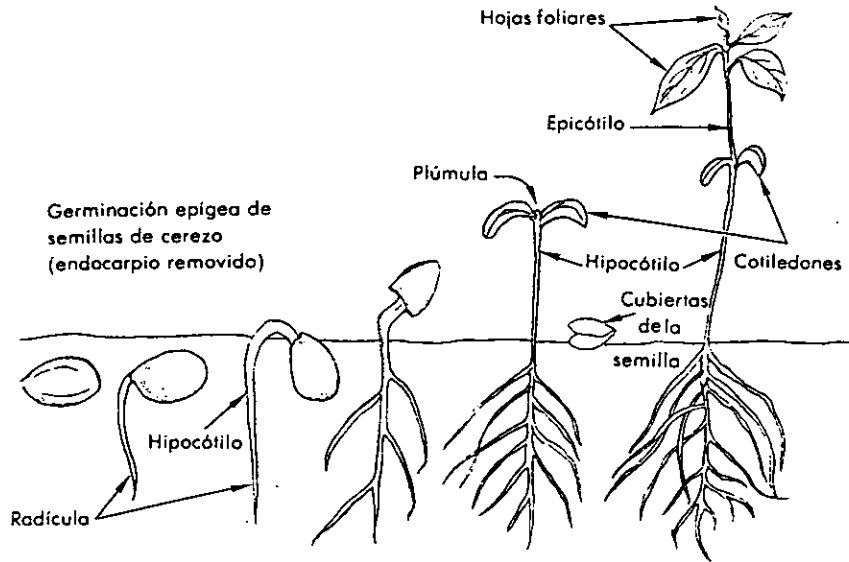


Fig. 3 Germinación de la semilla en planta dicotiledónea (arriba), germinación epigea de la cereza, los cotiledones están sobre el suelo. Germinación hipógea del durazno (abajo), los cotiledones permanecen bajo la tierra.

Jean y Amen citado por Camacho enlistan en forma cronológica los sucesos comunes que se presentan en la germinación de las semillas.

1. Imbibición de la semilla
2. Desaminación de los aminoácidos del eje embrionario
3. Utilización, en la glicolisis, de los monómeros obtenidos a partir de los aminoácidos.
4. Reducción de los nucleótidos de la pirimidina mediante las pensosas fosfatos y la glicolisis
5. Oxidación de los nucleótidos de la pirimidina mediante el sistema nitrato-reductasa con formación de ATP.
6. Asimilación de los monómeros par la elongación celular (este paso es inducido por las auxinas)
7. Hidrólisis de los polímeros de los tejidos nutritivos (este paso es inducido por las auxinas)
8. Traslocación de los nonómeros de los tejidos nutritivos al eje embrionario, en este punto, el metabolismo de la semilla pasa de una fase predominantemente anaeróbica a una predominante aeróbica.
9. Aumento de la actividad del ciclo de Krebs.
10. Incremento de la transcripción del ADN en el embrión.
11. Síntesis de nuevas proteínas en el embrión
12. Replicación del ADN y división celular en el embrión, lo que es inducida por las citocininas.
13. Incremento de la respiración y síntesis de nuevas proteínas en el embrión, para que por último se inicie un crecimiento visible con la emisión de la radícula.

Rojas 1993, establece una secuencia de paso en las que divide al proceso de germinación de las semillas:

- El agua del medio entra a la semilla (imbibición), el embrión y el endospermo se hidratan y entran en actividad
- El embrión empieza a producir GA, esta actúa sobre la capa de aleurona que rodea al endospermo y lo induce a secretar amilasa
- Por acción de la amilasa y maltasa el almidón pasa a glucosa, teniendo el embrión energía para su desarrollo.
- El embrión empieza a producir citocininas, que, junto con GA, inducen la síntesis de enzimas y la aleurona pasa a proteína soluble
- Por acción de las citocininas, la energía de la glucosa y con proteínas solubles, las células del embrión se dividen activamente, en este momento se inicia la germinación cuando el primordio de la raíz principal rompe la testa de la semilla.
- Las células del endospermo y posteriormente las del embrión sintetizan auxinas que inducen el alargamiento de los meristemas de la radícula primero y del talluelo después con un rápido crecimiento;

las auxinas determinan también el inicio de la diferenciación de los tejidos así como el crecimiento direccional del tallo hacia arriba y el de la raíz hacia abajo

Golienowski y Correa (1976) citado por Rojas, encontraron que una vez iniciada la germinación, la aplicación de ácido abscísico (ABA) inhibe la acción de alfa amilasa, pero este efecto es revertido aplicando GA_3 .

De acuerdo a lo que se ha mencionado se puede establecer que en la germinación intervienen todos los grupos hormonales, tanto promotores como inhibidores, en el letargo por embrión inmaduro cualquier tipo de hormona auxina, citocinina o giberelina podría estar en deficiencia. Se piensa que en la semilla existe un balance entre promotores e inhibidores, para que la germinación se inicie este balance debe favorecer a los promotores de la germinación. Mediante experimentos se ha mostrado que el ácido giberélico (GA_3) es el más deficiente, por tal razón, son los más usados para promover la germinación y el desarrollo inicial del embrión, pero no son las hormonas limitantes en todos los casos

3.5 Tipos de germinación

La germinación de las semillas se presenta en dos tipos epigea e hipógea, estos tipos tienen relación estrecha con la profundidad de siembra, de tal modo que en semillas con germinación epigea deben sembrarse superficialmente aunque sean semillas grandes.

3.5.1 Germinación Hipógea.

Las semillas con germinación hipógea presentan los siguientes pasos en la germinación:

1. Cuando las condiciones de humedad, temperatura y aereación son favorables, la semilla se embebe, y si no presenta dormancia las células del embrión principian a dividirse y a crecer
2. En los primeros estadios el crecimiento es mayor en la radícula, y en consecuencia, es la primera en romper las cubiertas de la semilla.
3. A medida que la radícula crece hacia abajo (geotropismo negativo), la plantula se adhiere al suelo.
4. Inicia el crecimiento del primer entrenado del tallo hasta que empuja la plumula o yema primaria hacia la superficie del suelo.
5. Cuando la plumula a emergido, empiezan a salir raíces de todos los nudos que están debajo del suelo con excepción del primero
6. El nuevo sistema radicular es conocido como sistema radicular secundario o permanente. Tan pronto como este sistema radicular queda bien establecido, la raíz original que sale de la semilla deja de funcionar y muere.

7. Debido a que el primer entre nudo se alarga hasta que la punta de la plumula llega a la superficie del terreno, el epicótilo sale a la superficie junto con la o las primeras hojas. (Ver fig. 3 Delorit 1979, Cronquist 1977, Edmond, et al. 1981).

3.5.2 Germinación epigea.

Las características de la germinación de tipo epigea son:

1. La radícula emerge primero convirtiéndose en la raíz primaria
2. El hipocótilo se alarga saliendo hacia la superficie del suelo como una U invertida
3. El hipocótilo se estira jalando a los cotiledones y al epicótilo hacia arriba de la tierra
4. Los cotiledones están ahora considerablemente arrugados, parados y revelando al epicótilo que da origen al brote.
5. Los cotiledones se hacen completamente verdes (manzano) y pueden funcionar como hojas ordinarios, realizando la fotosíntesis o bien, tener poca actividad fotosintética y pronto se desprenden de la plántula (ver figura 3) Delorit 1979, Toole 1980.

Cuadro 2 comparación entre los dos tipos de germinación.

	Hipógea	Epigea
Embrión	División y crecimiento celular	
Hipocótilo	Permanece corto no crece	Se alarga, sacando a la superficie del suelo a los cotiledones y al epicótilo.
Epicótilo	Crece por división y alargamiento celular, alcanza la superficie del suelo por su propio crecimiento.	Emerge a la superficie del suelo, empujado por el hipocótilo en la superficie del suelo crece formando el tallo y las ramas de la planta.
Cotiledones	No emergen del suelo	Emergen del suelo, en la superficie del suelo desarrollan fotosíntesis por algún tiempo, en tanto salen las primeras hojas.
Ejemplos:	guisante, ciruelo, durazno	Manzano, frijol, higuera.

IV. REGULADORES DE CRECIMIENTO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS

4.1 Regulador de crecimiento

Los reguladores de crecimiento de las plantas se definen como compuestos orgánicos diferentes de los nutrientes que, en pequeñas cantidades, fomentan, inhiben o modifican de alguna forma cualquier proceso vegetal. Los nutrientes son materiales que proporcionan energía o elementos minerales esenciales para las plantas (Lira 1994).

Las fitohormonas son sustancias orgánicas reguladoras del crecimiento vegetal, sintetizadas en alguna parte de la planta y traslocadas a otra parte, donde, a bajas concentraciones pueden activar, inhibir o modificar cualitativamente el crecimiento (Hilim 1984, Salisbury 1994, Bidwell 1993).

El término fitohormona se aplica exclusivamente a los productos naturales de las plantas, pero el término regulador de crecimiento no se limita a los compuestos sintéticos sino que puede incluir a las fitohormonas, este término cubre aspectos muy altos puede aplicarse a cualquier material que pueda modificar los procesos fisiológicos de cualquier planta (Lira 1994)

El desarrollo de un vegetal incluye dos procesos: un aumento de tamaño o masa, llamado crecimiento que podemos medir en centímetros o gramos, y un cambio interno, un "hacerse viejo", llamado diferenciación o maduración que no podemos medir con precisión. En este desarrollo forman parte factores químicos llamados fitohormonas que influyen tanto en el crecimiento como en la diferenciación (Salisbury 1994).

Los hechos básicos en la acción de los reguladores de crecimiento son dos:

- 1) Las fitohormonas no actúan directamente a nivel del organismo, sino a nivel celular, por ejemplo sobre la mitosis, o el alargamiento celular, de tal modo que sus efectos se hacen sentir en todos los fenómenos fisiológicos que se basan en los fenómenos citológicos.

2) La acción básica de las fitohormonas ocurre sobre los ácidos nucleicos a nivel de la transcripción del mensaje (DNA → RNA) o de su traducción (RNA → aminoácido). Fig. 4 (Rojas 1987)

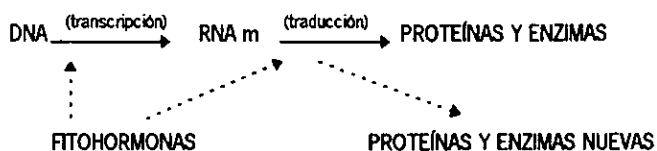


Fig. 4 Acción fundamental de las fitohormonas.

Las fitohormonas actúan sobre el material genético y determinan la formación de otros tipos de proteínas o de enzimas.

Todo individuo presenta una fisiología fundamentalmente igual a la de sus progenitores, pero con un sinnúmero de pequeñas variaciones, aún en el caso de plantas autopolinizadas. Esta capacidad de la herencia, de ser invariable y sin embargo adaptable es uno de los problemas fundamentales de la biología teórica. La explicación radica en la capacidad del DNA de autopropagarse sin cambiar de modo general sus mensajes confiriendo así invariabilidad al individuo, pero con la capacidad de reprimirlos o liberarlos para que se expresen o no fisiológicamente, permitiendo la variabilidad necesaria para la supervivencia.

El mensaje genético codificado en el DNA en los cromosomas se replica en moléculas de RNA que salen al citoplasma (transcripción del mensaje).

En el citoplasma (Ribosomas) las cadenas de RNA van acomodando los aminoácidos en una serie específica, individual conforme al código que reciben del DNA (traducción del mensaje).

Las fitohormonas no cambian el código genético, o sea, la estructura del DNA puesto que no aparecen mutaciones (Rojas 1987)

Los diferentes grupos de fitohormonas tienen acciones específicas sobre el metabolismo, y dentro de un grupo cada fitohormona favorece algunos procesos, y la respuesta provocada depende de la especie, la parte del vegetal, el estado de desarrollo, la concentración hormonal, las interacciones entre hormonas y los factores ambientales (Salisbury 1994, Bidwell 1993, Rojas 1987).

Los fenómenos fisiológicos controlados por las fitohormonas son clasificados por Tizio (1980) en:

- 1) De correlación, como multiplicación y alargamiento celular, dominancia apical, actividad de las yemas, letargo y abscisión de órganos.
- 2) De sensibilidad o movimiento como los tropismos y nastias.
- 3) De reproducción como floración, polinización y desarrollo del fruto.

Los principales reguladores del crecimiento que intervienen en la fisiología de la germinación en semillas son las giberelinas, auxinas, citocininas y ácido abscísico.

4.2 Giberelinas

Es una fitohormona químicamente relacionada con el ácido giberélico (AG_3), fue descubierta como un producto metabólico del hongo *Gibberella fujikourii*, y se pueden obtener a partir del medio líquido en que el hongo ha sido cultivado (H. Gill 1984). Las giberelinas comprenden una familia de 30 sustancias con estructura química estrechamente relacionadas entre sí (Ray 1980). En semillas secas se han encontrado diferentes clases de giberelinas con intensidad de acción muy variable, las más frecuentes son GA_1 , GA_3 , GA_4 , GA_8 y GA_9 y de estas las más activas en la germinación parecen ser GA_1 y GA_3 (Besnier 1989), el AG_3 es el de más amplio uso experimental y comercial.

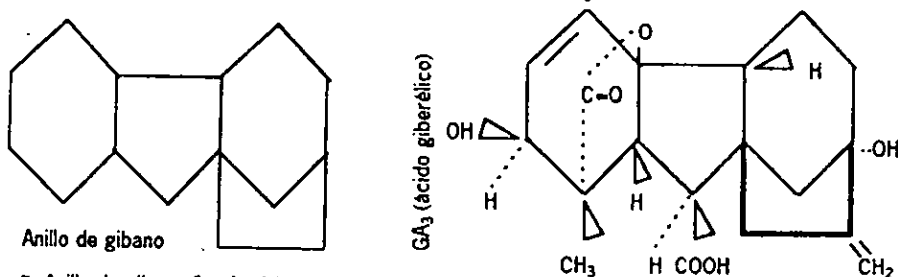


Fig. 5 Anillo de gibano (izquierda) y estructura química del ácido giberélico AG_3 (Westwood 1982)

La biosíntesis de las giberelinas se lleva a cabo en las hojas muy jóvenes, en embriones jóvenes, frutos y raíces.

Tienen como acción básica el de modificar el mensaje genético que lleva el RNA (Fig. 4).

El contenido de giberelinas libres disminuye a medida que la semilla madura, de tal modo que en semillas secas el contenido de giberelinas libres es casi nulo. Sin embargo se encuentran con cierta abundancia las giberelinas ligadas en forma de glucosidos y esteres glucosidos. Estas formas parecen de fácil transporte en el embrión hidratado por ser hidrosolubles y atravesar fácilmente las membranas celulares. La acción de las glucosidasas y la esterases liberan a las giberelinas originales (Besnier 1989, Hartman 1995, Salisbury 1993).

Cuando el ácido giberélico no está presente, se presenta el síntoma típico de falta de la enzima alfa-amilasa, esta enzima se encarga de degradar al almidón convirtiéndolo en azúcar, esto permite la liberación de energía en forma de ATP para que sea utilizado en otros procesos.

Se han encontrado en las plantas muchas giberelinas diferentes y todas poseen en menor o mayor grado la capacidad para: (Hill 1984, Hartman 1994, Wetwood 1982, Besnier 1993).

- Promover el crecimiento normal de las variedades de plantas enanas
- Con la aplicación de AG_3 las semillas aceleran el proceso de la germinación.
- Actúan en la elongación celular.
- Actúan en la etapa inicial de la inducción enzimática al ser transcritas de las cromosomas.
- Interviene en la activación enzimática que promueve la movilización del sistema de alimentos.
- Ayudan en la salida de reposo de semillas y yemas.
- Ocasiona la elongación de las frutas de manzana y pera.
- Es quizá la única fitohormona (grupo hormonal) que interactúa con el fitocromo, el receptor que "dice" a las plantas el número de horas luz diarias que recibe y que hace que las plantas se ajusten a su fotoperíodo para florecer. Por esto los efectos del GA en la movilización de nutrientes por el

GA son los generales en la activación del frujo. Tales efectos conducen a otros secundarios como:

a) aceleración de la germinación, b) floración fuera de fotoperíodo, c) desarrollo de frutos.

4.3 Auxinas

El término auxina designa cualquier regulador de crecimiento perteneciente al grupo auxínico, pero a menudo se usa como sinónimo del ácido indol-3-acético. figura 6 que es la principal auxina natural, también se incluyen como auxinas varios compuestos naturales como:

a) Indolacetaldehído, b) Ácido indolpirúvico, c) Ácido indolacetinotril.

Existen también compuestos sintéticos que pertenecen a este grupo, tales como el ácido indol butírico (AIB); ácido naftalenacético (ANA); ácido- β -naftalenacético (BNOA ó NOA); 3-CPA; 2,4-D; 2,4,5-T y 2,4,5,TP.

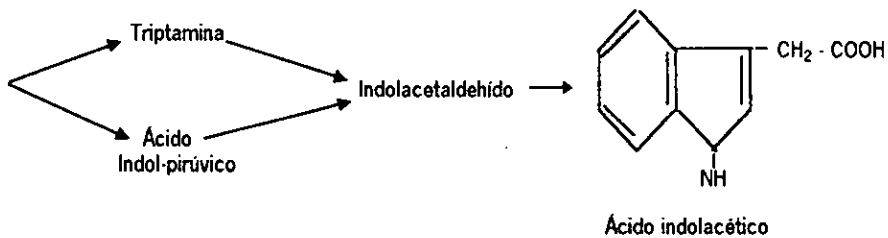


Figura 6 Biosíntesis del ácido indolacético

Las auxinas se sintetizan principalmente en el ápice del tallo y en ramas jóvenes, en las yemas y hojas jóvenes, en general, en los meristemas y embriones en desarrollo.

Las auxinas son transportadas como AIA-inositol, el transporte es basipetalo por el floema con los productos fotosintetizados. En el lugar que va a actuar se desliga del inositol y pasa a auxina libre y se adhiere a la proteína receptora para efectuar su acción. Cuando se sintetiza en el ápice de la raíz tiene transporte acropetalo.

Las auxinas se han encontrado en semillas secas de cereales (maíz, arroz, centeno) en formas ligadas con glucanos e inositoles; al parecer estas formas ligadas son transportadas desde el endospermo al coleóptilo, donde las auxinas son liberadas y se difunden al nudo escutelar; allí promueven la lignificación parcial del nudo, facilitando la pronta formación de un sistema vascular, permitiendo el transporte de sustancias desde el escutelo hasta el embrión, o bien, para transportar la giberelina del embrión al escutelo; las auxinas contribuyen de manera general, al alargamiento celular, pero parte de todo este proceso se conoce muy poco en la fase inicial de la germinación, esto puede deberse a resultados contradictorios obtenidos en la aplicación del ácido indolacético exógeno, por ejemplo, en gramíneas el coleóptilo puede metabolizar y utilizar formas ligadas pero no AIA libre (Besnier 1989).

La acción fisiológica básica de la auxina es sobre el mensaje genético contenido en el DNA, determinando que la planta sintetice proteína y enzimas nuevas cambiando su química y fisiología (Westwood 1982).

Mecanismos de acción o síntomas típicos.

Las auxinas son capaces de promover las siguientes acciones en las plantas (Weaver 1984, Westwood 1982, Hartman 1994, Ray 1980).

- Controlan la velocidad de la elongación de las células por afectar la extensibilidad de la pared celular.
- Promueve la diferenciación de los tejidos de xilema y de floema en tallos y raíces.

- Inhibe el crecimiento a dosis altas.
- Incrementa la respiración y en general la actividad fisiológica a bajas dosis y la inhibe a dosis altas.

4.4 Citocininas

Diferentes derivados de la adenina se conocen como promotoras de la división celular (citocinesis) llamadas citocininas, de estas se conocen siete, las cuales son Kinetina, Zeatina, ¹⁴C, BA, PBA y PPG. (Hartman 1994, Westwood 1982). Thidiazurón (TDZ) es un derivado de la urea (citocinina-activa), están activa como cualquier otro derivado del adenina.

Las citocininas se sintetizan en raíces y frutos jóvenes, su traslocación parece en ambos sentidos, hacia arriba desde las raíces por la sabia del xilema y hacia abajo desde las regiones de síntesis en los órganos aéreos por el floema (Weaver 1984).

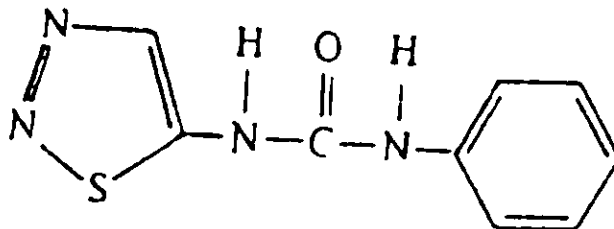


Fig. 7 Estructura química del Thidiazurón (TDZ)

Las citocininas provocan la división celular y regulan la diferenciación en los tejidos cortados, concentraciones de 5×10^{-11} M de zeatina provocan la división celular en médulas de tabaco, se requiere citocinina tanto en el inicio como en la continuación de la división celular.

Interactúan con las auxinas para mostrar expresiones diferentes de crecimiento, provocan la elongación de algunas hojas y segmentos de tallos etiolados, debido a la expansión celular, retrasan el envejecimiento de los tejidos vegetales, debido al mantenimiento de la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos (Weaver 1984).

ACCIÓN DE LAS CITOCININAS EN LA GERMINACIÓN

Las citocininas se han detectado en muchas semillas maduras; las más difundidas son la zeatina y sus derivados. A medida que maduran las semillas disminuye el contenido de citocininas, resultando difícil (Hartman 1995, Besnier 1989) cuantificarla en semillas secas. Como las citocininas forman parte del ARN de transferencia, se piensa que se conservan en forma de ribonucleótidos inactivos hasta el momento en que la semilla se hidrata.

Las citocininas promueven la síntesis de proteínas, afectan a los fenómenos de permeabilidad de las membranas celulares, estimulan el alargamiento de la radícula y la expansión de los cotiledones, intervienen en la regulación de los niveles de las giberelinas y en la actividad de enzimas hidrolíticas de los cotiledones.

El equilibrio entre las cantidades de citocininas e inhibidores (citocinina-ácido abscísico) determinan la continuación o terminación del letargo, por lo tanto, se considera que desempeña el papel de "permisor" de la germinación al dejar funcionar al ácido giberélico (Besnier 1989, Hartman 1994).

Las citocininas son liberadas y segregadas en el eje embrionario en dicotiledóneas y transportadas a los cotiledones, en monocotiledóneas endospermicas son liberadas en las capas exteriores de las semillas. (Besnier 1989).

En algunos cultivares, que contienen cantidades mayores de inhibidores (ABA), se requiere tanto de GA como de citocininas para obtener la germinación (Hartman 1994).

4.5 Ácido abscísico (ABA)

La principal abscisina es el ácido abscísico (ABA) se sintetiza en la planta a partir del farnesil pirofosfato directamente o a través de la violaxantina. (Rojas Garcidueñas 1993. Fig. 8). Es un inhibidor del crecimiento que se presenta de modo natural en las plantas, se localiza en frutas, semillas y en yemas jóvenes (Hartman 1995, Rojas 1993).

Se ha detectado en la sabia bruta y elaborada por lo que se cree que se transporta por el xilema o floema (Seevart 1979 citado por Rojas).

El ABA se sintetiza en hojas maduras durante los días cortos de finales de verano, en tallos y raíces bajo "stress" físico o de humedad, los frutos maduros e inmaduros contienen altos índices de ABA (Westwood 1982).

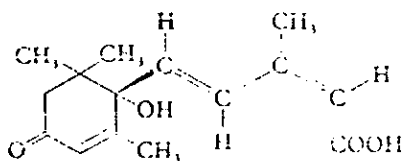
En algunos casos ABA se considera como antigiberélico, pero no bloquea o inactiva directamente a la giberelina, sino que actúa bloqueando la síntesis del ácido ribonucleico, probablemente a nivel de transcripción, inhibiendo específicamente la producción de enzimas inducidas por GA y por otros promotores, ABA y GA parecen actuar con el fitocromo, debido a que adaptan a la planta al cambio estacional a través del aviso del cambio en las horas de luz del día. Se considera que ABA inhibe las acciones de auxinas y citoquininas (Rojas Garcidueñas 1993 y Westwood 1982).

El ABA es un inhibidor de la expansión celular, de la síntesis y de la acción de diversas enzimas y, en general, de la germinación, impide el fenómeno de la viviparidad en semillas inmaduras, en semillas maduras contribuye al mantenimiento del letargo.

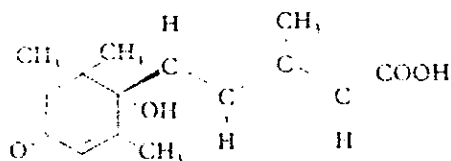
El ABA tiende a incrementarse con la maduración del fruto, pero desaparece durante la estratificación fría (Besnier 1989, y Hartman 1994).

Los efectos característicos de esta fitohormona se pueden enlistar como sigue, de acuerdo con Rojas Garcidueñas 1993, Westwood 1982 y Hartman 1994).

- Estimula procesos fisiológicos aparentemente negativos que implican una suspensión del desarrollo, pero necesarias para la supervivencia de la planta.
- Interviene en el reposo de yemas y semillas e inhibe el crecimiento de brotes.
- Induce letargo, al agregarlo a yemas de manzano in vitro. El nivel de ABA en yemas varía a lo largo del año por lo tanto varía su acción.
- Es una fitohormona de stress, cuando la planta sufre sequía las concentraciones de ABA aumentan (Hoad 1973 citado por Rojas).
- Se ha considerado que la falta de desarrollo de embriones rudimentarios es debido a elevadas concentraciones de sustancias inhibitoras (Atwater citado por Hartman 1995).
- El ABA tiende a incrementarse con la maduración del fruto y puede involucrarse en la prevención de la viviparidad y en la inducción del letargo. Se ha aislado de semillas en letargo, como de las semillas de durazno, nogal, manzano, rosa y ciruelo, pero desaparece durante la estratificación. (Fig. 9 Hartman 1995).
- aplicación de ABA puede inhibir la germinación de semillas que no estén en letargo y contrarrestar los efectos del ácido giberélico, pero estos efectos son temporales y desaparecen cuando las semillas se cambian a una solución libre de ABA.



Ácido (5) - absclísico (ABA)



Ácido 2 - trans - absclísico (ABA)

Fig. 8 Fórmulas desarrolladas del ABA (Según Addicott y Lyon 1969).

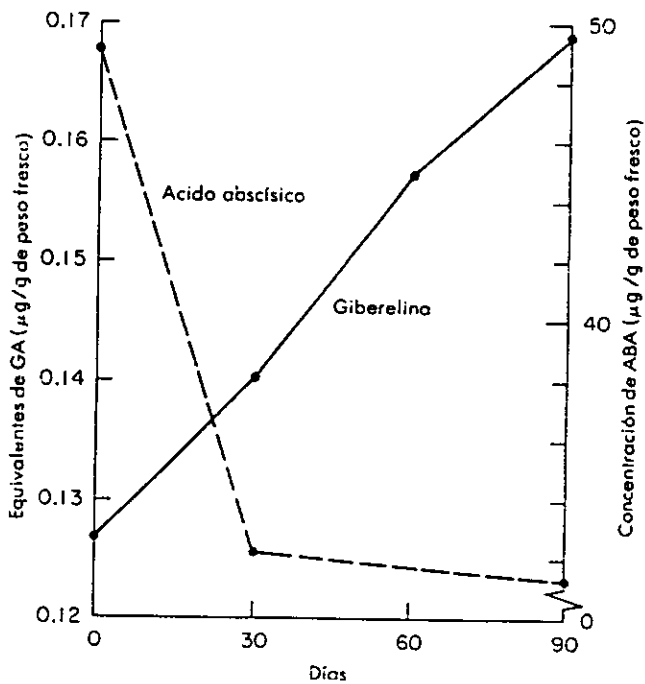


Fig. 9 Cambios en los contenidos endógenos de ácido abscísico y de giberelina en semillas de ciruelo durante la estratificación. Reproducido de Lin y Boe tomado de Hartman 1995.

V DORMANCIA

5.1 Definición de conceptos

5.1.1 Quiescencia:

Se entiende como la inhibición de la germinación en semillas por no tener las condiciones ambientales adecuadas, tales como, una temperatura entre 10° y 30°C, humedad, aireación y luz, esto es que la semilla germina de inmediato bajo estas condiciones y en ausencia de cualquier barrera interna (Hartman y Kester 1995, Camacho 1994).

5.1.2 Dormancia:

Es el estado en que se encuentra una semilla viable sin que germine, aunque disponga de suficiente humedad para ambeberse, una aireación similar a la de las primeras capas de un suelo bien ventilado y una temperatura entre los 10° y 30°C (Dieheta 1985, Camacho 1994), se consideran como sinónimos de dormición a dormancia, letargo, latencia, reposo y vida latente.

5.2. Dormición en semillas

Se puede establecer que existe dormición en poblaciones de semillas cuya germinación reúna una o más de las siguientes características . (Atwater 1980, Hartman y Kester 1995, ISTA 1976)

- a) Germinación incompleta debido a que parte de la población permanece firme mucho tiempo, es decir se embebe pero no germina ni se pudre, o bien, ni si quiera se embebe.
- b) Germinación lenta, debido a que la semilla, individualmente o en conjunto, tardan en completar su germinación.
- c) Extremadamente sensible al medio para que la semilla germine se requieren determinadas condiciones de iluminación, temperatura o composición de la atmósfera entre otros factores.

5.2.1 Mecanismos causantes de la dormición

Los mecanismos que controlan la dormancia aún son desconocidos con exactitud. Pero existen teorías que tratan de explicar este fenómeno. Una de ellas establece que todos los procesos fisiológicos son, finalmente controlados por los genes, por lo que se está trabajando en la identificación de los genes que están relacionados con la dormancia. Las semillas de *Arabidopsis sp* requieren de almacenamiento en seco para poder germinar, pero algunos mutantes producen semillas no durmientes (Handbook 1982). La capacidad de dichas semillas para germinar ha sido asociada con un sólo gen, al cual, se le atribuye la producción de ácido abscísico (ABA) o ácido giberélico en la raíz (Handbook 1982). También se considera que estos genes intervienen en la síntesis o en la sensibilidad de ABA.

Dennis (1995) dice que las teorías propuestas explican que la dormancia puede ser agrupada en tres categorías generales:

- 1) Deficiencias nutricionales y/o metabólicas.
- 2) Impermeabilidad de las membranas
- 3) Excesos o deficiencias de fitohormonas

Estas teorías proponen que las semillas con dormancia no germinan por:

- 1) Una deficiencia de nutrientes o,
- 2) Una enzima (o deficiencia de ella) no puede metabolizar dichos nutrientes o,
- 3) Un exceso de inhibidores de crecimiento, una deficiencia de promotores de crecimiento, o bien, un balance inapropiado de promotores o inhibidores de la germinación dentro del embrión.

Para algunos autores como (Copeland 1976, Hartmann y Kester 1995, Nikolaeva 1969, Taylorson 1977) los mecanismos causantes de la dormancia en semilla son:

- a) Impermeabilidad al agua
- b) Baja permeabilidad a los gases
- c) Resistencia mecánica al crecimiento del embrión
- d) Permeabilidad selectiva a los reguladores del crecimiento

- e) Bloqueos metabólicos
- f) Presencia de inhibidores
- g) Embriones rudimentarios
- h) Adquisición de mecanismos inhibidores

5.2.2. Clasificación de los tipos de dormición

En la clasificación de la dormancia en semillas existen diferentes autores, entre los que se encuentran (Dennis 1995 y Handbook 1982), quienes proponen 3 categorías, basados en los factores de control, tales como:

I. Ecodormancia: La cual se presenta cuando el crecimiento depende de las condiciones ambientales como temperaturas mínimas y máximas.

II. Paradormancia: Cuando el crecimiento depende de condiciones fuera del meristemo o embrión pero dentro de la misma planta.

III. Endodormancia: Se presenta cuando el crecimiento depende de las condiciones del meristemo mismo.

Esta clasificación es más adecuada para el crecimiento de las plantas en general, que para la germinación de las semillas.

La clasificación propuesta por Nikolaeva (1969) es idónea para semillas con dormancia, misma que ha sido aceptado por Hartman et. al. (1995), Camacho (1994), en este trabajo se ha adaptado esta clasificación. Cuadro

5.2.2.1. Dormición por cubiertas de semillas

EXO-DOR-MAN-CA.	FISICA	Impermeabilidad de la testa al agua	Perforación de la testa	<i>Convolvulus arvensis</i> <i>Gledichia</i> spp.
	QUIMICA	Presencia de inhibidores en la cubierta externa	Eliminación de la cubierta de los inhibidores	<i>Tectonia grandis</i> , <i>shinus</i> <i>molle</i>
	MECANICA	Resistencia de las cubiertas al crecimiento del embrión	Debilitamiento de las cubiertas	<i>Pronus capuli</i> , <i>crataegus</i> <i>pubescens</i> <i>Q. nigra</i>
	MORFO-LOGICA	Presencia de embriones rudimentarios	Temperatura y humedad que permita el crecimiento del embrión	
E N D O D O D O D O D O	FISIOLÓGICA	Bloqueos metabólicos y baja permeabilidad de las cubiertas a los gases.		<i>Malus domestica</i> , <i>lactuca</i> <i>Sativa</i>
		LEVE	Luz, ciertas temperaturas, almacenamiento en seco, daño las cubiertas, reguladores del crecimiento, período corto de enfriamiento en húmedo	Cereales, coníferas, hortalizas y malas hierbas
	INTERMEDIA	· Falta de hormonas promotoras	Período más largo de enfriamiento en húmedo que puede acortarse con otros tratamientos	<i>Acernegundo</i>
	PROFUNDA	· Falta de intercambio de productos metabólicos entre organelos celulares	Sólo prolongando enfriamiento en húmedo	Manzano, Peral
	MORFOFISIO-LOGICA	Embriones rudimentarios y dormición fisiológica que afecta tanto la germinación el crecimiento de las plantas	Combinación de enfriamiento en húmedo con estratificación cálida	<i>Viburnum Opaleus</i>
	INTERMEDIA		Período cálido seguido de uno frío	<i>Aralia Mandshurica</i>
	PROFUNDA		Como el anterior	<i>Panaxginseng</i>
	PROFUNDA EPICOTILAR	Idem. con inhibición del crecimiento del tallo	Como el anterior	<i>Viburnum opaleus</i>
	PROFUNDA DOBLE	Idem. con inhibición del crecimiento del tallo y la raíz	Idem. más un período cálido para el desarrollo de la raíz y otro de frío para liberar el crecimiento del tallo.	<i>Aralia continentalis</i> <i>Trillium</i> spp.
	PROFUNDA COMPLEJA	Embrión rudimentario que requiere frío para crecer	Período prolongado de enfriamiento en húmedo	<i>Aralia continentalis</i>
PROFUNDA COMPLEJA	Idem.	Idem.	Tulipa tarda	

5.2.2.1.1. Dormición física

Si al final de las pruebas de germinación, queda una cantidad de semillas cuyo volumen y dureza no se modifican, se establece que existe dormición física. Este tipo de dormición se debe a que en las semillas existen capas impermeables al agua, entre las semillas que presentan estas condiciones se puede mencionar a las leguminosas, liliáceas, geraneaceae, malvaceae, anacardaceae, solanaceae.

Hartman (1995), Nikolaeva (1969) y Rolston (1978) coinciden en que la dormición física se debe a la existencia de una testa dura en las semillas. La testa impermeable de las semillas con dormición física tienen una anatomía similar y están formadas por: (Rolston 1978, citado por Camacho 1994)

- Una capa externa con una o dos capas de cutículas (en leguminosas) y dos capas de células epidérmicas en *Convolvulus arvensis*.
- Bajo la capa externa tienen una capa de células de macroesclerénquima en empalizada, con las paredes engrosadas especialmente hacia la parte exterior donde se observa la línea de luz.
- Bajo la capa exterior hay otra de células de osteoesclerénquima con grandes espacios intercelulares y sobre los tejidos nutritivos, un parénquima compacto.
- El micropilo de este tipo de semillas debe estar obturado.

Las semillas con dormición física adquieren la impermeabilidad al final de la maduración, durante la desecación, si se cosechan antes de alcanzar su completa madurez y se siembra inmediatamente o si se almacenan en ambiente húmedo se evita la existencia de impermeabilidad. Se cree que esta impermeabilidad resulta de la compactación de las células del macroesclerénquima por lo que la testa se encoge.

Las semillas con este tipo de dormición presentan una proporción variable de semillas quiescentes.

El factor principal en la profundidad de la dormición física es la humedad de la semilla, y esta en relación con el grado de compactación del macroesclerénquima, el cual podría definir la mayor o menor impermeabilidad y en consecuencia se tiene mayor o menor profundidad en la dormición física.

En las papilionoideae, el hilo actúa como una válvula higroscópica cuya apertura y cierre controlan el contenido de humedad en las semillas, presenta fisuras por donde sale el agua si ésta es mayor en la semilla que en el medio ambiente y se cierran si la humedad del medio ambiente es mayor que el de la semilla.

5.2.2.1.2 Dormancia mecánica

Este tipo de dormancia se presenta en semillas con testa o endospermo duros y sobre todo en las cubiertas con endocarpio grueso, duro e indehiscente, se piensa que estos tejidos oponen resistencia mecánica al crecimiento del embrión (Nilolaeva 1969, Hartman 1995), retrasando considerablemente la germinación en géneros como *Crataegus*, *Prunus* y *Rosa*.

Este efecto no puede atribuirse a la impermeabilidad al agua o a los gases por parte de la cubierta, debido a que estas semillas tienen un orificio micropilar por donde entra el agua y el O_2 con la misma velocidad, no importando si la semilla cuenta o no con la cubierta (Nicolaeva 1969).

La germinación de la semilla se logra debilitando la cubierta, rompiéndola o eliminándola por completo.

La profundidad en la dormición resulta de la facilidad con que se rompa la sutura de la cubierta (Camacho 1994).

Los tratamientos empleados para contrarrestar este tipo de dormancia son:

- a) Utilizando productos causticos para debilitar las cubiertas duras, se sumerge a la semilla en ácido sulfúrico por un período de 0.5 a 4.5 horas.

- b) La escarificación mecánica con el uso de lijas y aparatos mecánicos para adelgazar la testa.
- c) La estratificación cálida consiste en mezclar las semillas con turba, musgo o arena con estiércol, poniéndolas a fermentar en un recipiente, para que la actividad microbiana destruya la testa de las semillas (Hartamn 1995), la duración del tratamiento es variable, por ejemplo en *Prunus spp* es de dos semanas y para *Crataegus spp* es de 16 semanas.

5.2.2.1.3 Dormición química

En este tipo de dormición la germinación se encuentra bloqueada por inhibidores presentes en las cubiertas de las semillas más expuestas al ambiente y que pueden ser el pericarpio, la testa o las partes florales adheridas a las semillas.

Los inhibidores presentes en las cubiertas son, entre otros, compuestos fenólicos, cumarina, cafeína, lactonas no saturadas, ácidos abscísicos, cinámicos, cianhídricos, oxobenzoicos y salicílico.

Para que las semillas con dormición química germinen, es necesario que se eliminen o inactiven los inhibidores presentes (Nikolaeva 1969, Hartman 1995), mediante la pérdida de las cubiertas; el efecto estimulante es directamente proporcional a la cantidad de tejido eliminado, mediante el lavado de las semillas con agua corriente, también se eliminan los inhibidores.

Es importante considerar el tipo y la concentración de estas sustancias, así como el espesor, la compactación y la permeabilidad de los tejidos para poderlos eliminar de la semilla.

La profundidad en la dormición química esta en función de la facilidad con que se lixivian o inactivan los inhibidores y se manifiesta en el tiempo de remojo requerido para la germinación de la semilla.

Entre los tratamientos empleados para contrarrestar a la dormancia química se tienen:

- a) Productos causticos: destruyen las cubiertas que contienen a los inhibidores.

- b) Escarificación mecánica: su eficacia depende de la cantidad de cubierta externa que se retiene.
- c) Fermentación e intemperización: si las semillas son carnosas se puede lograr la fermentación, revolviendo las semillas con estiércol o en agua. La intemperización consiste en exponer las semillas al sol y la lluvia durante algunas semanas.
- d) Remojo: las semillas se exponen a un periodo continuo de remojo en agua corriente o bien alternando el periodo de remojo con secado. Es importante oxigenar las semillas durante el periodo de remojo.

El remojo prolongado puede dañar la germinación, debido a que pueden lixiviarse las sustancias que se requieren en el proceso de la germinación.

5.2.2.2 Dormición morfológica

Las plantas con letargo morfológico tienen la característica de presentar embriones que no se han desarrollado por completo en la época de maduración del fruto, por lo que sus semillas presentan embriones rudimentarios. Una vez que la semilla se ha separado de la planta y antes de que pueda germinar es necesario que el embrión complete su crecimiento (Hartman 1995).

La diferenciación y el tamaño del embrión rudimentario varía con la especie, en plantas como *Orobancha spp.* el embrión no es más que un pequeño grupo de células poco diferenciadas; en otros tiene bien definida su morfología. Existen plantas como en la zanahoria, que en un mismo lote presentan embriones de diferentes tamaños e incluso completamente desarrolladas. (Camacho 1994, Atwater 1982).

El tiempo que un embrión requiere para terminar su desarrollo en condiciones adecuadas, no depende de su tamaño ni de su diferenciación, sino de la especie, en algunos se requiere de pocos días, en otras de varios meses, por lo tanto, la capacidad del embrión para germinar es el factor que define la profundidad de la dormición. (Nikolaeva 1969).

Se piensa que la presencia del embrión rudimentario no es la única causa de dormición, también existe la impermeabilidad del endospermo al intercambio gaseoso y la presencia de inhibidores, sobre todo a semillas en el que el crecimiento del embrión requiere de varios meses para completar su crecimiento.

5.2.2.2.1 Dormición por embriones rudimentarios

Las especies de plantas con embriones rudimentarias producen semillas cuyos embriones son algo más que un embrión embebido en un endospermo en la época de maduración del fruto. En el endospermo concurren inhibidores químicos de la germinación, que son activos a altas temperaturas. La germinación se induce a temperaturas de hasta 15°C, con exposición a temperaturas alternantes y tratamientos con fitohormonas como el ácido giberélico.

Este tipo de dormición se presenta en varias familias como *Ranunculaceas*, *Araliacia* y las orquídeas que presentan embriones rudimentarias así como semillas poco desarrolladas. (Hartman 1995)

5.2.2.2 Dormición por embriones no desarrollados

Algunas especies de planta, cuando madura el fruto presentan semillas con embriones poco desarrolladas, con forma de torpedos, alcanzando en tamaño hasta la mitad de la cavidad de la semilla. El crecimiento posterior del embrión se realiza antes de la germinación. En semillas recién cosechadas están involucrados otros factores tales como la semipermeabilidad de las cubiertas internas y la presencia de inhibidores endógenos de la germinación. Para promover la germinación se requieren temperaturas de alrededor de 20°C, de la aplicación del ácido giberélico (1000 ppm en semillas de palma), la aplicación de la estratificación cálida para el desarrollo del embrión seguida de una estratificación fría como en fresno, *Fraxinus* y *Eunymous* (Nikolaeva 1977, Hartman 1995)

5.2.2.3 Dormancia interna

5.2.2.3.1 Dormición fisiológica:

Este tipo de dormición se presenta como resultado de los bloqueos metabólicos en el embrión sostenida por la baja permeabilidad a los gases por parte de las cubiertas de las semillas. En estos embriones, la actividad enzimática es baja, así como también lo es la producción de enzimas, coenzimas y ácidos nucleicos (Nikolaeva 1969). También se piensa que la dormición fisiológica es originada por un bloqueo a la transcripción del genoma. (Khan 1977, Osborne 1981)

Se han encontrado inhibidores de la germinación en semillas con dormición fisiológica, por lo que se cree que estas sustancias provocan la dormancia fisiológica, se cree que es el ácido abscísico, debido a que cuando se aplica externamente a las semillas, estas reducen su porcentaje de germinación. Existe una estrecha relación entre la concentración de este ácido y la profundidad en la dormición.

Los inhibidores de la germinación se presentan en las cubiertas, los tejidos nutritivos y el embrión de la semilla. Los inhibidores que son más difíciles de lixiviar son los que se encuentran en las partes internas de las semillas. (Khan 1977, Nikolaeva 1969) Existen plantas (*lactuca sativa*) en las que no existe relación entre el contenido de ABA y la profundidad en la dormición, también hay semillas que no son durmientes a pesar del alto contenido de inhibidores, también se piensa que tanto la falta de hormonas promotoras para la germinación como la incapacidad para sintetizarlos son causantes de la dormición (Khan 1977, Nikolaeva 1969), otras como *Eleagnus angustifolia* la germinación no resulta de una disminución de contenido de inhibidores, sino del aumento de los promotes. (Hartman 1995).

Taylorson y Hendricks (1977) piensan que la dormición fisiológica se debe a la falta de intercambio de productos metabólicos entre organelos celulares por acción de un balance hormonal que restringe la permeabilidad de las membranas, esto impide el enlace entre los procesos bioquímicos necesarios para iniciar la germinación.

Nikolaeva (1969) establece que las cubiertas y tejidos nutritivos actúan como barreras pasivas a la difusión de los gases restringiendo la respiración del embrión el tejido que más ejerció dicho efecto es el que se encuentra en contacto directo con el embrión, como el endospermo a la testa.

Khan (1977) plantea que la germinación en semillas con dormición fisiológica, depende de un balance adecuado entre promotores e inhibidores y le asigna a la giberelina el papel principal, pues es esta fitohormona la que posibilita la germinación (Cuadro 4)

Cuadro 4 Modelo de control hormonal de la germinación.

Situación hormonal	Giberelina	Citocinina	Inhibidores	Resultado
Primera	+	+	+	Germinación
Segunda	+	+	-	Germinación
Tercera	+	-	+	Dormición
Cuarta	+	-	-	Germinación
Quinta	-	-	-	Dormición
Sexta	-	-	+	Dormición
Séptima	-	+	+	Dormición
Octava	-	+	-	Dormición

Khan 1975

La profundidad en la dormición está en relación directa con las exigencias de las semillas para poder iniciar la germinación.

De acuerdo con Khan (1977) los diferentes tipos de dormición fisiológica se originan a partir del balance hormonal:

- a) La dormición fisiológica leve puede eliminarse con tratamientos de giberelina y citocinina.

b) La dormición fisiológica intermedia se puede eliminar con giberelina en semillas almacenadas seco y sin pericarpio o con un periodo de un mes de enfriamiento en húmedo.

c) La dormición fisiológica profunda, se puede eliminar con un periodo de tres meses de enfriamiento en húmedo aproximadamente, dependiendo de la especie (Cuadro 3)

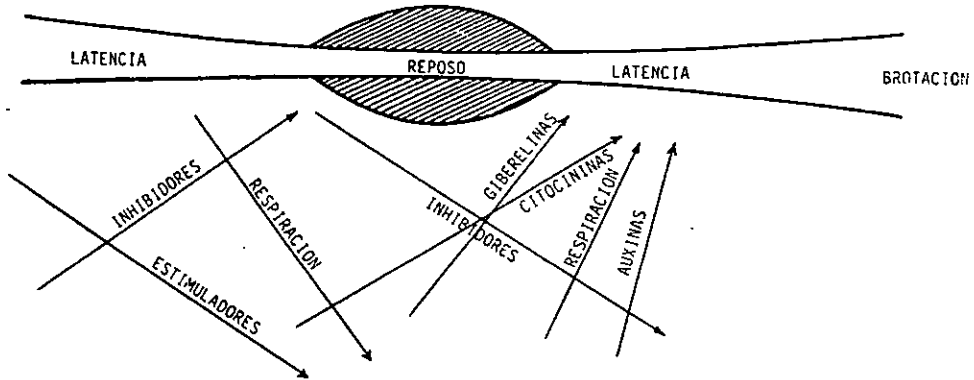


Figura 10 Descripción esquemática de los cambios en respiración y hormonales, en relación al reposo (Lav 1973)

3.2.2.3.2 Dormición fisiológica leve

Las semillas que presentan este tipo de dormición, son extremadamente sensibles a las condiciones temperatura, iluminación y aereación, por esta razón sólo bajo ciertas condiciones ambientales germinaran rápido y completamente, si estas condiciones cambian la germinación será lenta e incompleta. Esta dormición presenta en semillas que acaban de madurar, es decir recién cosechadas, tales como las semillas de cereales pastos, algunas coníferas, hortalizas y malas hierbas, (Nicolaeva 1969)

Si la temperatura, luz y humedad están en una relación o en cantidades y calidades inadecuadas, la semilla no germina, debido a que esta debe estar enterrada a gran profundidad, de tal modo que la energía almacenada en la semilla no le permite al tallo emerger del suelo (Atwater 1980)

La amplitud y la ubicación del intervalo de temperatura en el que las semillas con dormición leve germinan rápida y completamente dependen de la especie.

Roberts y Smith citado por Camacho, consideran que la termosensibilidad de las semillas con dormición fisiológica leve puede estar relacionado con los cambios en las propiedades de las membranas celulares. Encontraron que en cebada la actividad de la vía de la pentosa fosfato es mayor a temperaturas óptimas para la germinación.

Las semillas de pastos germinan a temperaturas variables e inhibida por temperaturas calientes. *Taraxacum*, *Kok sagys* germinan tanto a temperaturas de 3 a 6°C como de 28 a 30°C, las semillas de pastos de clima templado necesitan temperaturas de 10 a 15°C y en general las temperaturas variables favorecen la germinación e inhibida por temperaturas variables.

Las semillas de apio sometidas a temperaturas variables, el contenido de giberelinas aumenta a temperaturas bajas, la sensibilidad a las citocininas es mayor cuando la citocinina aumenta por lo tanto la dormición se elimina porque una temperatura baja incrementa la giberelina, mientras que un aumento en la temperatura incrementa el nivel de la citocinina.

3.2.2.3.3. Dormición fisiológica intermedia y profunda

Este tipo de dormición se presenta en plantas de clima templado tales como *Aceraceae*, *Celastraceae*, *Coníferas*, *Coniferaceae*, *Oleaceae*, *Rosaceae* y *Tiaceae* entre otras y algunas herbáceas que poseen semillas durmientes con cualquier nivel de aereación, temperatura e iluminación y para germinar requieren de un periodo de enfriamiento en húmedo mayor de un mes; la duración óptima varía con la especie, procedencia e incluso varía entre las semillas individuales de un mismo lote (Nikolaeva 1969, Hartman 1995)

En estas plantas, la maduración y dispersión de la semilla se realiza a finales del verano o en el otoño, y pasan el invierno húmedas en el suelo o cubiertas por la nieve, su germinación se efectúa en la primavera del siguiente año.

Las semillas con dormición fisiológica intermedia y profunda sometidas a un periodo adecuado de enfriamiento en húmedo pueden germinar adecuadamente en un amplio rango de temperatura.

La pérdida de la dormición durante el enfriamiento en húmedo en semillas con dormición profunda es gradual; al principio la dormición es profunda, tanto que los embriones extraídos de la semilla es difícil que germinen, la dormición se va perdiendo conforme transcurre el tiempo de estratificación, más o menos como a la mitad del periodo los embriones adquieren la capacidad de germinar, pero su crecimiento es lento y deforme.

Hacia el final del periodo de estratificación, el embrión se desarrolla normalmente, y por último se sobrepone a las restricciones impuestas por las cubiertas.

El enanismo fisiológico se presenta en este tipo de semillas con dormición fisiológica que no han sido sometidas a un enfriamiento en húmedo.

El enanismo provoca el desarrollo asimétrico de las cotiledones y la formación de un callo en el hipocótilo, lo que impide el pleno desarrollo de la radícula.

En frutales como el manzano y el duraznero, el tallo crece lentamente, tienen entrenudos cortos, la planta adquiere la forma de rocitas, y se forman muy pocas hojas.

En embriones con enanismo fisiológico, presentan radículas con escaso crecimiento y se le atribuye a la acumulación de inhibidores en el hipocotilo y en los cotiledones principalmente, el ácido indolacético (AIA). (Nikolaeva 1989)

Con la aplicación de AIA se ha logrado reproducir el enanismo fisiológico en embriones extraídos de semillas de *Euonymus europea* y *Acer negundo*.

Se creía que el ácido indolacético no intervenía en la dormición de semillas de arboles frutales como el peral, pero recientemente se le ha podido aislar en semillas de esta planta. (Ver cuadro 5)

Cuadro 5 Características de los subtipos de Dormición Fisiológica

DORMICIÓN	SUBTIPO	PRESENCIA DE LA DORMICIÓN	CAPACIDAD DE LOS EMBRIONES EXTRA-ORIGINAR PLANTAS NORMALES	DURACIÓN DEL PERÍODO DE ENFRIAMIENTO EN HÚMEDO REQUERIDO PARA LA GERMINACIÓN	POSIBILIDAD DE SUSTITUIR EL ENFRIAMIENTO POR OTRO TRATAMIENTO	EJEMPLOS
FISIOLÓGICA	LEVE	Únicamente semillas recién cosechadas y/o en ciertas condiciones de temperatura y de iluminación	Amplia	Menor de un mes	Amplia	Semillas de cereales, pastos, coníferas, hortalizas y malas hierbas
	INTERMEDIA	Se expresa en cualquier condición ambiental	Si tiene pero puede ser limitada en semillas recién cosechadas	Entre uno y tres meses	Limitada, otros tratamientos requieren combinarse	Acer negro
FISIOLÓGICA	PROFUNDA	Como la intermedia	Muy limitada a condiciones ambientales determinadas	Mayor de tres meses	Muy reducida, generalmente solo se puede acortar el periodo de enfriamiento en húmedo	Semillas de peral y manzano

5.2.2.4 Dormancia doble

Se considera doble, porque el letargo se presenta tanto en la cubierta de la semilla (impermeable al agua) como en el embrión de esta. Para que la semilla pueda germinar es necesario superar estas dos condiciones en una secuencia apropiada. Se debe alterar las cubiertas de las semillas para permitir la entrada del agua hasta el embrión para que pueda efectuar la postmaduración, mediante el proceso de estratificación cálida seguido por una estratificación en frío (Hartman 1995)

Las especies que presentan este tipo de letargo son árboles y arbustos que tienen semillas con testas duras y viven en climas con inviernos fríos.

5.2.2.5 Dormancia Secundaria

Este tipo de letargo se desarrolla cuando la semilla ha sido separada de la planta, después de la inhibición de agua por las semillas y antes de la emergencia de la radícula, cuando la semilla ha sido expuesta a condiciones ambientales desfavorables, estas condiciones pueden incluir altas temperaturas, baja provisión de oxígeno y falta de luz (Camacho 1994, Hartman 1995)

A este tipo de dormición se le relaciona con:

- La dormición inducida a las semillas quiescentes
- Una dormición más profunda, inducida a las semillas con dormición fisiológica leve.
- La recaída en la dormición de las semillas con dormición fisiológica sometida a enfriamiento en húmedo.

En general se coincide en que la dormición secundaria es resultado de a) someter las semillas a condiciones que no permiten la germinación, b) someter las semillas a un almacenamiento prolongado. *Criptomaria japónica* después de varios años de almacenamiento requiere someterla a -20°C de enfriamiento en húmedo durante tres semanas, tratamiento que no se requiere para que germinen semillas recién cosechadas, c) Someter las semillas con dormición fisiológica leve a condiciones de aereación limitada. Tanto la falta de O₂ como el exceso de CO₂ origina la dormición secundaria. (Nikolaeva 1969, Camacho 1994, Hartman 1995)

La dormición secundaria en semillas con dormición fisiológica leve es más profunda porque aumenta las exigencias para la germinación.

En la lechuga la germinación se inicia con luz y AG_3 , al adquirir la dormancia. Si las semillas no responden a uno u otro factor aislado para germinar requieren, la combinación de ambos.

La temperatura límite o punto de compensación de los procesos que conducen a la pérdida de la dormición fisiológica profunda, y los que llevan a la dormancia secundaria, es de $10^{\circ}C$. Interrumpir el enfriamiento en húmedo con temperatura mayor de $10^{\circ}C$, antes de que adquieran la capacidad para germinar, provoca que las semillas sean tan durmientes como lo fueron en un principio, y que los requerimientos de enfriamiento en húmedo para la germinación, son idénticas a las semillas sin tratamiento.

La interrupción del enfriamiento en húmedo necesaria para inducir dormición secundaria tiene que ver con la especie y la temperatura.

La dormición secundaria no se induce si durante la interrupción se limita la aereación de las semillas o se reduce la concentración de O_2 . La limitación de la aereación se puede obtener sumergiendo las semillas en agua,

Copeland establece que altas dosis de Giberelinas también inducen dormición secundaria, este autor establece que existen dos teorías que explican el origen de la dormición secundaria las cuales son: a) Existe un bloque en un punto crucial de la secuencia metabólica. b) Generación de un balance hormonal desfavorable a la germinación.

Temperatura en $^{\circ}C$	Tiempo en Días
10	No se induce
15	15
20	10
25	3

Cuadro 6 Periodo necesario para inducir la dormición secundaria en semillas de *Acer tataricum* a varias temperaturas, (fuente Nikoaleva 1969)

5.2.2.6 Dormición Morfofisiológica

Se origina por la presencia de embriones rudimentarias, cubiertas poco permeables a los gases y con bloques metabólicos en las semillas de clima frío.

Este tipo de dormición puede *incluir* cualquier subtipo de la dormición fisiológica.

Cuando la dormición fisiológica es leve, enmascara completamente a la dormición morfológica, pues la semilla germina rápidamente cuando a cubierto sus necesidades de luz y temperatura. La mayoría de los casos de dormición morfofisiológica presentan dormición fisiológica intermedia y profunda.

En este tipo de dormición el enanismo fisiológico alcanza su máxima expresión, los bloques metabólicos del embrión se pueden manifestar tanto en el crecimiento del embrión rudimentario, como en la germinación y crecimiento de las plantas.

La dormancia Morfofisiológica se divide en dormancia:

a) Morfofisiológica simple: se caracteriza porque el embrión se puede desarrollar con estratificación cálida. En algunas plantas como *Aralia manshurica*, los bloques metabólicos solo inhiben la germinación, en otras sí inhibe el crecimiento del epicótilo y hay semillas que presentan dormancia fisiológica tanto en el crecimiento del epicótilo como del hipocótilo.

b) Dormancia morfofisiológica compleja: se presenta cuando la dormancia fisiológica afecta al desarrollo del embrión como *Tulipa tarda* (Camacho 1994)

VI.- ACUMULACIÓN DE FRÍO EN SEMILLAS DE FRUTALES CADUCIFOLIOS

6.1 Fisiología del reposo en semillas:

La dormancia en las semillas se establece cuando en las ramas se forma la yema terminal, es decir cuando se detiene el crecimiento. El reposo se presenta posteriormente cuando esa yema no puede rebotar en respuesta a los estímulos externos de temperatura, poda y riego.

La presencia progresiva de bajas temperaturas en el otoño, el fotoperíodo corto el cual actúa sobre especies perennes ornamentales y la sequía son los factores que inducen la dormancia (Wareing 1969).

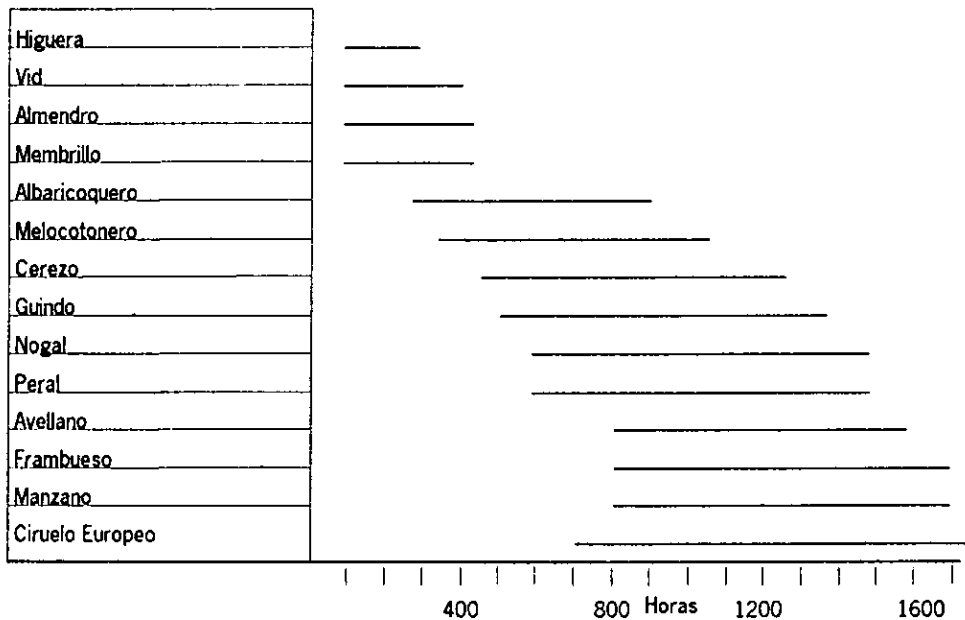
Una vez que la semilla está en reposo, las temperaturas bajas son las que podrían terminar con el reposo. La luminosidad durante el reposo tiene cierto efecto sobre la germinación.

Conviene recalcar que el factor principal para terminar el reposo es la baja temperatura, pues sin esta no habría germinación, de esta manera el frío tiene doble función en este fenómeno, induciendo a que ocurra y finalice cuando así se requiera. Las semillas que están en reposo requieren de mucha, mediana o baja acumulación de frío (1200, 600 y menos de 200 horas frío) para terminar el reposo. (Díaz 1987).

Las semillas están metabólicamente activas, durante el invierno, aún cuando visualmente no tengan crecimiento, la respiración es uno de los procesos más activos ya que del inicio del reposo al de la germinación ésta se incrementa progresivamente.

También existe actividad enzimática relacionada con la respiración, las hidrogenasas (enzimas que catalizan la oxidación de sustratos quitándole hidrógeno) aumentan durante el reposo, (Couvillon y Kays 1980) La catalasa (enzima que destoxifica productos metabólicos a O₂ libre) se reduce a medida que transcurre el reposo, mientras que la fosfatasa (reguladora del nivel de fosfato inorgánico) y las peptidasas o proteinasas (que rompen las cadenas proteicas) aumentan su actividad a medida que el árbol acumula frío (Oncelao 1979).

En cuanto a las fitohormonas se considera que la presencia de promotoras e inhibidoras, es crítica para determinar la condición del árbol, aún cuando está sujeta a las condiciones ambientales y a la constitución genética del árbol.



Cuadro 7 Necesidades de horas-frio de algunas especies frutales, (Westwood 1982)

La giberelina al inicio de la latencia se encuentra a niveles bajos y posteriormente se incrementa de manera progresiva con la acumulación de frío, hasta llegar a altos niveles antes de la brotación; esto sugiere que pueden estar regulando cambios de actividad de crecimiento (Díaz 1987).

La citocinina, fitohormona estimulante, se encuentra a niveles bajos en arboles en reposo, mientras que en primavera aumenta considerablemente. Estos compuestos se sintetizan durante la acumulación de frío y pudieran regular parte de la fisiología del fenómeno.

Como la característica del reposo es la reducida actividad metabólica y de crecimiento se ha considerado que puede existir un compuesto inhibidor que al aumentar la concentración cause tal efecto. El ácido abscísico (ABA) cuyos niveles aumentan al inicio del reposo y se reducen al final de este en casi todas las especies frutales.

Por el tipo de actividad e importancia de las fitohormonas en el desarrollo de la planta, se pueden asumir que tienen una función en el reposo a través de un balance entre ellas, provocada por efectos sinérgicos (Lavee 1973)

Las bajas temperaturas que afectan a la semilla se refleja a nivel de ácidos nucleicos, en primavera se pueden tener el doble de ARN que en invierno, mientras que el ADN no cambia notablemente. Las hormonas pueden reducir o reprimir los sitios específicos de ADN y de esta manera duplicar la cantidad de ARN y ciertas enzimas específicas que inducirán germinación o reposo; a bien ciertos inhibidores podrían nulificar la producción de tipos especiales de ARN (Díaz 1987)

6.2 Requerimiento de frío.

El frío que las yemas de los árboles requieren para abandonar el reposo es una característica variable, en caso de no ser satisfecha dificulta la adaptación y productividad de estos.

Se considera horas de frío a toda hora en la cual la temperatura del aire este en el intervalo de 1 a 7°C.

Se considera a 7°C. como límite superior, debido a que a esa temperatura dejan de crear las ramitas de duraznos y manzanos, aunque este nivel térmico no es uniforme y aplicable a todas las especies y variedades exigentes de frío invernal, es universalmente aceptado como límite medio apropiado para el computo de horas frío (L. Defina 1975).

Se pensaba que la presencia de cualquier temperatura menor de 7.2°C era suficiente para que la semilla saliera del reposo (Chandler et al 1937). Sin embargo resulta difícil aceptar que un proceso regulado internamente por cambios químicos, pudiera estar sujeto a un punto fijo de temperatura. (Díaz 1987). Por otra parte se ha encontrado que la eficiencia de bajas temperaturas, para terminar el reposo está dentro de un rango. En durazno, de alto requerimiento de frío, 6°C contribuye a terminar el reposo en mayor medida que otras temperaturas.

Erez y Lavee (1971). Establecen que temperaturas cercanas a 0°C no necesariamente son indicativas de una eficaz acumulación de frío. En condiciones naturales las temperaturas se presentan de manera cíclica, por lo tanto, la acumulación de frío esta sujeta a dichos cambios. Los árboles de durazno establecidas en el campo, requieren de menor acumulación del número de horas (horas menores de 7.2°C) frío a temperatura de 6°C (Erez y Lavee 1971).

En condiciones de invierno benigno o cálido se presentan variaciones en la temperatura (temperaturas altas y bajas), esto sugiere que las temperaturas altas y bajas son importantes, que la presencia ocasional de calor tiene poco efecto. Sin embargo, se presentan con frecuencia altas temperaturas después de periodos cortos de frío causa retraso en el inicio de la germinación.

Dando ciclos diarios de 6°C con 18° o 15°C no se presentan efectos negativos sobre la acumulación de frío y la brotación, incluso la respuesta es mejor que 4°C continuos, sin embargo con ciclos de 6°C a 21 y 24°C hay pérdida total de frío y la germinación es baja o nula. Tener ciclos de 6°C con 15°C, aumentó la eficiencia de frío acumulado para iniciar la germinación (Fig. 7), la cual se debe a un efecto combinado, debido a que se comprobó que 15°C por sí solos, no terminan con el periodo de reposo Erez, Couvillón y Hender Shot 1979).

Cuando se dan tratamientos cíclicos diarios de 6°C, con 2 horas de 24°C se obtiene poco efecto negativo, en frutales de durazno pero a medida que el tiempo de exposición es mayor, este efecto aumenta gradualmente, logrando nulificar la acumulación de horas frío cuando se presentan 8 horas con temperatura de 24°C.

6.2.1 Métodos para el cálculo de horas frío.

El conocimiento de las horas frío normalmente acumuladas en una región, permite evaluar la posibilidad de cultivo de las especies y variedades de árboles frutales en una determinada región. De este modo se podría conocer el momento en que el árbol entra en brotación.

A. Método Convencional:

Para el cálculo de horas frío, por este método, se utiliza el termograma, se cuenta en él el número de horas frío en que la temperatura registrada fue de 7°C o menos (Torres 1986).

B. Uso de Modelos:

El efecto de un umbral límite de temperatura (7.2°C) como regulador del proceso de reposo ha sido cuestionado, y se estima que es más adecuado considerar rangos de temperatura o temperaturas óptimas para la acumulación de frío. Con base en ello, se han elaborado modelos que toman en cuenta diferencias en la eficiencia de temperaturas para terminar el reposo.

1. Modelo horas frío ponderadas.

Este modelo establece que la temperatura óptima para acumular frío y terminar el reposo es de 6°C, en donde una hora de exposición a esta temperatura equivale a una hora de eficiencia absoluta. Por otra parte, cuando la temperatura sube a 10°C la eficiencia se reduce, equivaliendo a 0.5 horas (cuadro 8)

Cuadro 8 Eficiencia de diferentes temperaturas en el modelo de horas frío ponderadas, para terminar el reposo en semilla de durazno. (Erez y Lavee 1974).

TEMPERATURA (°C)	HORAS EXPOSICIÓN	EFFECTIVAS
3	1.0	0.9
6	1.0	1.0
8	1.0	0.9
10	1.0	0.5

Cuadro 9 Eficiencia de diferentes rangos de temperatura en en modelo UTAH. para terminar el reposo en semillas de durazno y cuantificación de unidades frío (Richarsón 1974).

TEMPERATURA (°C)	HORAS EXPOSICIÓN	EFFECTIVAS
<1.4	1	0
1.5 a 2.4	1	0.5
2.5 a 9.1	1	1.0
9.2 a 12.4	1	0.5
12.5 a 15.9	1	0
16 a 18	1	- 0.5
> 18	1	- 1.0

2. Modelo Utah:

Este modelo considera que hay un rango óptimo de temperatura que favorece la terminación de reposo y que arriba o abajo de él la eficiencia del frío se reduce. Dicho modelo se basa en la acumulación de unidades frío, en donde una cierta temperatura expuesta por una hora equivale a una determinada cantidad de unidad frío. El rango de 2.5 a 9.1°C se considera como óptimo, por lo que su valor corresponde a una unidad frío (Cuadro 9). Al tener rangos de mayor a menor temperatura, sólo se otorga una proporción de unidad frío, en algunos casos hay una contribución nula.

C. UTILIZACIÓN DE FÓRMULAS EN EL CALCULO DE HORAS FRÍO

Los métodos anteriores requieren de termogramas aparatos poco disponibles, por lo que se han ideado fórmulas para el cálculo de horas frío que toman como datos temperaturas máximas, mínimas o media diarias o mundiales tomadas de termómetros máxima-mínima.

1. Fórmula propuesta por F.S. da Mota. en 1965

$$HF = 485.1 - 28.52 TM$$

donde: HF= Horas frío mensuales

TM= Temperatura media mensual (°C)

de los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero.

2. Ecuación de regresión lineal de R. H. Sarpe

$$HF = 639 - 33 TM$$

donde: HF = Horas frío mensuales

TM = Temperatura media mensual (°C) de los meses de invierno.

En áreas cálidas, los valores de acumulación de frío calculado por el modelo Utah y la fórmula de da Mota, han resultado similares durante inviernos fríos o benignos, mientras que las horas de frío por el método convencional han sido altas (Cuad 9). Lo anterior permite inferir que bajo condiciones limitantes de termógrafo, el uso de fórmulas en esas áreas puede proporcionar datos con mayor validez, que sirvan de referencia (Díaz SARH)

6.3 Horas calor.

Cuando el requerimiento de frío de un cultivar ha sido satisfecho éste terminado su periodo de reposo, para pasar a un estado en que la planta pueda reiniciar su crecimiento, desarrollo.

Después de la germinación y en forma gradual, la temperatura del aire se vuelve de gran importancia para las etapas vegetativas y generativas. Es importante considerar que el punto crítico es variable para diferentes especies de plantas, por lo general se consideran temperaturas cercanas a 6°C o 7°C a partir de lo cual entra en actividad (crecimiento) la planta, por lo que en primer lugar debe determinarse el punto crítico (PC) para el cultivo de interés y posteriormente correlacionar las unidades calor con cada etapa del cultivo, con la formación de nudos, etc.

Las unidades calor se han usado también en la predicción de épocas de cosecha (Torres 1986)

6.3.1 Cálculo de las unidades de calor.

El cálculo de las unidades calor se obtiene con la ecuación:

$$UC = TM - PC$$

Donde: UC = Unidades calor para un día (grados calor por día)

$$TM = \text{Temperatura media} = \frac{(T_{\max} + T_{\min.})}{2}$$

PC = Punto crítico (seis o siete centígrados)

Cabe aclarar que se consideran como unidades calor si el resultado es positivo.

Sin embargo, la acumulación de unidades calor es algo variable para lugares diferentes y en un mismo lugar para años diferentes y para diferentes fechas de siembra. La duración del día astronómico o fotoperiodo es, en parte, responsable de la variación señalada, el método es puesto más arriba se pueda mejorar introduciendo un factor de fotoperiodo, cuya unidad sea correspondiente a un día de 12 horas; con esta modificación la fórmula para estimar unidades calor quedaría de la siguiente forma:

$$UC = 0.083 N (TM - PC)$$

Donde: UC = Unidades calor por día (grados calor por día)

N = Fotoperiodo

TM = Temperatura media

$$TM = \frac{T_{max} + T_{min}}{2}$$

PC = Punto crítico (7°C)

6.4 Requerimiento de frío en frutales.

La mayoría de las especies frutales de tipo templado tienen su origen en zonas con inviernos definidos. De acuerdo con (Zeilinski 1977) el manzano, vid, cerezo, chabacano, ciruelo europeo, pistacho, avellano, frambuesa y zarzamora tienen su origen en la región mediterránea.

El durazno, ciruelo japonés, mora, pera, membrillo y persimonia son de la región Chino-Japonesa y el capulín, vid, nogal de castilla y de nuez encarcelada son de Norteamérica.

Las especies originadas en zonas muy frías por efectos evolutivos adquirieron tolerancia progresiva a temperaturas extremas bajas a través del fenómeno de reposo, logrando sobre vivir a inviernos muy severos, debido a que reducen al mínimo su actividad metabólica. De acuerdo con lo templado del lugar de origen serían los requerimientos de frío para salir del reposo; por esta razón hay especies con bajo medio y alto requerimiento de frío (Díaz 1987)

6.4.1 Necesidades de frío de algunos cultivares de manzano.

Manzano. en este frutal se tienen cultivares con un amplio requerimiento de frío, dicho frutal puede cultivarse desde zonas costeras en Sonora, hasta regiones templadas frías como Chihuahua (cuadro 10), según Díaz y Alvarez 1985 y Ovando 1982).

Algunos cultivares requieren de polinización cruzada para obtener una máxima producción, por lo que se deben establecer dos o más cultivares en un huerto, en donde uno sea el productor y otro el polinizador, con la condición de que tengan el mismo requerimiento de horas frío y horas calor.

Cuadro 10 Requerimiento de frío en algunos cultivares de manzano (*Malus pumila* Mill)

CULTIVAR	HORAS FRÍO
Anna	300
Dorsett Golden	300
Slor	400
Ein Shemer	400
Elah	450
Maayan	450
Michal	450
Aguanueva 2	550
Gala	600
Raina	650
Golden Delicious	850
Red Delicious	800
Jonathan	700
Granny Smith	650
Winter Banana	575
Starking	850
Rome Beauty	1000
Red chief	850

¹⁾ Con base en el método convencional

Fuente: Anónimo, 1983; Brooks y Olmo, 1982; Lombard, Hull y Westwoord, 1980; Miller y Baker, 1982; Regitano, Ojima y Campo Dalla' Orto, 1975.

VII. MATERIALES Y METODOLOGÍA

El trabajo experimental fue desarrollado en las instalaciones de la Facultad de Estudios Superior Cuautitlán, en el Laboratorio de Micropropagación de la Carrera de Ingeniería Agrícola, entre los meses de abril y julio de 1997

7.1 Materia Vegetativo

El material vegetativo empleado fue semilla de manzano (*Malus sp*) Cultivar Golden, adquirida en el mercado con un solo proveedor y en una sola compra, buscando que el material haya tenido un manejo uniforme y de este modo evitar en cierto modo la variabilidad que presenta por ser de origen desconocido. El cultivar Golden es el más exigente en cuanto a las horas frías, pues requiere de 850 horas frías aproximadamente

El material de laboratorio empleado para la realización de esta práctica fue una balanza analítica, vasos precipitados, un agitador magnético, una pipeta, un microscopio óptico, 7 cajas de petri, 5 matraces, autoclave, un refrigerador y un reloj.

7.2 Diseño experimental

La distribución del experimento fue completamente al azar, esta distribución se aplica cuando se estudian dos o más tratamientos en sitios de experimentación y unidades experimentales muy uniformes como ámaras con ambientes controlados e invernaderos.

7.3 Tratamientos

El experimento estuvo formado con 21 tratamientos incluyendo al testigo, estos se conformaron con reguladores de crecimiento Giberelina (AG_3) y el Thidiazuron (TDZ) que es una citocinina, a las concentraciones 100, 200 y 300 partes por millón (ppm) por cada regulador, también se incluyeron 3 períodos de estratificación, 10, 20 y 30 días con temperaturas que variaron entre 5 y 7°C. El testigo se formó con

· imbibición en agua destilada de 3 grupos de 20 semillas cada uno y estratificadas a 10, 20 y 30 días, correspondiendo un periodo de estratificación a cada grupo. En total se emplearon 420 semillas de manzano (*Malus sp*) C V Golden, 20 semillas elegidas al azar para cada tratamiento.

Regulador de crecimiento	concentración (ppm)	Periodo de estratificación (Días)
AG ₃	100	10
AG ₃	100	20
AG ₃	100	30
AG ₃	200	10
AG ₃	200	20
AG ₃	200	30
AG ₃	300	10
AG ₃	300	20
AG ₃	300	30

Regulador de crecimiento	concentración (ppm)	Periodo de estratificación (Días)
TDZ	100	10
TDZ	100	20
TDZ	100	30
TDZ	200	10
TDZ	200	20
TDZ	200	30
TDZ	300	10
TDZ	300	20
TDZ	300	30

7.4 Variables a cuantificar

En este trabajo se consideraron las siguientes variables para su cuantificación: a) El incremento de peso de la semilla durante el proceso de imbibición, b) El peso que obtuvieron las semillas al salir de la cámara de estratificación, c) El porcentaje y la rapidez en la germinación de las semillas con los diferentes tratamientos

7.5 Extracción y secado de la semillas

· La manzana fue cortada por el ecuador (corte transversal) para extraer las semillas, el número de carpelos que presenta el fruto es de 5 y con un número de semillas que va de cero a 2 semillas por carpelo y de cero hasta nueve semillas por fruto, encontrándose 528 semillas en 118 frutos, dando un promedio de 4.559 semillas por fruto.

Se presentaron frutas con carpelos y semillas contaminadas por hongos, semillas chupadas, deformes y con desarrollo incipiente.

Una vez obtenidas las semillas, se procedió a quitarles los restos de carne que les queda del fruto para luego lavarlas al chorro del agua, posteriormente se les puso a secar sobre tela seca y a la sombra durante 24 hrs.

De las 538 semillas obtenidas, fueron seleccionadas 440 al microscopio óptico cuidando que las semillas estuvieran completas, con buena forma y no agrietadas ni chupadas.

7.6 Desinfección del sustrato

• Elección del sustrato

El sustrato que sirve como suelo para la germinación de la semilla se formó con una mezcla de tierra negra rica en materia orgánica (estiércol de bovino bien descompuesto), arena de río y agrolita.

• Desinfección del suelo

La esterilización del suelo se realizó en el autoclave con el siguiente proceso:

- a) La tierra negra fue cernida para mantener un tamaño de granulo pequeño y pueda servir como una buena cama de siembra.
- b) La tierra fue embazada en botes de leche de un litro cada uno, el suelo se compacto en el interior del bote y posteriormente fue sellado con cinta, en total se prepararon 10 botes de leche.
- c) Se vierten tres litros de agua al autoclave y se conecta al toma corriente para que se caliente un poco.
- d) Como siguiente paso se introduce la tierra empaquetada en los botes de leche en el autoclave; a continuación se procede a cerrarlo y se calienta hasta que alcance 15 lbs de presión, tratándose aproximadamente unos 20 minutos para conseguir esta presión, el autoclave se debe mantener entre 15 y 20 lbs de presión durante 30 minutos.

La arena fue esterilizada en el autoclave y con el proceso antes descrito.

La arena utilizado fue de río, arena fina sin piedras y limpia, fueron esterilizados 10 litros de arena.

El objetivo de la esterilización es matar a los microorganismos del suelo (bacteria y hongos), semillas de malas hierbas e insectos de este modo, el suelo presenta las mejores condiciones de asepsia para el establecimiento y germinación de la semilla de manzana.

7.7 Preparación de las soluciones.

Se pesan 100, 200 y 300 mg. de AG_3 en la valanz analítica a 3 vasos de precipitado se les coloca la leyenda 100, 200 y 300 ppm. respectivamente, y se les adiciona 100 ml. de agua destilada a cada uno y se le agrega los 100 mg de AG_3 al vaso con la leyenda 100 partes por millon y 200mg de AG_3 al de 200 ppm. y 300 mg de AG_3 al de la leyenda 300 ppm. de AG_3 , posteriormente se agita el contenido de cada vaso para mezclar la giberelina y el agua y se les agrega unas gotas de Boffer para alcanzar un pH de 7.

El vaso de precipitado con la concentración de 100 ppm. de giberelina se vierte su contenido en 3 vasos con las leyendas de 100 ppm. de AG_3 a 10, 20 y 30 días respectivamente (El tiempo en días se refiere al periodo de estratificación, procediéndose de manera análoga para las concentraciones de 200 y 300 ppm., se preparan 3 vasos de agua destilada como testigo uno para cada período de estratificación. A cada uno de los vasos, tanto a los que contienen AG_3 como a los que contienen agua destilada se les adicionaron 20 semillas de manzano para su imbibición.

En la preparación de los tratamientos con Citocinina se utilizó el Thidiazurón, este fitoregulador tiene una presentación líquida, por lo tanto aún litro de agua destilada se le adiciono 0.1ml de TDZ para una concentración de 100 ppm, para 200 ppm se mezclan 1 litro de agua destilada más 0.2 ml. de TDZ y 0.3 ml de TDZ más 1 litro de agua para una concentración de 300 ppm. Para combinar estas concentraciones de TDZ con los tre períodos de estratificación 10, 20 y 30 días, se siguió un procedimiento análogo al descrito para el AG_3 .

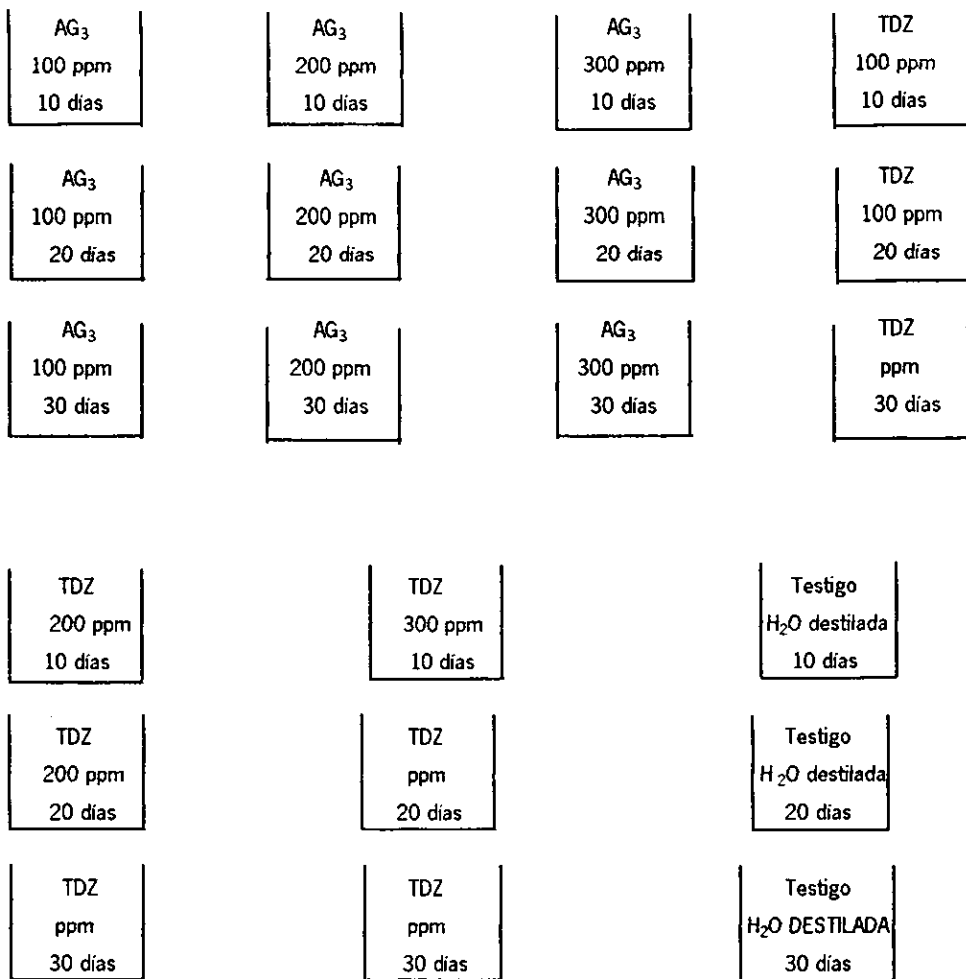


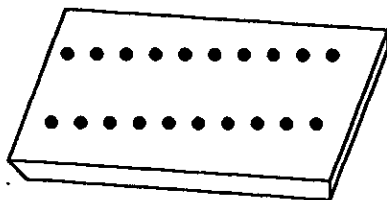
Fig. 11 Vasos de precipitado con etiquetas que indican la sustancia y su concentración, el periodo de estratificación y el testigo.

7.8 Imbibición de la semilla

Se pesan las semillas en grupos de 20 para obtener su peso antes de la imbibición, posteriormente se colocaron 20 semillas en cada tratamiento, en total fueron 21 tratamientos con un total de 420 semillas de manzana. Durante el proceso de imbibición de las semillas, se procedió a tomar los pesos para tal efecto se escurría la semilla en una coladera para drenar el exceso de agua, a continuación se tomaba el peso en la balanza analítica y posteriormente se regresaba la semilla al baso de precipitado correspondiente, en total se tomaron 10 lecturas, una de peso seco y 9 de peso húmedo.

7.9 Estratificación fría de la semilla

A 21 platos de unicel (uno por tratamiento) rectangulares de 20 cm x 8 cm x 4 cm se les lleno con arena de río esterilizada, haciéndoles perforaciones en la base y dos surcos a lo largo del plato para depositar 10 semillas por cada surco y tapándolas con la misma arena, a continuación se les proporciono un riego a capacidad de campo, para después, meterlas al refrigerador a temperatura de 5°C.



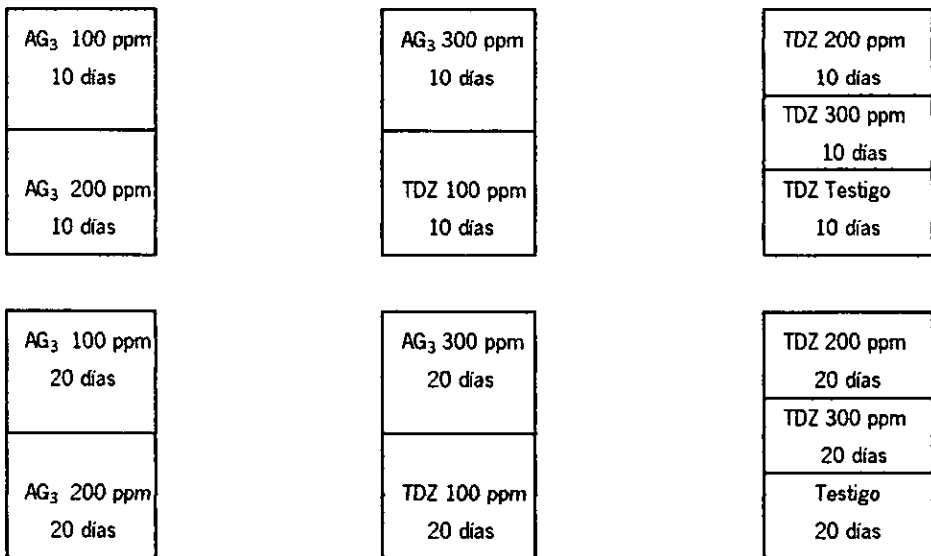
Las semillas estuvieron en el refrigerador 10, 20 y 30 días, durante ese tiempo se les mantuvo a 5°C y se les regaba cada tercer día, para mantener de manera constante la humedad, de tal manera que a las semillas no les faltara el oxígeno, la humedad y la temperatura fría.

Al término del periodo de enfriamiento se extrajo las semillas separándolas de la arena con una coladera, procurando no dañar la semilla y se procedió a tomar el peso para inmediatamente después sembrarlas en el sustrato.

7.10 Siembra de la semilla

El medio de cultivo se preparó con una mezcla de arena, tierra negra y agrolita a partes iguales, previamente esterilizadas.

Se llenaron nueve charolas de plástico con 3 litros de la mezcla del medio de cultivo y se etiquetó cada charola, con el tratamiento y la fecha correspondiente, utilizándose 3 charolas por cada periodo de enfriamiento. (Figura 12)



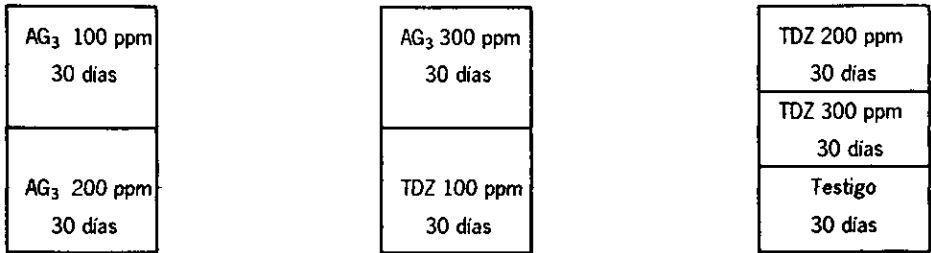


Fig. 12 Charolas de plástico donde fueron sembradas las semillas, la etiqueta indica la sustancia y oncentración y los días de estratificación a 6° C.

La semilla fue sembrada, en el interior de la charola, formando dos hileras por tratamiento y colocando las semillas en cada hilera a distancias iguales entre las semillas, a una profundidad de 2.5 veces su tamaño, posteriormente se regó a capacidad de campo, la humedad del medio de cultivo se mantuvo dando un riego por semana.

Cuando las semillas iniciaron la germinación se contabilizó el número de semillas Germinadas por día, anotando los datos en una tabla.

VIII RESULTADOS Y ANÁLISIS

8.1 Imbibición de la semilla de manzano

Imbibición de la semilla en Giberelina (AG_3)

• Para una concentración de 100 ppm se obtuvo una ganancia de peso promedio de 0.8124 gr. el cual representa un 117.23%, siendo el peso promedio inicial de 20 semillas de 0.6591 gr. y con 0.798 como coeficiente de correlación.

• Para la concentración de 200 ppm de AG_3 se encontro con una ganancia de peso de 0.766 gr. y representa un 114.43%. El peso promedio inicial de 20 semillas fue de 0.6699 gr. y 0.722 como coeficiente de correlación.

• A 300 ppm de AG_3 se encontro con una ganancia de peso de 0.7541 gr. y representa el 117.08%, siendo 0.6441 gr. el peso promedio para 20 semillas y 0.688 como coeficiente de correlación.

Imbibición de la semilla en Cítocinina (TDZ)

• Para una concentración de 100 ppm se encontró con una ganancia de peso de 0.6801 grs. representando el 103.4% el peso promedio inicial de las 20 semillas fue de 0.6577 gr. y 0.69 como coeficiente de correlación.

• En 200 ppm se encontro con una ganancia de peso de 0.695 gr. el cual representa un 104.04% y con 0.69 como coeficiente de correlación.

• En 300 ppm se encontro una ganancia de peso de 0.7256 gr. que representa el 110.64%, siendo 0.6558 grs. el peso promedio inicial de 20 semillas y con 0.7 como coeficiente de correlación.

• La imbibición de semillas de manzano en agua destilada reporto una ganancia de peso de 0.7169 gr. siendo el 108.23% y con 0.715 de coeficiente de correlación (Cuadro 11 y 12) y gráfica .

Cuadro 11 Imbibición de semillas de manzano (*Malus sp*) C. V. Golden en ácido giberelico (AG₃) y citocinina (TDZ) a diferentes concentraciones y agua destilada como Testigo, durante 45 Hrs.

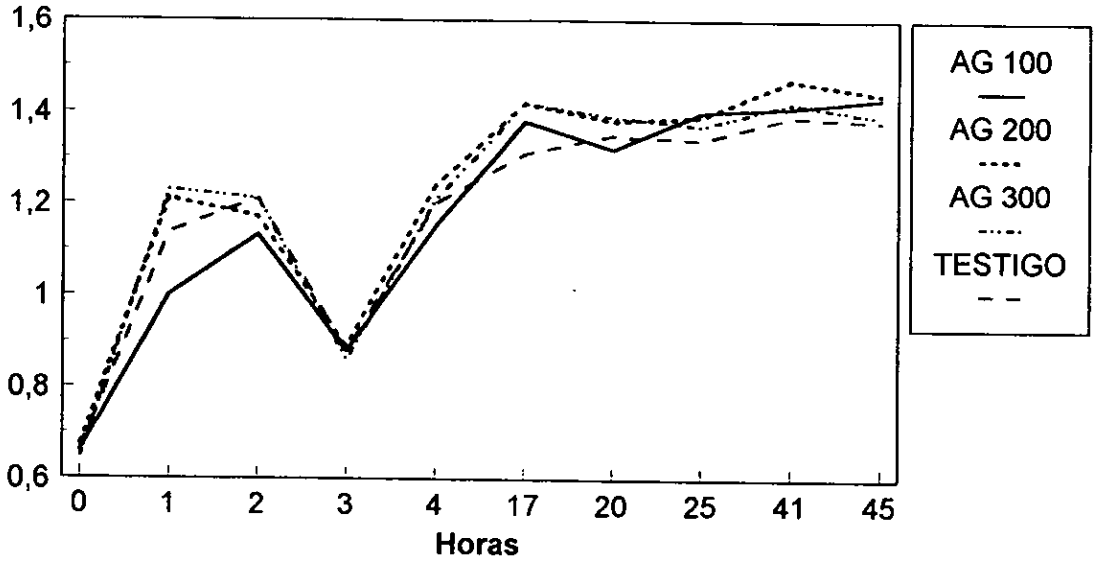
	GIBERELINA (AG ₃)			CITOCININA (TDZ)			TESTIGO (AGUA DESTILADA)
	CONCENTRACION EN PPM			CONCENTRACION EN PPM			
	100	200	300	100	200	300	
Peso inicial (grs.)	0.6591	0.6699	0.6441	0.6577	0.668	0.6558	0.6624
Peso final (grs.)	1.4318	1.4365	1.3982	1.3378	1.363	1.3814	1.3793
Ganancia de peso (grs.)	0.7727	0.7666	0.7541	0.6801	0.695	0.7256	0.7169
% de peso ganado	117.23	114.43	117.08	103.4	104.04	110.64	108.23
coeficiente de correlación (r)	0.798	0.722	0.688	0.69	0.69	0.7	0.715

Cuadro 12 Imbibición de semillas de manzano (*Malus sp*) CV Golden a diferentes concentraciones de Acido Giberelico (AG₃), Citocininas (TDZ) y agua destilada como testigo durante 45 horas (Datos originales).

REGULADOR DE CRECIMIENTO	Giberelina AG ₃			Citocinina TDZ			Testigo	
	100	200	300	100	200	300		
Concentración en ppm	100	200	300	100	200	300		
0	0.6591	0.6699	0.6441	0.6577	0.6680	0.6558	0.6624	
1	1.0004	1.2155	1.2301	1.1238	1.1556	1.1629	1.1372	
2	1.1323	1.1732	1.2059	1.1692	1.1929	1.1919	1.2103	
3	0.8803	0.8878	0.8626	0.9058	0.8836	0.8744	0.8846	
4	1.1517	1.2372	1.2065	1.1845	1.1662	1.1532	1.2029	
17	1.3803	1.4252	1.4233	1.3214	1.2567	1.2544	1.3122	
20	1.3191	1.3775	1.3911	1.3008	1.2810	1.3259	1.3546	
25	1.4024	1.3912	1.3684	1.2407	1.2958	1.3213	1.3447	
41	1.4147	1.4782	1.4187	1.3578	1.3469	1.3503	1.3932	
45	1.4318	1.4365	1.3982	1.3378	1.363	1.3814	1.3793	
Ganancia total de peso	grs.	0.7727	0.7666	0.7541	0.6801	0.695	0.7256	0.7169
	%	117.23	114.43	117.08	103.4	104.04	110.64	108.23

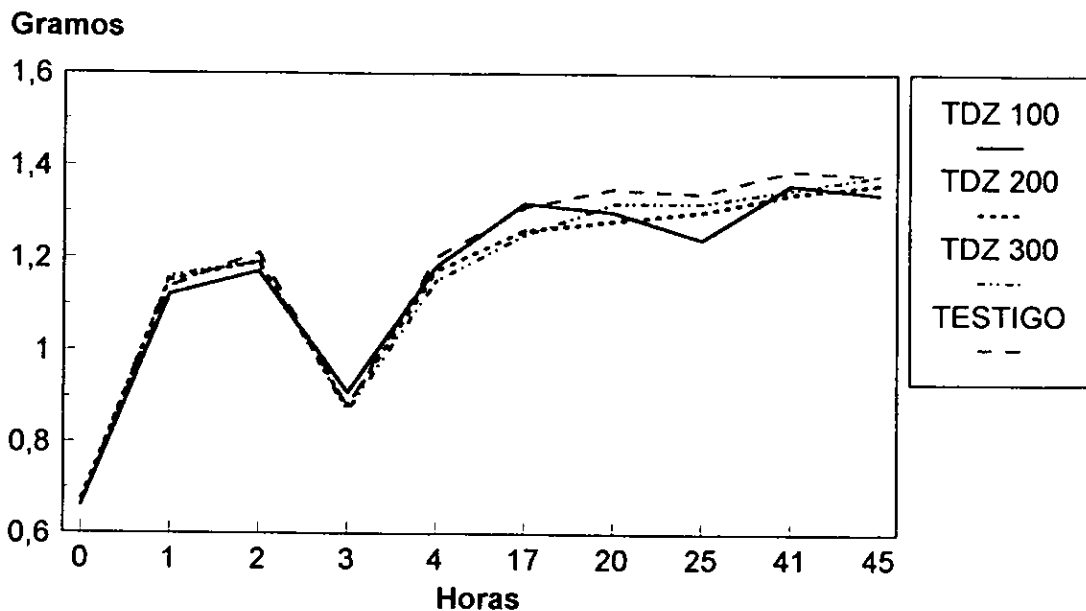
Gráfica 1 Ganancia de peso en la imbibición de semillas de manzano (*Malus sp*) CV. Golden, a diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG3, citocinina (TDZ) y agua destilada como testigo, durante 45 hrs.

Gramos



Durante el proceso de imbibición, al inicio la semilla aumenta rápidamente de peso -
 (en la primera hora, entre la primera y segunda hora el ritmo de incremento se vuel -
 ve lento y en algunos casos decrece como en 200 y 300 ppm de AG y 100 PPM TDZ -
 entre la segunda y tercera hora se observó un de crecimiento, posteriormente y a par -
 tir de la tercera hora la semilla aumento su peso rápidamente hasta alcanzar una cierta
 estabilidad a partir de las 17:00 hrs. (Figura 1 y 2)

Gráfica 2 Ganancia de peso en la imbibición de semillas de manzano (*Malus sp*) CV. Golden, a diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG3, citocinina (TDZ) y agua destilada como testigo, durante 45 hrs.



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

8.2 Prueba de viabilidad con cloruro de Tetrazolio.

Es un método bioquímico en el que se demuestra la viabilidad por el color rojo que aparece cuando se remojan las semillas en una solución de cloruro 2, 3, 5 Trifeniltetrazolio (TTC) a concentraciones de 0.01 a 0.1 % con un pH entre 6 y 7. Esta sustancia es absorbida por las células del tejido vivo, en donde el TTC es cambiado a un compuesto insoluble de color rojo conocido como formasan.

La reacción se desarrolla tanto en semillas quiescentes como con dormición, durante un tiempo que va de 2 a 24 horas. Las semillas cortadas necesitan menos tiempo, las semillas con embriones expuestos algo más y las semillas intactas 24 horas o más. Si la prueba se prolonga demasiado, aún los tejidos muertos se colorean de rojo, debido a la actividad respiratoria de hongos y bacterias o volverse rojo por contaminación.

Esta prueba distingue entre tejidos vivos y no vivos de una semilla, si los tejidos del embrión son teñidos la semilla se considera viva, en caso contrario se considera que la semilla ha perdido la viabilidad (Hartman et. al. 1995).

Procedimiento:

- Se remojan 20 semillas de manzano en agua durante 48 horas
- Se abren las semillas longitudinalmente, de tal manera que queden separados los dos cotiledones y también, debe quedar expuesto el embrión.
- A cada cotiledón se le agrega una gota de cloruro de tetrazolio al 0.1 % de concentración.
- Al término de 2 horas con 17' minutos, los embriones junto con los cotiledones adquieren un color rosado en diferentes tonos, correspondiendo a los embriones el tono más intenso. Como a todas las semillas los colores el embrión y los cotiledones, se considera una viabilidad del 100 %, correspondiendo a los cotiledones el tono más intenso.

Como a todas las semillas se les colorea el embrión, se considera una viabilidad del 100 %

8.3 Estratificación.

Período de estratificación

Durante la imbibición la semilla se encontraba en un medio líquido al 100 % cuando la semilla es trasladada al medio de estratificación (arena húmeda) bajo su contenido de agua (menor masa) por diferencia de concentración, posteriormente empieza a ganar masa a medida que transcurre el tiempo de estratificación, observándose los más altos índices a los 30 días y el menor a los 10 días.

El Cuadro 13 muestra que la mayor velocidad en el crecimiento en peso se presenta entre los 10 y 20 días de estratificación, esta velocidad disminuye entre los 20 y 30 días, para los 10 días de estratificación en AG₃ se observa un incremento de masa promedio del 19.28 % respecto del peso inicial de la semilla (peso seco), a 20 días el incremento correspondía al 90.55 y los 30 días el 97.05 %. Este tratamiento presentó menor variabilidad.

Para la citocimina (TDZ) a 10 días el incremento promedio de masa fue del 20.3 %, a 20 días el incremento promedio correspondió al 86.16 % y para los 30 días el incremento promedio de masa fue del 99.19 % estos tratamientos con TDZ presentan mayor variabilidad que el uso de AG₃

El testigo presenta incrementos de masa similares a las semillas que recibieron tratamientos con AG₃ y TDZ para 10 días el 38 %, para 20 días el 96.8 % para 10 días de estratificación, se observa un incremento en peso del 38 %, para 20 días de 96.8 % y en 30 días se encontró 113.14 %.

En el período de estratificación fría en semilla de manzano termina su desarrollo (postmaduración) e inicia el proceso de la germinación. Como se ha dicho a medida que transcurre el tiempo de estratificación, se incrementa el peso (grs.) de la semilla y se inicia el incremento de la radícula, este crecimiento es visible entre los 20 y 30 días de estratificación y a concentraciones de 200 y 300 ppm de AG₃ y TDZ.

Cuadro 13 Comparación de incrementos de peso en semillas de manzano (*Malus sp*) en imbibición y en estratificación a 10, 20 y 30 días y a diferentes concentraciones de AG₂ y TDZ.

ESTRATIFICACIÓN (DÍAS)	GIBBERELINAS (AG ₂)												CITOCININA (TDZ)												TESTIGO (AGUA DESTILADA)		
	100						200						100						200								
	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30						
IM PESO INICIAL (gr.) ¹	.6076	.6639	.6438	.6510	.666	.6927	.6385	.6307	.6633	.6398	.6768	.6566	.6605	.6916	.6475	.6633	.6516	.6527	.6619	.656	.6643						
BI PESO FRESCO (gr.) ²	1.482	1.462	1.351	1.379	1.470	1.46	1.359	1.421	1.414	1.322	1.370	1.320	1.348	1.407	1.334	1.401	1.389	1.354	1.341	1.379	1.417						
BI GANANCIA DE PESO ³ (gr.)	.8124	.7986	1.707	.728	.8046	.7673	.7205	.7903	.7515	.6831	.6932	.6639	.6875	.7554	.8865	.7379	.7374	.7013	.6791	.723	.7536						
CON GANANCIA DE PESO ⁴ EN %	121.3	120.3	109.8	11.8	120.8	110.7	112.8	125.3	113.3	106.7	102.4	101.1	104.1	103.4	106.0	111.2	113.1	107.4	102.6	110.2	113.4						
ES TRA PELO EN ESTRATIFICACIÓN % ⁵	.7981	1.250	1.28	.7706	1.233	1.296	.6596	1.25	1.360	.7638	1.295	1.294	.7413	1.117	1.281	.8579	1.34	1.396	.9140	1.2910	1.416						
TI GANANCIA DE PESO (gr.) ⁷	.1285	.5966	.6362	.1268	.567	.6039	.1211	.6193	.697	.124	.6182	.6372	.08	.4254	.5606	.1946	.6884	.7438	.2521	.635	.7516						
CA GANANCIA DE PESO EN %	19.19	88.35	98.8	19.69	85.13	87.18	18.96	98.19	105.1	19.38	91.34	97.04	12.23	61.5	86.58	29.34	105.6	113.9	38.08	96.8	113.1						

¹ Peso seco de la semilla tomado antes de iniciar la imbibición.
² Diferencia de peso entre el peso inicial y el peso húmedo.
³ r: coeficiente de correlación y el incremento de peso (gr.).
⁴ Diferencia de peso entre el peso inicial y ganancia de peso en estratificación.
⁵ Peso de la semilla al término del periodo de imbibición.
⁶ Porcentaje de peso ganado con respecto al peso inicial.
⁷ Peso de la semilla obtenida al final del periodo de estratificación.

8.4. Germinación de semillas de marzano (*Malus SP*)

8.4. 1 Método de Análisis

Czabator citado por Hartman (1995) ha sugerido las siguientes medidas para el análisis de germinación en semillas de plantas leñosas perennes cuya germinación puede ser lenta.

El valor de germinación (VG), incluye a la tasa y al porcentaje de germinación. Para calcular el VG se debe obtener una curva de germinación (Figura A) mediante conteos periódicos de la emergencia de las plántulas o de las radículas. En la curva de germinación se consideran como puntos importantes a T que representa el punto en que la tasa de germinación empieza a disminuir y G que representa el porcentaje final de germinación. La gráfica está dividida en una fase rápida que va de 0 a T y una fase lenta de germinación, la cual va de T a G. El valor pico (VP) es el porcentaje de germinación en T dividido entre el número de días necesarios para alcanzar este punto. La germinación media diaria (GMD) se calcula dividiendo el porcentaje final de germinación entre el número de días que tardó la prueba.

$$VP = (\% \text{ de germinación}) / (\text{Número de días para alcanzar T})$$

$$GMD = (\% \text{ final de germinación}) / (\text{Número de días que dura la prueba})$$

$$VG = VP \times GMD.$$

La capacidad germinativa (CG) o porcentaje de germinación es el máximo porcentaje de germinación acumulado durante la prueba. La uniformidad germinativa (UG) está dada por las diferencias en el tiempo de germinación de las semillas individuales de la muestra, para medirla se ha utilizado la medida de dispersión llamada desviación estándar (S) que ha valores altos indica mayor variabilidad en la muestra.

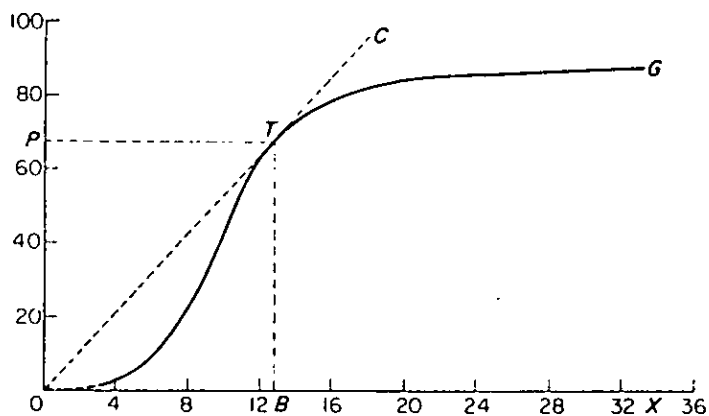


Figura A Curva característica de germinación en una muestra de semillas de germinación lenta (Czabator citado por Hartman 1995)

8.4.2 Tratamiento con diferentes concentraciones de AG_3 y con periodos de 10, 20 y 30 días. estratificación

1) 10 días de estratificación fría

- A 100 ppm de AG_3 se encontró 80 % de capacidad germinativa, 6.99 de valor de germinación, 30.23 de uniformidad germinativa y 0.94 como coeficiente de correlación. En este periodo de enfriamiento, ésta concentración presenta los resultados más altos en capacidad germinativa.
- A 200 ppm de AG_3 se encontró con el 70 % de capacidad germinativa, 10 para el valor de germinación 22.8 para la uniformidad germinativa y 0.96 como coeficiente de correlación.
- 300 ppm de AG_3 presentó un 60 % de capacidad germinativa, 3.23 para el valor de germinación, 19.238 para la uniformidad germinativa y 0.98 como coeficiente de correlación.
- El testigo presentó un 55 % de capacidad germinativa, 2.24 para el valor de germinación, 15.46 de uniformidad germinativa y 0.98 en el coeficiente de correlación.

Como se puede apreciar en el cuadro 14 el testigo presenta resultados bajos en comparación con el uso 100, 200 y 300 ppm de AG_3 , pero el uso de AG_3 presentó mayores porcentajes de dispersión en el tiempo de germinación.

2) 20 días de estratificación fría

- 100 ppm de AG_3 presentó como resultados un 85 % de capacidad germinativa, 11.04 en el valor de germinación, 8.85 para la uniformidad germinativa y 0.94 en cuanto al coeficiente de germinación.

Este tratamiento presenta la mejor combinación de resultados del experimento. Presenta junto con las concentraciones de 100 y 200 ppm de TDZ a 10 días el 85 % de capacidad germinativa, siendo este, el resultado más alto del experimento, en cuanto el valor de germinación (11.04) resultó ser el más alto, quedando en segundo lugar para la concentración de 100 ppm de TDZ a 10 días con un valor de 10.4. También presenta una uniformidad germinativa de 8.85 con poca variación, si se compara con el valor de 5 uniformidad germinativa para 100 ppm de TDZ a 20 días de estratificación y resulta muy por debajo de 31 que se presenta en 200 ppm de TDZ a 10 días de estratificación es un valor alto lo que indica muy buena correlación, entre el tiempo y el porcentaje de germinación. Siendo este tratamiento el más recomendable del experimento. (Cuadro 14)

- 200 ppm de AG_3 presentó un 75 % de capacidad germinativa, 9.66 para el valor de germinación, 5.59 en uniformidad germinativa y 0.66 como coeficiente de correlación, en este tratamiento se presentó el valor más bajo en el coeficiente de correlación de todo el experimento.

Las semillas de manzano exigen para su germinación un periodo de estratificación en el que el tiempo y la temperatura dependen de la variedad, pero en general se consideran 5°C y 3 meses. La

aplicación de AG estimula el desarrollo del embrión durante el proceso de la estratificación (Franklad citado por Rojas 1995.

- 300 ppm de AG₃ presentó el 75 % de capacidad germinativa, 9.66 en cuanto el valor de germinación 5.52 para la uniformidad germinativa, este índice indica que la germinación fue de las más uniformes en todo el experimento, 0.79 para el coeficiente de correlación.
- El testigo presenta 60 % de capacidad germinativa, 4.08 para el valor de germinación, 24.6 para la uniformidad germinativa y 0.86 para el coeficiente de correlación.

Como en este trabajo se han utilizado manzanas adquiridas en el comercio, las cuales se suelen almacenar en frío antes de ser expuestas en el mercado, esto explica el 60 % de germinación encontrada en el testigo.

El testigo presenta los valores más bajos en cuanto a capacidad germinativa (C. G) y valor de germinación (V. G.), en relación a los resultados obtenidos al usar concentraciones de 100, 200 y 300 ppm de AG₃ para este periodo de estratificación. En cuanto a la uniformidad germinativa el testigo presenta mayor dispersión en el periodo de germinación.

De acuerdo a los resultados obtenidos este periodo de estratificación presenta la mayor uniformidad en el periodo de germinación en todo el experimento.

3) 30 días de estratificación.

- 100 ppm de AG₃ presentó el 75 % de capacidad germinativa 7.87 para el valor de germinación, 20.14 en uniformidad germinativa y 0.748 como coeficiente de germinación
- 200 ppm de AG₃ presentó el 45 % de capacidad germinativa, 1.95 en el valor de germinación, 14.56 para la uniformidad germinativa y 0.97 como coeficiente de correlación. Este tratamiento resulto ser el menos apropiado para la germinación. (Cuadro 14).
- 300 ppm de AG₃ presentó el 55 % de capacidad germinativa, 4.62 en el valor de germinación, 18.37 para la uniformidad germinativa y 0.877 para el coeficiente de correlación.
- En el testigo se tienen 45 % de capacidad germinativa 2.26 como valor de germinación, 10.6 en uniformidad germinativa y 0.939 como coeficiente de correlación.

En general la combinación de 30 días de estratificación con 100, 200 y 300 ppm de AG₃ resulto ser el tratamiento menos adecuado para el proceso de germinación.

En la germinación de embriones de manzano (*Malus sp*) se obtuvieron el 80 % de germinación, aplicando 100 ml (100 ppm) de AG con 10 semanas (60 días) de estratificación (Franklad citado por

Rojas 1995). Al comparar estos resultados con los obtenidos en este trabajo se puede observar que la concentración de 100 ppm de AG₃ coincide con los más altos porcentajes de germinación, pero el mayor porcentaje (85 %) del experimento se obtiene con un período de 20 días de estratificación.

Rojas (1995) sostiene que el ácido giberélico (AG) sustituye parcialmente el estímulo térmico, por lo que al utilizar AG en la germinación de semillas se recomienda dar unos días de frío.

Cuadro 14 Germinación de semillas de manzano (*Malus sp*) C. V. Golden, tratados a diferentes concentraciones de Giberelina (AG₃) y con 10, 20 y 30 días de estratificación.

Período de estratificación: frío en días	concentración de AG ₃ en ppm	C G	V P	G M D	V G	U G	r
10	100	80	3.04	2.3	6.992	30.23	0.946
	200	70	5	2	10	22.8	0.96
	300	60	1.9	1.7	3.23	19.238	0.986
	0 (testigo)	55	1.43	1.57	2.245	15.46	0.987
20	100	85	4.6	2.4	11.04	8.85	0.942
	200	75	4.6	2.1	9.66	5.59	0.666
	300	75	4.6	2.1	9.66	5.52	0.79
	0 (testigo)	60	2.4	1.7	4.08	24.6	0.86
30	100	75	3.75	2.1	7.875	20.14	0.748
	200	45	1.5	1.3	1.95	14.56	0.977
	300	55	2.89	1.6	4.624	18.37	0.877
	0 (testigo)	45	1.74	1.3	2.262	10.6	0.939

- CG Capacidad germinativa en %
- VP Valor pico de germinación.
- GMD Germinación media diaria (% de semilla germinadas por día)
- VG Valor de germinación
- UG Uniformidad germinativa (grado de dispersión en la germinación).
- r Coeficiente de correlación entre el tiempo y el número de semillas germinadas

8.4.3. Tratamientos a diferentes concentraciones de citocinina (TDZ) y con periodos de estratificación de 10, 20 y 30 días.

En el tratamiento con citocinina los resultados más altos obtenidas fueron:

1) Para un periodo de 10 días de estratificación.

- La concentración de 100 ppm de TDZ, presentó una capacidad germinativa del 85 %, un valor de germinación de 10.5, con 28.96 de uniformidad germinativa y con un coeficiente de correlación de 0.846. Este tratamiento presento la mayor variabilidad.
- En 200 ppm de TDZ se encontró con el 85 % de capacidad germinativa, con 5.2 para el valor de germinación, siendo un valor muy bajo al compararse con 10.5 para la concentración de 100 ppm de TDZ, también presento 31.15 de uniformidad germinativa, es el tratamiento con mayor variabilidad en la germinación del experimento y con 0.99 de coeficiente de correlación.

2) En 20 días de estratificación se encontro:

- 100 ppm de TDZ presentó 65 % de capacidad germinativa, 7.2 de valor de germinación, 5 de uniformidad germinativa es el tratamiento con menor variabilidad del experimento y con 8.28 de coeficiente de correlación.
- 200 ppm de TDZ se encontró con un 70 % de capacidad germinativa, siendo la concentración con mayor capacidad germinativa para los 20 días de estratificación, también presento 5.34 de valor de germinación, 10.7 de uniformidad germinativa y 0.956 de coeficiente de correlación.

Para esta concentración, el tejido presenta los resultados más bajos en capacidad germinativa (60 %), valor de germinación 5.18, en uniformidad germinativa de (24.6) se obtuvo la mayor variabilidad.

3) A 30 días de estratificación para TDZ se encontró

- La concentración de 100ppm presentó un 70 % de capacidad germinativa, 6.3 de valor de germinación, 27.38 en uniformidad germinativa y con un coeficiente de correlación de 0.9.
- En 200 ppm se encontró con un 80 % de capacidad germinativa, 7.8 de valor de germinación, 26.3 de uniformidad germinativa y con un coeficiente de correlación de 0.9.
- A 300 ppm se obtuvo un 70 % de capacidad germinativa, 5 de valor germinativo, 23.6 de uniformidad germinativa y 0.9 como coeficiente de correlación.
- En el testigo se encontro con 45 % de capacidad germinativa, 2.2 de valor de germinación y 0.9 como coeficiente de germinación.

Este período de enfriamiento muestra una marcada diferencia entre el uso de TDZ y el agua destilada como testigo, notándose que la acción del TDZ sobre las semillas en 30 días de enfriamiento, reporta resultados altos para la capacidad germinativa con un promedio de 75 % para las tres concentraciones, contra el 45 % para el testigo. Con respecto al valor de germinación presenta resultados intermedios, si se compara con los demás tratamientos (Cuadros 14 y 15). En cuanto a la uniformidad germinativa, presenta altos índices de dispersión, considerándose un tratamiento muy variable.

Velier citado por Salisbury 1994, en la germinación de semillas de manzano estratificadas a 4°C y puesta a germinar durante 12 días a 25°C encontró el 68 % de germinación con 33 días de estratificación, para el 70 % de germinación necesitó 38 días de estratificación y para un 80 % de 44 días. Visser citado por Bidwell (1993) reporta que en la germinación intacta de manzana se requieren de 78 días de estratificación a 3°C para alcanzar un 80 % de germinación.

Comparando estos resultados con los de este trabajo se observa que la aplicación de AG₃ y TDZ sustituyen parte del tratamiento con frío, por ejemplo, para un 80 % de germinación se necesita de un 44 % de germinación (de acuerdo con Velier), pero si se utilizan AG₃ se requieren 100 ppm y 20 días de estratificación (Tabla 14), y se utiliza TDZ se requiere 100 ppm en 10 días de estratificación para un 85 % de germinación. Lo que trae como consecuencia un ahorro en el número de días de estratificación, acortándose el período de germinación y se consiguen altos porcentajes de germinación.

Los inhibidores desaparecen durante el período de estratificación y se acumulan promotores como la giberelinas y citocininas Salisbury (1994).

De acuerdo con los resultados se puede establecer que la aplicación de AG₃ y TDZ sustituyen parte del tratamiento térmico, aumentan las concentraciones de los promotores en la semilla, el AG₃ para desencadenar los procesos enzimáticos que dan origen a la germinación y el TDZ para contrarrestar los efectos del ABA (Cuadro 2)

Cuadro 15 Germinación de semillas de manzano (*Malus sp*) CV. Golden, tratadas con diferentes concentraciones de Citocininas (TDZ) y con 10, 20 y 30 días de estratificación.

Periodo de estratificación fría en días	concentración de citocinina en ppm.	C G	V P	G: M D	V G	U G	r
10	100	85	4.3	2.43	10.449	28.96	0.846
	200	85	2.14	2.43	5.2	31.15	0.9923
	300	50	2.17	1.43	3.103	17.5	0.897
	0 (testigo)	55	1.428	1.57	2.24	15.46	0.987
20	100	65	4.23	1.7	7.191	5.0	0.828
	200	70	2.77	2	5.54	10.7	0.956
	300	65	2.73	1.857	5.069	13.77	0.87
	0 (testigo)	60	3.05	1.7	5.185	24.6	0.86
30	100	70	3.158	2	6.318	27.38	0.90
	200	80	3.43	2.28	7.82	26.27	0.942
	300	70	2.5	2	5	23.64	0.966
	0 (testigo)	45	1.74	1.28	2.23	10.6	0.939

CG Capacidad germinativa

VP Valor pico de germinación.

GMD Germinación media diaria (% de semilla germinadas por día)

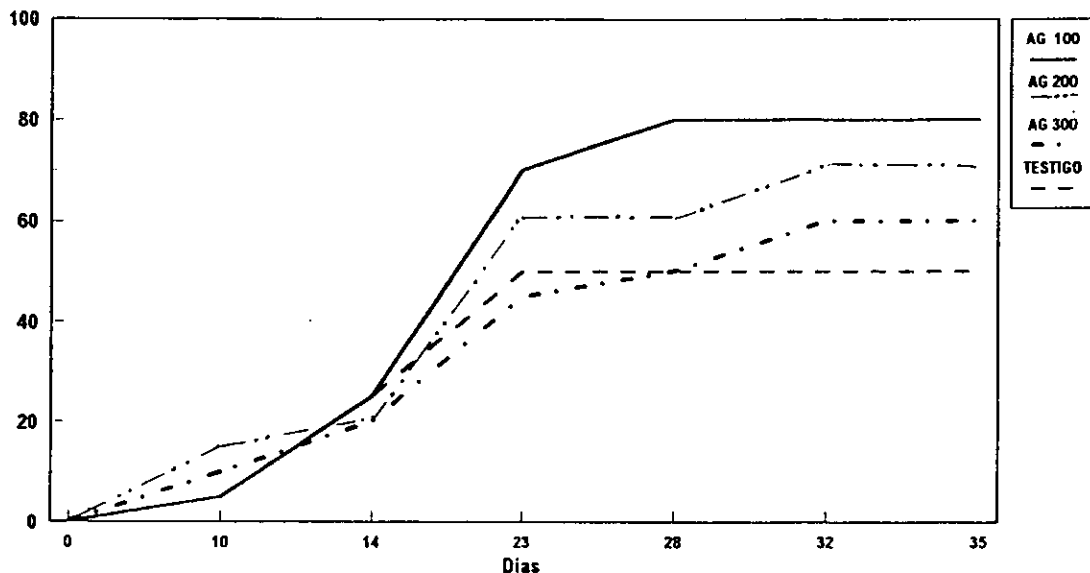
VG Valor de germinación

UG Uniformidad germinativa (grado de dispersión en la germinación).

r Coeficiente de correlación entre el tiempo y el número de semillas germinadas

Gráfica 3 porcentaje de semillas germinadas después de 10 días (240 hrs.) de estratificación a 5° C en manzano (*malus sp*)CV. Golden

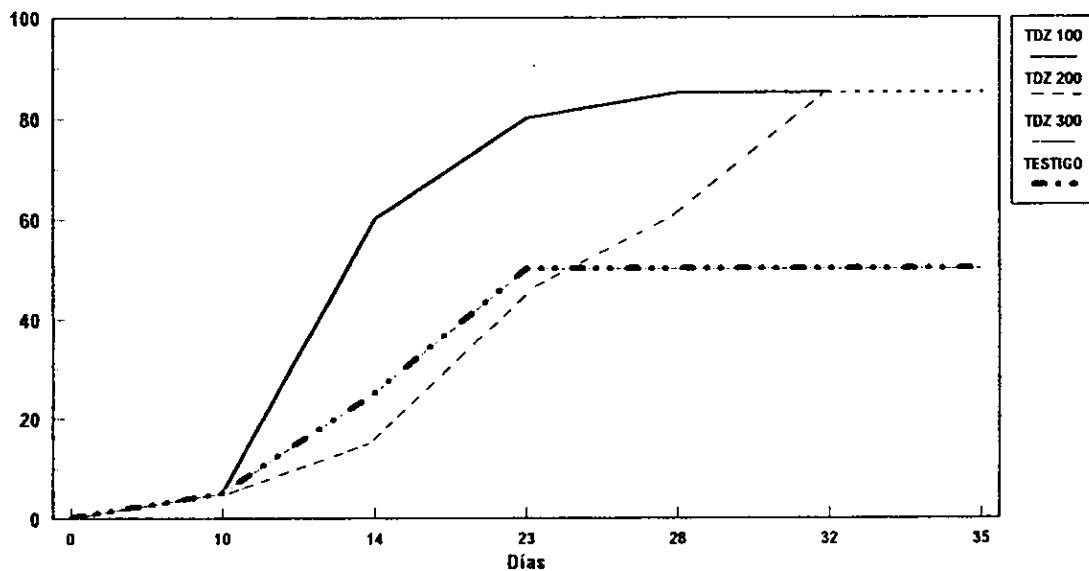
Porcentajes



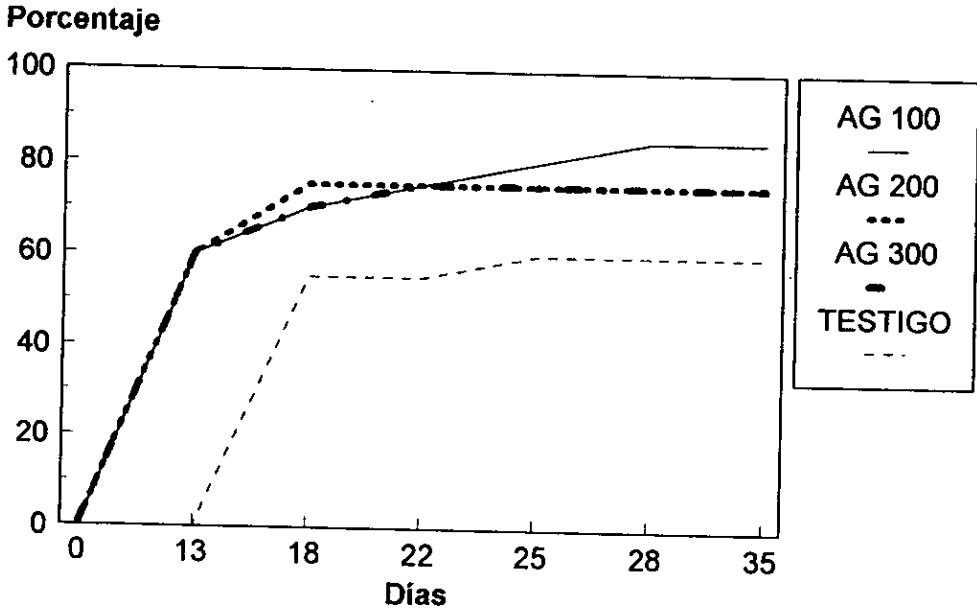
Para el testigo el porcentaje de germinación no está relacionado con la pérdida de vigor en la semilla, sino por falta de un cierto número de horas frío. Al medir la secuencia cronológica en la germinación de un lote de semillas, con regularidad se observa que hay una demora inicial en la germinación, posteriormente se presenta un incremento rápido en el número de semillas germinadas y finalmente se presenta una decaída en la tasa de germinación (Harman 1995). Las gráficas 3, 4 y 5 muestran este patrón en la germinación. En esta gráfica las semillas inician su germinación aproximadamente el 2 día, presentando desde este día hasta el 10 día una demora en el porcentaje de germinación; del día 10 al 23 presentan un incremento logarítmico, finalmente la curva disminuye el ritmo de crecimiento y se mantiene como constante.

Grafica 3a porcentaje de semillas germinadas
después de 10 días (240 hrs.) de estratificación a 5° C
en manzano (*malus sp*)CV. Golden

Porcentajes

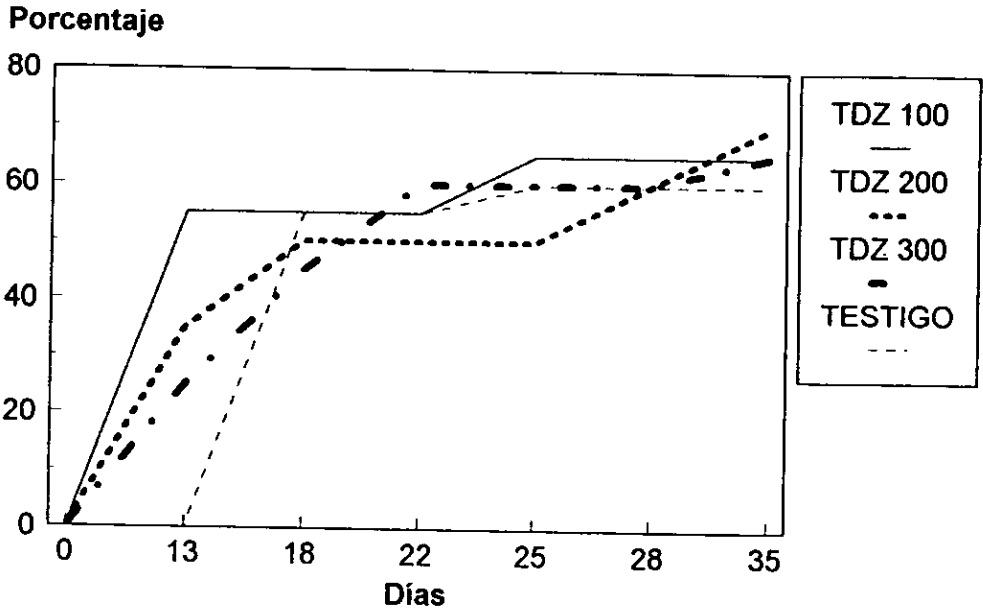


Gráfica 4 Porcentaje de semillas germinadas después de 20 días (480 hrs. de estratificación a 5°C en manzano (*Malus sp*)CV. Golden



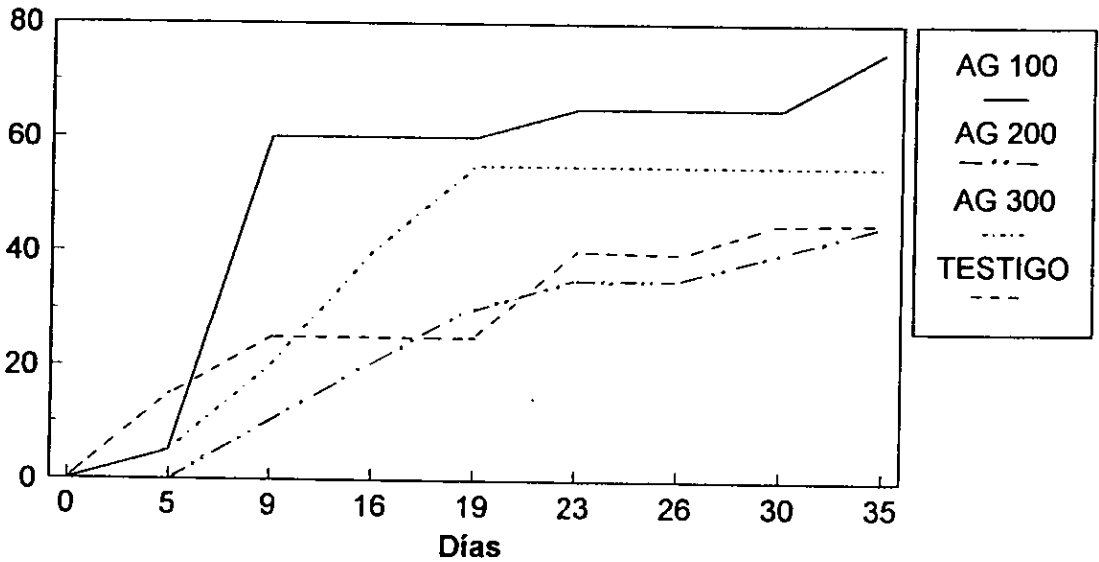
La gráfica para 20 días de estratificación muestra un incremento rápido en el porcentaje de germinación entre el 1º y el día 18, siendo un crecimiento logarítmico, posteriormente las curvas se suavizan debido a que los porcentajes de germinación dejan de crecer en forma logarítmica. A partir del día 18 las curvas muestran diferencias entre los tratamientos. Este período de estratificación presenta la mayor uniformidad germinativa y se le compara con los 10 y 30 días de estratificación.

Gráfica 4a Porcentaje de semillas germinadas después de 20 días (480 hrs. de estratificación a 5°C en manzano (*Malus sp*)CV. Golden



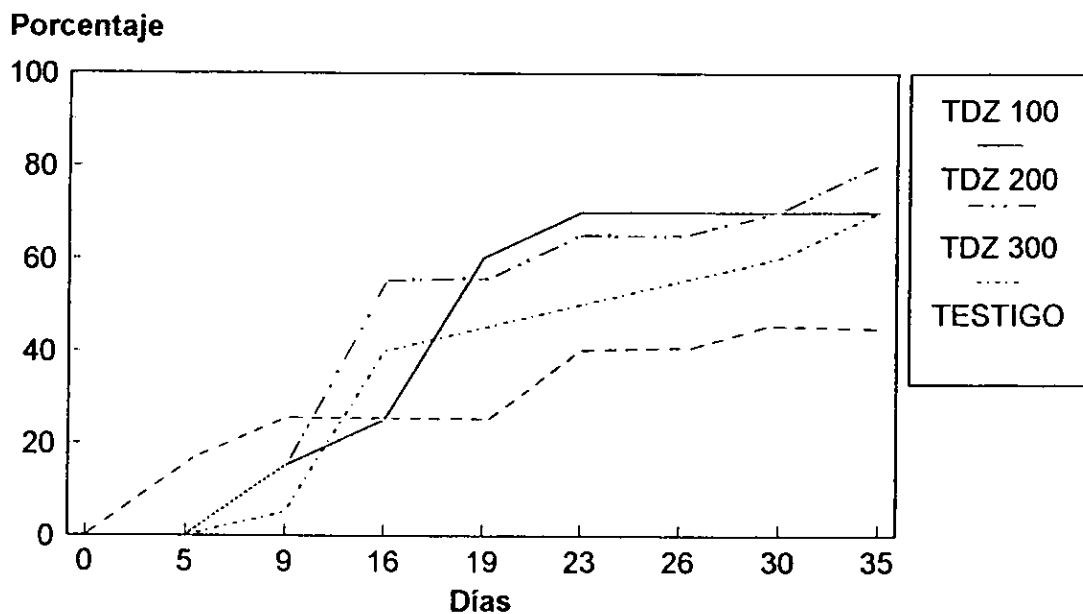
Gráfica 5 Porcentaje de semillas germinadas, después de 30 días (720 hrs) de estratificación a 5°C en manzano (*Malus sp*)CV. Golden

Porcentaje



La gráfica para 30 días de estratificación muestra la mayor dispersión entre los tratamientos, entre el primero y quinto día se presenta una demora en la germinación, el incremento en forma logarítmica se presenta entre los días 5 y 6, también muestra que el tratamiento 100 ppm de AG consigue el 60 % de germinación en 9 días, siendo la germinación más rápida del experimento.

Gráfica 5a Porcentaje de semillas germinadas, después de 30 días (720 hrs)de estratificación a 5°C en manzano (*Malus sp*)CV. Golden



IX CONCLUSIONES

IMBIBICION DE LA SEMILLA DE MANZANO

- La mayor ganancia de peso se obtuvo en AG₃ a 100 ppm con 117 %, y 300 ppm con 117.08 % y 110.64 para 300 ppm de TDZ.

Estratificación de la semilla

- La semilla aumenta de peso conforme transcurre el periodo de estratificación (de 10 días a 30 días).
- La mayor ganancia de peso se obtuvo a los 30 días de estratificación y de estas destacan las concentraciones 300 ppm de AG₃ con 105.17%, 300 ppm de TDZ con 113.96% y el testigo con 113.14%.

GERMINACIÓN DE LA SEMILLA DE MANZANO

Para el ácido giberélico (AG₃)

- 20 día de estratificación fue el período que mostró los más altos resultados en cuanto a la capacidad germinativa de 85 % para 100 ppm y 75 % para 200 y 300 ppm y con una menor variabilidad correspondiendo a 8.85 para uniformidad germinativa (UG) para 100 ppm y 5.59 de UG para 200 ppm y 5.52 para 300 ppm.
- El tratamiento de 100 ppm de AG₃ y 20 días de estratificación mostró la mejor combinación de resultados, 85% para la capacidad germinativa, 11.04 para el valor de germinación y 8.8 para la uniformidad germinativa y 0.942 para el coeficiente de correlación.

Para la citocinina (TDZ)

- La concentración de 100 ppm de TDZ a 10 días de estratificación mostró los resultados más altos en cuanto a la capacidad germinativa (CG=85%) y al valor de germinación (VG=10.449).
- El tratamiento 100 ppm y 20 días de estratificación reportó la mejor combinación de resultados, 65% para la capacidad germinativa, 7.191 para el valor de germinación y 5.0 para la uniformidad germinativa.

CONCLUSION GENERAL

Se establece el cumplimiento de la hipótesis, debido a que se pudo sustituir una parte del tiempo en estratificación y se aumentó el porcentaje de semillas germinadas (comparandolas con el testigo), acortando el período de reposo y acelerando el proceso de la germinación con aplicación del ácido gibereligo AG_3 y la citocinina (Thidiazurón) TDZ.

X BIBLIOGRAFIA

- 1.- A. Alpi. F. Tong Noni, **CULTIVO EN INVERNADERO**, Ed. Mundi-Prensa España 1991.
- 2.- ALVAREZ, A., y D. H. Díaz, **EFFECTO DE LA CIANAMIDA HIDROGENADA SOBRE LA BROTAÇÃO DE DURAZNO "FLORDAGOLD"**, Icong. Nac. Soc. Mexicana de ciencias Hortícolas, Resumen 61 1985.
- 3.- ATWATER B. R., "**DORMANCY AND MORPHOLOGY OF SEED OF HERBACEUS ORNAMENTAL PLANTS**", seed sci. and technol vol. 8, 1980.
- 4.- BENNET, J., **TEMPERATURE AND BUDREST PERIOD. EFFECT OF TEMPERATURE AND EXPOSARE ON THE PERIOD OF FECIDUOUS PLANT LEAF BUDS INVESTIGATE**. Calif. Agric. 4, 1950.
- 5.- BIDWELL R. G. S., **FISIOLOGIA VEGETAL AGT**, Editor México 1993.
- 6.- BRADBEER J. W., **SEED DORMANCY AND GERMINACION**, Blackie academic and profesional USA 1992.
- 7.- CAMACHO M. F. **DORMICIÓN DE LAS SEMILLAS, CAUSAS Y TRATAMIENTOS**, Ed. Trillas México 1994.
- 8.- COLE, M. E. T. Solomos y M. Faust, **GROWT AND RESPIRATION OF DORMANT BADS OF *PYRUS COMUNIS* AND *PYRUS CALLERYANA***, Jour. Amer. Soc. Hort. Sci. 107, 1982.
- 9.- CRONQUIST Arthur, **INTRODUCCIÓN A LA BOTÁNICA**, CECSA Méx. 1977.
- 10.- CHANDLER W., M. Kimball, G. Philip, W. Tufts y G. Weldon, **CHILLING REQUERIMENT FOR OPENING BUDS SON DECIDUOUS ORCHARD TREES AND SOME OTHERS PLANTS IN CALIFORNIA**, Cal agr. Expt. Sta. Bul. Gil., 1937.
- 11.- DELORIT. J. Richard, Ahlgren L. Henry, **PRODUCCIÓN AGRÍCOLA**, CECSA Méx. 1979.
- 12.- DIAZ M. H. Daniel, **REQUERIMIENTO DE FRIO EN FRUTALES CADUCIFOLIOS SARH**, Instituto de investigaciones forestales y agropecuarias, 1987.
- 13.- DÍAZ S. Torres C., **EVALUACIÓN CUANTITATIVA DE VITRO PLANTULAS DE FRESA (*Frayaria Xananassa*)** Tesis FES.C UNAM México 1997.
- 14.- DIEHL R., Mateo Box J. M. Urbano terrón, **FITOTECNIA GENERAL**, Ed. Mundi-prensa, Madrid España p.1895.

- 15.- DUFFUS Caroly Slaughther Colin, **LAS SEMILLAS Y SUS USOS**, AG. T. Editor México 1992.
- 16.- EBENARD S. P. y Walter H., **BIOREGULATORS, PRESENT AND FUTURE FIELDS OF APPLICATION IN ENGLAND**, 1991.
- 17.- EDMUND J. B. Senn T.L., Andrews F.S., **PRINCIPIOS DE HORTICULTURA**, CECSA, México 1981.
- 18.- EREZ, A. S. Lavee. **THE EFFECT OF LIMITATION IN LIGHT DURING THEIR REST PERIOD ON LEAF BREAK OF THE PEACH**, (*Prunus persica*) *Physiol Plant* 21, 1968.
- 19.- ESPARZA Martinez J. Hector, **VIABILIDAD DE LAS SEMILLAS SARH.**, Instituto nacional de investigaciones forestales y agropecuarias Méx. 1990. Publicacion especial
- 20.- FLORES Velázquez M. J. y Díaz Negrete O., **EFFECTO DEL LESIONADO, CONCENTRACIÓN DE ACIDO INDOL-3-BUTIRICO (AIB) Y TIEMPO DE INMERSIÓN SOBRE EL ENRAIZAMIENTO DE ESQUEJES DE *GYPSOPHILA PANICULATA* L. VAR. PERFECTA**, Tesis Profesional UNAM FES.C Méx. 1991.
- 21.- FORREST F. Stevenson y Mertens R. Tomas, **ANATOMIA VEGETAL**, Ed. Limusa Méx. 1980.
- 22.- GIUSEPPE G.N. et. al, **TRATADO DE BOTÁNICA**, Ed. Labor, España 1965.
- 23.- HARTMAN T. Hudson, Floker J. William, Kofranek M. Anton Growth, **DEVELOPMENT, AND UTILIZATION OF CULTIVATED PLANTS IN PLANT SCIENCE**, Ed. prentice-Hall inc. USA. 1981.
- 24.- HARTMANN, H. T. y D. E. Kester E. Dale, **PROPAGACIÓN DE PLANTAS**, Ed. Cecsca, México 1995.
- 25.- HILL A. Tomas, **HORMONAS REGULADORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL**, Ed. Omega S.A. Barcelona España 1984.
- 26.- JEAN, Prost Pierre et. al., **LA BOTÁNICA Y SUS APLICACIONES AGRÍCOLAS**, Ed. Mundi-Prensa España 1970
- 27.- JIMENEZ O. J. **DICCIONARIO DE BIOLOGÍA**, Ed. Concepto, México 1980.
- 28.- KOLLER D., **GERMINATION**, *Sci Amer* Vol. 200 1959
- 29.- KOZTOWSKY, T.T. y Gun, C.R., **"IMPORTANCE AND CHARACTERISTICS OF SEED"**, en: Koztowsky, (ed) *Sedd Biology*, Academy Press Vol I.

- 30.- L. De Fina Armando, et. al., **CLIMATOLOGÍA Y FENOLOGÍA AGRÍCOLA**, Ed. Universitaria de Buenos Aires Argentina (1975).
- 31.- LAVEE, S., **DORMANCY AND BUD BREAK IN CLIMATES: Considerations of growth regulator involvement**. Acta Hort. 34, 1973.
- 32.- LITTLE, T. M. y Hills F. J., **MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA LA INVESTIGACIÓN EN LA AGRICULTURA**, Ed. Trillas México 1981.
- 33.- LIRA S. R. H. **FISIOLOGIA VEGETAL** Ed. Trillas Méx. 1994.
- 34.- NIKOLAEVA M. G., **FACTORS AFFECTING THE SEE DORMANCY PATTERN. IN THE PHYSIOLOGY AN BIOCHEMISTRY OF SEED DORMANCY AND GERMINATION**. A. A. KHAN, Ed. Amsterdam: North g Holland Publishing Co. 1977.
- 35.- OBANDO. R. G., **LOGROS Y APORTACIONES DE LA INVESTIGACIÓN AGRICOLA EN LOS FRUTALES DE HOJA CUDUCA SARH - INIA**, No. 19 México 1982.
- 36.- ONCELAY, C. Y., L. S. Doley, H. M. vines G.A. Couvillon y C.H. Hendershott, **SEASON FLUCTUATION IN MALAT DEHYDROGENASE, PHOSPHATASE AND PROTEINASE ACTIVITY OF DORMANT PEACH LOWER BUDS**. Scientia Hort II, 1979.
- 37.- PEREZ, A. y S. Lavee., **THE EFFECT OF CLIMATIC CONDITIONS ON DORMANCY DEVELOPMENT OF PEACH BEEDS., I. Temperature**. Jour Amer Soc. Hort. Sci. 1971
- 38.- RAY Martin Peter **LA PLANTA VIVIENTE**, CECSA México.
- 39.- REYES, C.P., **diseño de experimentos aplicados**, Trillas, México 1980
- 40.- ROBBINS W. Wilfred et. al., **BOTANICA**, Limusa México 1976.
- 41.- ROJAS Garcidueñas et. al, **MANUAL DE HERBICIDAS Y FITORREGULADORES, APLICACIÓN Y USO DE PRODUCTOS AGRICOLAS**, Ed. UTEHA Méx. 1995.
- 42.- ROJAS Garcidueñas M., **FISIOLOGIA VEGETAL APLICADA**, Ed. Mc. Graw Hill Méx. 1993.
- 43.- RUIZ- Orozco Manuel et. al., **TRATADO ELEMENTAL DE BOTÁNICA CECSA**, Méx. 1985.
- 44.- RYUGO Ray, **FRUTICULTURA (CIENCIA Y ARTE)**, Ed. A.G.T. Editos Méx. D.F.1993.
- 45.- SALISBARY B. Frank, **FISIOLOGÍA VEGETAL**, Ed. Grupo Editorial iberoamerica Méx. D.F. 1994.

46. TAMAYO y Tamayo Mario, **EL PROCESO DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA**, Ed. Limusa, México 1991.
47. TERRON. U. P., **TRATADO DE FITOTECNIA GENERAL**, Ed. Mundi-prensa Madrid España 1991.
48. TOOLE H. Eben, **HASTA QUE EL TIEMPO Y EL LUGAR SEAN FAVORABLES EN SEMILLAS**, Departamento de agricultura de Estados Unidos de America CECSA, México 1980.
49. TORRES Ruiz Edmundo, **AGROMETEOROLOGÍA**, Ed. Diana, México 1986.
50. VILLIERS A. T. **REPOSO Y SUPERVIVENCIA DE LAS PLANTAS** Ed. Omega España 1979
51. TORRES Ruiz Edmundo, **AGROMETEOROLOGÍA**, Ed. Trillas Méx. 1995.
52. WAREING. P. F. et. al., **HORMONES AND DORMANCY**, Ann. Rev. Plant. Physiol. 2 1971.
53. WEAVER J. Robert, **REGULADORES DEL CRECIMIENTO EN LA AGRICULTURA**, Ed. Trillas, Méx. 1985.
54. WEREING, P. I., **THE CONTROL OF BUD DORMANCY IN SEED PLANTS**, Symp, Soc. Expt. Biol 1969.
55. WESTWOOD N. Melvin, **FRUTICULTURA DE ZONAS TEMPLADAS**, Ed. Mundi-Prensa, Madrid España 1982.
56. ZIELINSKI, Q.B., **MODERN SYSTEMATIC POMOLOGY POMONA**, Books Rockton, Canada 1977.