



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EFECTO DE FITORREGULADORES (AIB Y GA₃) EN
EL ESTABLECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE
Chiranthodendron pentadactylon Larr.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A
P R E S E N T A:

DIANA LAURA SANTAELLA QUINTAS



DIRECTORA DE TESIS:
DRA. HELIA REYNA OSUNA FERNÁNDEZ
2010



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.



FACULTAD DE CIENCIAS
Secretaría General
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Facultad de Ciencias
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

**Efecto de fitorreguladores (AIB y GA3) en el establecimiento de plántulas de
*Chiranthodendron pentadactylon***

realizado por **Santaella Quintas Diana Laura** con número de cuenta **0-9723390-5** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario	Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco	
Propietario	M. en C. Pablo Claudio Rojas Lara	
Propietario Tutora	Dra. Helia Reyna Osuna Fernández	
Suplente	M. en B. María Eugenia Muñíz Díaz de León	
Suplente	M. en C. Sol Cristians Nizawa	

Atentamente,

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU ”

Ciudad Universitaria, D. F., a 06 de septiembre de 2010

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

DR. PEDRO GARCÍA BARRERA

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

Hoja de Datos del Jurado

Formato	
1. Datos del alumno	Santaella Quintas Diana Laura 56 18 32 75 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 097233905
2. Datos del tutor	Dra Helia Reyna Osuna Fernández
3. Datos del sinodal 1	Dra Alicia Enriqueta Brechú Franco
4. Datos del sinodal 2	M en C Pablo Claudio Rojas Lara
5. Datos del sinodal 3	M en B María Eugenia Muñiz Díaz de León
6. Datos del sinodal 4	M en C Sol Cristians Niizawa
7. Datos del trabajo escrito	Efecto de fitorreguladores (AIB Y GA ₃) en el establecimiento de plántulas de <i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larr. 77 p 2010

AGRADECIMIENTOS

A Dios gracias.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Ciencias ya que a través de ellas he adquirido los conocimientos y habilidades que me han permitido desarrollarme de forma satisfactoria a nivel profesional.

A la Doctora Reyna Osuna Fernández por su dedicación y esmero para la conclusión de esta tesis, gracias Reynita.

A la M. en B. María Eugenia Muñoz Díaz de León por su apoyo al procurarme su tiempo y espacio durante el desarrollo de esta investigación, pues no solo me permitió conocer a la maestra sino también a una gran consejera y amiga.

Al Doctor Pablo Rojas, por sus comentarios y apoyo en el análisis de los resultados que me permitieron proseguir y llegar a la conclusión de este trabajo.

A la Doctora Alicia Brechú y al M. en C. Sol Cristians porque sus comentarios lograron enriquecer este trabajo escrito.

A todas a aquellas personas que contribuyeron para la conclusión satisfactoria de esta tesis.

DEDICATORIAS

A mis padres: Magdalena y Rosendo

Por darme la vida y hacer posible este momento, gracias siempre por su apoyo incondicional. Para ustedes mi más grande y absoluto agradecimiento e inconmensurable amor.

A mis hermanos: Rosaura, Ofelia, Rosendo, Abelardo, Graciela y Carolina

Porque jamás dejaron que desistiera y en todo momento me apoyaron ¡Siempre fieles!

A mis sobrinos: Mario, Nidia, Charly, Edu, Fer y Rebeca

Mis “pequeños” gracias por formar parte de mi vida y adelante siguen ustedes.

Y a todos los que han estado presentes y ahora son parte fundamental en mi vida, les brindo este trabajo.

A USTEDES MIL GRACIAS.

I. Resumen.....	1
II. Antecedentes.....	2
2.1 Plantas medicinales.....	2
2.2 Peligro de extinción: manejo y recolección.....	3
2.3 Propagación por semilla.....	4
2.3.1 Estructura de la semilla.....	6
2.3.2 Latencia de la semilla.....	6
2.3.3 Inhibidores y estimuladores.....	8
2.4 Germinación, establecimiento de plántulas.....	9
2.4.1 Imbibición.....	10
2.4.2 Reactivación celular.....	11
2.5 Hormonas vegetales.....	14
2.5.1 Auxinas.....	15
2.6 Giberelinas.....	19
2.7 <i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larr.....	22
2.7.1 Antecedentes históricos.....	22
2.7.2 Características.....	24
2.7.3 Estudios e investigaciones.....	25
2.7.4 Características del sitio de colecta.....	27
III. Objetivos y Justificación.....	31
3.1 Objetivo general.....	31
3.2 Objetivos particulares.....	31
3.3 Justificación.....	32
IV. Método.....	33
4.1 Sitio de colecta de semillas.....	33
4.2 Pruebas de germinación.....	33
4.2.1 Escarificación.....	33
4.2.2 Desinfección.....	33
4.2.3 Germinación en cajas de Petri.....	33
4.2.4 Germinación directa en sustrato suelo y agrolita (1:1).....	33
4.2.5 Germinación directa en sustrato vermiculita.....	34
4.3 Tratamientos con auxinas.....	35
4.3.1 Aplicación de ácido indolbutírico (AIB).....	35
4.3.2 Trasplante de plántulas.....	35

4.3.3 Evaluación del desarrollo de plántulas tratadas con AIB.....	36
4.3.4 Tratamientos con ácido giberélico (GA_3 $10^{-5}M$).....	37
4.4. Análisis estadístico.....	38
V. Resultados y discusión.....	39
5.1 Pruebas preliminares de germinación.....	39
5.2 Auxinas.....	41
5.2.1 Peso.....	42
5.2.2 Longitud aérea.....	43
5.2.3 Longitud radical.....	44
5.2.4 Número de raíces.....	45
5.2.5 Número de hojas.....	46
5.2.6 Establecimiento de plántulas.....	47
5.2.7 Discusión.....	47
5.3 Giberelinas.....	51
5.3.1 Longitud aérea.....	52
5.3.2 Número de hojas.....	52
5.3.3 Área foliar.....	53
5.3.4 Peso.....	54
5.3.5 Longitud aérea.....	54
5.3.6 Longitud radical.....	55
5.3.7 Número de raíces.....	56
5.3.8 Número de hojas.....	56
5.3.9 Área foliar.....	57
5.3.10 Discusión.....	59
VI. Conclusiones.....	62
VII. Apéndice.....	63
VIII. Bibliografía.....	71

I. Resumen

La flor de manita (*Chiranthodendron pentadactylon* Larr.) es un árbol de gran importancia en la medicina tradicional mexicana, sin embargo, actualmente se encuentra en la categoría de especie amenazada (NOM-059-SEMARNAT-2001), por lo que es necesario efectuar diversas investigaciones para promover su propagación.

Con base en lo anterior se realizó el presente estudio, en el cual se aplicaron hormonas exógenas: el ácido indolbutírico (AIB) en diferentes concentraciones: 10^{-5} M, 10^{-7} M y 10^{-9} M y ácido giberélico (GA_3 , 10^{-5} M) por aspersion foliar directa, para evaluar el desarrollo y establecimiento de las plántulas de *Ch. pentadactylon* Larr. bajo condiciones de laboratorio.

Se evaluó el porcentaje de germinación de semillas escarificadas mecánicamente, en diferentes sustratos. Los mejores resultados se obtuvieron en el sustrato vermiculita por lo que fue seleccionado para las pruebas posteriores.

Conforme se obtenían las plántulas del tamaño necesario, con hojas cotiledonarias de aproximadamente 5 cm de longitud aérea, la zona radical se sometió a las diferentes concentraciones de AIB exógeno y solución sacarosa al 0.2 % con aereación durante 90 minutos.

Durante el desarrollo del experimento se efectuaron cuatro trasplantes: vermiculita, vermiculita: suelo (2:1), vermiculita: suelo (1:1) y suelo. Previo a cada trasplante se evaluaron las variables: peso, longitud aérea, longitud radical, número de raíces, número de hojas y establecimiento de las plántulas. Estas variables se sometieron a análisis de varianza ($p \leq 0.05$) encontrando que el AIB afectó principalmente la longitud aérea, la longitud radical, el número de raíces y el establecimiento de las plántulas, siendo la concentración 10^{-5} M la que provocó una mejor respuesta. En el resto de las variables evaluadas: peso y número de hojas, no hubo un efecto con la aplicación exógena de auxina.

Los principales parámetros que se incrementaron con el ácido giberélico (10^{-5} M) fueron la longitud aérea y el área foliar.

II. Antecedentes

2.1 Plantas medicinales

El aprovechamiento de las plantas medicinales por el hombre hay que buscarlo en la más remota antigüedad. El hombre las usó inicialmente, a imitación de los animales, guiado por su instinto, después empíricamente, y más tarde de forma más racional, conociendo sus propiedades terapéuticas de forma progresiva (Muñoz, 2002).

Las plantas medicinales constituyen aproximadamente la séptima parte de las especies existentes. Estas, cuentan con moléculas producto del metabolismo de la planta, que poseen una o varias actividades farmacológicas, beneficiosas o perjudiciales sobre el organismo llamados principios activos, los cuales al interactuar entre sí forman un fitocomplejo (Álvarez y Martínez, 2004). Los principios activos son los que definen y sirven para clasificar a estas plantas, son el principal criterio para su selección, control del rendimiento y calidad de productos del cultivo y procesado industrial (Muñoz, 2002). El aprovechamiento de las propiedades farmacológicas de la planta depende del tratamiento que recibe el fitocomplejo antes de convertirse en extracto vegetal o droga seca y formar parte de un fitofármaco (Álvarez y Martínez, 2004).

Los países herederos de una cultura médica popular, atraen la atención del antropólogo médico y del estudioso de la relación hombre-planta. México ofrece para ellos una geografía extensa en flora medicinal y una gran diversidad en la cultura médica tradicional. Sin embargo, es necesario aplicar el método científico de manera interdisciplinaria para el estudio de las plantas que actualmente están siendo utilizadas como medicinales (Osuna *et al.*, 2005).

En México se estima que aproximadamente 60 % de los habitantes, utiliza plantas medicinales para tratar diversos padecimientos. La importancia que reviste desarrollar la industria de plantas medicinales en el país, no obedece tan solo a la necesidad de resolver los problemas de salud; desde un punto de vista comercial, es evidente el potencial del recurso. Sin embargo, para satisfacer las demandas de un mercado de plantas medicinales, no es posible imaginar la obtención de un recurso que hasta la fecha se propaga de manera silvestre. Es inminente el desarrollo de programas de cultivo, alternativa que permitirá tener un material vegetal que garantice su control, explotación y preservación (Meckes, 1993).

El control de calidad sobre los recursos vegetales utilizados como medicinales, debe aplicarse desde su colecta, transporte, almacenamiento y venta al público (Hersch, 1992).

Es indispensable recopilar de manera sistemática y clara, el conocimiento tradicional de los recursos vegetales que actualmente estén siendo utilizados en la medicina tradicional mexicana, lo cual puede ser de manera estatal o regional basándose principalmente en su uso y distribución, y así profundizar científicamente sobre el tema para generar no tan sólo grandes listados de plantas con información etnobotánica, sino bancos de datos complementados con investigación actualizada sobre diversos aspectos fitoquímicos, farmacológicos y toxicológicos (Osuna *et al.*, 2005).

2.2 Peligro de extinción: manejo y recolección

En la naturaleza cada especie tiene sus áreas propias de distribución condicionadas en gran medida a factores ambientales. Muchas se caracterizan por tener una extensa distribución natural que cubre varios ecosistemas y una cantidad igualmente grande y diversa de ecosistemas. Otras especies, en cambio tienen una distribución limitada a regiones más pequeñas, muchas veces circunscrita a una sola zona de vida o ecosistema. La supervivencia de una especie en un ambiente dado es la resultante de un largo proceso de adaptación y selección natural, como consecuencia de que esta última actúa sobre los genes y por ende sobre los individuos que los poseen; por esta causa, las poblaciones que permanecen aisladas en un determinado territorio, comparadas con poblaciones que ocupan territorios distantes y diferentes, poseen otra estructura genotípica. Además, existen otros factores que intervienen activamente en la creación, dispersión y mantenimiento de esta variación, entre los que destacan los diversos componentes de los sistemas sexuales, apareamiento, recombinación, el flujo genético, la ocurrencia de fenómenos naturales o catástrofes y la acción del hombre. La pérdida o disminución de la diversidad genética bajo cualquiera de sus formas, se conoce como erosión genética (Lombardi y Nalvarte, 2001).

La erosión genética tiene tres causas principales:

- a) La destrucción del hábitat natural que ocasiona el exterminio de poblaciones íntegras de las especies que ocupan un área determinada. El principal agente destructor es el hombre en su intento por incorporar tierras a la producción agropecuaria, mediante roza y quema.

- b) La introducción de especies exóticas donde las especies nativas han sido sustituidas perdiéndose así el germoplasma local.
- c) La extracción selectiva que consiste en la explotación de los mejores ejemplares de las especies más valiosas con fines comerciales. Como consecuencia de esta práctica, sólo quedan en el bosque remanente ejemplares de baja calidad, los cuales pasan a constituir la base genética para la repoblación forestal. Como consecuencia de la extracción selectiva existen muchas especies sobre las cuales se ejerce una presión extractiva tan grande que han sido llevadas a un estado crítico que hace necesario pensar en medidas de conservación urgentes, a fin de evitar su exterminio (Lombardi y Nalvarte, 2001).

En México el 99 % de las plantas medicinales son silvestres, anuales o perennes (Estrada, 1995), por lo que es necesario crear un programa de propagación a nivel nacional para proveer de materia prima vegetal en cantidades suficientes según la demanda, y evitar con ello la depredación y exterminio de especies nativas y silvestres, garantizando así la calidad de los recursos medicinales. Un ejemplo de propagación de este recurso es el jardín etnobotánico del INAH en Acapatzingo, Mor., que cuenta con especies medicinales colectadas en su estado natural; es decir, propagadas de manera silvestre. Con el objeto de mantener e incrementar las colecciones del jardín, actualmente se cuenta con áreas dedicadas al cultivo de especies utilizando material vegetativo (estacas, esquejes y semillas). Esto ha permitido también considerar el intercambio de un número mayor de especies con otros jardines botánicos y de desarrollar investigaciones sobre formas de propagación y cultivo de plantas medicinales que de acuerdo a los estudios etnobotánicos son de importancia (Avilés, 1993).

De acuerdo con Osuna *et al.*, (2005) para el caso de las especies de plantas de lenta propagación y/o en peligro de extinción se deben formular proyectos sobre su micropropagación, la producción de líneas celulares hiperproductoras para evitar el comercio indiscriminado de plantas y la introducción al mercado nacional de fitomedicamentos desarrollados en el extranjero.

2.3 Propagación por semilla

La propagación de las plantas es imprescindible para la humanidad. La agricultura comenzó hace aproximadamente 10, 000 años, cuando los antiguos pobladores que vivían de la caza y la recolección, comenzaron a cultivar plantas y a domesticar animales. Estas actividades permitieron el establecimiento de comunidades y los pobladores comenzaron a seleccionar y propagar diferentes tipos de plantas, las cuales les permitían abastecerse de comida y posiblemente otros productos para ellos y sus animales. Al permanecer por un periodo más prolongado de tiempo en el mismo sitio, se hizo posible la creación de centros de actividad, que eventualmente se convirtieron en grandes ciudades (Hartmann *et al*, 1997).

Si bien a lo largo de los siglos el hombre ha descubierto otros muchos métodos de reproducción de plantas, el cultivo de semillas sigue siendo el más común (Hill, 2002).

Una semilla es el embrión de una planta el cual está protegido por tejido materno, la cubierta seminal. Generalmente se abastece de los nutrientes contenidos en el endospermo, aunque en la mayoría de los casos los nutrientes son absorbidos por las hojas seminales, los cotiledones, durante su desarrollo (Fenner y Thompson, 2005).

Una característica importante de las semillas es su variabilidad genética. Esto deriva del hecho de que son el producto de la reproducción sexual. Cada semilla es única genéticamente debido a la mezcla del material genético de los padres (entrecruzamiento de los cromosomas) durante la formación de los gametos, la combinación al azar de los gametos femenino y masculino en la fecundación. La diversidad heredada a los descendientes provee a las especies con una genética flexible que incrementa la probabilidad de que algunos individuos sobrevivan a la selección natural (Harper, 1977; Fenner y Thompson, 2005).

Además un gran número de semillas pueden resistir un amplio rango de condiciones ambientales en relación con las plantas adultas, especialmente, casos extremos de temperatura y sequía. Su habilidad para entrar en un periodo de interrupción del desarrollo es especialmente crucial para plantas anuales que no sobreviven como adultos en condiciones desfavorables (Fenner y Thompson, 2005).

La producción de semillas no es la única forma de reproducción en las plantas. Sin embargo, la mayoría de las plantas anuales y leñosas se reproducen generalmente solo por

semilla (Ronsheim y Bever, 2000; Fenner y Thompson, 2005). A menudo las plantas pueden cambiar entre los dos modos de reproducción (sexual y asexual) como una respuesta fenotípica a las condiciones cambiantes, especialmente para incrementar su densidad (Abrahamson, 1975; Douglas, 1981; Fenner y Thompson, 2005).

2.3.1 Estructura de la semilla

La estructura básica de la semilla de las angiospermas consta de cuatro componentes: el embrión, el endospermo, el perispermo y las cubiertas.

- El embrión comprende el eje embrionario que constituye el hipocotilo del cual los cotiledones están unidos y el ápice del tallo con las primeras hojas verdaderas (plúmula).
- El endospermo que tiene la capacidad para retener una gran cantidad de agua, puede proveer de reservas para la germinación del embrión y regular la cantidad de agua del embrión durante la germinación.
- El perispermo que deriva enteramente del tejido nucelar del óvulo, y es rápidamente absorbido cuando el embrión comienza a establecerse.
- La cubierta funciona como una barrera de protección entre el embrión y el ambiente externo. Las barreras de protección pueden impedir la entrada de oxígeno o restringir el intercambio de gases entre el embrión y el ambiente.

Las semillas si están bien maduras contienen suficientes reservas nutritivas, para la formación normal de la plántula hasta que ésta es capaz de cubrir sus necesidades por medio de la fotosíntesis y la absorción de nutrientes del suelo. Estas reservas están acumuladas, generalmente, en el endospermo y los cotiledones, raramente en el perispermo y muy ocasionalmente en otros tejidos (Besnier, 1989; Black *et al.*, 1999).

2.3.2 Latencia de la semilla

Cuando la semilla madura, un nuevo individuo es dispersado. El éxito de que un nuevo individuo se establezca (tiempo, lugar y vigor de la plántula) está determinado por las características fisiológicas y bioquímicas de las semillas. Una semilla en la cual no ocurre ninguno de los procesos germinativos, se dice que esta quiescente. Las semillas quiescentes tienen sus órganos en reposo, generalmente tienen un bajo contenido de

humedad (5-15 %) con una actividad metabólica casi nula y son capaces de sobrevivir en este estado, por varios años. Para que la germinación ocurra en las semillas quiescentes generalmente solo necesitan hidratarse bajo condiciones que activen su metabolismo, adecuen la temperatura y exista presencia de oxígeno. Cuando las condiciones son favorables (sustrato húmedo, aireado y temperatura adecuada para los procesos metabólicos) y la germinación no ocurre, la semilla se encuentra en un estado de latencia (Bewley y Black, 1994).

El significado ecológico de la latencia consiste en asegurar la supervivencia de la mayor proporción posible de las semillas caídas al suelo y de las plántulas de ellas nacidas (Besnier, 1989; Black *et al.*, 1999).

Existen principalmente tres tipos de latencia en la semilla:

- De tipo morfológico, la semilla es inmadura cuando se desprende en un periodo de crecimiento y/o diferenciación.
- De tipo físico, las semillas tienen testas o pericarpios impermeables; por lo tanto el embrión está seco hasta que la cubierta de la semilla se rompe y permite la entrada de agua.
- De tipo fisiológico detiene la germinación hasta que ocurra un cambio químico.

Los tipos de latencia se pueden combinar en una misma semilla. Solamente la latencia fisiológica es reversible y permite una respuesta más flexible al ambiente que los otros dos tipos de latencia (Baskin y Baskin, 1998; Fenner y Thompson, 2005).

Gran parte de los tipos de latencia que tienen su causa en las cubiertas duras o impermeables al agua pueden superarse por procedimientos sencillos, como la escarificación. En relación con el momento de la aparición de la latencia se admiten dos categorías fundamentales. La latencia primaria, que corresponde al estado de desarrollo detenido en que están las semillas en el momento en que se desprenden de la planta madre o inmediatamente después; y latencia secundaria que es un estado de latencia inducida en semillas en reposo a causa de la presencia de determinados factores ambientales. En lo que respecta a la intensidad y uniformidad de la latencia, pueden distinguirse los siguientes tipos: latencia total, no se produce germinación hasta que cambian las condiciones ambientales en que se encuentra la población de semillas; latencia parcial, una parte más o

menos importante de la población de semillas germina, pero el resto no lo hace y sigue aletargada; latencia intermitente, la población germina de manera intermitente a lo largo de un dilatado periodo de tiempo, lo que puede hacer de modo continuo, esporádico o irregular. La latencia extraembrional se debe a la existencia de barreras físicas y presencia de inhibidores químicos en las cubiertas. Las barreras físicas impiden la imbibición del agua, el aporte de oxígeno, la expansión del embrión y el escape de inhibidores contenidos en éste; también filtran la luz que llega al embrión. Existen dos tipos de latencia embrional una por inmadurez morfológica del embrión, cuando éste no ha completado su crecimiento y desarrollo en la época en que la semilla se dispersa o se recoge; y otra por inhibición fisiológica, con un embrión totalmente desarrollado, la semilla se hidrata cuando se encuentra en un sustrato húmedo, pero no germina a causa de desequilibrios fisiológicos o bioquímicos. En unos casos es completa o doble, es decir, no crecen ni la radícula ni el epicótilo; en otros casos es incompleto o simple y esta aletargada una parte del eje embrionario, generalmente el epicótilo (Besnier, 1989, Black et al., 1999).

2.3.3 Inhibidores y estimuladores

Por su localización e interacción bioquímica en las semillas, los inhibidores pueden clasificarse en exógenos y endógenos. Los inhibidores endógenos son aquellas sustancias producidas de modo natural por las semillas en maduración y que, localizadas en las cubiertas o en el embrión, provocan la latencia. Los inhibidores localizados en las cubiertas son muy variados y pueden clasificarse en dos tipos:

- Los que son eliminados o contrarrestados por la acción de factores externos sin que, aparentemente, lo sean por acciones bioquímicas que tengan su origen en el embrión, eliminables fácilmente por lavado.
- Los que interaccionan bioquímicamente con el embrión, tanto en la inducción como en la ruptura de la latencia, cuya acción es contrarrestada por sustancias posiblemente en el embrión bajo la acción de la luz. De los inhibidores situados en el embrión, principalmente en los cotiledones, el más conocido es el ácido abscísico. El ácido abscísico inhibe la síntesis de enzimas específicas, necesarias para la germinación, bloqueando su traslado por el RNA mensajero (Besnier, 1989, Black et al., 1999).

Los inhibidores exógenos son los que están situados fuera de las semillas. Son compuestos que se encuentran en los sustratos en que germinan las semillas. Los inhibidores que pueden estar situados en los sustratos naturales de germinación son muy variados y su distribución espacial es muy irregular; constituyen la base del fenómeno de alelopatía. Los inhibidores situados en los frutos frescos impiden la germinación de las semillas mientras éstas se encuentran en el interior de los frutos. De entre las muchas sustancias exógenas que rompen la latencia destacan tres reguladores del crecimiento: giberelinas, citocininas y el etileno. Todas ellas se encuentran en las semillas de modo natural, en formas endógenas, variando su contenido durante las fases de formación de la semilla, latencia y germinación. La aplicación de la sustancia exógena rompe la latencia en algunas semillas, pero no en otras; esta ruptura de la latencia está relacionada, generalmente, con las condiciones de luz y temperatura. En muchas semillas, sometidas o no a tratamiento para la ruptura de la latencia se ha encontrado correlación entre el contenido de la sustancia endógena y el grado de latencia. Se considera que las giberelinas son las que más directamente actúan sobre los mecanismos de ruptura de la latencia, mientras que las citocininas ejercen una acción complementaria que parece consistir en contrarrestar la acción de los inhibidores, especialmente del ácido abscísico. Las giberelinas exógenas promueven la germinación de muchas semillas, sustituyendo o complementando la acción de la luz roja o de las bajas temperaturas. Existen hipótesis que pretenden explicar la paralización de las reacciones bioquímicas y su subsiguiente reactivación en la aparición y posterior ruptura de la latencia. Una de ellas, supone la existencia de un equilibrio entre sustancias químicas estimuladoras e inhibidoras, fundamentalmente entre las giberelinas y las citocininas, por un lado, y ácido abscísico por el otro. Los factores físicos que conducen a la ruptura de la latencia inclinarían este equilibrio a favor de las sustancias estimuladoras. Promoviendo la actividad de determinados genes, hasta ahora reprimidos, o desencadenando reacciones enzimáticas. Tanto la luz como las bajas temperaturas podrían operar a través de una iniciación de la síntesis de giberelinas como a través de un cambio en el estado de las membranas celulares, lo que favorecería la acción y difusión de iones y giberelinas (Besnier, 1989; Black et al., 1999).

2.4 Germinación, establecimiento de plántula.

Come y Corbineau (1990), Bewley y Black (1994) y Werker (1997), mencionan que la germinación comienza con la entrada de agua a la semilla (imbibición) y termina cuando comienza la elongación del eje embrionario, usualmente la radícula. La cual incluye numerosos eventos: hidratación de las proteínas, cambios estructurales, respiración, síntesis de macromoléculas y elongación celular.

2.4.1 Imbibición

La entrada de agua en las semillas es esencial, es el primer paso hacia la germinación. La fase I, denominada imbibición, está relacionada con la diferencia de potencial hídrico existente entre la semilla y el sustrato húmedo en el que éstas se encuentran (Werker, 1997). El potencial hídrico (Ψ) de las células en la semilla puede ser expresado de la siguiente forma: $\Psi_{\text{cell}} = \Psi_{\pi} + \Psi_c + \Psi_p$

Esto significa que el potencial hídrico es afectado por tres componentes: (1) Ψ_{π} , el potencial osmótico: determinado por la concentración de solutos disueltos en la célula. (2) Ψ_c , el potencial mátrico, que contribuye en la hidratación de matrices (paredes celulares, almidón, cuerpos proteicos) y su habilidad para atrapar agua y (3) Ψ_p , el potencial de presión, el cual ocurre porque el agua entra a la célula generando presión interna en las paredes celulares. La diferencia en el potencial hídrico entre la semilla y el sustrato es uno de los factores que determinan la disponibilidad y velocidad del fluido en la semilla. La diferencia en Ψ entre la semilla y el sustrato húmedo es bastante grande por el alto Ψ_c de las cubiertas húmedas, las paredes celulares y los nutrientes de reserva. Pero como el contenido de humedad en la semilla se incrementa durante la imbibición y las matrices son hidratadas, el potencial hídrico de la semilla incrementa y en el sustrato disminuye. Por lo tanto la velocidad de transferencia del agua del sustrato a la semilla decrece con el tiempo, de forma más acelerada en sustratos donde la capacidad de retención de agua es baja como en los suelos arenosos. La continua disponibilidad de agua para la semilla depende del potencial hídrico de las zonas del sustrato próximas a la semilla y la velocidad del agua a través del sustrato, esto es la conductividad hidráulica. La capilaridad y evaporación del agua próxima a la semilla influye considerablemente en la compactación del suelo (densidad), la cual puede resultar un mecanismo de restricción para el aumento de la semilla. Otros factores

que juegan un papel determinante en la velocidad y la conducción del agua además de la diferencia de Ψ entre la semilla y el sustrato, son la temperatura de la semilla y del sustrato húmedo, el tamaño y la forma de la semilla. Las semillas pequeñas, las que producen mucílago y las que tienen cubiertas lisas son más eficientes en la absorción de agua debido a un mayor contacto con el sustrato y a su mayor relación aérea/volumen. La influencia de la conductividad hidráulica y el área de contacto semilla-agua en la germinación y en particular en el potencial hídrico del sustrato varía entre los tipos de suelos; es decir, la respuesta de germinación en los suelos arenosos y los suelos arcillosos difiere considerablemente. Los suelos arenosos insaturados tienen menor conductividad que los suelos arcillosos, ya que las partículas son de mayor tamaño y el área de contacto se reduce, por lo cual la germinación es mejor en suelos arcillosos que en suelos arenosos (Bewley y Black, 1994).

Probablemente la imbibición ocurra más rápido en las células periféricas de la semilla y dentro de un tejido pequeño como lo es la radícula, por lo tanto, el metabolismo comienza durante la primera fase (Bewley y Black, 1994).

Cuando en la imbibición, la testa de la semilla ha sido removida, ocurre una rápida salida de electrolitos y potasio, lo que provoca un incremento en la conductividad de agua, algo similar ocurre con la salida de azúcares y proteínas (Besnier, 1989; Black *et al.*, 1999).

La duración de cada una de estas fases depende de ciertas propiedades inherentes de la semilla como el contenido de agua en el sustrato y la permeabilidad de la cubierta de la semilla (Bewley y Black, 1994).

En semillas permeables, el agua puede penetrar a la semilla a través de la cubierta superficial de esta, o de ciertos poros como el hilum, la chalaza y el micrópilo. El sitio de la entrada de agua puede variar entre los individuos de una especie y de su límite de permeabilidad. En semillas con cubiertas impermeables, las condiciones externas gradualmente causan el ablandamiento de ciertas regiones. Esto es más propenso en sitios endebles que permitan la entrada de agua en las semillas impermeables. La entrada de agua a la semilla es más fácil en zonas donde la cubierta es más endeble que el resto (Besnier, 1989; Black *et al.*, 1999).

Las diferentes partes de la semilla pueden pasar a través de estas fases a diferentes velocidades (Bewley y Black, 1994).

2.4.2 Reactivación celular

En la fase II existe un retraso en la entrada de agua cuando el Ψ_c juega un papel significativo y el Ψ de la semilla es en gran parte un balance entre Ψ_π y Ψ_p . Durante esta fase ocurren los mayores eventos metabólicos para dar lugar a la salida de la radícula (Bewley y Black, 1994).

La secuencia de la activación celular a través del embrión varía entre las especies. Se han distinguido varios tipos a través de los órganos del embrión, determinados por la degradación de los cuerpos proteicos:

1. Cuando la degradación comienza en la epidermis y en las células más próximas del tejido vascular;
2. Cuando la degradación comienza en las células de la región central –más alejadas del tejido vascular y de la epidermis;
3. Cuando la degradación no está relacionada con el tejido vascular y puede comenzar en casi cualquier lugar.

La secuencia de la activación puede depender de la forma del embrión (Smith, 1981; Jacobsen, 1984; Werker, 1997).

Gran parte de la actividad metabólica inicial está destinada a la reparación de las membranas de las mitocondrias, el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi. Se inicia la síntesis de proteínas, con una síntesis previa de los distintos tipos de RNA sin que existan estos tipos preformados durante la maduración de las semillas. La síntesis de DNA se realiza con bastante retraso respecto a la del RNA y las proteínas. Una posible causa del retraso en la síntesis del DNA es la necesidad de la síntesis de polimerasas tras la imbibición, la causa principal de este retraso reside en las necesarias reparaciones que ha de sufrir el DNA en la semilla hidratada (Besnier, 1989; Black *et al.*, 1999).

La ruptura de las cubiertas por la radícula provoca la entrada libre de oxígeno, la activación de la respiración y el aumento del aporte de energía; las hormonas y enzimas de reserva se agotan y se sintetizan otras, comenzando entonces la movilización de las sustancias almacenadas en los tejidos de reserva. Existen varios tipos de enzimas con distintas formas de iniciación de su actividad:

- Enzimas que se activan instantáneamente, pero que posteriormente no experimentan aumento de su actividad;

- Enzimas que se activan también instantáneamente, pero su actividad inicial tiene un nivel bajo que, posteriormente, aumenta con mucha rapidez;
- Enzimas con actividad nula en los primeros momentos de la imbibición y cuya acción va luego aumentando; lentamente al principio y luego más rápidamente.

También se activan hormonas, como las giberelinas, las citocininas y auxinas que son agentes primarios desencadenantes de la germinación e intervienen en los procesos fisiológicos que tienen lugar en las semillas. El contenido en giberelinas libres va disminuyendo a medida que la semilla madura, sin embargo, se encuentran en cierta abundancia las giberelinas ligadas en forma de glucósidos y ésteres glucosídicos. Estas formas se transportan en el embrión hidratado por ser hidrosolubles y atravesar fácilmente las membranas celulares; la acción de glucosidasas y estererasas libera las giberelinas originales. Las giberelinas inducen la acción de las enzimas hidrolíticas existentes en las semillas y su nueva síntesis, intervienen en el metabolismo de la glucosa, en la respiración y en la síntesis de nuevas proteínas. Las citocininas promueven la síntesis de proteínas y afectan a los fenómenos de permeabilidad de las membranas celulares, estimulan el alargamiento de la radícula y la expansión de los cotiledones e intervienen en la regulación de los niveles de giberelinas y en la actividad de las enzimas hidrolíticas existentes en los cotiledones (Besnier, 1989; Black et al., 1999).

Las auxinas se encuentran en formas ligadas con glucanos e inositoles, estas 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, lo que facilita la pronta creación de un sistema vascular que permite la translocación de sustancias desde el escutelo hasta el embrión. La respiración se desarrolla en tres etapas en las semillas:

- En la primera etapa existe una rápida absorción de oxígeno;
- En la segunda etapa la cantidad de oxígeno absorbido no aumenta; sin embargo, sigue produciéndose dióxido de carbono como consecuencia de la respiración anaerobia o fermentación.
- En la tercera etapa la radícula rompe la testa, en cuyo momento se produce la entrada libre de oxígeno a la semilla y un rápido aumento de su consumo. Una vez que la radícula ha perforado la testa, el aumento de la disponibilidad de oxígeno conduce a un aumento de la respiración y de la actividad metabólica de

la semilla lo que produce la movilización de las reservas que suministran abundante sustrato para los subsiguientes procesos respiratorios.

Una vez que los mecanismos de respiración y de síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos se han puesto en marcha de modo normal (momento que coincide con la ruptura de la cubierta de la radícula), comienza la segunda fase de la germinación: movilización de reservas y crecimiento de la plántula (Besnier, 1989; Black et al., 1999).

En la fase III, en la cual ocurre la elongación de la radícula, ocurre un incremento de agua por los cambios en las células de la radícula, marcando el término de la germinación.

Una vez ocurrida la elongación y salida de la radícula, se deben considerar los siguientes parámetros para la sobrevivencia de la plántula: las condiciones microclimáticas relacionadas con humedad, temperatura y luz; los factores edáficos ya que son el medio de propagación y aporte de nutrientes minerales y agua y los factores bióticos debido a la interacción con otros organismos. La propagación y el crecimiento controlado de las plantas, les permite una mejor adaptación y una respuesta óptima al medio en el que se desarrollan. El manejo del agua y el control de la humedad son determinantes para cualquier proceso de propagación (Hartmann *et al.*, 1997).

2.5 Hormonas vegetales

Los reguladores del crecimiento u hormonas vegetales como las auxinas, giberelinas, citoquininas y ABA, juegan un papel importante en la regulación del crecimiento y desarrollo (Bewley y Black, 1994). Además de variar su contenido durante las fases de formación de la semilla, latencia y germinación, permiten establecer la comunicación química en las plantas, haciendo una coordinación precisa de las actividades de sus células, tejidos y órganos. Las hormonas vegetales no se sintetizan en estructuras especializadas, pueden formarse en muy diversas células y tejidos. En general, los lugares principales de biosíntesis son los ápices meristemáticos de tallos y raíces, primordios de órganos vegetativos, o reproductores y semillas en desarrollo. La presencia de hormonas en los sistemas conductores no implica una relación directa con una determinada acción fisiológica. De hecho todas las hormonas vegetales pueden ejercer efectos en el lugar en el que fueron sintetizadas. El control hormonal del desarrollo viene dictado por los cambios en la concentración de la hormona en las células “diana”. Sin embargo, para las hormonas

vegetales la respuesta también está modulada por los cambios en la sensibilidad de las células a las hormonas. La mayor o menor sensibilidad se relaciona con el número de receptores, la afinidad de éstos, o los cambios en la cadena de eventos subsiguientes que conducen a un efecto bioquímico o fisiológico. La sensibilidad varía con el genotipo, el tejido, la edad y la fase del desarrollo de la planta, las condiciones ambientales y la presencia o ausencia de otras hormonas. Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, las hormonas vegetales (fitohormonas) pueden ser definidas como un grupo de sustancias orgánicas, sintetizadas por las plantas, que tienen la capacidad de afectar a los procesos fisiológicos en concentraciones mucho más bajas que los nutrientes o las vitaminas (≤ 1 mM, frecuentemente ≤ 1 μ M). El control de la respuesta hormonal se lleva a cabo a través de cambios en la concentración y la sensibilidad de los tejidos a las hormonas. Los factores ambientales también afectan a los niveles hormonales y a la sensibilidad de las células a las hormonas. El mecanismo de acción de una hormona se define como la reacción primaria capaz de iniciar una serie de eventos moleculares. La célula debe estar programada para responder a las señales hormonales (primeros mensajeros) mediante mecanismos específicos. El mecanismo de acción tiene lugar mediante un acoplamiento estímulo-respuesta, que se divide en tres fases: la percepción de la señal (primer mensajero) por parte de la célula; la generación y transmisión de la señal (transducción) y la activación de un cambio bioquímico (respuesta). El conjunto de los tres procesos constituye la cadena de percepción y transducción de la señal o ruta de señalización. Las células vegetales están equipadas con una serie de receptores, de naturaleza proteica, capaces de reconocer las señales hormonales. Los receptores no sólo detectan la señal, sino que actúan como transductores de ésta. La formación del complejo hormona-receptor provoca un cambio conformacional en el receptor que causa su activación (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

2.5.1 Auxinas

Entre 1934 y 1935 dos grupos, el de Kögl, Haagen-Smit y Erxleben y el de K. V. Thimann, obtuvieron una sustancia a la que se denominó «auxina» (del griego: hacer crecer, incrementar) y cuya estructura química resultó ser la del ácido indolil-3-ácetico, comúnmente llamado ácido indolacético o AIA (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

La auxina AIA se forma en los tejidos de la semilla siguiendo la ruta de la biosíntesis del triptófano. El AIA libre se encuentra en grandes cantidades y, además en varias formas ligadas también es abundante. Por ejemplo, en las semillas inmaduras del maíz se encuentra presente como AIA arabinósido, AIA *myo*-inositol y AIA *myo*-inositol arabinósido. Estos compuestos son considerados como los precursores del AIA, en el transcurso de la germinación es liberado enzimáticamente y probablemente transportado al ápice del coleoptilo. En las dicotiledóneas, la auxina primero se encuentra en el endospermo y más tarde es detectada en el embrión, después de que el endospermo ha sido absorbido (Bewley y Black, 1994).

Se consideran auxinas naturales el AIA, el ácido fenilacético, algunos cloroindoles y el ácido indolbutírico. En cuanto a las auxinas sintéticas se encuentran los ácidos indólicos, ácidos naftalénicos, clorofenoxiácidos y derivados de los ácidos benzoico y picolínico (figura 1).

Una auxina debe poseer una estructura con una carga negativa en el carboxilo, separada de otra carga residual positiva por una distancia de 0.55 nm. Esta última carga puede estar localizada sobre un anillo indólico o aromático (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

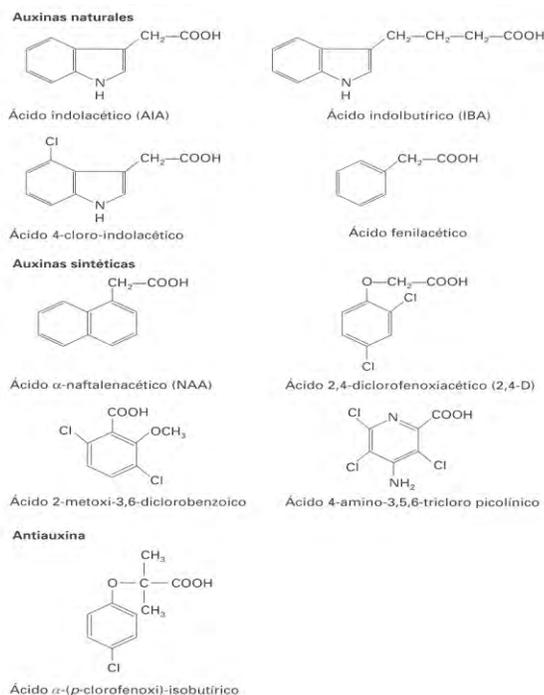


Figura 1. Estructura química de algunas auxinas naturales y sintéticas típicas (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

La intensidad de la respuesta a la auxina depende de la concentración en cada órgano. Ello pone de manifiesto la importancia que para la planta tiene la existencia de mecanismos que regulen eficazmente la concentración de hormona, a fin de mantener en cada momento y lugar la concentración óptima. Existen diferentes procesos que pueden modificar la concentración de auxina como la velocidad de biosíntesis, conjugación, hidrólisis de conjugados y oxidación, así como la intensidad del transporte de llegada (importación) y de salida o exportación (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Al considerar la efectividad de la concentración de auxina hay que tener en cuenta su posible compartimentalización. Por ejemplo, el AIA es un ácido débil, por lo que su disociación es dependiente del pH de los diferentes compartimentos celulares. Cada órgano presenta una sensibilidad diferente a la auxina. Si tenemos en cuenta la concentración de hormona que produce la máxima respuesta, se concluye que las raíces son más sensibles que las yemas, y éstas más sensibles que los tallos (figura 2) (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

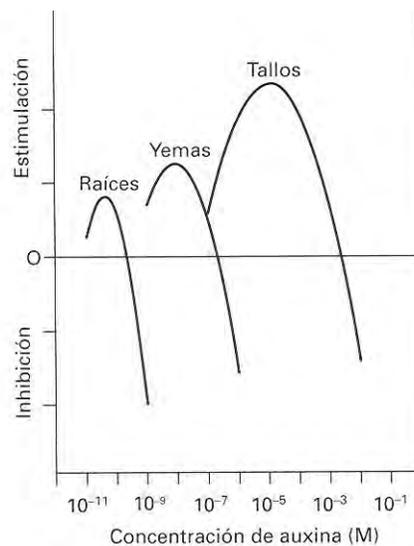


Figura 2. Influencia de la concentración de auxina sobre respuesta de crecimiento (estimulación o inhibición) de raíces, yemas y tallos (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

La sensibilidad de un tejido u órgano puede variar con la edad y las condiciones ambientales. Los factores de los que depende la sensibilidad son muy diversos como la concentración de receptores hormonales, la efectividad de la unión receptor-hormona y la cadena de acontecimientos que sucede después de dicha unión, de la que depende la

respuesta final. Los bioensayos pueden establecer una relación cuantitativa entre la concentración exógena de la hormona aplicada y la magnitud de la respuesta fisiológica (Srivastava, 2002; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Una de las características esenciales de las hormonas es la capacidad para desplazarse desde su lugar de biosíntesis hasta otras partes de la planta, donde ejercen su acción. Todas las hormonas vegetales pueden recorrer distancias cortas por difusión, y llegar a los diferentes órganos a través de los tejidos vasculares. Las auxinas además pueden ser transportadas por un proceso diferente que se denomina transporte polar (Jankiewicz, 2003; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Las principales características del transporte polar son la velocidad de transporte, que es de unos $10 \text{ mm}\cdot\text{h}^{-1}$, unas 100 veces menor que la del floema, pero casi 100 veces mayor que la de difusión, la dirección del transporte, que se produce desde el ápice hacia la base del tallo, con independencia de que el tallo se mantenga en posición normal o invertida y en la raíz la dirección es acrópetala (desde la base hacia el ápice), aunque también existe transporte basípetalo y lateral. La velocidad de transporte depende de las características inherentes a la planta, tales como la especie, el tipo de tejido, la edad y el estado de desarrollo. La intensidad depende, además, de factores como la longitud de las secciones o la concentración de hormona aplicada. En el transporte polar, el movimiento de la auxina desde una célula a la inmediatamente inferior a lo largo de la columna de células transportadoras, se realiza mediante transportadores de entrada o por difusión de la auxina no disociada. La difusión es favorecida por el gradiente de pH existente a ambos lados de la membrana plasmática. La membrana plasmática, permeable a la auxina no disociada, permite la entrada de la molécula que, una vez en el interior de la célula se disocia en auxina e H^+ debido al mayor pH. La membrana es impermeable al anión, que solo puede salir de la célula mediante transportadores específicos. La polaridad del transporte está dada por la distribución asimétrica de estos transportadores de salida que están localizados en la base de las células transportadoras. Fuera de la célula, el bajo pH de la pared permite la transformación de parte de la auxina, que pasa a la célula siguiente por difusión o mediante el transportador de entrada. Como la proporción de auxina en la pared celular depende del pH, los transportadores de entrada aseguran la acumulación de la auxina en el interior de las células transportadoras. El transporte polar de auxinas interviene en procesos como el

crecimiento del tallo, la dominancia apical, la diferenciación vascular, el enraizamiento de esquejes (formación de raíces adventicias), la formación de raíces secundarias y la localización en la yema apical de los primordios foliares (Taiz y Zeiger, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

La auxina estimula algún tipo de comunicación entre la célula y la pared que la envuelve, desde el punto de vista bioquímico, significa la producción de uno o varios «factores de ablandamiento de la pared». Desde el punto de vista biofísico, parece ser que la auxina ejerce su efecto causando un rápido incremento en la extensibilidad celular. La «teoría del crecimiento por acidificación» sostiene que la estimulación del crecimiento producida por la auxina se debería a la excreción de protones hacia el espacio apoplástico, con disminución de su pH y la consiguiente alteración en la estabilidad de los enlaces de la pared. Las auxinas tienen un papel fundamental en la formación de las raíces laterales y adventicias, y son necesarias para las divisiones asimétricas iniciales que dan origen al primordio de raíz lateral. El efecto de esta hormona es mediatizado, en parte, por un factor de transcripción denominado NAC1, que se expresa en el meristemo apical de la raíz y en los primordios de raíces laterales. La auxina induce la expresión del gen NAC1, cuyo promotor tiene los elementos de respuesta a la auxina. El ácido indolbutírico (AIB) se ha encontrado como compuesto endógeno, en forma libre y conjugada. Se forma a partir del AIA con participación de una AIB-sintasa. Se ha comprobado que ejerce su acción pasando por el peroxisoma, donde sufre una β -oxidación que lo transforma en AIA (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

2.6 Giberelinas

Las giberelinas (GAs) son compuestos naturales que actúan como reguladores endógenos del crecimiento y el desarrollo en los vegetales superiores. Las GAs son fitohormonas que afectan, regulan o modulan múltiples y variadas respuestas del crecimiento. Los efectos más evidentes se observan en la estimulación del crecimiento del tallo, en los procesos reproductivos, participan en el control de la inducción de la floración, en el crecimiento y la producción de flores, en el desarrollo y maduración de los frutos y la germinación de las semillas (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

En los estadios tempranos del desarrollo de la semilla, la mayoría de las GAs están activas y comienzan a ser inactivas hacia el final de la maduración de la semilla (Bewley y Black, 1994).

Las GAs constituyen una familia de diterpenos tetracíclicos ácidos, cuya estructura básica está constituida por un anillo de ent-giberelano que puede ser de 20 átomos de carbono (C_{20}) o de 19 átomos de carbono (C_{19}). Las GAs C_{20} (giberelinas inactivas), se metabolizan mediante oxidaciones continuas del C-20 (carbono en la posición 20), que inicialmente existe como grupo metilo (CH_3) y que se transforma sucesivamente en hidroximetilo (CH_2OH), aldehído (CHO) y finalmente en carboxilo ($COOH$). Las GAs C_{20} que portan un grupo aldehído en el C-20, son precursoras de las GAs C_{19} (giberelinas activas) y pierden ese carbono al convertirse en GAs C_{19} . En esta conversión, el grupo carboxílico en la posición 19 se une al C-10 (figura 3) (Taiz y Zeiger, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

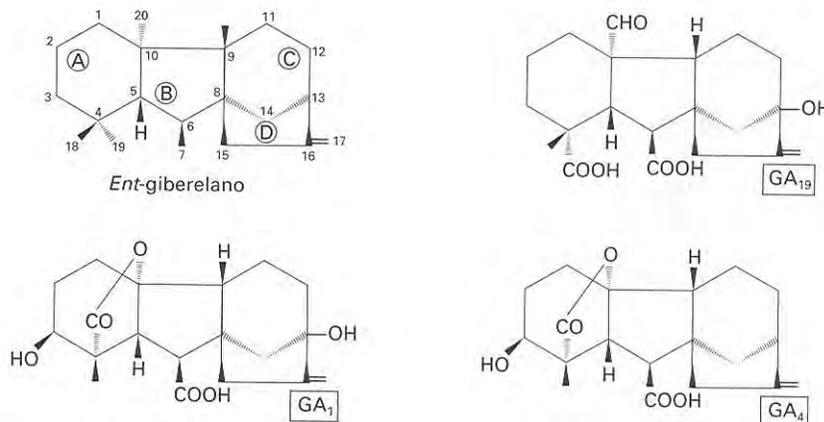


Figura 3. Estructura básica de las giberelinas. Se muestran C_{20} (GA_{19}) y C_{19} (GA_1 y GA_4) comunes en las plantas superiores (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Los niveles de GAs activas se regulan mediante complejos mecanismos de control. Entre los factores internos existe un mecanismo basado en la «retroalimentación» negativa o positiva, inducida por los mismos niveles de GA activa. Si la planta percibe que posee niveles elevados de GAs activas, tiende a reducir los niveles de GAs C_{19} y aumenta los de los precursores C_{20} . Ello implica la existencia de un control homeostático que regula los

niveles de GAs bioactivas mediante la retroalimentación de las enzimas finales de la ruta sintética (Taiz y Zeiger, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

La síntesis de GAs también está afectada por otras hormonas, principalmente por auxinas y brasinosteroides. Mediante experimentos de decapitación del ápice del chícharo se ha demostrado que las auxinas promueven la expresión de las GA 3-oxidasas y la represión de los genes de GA 2-oxidasa. Se ha confirmado la participación de las auxinas con mutantes semienanos deficientes en el transporte de auxinas, que recuperan parcialmente su fenotipo tras la aplicación de GAs C₁₉. Este tipo de interacción entre auxinas y el metabolismo de GAs es general en especies dicotiledóneas y en distintos órganos, tanto reproductivos como vegetativos. Las mutaciones en los genes de la biosíntesis de GAs impiden o dificultan la síntesis de niveles adecuados de GAs activa para inducir el desarrollo del tallo. Las plantas mutantes que presentan estas alteraciones generan tallos con el mismo número de entrenudos que los genotipos salvajes, pero más cortos. Estos mutantes, al ser deficientes en GAs, responden a la aplicación de GAs exógenas con la recuperación del fenotipo normal (Taiz y Zeiger, 2006; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Los factores ambientales, como la temperatura y las condiciones luminosas en que se desarrollan las plantas, modifican profundamente la síntesis de giberelinas. En algunas especies, el efecto del fotoperiodo sobre el contenido de giberelinas también afecta a procesos reproductivos como la floración. Se han presentado numerosas pruebas del papel de las giberelinas en el proceso de germinación. En algunas especies las GAs suplen los requisitos de luz y frío que precisan muchas semillas para germinar. La giberelina comercial es el ácido giberélico o GA₃, que se obtiene por fermentación de los extractos del hongo *Gibberella*. Las GAs se emplean en la producción de uva sin semillas, y en las manzanas para aumentar su tamaño y calidad, mientras que en los cítricos incrementan el cuajado del fruto. También se utilizan para estimular el desarrollo del tallo en la caña de azúcar y en la alcachofa. Los fitoreguladores sintéticos constituyen un grupo de sustancias que, añadidas en cantidades muy pequeñas, modifican las pautas normales de desarrollo de las plantas y pueden ayudar a incrementar la productividad, mejorar la calidad del cultivo y facilitar la recolección. Actualmente se comercializan en diversas formulaciones con

numerosas posibilidades de empleo según las circunstancias agrícolas, los tipos de cultivos y las formas de aplicación que existen (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

2.7 *Chiranthodendron pentadactylon* Larr.

2.7.1 Antecedentes históricos

Existen amplias referencias de la importancia de los Jardines Botánicos en el México prehispánico. Francisco del Paso (1886) citado por Linares y Bye (1993) menciona que los señores Toltecas, legaron sus conocimientos sobre las plantas medicinales a los Mexicanos y compartieron su admiración por las plantas con los Tarascos y Zapotecas. Esos grupos eran amantes de los bosques y las huertas frescas, donde se cultivaban un sin número de plantas, principalmente árboles, para obtener sus flores de aromas deliciosos.

Francisco Hernández, el protomédico del rey Felipe II habiendo oído de la grandeza de esos jardines los visitó para conocer las especies que ahí existían. En su obra hace mención a su estadía en Huaxtepec entre 1570 y 1577, para conocer dos valiosos medicinales: el bálsamo de indias y el macpalxóchitl (*Ch. pentadactylon* Larr.), conocida como flor de manita, por su apariencia. Fue reconocida en 1787 en el cerro de Huitzila, junto a la cabecera municipal de Toluca, por José Mariano Mociño Suárez Lozada, quien formó parte de la expedición científica de Martín de Sessé por toda Nueva España. Los habitantes de Toluca les dijeron su nombre en náhuatl, *macpalxochitl cuahuitl*, y ellos lo tradujeron al griego, llamándolo *Chiranthodendron*. Posteriormente en 1803, Alejandro von Humboldt y Aimé Bonpland conocieron la especie en una excursión de tres días por el valle de Toluca, e intentaron propagarla por semilla en Europa, pero no lo consiguieron. Sin embargo en la actualidad muy pocos de esos jardines han sobrevivido al paso inclemente del tiempo, después de la Conquista muchos de ellos se fueron perdiendo. Un ejemplo que todavía podemos admirar son los corpulentos árboles de flor de manita que se encuentran en las inmediaciones del cerro del Tezcutzingo, en San Miguel Tlaixpan, Edo. Mex. en el caso de esta especie son descendientes de los originales mencionados en las crónicas (Linares y Bye, 1993).

La flor de manita es el símbolo de la Sociedad Botánica de México. En el municipio de Leonardo Bravo, Gro., existe un mosaico importante de bosque mesófilo de montaña, con

alta biodiversidad y compleja estructura, donde se realiza la explotación comercial de la flor de manita. Son colectadas de diciembre a mayo, principalmente por niños y mujeres, para contribuir al ingreso familiar. Su venta tiene como destino el mercado de Sonora, en el Distrito Federal (Martínez, 2008).

Usos

Es una planta utilizada desde la época prehispánica. Los indígenas del Estado de México la utilizaban en infusión para mitigar la inflamación de los ojos y aliviar el dolor de hemorroides (Martínez, 2008).

Se usaba también para la curación de la región púbica en combinación con otras plantas (Linares *et al.*, 1999). Después de la conquista se le atribuyó acción cardiotónica y contra la epilepsia. Las hojas hervidas se usan como cataplasmas (Lara & Márquez, 1996).

Es de gran importancia en la herbolaria indígena, así como de uso ritual (Linares *et al.*, 1999). Se utiliza como planta de sombra y ornato en parques y jardines, por su follaje y por la belleza de sus flores. Ayuda a la retención del suelo y el agua, y sirve como árbol nodriza al permitir que otras especies como el pino ayacahuite y el oyamel germinen fácilmente al proteger con su sombra la humedad del suelo. También se emplea para aliviar el dolor de cabeza y los mareos. Contiene alrededor de 14 compuestos químicos, por lo que se le utiliza en medicina tradicional para tratar úlceras crónicas, inflamación de los ojos, dolor de dientes, hemorroides o para controlar la presión arterial pero, sobre todo, para afecciones del corazón, epilepsia e insomnio: también se usa como tranquilizante del sistema nervioso, para combatir el “vacío emocional” y para “clarificar la conciencia”. En este caso se utiliza en infusión, combinada con el *yoloxóchitl* (*Talauma mexicana*), la magnolia, los tres toronjiles y flor de azahar (Martínez, 2008).

Su uso actual más común es para el tratamiento de enfermedades de los nervios y del corazón, como parte de un compuesto de plantas. Se considera de naturaleza templada o cordial. En el sureste de México se emplea para curar la disentería, hervida en té (Linares *et al.*, 1999).

2.7.2 Características

Ch. pentadactylon Larr. STERCULIACEAE

El nombre genérico; *Chiranthodendron*, es griego e identifica a esta especie con las voces “mano-flor-árbol”. El nombre *pentadactylon*, se refiere a los cinco estambres que tiene la flor en forma de dedos. Su nombre vulgar, *maxpalxochitl*, viene del náhuatl *macpalli* “palma de la mano” y *xochitl*, “flor”: “flor palma de la mano” (Martínez, 2008).

Ch. pentadactylon Larr. es un árbol monoico caducifolio, frondoso, de tronco ancho y copa redondeada de 10 a 15 m de altura, de ramas tomentosas con pelos estrellados, cuyo conjunto presenta un color ferruginoso, sus hojas son simples, alternas, anchamente ovadas, largo pecioladas de 12 a 30 cm de largo, cordadas en la base, tienen de 3 a 7 lóbulos, estipuladas, estrellado-tomentosas abajo y con pecíolo largo, con bordes puntiagudos cara superior glabra y envés veloso ferrugíneo; con flores solitarias de unos 15 cm, angulosas y hermafroditas, sin corola, su cáliz es campanulado, grueso y coriáceo, mide unos 3.5 a 4.5 cm de largo, con cinco lóbulos y protegido por tres brácteas; por fuera es tomentoso y de color café-rojizo y por dentro de un color rojo intenso, no posee pétalos; cinco estambres de color rojo que están unidos en su base formando una columna y que se prolongan hacia fuera, arqueándose, ofreciendo la forma de una mano; el ovario es súpero se oculta en la base de la columna; el fruto es una cápsula leñosa de unos 10 a 15 cm, quinquelocular, revestido de pelos rígidos de color leonado, con cinco valvas, con espinas por dentro; semillas numerosas, pequeñas, negras y brillantes (figura 3A) (Martínez, 2008; Linares *et al.*, 1999; Lara y Márquez, 1996; Argueta, *et al.*, 1994, Linares *et al.*, 1988). Crece en climas cálido, semicálido y templado de 200-2600 msnm. Esta especie forma parte del bosque mesófilo de montaña y el bosque mixto de pino-encino. Se desarrolla en suelos arcilloso-arenoso (Martínez, 2008). Se encuentra en los estados de Oaxaca, Chiapas, Guerrero, Michoacán, Morelos y Estado de México; además se localiza en Centroamérica principalmente en Guatemala (Lara y Márquez 1996; Linares *et al.*, 1988; Argueta *et al.*, 1994; Martínez, 1987).

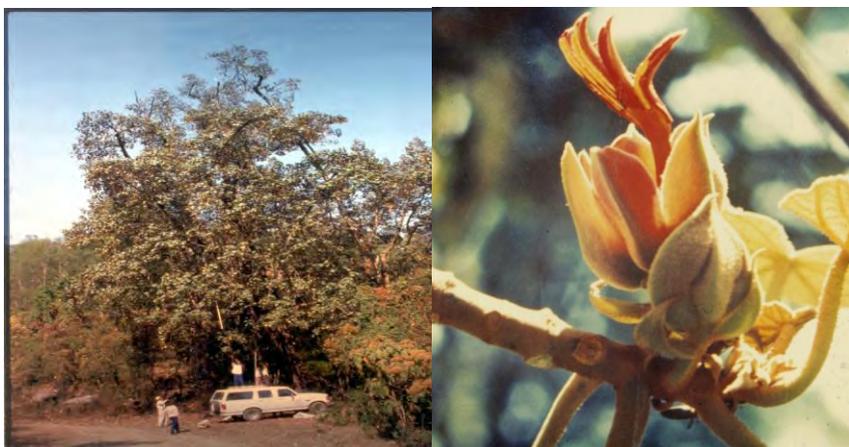


Figura 3A. Árbol y flor de la manita *Ch. pentadactylon* Larr. Carrizal de Bravo, Gro.

Clasificación de la especie (NOM-059-SEMARNAT-2001)

Con fecha 6 de marzo de 2002, se publicó en el Diario Oficial de la Federación la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001 Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo; en dicha norma se determinan las especies de flora y fauna silvestres terrestres y acuáticas en peligro de extinción, amenazadas y las sujetas a protección especial. Dentro de las cuales se encuentra la flor de manita *Ch. pentadactylon* Larr. en la categoría de 2008 como especie amenazada (cuando la especie tenga poblaciones hiperdispersas con una densidad de población de un individuo por cada 5 ha o menor) (SEMARNAT, 2001).

2.7.3 Estudios e investigaciones

2.7.3.1 Estudios fitoquímicos

Sodi-Pallares y Martínez-Garza (1949), aislaron y determinaron la estructura del pigmento de la flor un triglicósido de la apigeninidina llamada trigalogluxi-5, 7, 4-cloro-1-benzopiroxona. Domínguez *et al.*, (1970) obtuvieron extractos de la flor reportando un hidrocarburo $C_{28}H_{58}$, un éster alifático cuyo punto de fusión es de 63 a 65 °C y β -sitosterol del extracto etéreo y un material rojo insoluble, glucosa y sacarosa del extracto etanólico. Domínguez y Gutiérrez (1972) aislaron diferentes compuestos del extracto etéreo octacoseno, docosanol-1, acetato sitosterol y un flavonoide muy insoluble rojo, reportando que el extracto etanólico dió reacción negativa a alcaloides y glicósidos cardiacos.

2.7.3.2 Estudios farmacológicos

Galindo (1982), realizó un estudio farmacológico de varias plantas medicinales que se reportaron para el tratamiento de padecimientos cardiovasculares, entre ellas se encontró a *Ch. pentadactylon* Larr., y concluyó respecto a esta planta que existe un efecto de tipo cardiotónico (aumento del tono vascular), una acción constrictora en músculo liso vascular y en aorta de rata produce un efecto de constricción inmediata debido a un glucósido cardíaco y la concentración de iones de calcio que actúan excitando el proceso de contractilidad cardíaca. Argueta *et al.*, (1994) reportó que un extracto polar de las flores, administrado en ratones a una dosis de $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ por vía intraperitoneal, tuvo efecto anticolinérgico, piloerección, pérdida ligera del tono muscular, catatonía y aumento del diámetro pupilar.

Perusquia *et al.*, (1995) midió el efecto vasoactivo del extracto acuoso de las flores sobre la aorta torácica aislada de rata, precontraída con noradrenalina. Las dosis abarcaron un rango de $0.5\text{-}1.2 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ y la actividad observada fue moderada.

Alanis *et al.*, (2005) reportan la actividad antibacteriana *in vitro* de 56 extractos de 26 especies de plantas probadas en siete especies de bacterias las cuales son causantes de diarrea y disentería en la población mexicana. En dicho estudio se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano de los extractos metanólico y acuoso de las flores de *Ch. pentadactylon*, ambos extractos mostraron actividad contra todos los microorganismos el porcentaje de inhibición fue de 42.9 a 73.3 % para el extracto metanólico y de 38.5 a 76 % para el extracto acuoso. El estudio concluyó que presentan una actividad significativa contra los enteropatógenos y ofrece una alternativa para el tratamiento de infecciones bacterianas.

Velázquez *et al.*, (2006) reportan la actividad de 56 extractos acuoso y metanólico de 26 plantas medicinales usadas en México para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, donde evaluaron su actividad antisecretora usando la toxina del cólera inducida en la secreción intestinal de ratas. El efecto de los extractos fue estudiado en la secreción intestinal indirectamente, analizando la acumulación de fluido en el intestino administrando la toxina del cólera en las ratas. Las dosis de los extractos fueron de $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ y se administraron vía oral. Los extractos acuoso y metanólico de *Ch. pentadactylon*, *Hippocratea excelsa* y *Ocimum basilicum* presentaron la mayor actividad de

inhibición en un rango de 68 a 87.6 %. Ambos extractos de *Ch. pentadactylon* mostraron mejor actividad antisecretora en comparación con la droga usada como control, la loperamida (10 mg/kg).

2.7.3.3 Polinización

Toledo (1975), describe la polinización por aves percheras y discute algunos aspectos en el contexto del estudio de la polinización ornitófila. Estrada (1987), reporta características morfológicas del fruto y semillas, así como resultados obtenidos de pruebas con polinización manual.

2.7.3.4 Estudios de propagación

García y Perales (1990), estudiaron la propagación y pérdida de viabilidad de las semillas, probando el porcentaje de germinación en función del sustrato, la velocidad de germinación y la viabilidad de las semillas en función del tiempo de almacenamiento, concluyendo que la propagación por semilla puede realizarse con relativa facilidad, teniendo en cuenta la rapidez con la que pierden su viabilidad. Osuna (1994) estudió el efecto de la temperatura y luz en la germinación de semillas, concluyendo que las semillas presentaron una latencia impuesta por cubiertas impermeables, ya que al escarificarlas mecánicamente alcanzaron porcentajes de germinación del 50 al 60 %. En semillas no escarificadas la latencia no se rompió con estratificación ni con fluctuaciones de temperatura y encontró que las semillas almacenadas a 5 °C pueden permanecer viables por más de seis meses. En cuanto al efecto de luz menciona que fueron sensibles a la calidad de la misma, al ser inhibida la germinación por el rojo lejano.

2.7.4 Características del sitio de colecta

El ejido de Carrizal de Bravo se ubica a 17° 35' y 17° 37' latitud norte, 99° 49' y 99° 51' longitud oeste, entre los 2500 y 2800 msnm (figura 4) en el municipio de Leonardo Bravo en el estado de Guerrero (figura 5).

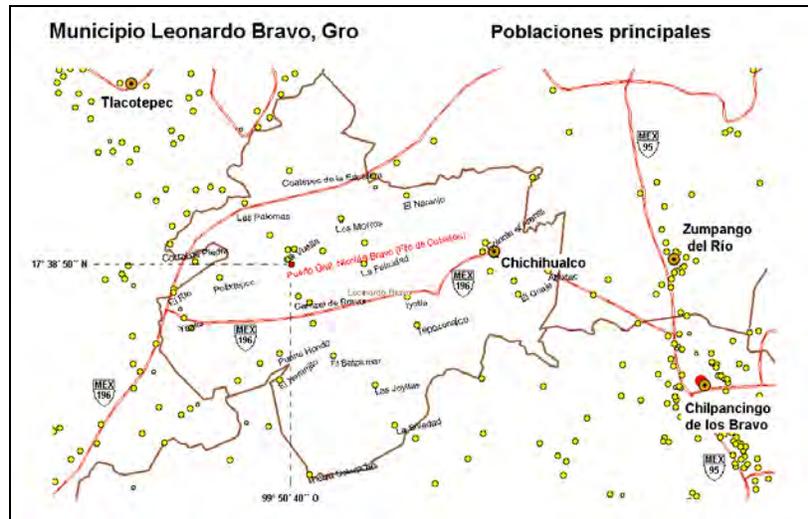


Figura 4. Localización de Carrizal de Bravo, Mpo. Leonardo Bravo, Guerrero.

El tipo de vegetación predominante es el bosque mesófilo de montaña. La fisiografía del área es intrincada, formada de cerros con laderas de pendiente pronunciada y barrancas profundas. La geología presenta afloramientos de rocas ígneas extrusivas metamórficas de Cenozoico superior. Los suelos son de origen volcánico, de más de 50 m de profundidad, de textura franco-arcillosa, color pardo rojizo oscuro. El clima de la región es el más húmedo de los templados-subhúmedos con régimen de lluvias de verano; la precipitación pluvial anual va de 1100 a 1500 mm y la temperatura media anual varía entre 17 y 21 °C (García, 1973). En el poblado Carrizal de Bravo la agricultura, la cría de ganado lechero, la recolección de la flor de manita (*Ch. pentadactylon*) y el aprovechamiento forestal son las actividades humanas que se desarrollan en el área y que tienen impacto importante sobre el bosque (Catalán *et al.*, 2003).

De acuerdo a los resultados del Censo de Población y Vivienda de 2005, el ejido cuenta con un total de 800 habitantes, 378 mujeres y 422 hombres (Enciclopedia de los Municipios de México, 2009).

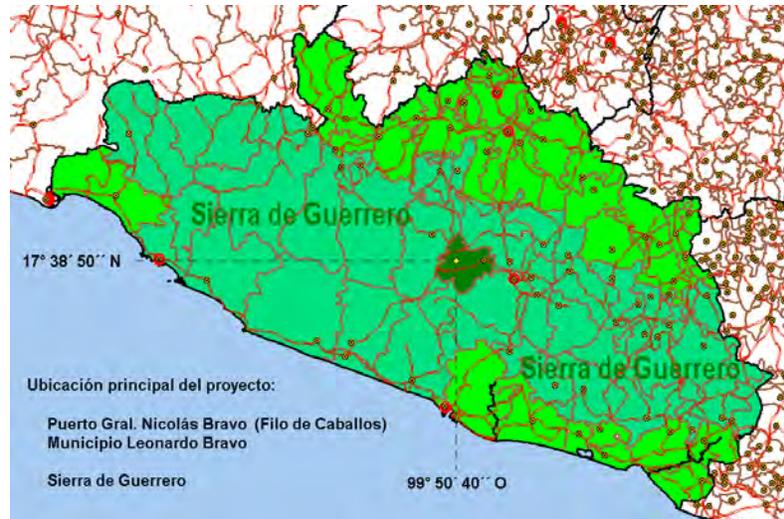


Figura 5. Ubicación del Municipio Leonardo Bravo en la Sierra de Guerrero. Mapa elaborado por Brailovsky S. D.

Se calcula que en 3500 Ha. cada año se juntan alrededor de 100 toneladas de la flor de manita (Chanfón, 2007). Durante la temporada de recolección, que inicia en diciembre y finaliza en mayo, es común ver a niños, mujeres y personas mayores recolectando la flor en los bosques cercanos al poblado de Carrizal de Bravo. En una temporada, un árbol puede producir hasta 50 kg. de flores. Desde edades tempranas, todos los habitantes de Carrizal de Bravo participan en la recolección de flor de manita. La mayoría de la población se dedica parcialmente a esta actividad, gran parte son niños. Diariamente durante los cuatro o seis meses de la época de recolección, las flores se llevan a la bodega de almacenamiento. En dos horas de trabajo, pueden recolectar alrededor de 3 kg.

Aunque el ejido de Carrizal de Bravo se dedica principalmente al aprovechamiento de la madera, cuando hablan de la flor de manita se percibe un gran aprecio por este recurso. La recolección de la flor de manita es una actividad que complementa los ingresos de las familias. Algunas mujeres, en la temporada, se dedican únicamente a coleccionar flores, durante ocho horas al día. Como en pocos lugares de México, los niños de Carrizal de Bravo solventan sus gastos con la venta de la flor, por lo menos durante seis meses del año. En el ejido el precio de la flor se decide en asamblea comunitaria, pero tiene que ajustarse al mercado. La oferta es mucho mayor a la demanda, así que los intermediarios abusan de este hecho pagando precios muy bajos. Para los ejidatarios, las ganancias de la comercialización de la flor de manita son escasas.

El centro de distribución de plantas medicinales más importante en México es el mercado de Sonora, en el Distrito Federal. Por eso, buena parte de la cosecha de flor de manita se transporta de la bodega del ejido hasta este mercado, desde donde se distribuye hacia diversas regiones del país (Chafón, 2007).

Ch. pentadactylon Larr. está considerada como especie amenazada. El proceso de reforestación es de vital importancia para mantener la viabilidad de esta valiosa especie. Es un árbol noble de rápido crecimiento, que ayuda a la retención del suelo y el agua. Además, permite que otras especies, como el ayacahuite y el oyamel, germinen fácilmente, al proteger con su sombra la humedad del suelo. Por esto, la población está muy motivada para continuar cuidando sus árboles, ya que el árbol de flor de manita representa un beneficio ecológico, social y económico, porque protege el suelo, agua, les proporciona sombra, los viste, los alimenta mejor, los divierte, los congrega y los cura (Chanfón, 2007).

III. Objetivo y justificación

3.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de los fitorreguladores: ácido indolbutírico (AIB) y ácido giberélico (GA₃) en el desarrollo y establecimiento de las plántulas de *Ch. pentadactylon*, bajo condiciones controladas de laboratorio.

3.2 Objetivos particulares

- Evaluar el porcentaje de germinación de semillas escarificadas mecánicamente de *Ch. pentadactylon*, en diferentes sustratos.
- Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de ácido indolbutírico en el peso, longitud, raíces y hojas de plántulas de *Ch. pentadactylon*.
- Evaluar el efecto del ácido giberélico (10^{-5M}) en el peso, longitud, raíces y hojas de plántulas de *Ch. pentadactylon* previamente tratadas con ácido indolbutírico.

3.3 Justificación

La flor de manita *Ch. pentadactylon* se encuentra en la categoría de especie amenazada, por lo que se requieren estudios que permitan optimizar las condiciones para una propagación exitosa de esta especie. Los fitoreguladores modulan el desarrollo de las plantas por lo que su aplicación en bioensayos puede ser una alternativa en proyectos enfocados a la propagación de especies amenazadas.

IV. Método

4.1 Sitio de colecta de semillas

Las semillas se colectaron en junio del año 2005 en el ejido Carrizal de Bravo, municipio Leonardo Bravo, Gro. La obtención de las semillas se realizó de forma manual con el apoyo de unas pinzas para su extracción.

Identificación. Herbario IMSSM, número de ejemplar 14843.

4.2 Pruebas de germinación

4.2.1 Escarificación

Las semillas colectadas se almacenaron a temperatura ambiente. Se realizó la escarificación mecánica de las semillas de *Ch. pentadactylon*, a las cuales se les retiró el arilo. La escarificación se realizó en el extremo opuesto al arilo, lijando la semilla sobre una lija Findel C-99, con la finalidad de permitir el proceso de imbibición, y con ello el proceso de germinación, para llevar a cabo los tratamientos correspondientes.

4.2.2 Desinfección

Una vez realizado el proceso de escarificación mecánica de 100 semillas de *Ch. pentadactylon* Larr. se procedió a la desinfección de las mismas con una solución de agua destilada e hipoclorito de sodio (cloro) en una proporción 1:1 durante tres minutos. Enseguida se hicieron tres lavados con agua corriente.

4.2.3 Germinación en cajas de Petri

Se colocaron 10 semillas en cada una de 10 cajas de Petri colocando previamente 5 discos de papel absorbente humedecido con 5 ml de agua destilada. Se mantuvieron durante una semana (7 días) en la estufa de incubación a 25 °C. Posteriormente se evaluó el porcentaje de germinación.

4.2.4 Germinación directa en sustrato suelo y agrolita (1:1)

La agrolita es un mineral de origen volcánico (perlita), sometido a altas temperaturas. Su densidad es de 130-150 kg•m⁻³. Retiene del 40 al 50 % de humedad y tiene un pH de 6.5 a 7.5. Se colocaron 100 semillas dentro de 2 semilleros con una mezcla de suelo y

agrolita en una proporción 1:1 a una profundidad de 1.5 cm, permaneciendo a temperatura ambiente aproximada de 25° C dentro del laboratorio durante siete días. Posteriormente se evaluó el porcentaje de germinación.

4.2.5 Germinación directa en sustrato vermiculita

La vermiculita es un silicato hidratado de magnesio-aluminio-ferro. Es un mineral tipo mica que se expande notablemente cuando es calentado, cuando esto ocurre es muy ligero [90 a 150 kg•m⁻³ (6 a 10 lb•pie⁻³)]. Se le considera un buen buffer (amortiguador) y es insoluble en agua. Llega a absorber grandes cantidades de agua 40 a 54 l•m⁻³ (3 a 4 gal•pie⁻³). La vermiculita tiene gran capacidad de intercambio catiónico y puede retener los nutrientes como reserva que posteriormente son liberados. Su contenido de magnesio y potasio, puede suplir cantidades suficientes de otros fertilizantes. Las finas partículas pueden formar capas con cantidades microscópicas de agua atrapadas entre ellas. Cuando se encuentra a temperaturas cercanas a 1090 °C, el agua se evapora y desaparecen las capas lo cual ocasiona la formación de pequeños poros. Las altas temperaturas le confieren una excelente esterilización (Hartmann, *et al*, 1997).

Se colocaron dentro de 10 cajas de plástico (13.5 x 13 x 5 cm) con vermiculita esterilizada, cada una con 10 semillas, a una profundidad de 1.5 cm. El primer riego se realizó con el fungicida agrícola CAPTAN 50 PLUS, BRAVO al 2 %, los riegos posteriores se realizaron con agua corriente. Se colocaron dentro de una germinadora manteniendo una temperatura controlada de 25 °C. Posteriormente se evaluó el porcentaje de germinación.

Con base en los resultados obtenidos, se seleccionó la siembra directa en sustrato vermiculita (cuadro 1).

4.3 Tratamiento con auxinas

4.3.1 Aplicación de ácido indolbutírico (AIB)

Cuando se obtenían las plántulas del tamaño necesario aproximadamente 5 cm de longitud, con hojas cotiledonarias bien desarrolladas y formadas, se tomó el peso con balanza analítica (Scientech) y la longitud con una regla aritmética. Se preparó una solución de sacarosa al 0.2 %. Con esta solución se prepararon las diferentes soluciones de ácido indolbutírico (IBA, SIGMA[®]) en las concentraciones 10^{-5} M, 10^{-7} M y 10^{-9} M (Larqué-Saavedra y Trejo, 1990). La zona radical se sometió a los diferentes tratamientos de auxina, considerando 50 plántulas por cada concentración.

Se considero como lote control las plántulas tratadas con la solución de sacarosa al 0.2 %. Se colocaron 10 plántulas por recipiente plástico de 150 ml de capacidad como unidad experimental con cinco repeticiones por tratamiento, con perforaciones donde se sostenían las plántulas para mantener exclusivamente sus raíces en la solución correspondiente de auxina (pH 7.0) con aereación durante 90 minutos (figura 6).



Figura 6. Plántulas de *Ch. pentadactylon* en solución de AIB.

4.3.2 Trasplante de plántulas

Finalizada la aplicación de auxina de los cuatro tratamientos, se procedió al trasplante de las plántulas en vermiculita. Permanecieron treinta días en este sustrato, dentro de la germinadora manteniendo una temperatura controlada de 25 °C y fotoperiodo 12/12 horas (figura 7).

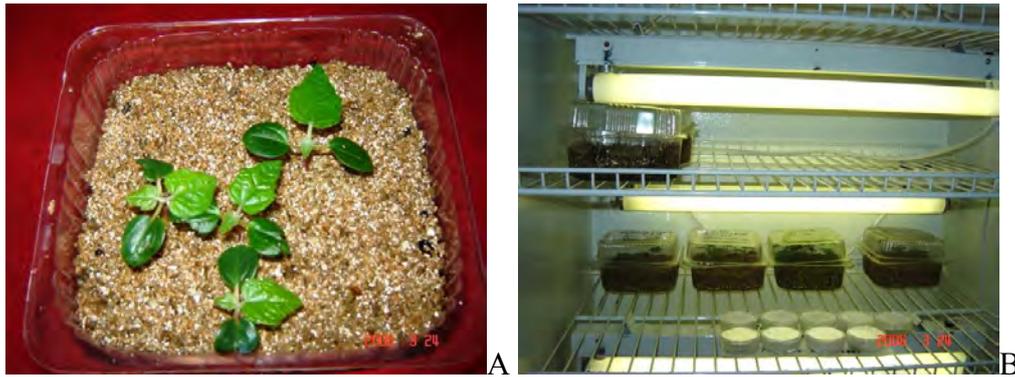


Figura 7. Trasplante a vermiculita (A) y almacenamiento en la germinadora a 25 °C (B) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* Larr.

4.3.3 Evaluación del desarrollo de plántulas tratadas con AIB

Transcurridos treinta días se procedió a hacer una serie de trasplantes cada 15 días, en los que se incrementaba la proporción de suelo de la siguiente manera: vermiculita y suelo 2:1, vermiculita y suelo 1:1 y suelo para cada concentración (AIB 10^{-5} M, AIB 10^{-7} M, AIB 10^{-9} M y control), previamente se evaluaron las siguientes variables: peso (g), longitud aérea (cm), longitud radical (cm), número de hojas y número de raíces (figura 8A).

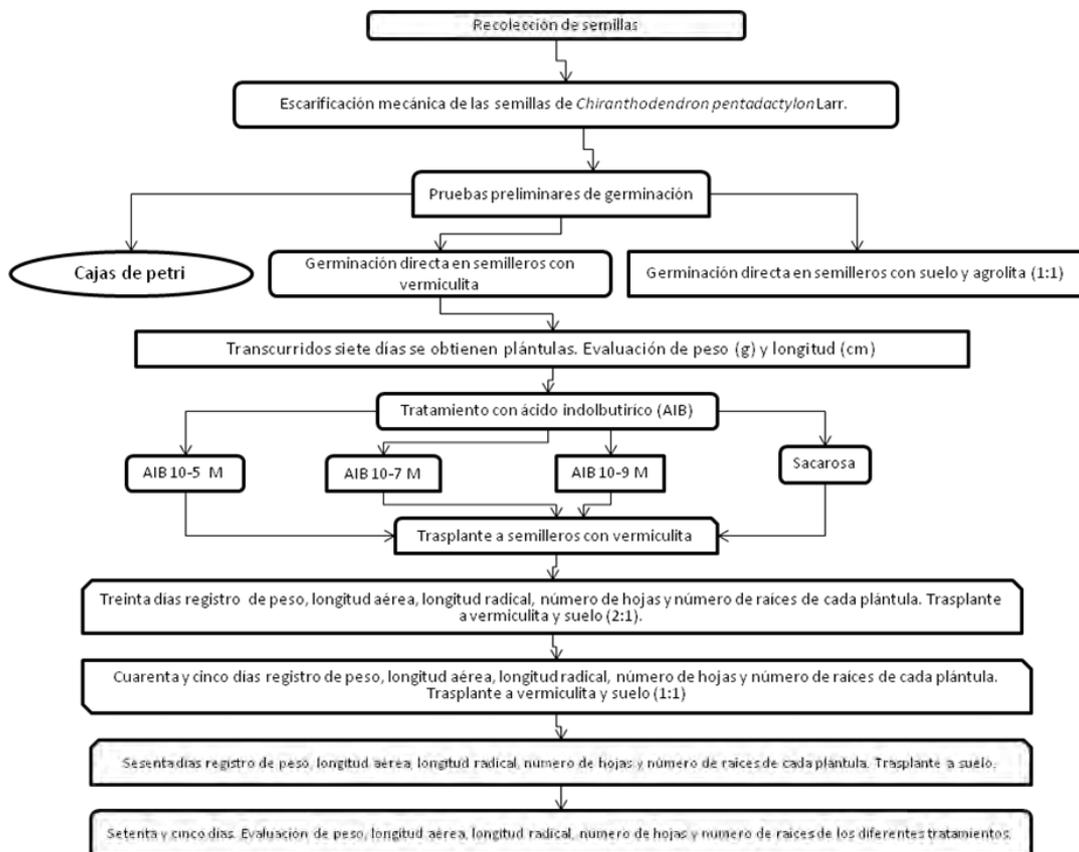


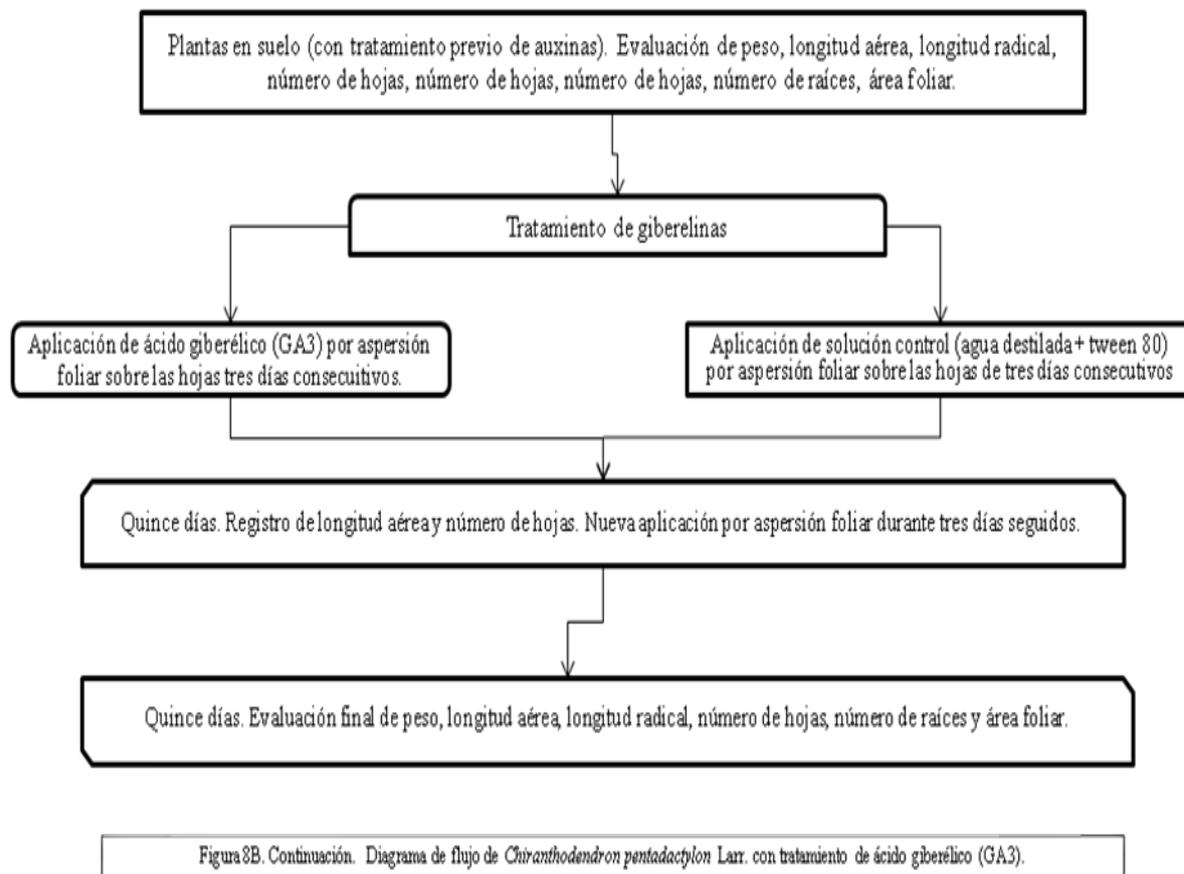
Figura 8A. Diagrama de flujo de *Ch. pentadactylon* Larr. con tratamiento de AIB en diferentes concentraciones.

4.3.4 Tratamiento con ácido giberélico (GA₃ 10⁻⁵M)

Se preparó una solución de ácido giberélico (GA₃, SIGMA) 10⁻⁵M con tween 80 (SIGMA ultra) (Larqué-Saavedra *et al.*, 1990). Asimismo se preparó la solución control con agua destilada y tween 80 (SIGMA ultra).

La mitad de las plántulas obtenidas de los diferentes tratamientos con auxinas, se les aplicó la solución de ácido giberélico y la solución control se le aplicó a la otra mitad de las plántulas. La aplicación se realizó por aspersión directa sobre las hojas de cada una de las plantas, se registró la cantidad de ml gastados por cada una. Dicha aspersión se realizó durante tres días consecutivos para alcanzar una concentración de GA₃ que permitiera hacer más evidente los resultados.

Quince días después se tomaron los valores de longitud aérea y número de hojas para cada una de las plantas y posteriormente se realizó una segunda aspersión sobre las hojas de cada una de las plantas, se tomó el registro de la cantidad de ml gastados por cada planta. Transcurridos quince días, se procedió a realizar la evaluación final del peso (g), longitud aérea (cm), longitud radical (cm), número de hojas, número de raíces y área foliar (cm²) (figura 8B).



4.4 Análisis estadístico

Para obtener el por ciento de germinación se utilizó el programa EXCEL.

Se efectuaron los análisis de varianza ($p \leq 0.05$) utilizando el programa estadístico STATISTICA para cada variable por periodo de evaluación. Se aplicó la prueba de Rango Múltiple Tukey ($p \leq 0.05$) para distinguir los tratamientos que causaban la diferencia.

Con los resultados de las diferentes variables evaluadas de GAs, se obtuvo la matriz de correlación.

V. Resultados y discusión

5.1 Pruebas preliminares de germinación

El mayor porcentaje de germinación se obtuvo con el sustrato vermiculita, por lo que este fue seleccionado para las pruebas posteriores (cuadro 1 y figura 9).

Sustrato	Total de semillas	Porcentaje de germinación (siete días)
Suelo y agrolita(1:1)	100	19 ± 0.49
Cajas de Petri	100	63 ±1.91
Vermiculita	100	94 ±0.41

Cuadro 1. Porcentaje de germinación de las semillas de *Ch. pentadactylon* en los diferentes sustratos.



Figura 9. Porcentaje promedio de germinación de las semillas de *Ch. pentadactylon* en los diferentes sustratos de prueba.

Como ha reportado (Osuna, 1997), la semilla de flor de manita (*Ch. pentadactylon*) presenta una cubierta impermeable por lo que el proceso de escarificación mecánica permite la imbibición de la semilla y su posterior germinación.

Las semillas escarificadas, tuvieron una mayor disponibilidad de agua en la vermiculita (silicato hidratado de magnesio-aluminio-ferro) respecto a la agrolita (mineral de origen volcánico, perlita), lo que favoreció el proceso germinativo, ya que las partículas finas de vermiculita forman capas con cantidades microscópicas de agua atrapadas entre ellas,

provocando una mayor retención de humedad en el sustrato. La diferencia en el potencial hídrico entre la semilla y el sustrato es uno de los factores que determinan la disponibilidad y velocidad del fluido en la semilla. Ya que el flujo del agua se da en la dirección de mayor a menor potencial hídrico, la vermiculita permitió retener una mayor cantidad de agua y por tanto un mayor potencial hídrico (menos negativo) respecto a la semilla, favoreciendo así el proceso de imbibición y posterior germinación de las semillas (Bewley y Black, 1994).

5.2 Auxinas

Resultados de la aplicación con auxinas

Tratamiento		Vermiculita					Vermiculita y suelo (2:1)					Vermiculita y suelo (1:1)					Suelo				
		P	LA	LR	NR	NH	P	LA	LR	NR	NH	P	LA	LR	NR	NH	P	LA	LR	NR	NH
AIB 10 ⁻⁵ M	X	0.5	5.5	5.5	2.4	2.0	0.8	3.9	5.6	8.7	3.8	1.1	4.5	5.2	9.9	4.2	1.5	6.4	6.0	11.1	3.9
	S	0.4	1.9	1.9	1.2	0.0	0.4	1.3	2.4	3.1	1.3	0.4	1.7	2.2	3.2	0.9	0.9	1.9	0.7	2.4	1.4
	ES	0.4	1.6	1.6	1.0	0.0	0.3	1.0	2.0	2.6	1.1	0.3	1.4	1.9	2.7	0.8	0.8	1.7	0.6	2.0	1.2
	CV	85.5	34.9	34.9	51.5	0.0	46.5	32.9	41.7	36.2	35.0	37.7	37.7	42.9	32.8	22.3	62.0	29.7	12.3	21.4	36.4
AIB 10 ⁻⁷ M	X	0.3	4.6	4.6	3.0	2.0	0.7	4.4	5.2	7.3	4.2	0.7	5.3	4.9	8.7	3.5	0.9	5.0	4.4	10.6	3.3
	S	0.3	1.7	1.7	1.9	0.0	0.4	1.0	2.9	3.7	1.2	0.4	1.1	1.7	3.1	1.5	0.5	2.7	2.4	4.1	1.4
	ES	0.2	1.4	1.4	1.6	0.0	0.3	0.8	2.5	3.1	1.0	0.3	0.9	1.4	2.6	1.2	0.4	2.3	2.0	3.6	1.2
	CV	85.9	37.1	37.1	63.9	0.0	53.0	22.3	56.4	51.1	28.8	50.5	21.0	34.4	35.9	41.8	49.5	53.3	54.3	39.0	41.9
AIB 10 ⁻⁹ M	X	0.5	6.0	6.0	2.8	2.0	0.9	4.9	4.9	8.5	4.0	0.7	5.0	5.4	9.6	2.7	1.3	3.3	2.8	10.0	3.5
	S	0.4	1.8	1.8	1.7	0.0	0.4	0.9	1.8	3.3	1.2	0.3	2.2	3.5	4.7	1.2	0.5	3.9	3.3	8.3	0.6
	ES	0.4	1.5	1.5	1.4	0.0	0.4	0.8	1.6	2.9	1.0	0.2	1.9	3.1	4.2	1.0	0.5	3.6	3.1	7.7	0.5
	CV	97.3	30.3	30.3	58.5	0.0	50.8	18.9	37.8	39.4	29.4	38.9	43.0	64.6	48.4	43.1	37.2	117.2	119.3	82.9	16.5
Control	X	0.3	5.5	5.5	1.5	2.0	0.3	4.1	3.9	3.5	3.7	0.8	5.2	4.6	7.2	4.6	1.8	5.1	5.8	9.0	5.6
	S	0.1	1.0	1.0	0.8	0.0	0.2	0.5	1.4	1.2	0.5	0.5	0.9	1.1	2.4	0.9	0.1	1.0	1.3	2.6	1.2
	ES	0.1	0.9	0.9	0.7	0.0	0.2	0.4	1.3	1.1	0.5	0.5	0.8	1.0	2.2	0.8	0.1	0.9	1.2	2.5	1.1
	CV	50.5	18.1	18.1	55.8	0.0	59.0	11.7	36.9	35.0	14.1	71.2	17.8	24.2	33.2	19.4	5.6	19.5	22.8	29.4	20.6

Cuadro 2A. Estadísticas descriptivas por variables de los tratamientos con AIB.

Abreviaturas. (P) peso, (LA) longitud área, (LR) longitud radical, (NR) número de raíces, (NH) número de hojas.
(x) promedio, (S) desviación estándar, (ES) error estándar, (CV) coeficiente de variación.

5.2.1 Peso

Al concluir con los cuatro trasplantes después de setenta y cinco días de iniciados los tratamientos, las plántulas con sacarosa presentaron el mayor peso, sin embargo, a lo largo de los trasplantes, la concentración de AIB 10^{-5} M fue la que presentó mayor peso en las plántulas desarrolladas (Cuadro 2B, figura 10).

Al analizar por separado los diferentes tratamientos en cada trasplante, se encontró que en el primer trasplante (vermiculita) no hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($F= 1.93$, $p\leq 0.05$) (Apéndice, cuadro 1). En el segundo trasplante (vermiculita y suelo 2:1) los tratamientos que provocaron diferencias significativas en el peso de las plántulas fueron 10^{-5} M y 10^{-9} M con respecto al control (sacarosa) ($F= 3.62$, $p\leq 0.05$) (Apéndice, cuadros 2 y 3). En el tercer trasplante (vermiculita y suelo 1:1) las diferencias significativas se dieron entre los tratamientos de 10^{-5} M y 10^{-7} M ($F= 3.41$, $p\leq 0.05$) (Apéndice, cuadros 4 y 5). En el último trasplante (suelo) no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($F= 2.55$, $p\leq 0.05$) (Apéndice, cuadro 6).

Tratamiento	Vermiculita	Vermiculita:suelo 2:1	Vermiculita:suelo 1:1	Suelo
AIB 10^{-5} M	0.50±0.35	0.81±0.31*	1.07±0.34*	1.52±0.82
AIB 10^{-7} M	0.32±0.23	0.68±0.30	0.74±0.31*	0.91±0.39
AIB 10^{-9} M	0.46±0.37	0.86±0.38*	0.68±0.23	1.3±0.45
Sacarosa	0.27±0.12	0.33±0.17	0.76±0.49	1.80±0.09

Cuadro 2B. Peso (g) de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecidos. Cada valor representa el promedio \pm error estándar, * $p\leq 0.05$.

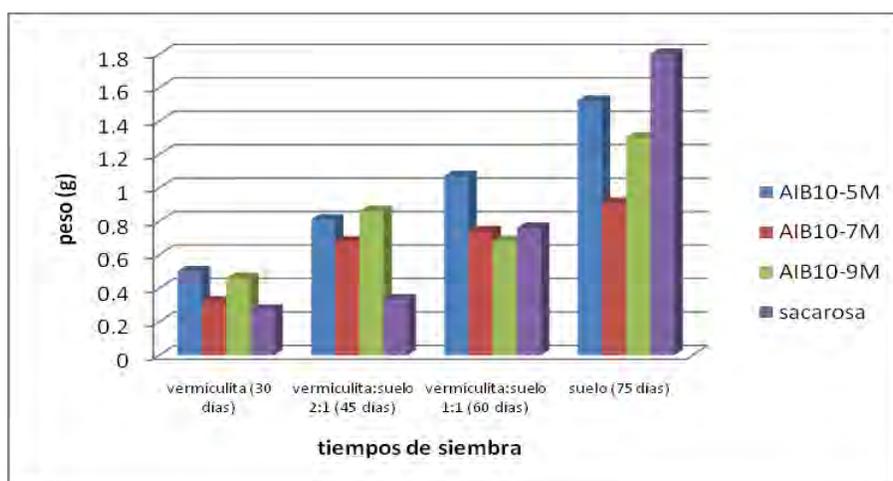


Figura 10. Peso (g) de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecidos.

5.2.2 Longitud área

Al concluir los cuatro trasplantes después de setenta y cinco días de iniciados los tratamientos, las concentraciones de AIB 10^{-5} M y AIB 10^{-7} M fueron las que presentaron mayor longitud aérea en las plántulas desarrolladas (Cuadro 3, figura 11), Sin embargo, el crecimiento fue similar en el tratamiento control con sacarosa.

Al analizar por separado los diferentes tratamientos en cada trasplante, se encontraron diferencias significativas. En el primer trasplante, las diferencias estadísticas significativas se dieron entre los tratamientos de 10^{-7} M y 10^{-9} M ($F=3.47$, $p\leq 0.05$) (Apéndice, cuadros 7 y 8). En el segundo trasplante las diferencias estadísticas significativas se dieron entre los tratamientos de 10^{-5} M y 10^{-9} M ($F= 3.47$, $p\leq 0.05$) (Apéndice, cuadros 9 y 10).

En el tercero y cuarto trasplante no se presentaron diferencias significativas (Apéndice, cuadros 11 y 12).

Tratamiento	Vermiculita	Vermiculita:suelo 2:1	Vermiculita:suelo 1:1	Suelo
AIB 10^{-5} M	5.5±1.6	3.9±1.0*	4.5±1.4	6.4±1.7
AIB 10^{-7} M	4.6±1.4*	4.4±0.8	5.3±0.9	5.0±2.3
AIB 10^{-9} M	6±1.5*	4.9±0.8*	5.0±1.9	3.3±3.6
Sacarosa	5.5±0.9	4.1±0.4	5.2±0.8	5.1±0.9

Cuadro 3. Longitud aérea (cm) de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecidos. Cada valor representa el promedio \pm error estándar, * $p\leq 0.05$.

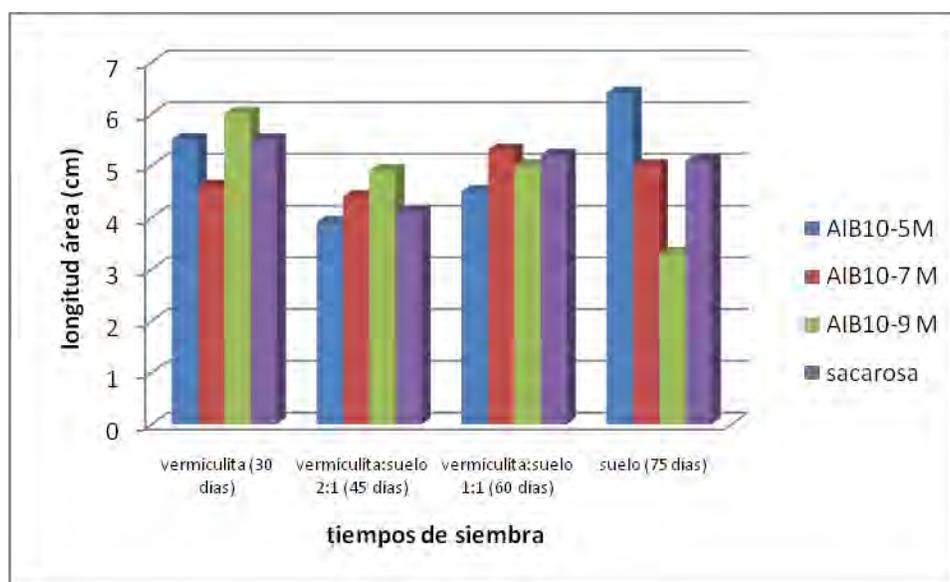


Figura 11. Longitud aérea (cm) de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecidos.

5.2.3 Longitud radical

Como se observa en el cuadro 4, figura 12, en los cuatro trasplantes después de setenta y cinco días de iniciados los tratamientos, la concentración de AIB 10^{-5} M fue la que presentó mayor longitud radical en las plántulas desarrolladas. El análisis de varianza de los diferentes tratamientos en cada trasplante, mostró diferencias estadísticas significativas. En el primer trasplante los tratamientos que provocaron diferencias significativas en la longitud radical de las plántulas fueron 10^{-5} M y 10^{-9} M con respecto a 10^{-7} M ($F= 3.47$, $p\leq 0.05$) (Apéndice, cuadros 13 y 14). En el segundo y tercer trasplante no se encontraron diferencias significativas (Apéndice cuadros 15 y 16). En el cuarto trasplante, las diferencias significativas se dieron entre los tratamientos de 10^{-5} M y 10^{-9} M ($F=3.60$, $p\leq 0.05$) (Apéndice, cuadros 17 y 18).

Tratamiento	Vermiculita	Vermiculita:suelo 2:1	Vermiculita:suelo 1:1	Suelo
AIB 10^{-5} M	5.5±1.6*	5.6±2	5.2±1.9	6±0.6*
AIB 10^{-7} M	4.6±1.4	5.2±2.5	4.9±1.4	4.4±2
AIB 10^{-9} M	6±1.5*	4.9±1.6	5.4±3.1	2.8±3.1*
Sacarosa	5.5±0.9	3.9±1.3	4.6±1.0	5.8±1.2

Cuadro 4. Longitud radical (cm) de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecidos. Cada valor representa el promedio \pm error estándar, * $p\leq 0.05$.

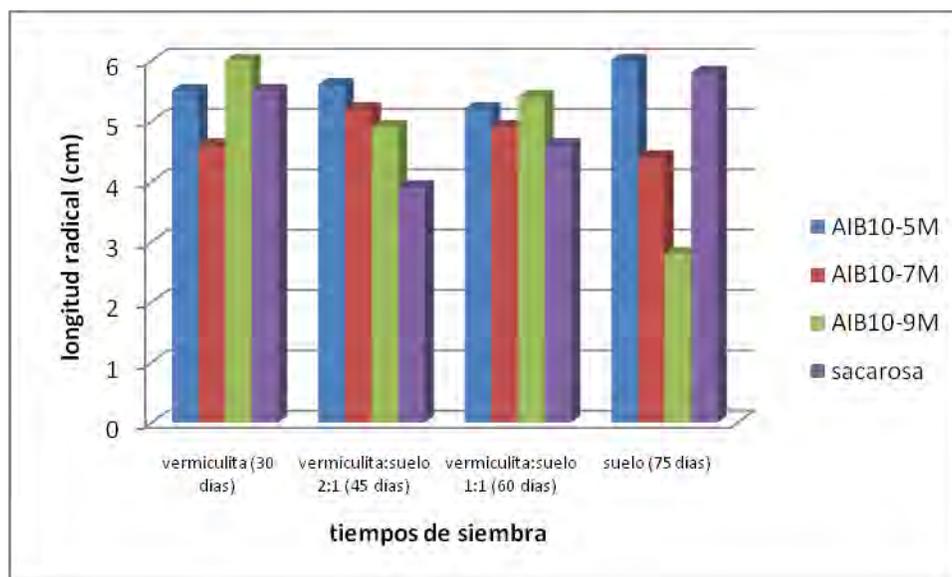


Figura 12. Longitud radical (cm) de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecidos.

5.2.4 Número de raíces

Al concluir los cuatro trasplantes después de setenta y cinco días de iniciados los tratamientos, las concentraciones de AIB 10^{-5} M y 10^{-9} M fueron las que presentaron mayor número de raíces en las plántulas desarrolladas, esto fue evidente en el segundo trasplante donde se encontraron diferencias estadísticas significativas con respecto a la solución control-sacarosa (Cuadro 5), ($F=4.38$, $p\leq 0.05$) (Apéndice, cuadros 20 y 21).

En el primero, tercero y cuarto trasplante no se encontraron diferencias estadísticas significativas (Apéndice, cuadros 19, 22 y 23). Sin embargo, se observó una tendencia de presentar un mayor número de raíces en los tratamientos con auxinas respecto a la solución control-sacarosa (cuadro 5, figura 13).

Tratamiento	Vermiculita	Vermiculita:suelo 2:1	Vermiculita:suelo 1:1	Suelo
AIB 10^{-5} M	2.4±1.0	8.7±2.6*	9.9±2.7	11.1±2.0
AIB 10^{-7} M	3±1.6	7.3±3.1	8.7±2.6	10.6±3.6
AIB 10^{-9} M	2.8±1.4	8.5±2.9*	9.6±4.2	10±7.7
Sacarosa	1.5±0.7	3.5±1.1	7.2±2.2	9±2.5

Cuadro 5. Número de raíces de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecidos. Cada valor representa el promedio \pm error estándar, * $p\leq 0.05$.

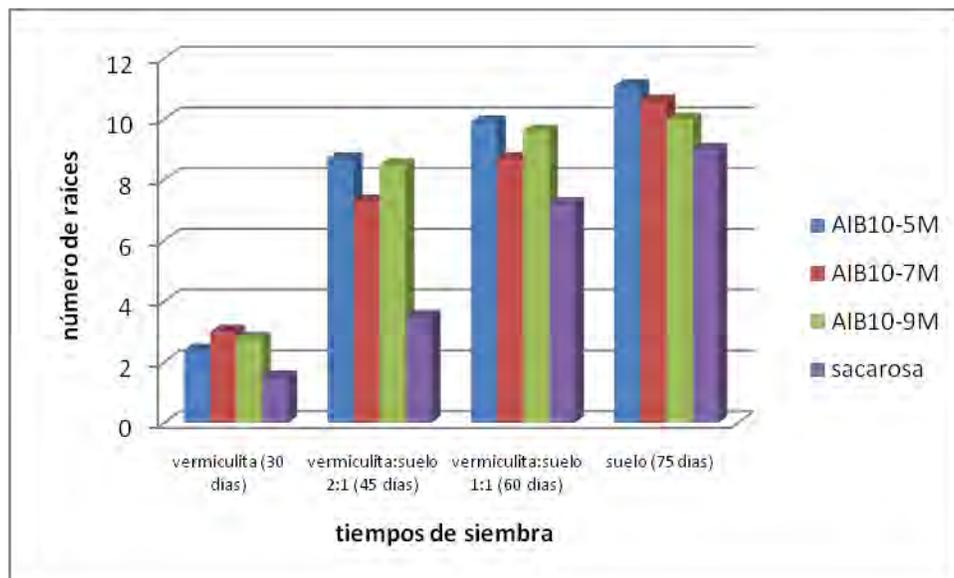


Figura 13. Número de raíces de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecidos.

5.2.5 Número de hojas

El tratamiento control de solución sacarosa, fue el que presentó mayor número de hojas en las plántulas desarrolladas. Las tres concentraciones de AIB: 10^{-5} M, 10^{-7} M y 10^{-9} M presentaron un promedio similar en el número de hojas (Cuadro 6, figura 14). Sin embargo se observó una tendencia a formar un mayor número de hojas conforme la concentración de AIB aumentaba.

Al analizar por separado los diferentes tratamientos en cada trasplante, se encontraron diferencias significativas en el tercer trasplante entre los tratamientos 10^{-5} M y 10^{-9} M ($F=3.87$, $P\leq 0.0137$) (Apéndice, cuadros 25 y 26). En el segundo y cuarto trasplante no se encontraron diferencias significativas (Apéndice, cuadros 24 y 27).

Tratamiento	Vermiculita	Vermiculita:suelo 2:1	Vermiculita:suelo 1:1	Suelo
AIB 10^{-5} M	2±0	3.8±1.1	4.2±0.8*	3.9±1.2
AIB 10^{-7} M	2±0	4.2±1	3.5±1.2	3.3±1.2
AIB 10^{-9} M	2±0	4±1.0	2.7±1.0*	3.5±0.5
Sacarosa	2±0	3.7±0.5	4.6±0.8	5.6±1.0

Cuadro 6. Número de hojas de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecido. Cada valor representa el promedio ± error estándar, * $p\leq 0.05$.

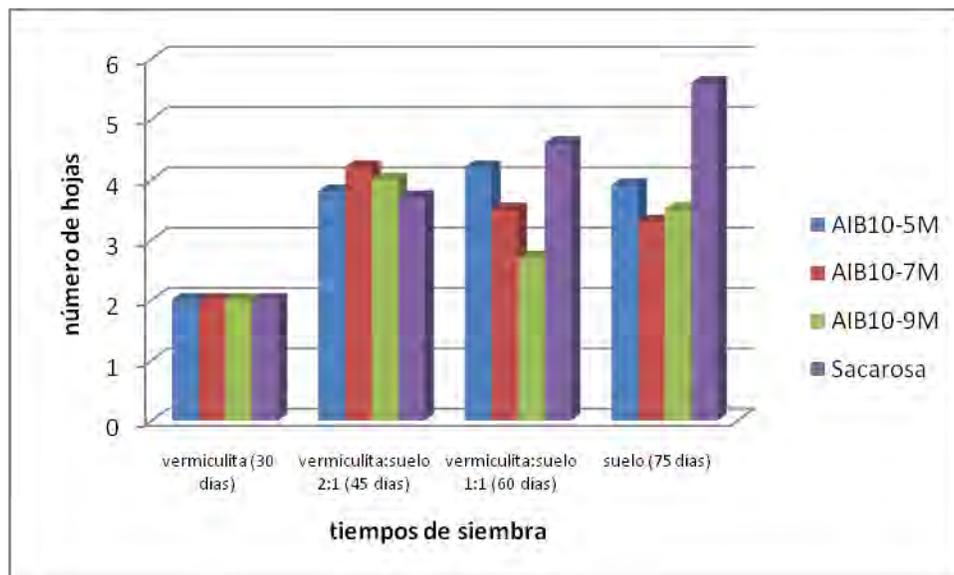


Figura 14. Número de hojas de las plántulas en los diferentes tratamientos con AIB conforme a los tiempos de siembra establecidos.

5.2.6 Establecimiento de plántulas finalizado el tratamiento con AIB.

Como se observa en la figura 15 el establecimiento de plántulas fue mayor en las concentraciones de AIB 10^{-7} M y 10^{-5} M con respecto a 10^{-9} M y control con solución sacarosa.

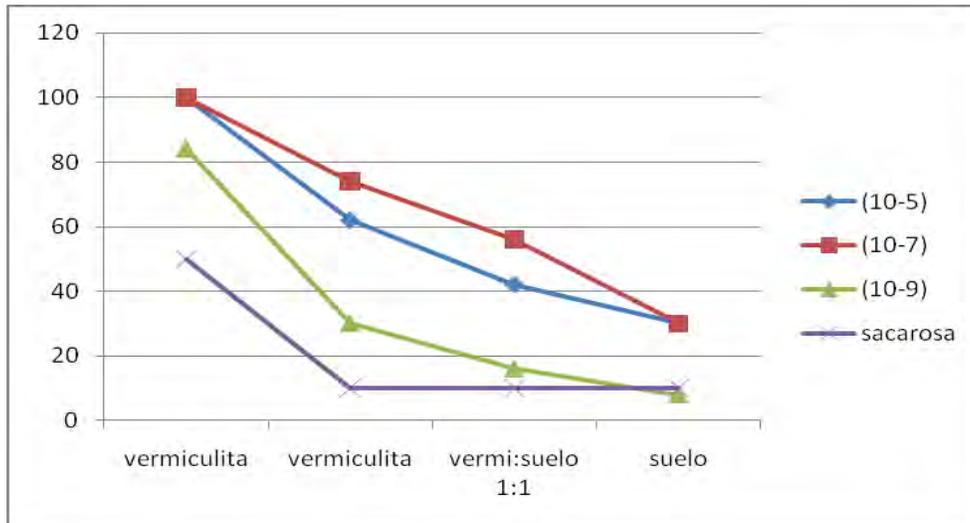


Figura 15. Porcentaje de establecimiento de las plántulas con las diferentes concentraciones de AIB.

5.2.7 Discusión

De los parámetros evaluados: peso, longitud aérea, longitud radical, número de raíces, número de hojas y establecimiento de las plántulas, el AIB afectó principalmente la longitud aérea, longitud radical, el número de raíces y el establecimiento de las plántulas. En estos parámetros la tendencia observada fue que la concentración 10^{-5} M de AIB tuviera el mayor efecto. Sin embargo debido al número de plantas que fueron sobreviviendo por tratamiento, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) por lo que sería necesario incrementar el número de plántulas para poder evidenciar de forma significativa el efecto del AIB 10^{-5} M. En el resto de los parámetros evaluados la aplicación exógena de auxina no tuvo un efecto estadístico significativo respecto al tratamiento control (peso y número de hojas).

La respuesta de las plantas a los fitorreguladores depende principalmente de la etapa de desarrollo de la planta, de la concentración del fitorregulador y de la sensibilidad del tejido al fitorregulador (cadena de transducción de la señal) (Srivastava, 2002). En particular, Azcón-Bieto

y Talón (2008) señalan que existe una relación cuantitativa entre la concentración de auxina aplicada y la magnitud de la respuesta fisiológica.

En las plántulas de flor de manita el peso y la longitud aérea se vieron favorecidos por la concentración más alta de AIB 10^{-5} M. Esto concuerda con lo reportado por Taiz y Zeiger, (2006) donde mencionan la concentración óptima de auxina para la elongación de tallos y coleóptilo es típicamente 10^{-6} M a 10^{-5} M. En otras especies como *Arabidopsis*, la concentración óptima es más baja.

Se menciona que, la estimulación del crecimiento del tallo se acelera elevando la temperatura o bien incrementando la concentración de auxina que le permite penetrar al tejido más rápidamente. Esto se apoya en la teoría del “crecimiento ácido” que indica que un buffer ácido promueve el crecimiento en un periodo corto, debido a la abrasión de la cutícula (presente en algunas especies), permitiendo el acceso de la auxina a la pared celular. Esto es, la auxina acelera la velocidad de expulsión de protones (H^+) lo que incrementa la extensión celular (Taiz y Zeiger, 2006). La acidificación ablanda la pared, permitiendo la expansión de la célula. Como se ha visto en *Arabidopsis*, la bomba de protones AVP1 regula el transporte de la auxina con la acidificación de la pared celular. El control del pH en la pared celular ha sido atribuido a la bomba de protones P-ATPasa en la membrana plasmática; los mutantes de *avp1* muestran una reducción en la actividad de la ATPasa por lo que AVP1 puede actuar como regulador durante el crecimiento y desarrollo de la plántula (Grebe, 2005). En *Ch. pentadactylon* podrían estar ocurriendo estos procesos con la participación de AVP1 que puede aumentar el transporte polar de la auxina en la raíz.

El crecimiento de las raíces es inhibida principalmente por las altas concentraciones de auxina (10^{-6} M) que inducen la biosíntesis de etileno. El etileno puede inhibir la elongación de la raíz en muchas especies (Srivastava, 2002; Taiz y Zeiger, 2006). Sin embargo, la longitud radical en las plántulas de flor de manita, también se vio beneficiada por las concentraciones más altas de AIB (10^{-5} M y 10^{-7} M), posiblemente se deba a la etapa del desarrollo en la que se encontraban las plántulas lo que provocó que la sensibilidad de los tejidos a la concentración de 10^{-5} M favoreciera una mayor respuesta en los parámetros evaluados. Estas concentraciones de AIB 10^{-

10^{-5} M y 10^{-7} M, posiblemente no provocaron una biosíntesis de etileno por lo que se observó una mayor longitud radical, a diferencia de la concentración 10^{-9} M donde la longitud radical disminuyó quizás por efecto del etileno.

Respecto al número de raíces, se encontró un incremento en su número con las diferentes concentraciones de AIB, respecto al tratamiento con la solución control-sacarosa. Aunque no hubo una diferencia evidente entre las concentraciones de AIB probadas (10^{-5} M, 10^{-7} M y 10^{-9} M) se observó una tendencia a formar un mayor número de raíces conforme la concentración aumentaba. Como se ha reportado, aunque la elongación de las raíces primarias es inhibida por concentraciones de auxinas mayores que 10^{-8} M, la formación de las raíces laterales y las raíces adventicias son estimuladas por concentraciones superiores de auxinas (Taiz y Zeiger, 2006). Las raíces adventicias pueden surgir de una variedad de tejidos localizados en grupos de células maduras que se renuevan en la división celular; la división de las células se desarrolla dentro del meristemo apical de la raíz. (De Tullio *et al*, 2010; Taiz y Zeiger, 2006). Las auxinas tienen un papel fundamental en la formación de las raíces laterales y adventicias, y son necesarias para las divisiones asimétricas iniciales que dan origen al primordio de raíz lateral (De Tullio *et al*, 2010; Azcón-Bieto y Talón, 2008; Grebe, 2005). El efecto de esta hormona es mediatizado, en parte, por un factor de transcripción denominado NAC1, que se expresa en el meristemo apical de la raíz y en los primordios de raíces laterales. La auxina induce la expresión del gen NAC1, cuyo promotor tiene los elementos de respuesta a la auxina. El transporte polar de auxinas interviene en procesos como el crecimiento del tallo, la dominancia apical, la diferenciación vascular, el enraizamiento de esquejes (formación de raíces adventicias), la formación de raíces secundarias y la localización en la yema apical de los primordios foliares (Azcón-Bieto y Talón, 2008; Grebe, 2005).

El estimular un mayor desarrollo radical, afectó directamente el establecimiento de las plántulas en el sustrato. Las concentraciones de 10^{-5} M, 10^{-7} M permitieron obtener los mayores porcentajes de establecimiento de las plántulas. La concentración más baja de AIB 10^{-9} M y la solución de sacarosa, provocaron un mayor porcentaje de mortalidad en las plántulas obtenidas. Sin embargo sería necesario evaluar diferentes condiciones para el establecimiento de las plántulas, ya que conforme se aplicaron los tratamientos, el establecimiento de las plántulas

disminuyó hasta valores menores al 40 % de sobrevivencia. Posiblemente el modificar las condiciones de temperatura, luz y humedad, permitan obtener un mayor porcentaje de plántulas establecidas.

5.3 Giberelinas

Resultados de la aplicación con giberelinas

Trat.		Suelo 15 días						Suelo 30 días											
		GA3 (10-5 M)			Control			GA3 (10-5 M)						Control					
		LA	NH	AF	LA	NH	AF	P	LA	LR	NR	NH	AF	P	LA	LR	NR	NH	AF
AIB 10-5 M	X	7.68	2.67	9.97	6.85	2.67	9.62	0.95	9.9	6.9	8.5	4.5	17.78	2.4	7.2	7.75	11.5	4.5	12.27
	S	2.03	2.31	1.16	0.49	2.31	3.36	0.06	3.82	0.14	2.12	0.71	0.42	0.14	0.99	0.49	0.71	0.71	3.25
	ES	1.87	2.23	1.07	0.48	2.23	3.24	0.05	3.69	0.14	2.05	0.68	0.40	0.14	0.96	0.48	0.68	0.68	3.14
	CV	26.42	86.60	11.68	7.23	86.60	34.93	6.08	38.57	2.05	24.96	15.71	2.35	5.89	13.75	6.39	6.15	15.71	26.51
AIB 10-7 M	X	7.36	3	7.22	6.85	3.5	5.37	0.85	10.6	5.65	10.5	3.5	9.575	0.93	6.8	3.9	7	4	16.25
	S	1.75	1.41	4.40	0.90	0.71	3.96	0.49	1.98	1.48	4.95	0.71	5.79	0.06	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	ES	1.62	1.37	4.06	0.84	0.68	3.69	0.46	1.91	1.43	4.78	0.68	5.59	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	CV	23.84	47.14	60.92	13.08	20.20	73.74	58.23	18.68	26.28	47.14	20.20	60.48	6.19	0.15	0.26	0.14	0.25	0.06
AIB 10-9 M	X	7.1	3.5	8.31	7.95	3.5	8.35	1.1	9.8	5.5	7	4	5.53	1.5	10.7	9.4	16	3	5.3
	S	0.42	0.71	6.51	0.78	0.71	6.55	0.14	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.71	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	ES	0.41	0.68	6.28	0.75	0.68	6.33	0.14	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.68	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	CV	5.98	20.20	78.28	9.78	20.20	78.55	12.86	0.10	0.18	0.14	0.25	0.18	47.14	0.09	0.11	0.06	0.33	0.19
control	X	8.6	3.5	12.36	7.55	4.5	13.01	1.39	13.25	6.8	7.5	4	6.71	1.35	8.27	7.73	10.67	1.33	4.12
	S	1.9	0.71	5.42	1.70	0.71	1.97	0.92	1.06	0.28	0.71	0.01	0.25	0.64	1.55	0.57	3.79	2.31	1.83
	ES	1.72	0.68	4.89	1.53	0.68	1.81	0.83	1.02	0.27	0.68	0.01	0.24	0.60	1.47	0.54	3.58	2.19	1.74
	CV	22.09	20.20	43.90	22.47	15.71	15.18	66.20	8.00	4.16	9.43	0.25	3.69	47.43	18.75	7.35	35.49	173.21	44.48

Cuadro 7A. Estadísticas descriptivas por variables de los tratamientos con ácido giberélico.

Abreviaturas. (P) peso, (LA) longitud área, (LR) longitud radical, (NR) número de raíces, (NH) número de hojas, (AF) área foliar. (x) promedio, (S) desviación estándar, (ES) error estándar, (CV) coeficiente de variación.

En los resultados que se obtuvieron con giberelinas, por el al reducido número de plántulas a las que se les aplicó tratamiento, se describen las tendencias observadas.

Evaluación de longitud aérea, número de hojas y área foliar a los quince días de aplicación de GA₃ 10⁻⁵M y solución control (agua destilada + tween 80).

5.3.1 Longitud aérea

En las plántulas provenientes de los cuatro diferentes tratamientos de AIB, después de quince días de aplicación de GA₃ 10⁻⁵ M, la longitud aérea fue mayor en las concentraciones 10⁻⁵ M, 10⁻⁷ M y solución sacarosa. En el tratamiento de 10⁻⁹ M, la longitud aérea fue menor (figura 16).

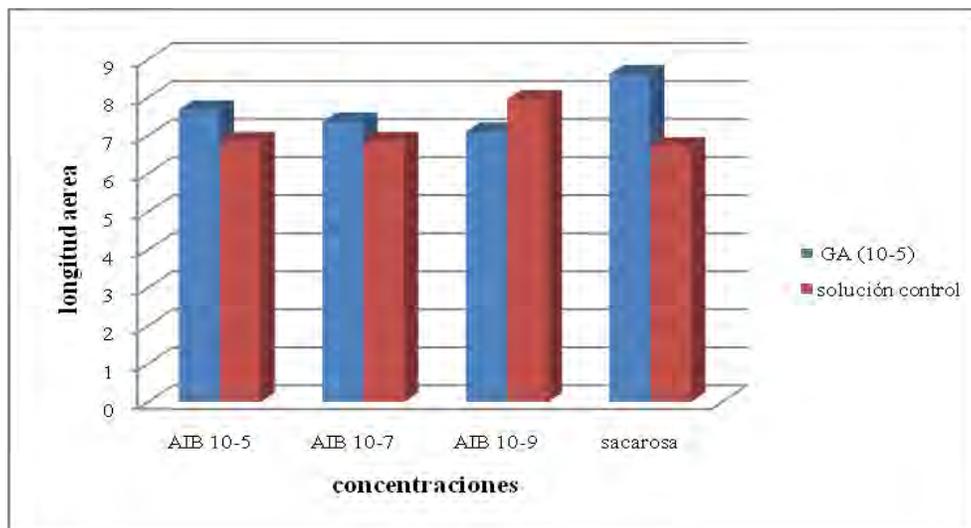


Figura 16. Efecto de la aplicación por 15 días de GA₃ 10⁻⁵M, sobre la longitud aérea (cm) de plántulas con tratamientos previos de AIB.

5.3.2 Número de hojas

Se observó que después de quince días de aplicación del tratamiento con GA₃ 10⁻⁵M en general, no se estimuló la formación de un mayor número de hojas (Figura 17) respecto a la solución control (agua destilada + tween 80).

Sólo las plántulas que provenían de los tratamientos 10⁻⁷M y solución sacarosa mostraron un ligero incremento.

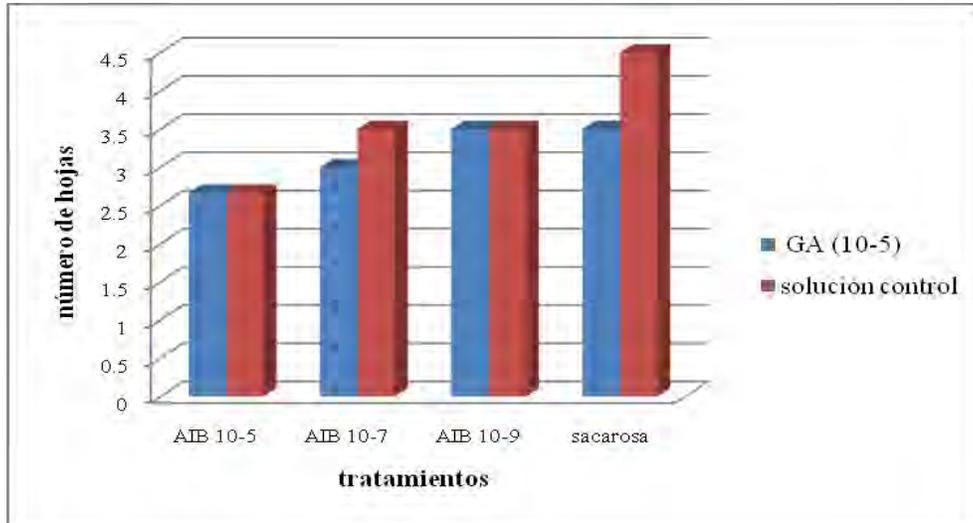


Figura 17. Efecto de la aplicación por 15 días de GA_3 $10^{-5}M$, sobre el número de hojas de plántulas con tratamientos previos de AIB.

5.3.3 Área foliar

En las plántulas expuestas de la concentración $10^{-7}M$, el área foliar fue mayor respecto al tratamiento con solución control (agua destilada + tween 80). Sin embargo la mayor área foliar se obtuvo en el tratamiento de sacarosa (figura 18).

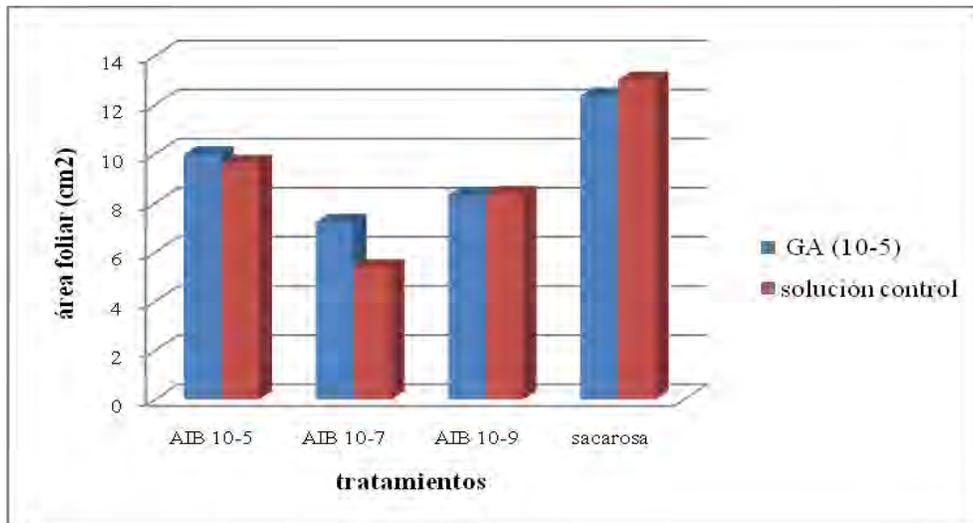


Figura 18. Efecto de la aplicación por 15 días de GA_3 $10^{-5}M$, sobre el área foliar de plántulas con tratamientos previos de AIB.

Evaluación de la plántulas a los 30 días de aplicación de GA₃ (10⁻⁵M) y solución control (agua destilada + tween 80).

5.3.4 Peso

A los 30 días se observó un incremento en el peso de las plántulas tratadas con GA₃ 10⁻⁵M en aquellas que provenían del tratamiento de AIB 10⁻⁷M y solución sacarosa. En las plántulas de las concentraciones AIB 10⁻⁵M y AIB 10⁻⁹M el peso decreció. Sin embargo, no se mostró una marcada diferencia entre los tratamientos GA₃ 10⁻⁵M y solución control (agua destilada + tween 80), ya que las plántulas tratadas con la solución control (agua destilada + tween 80) también presentaron un incremento en el peso (Figura 19).

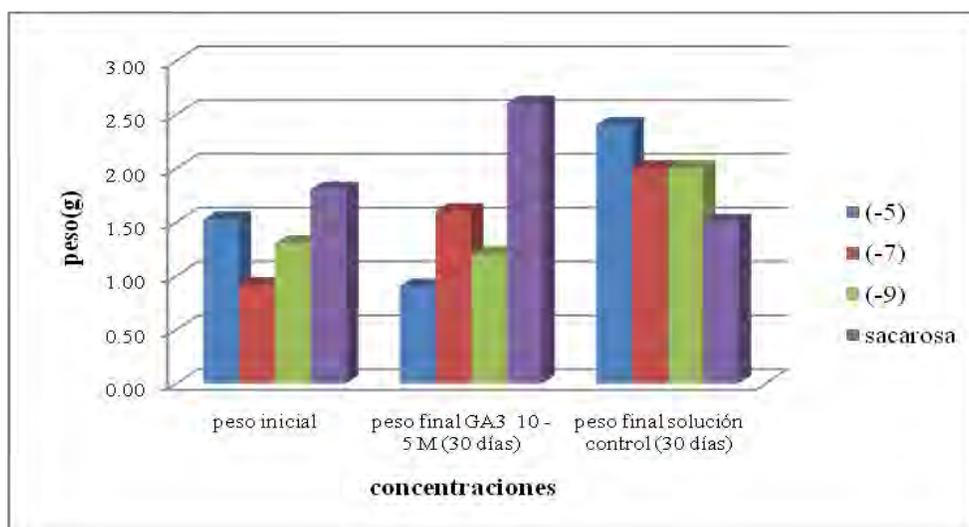


Figura 19. Efecto de la aplicación por 30 días de GA₃ 10⁻⁵M, sobre el peso de plántulas con tratamientos previos de AIB.

5.3.5 Longitud aérea

Al concluir el tratamiento con GA₃ 10⁻⁵M en las cuatro diferentes concentraciones de AIB después de treinta días de iniciados los tratamientos, en las plántulas de las concentraciones AIB 10⁻⁵ M, AIB 10⁻⁷ M y solución sacarosa, la longitud aérea incrementó. En general la longitud aérea siempre fue mayor en las plántulas tratadas con giberelinas respecto a las tratadas con la solución control (agua destilada + tween 80) (figura 20).

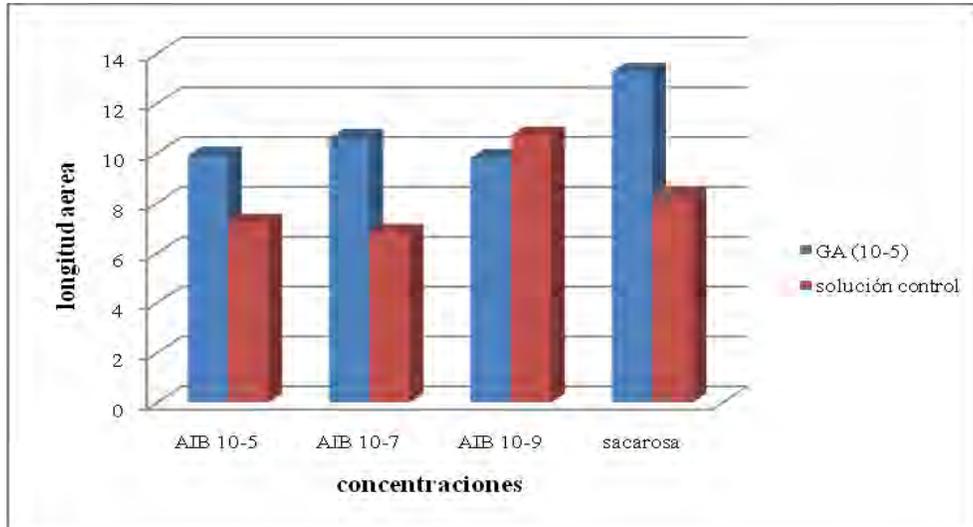


Figura 20. Efecto de la aplicación por 30 días de GA₃ 10⁻⁵M, sobre la longitud área de plántulas con tratamientos previos de AIB.

5.3.6 Longitud radical

A1 al concluir el tratamiento con GA₃ 10⁻⁵M en las cuatro concentraciones de AIB, todas las plántulas presentaron un incremento, principalmente en las plántulas que provenían de la concentración AIB 10⁻⁵M. Sin embargo, el incremento de la longitud radical fue ligeramente mayor en el tratamiento con la solución control (agua destilada + tween 80) respecto al tratamiento GA₃ (10⁻⁵M) (figura 21).

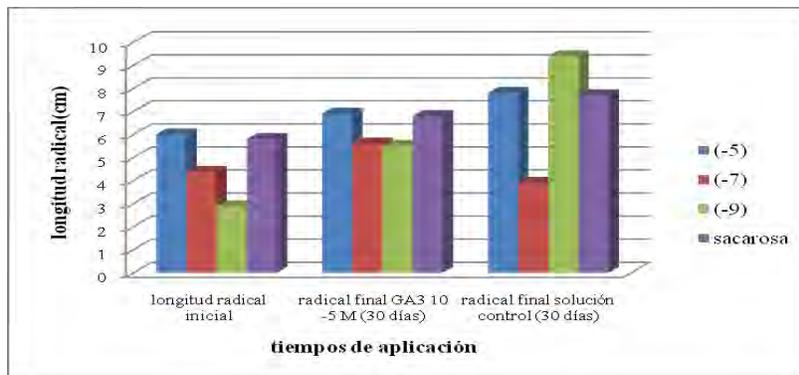


Figura 21. Efecto de la aplicación por 30 días de GA₃ 10⁻⁵M, sobre la longitud radical de plántulas con tratamientos previos de AIB.

5.3.7 Número de raíces

Finalizado el tratamiento de GA_3 $10^{-5}M$ no se observó incremento en el número de raíces. En las plántulas tratadas con solución control (agua destilada + tween 80) se mostró un ligero aumento en las concentraciones provenientes AIB $10^{-5}M$, AIB $10^{-9}M$ y solución sacarosa (figura 22).

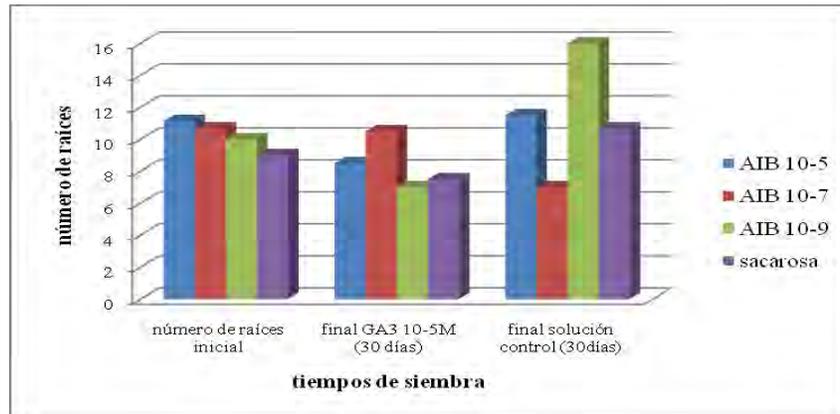


Figura 22. Efecto de la aplicación por 30 días de GA_3 $10^{-5}M$, sobre el número de raíces de plántulas con tratamientos previos de AIB.

5.3.8 Número de hojas

Los tratamientos con GA_3 $10^{-5}M$ que provocaron la formación de un mayor número de hojas en las plántulas provenientes de los tratamientos AIB $10^{-9}M$ de AIB y solución sacarosa. En el caso de las plántulas de la concentración $10^{-7}M$ de AIB la formación de más hojas se presentó en el tratamiento de solución control (agua destilada + tween 80). En las plántulas de $10^{-5}M$ de AIB no se observó diferencia entre tratamientos (figura 23).

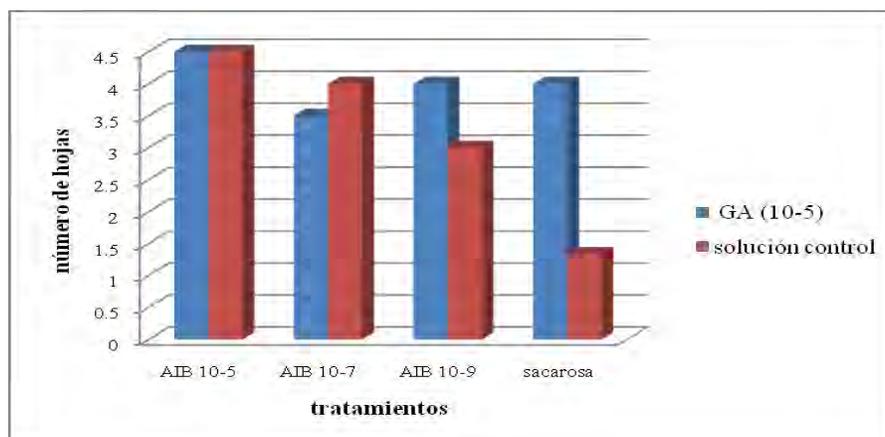


Figura 23. Efecto de la aplicación por 30 días de GA_3 $10^{-5}M$, sobre el número de hojas de plántulas con tratamientos previos de AIB.

5.3.9 Área foliar

Se observó un incremento en el área foliar en las plántulas tratadas con GA_3 $10^{-5}M$ respecto a la solución control en aquellas que provenían de AIB $10^{-5}M$ y solución sacarosa. El tratamiento control (agua destilada + tween80) indujo una mayor área foliar en las plántulas provenientes de AIB $10^{-7}M$ y AIB $10^{-9}M$ (figura 24).

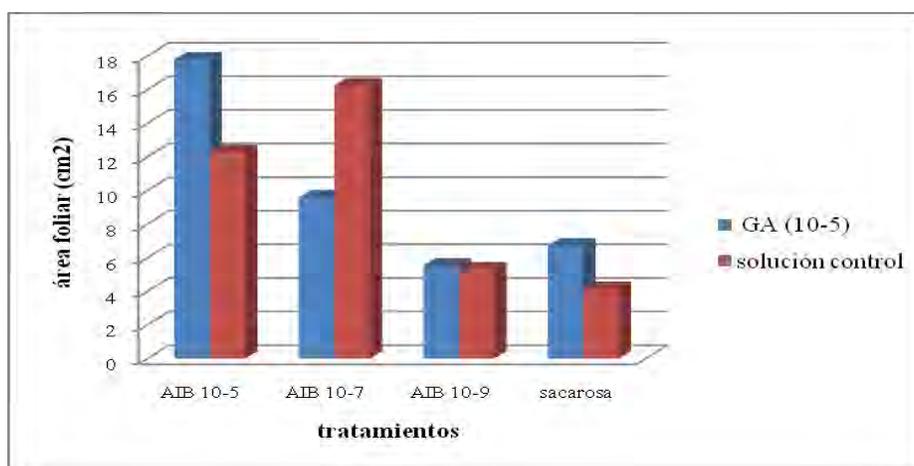


Figura 24. Efecto de la aplicación por 30 días de GA_3 ($10^{-5}M$), sobre el área foliar de plántulas con tratamientos previos de AIB.

Se realizó una matriz de correlación comparando todos los parámetros evaluados (Cuadro 7), donde se encontró una correlación entre el número de hojas y el área foliar. Entre los demás parámetros no se encontró una correlación debido muy probablemente al reducido número de datos con los que se contó al final de los tratamientos. El incrementar el número de plántulas por tratamiento para obtener un mayor número de datos, podría permitir encontrar la correlación entre un mayor número de variables, por ejemplo, que el número de raíces se correlacione con la longitud aérea.

Al existir una correlación entre el área foliar y el número de hojas, se realizó un análisis de regresión (Cuadro 8) el cual mostró que a mayor número de hojas, menor área foliar.

Variables	Longitud aérea final	Área foliar final	Número de hojas	Peso final	Longitud radical final	Número de raíces
Longitud aérea final		-0.12	0.17	0.14	0.09	-0.24
Área foliar final	-0.12		0.58	-0.24	-0.21	-0.28
Número de hojas	0.17	0.58		0.00	-0.16	-0.38
Peso final	0.14	-0.24	0.00		0.02	-0.24
Longitud radical final	0.09	-0.21	-0.16	0.02		0.44
Número de raíces	-0.24	-0.28	-0.38	-0.02	0.44	

Cuadro 7B. Matriz de correlación entre las diferentes variables evaluadas al final del experimento.

Análisis de regresión

Variable dependiente: Área foliar final (inv.)					
Variable independiente: número de hojas					
Parámetro	Estimado	Error	Prueba de T	N.S.	
Intercepción	0.344	0.052	6.59	0.00	
Pendiente	0.055	0.014	-3.97	0.0018	
F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	F.c.	N.S.
Modelo	0.097	1	0.097	15.79	0.0018*
Error	0.073	12	0.006		

Cuadro 8. Análisis de regresión. *significativo ($R^2 = 56.8231$; error estandar = 0.0783).

Discusión

Al aplicar $GA_3 10^{-5}$ M a las plántulas que provenían de los tratamientos de auxina, el efecto de las giberelinas fue más evidente después de treinta días de tratamiento. En la aplicación intermedia de giberelinas (a los quince días), se observó un efecto en la longitud aérea en plántulas que provenían de los tratamientos de $AIB10^{-5}$ M y $AIB 10^{-7}$ M y sacarosa; respecto al área foliar el efecto se presentó en los tratamientos $AIB10^{-5}$ M y $AIB 10^{-7}$ M. En las plántulas tratadas con la concentración más baja de $AIB 10^{-9}$ M + $GA_3 10^{-5}$ M no hubo un incremento en su desarrollo.

A los 30 días de tratamiento con $GA_3 10^{-5}$ M los parámetros que se incrementaron después de la aplicación de giberelinas fueron la longitud aérea, longitud radical, número de hojas y área foliar, pero las respuestas variaron dependiendo de la concentración de AIB de la cual provenían las plantas tratadas. El efecto de GA sobre el crecimiento puede depender de la auxina que induce la acidificación de la pared celular, ya que existe un trabajo conjunto entre estas hormonas. Owino *et al* (2006); Taiz y Zeiger (2006) mencionan que el crecimiento y desarrollo de las plantas es resultado de la acción combinada de las hormonas. Asimismo en el peso no hubo un incremento considerable después de la aplicación de las giberelinas.

De los parámetros evaluados, la respuesta a las giberelinas fue más evidente en la longitud aérea al comparar las plantas tratadas con $GA_3 10^{-5}$ M y solución control (agua destilada + tween 80). Esto coincide con lo reportado en la bibliografía donde se ha visto que las GAs afectan, regulan o modulan múltiples y variadas respuestas del crecimiento (Cho y Kim, 2008). Uno de los efectos más claros se observa en la estimulación del crecimiento del tallo. En diversos bioensayos la aplicación de GA exógena causa la elongación del tallo en plantas enanas (Phinney, 1984; Öpik y Rolfe, 2005; Taiz y Zeiger, 2006). Esto ocurre porque se incrementa la división celular y con ello el número de células provocando la elongación celular (Sauter-Kende, 1992; Taiz y Zeiger, 2006).

Aunque se observó una mayor longitud radical con el tratamiento control, la aplicación de $GA_3 10^{-5}$ M promovió un incremento en las plántulas expuestas previamente a $AIB 10^{-7}$ M. En

bioensayos realizados con las raíces de algunas especies, se observó que las giberelinas también son importantes en el crecimiento de la raíz. Por ejemplo, en las mutantes enanas de *Arabidopsis*, cuando es bloqueada la biosíntesis de GA, se generan raíces cortas, pero al realizar la aplicación exógena en los brotes de la planta ocurre la elongación de estos y la raíz (Yaxley *et al*, 2001; Fu y Harberd, 2003; Taiz y Zeiger, 2006). El número de raíces no se vio afectado por la aplicación de giberelinas, esto era de esperarse ya que como se mencionó anteriormente, el desarrollo radical depende principalmente de las auxinas.

Respecto al número de hojas donde las plántulas de AIB 10^{-9} M y sacarosa presentaron el mayor número, la correlación observada entre el área foliar y el número de hojas, se ajustó a un modelo inverso, es decir, a mayor número de hojas, menor área foliar. Esto puede evitar una mayor tasa transpiratoria. Como se ha reportado la transpiración es afectada por factores de la propia planta como el área foliar, la estructura y exposición foliares y la resistencia estomática, al igual que por factores ambientales. La resistencia estomática depende principalmente del número de estomas así como de su geometría y del grado de abertura, las cuales son controladas por la planta. La interacción entre factores ambientales y endógenos determina la intensidad transpiratoria (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

Los bioensayos realizados pueden establecer una relación cuantitativa entre la concentración exógena de la hormona aplicada y la magnitud de la respuesta fisiológica. En este caso la aplicación de AIB 10^{-5} M y GA₃ 10^{-5} M permitieron obtener las respuestas más favorables en el desarrollo de las plántulas de flor de manita. Los factores de los que depende la sensibilidad son muy diversos, como la concentración de receptores hormonales, la efectividad de la unión receptor-hormona y la cadena de acontecimientos que sucede después de dicha unión, de la que depende la respuesta final.

Se propone con base en los resultados obtenidos, que el procedimiento para obtener un mejor desarrollo de plántulas de *Ch. pentadactylon* es el siguiente:

- Sembrar semillas escarificadas en vermiculita para alcanzar altos porcentajes de germinación.
- Hacer un trasplante de manera consecutiva en vermiculita y suelo hasta llegar a suelo.
- Exponer las raíces de las plántulas a una concentración de AIB 10^{-5} M por 90 minutos para aumentar el número de raíces.
- Ya teniendo la plántula en suelo, realizar una aspersion foliar con GA₃ 10^{-5} M, para la elongación del tallo y el aumento en el área foliar.
- La aplicación de los fitorreguladores AIB y GA₃ puede favorecer el desarrollo de las plántulas de *Ch. pentadactylon* lo cual puede considerarse en programas de reforestación con esta especie, permitiendo una mayor sobrevivencia de las mismas.

VI. Conclusiones

- La utilización de un sustrato con mayor capacidad de retención de agua como la vermiculita, permitió alcanzar los mayores porcentajes de germinación.
- La aplicación de los fitorreguladores: AIB y GA₃ favorecieron el desarrollo de las plántulas de *Ch. pentadactylon*.
- El efecto del AIB fue más evidente en la longitud radical y número de raíces de las plántulas de *Ch. pentadactylon*, con la concentración de 10⁻⁵ M.
- Las concentraciones de AIB 10⁻⁵ M y AIB 10⁻⁷ M promovieron un mayor establecimiento de plántulas; y la concentración de AIB 10⁻⁹ M provocó un menor porcentaje de sobrevivencia de las plántulas de *Ch. pentadactylon*.
- El efecto del GA₃ 10⁻⁵ M fue más evidente en la longitud aérea y área foliar de las plántulas de *Ch. pentadactylon*.

VII. Apéndice

Cuadros de análisis de varianza (ANDEVA), pruebas de Tukey HSD y análisis de rango múltiple.

Apéndice 1. ANDEVA para peso

Cuadro 1. Análisis de varianza del peso (g) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	0.82059	3	0.27353	1.93	0.1294*
Error	15.1793	107	0.141863		

* no significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 2. Análisis de varianza del peso (g) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (2:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	1,5023	3	0.5011	3.62	0.0166*
Error	11.362	82	0.138561		

*significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 3. Análisis de Rango Múltiple de Tukey del peso en los tiempos de siembra establecidos, de las plántulas de *Ch. pentadactylon* desarrolladas en condiciones controladas.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%

Nivel	Conteos	Promedio	Grupos homogéneos
SACAROSA	6	0.333	X
AIB 10-7	35	0.680	XX
AIB 10-5	31	0.811	X
AIB 10-9	14	0.869	X

Cuadro 4. Análisis de varianza del peso (g) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (1:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	1.52812	3	0.509373	3.41	0.0234*
Error	8.66824	58	0.149452		

*significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 5. Análisis de Rango Múltiple de Tukey del peso en los tiempos de siembra establecidos, de las plántulas de *Ch. pentadactylon* desarrolladas en condiciones controladas.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%

Nivel	Conteos	LS Promedio	Grupos homogéneos
AIB 10-9	8	0.687	XX
AIB 10-7	28	0.746	X
SACAROSA	5	0.76	XX
AIB 10-5	21	1.065	X

Cuadro 6. Análisis de varianza del peso (g) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en suelo desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	3.722	3	1.24067	2.55	0.0724*
Error	16.052	33	0.486423		

* no significativo ($p \leq 0.05$)

Apéndice 2. ANDEVA para longitud área

Cuadro 7. Análisis de varianza de la longitud aérea (cm) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
-------------	-------------	-------------	-------------	-----------	--------------

Tratamiento	33.2556	3	11.0852	3.47	0.0187*
Error	341.594	107	3.19247		

*significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 8. Análisis de Rango Múltiple de Tukey de la longitud aérea en los tiempos de siembra establecidos, de las plántulas de *Ch. pentadactylon* desarrolladas en condiciones controladas.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%

Nivel	Conteos	LS Promedio	Grupos homogéneos
AIB 10-7	40	4.615	X
AIB 10-5	39	5.493	X
SACAROSA	6	5.538	XX
AIB 10-9	26	6.0	X

Cuadro 9. Análisis de varianza de la longitud aérea (cm) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (2:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	12.037	3	4.01234	3.47	0.0198*
Error	94.8257	82	1.15641		

*significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 10. Análisis de Rango Múltiple de Tukey de la longitud aérea en los tiempos de siembra establecidos, de las plántulas de *Ch. pentadactylon* desarrolladas en condiciones controladas.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%

Nivel	Conteos	LS Promedio	Grupos homogéneos
AIB 10-5	31	3.895	X
SACAROSA	6	4.133	XX
AIB 10-7	35	4.446	XX
AIB 10-9	14	4.957	X

Cuadro 11. Análisis de varianza de la longitud aérea (cm) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (1:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	7.80522	3	2.60174	1.18	0.3245*
Error	127.652	58	2.2009		

* no significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 12. Análisis de varianza de la longitud aérea (cm) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en suelo desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	36.0665	3	12.0222	2.00	0.1330*
Error	198.255	33	6.00772		

* no significativo ($p \leq 0.05$)

Apéndice 3. ANDEVA para longitud radical

Cuadro 13. Análisis de varianza de la longitud radical (cm) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	33.2556	3	11.0852	3.47	0.0187*
Error	341.594	107	3,19247		

*significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 14. Análisis de Rango Múltiple de Tukey de la longitud radical en los tiempos de siembra establecidos, de las plántulas de *Ch. pentadactylon* desarrolladas en condiciones controladas.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%

Nivel	Conteos	LS Promedio	Grupos homogéneos
--------------	----------------	--------------------	--------------------------

AIB 10-7	40	4.615	X
AIB 10-5	39	5.493	X
SACAROSA	6	5.538	XX
AIB 10-9	26	6.0	X

Cuadro 15. Análisis de varianza de la longitud radical (cm) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (2:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	17.2924	3	5.76414	0.92	0.4362*
Error	515.108	82	6.2818		

*no significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 16. Análisis de varianza de la longitud radical (cm) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (1:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	2.8554	3	0.951799	0.21	0.8901*
Error	264.769	58	4.56498		

*no significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 17. Análisis de varianza de la longitud radical (cm) de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en suelo desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	40.3859	3	13.462	3.60	0.0235*
Error	123.395	33	3.73923		

*significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 18. Análisis de Rango Múltiple de Tukey de la longitud radical en los tiempos de siembra establecidos, de las plántulas de *Ch. pentadactylon* desarrolladas en condiciones controladas.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%			
Nivel	Conteos	LS Promedio	Grupos homogéneos
AIB 10-9	4	2.875	X
AIB 10-7	15	4.366	XX
SACAROSA	3	5.8	XX
AIB 10-5	15	5.98	X

Apéndice 4- ANDEVA para número de raíces.

Cuadro 19. Análisis de varianza del número de raíces de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	15.9006	3	5.3002	2.09	0.1056*
Error	271.09	107	2.53355		

*no significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 20. Análisis de varianza del número de raíces de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (2:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	148.712	3	49.5707	4.38	0.0065*
Error	927.66	82	11.3129		

*significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 21. Análisis de Rango Múltiple de Tukey del número de raíces en los tiempos de siembra establecidos, de las plántulas de *Ch. pentadactylon* desarrolladas en condiciones controladas.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%

Nivel	Conteos	LS Promedio	Grupos homogéneos
SACAROSA	6	3.5	X
AIB 10-7	35	7.342	XX
AIB 10-9	14	8.5	X
AIB 10-5	31	8.677	X

Cuadro 22. Análisis de varianza del número de raíces de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (1:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	40.4752	3	13.4917	1.21	0.3149*
Error	647.735	58	11.1678		

*no significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 23. Análisis de varianza del número de raíces de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en suelo desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	13.3658	3	4.45526	0.27	0.8446*
Error	539.067	33	16.3354		

*no significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 24. Análisis de varianza del número de hojas de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (2:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	2.49006	3	0.830021	0.56	0.6458*
Error	122.498	82	1.49388		

*no significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 25. Análisis de varianza del número de hojas de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en vermiculita y suelo (1:1) desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	17.8972	3	5.96542	3.87	0.0137*
Error	89.4738	58	1.54265		

*significativo ($p \leq 0.05$)

Cuadro 26 Análisis de Rango Múltiple de Tukey del número de hojas en los tiempos de siembra establecidos, de las plántulas de *Ch. pentadactylon* desarrolladas en condiciones controladas.

Método: Intervalos HSD de Tukey al 95%

Nivel	Conteos	LS Promedio	Grupos homogéneos
AIB 10-9	8	2.75	X
AIB 10-7	28	3.535	XX
AIB 10-5	21	4.238	X
SACAROSA	5	4.6	XX

Cuadro 27. Análisis de varianza del número de hojas de las plántulas de *Ch. pentadactylon* en suelo desarrolladas en condiciones controladas.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	Fc	p-val
Tratamiento	14.0775	3	4.69249	2.64	0.0660
Error	58.7333	33	1.7798		

*significativo ($p \leq 0.05$)

VIII. Bibliografía

Abrahamson, W.G. 1975. Reproductive strategies in dewberries. *Ecology* 56: 721-726.

Alanis, A.; Calzada, F.; Cervantes, J.; Torres, J.; Ceballos, G. 2005. Antibacterial properties of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 100, 153-157.

Álvarez, N. y Martínez, J. L. 2004. Algunos procedimientos para asegurar la calidad de los medicamentos herbarios. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de las Plantas Medicinales y Aromáticas* 3(1): 4-7.

Argueta, A.; Cano, L.; Rodarte, M. 1994. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Tomo II. Instituto Nacional Indigenista. México. pp.: 644-645.

Avilés, M. 1993. El Jardín Etnobotánico de Acatzingo. Instituto Nacional de Antropología e Historia de Morelos. En: Secretaría de Salud. Edición conmemorativa. La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. Secretaria de Salud. México, pp.: 85-87.

Azcón-Bieto, J.; Talón, M. 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal Mc Graw-Hill Interamericana 2ª. Ed., Madrid España, 651 p.

Baskin, C. C.; Baskin, J. M. 1998. Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press. San Diego, CA.

Besnier, R. 1989. Semillas. Biología y Tecnología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España pp.: 21-24, 36-37, 121-144, 175-189.

Bewley, J.D.; Black, M. 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. Plenum Press 2a. ed. New York and London. 445 p.

Black, M.; Bradford, K.J.; Vázquez-Ramos, J. 1999. Seed Biology Advances and Applications. CABI Publishing. London, England. 508p.

Catalán, H.; López-Mata, L.; Terrazas, T. 2003. Estructura, composición florística y diversidad de especies leñosas de un bosque mesófilo de montaña de Guerrero, México. *Anales del Instituto de Biología. UNAM, Serie Botánica* 74(2): 209-230.

Chanfón, K. 2007. Flor de manita: Una “manita” para el corazón y los nervios. *CONABIO. Biodiversitas* 74: 13-15.

Cho, E. K.; Kim, M. 2008. A red algal cyclophilin has an effect on development and growth in *Nicotiana tabacum*. *Plant Physiology and Biochemistry* 46(10): 868-874.

Come, D.; Corbineau, F. 1990. Some aspects of metabolic regulation of seed germination and dormancy. In: Heydecker, W. (ed), *Seed Ecology*. Butterworths, London, England pp.: 157-168.

De Tullio, M. C.; Jiang, K.; Feldman, L. J. 2010. Redox regulation of root apical meristem organization: Connecting root development to its environment. *Plant Physiology and Biochemistry* 48 (5): 328-336.

Domínguez, X.A.; Quevedo, J.; Gutiérrez, A. 1970. Estudio químico de la flor de manita (Macpalxochitl) *Chiranthodendron pentadactylon*. *Ciencia, México*. XXVIII (2-3): 87-89.

Domínguez, X.; Gutierrez. 1972. Extractives from de flowers of *Chiranthodendron pentadactylon* Larr. *Phytochemistry* 11(28): 95.

Douglas, D. A. 1981. The balance between vegetative and sexual reproduction of *Mimulus primuloides* (Scrophulariaceae) at different altitudes in California. *Journal of Ecology* 69: 295-310.

Enciclopedia de los municipios de México. 2009. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Guerrero [noviembre, 2009] (<http://www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/guerrero/municipios/12040a.htm>)

Estrada, L. 1987. El fruto de Macpalxochicuahuatl (*Chiranthodendron pentadactylon* Larr.): tamaño, semillas, plagas, polinización manual. Resúmenes del X Congreso Mexicano de Botánica. Soc. Botánica de México. Artículo N° 514.

Estrada, L.E. 1995. Cultivo de plantas medicinales, una urgencia latinoamericana. Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas Medicinales de México. Universidad Autónoma Chapingo. México. pp.: 437-439.

Fenner, M.; Thompson, K. 2005. The ecology of seeds. Cambridge University Press. England, pp.: 1-3.

Fu, X.; Harberd, N. P. 2003. Auxin promotes Arabidopsis root growth by modulating gibberellin response. Nature 421: 740-743.

Galindo, M. 1982. Estudio farmacológico de algunas plantas medicinales reportadas popularmente por la población mexicana para el tratamiento de los padecimientos cardiovasculares. Tesis-Biología. UNAM. México 51 p.

García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Offset Larios, México, D.F.

García, F.; Perales R. 1990. Nota sobre la propagación y pérdida de viabilidad de semillas de *Chiranthodendron pentadactylon*. Bol. Sociedad Botánica de México 50: 157-159.

Grebe, M. 2005. Growth by auxin: When a weed needs acid. Science 310: 60-61.

Harper, J. L. 1977. Population Biology of Plants. London: Academic Press.

Hartmann, H.; Kester, D.; Davies, F.; Geneve, R. 1997. Plant propagation: principles and practices Prentice Hall 6ª. Ed. New Jersey, pp.: 1, 41-45.

Hersch, M. Comercio de la flora medicinal silvestre: implicaciones económicas y ambientales en el sur de Puebla; México. Resúmenes del Simposio Etnobotánica, 1992, Córdoba, España. p. 74.

Hill, Lewis. 2002. La reproducción de las plantas paso a paso. Como producir sus propias flores, hortalizas, frutas, bayas, arbustos, árboles y plantas de interior. Ediciones Omega. Barcelona, España. 171 p.

Jacobsen, J. V. 1984. The seed: germination.- In: Johri, B.M. (ed.), Embriology of Angiosperms. Springer, Berlín, pp. 611-646.

Jankiewicz, S. L. 2003. Reguladores del crecimiento, desarrollo y resistencia en plantas. Volumen I. Propiedades y acción. Universidad Autónoma Chapingo. Ediciones Mundi-Prensa. México-España, 487 p.

Lara, F.; Márquez, C. 1996. Plantas medicinales de México. Composición, usos y actividad biológica. UNAM. México, pp.: 57.

Larqué-Saavedra A. y Trejo L. C. 1990. El agua en las plantas. Ed. Trillas. México.

Linares, M. E.; Flores, P. B.; Bye, R. 1988. Selección de plantas medicinales de México. Limusa. México, 125 p.

Linares, E.; Bye, R. 1993. Los jardines botánicos y las plantas medicinales. En: Secretaría de Salud. Edición conmemorativa. La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. Secretaria de Salud. México, pp.: 75-83.

Linares, E., Bye, R., Flores, B. 1999. Plantas Medicinales de México: usos y remedios tradicionales. Instituto de Biología UNAM- Sistema de Información Geográfica S.A. de C.V. México, pp.: 57.

Lombardi, I.; Nalvarte, W. 2001. Establecimiento y manejo de fuentes semilleras, ensayos de especies y procedencias forestales. Aspectos técnicos y metodológicos.

Escuela Nacional de Ciencias Forestales (ESNACIFOR) Organización Internacional de las Maderas Tropicales (OIMT) México, pp.: 28-32.

Martínez, M. 1987. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas medicinales. Fondo de Cultura Económica. México. pp.: 348.

Martínez, G. 2008. Árboles y áreas verdes urbanas de la Ciudad de México y su zona metropolitana. Fundación Xochitla, A.C. México, pp.: 265-268.

Meckes, M. 1993. Investigación de las plantas medicinales en México. Avances y perspectivas. En: Secretaría de Salud. Edición conmemorativa. La investigación científica de la herbolaria medicinal mexicana. Secretaria de Salud. México, pp.: 69- 78.

Muñoz, L. F. 2002. Plantas medicinales y aromáticas. Estudio, cultivo y procesado. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España pp.: 15-23, 43-44.

Öpik, H. and Rolfe, S. 2005. The Physiology of Flowering Plants. The Edinburgh Building. Cambridge.

Osuna, F. 1994. Efecto de la temperatura y luz, en la germinación de semillas de Flor de manita (*Chiranthodendron pentadactylon*). Primer Congreso Nacional de Plantas Medicinales de México. Tlaxcala, pp.: 114-116.

Osuna, F. R.; Laguna, H. G.; Brechú, F. A.; Orozco S. A. 1997. “Germinación de *Chiranthodendron pentadactylon* Larr. (Sterculiaceae), en respuesta a la escarificación, temperatura y luz”. Boletín de la Sociedad Botánica de México, 60: 5-14.

Osuna, T.; Tapia, P.; Aguilar, C. 2005. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona, España, pp.: 16-18.

Owino, W. O.; Manabe, Y.; Mathooko, F. M.; Inaba, A. 2006. Regulatory mechanisms of ethylene biosynthesis in response to various stimuli during maturation and ripening in fig fruit (*Ficus carica* L.). *Plant Physiology and Biochemistry* 44(5-6): 335-342.

Perusquia, M.; Mendoza, S.; Bye, R.; Linares, E.; Mata, R. 1995. Vasoactive effects of aqueous extracts from five Mexican medicinal plants on isolated rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology* 46: 63-69.

Phinney, B. O. 1984. Gibberellin A1, dwarfism and the control of shoot elongation in higher plants. In: *Biosynthesis and Metabolism of Plant Hormones*. Crozier, A. and Hillman, J. R. (eds.) 23: 17-41. Cambridge U.P. London.

Ronsheim, M. L.; Bever, J. D. 2000. Genetic variation and evolutionary trade-offs for sexual and asexual reproductive modes in *Allium vineale* (Liliaceae). *American Journal of Botany* 83: 633-640.

Sauter, M.; Kende, H. 1992. Gibberellin-induced growth and regulation of the cell division cycle in deepwater rice. *Planta* 188: 362-368.

Smith, D. L. 1981. Cotyledons of the Leguminosae.- In: Polhill, R. M. & Raven, P. H. (eds.), *Advances in Legume Systematics*, Vol. 2, pp 927-940.

Sodi-Pallares, E.; Martínez-Garza, H. 1949. Structure of the pigment of Macpalxochitl. *Archives Biochemistry*. 21: 377-382.

Srivastava, L. M. 2002. *Plant Growth and Development: hormones and environment*. Academic Press. Amsterdam, 772 p.

Taiz, L.; Zeiger, E. 2006. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Fourth Edition, Sunderland, Massachusetts. 764 p.

Toledo, V. 1975. *Chiranthodendron pentadactylon* Larreategui (Sterculiaceae): una especie polinizada por aves percheras. *Sociedad Botánica de México* 35: 59-67.

Velázquez, C.; Calzada, F.; Torres, J.; González, F.; Ceballos, G. 2006. Antisecretory activity of plants used to treat gastrointestinal disorders in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* 103: 66-70.

Werker, E. 1997. *Seed Anatomy*. Gebrüder Borntraeger. Berlín, Alemania. pp.: 324-339

Yaxley, J. R.; Ross, J. J.; Sherriff, L. J.; Reid, J. B. 2001. Gibberellin biosynthesis mutations and root development in pea. *Plant Physiol.* 125: 627-633.