



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

PROPAGACIÓN POR SEMILLA DE ÁRNICA
MEXICANA (*Heterotheca inuloides* Cass.) E HINOJO
(*Foeniculum vulgare* P. Mill.)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

MANUEL MALDONADO VELASCO



DIRECTORA DE TESIS:

DRA. HELIA REYNA OSUNA FERNÁNDEZ

2017

CD.MX.



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.

1. Datos del alumno

Maldonado
Velasco
Manuel
50 39 19 55
Universidad Nacional
Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
309169767

2. Datos del tutor

Dra
Helia Reyna
Osuna
Fernández

3. Datos del sinodal 1

Dr
Sol
Cristians
Niizawa

4. Datos del sinodal 2

M en C
Laura Patricia
Olguín
Santos

5. Datos del sinodal 3

Dra
Eva
Aguirre
Hernández

6. Datos del sinodal 4

M en C
Gabriel Sinué
Fonseca
Salazar

7. Datos del trabajo escrito

Propagación por semilla de Árnica mexicana (*Heterotheca inuloides* Cass.)
e Hinojo (*Foeniculum vulgare* P. Mill.)
108 p.
2017

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi asesora la Dra. Helia Reyna Osuna Fernández por apoyarme en mi formación académica a lo largo de todo el proceso llamado tesis y por siempre estar pendiente de mi trabajo y vida en general.

A los profesores del taller de Investigación en plantas medicinales. El Dr. Ricardo Reyes Chilpa, la M. en C. Lucía Yoscelina Centeno Betanzos, la Dra. Silvia Laura Guzmán Gutiérrez, el M. en C. Armando Gómez Campos y el Dr. Sol Cristians Niizawa que me ayudó como sinodal con correcciones y observaciones a mi tesis.

Al Biólogo Fortunato Pérez Hernández por proporcionarme semillas sin pedir nada a cambio para poder continuar con mi trabajo. A la M. en C. María Eugenia Muñiz Díaz de León por permitirme usar el material del taller de plantas y ser tan atenta. A la M. en C. Laura Patricia Olgún Santos, que además de ser mi sinodal y ayudarme con sus consejos y correcciones sobre mi tesis, me permitió hacer uso de las cámaras de ambientes controlados para incubar mis semillas y a la M. en F. P. Ana Isabel Bieler Antolín por facilitarme la toma y edición de fotografías que se encuentran en este trabajo.

A mis sinodales, además de los ya mencionados. La Dra. Eva Aguirre Hernández y al M. en C. Gabriel Sinué Fonseca Salazar que fue muy puntual y considerado al invertir gran parte de su tiempo en mí.

A todos los amigos que hice durante mi trayectoria en la Facultad de Ciencias. Los Moros, que sin ellos mi trayectoria escolar habría sido más estresante, ya que en cada clase y al armar los horarios me ayudaron como nadie. Mis amigos de Xalapa, que me dieron asilo y alimento cuando era muy tarde y ya no podía regresar a mi hogar. Mis compañeras del taller de investigación en plantas. Esos amigos que conocí algo tarde en la carrera pero que han demostrado ser personas que se quedarán conmigo mucho tiempo y a aquellos con los que compartí inolvidables momentos en prácticas de campo, fiestas y reuniones que si los menciono a todos creo que no acabarían u olvidaría alguno y no me lo perdonaría después. Ellos y ellas saben quiénes son.

A todas las personas que compartieron conmigo algún escenario y ayudaron a aumentar mi experiencia musical. Mi primo Efrén, Héctor y Bonnz de Anémona. Mis amigos punks, Baruch, Jonathan, Tito, Paco, Salem, Emiliano, Boomer, Irene y Alfredo. Al equipo de fútbol "La Quinta" y La Dimensión Q (antes Quesobada), Kameme, Paco, Chemi y Alex. A Diego García y a Edgar Yescas por ser de los amigos más antiguos que tengo y siempre estar presentes cuando los necesito.

Pero sobre todo quiero que agradecer a mi familia. Mi padre Víctor Maldonado y mi madre Claudia Velasco que ha soportado numerosas adversidades con tal de apoyarme y que nunca me falte nada. A mi abuelita Carmen, a mis tíos Miguel y Leticia, mis padrinos Angélica y Enrique. A mi prima Dani que amo con todo mi corazón y mis primos Quike y Diana que viven conmigo. A mis tíos Santos y Blanca y mis primos Keila y Saúl que quiero tanto. Pero especialmente a mi abuelita Graciela, que siempre, sin importar la situación, está conmigo y sin ella no sería lo que soy ahora.

INDICE

1. Resumen	6
2. Introducción.....	8
3. Antecedentes	3
3.1 Plantas medicinales.....	3
3.2 Situación de las plantas medicinales en México	11
3.3 Propagación	13
3.4 Germinación y factores que la afectan	13
3.4.1 Factores externos.....	14
3.4.2 Factores internos.....	16
3.5 La semilla y su almacenamiento	19
3.6 Acondicionamiento o priming	22
3.7 <i>Árnica Heterotheca inuloides</i> Cass.	25
3.7.1 Información taxonómica	25
3.7.2 Descripción botánica	26
3.7.3 Usos medicinales	27
3.7.4 Investigaciones realizadas	27
3.8 Hinojo <i>Foeniculum vulgare</i> P. Mill.	29
3.8.1 Información taxonómica	29
3.8.2 Descripción botánica	30
3.8.3 Usos medicinales	30
3.8.4 Investigaciones realizadas	31
4. Justificación.....	33
5. Hipótesis.....	33
6. Objetivos	33
7. Materiales y métodos	34
7.1 Colecta	34
7.2 Selección del material	34
7.3 Características morfofisiológicas.....	34
7.4 Contenido de humedad	34
7.5 Viabilidad.....	35
7.6 Germinación	36

7.7 Permeabilidad	38
7.8 Almacenamiento.....	38
7.9 Estratificación	39
7.10 Fotoblastismo	40
7.11 Priming	40
7.12 Análisis estadístico	42
8. Resultados y discusión.....	43
8.1 Árnica	43
8.1.1 Semillas recién colectadas	43
8.1.2 Almacenamiento.....	48
8.1.3 Fotoblastismo	55
8.1.4 Priming	57
8.1.5 Recomendaciones a los productores	64
8.2 Hinojo	65
8.2.1 Semillas recién colectadas	65
8.2.2 Almacenamiento.....	69
8.2.3 Estratificación	77
8.2.4 Fotoblastismo	80
8.2.5 Priming	82
8.2.6 Recomendaciones a los productores	90
9. Conclusiones.....	91
10. Literatura citada.....	93
11. Anexos	105

1. RESUMEN

El árnica (*Heterotheca inuloides* Cass.) y el hinojo (*Foeniculum vulgare* P. Mill.) son plantas ampliamente utilizadas en la medicina tradicional mexicana debido a sus propiedades registradas a lo largo de la historia, las cuales han sido comprobadas por numerosos estudios. En años recientes el interés por este tipo de plantas se ha incrementado tanto por recolectores, productores, instituciones y consumidores. Sin embargo, la obtención del recurso por parte de los productores a menudo se ve afectada debido a que la semilla no es almacenada adecuadamente por lo que pierde viabilidad; además su cultivo carece de una estandarización, ocasionando que sea necesario recurrir a la recolección de las plantas en su hábitat natural. La propagación de la semilla es por lo tanto un método para la reproducción de plantas muy eficaz que permite obtener plantas de calidad en el menor tiempo posible y una mejor conservación de semillas viables en condiciones controladas. En este estudio se evaluaron las características morfofisiológicas de semillas recién colectadas de ambas especies (peso, tamaño, contenido de humedad y viabilidad), su permeabilidad y la respuesta al almacenamiento de semillas a tres temperaturas diferentes (-20 °C, 7 °C y temperatura ambiente: 26 °C) por 3, 6, 9 y 12 meses durante los cuales se realizaron pruebas de viabilidad (con tetrazolio), germinación y contenido de humedad para determinar condiciones adecuadas de almacenamiento. Para la semilla de hinojo se evaluó su respuesta al almacenamiento en frío (estratificación) por 3 y 6 meses. También se determinó la respuesta fotoblástica de las semillas de ambas especies en cuatro condiciones lumínicas (luz blanca, luz roja, luz roja lejana y oscuridad) y se les aplicó acondicionamiento o priming osmótico, térmico y hormonal (auxinas y giberelinas) para evaluar su respuesta germinativa.

Las semillas de ambas especies se caracterizaron como ortodoxas y permeables, por lo que no se recomienda su escarificación. En cuanto a la semilla de *H. inuloides*: se determinó que el peso de mil semillas fue de 0.8972 g, con un contenido de humedad de $3.6 \pm 0.87\%$ y que su viabilidad fue cercana al 100%. Las semillas germinaron mejor en agar que en papel absorbente. Se presentaron diferencias significativas entre los tiempos y temperaturas de almacenamiento y el contenido de humedad promedio se mantuvo en general por debajo del 5%. No obstante, en todas las condiciones de almacenamiento evaluadas se mantuvo un contenido de humedad adecuado para poder almacenar las semillas durante al menos 12 meses, sin embargo, se observó una disminución a los 9 meses de almacenamiento a temperatura de -20 °C. Se recomienda a los productores

almacenar las semillas de árnica en el refrigerador (7 °C) en lugar de mantenerla a temperatura ambiente. Se encontraron diferencias significativas en cuanto a los tratamientos de fotoblastismo pero las semillas germinaron en todas las condiciones, por lo que se considera fotoblástica indiferente y en cuanto a tratamientos de priming, los mejores resultados de capacidad y velocidad de germinación se obtuvieron con el acondicionamiento osmótico (-3atm y -6atm), termoprimering a temperatura ambiente (26 °C) y el hormoprimering con giberelinas (GA50 y GA100).

En cuanto a la semilla de *F. vulgare*: se determinó que el peso de mil semillas fue de 3.63 g, con un contenido de humedad de $4.7 \pm 0.31\%$ y que la máxima viabilidad obtenida fue de la colecta de San Gregorio Atlapulco, Xochimilco con $63 \pm 0.53\%$ de viabilidad. Las semillas germinaron mejor en papel absorbente que en agar. El contenido de humedad se mantuvo por debajo del 5% y se presentaron diferencias significativas entre temperaturas de almacenamiento; no obstante, en el tiempo de 6 meses se observó un ligero aumento en el contenido de humedad de las semillas. En cuanto a la viabilidad después del almacenamiento se encontraron diferencias significativas entre tratamientos de temperatura y tiempo de almacenamiento y las semillas recién colectadas presentaron el mayor porcentaje de viabilidad. La germinación de las semillas recién colectadas fue similar a la de 3 y 6 meses; la de 9 y 12 meses fue significativamente menor. La respuesta germinativa difirió del porcentaje de viabilidad registrado después del almacenamiento a los 9 y 12 meses, tal vez la semilla presente un tipo de latencia que impide que germine en su totalidad a pesar de ser viable. Se recomienda almacenar las semillas en frío (7 °C) o a temperatura ambiente. La estratificación no favoreció a la conservación de semillas de hinojo durante 3 y 6 meses ya que hubo pérdida de viabilidad al término de estos periodos de almacenamiento. Se observó una respuesta similar en todas las condiciones lumínicas, sin embargo, la semilla de hinojo es indiferente a la calidad de luz pero sensible a su cantidad. Los tratamientos de priming que arrojaron mejores resultados fueron el hidropimering, termoprimering a temperatura ambiente y el hormoprimering con giberelinas (GA50 y GA100). De la misma manera que con *H. inuloides*, el tratar las semillas con giberelinas fue un tratamiento muy efectivo para eliminar la latencia y mejorar la velocidad de germinación en estas especies.

2. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido utilizadas por los seres humanos a través de los tiempos como fuente de alimentos, de productos cosméticos y medicamentos. También son el fundamento de algunos sistemas médicos tradicionales muy elaborados, con miles de años de existencia en diferentes países de mundo. Estos sistemas tradicionales de medicina desempeñan actualmente un papel esencial en la atención médica, hasta el punto de que la OMS (Organización Mundial de la Salud) estima que el 80% de los habitantes del mundo en la actualidad confía principalmente en la medicina tradicional para resolver problemas básicos de salud (Pamplona, 2006).

En México alrededor de 5000 especies de plantas con flores (aproximadamente 1.5% de la flora total) tienen atributos medicinales, es decir que más o menos una de cada siete especies posee alguna propiedad curativa. Sin embargo, se estima que la validación química, farmacológica y biomédica de los principios activos que contienen se ha llevado a cabo solo en el 5% de estas especies (Ocegueda *et al.*, 2005)

En México como en otros países, llamados del Tercer Mundo, las plantas medicinales son un componente básico y un recurso de bajo costo para la población (Torres, 1999). Sin embargo, el deterioro de las comunidades vegetales pone en riesgo la desaparición de este recurso, así como del conocimiento que de ellas manejan sólo personas mayores que resguardan este saber, el cual se ha transmitido oralmente de padres a hijos y que se puede llegar a perder por factores de transculturación (Barquín y Zamora-Martínez, 1991). Por estos factores que amenazan las especies de interés médico y la gran importancia que éstas tienen a lo largo de la historia y dentro de las comunidades, se promueve el uso de alternativas para su mejor producción, como lo es la propagación.

La propagación de plantas es tan antiguo como la civilización: desde el principio, los agricultores y jardineros han observado las diferentes formas de propagación que se dan en la naturaleza y las han adaptado con el fin de incrementar sus cultivos (Toogood, 1999).

La mayoría de las plantas, y en concreto las utilizadas por el hombre como plantas cultivadas, utilizan semillas para reproducirse. Por medio de éstas se ha logrado aprovechar un gran número de plantas, como fuente de alimento, para la propagación de especies maderables y así usarlas para construcción, de ornato o por sus propiedades medicinales. No obstante, en muchas ocasiones, las semillas, tras su maduración y dispersión, no son capaces de germinar, ya sea porque son latentes o bien porque las condiciones

ambientales no les son favorables. En este caso, las semillas comienzan a deteriorarse lo que se manifiesta por la progresiva pérdida de su capacidad de germinar (viabilidad) y de dar lugar a plántulas sanas y vigorosas. El tiempo que tardan las semillas en perder su viabilidad es variable y depende de factores tanto externos (temperatura ambiental), como internos (contenido de humedad y genotipo, entre otros.) (Pérez y Pita, 2001).

Dada la importancia de estos aspectos en el ámbito de la fisiología y tecnología de semillas, se procura desarrollar diferentes protocolos para evaluar la viabilidad y vigor de las semillas, así como lograr condiciones de almacenamiento que aseguren una mayor longevidad.

El árnica mexicana (*Heterotheca inuloides* Cass.) y el hinojo (*Foeniculum vulgare* P. Mill.) son especies de gran interés medicinal en el ámbito nacional debido a sus diferentes propiedades que han sido registradas a lo largo de la historia.

H. inuloides (Asteraceae) es una planta endémica mexicana que tiene un amplio uso medicinal, frecuentemente es cultivada en huertos familiares y su cosecha se realiza en época de floración.

F. vulgare (Apiaceae), es una planta originaria de la región sur meridional de Europa pero debido a su amplia utilización y cultivo la podemos encontrar creciendo en comunidades silvestres en Asia, Norte América y toda Europa. Es una hierba con un olor característico anisado. En el país se encuentra distribuida ampliamente en forma de maleza y es utilizada principalmente en la medicina tradicional por su acción digestiva y carminativa, también lo recomiendan contra la diarrea, malestares estomacales y hepáticos, cólicos, afecciones de las vías urinarias y para favorecer la secreción láctea.

El estudio de la germinación y almacenamiento de las semillas de ambas especies permitirá introducirlas al cultivo y evaluar la posibilidad de mantenerlas almacenadas para en un futuro contar con cultivos estandarizados y optimizar la producción del recurso.

3. ANTECEDENTES

3.1. Plantas medicinales

Las plantas tienen un papel importante en la vida de cualquier organismo animal ya que condicionan su estado de salud mediante dos clases de componentes químicos, denominados metabolitos primarios y metabolitos secundarios. Los metabolitos primarios son sustancias que no ejercen una actividad farmacológica directa sobre las funciones del organismo animal, pero le son imprescindibles para mantener su vida. Los vegetales que los elaboran y que constituyen la base nutritiva directa de los animales herbívoros, e indirecta, a través de éstos, de los carnívoros, reciben el nombre de plantas alimenticias. Sin embargo, las plantas medicinales son aquellos vegetales que elaboran productos llamados metabolitos secundarios, que son sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial sobre un organismo vivo. Su utilidad primordial, a veces específica, es servir como droga o medicamento que alivie la enfermedad o restablezca la salud perdida; es decir, que tienden a disminuir o neutralizar el desequilibrio orgánico que es la enfermedad. Constituyen aproximadamente la séptima parte de las especies existentes (Muñoz, 2002).

Todas las culturas han adquirido conocimiento de las plantas o de los órganos vegetales usados en medicina. Los más antiguos documentos escritos, con aproximadamente 6000 años de antigüedad, incluyen descripciones de plantas utilizadas como medicinales en esa época. En un principio este conocimiento era un derecho del brujo de la tribu e inclusive se llegaron a establecer ritos y creencias relativos a la recolección. Se creía que existían personas con capacidades superiores para reconocer las plantas medicinales, las venenosas o ambas (Fonnegra y Jiménez, 2007).

El uso de las plantas con fines curativos, como se ha visto, se remonta al principio de la historia de la humanidad. El hombre recurría a la naturaleza en busca de su alimento y de su salud. Por medio de aciertos y errores aprendió a conocer las plantas que lo curaban; este conocimiento se transmitió de generación en generación y fue incrementándose con la experiencia (Hernández y Gally, 1981).

El aprovechamiento de las plantas sin duda comenzó con la continua experimentación de materiales vegetales diversos y con observación de otros animales, que de acuerdo a sus características únicas ofrecían agradables aromas, sabores en los alimentos, alivio del dolor

y cura de enfermedades. Hasta el siglo XIX, las plantas y algunos productos de origen animal y mineral fueron los únicos medicamentos empleados por el hombre en los países occidentales, y siguen siendo hoy en día la única fuente terapéutica utilizada en numerosas zonas del mundo (Heywood, 1999).

En los últimos años, el interés por las hierbas aromáticas y medicinales se ha incrementado en los recolectores, productores, industrias transformadoras, instituciones públicas y/o privadas y consumidores. Lo anterior obedece a las características aromáticas, terapéuticas y de conservación que tienen estas plantas, así como a su uso en productos de nutrición, fitoterapia, aromaterapia, entre otras aplicaciones. Es importante destacar que los principales sectores industriales que utilizan hierbas aromáticas y medicinales son en orden de importancia: el medicinal o herbolario, el alimentario y el perfumero-cosmético (Heywood, 1999).

3.2. Situación de las plantas medicinales en México

En el país, las plantas medicinales constituyen uno de los principales recursos terapéuticos tanto en el medio rural como suburbano, donde los servicios de atención médica son escasos, acentuándose en las poblaciones más alejadas de las cabeceras municipales y de los centros urbanos (Osuna *et al.*, 2005).

En México las cualidades especiales de las plantas como remedio para combatir todo tipo de enfermedades se remonta a tiempos prehispánicos. Se han identificado hasta 5,000 especies que tienen aplicaciones curativas, las cuales son comúnmente utilizadas por más de 60 grupos étnicos (González-Stuart y Rivera, 2009). La herbolaria medicinal prehispánica dio cabida a la formación de un orgullo nacional, dado por el conocimiento botánico que los curanderos mexicanos mostraron tener, de esto han sido prueba innumerables obras como la de Francisco del Paso y Troncoso, Fray Bernardino de Sahagún y Francisco Hernández (Olivas, 1999).

En el ámbito nacional, la comercialización de plantas medicinales y aromáticas endémicas funciona por tradición en mercados locales y pueden ser de gran importancia económica en el ámbito internacional por la amplia gama de principios activos. Se estima que en el “Mercado Sonora” de la Ciudad de México, se venden diariamente 10 toneladas de plantas curativas y 116 toneladas a nivel nacional (Muñeton, 2009). En lo que se refiere a la recolección de plantas aromáticas y medicinales, se ha documentado que más del 85 % de las especies que se comercializan en los mercados locales y tiendas naturistas provienen

de la recolección silvestre, que no cuentan con programas de manejo y carecen de control por parte de dependencias gubernamentales como la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Otra de las características del mercado nacional de las plantas medicinales y sus derivados es que el 75 % de ellas provienen de comunidades indígenas y rurales de la región centro-sur de la República Mexicana (González-Stuart y Rivera, 2009).

A la fecha, estados como Morelos, Baja California Sur, Baja California, Estado de México, Nayarit, Oaxaca, Puebla y Tlaxcala, son los principales productores de hierbas aromáticas de exportación que cumplen con los protocolos de Buenas Prácticas Agrícolas o certificación orgánica. En estos estados se pueden encontrar pequeños productores y empresas productoras de hierbas finas aromáticas para actividad culinaria y medicinal que se destinan al mercado de exportación. El principal destino es el mercado de Estados Unidos de América y otros destinos donde prevalece la cultura del consumo de alimentos orgánicos (Pérez, 2009).

La Red Mexicana de Plantas Medicinales y Aromáticas (REDMEXPLAM), fomenta proyectos comunitarios a pequeña escala bajo el concepto de conservación ecológica, manejo sustentable y comercio justo. También se identifican empresas que elaboran extractos fluidos y secos para la industria herbolaria y cosmética que utilizan material vegetal tanto nacional como extranjero (Gutiérrez y Betancourt, 2011).

Con respecto a las hierbas aromáticas y medicinales que forman parte del grupo de productos no tradicionales en México, y que son las más demandadas, se encuentran: la albahaca, el árnica, el cebollín, la jamaica, el eucalipto, la manzanilla, la menta, el orégano, el romero, la sábila y la valeriana. Éstas tienen una participación del 6.1 % en el valor total de la producción destinada tanto al mercado nacional como al internacional, cuyos principales destinos son los países de la Unión Europea, Estados Unidos de América, Canadá y Japón, que concentran cerca del 60 % de la producción mundial, debido a la tendencia hacia productos saludables, seguros y exóticos (Zamorano y Ríos, 2004).

Las problemáticas de salud y la difícil obtención de medicamentos sintéticos han llevado a la humanidad a la búsqueda de la medicina tradicional, actualmente es un hecho, mundialmente admitido y practicado, que el aprovechamiento industrial de estas plantas ha de basarse en el cultivo mecanizado de especies, así también, se busca su conservación

mediante métodos de propagación ya que el uso intensivo de estas puede llegar a afectar de manera negativa las poblaciones silvestres por su extracción desmedida.

3.3. Propagación

La propagación de plantas implica el control de dos tipos de desarrollo del ciclo biológico diferentes: el sexual y el asexual. La función de cualquier tipo de técnica de propagación de plantas es conservar un genotipo o una población de genotipos específicos, que produzcan la clase de planta que en particular se desea. Desde el inicio de la civilización, los agricultores y jardineros han utilizado sus observaciones sobre la reproducción de las plantas en la naturaleza para desarrollar diferentes técnicas de propagación. La reproducción de plantas se produce mediante semillas (reproducción sexual) o a través de métodos vegetativos (reproducción asexual) (Toogood, 1999).

La semilla tiene características estructurales, anatómicas y metabólicas que le permiten enfrentar al medio ambiente y el lugar que ocupan en el ciclo de vida de las plantas hace que tengan importancia vital, por lo que es importante estudiarles desde diversos enfoques (entre ellos, el bioquímico, el morfológico y el ecofisiológico), tanto para conocerlas desde el punto de vista de la ciencia básica, como para implementar el uso de especies nativas en programas de conservación, reforestación, manejo y restauración de los ecosistemas que ocupan (Márquez *et al.*, 2013).

La propagación por semilla es uno de los principales métodos en la reproducción de plantas y uno de los más eficientes y más utilizado en la propagación de plantas cultivadas (Hartmann y Kester, 1994).

3.4. Germinación y factores que la afectan

La germinación es un proceso por el cual el embrión pasa de un estado de vida quiescente en que se encuentra la semilla, a un estado de vida activa. Es resultado de una serie de acontecimientos metabólicos que van sucediendo consecutivamente desde la absorción de agua por parte de la semilla, hasta que inicia el crecimiento de la radícula. El proceso ocurre cuando el embrión se hincha y la cubierta de la semilla se rompe. La radícula de la planta es generalmente la primera parte del embrión que emerge o que sale de la cubierta seminal, y formará a la forma la raíz primaria. En etapas posteriores emergerá el epicótilo y comenzará a desarrollarse el vástago de la planta (Pérez y Martínez, 1994).

En 1957, Evenari dividió el proceso de germinación en tres fases: a) En la fase I ocurre la imbibición, que consiste en la absorción del agua necesaria para la rehidratación de las células, así como para el transporte de solutos y para que ocurran reacciones enzimáticas. b) En la fase II se produce la activación del metabolismo (o germinación *sensu stricto*), donde ocurre la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. También se incrementan las actividades enzimáticas, así como la degradación inicial de las reservas. c) Finalmente, en la fase III tiene lugar la emergencia de la radícula (crecimiento visible), concluyendo el proceso germinativo, ya que el crecimiento subsecuente se considera un proceso separado.

Factores que afectan la germinación

El éxito del proceso de germinación depende de una serie de factores internos como la latencia y la viabilidad, los cuales están determinados genéticamente, aunque pueden ser modificados por requerimientos ambientales necesarios para la germinación, en los cuales se consideran esenciales el agua, la temperatura, la disponibilidad de oxígeno y en algunos casos, la luz. En ausencia de alguno de estos factores, la mayoría de las semillas se mantendrían en un estado quiescente, entendiéndose como quiescencia al estado de suspensión de crecimiento impuesto por condiciones ambientales desfavorables (Herrera *et al.*, 2006).

3.4.1. Factores externos

- **Agua:** el agua es un elemento que se encuentra en una disponibilidad cambiante en condiciones naturales, y es sumamente importante en el proceso de germinación ya que las semillas no pueden germinar sin la presencia de agua porque es un recurso clave para activar el metabolismo y crecimiento de las células de los tejidos en la semilla (Kigel, 1995). La disponibilidad de agua cambia dependiendo el tipo de suelo, que determina su absorción, retención y filtración. Muchas especies germinan únicamente después de fuertes lluvias o incluso de varias precipitaciones, y aun así algunas no lo logran debido a que requieren mayor humedad (Mayer y Poljakoff-Mayber, 1989; Kigel, 1995). La cantidad de agua que entra a la semilla y la velocidad a la que lo hace no dependen únicamente de las características de la semilla, como la permeabilidad de su cubierta, la composición química de sus reservas, su tamaño y contenido de humedad (CH), sino que también está determinada por condiciones ambientales como la humedad del aire, la temperatura, la humedad y salinidad del suelo (Vázquez–Yanes *et al.*, 1997; Méndez *et al.*, 2008).

- **Temperatura:** la temperatura es un factor determinante en el proceso de germinación ya que a pesar de tener suficiente agua, las semillas no pueden germinar si la temperatura no es la adecuada (Baskin y Baskin, 1988; Mayer y Poljakoff-Mayber, 1989). Es un factor que regula la germinación ya que actúa sobre las enzimas que intervienen en estos procesos, afectando tanto la tasa como el porcentaje final de germinación (Bewley y Black, 1994).

Los requerimientos de temperatura no son necesariamente constantes ya que suele variar con el tiempo o interactuar con algún otro factor ambiental como la luz (Hartmann y Kester, 1994). Muchas semillas requieren una alternancia periódica de temperaturas, similar a la que ocurre en la naturaleza diariamente, pues existen diferencias entre el día y la noche, este rango varía según la estación del año, la latitud y también en función del microambiente (Fenner y Thompson, 2005).

- **Luz:** la luz es un factor de gran importancia ecológica y existen una gran variedad de respuestas en la germinación de semillas con respecto a la luz ya que ésta promueve o inhibe la germinación en algunas especies, lo cual estará en función de la longitud de onda (calidad), así como de la intensidad y su duración (irradiancia). Para el estudio de la germinación es importante la relación entre la cantidad de luz roja (660 a 770 nm) y luz roja lejana (770 a 800 nm) que prevalece en el interior de las comunidades vegetales y la relación entre estas dos longitudes de onda indica la existencia o no de una cubierta vegetal y su continuidad. La germinación regulada por luz está controlada por una familia de pigmentos fotosensibles conocidos como fitocromos. Estos pigmentos funcionan como receptores de las señales luminosas y las integran a una cadena de transducción que concluye con la activación o la inhibición de la germinación, de esta manera se observa si una semilla es fotoblástica o no (Vázquez-Yanes, 1997). La exposición a la luz roja provoca que el fitocromo cambie a una forma activa denominada Pfr, la cual estimula la germinación; mientras que la exposición a la luz roja lejana induce la forma alterna del fitocromo llamada Pr, la cual inhibe la germinación. La germinación puede ser inhibida no solo por la aplicación de luz rojo lejano, sino también de luz blanca en algunas semillas (Bewley y Black, 1994; Fenner y Thompson, 2005).

3.4.2. Factores internos

La latencia y la viabilidad son factores internos que influyen en la germinación además de los factores físicos ya mencionados.

- **Latencia:** una semilla se considera latente o en latencia cuando no tiene la capacidad de germinar en un periodo de tiempo específico bajo cualquier combinación de factores ambientales físicos normales que son favorables para su germinación (Baskin y Baskin, 2004). Sin embargo, definir latencia es difícil porque ésta solo puede ser medida mediante la ausencia de germinación.

La latencia se puede presentar de dos maneras: primaria, la cual se origina durante la maduración de la semilla y está regulada por mecanismos internos físicos o fisiológicos que restringen la germinación; y la latencia secundaria, la cual se presenta en semillas que originalmente no presentaban latencia, pero debido a condiciones de estrés o un ambiente desfavorable para la germinación se induce el estado latente en éstas (Cunha-Dias, 2005).

Baskin y Baskin (2004) propusieron un sistema de clasificación que incluye cinco clases de latencia.

- 1) Latencia fisiológica: es la más abundante, encontrada en gimnospermas y angiospermas y la que más prevalece en la naturaleza; a su vez ésta se divide en tres niveles: profunda, intermedia y no profunda.

Profunda: los embriones de estas semillas no crecen o producen plántulas anormales; el tratamiento con giberelinas no rompe su latencia y varios meses previos de estratificación fría o caliente son requeridos para que la germinación pueda suceder.

No profunda: es la que mayormente se encuentra. Los embriones de estas semillas producen plántulas normales; el tratamiento con giberelinas así como un tratamiento de estratificación pueden romper este tipo de latencia dependiendo la especie.

Intermedia: los embriones producen plántulas normales, el tratamiento con giberelinas promueve la germinación en algunas especies y el tratamiento de estratificación a dos a tres meses puede romper este tipo de latencia.

- 2) Latencia morfológica: es evidente en semillas con embriones inmaduros pero ya diferenciados, estos embriones no son latentes fisiológicamente pero se requiere tiempo para su maduración y germinación.

- 3) Latencia morfofisiológica: también se presenta en semillas con embriones inmaduros, pero adicionalmente se presentan componentes fisiológicos que originan la latencia, por lo que se requieren en ciertos casos tratamientos de estratificación y/o de giberelinas para promover la germinación.
 - 4) Latencia física: es causada por cubiertas de semillas impermeables al agua y puede romperse mediante escarificación mecánica o química.
 - 5) Latencia combinada: se presenta en semillas con cubiertas impermeables más latencia fisiológica en el embrión.
- **Viabilidad:** La viabilidad se determina como el número de semillas de un lote que están vivas y pueden llegar a convertirse en plantas capaces de reproducirse en condiciones de campo adecuadas. Las semillas deben tener una viabilidad alta al inicio del almacenamiento y mantenerla durante el mismo. Las semillas con viabilidad inicial alta sobrevivirán también más tiempo en el almacenamiento. La viabilidad se reduce lentamente al comienzo y luego rápidamente a medida que la semilla envejece. Es importante saber cuándo ocurre esta reducción para tomar acciones y poder regenerar los lotes almacenados. El deterioro excesivo conducirá a la pérdida del material (Rao *et al.*, 2007). Éste es uno de los factores intrínsecos más importantes, se refiere al periodo de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad germinativa, es decir, el tiempo efectivo de vida de una semilla dentro de su periodo de longevidad; sin embargo, una semilla viable, al no estar en presencia de condiciones adecuadas, puede no germinar (Jann y Amen, 1977). Diferentes factores pueden afectar la viabilidad de la semilla, por ejemplo, la capacidad de la planta madre de producir semillas viables, daños causados por depredadores o patógenos y las condiciones ambientales como alta humedad o calor. La edad de la semilla también afecta su salud y capacidad germinativa, las semillas son organismos vivos y con el tiempo sus células mueren y no pueden ser reemplazadas. El tiempo que una semilla es viable puede ser influenciado por ambos factores, genéticos y ambientales. Algunas semillas pueden permanecer viables en condiciones óptimas por muchos años mientras que otras solo por un ciclo de temporada (Morad, 2013).

Un método rápido para determinar la viabilidad de las semillas es la prueba de tetrazolio. Esta prueba se basa en una reacción bioquímica por parte de la enzima succinato deshidrogenasa mitocondrial de células vivas con la sal de tetrazolio, la

cual consiste en la reducción del tetrazolio, formándose un compuesto rojo llamado formazán. La actividad de esos sistemas enzimáticos decrece paralelamente con la viabilidad de las semillas; por lo tanto, una coloración rojo intensa es indicadora de la presencia de células vivas del embrión. En cambio, la falta de coloración o coloración rosa pálido son indicativas de la muerte o poca viabilidad de las células embrionarias. Dicha reacción ocurre dentro de las células y dado que el pigmento rojo que se forma es insoluble, no hay difusión del color rojo a las otras células; por lo tanto, las zonas viables que toman color rojizo se delimitan de las zonas muertas que mantienen su color original (Moreno, 1984).

- **Hormonas vegetales:** las hormonas son mensajeros químicos para la comunicación entre células, tejidos y órganos, que a su vez actúan sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas dependiendo de la cantidad presente, de su ubicación y de la sensibilidad del tejido a determinada hormona, siendo la concentración una característica de suma importancia, ya que un cambio en ésta puede desencadenar en una reacción (Davies, 2004).

1) **Ácido abscísico (ABA):** regulador positivo de la inducción de latencia y regulador negativo de la germinación. El desarrollo de las semillas ortodoxas es completado por la maduración y desecación de mismas, una acumulación de compuestos, la disminución del contenido de agua y acumulación de ABA que puede ser de origen embrionario o de tejidos de la planta madre y en muchas plantas está relacionado con la tolerancia a la desecación y la inducción y mantenimiento del estado de latencia (Kucera *et al.*, 2005).

2) **Giberelinas (GA):** rompen latencia, promueven la germinación y contrarrestan los efectos del ABA. La biosíntesis de giberelinas durante el desarrollo de semillas de varias especies lleva a la acumulación y almacenamiento de precursores de GA o GA bioactivas y su síntesis durante esta etapa parece no estar relacionada con el establecimiento de latencia primaria. ABA y GA actúan en diferentes momentos y sitios durante la vida de la semilla, ABA induce latencia durante la maduración y GA juega un rol en el rompimiento de latencia y promoción de la germinación (Kucera *et al.*, 2005).

Se han propuesto dos funciones de las giberelinas en la germinación.

Primero, las GA incrementan el potencial de crecimiento del embrión y segundo, las GA son necesarias para superar la restricción mecánica conferida por la cubierta de las semillas, debilitando los tejidos que rodean a la radícula.

- 3) Auxinas: las auxinas parecen desempeñan su acción durante la embriogénesis, proporcionando información posicional para la coordinación de un patrón celular correcto de la etapa globular en adelante. Datos moleculares y genéticos apoyan la acción esencial de las auxinas en la formación de un patrón apical-basal durante la embriogénesis pero se sabe poco acerca del rol de las auxinas durante la germinación de las semillas (Kucera *et al.*, 2005).

3.5. La semilla y su almacenamiento

Desde el inicio de la Agricultura, el almacenamiento de semillas ha sido una práctica habitual de los agricultores, ya sea para su siembra o su uso como alimento. No obstante, no es hasta mediados del siglo XX cuando se comienzan a establecer instituciones dedicadas, de forma sistemática, a la conservación a largo plazo de semillas. En ellas las semillas desecadas se almacenan en recipientes herméticos y en cámaras a bajas temperaturas (Pérez y Pita, 2001). Sin embargo, dado que no todas las semillas son capaces de resistir la desecación y las bajas temperaturas, se distinguen dos grandes grupos:

Semillas ortodoxas: se determinó con el nombre de ortodoxas a las semillas que tienen la característica de poder germinar y producir plántulas normales después de haberse sometido a un proceso de secado posterior a la colecta, en el cual el contenido de humedad se reduce hasta un 10% y 5% y, una vez desecadas las semillas, es posible almacenarlas a bajas temperaturas en recipientes herméticos por largos periodos de tiempo (Roberts, 1973).

Semillas recalcitrantes: las semillas recalcitrantes son aquellas que deben mantener un contenido de humedad relativamente alto para poder mantenerse viables ya que sufren daño o muerte al desecarlas a contenidos de humedad menores al 30% y no pueden ser almacenadas por más de unas semanas o meses, así mismo no resisten el almacenamiento a bajas temperaturas, por debajo de los 15 °C. Suelen ser semillas de plantas tropicales y subtropicales, algunas de gran importancia económica. (Roberts, 1973; Bewely y Black 1994; Magnitskiy y Plaza, 2007).

Existe un tercer grupo de semillas llamadas intermedias. A las semillas intermedias también se les puede reducir el contenido de humedad pero sus componentes son intolerantes a bajas temperaturas. Por lo tanto no pueden ser almacenadas por tiempos prolongados como las semillas ortodoxas, cuya viabilidad en teoría puede conservarse indefinidamente, sin embargo, hay casos de semillas intermedias donde su viabilidad puede prolongarse por varios años, de acuerdo con la especie (Orozco y Sánchez, 2013) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características que definen a las semillas con base en su comportamiento en almacenamiento. (Orozco y Sánchez, 2013).

Comportamiento en almacenamiento		CH inicial	Condiciones óptimas de almacenamiento		Condiciones en las que se deben deshidratar	
			CH residual (%)	Temperatura (°C)	Humedad atmosférica	Temperatura (°C)
Ortodoxas		Bajo	<10	<-15	10 - 13	20
Intermedias	Templadas	Alto	10 - 12.5	>0<5	40 - 50	20
	Tropicales	Alto		≥5		
Recalcitrantes	Templadas	Alto	≥15	>0<5	>70	20
	Tropicales	Alto		≥5		

La longevidad de las semillas es el lapso en el que mantienen su viabilidad (funcionalidad que les permite germinar con las condiciones apropiadas para ello). Las características intrínsecas de las semillas determinan en primera instancia su duración, aunque ésta puede ser modificada por las condiciones ambientales en las que se encuentren. Por este motivo se ha definido como longevidad ecológica al tiempo en el que las semillas permanecen viables en condiciones naturales, y como longevidad potencial, al tiempo en el que pueden permanecer viables en condiciones artificiales: a) circunstanciales (almacenadas en cualquier sitio, ajeno a su ambiente natural, y sujetas a variaciones ambientales); b) subóptimas, en un laboratorio o almacén con condiciones ambientales relativamente controladas y c) óptimas de almacenamiento para prolongar la viabilidad al máximo tiempo posible, de acuerdo con las características inherentes a las especies, es decir, su desempeño en condiciones de almacenamiento (Orozco y Sánchez, 2013).

En el campo de los recursos fitogenéticos, el comportamiento fisiológico en almacenamiento de las semillas de una especie y su longevidad determinan como conservarlas para su uso. Al ser un método práctico y económico, el almacenamiento de las semillas es preferido para conservar el 90% de las seis millones de especies mantenidas en colecciones *ex situ* en todo el mundo (Rao *et al.*, 2007). Para las semillas ortodoxas, éste es el principal método de conservación y muchas de las técnicas para conservar este tipo de semillas se han ido perfeccionando durante varias décadas e incluyen el secado de las semillas para lograr un contenido de humedad bajo (3-7% de peso fresco, dependiendo de la especie) y el almacenamiento en recipientes herméticos a diferentes gradientes de temperatura (FAO/IPGRI, 1994). El mantenimiento de la viabilidad y de la integridad genética de las semillas es el principio básico en el almacenamiento de las mismas al crear bancos de germoplasma. La calidad y sostenibilidad de cualquier esfuerzo de conservación de recursos genéticos depende de cómo se procesan y conservan las semillas. Manejar las semillas de formas inapropiadas contribuye al deterioro de éstas e incrementan los costos de conservación.

Existen pruebas para evaluar el estado de la semilla recién colectada para determinar si es posible su almacenamiento, algunas de las más importantes son la determinación del contenido de humedad y pruebas de viabilidad.

El contenido de humedad de las semillas es la cantidad de agua que hay en una semilla. El agua está presente tanto en forma libre como combinada con los compuestos químicos de las células, como carbohidratos y proteínas. Es uno de los factores más importantes que afectan las semillas. El efecto de la humedad sobre el mantenimiento de la calidad de semillas tiene aún mayor importancia. Semillas secas y sanas pueden ser mantenidas bajo almacenamiento apropiado por muchos más años; en tanto, semillas húmedas se pueden deteriorar en tan sólo unos cuantos días (Luz, 2002). El contenido de humedad se puede determinar mediante varios métodos, sin embargo, el método más preciso para determinarlo es el de secado en horno, por medio del cual se elimina el agua de las semillas por la acción del calor, en condiciones controladas. Este método destruye las semillas y solo se debe realizar cuando sea imprescindible (Rao *et al.*, 2007).

Un método de almacenamiento de la semilla que funciona para acelerar el proceso de germinación es la estratificación. La estratificación es un método de tratamiento de semillas en letargo, en el cual las semillas embebidas en agua son sometidas a un periodo de enfriamiento para que se efectúe la posmaduración del embrión (Moreno, 1984). Este

tratamiento consiste en colocar las semillas entre estratos que conservan la humedad, comúnmente arena, turba o vermiculita, en frío o calor y es utilizado para romper la latencia fisiológica. La estratificación fría consiste en mantener las semillas a temperaturas bajas (4 a 19 °C) asemejando a las condiciones de invierno, por un periodo que va de 20 a 60 días, a veces hasta 120 días (Ordoñez 1987; García, 1991).

3.6. Acondicionamiento o priming

El priming o acondicionamiento de la semilla es un tratamiento que permite iniciar el proceso de germinación en el laboratorio, es el mejor método de mejora fisiológica de la semilla. Las reacciones básicas necesarias para germinar ocurren en el laboratorio bajo alta humedad y condiciones ideales de temperatura. Después, la humedad de las semillas se baja a un nivel justo debajo del que es necesario para la germinación real, pero bastante para que el proceso continúe (Harris Moran Seed Company, 2014). La técnica del priming de semillas ha sido utilizada en muchos países y numerosas pruebas se han realizado para evaluar el rendimiento del priming en algunos cultivos. La mayoría de los agricultores afirman que los cultivos con priming previo crecen vigorosamente, florecen y maduran más rápido y producen frutos más grandes y con mejor rendimiento (Harris *et al.*, 2001). Un aspecto en común que comparten las técnicas de priming es que todas ellas incluyen la entrada de agua controlada a la semilla. Los procesos metabólicos asociados con el priming son ligeramente diferentes, esto con respecto a cómo se manifiestan durante la germinación, donde la absorción de agua no es controlada. Además, las sales usadas durante el priming provocan diferentes respuestas subcelulares específicas (Varier *et al.*, 2010). Se ha observado que el priming induce la síntesis de ADN en la radícula de células de tomate (Liu *et al.*, 1997) y en otras especies, incluyendo el maíz (García *et al.*, 1995). Por ejemplo, se ha observado que el osmoprimer activa procesos relacionados con el ciclo celular, además de contribuir a una rápida germinación de la semilla mediante el desarrollo del embrión, reduciendo así la restricción mecánica que tiene el endospermo (Mayer y Poljakoff-Mayber, 1989). También existen enzimas como las amilasas, proteasas y en algunos casos lipasas, que juegan un papel vital en el crecimiento y desarrollo del embrión. Cualquier incremento en la actividad de estas enzimas resultará en un crecimiento vigoroso y buen establecimiento del cultivo y se ha demostrado que algunos tratamientos de priming afectan la actividad de estas enzimas en la germinación de semillas de diferentes especies.

Existen varias técnicas de priming para mejorar la germinación, el crecimiento y el desempeño del cultivo. Algunas de ellas son el hidropriming, osmopriming, termopriming y hormopriming.

- **Hidropriming:** esta es una alternativa de bajo costo que consiste en remojar la semilla en agua antes de la siembra. Este tratamiento pre-siembra permite a la semilla almacenar agua e iniciar con la primera fase de la germinación, en la cual se inician actividades metabólicas mientras las siguientes fases de la germinación aún están inhibidas (Pill y Necker, 2001). Esta imbibición de agua previa no es rentable en algunas especies de plantas, ya que la rápida hidratación puede causar la pérdida de nutrientes esenciales en la semilla, lo que termina dañándola.
- **Osmopriming:** en esta técnica, las semillas son remojadas por un cierto periodo de tiempo en soluciones de azúcares, sales inorgánicas, polietilenglicol (PEG), glicerol, sorbitol o manitol seguido de un secado antes de la siembra. El osmopriming no sólo acelera la germinación de la semilla sino que también promueve un mejor desempeño del cultivo en condiciones salinas o no salinas. Este tratamiento con poca agua permite una hidratación parcial de la semilla, así comienzan algunos procesos pre-germinativos pero la germinación es inhibida (Bennett *et al.*, 1992; McDonald, 2000; Pill y Necker, 2001).

Numerosos cambios bioquímicos se han reportado en semillas tratadas con osmopriming, por ejemplo, en el tomate se facilita la absorción de agua, acelerando de esta manera la velocidad de germinación (Argerich, 1989). También se ha visto que induce la síntesis de ADN nuclear en células de la radícula y activa procesos relacionados con el ciclo celular en el tomate (Liu *et al.*, 1997) y otras plantas incluyendo el maíz y el poro.

- **Termopriming:** este tipo de priming consiste en embeber las semillas en agua a diferentes gradientes de temperatura y aplicar un secado posterior a la imbibición. La temperatura regula la germinación en tres formas: 1) determinando la capacidad y porcentaje de la germinación; 2) eliminando la latencia primaria o secundaria; y 3) induciendo una latencia secundaria (Bewley y Black, 1994). La temperatura óptima para la germinación para la mayoría de las semillas que no están en latencia es de 25 a 30 °C. Sin embargo, los rangos de temperatura para la germinación dependen en gran medida de (1) el periodo del año en que la planta completa su ciclo de vida y (2) el origen geográfico de la especie (Besnier, 1989). De hecho, las bajas temperaturas pueden romper la latencia en algunas semillas (plantas leñosas y

cereales), y son necesarias para la germinación a temperaturas más altas (Bewley y Black, 1982). En algunas semillas las altas temperaturas pueden reducir la latencia o inducir una latencia secundaria en otras. Por lo tanto, la respuesta de las semillas a estas condiciones puede ser esencial para la regeneración de comunidades después de una perturbación.

- **Hormopriming o priming hormonal:** el hormopriming es un tratamiento que se da embebiendo las semillas en diferentes hormonas o reguladores de crecimiento que tienen un impacto directo en el metabolismo de la semilla. Los siguientes reguladores son usados comúnmente para el hormopriming: ácido abscísico, auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, poliaminas y ácido salicílico.

Por ejemplo, se ha observado que semillas de trigo con priming de ácido giberélico incrementan su rendimiento y tolerancia salina mediante la modulación de la homeostasis hormonal junto con alteraciones de la absorción de iones y su acumulación entre brotes y raíces (Iqbal y Ashraf, 2013). Existe un papel importante de las fitohormonas exógenas aplicadas en semillas para la respuesta de las plantas al estrés salino, esto se observó en semillas de trigo previamente tratadas con ácido ascórbico y ácido salicílico, este tratamiento incrementa la capacidad del trigo para crecer bajo estrés salino, mientras que el tratamiento con ABA no fue efectivo en este caso (Afzal *et al.*, 2006).

3.7. *Árnica Heterotheca inuloides* Cass.

3.7.1. Información taxonómica (Tropicos, 2017).

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Equisetopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Heterotheca*

Nombre Científico: *Heterotheca inuloides* Cass.

Autor del nombre: Cassini, Alexandre Henri Gabriel de

Publicada en: Dictionnaire des Sciences Naturelles, ed. 2, 51: 460. 1827.

El árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*) (Fig. 1) representa una de las especies vegetales endémicas de nuestro país que más se utilizan en la medicina tradicional. Diversas fuentes la ubican entre las plantas mexicanas más frecuentemente empleadas con fines medicinales, en particular, para el tratamiento de procesos inflamatorios y para otros padecimientos relacionados (Martínez, 1979).

En la medicina tradicional mexicana se utilizan varias plantas de diferentes especies y familias botánicas que comparten el nombre común “árnica”, nombre asociado con varias especies utilizadas en la medicina tradicional europea y cuya especie representativa es *Arnica montana*. Se han registrado un total de 58 especies pertenecientes a 8 familias con el nombre de árnica en México, no obstante, la familia con más especies conocidas como árnica es Asteraceae con 48. Algunos miembros de este complejo de plantas medicinales difieren en sus características botánicas pero en algunos casos comparten aplicaciones similares en la medicina tradicional, siendo *H. inuloides* la especie más utilizada (Rodríguez-Chávez *et al.*, 2017).

Otros nombres por los cuales se le conoce a *Heterotheca inuloides* son: árnica de campo, árnica de monte, árnica del país, cuateteco, cuateteco, falsa árnica, hornilla, tabaco de las

montañas, remen, riemn, acahual, akawtomitl, acahua, acahualli y xochihuepal (Argueta y Gallardo, 1994).



Fig. 1. *Heterotheca inuloides* Cass. A) Inflorescencia; B) semillas (aquenios).

3.7.2. Descripción botánica

Hierba de hasta 1,0 m de altura; tallos erectos, estriados con pubescencia piloso-hispida, una porción de los pelos glandulosos; hojas simples, alternas, pilosas, margen entero a aserrado; flores en cabezuelas, sobre pedúnculos hasta 8 cm de largo; receptáculo plano o casi plano de unos 2 cm de ancho, desnudo; involucre anchamente campanulado a hemisférico, brácteas numerosas, lineales a subuladas, graduadas con las exteriores más cortas, las interiores de 9 cm a 13 mm de largo, piloso-hispidas, flores dimorfas, simpétalas, de color amarillo; las periféricas femeninas, de 25 a 40 lígulas, de 8 mm a 15 mm de largo; las del disco bisexuales, tubulares de 40 a 150; aquenios dimorfos; los de las flores liguladas triquenios, de 2 mm a 4 mm de largo, glabros o poco pubescentes, vilano ausente o en forma de corona breve; los de las flores del disco obovadas u oblanceolados, de 2 mm a 5 mm de largo, seríceos, cerdas o escamitas exteriores de 0,3 mm a 0,6 mm de largo, cerdas interiores del vilano de 4 mm a 7 mm de largo, blanquecinas o rojizas (FHEUM, 2001). Se

encuentra distribuida en Chihuahua, Durango, Guerrero, Guadalajara, Michoacán, Hidalgo, Morelia, Oaxaca, Puebla, Distrito Federal y el Estado de México (Osuna *et al.*, 2014).

3.7.3. Usos medicinales

Sus principales usos son para aliviar contusiones y heridas cutáneas, para lo cual se emplea en forma de infusión o compresas por sus conocidos efectos antiinflamatorios, analgésicos y antimicrobianos. El primer registro de sus propiedades después de la Conquista fue hecho en 1552 en el Códice Badiano; sin embargo, no fue hasta 1846 cuando se crea la Primera Farmacopea Mexicana, que pretendía unificar la práctica farmacéutica en todo el territorio, buscando utilizar las plantas de origen nacional en mayor proporción que las de origen extranjero (Schifter *et al.*, 2009).

El cocimiento se aplica en las contusiones; para las heridas e infecciones el cocimiento de las ramas o de la planta entera se aplica localmente, y para las úlceras estomacales se hierve la planta completa y se administra oralmente. Se utiliza como analgésico en casos de dolor de úlcera, de estómago o de la boca del estómago, de pulmón (por pulmonía), de pecho, muscular, renal o de reumas. La infusión de la planta se bebe como agua de tiempo, o se emplea en fomentos calientes si se padece dolor de muelas. Para problemas gastrointestinales, como ardores de estómago, gastritis o úlceras, se bebe el cocimiento, ya sea en ayunas o después de cada alimento. Para tratar úlceras del hígado se toma la infusión de las flores y hojas durante un mes, o más tiempo si continúan las molestias; asimismo, se usa cuando se siente la boca amarga, en casos de disentería, piorrea, falta de apetito, para el hígado, limpiar el estómago y descongestionar la vesícula. En afecciones respiratorias, como bronquitis, tos, pulmonía o dolor de pulmón, se toma la infusión de la planta junto con cuachalate, durante nueve días. Hay personas que dicen que también es útil para darla a niños que se orinan en la cama, en padecimientos de los riñones, irritación de la vejiga, contra el cáncer, para los nervios y para el lavado de ojos (Osuna *et al.*, 2014).

3.7.4. Investigaciones realizadas

Al igual que el *Arnica montana*, el árnica mexicana ha demostrado poseer propiedades terapéuticas equivalentes.

Investigaciones realizadas por Kubo y colaboradores (1994), establecieron que los sesquiterpenos 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno y 7-hidroxicalaleno aislados del árnica mexicana presentan una potente actividad antibacteriana, contra bacterias Gram positivas. Además el 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno muestra actividad bactericida contra

Staphylococcus aureus resistente a la penicilina. Por otra parte, tiene propiedades anticancerígenas, anti-epilépticos, anti-inflamatorios, anti-oxidantes, antiespasmódicas, anti-ulceras, coleréticas, diuréticas e inhibición de la fertilidad. Se ha demostrado que los flavonoides son capaces de inhibir la biosíntesis de prostaglandinas y del óxido nítrico que están implicados en la inflamación, así mismo son los responsables de la producción de una gran cantidad de mediadores proinflamatorios, proteína C reactiva o moléculas de adhesión. Algunos estudios han demostrado que los flavonoides tienen un efecto inhibitorio de la adhesión molecular a nivel endotelial, disminuyendo así el riesgo de lesión aterosclerótica. El efecto analgésico y antiinflamatorio en modelos *in vitro* e *in vivo* también ha sido evaluado con diferentes compuestos bioactivos del árnica. El 7-hidroxi-3,4-dihidrocadaleno inhibió la expresión *in vitro* de COX-1 y COX-2 catalizada por la biosíntesis de prostaglandinas, así como el edema inducido con aceite de croton en un modelo animal, también se ha identificado un posible mecanismo de acción mediante receptores serotoninérgicos 5-HT periféricos (Rocha *et al.*, 2010); otro reporte señala que el cariolan-1-9 β -diol, dicadenol y la quercetina también poseen efecto antiinflamatorio con efectos secundarios mínimos (Delgado *et al.*, 2001).

El *Arnica montana* a diferencia de *H. inuloides* ha sido ampliamente estudiada debido a su uso ancestral que fue transmitido desde Europa al resto del mundo. A pesar de sus similitudes morfológicas y usos tradicionales similares, estudios fotoquímicos han revelado que tienen metabolitos diferentes. Hoy en día es bien conocido que los compuestos responsables de la actividad anti-inflamatoria de los extractos de *A. montana* son las lactonas sesquiterpénicas y tienen varias contraindicaciones y efectos secundarios que no se presentan en *H. inuloides*. Cuando es administrada por vía oral y en dosis altas, puede ocasionar fuertes dolores de cabeza, aborto, delirio, convulsiones, y en ocasiones envenenamientos mortíferos (un puñado de hojas puede ser suficiente) (Waizel-Bucay y Cruz, 2014).

Se ha observado que las semillas de *Arnica montana* tienen latencia al ser colectadas, ya que se obtiene una capacidad germinativa baja al sembrarlas inmediatamente en contraste con la capacidad germinativa mucho más alta que se obtiene al paso de un año de la colecta, sin embargo, esta capacidad germinativa disminuye considerablemente al paso de dos años (Várban *et al.*, 2012).

A la fecha no existen publicaciones de germinación de semillas de *H. inuloides*, lo que hace de este trabajo un recurso de suma importancia para los productores de plantas medicinales en México y futuros estudios relacionados con fitomedicamentos y química de la especie.

3.8. Hinojo *Foeniculum vulgare* P. Mill.

3.8.1. Información taxonómica (Tropicos, 2017).

Reino: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Clase: Equisetopsida

Orden: Apiales

Familia: Apiaceae

Género: *Foeniculum*

Nombre Científico: *Foeniculum vulgare* P. Mill.

Autor del nombre: Miller, Philip

Publicada en: The Gardeners Dictionary: . . . eighth edition *Foeniculum* no. 1. 1768.

El hinojo representa la única especie del género *Foeniculum* (Fig. 2). Se distribuye en zonas templadas de todo el mundo y es nativa de la zona meridional de Europa, en especial la costa del mar Mediterráneo, donde crece en estado silvestre. Es una planta herbácea perenne y aromática, cultivada generalmente para su empleo en gastronomía (Chadwick, 1976).



Fig. 2. *Foeniculum vulgare* P.Mill. A) Umbelae; B) frutos-semillas (esquizocarpos).

3.8.2. Descripción botánica

Planta herbácea perenne de 0.9 a 2 m de alto; tallo erecto, sólido, estriado y ramificado; hojas sobre peciolo de 7 a 14 cm, claramente envainantes en la base, lámina de 30 a 40 cm de largo, finamente pinnado-disectadas, los segmentos de 4 a 40 mm de largo, filiformes; la inflorescencia son umbelae compuestas de 15 a 40 umbélulas (pequeñas umbelae) soportadas por pedúnculos, los pedicelos que sostienen a las umbelae son desiguales, de 1 a 6 cm de largo, cada umbélula con 18 a 25 flores, los pedicelos que sostienen a las flores son delgados, desiguales, de 1 a 10 mm de largo; flores pequeñas de simetría radial, amarillas, cáliz diminuto unido al ovario, los pétalos son 5 libres, anchos, el ápice angostado, los estambres son 5 alternados con los pétalos y presentan ovario ínfero; los frutos-semillas son esquizocarpos, oblongo-ovados, de 3.5 a 4 mm de largo, comprimidos lateralmente, formados por 2 mericarpos cada uno con una semilla. Tiene olor a anís (Hickman, 1993; Munz, 1973; Wunderlin, 1998).

3.8.3. Usos medicinales

Estimulante, carminativo y contra cólicos. Las propiedades medicinales que popularmente se le atribuyen a esta planta son para resolver trastornos del aparato digestivo, como bilis, cólicos biliares, cólicos estomacales, corajes, diarrea, mala digestión, gases, malestares estomacales, vómito y para abrir el apetito. Pero el uso medicinal más frecuente es para el dolor de estómago, del cual se hace referencia principalmente en la zona centro de la República Mexicana: La Ciudad de México y el Estado de México, Morelos, Guanajuato,

Hidalgo, Puebla y Tlaxcala, aunque también se encuentra referido en los estados de Michoacán y Durango.

También se emplea en otros padecimientos, como la tos, para la descongestión de las vías respiratorias, el dolor menstrual y el “susto” de las madres en lactancia; el dolor de piernas, la alferecía de los niños, la regulación de la presión arterial, la infección de riñones, la reducción del peso, para tratar el insomnio, los nervios alterados y males de ojo; como estimulante lactógeno, dolor de cuerpo y dolor “por aire” (Osuna *et al.*, 2014).

Las partes y forma más empleadas para el tratamiento de todos los padecimientos mencionados son las ramas, con o sin flor, preparadas en cocimientos administrados por vía oral. Combinada con hierba del golpe y canela contra el cólico, o con hierba maestra o ajeno para la bilis. Para los nervios se prepara un cocimiento con flor de manita (*Chiranthodendron pentadactylon*), tila (*Ternstroemia spp.*), azahar de naranjo y de limón (*Citrus spp.*), toronjil rojo y blanco (*Agastache mexicana*), toronjil chino o azul (*Dracocephalum moldavica*) y menta (*Mentha piperita*), que se administra como agua de tiempo (Osuna *et al.*, 2014).

En diversos lugares de la República Mexicana se utiliza en el tratamiento de la esterilidad así como para desinflamar los órganos internos por medio de frotaciones con hierbas de naturaleza fresca: floripondio, hoja de mirto, de flor roja, flor azul, cogollos de naranjo e hinojo. Estas plantas se desmenuzan con las manos y se les agrega clavo de olor molido, que se moja con alcohol y con esto se rocía muy bien el cuerpo del paciente, dejándole reposar para que después la partera efectúe la tradicional limpia. Se tiene registrada como maleza en Baja California, Chiapas, Coahuila, Jalisco, Oaxaca, Querétaro, Sinaloa, Sonora y Veracruz (Osuna *et al.*, 2014).

3.8.4. Investigaciones realizadas

Las investigaciones sobre *Foeniculum vulgare* han mostrado que es una planta medicinal muy importante y ampliamente utilizada en tratamientos para aliviar generalmente problemas gastrointestinales y ha sido manejada desde hace mucho tiempo sin ningún efecto adverso documentado, al contrario, los estudios que se han generado hasta la fecha indican que el hinojo posee diversos beneficios a la salud y es un importante constituyente en la gastronomía de países como Francia e Italia. Se ha visto que los extractos de hinojo poseen diferentes propiedades farmacológicas como: anti alergénico, analgésico, antiinflamatorio, antioxidante, antibacterial, anticancerígeno, anti estrés y actividad

citotóxica. Entre los varios compuestos encontrados en las plantas de hinojo, los aceites esenciales y los compuestos fenólicos son considerados como los más importantes y con mayor actividad biológica, responsables de la mayoría de los efectos farmacológicos. Además los beneficios a la salud observados también son acreditados a la presencia de compuestos volátiles, flavonoides, ácidos grasos y aminoácidos. Los mejores y más amplios estudios están enfocados en las propiedades antioxidantes, antimicrobianas y los efectos estrogénicos en varios modelos experimentales (Badgujar *et al.*, 2014; Kooti *et al.*, 2015). Se ha registrado actividad analgésica y reducción de la percepción del dolor en ratones tratados con extracto etanólico de frutos de hinojo (Mascolo *et al.*, 1987; Tanira *et al.*, 1996). Igualmente se tiene registrada actividad antimicrobiana mediante el uso de aceites esenciales extraídos de los frutos que inhibieron el crecimiento *in vitro* de especies de *Alternaria*, *Aspergillus flavus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *Cladosporium herbarum*, *Cunninghamella echinulata*, *Helminthosporium saccharii*, *Microsporum gypseum*, *Mucor mucedo*, *Penicillium digitatum*, *Rhizopus nigricans*, *Trichophyton roseum*, *T. rubrum*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Lentinus lepideus*, *Lenzites trabea*, *Polyporus versicolor*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, sin embargo, no se ha tenido efecto en especies de *Aspergillus* (Shama y Singh, 1979; Dikshit y Husaim, 1984; Janssen *et al.*, 1986). Los estudios futuros deben enfocarse en encontrar los mecanismos de acción responsables de los múltiples efectos benéficos.

Se tiene registrado que el uso de sustancias bioestimuladoras en bajas concentraciones aplicadas a las semillas tienen una influencia positiva en la germinación de las mismas y que las semillas germinan completamente en 10 a 14 días dependiendo principalmente del clima después de la siembra (Neacșu *et al.*, 2015).

Referente a estudios de germinación se han obtenido buenos resultados en cuanto a capacidad germinativa al exponer las semillas a priming osmótico con PEG6000 (-0.9 MPa) y una aceleración en la germinación cuando las semillas se tratan con K_2SO_4 (-0.3 MPa) y diferentes concentraciones de NaCl (Neamatollahi *et al.*, 2009).

4. JUSTIFICACIÓN

H. inuloides y *F. vulgare* son plantas ampliamente utilizadas en el país y con creciente demanda debido a sus propiedades registradas, tanto medicinales como culinarias, por lo que se requieren estudios de almacenamiento y acondicionamiento de las semillas de ambas especies para optimizar y estandarizar su cultivo y las condiciones necesarias para almacenar semillas el mayor tiempo posible y así obtener plantas de buena calidad en poco tiempo.

5. HIPÓTESIS

El almacenamiento de las semillas a bajas temperaturas y con un contenido de humedad por debajo del 5% permitirá conservar mejor la viabilidad y capacidad germinativa de las mismas.

El acondicionamiento o priming de semillas incrementará la respuesta germinativa, la velocidad de germinación y la sobrevivencia de plántulas con respecto a las semillas que no sean tratadas como se ha visto en estudios anteriores de Neacșu *et al.*, 2015 y de Neamatollahi *et al.*, 2009.

La respuesta germinativa a los diferentes tratamientos de fotoblastismo permitirá determinar si las semillas son fotosensibles o no y establecer en qué condiciones lumínicas se obtienen mejores resultados.

6. OBJETIVOS

General

Evaluar las características morfofisiológicas de las semillas de *Heterotheca inuloides* y *Foeniculum vulgare* que promuevan su germinación y su propagación por semilla.

Particulares

- Medir el peso, longitud, contenido de humedad y evaluar la viabilidad y permeabilidad de las semillas recién colectadas.
- Evaluar la respuesta fotoblástica de las semillas de ambas especies.
- Evaluar la viabilidad, contenido de humedad y respuesta germinativa de las semillas de ambas especies, almacenadas durante un año (almacenamiento en seco y estratificación).

- Evaluar la respuesta germinativa de las semillas de ambas especies con hidropriming, termopriming, osmopriming y hormopriming.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. Colecta

Se utilizaron diferentes lotes de semillas de árnica mexicana (*Heterotheca inuloides*).

- Un lote fue proporcionado por el M. en C. Andrés Fierro Álvarez, obtenido del predio “Las Ánimas” de la UAM-Xochimilco ubicado en Tulyehualco, al sur de la Ciudad de México.
- Un lote por productores de Cuajimalpa colectado en 2015.
- Un lote de semillas colectadas por la Dra. Reyna Osuna en el Jardín Xochitlalyocan de Plantas Medicinales del CIBAC de la UAM-Xochimilco en 2015.

De la misma forma, las semillas de hinojo (*Foeniculum vulgare*) que se utilizaron fueron lotes que corresponden a fechas y lugares de colectas distintos en la Ciudad de México.

- Un lote colectado en 2011 y en 2014 de San Gregorio Atlapulco, Xochimilco.
- Un lote colectado en Topilejo en Septiembre de 2014.

7.2. Selección del material

Para tener un lote homogéneo, se seleccionaron visualmente las semillas que se encontraran en buen estado en comparación con aquellas que presentaran alguna anomalía (tamaño, color, daño físico, inmadurez).

7.3. Características morfofisiológicas

Para determinar el tamaño promedio, 50 semillas de *H. inuloides* y 50 semillas de *F. vulgare* se midieron con vernier por los ejes longitudinal y transversal y se tomó el peso de mil semillas para cada una de las especies.

7.4. Contenido de humedad

Para cuantificar el contenido de humedad de las semillas, 10 lotes de 10 semillas c/u se colocaron en 10 cajas de aluminio con tapa, posteriormente se introdujeron en una estufa durante 17 horas a 105 °C para la determinación del contenido de humedad con base en la

diferencia de peso (Gordon, 1991; Moreno, 1984). Para obtener el porcentaje de humedad se pesó: a) la caja vacía con tapa, b) la caja con tapa con las semillas y c) la caja con tapa con las semillas secas.

El porcentaje de humedad se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{P2 - P3}{P2 - P1} * 100$$

Donde:

- P1: peso en gramos de la caja vacía con tapa.
- P2: peso en gramos de la caja con tapa conteniendo las semillas húmedas.
- P3: peso en gramos de la caja con tapa conteniendo las semillas secas (después del secado en la estufa).

Posteriormente se promediaron los resultados de las 10 cajas.

7.5. Viabilidad

La viabilidad de las semillas se evaluó mediante la prueba de tetrazolio. 100 Semillas recién colectadas de cada especie se colocaron en imbibición en agua destilada durante 24 horas, posteriormente se extrajeron cuidadosamente los embriones de las semillas para embeberlos en frascos ámbar con tetrazolio (cloruro de 2, 3, 5-trifenil tetrazolio) al 1% en buffer de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) y fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4) y se observaron 24 horas después (10 lotes de 10 embriones c/u). Al transcurrir las 24 horas se extrajeron los embriones de los frascos y se observaron al microscopio estereoscópico, considerando como viables las que tuviesen el eje embrionario completamente teñido de rojo como se muestra en la figura 3. (Moreno, 1984).

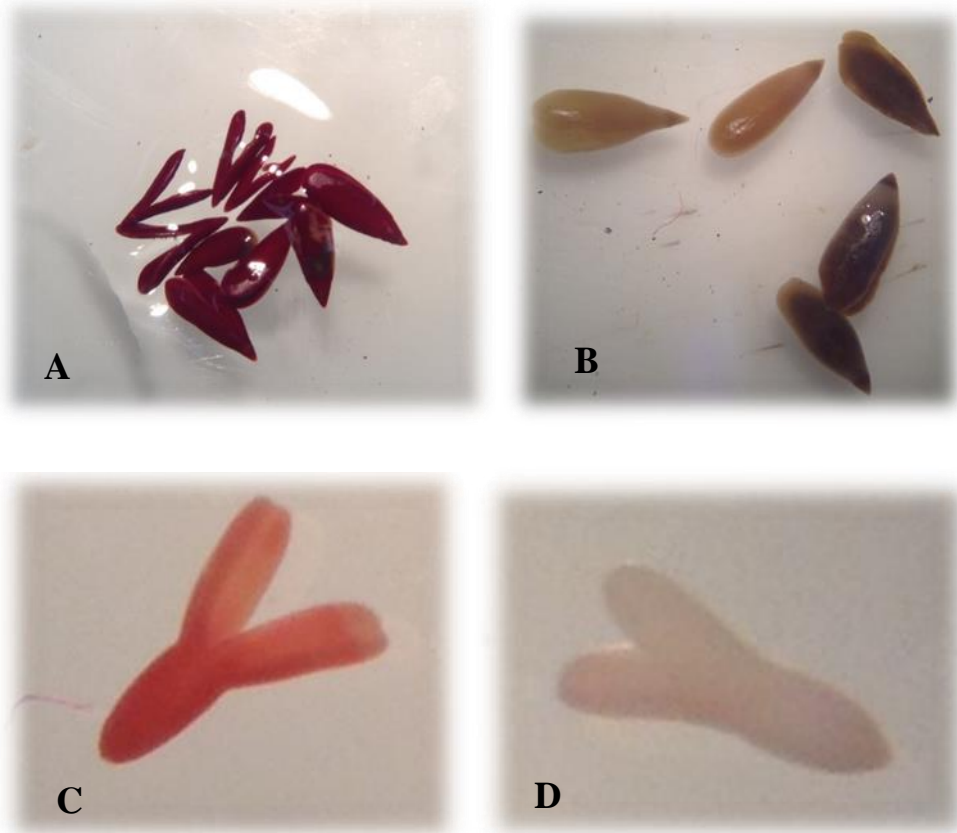


Fig. 3. Embriones de *H. inuloides*, A) viables y B) no viables. Embriones de *F. vulgare*, C) viables y D) no viables.

7.6. Germinación

El porcentaje de germinación de la semilla de árnica e hinojo se evaluó utilizando cajas Petri con dos sustratos: agar (agar-agar purificado y sin inhibidores para microbiología, MERCK®) al 2% y papel absorbente humedecido con 4ml de Captán al 0.2% para determinar en cuál de los dos se obtenía mejor respuesta germinativa.

La siembra para la germinación de semillas en todos los tratamientos posteriores se realizó en el sustrato donde se obtuvo la mejor respuesta germinativa (agar o papel), siempre con 24 horas de imbibición previa en agua destilada a excepción de los tratamientos de priming que incluyen la imbibición en otras sustancias como adelante se explica.

- Agar: previo a la siembra, las semillas se desinfectaron superficialmente lavándolas con detergente líquido comercial (6 gotas por cada 10ml de agua destilada) durante 10 minutos; posteriormente, se desinfectaron con bactericida Microdyn® (plata

ionizada al 0.048%) (6 gotas por cada 100ml de agua destilada) y con hipoclorito de sodio (NaOCl) (Cloro comercial) al 30% (v/v) (6% cloro activo) adicionado con 5 gotas de Tween 80 por cada 100ml de solución durante 15 minutos cada uno. Finalmente, se enjuagaron dos veces en 10ml de agua destilada (5min c/u), y en condiciones asépticas (campana de extracción) un tercer enjuague con 10ml de agua destilada estéril (5min). Todo el proceso se realizó en agitación constante.

Proceso resumido:

1. 100ml agua + 6 gotas de jabón líquido por 10 min.
2. 100ml agua + 6 gotas de Microdyn® por 15 min.
3. 100ml de cloro comercial (1:3) + 5 gotas de Tween 80 por 15 min.
4. 2 enjuagues en 100ml de agua destilada 5min c/u.
5. 1 enjuague en 100ml de agua estéril por 5min

(Modificado de Olguín-Santos, 2012).

- Papel absorbente: la siembra se realizó colocando las semillas en cajas de Petri de plástico con tres discos de papel absorbente humedecido con 5 ml de una solución de Captán al 0.2%, posteriormente se colocaron dos discos de papel absorbente humedecidos con 5ml de la solución de Captán sobre las semillas (Fig. 4. B).

Después de ser sembradas, las cajas fueron selladas alrededor con película adherible para evitar la deshidratación y fueron colocadas en una incubadora a 25 °C con un fotoperiodo 12/12. La germinación se registró diariamente.

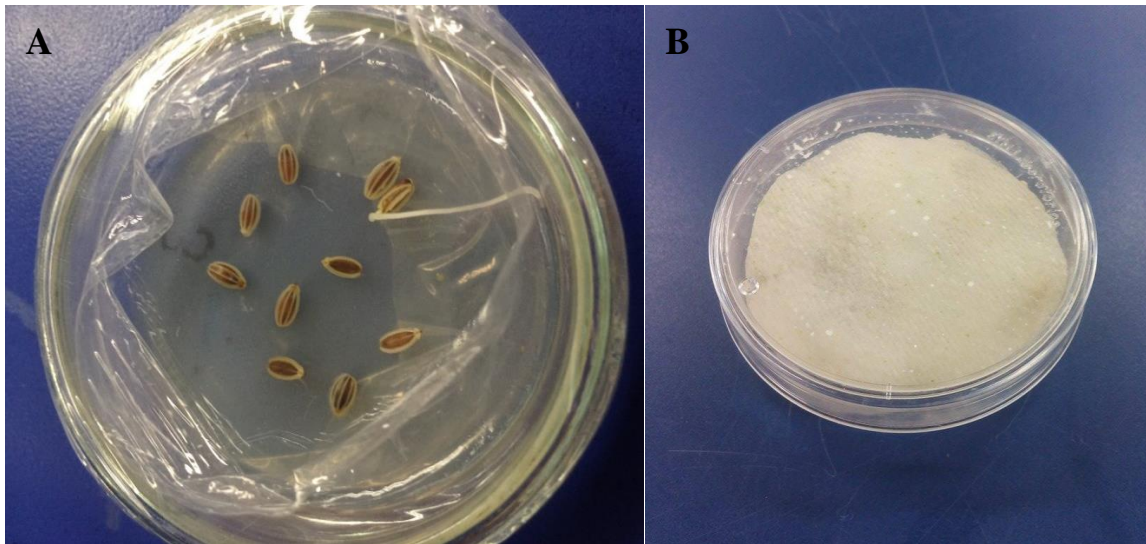


Fig. 4. A) Aspecto de las semillas de *F. vulgare* en agar; B) caja de Petri con papel absorbente para la germinación de las semillas.

7.7. Permeabilidad

Se tomó el peso seco de 100 semillas de ambas especies y posteriormente fueron embebidas en agua destilada en frascos ámbar (10 lotes de 10 semillas cada uno) para ser pesadas en los siguientes tiempos: 5min, 10min, 15min, 30min, 1h, 2h, 6h, 12h, 24h, 48h y 72 h y determinar su permeabilidad con base en el aumento de peso por la entrada de agua a las semillas.

Con base en los resultados de este ensayo se determinó si era necesaria la escarificación mecánica o química con ácido clorhídrico (HCl) o ácido sulfúrico H_2SO_4 .

7.8. Almacenamiento

Las semillas de ambas especies se almacenaron en tubos Eppendorf con algodón (Fig. 5) cubiertos de aluminio en tres condiciones de temperatura ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ y temperatura ambiente: $26\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 3, 6, 9 y 12 meses, durante los cuales se realizaron pruebas de viabilidad, germinación y contenido de humedad como se explicó anteriormente (Hong y Ellis, 1995).

Se almacenaron 450 semillas de árnica de la colecta de Cuajimalpa 2015 para cada condición de tiempo y temperatura, divididas en 3 tubos Eppendorf con 150 semillas cada

uno (50 semillas para prueba de contenido de humedad; 50 para prueba de viabilidad y 50 para prueba de germinación).

Se almacenaron 360 semillas de hinojo de la colecta de San Gregorio Atlapulco 2014 para cada condición de tiempo y temperatura, divididas en 6 tubos Eppendorf con 60 semillas cada uno.

Se colocaron 450 y 360 semillas respectivamente, debido al porcentaje de semillas vanas que posiblemente se encontraran en la muestra.



Fig. 5. Pruebas de almacenamiento de semillas de *F. vulgare* en las diferentes condiciones de temperatura en tubos Eppendorf con algodón.

7.9. Estratificación

Se almacenaron 330 semillas de hinojo en bolsas de gasa cubiertas con vermiculita previamente esterilizada e hidratada con 100 ml del fungicida Captán al 0.2% para 3 y 6 meses durante los cuales se realizaron pruebas de viabilidad, de germinación y de contenido de humedad (Hong y Ellis, 1995) (Fig.6). Las bolsas se almacenaron a 7 °C.

Debido a la poca disponibilidad de semillas en buen estado, este tratamiento no se pudo realizar para *H. inuloides*.

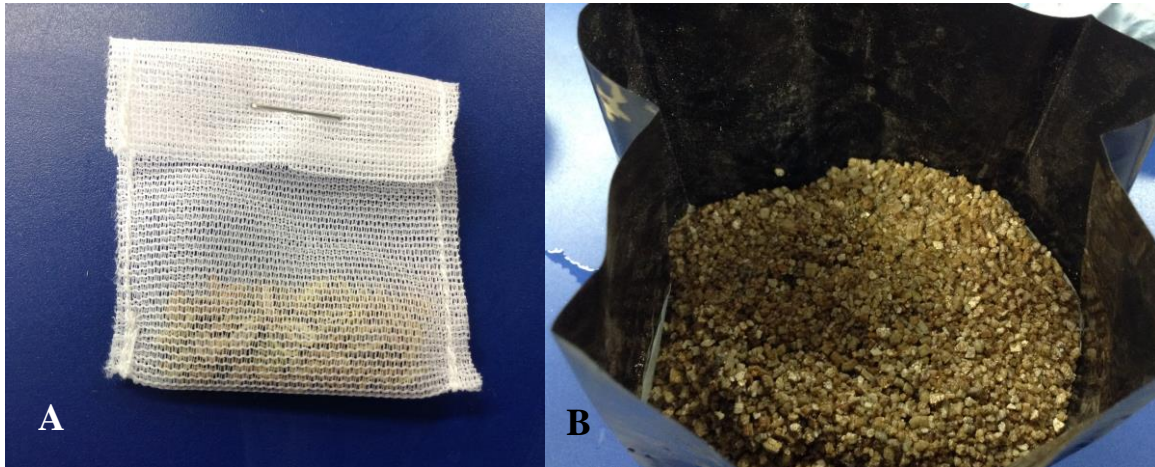


Fig. 6. A: Prueba de estratificación de semillas de *F. vulgare* almacenadas en bolsas de gasa; B: vermiculita humedecida con Captán donde se almacenaron las bolsas de gasa con semillas.

7.10. Fotoblastismo

Para determinar la respuesta fotoblástica se colocaron 100 semillas de cada especie a germinar en cajas Petri para cada una de las siguientes condiciones lumínicas (luz blanca, luz roja, luz roja lejana y oscuridad). En las condiciones de luz roja y roja lejana se utilizaron cajas de plexiglás que filtran la luz a las longitudes de onda deseadas y con los siguientes valores de irradiancia fotónica: luz roja $4 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, luz roja lejana $0.09 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ y luz blanca $33.2 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ y para la condición de oscuridad las cajas Petri se forraron con aluminio. A las semillas de ambas especies se les realizó una desinfección previa (explicada anteriormente) e imbibición de 24 horas en oscuridad. La siembra de las semillas fue en el sustrato preferente determinado por la prueba de agar vs papel y el registro diario de germinación se realizó bajo luz verde de seguridad.

7.11. Priming o acondicionamiento

Se realizó la preparación osmótica, térmica y hormonal en las semillas en contraste con un grupo control como a continuación se describe (Modificado de Jisha *et al.*, 2013).

Osmopriming

Se tomaron semillas de ambas especies (10 lotes de 10 semillas c/u) para embeberse en dos soluciones osmóticas de manitol (-3atm, -6atm) y agua destilada por 24 horas a temperatura ambiente ($26 \text{ }^\circ\text{C}$). Posteriormente se extrajeron las semillas de las soluciones y se pusieron a secar en estufa durante 48 horas a $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Al transcurrir el tiempo de secado

se sembraron las semillas de ambas especies en su sustrato preferente y se colocaron en la incubadora a 25 °C con un fotoperiodo 12/12 para registrar la germinación diariamente.

Nota: para preparar 100mL de manitol a -3atm se pesaron 12.5g y para -6atm se pesaron 25g.

Priming con hormonas de crecimiento.

Las semillas de ambas especies (10 lotes de 10 semillas c/u) se embebieron durante 24 horas a temperatura ambiente con los diferentes tratamientos. Los tratamientos con auxinas se prepararon a partir del producto Radix® T3000 (liquido de 1 L), mientras que los de giberelinas se prepararon con BIOGIB® 10PS (de 10mg) (Anexo1).

1. Radix® T3000 - 50ppm
2. Radix® T3000- 100ppm
3. BIOGIB® 10PS - 50ppm
4. BIOGIB® 10PS - 100ppm

Las semillas se mantuvieron en las soluciones por 24 horas en frascos ámbar. Al término de las 24 horas se extrajeron de las soluciones y se sembraron en el sustrato preferente y fueron colocadas en la incubadora a 25 °C con un fotoperiodo 12/12. La germinación se registró diariamente.

Termopriming

Se tomaron semillas de ambas especies (10 lotes de 10 semillas c/u) y se embebieron en agua destilada en frascos ámbar a distintas temperaturas (ambiente: 26 °C, 7 °C y 35 °C) durante 24 horas. Posteriormente las semillas se secaron en estufa a 30 °C durante 48 horas. Al transcurrir el tiempo de secado, las semillas de ambas especies se sembraron en el sustrato preferente y se colocaron en la incubadora a 25 °C con un fotoperiodo 12/12 para registrar la germinación diariamente.

Hidropriming

Se tomaron semillas de ambas especies (10 lotes de 10 semillas c/u) para embeberse en agua destilada a temperatura ambiente: 26 °C en frascos ámbar por 24 horas. Al trascurrir este tiempo se colocaron las semillas a secar en estufa durante 48 horas a 30 °C. Al transcurrir el tiempo de secado se sembraron las semillas de ambas especies en su sustrato

preferente y se colocaron en la incubadora a 25 °C con un fotoperiodo 12/12 para registrar la germinación diariamente.

Para los tratamientos de priming con mejores resultados se calculó la velocidad de germinación con la siguiente fórmula (Paniagua *et al.*, 2015):

$$VG = (SG(1))/1 + (SG(2) - SG(1))/2 + \dots + (SG(n) - SG(n-1))/n$$

Donde SG(n) = número de semillas germinadas al conteo n

En la siguiente figura se muestra el método general con las distintas pruebas realizadas:

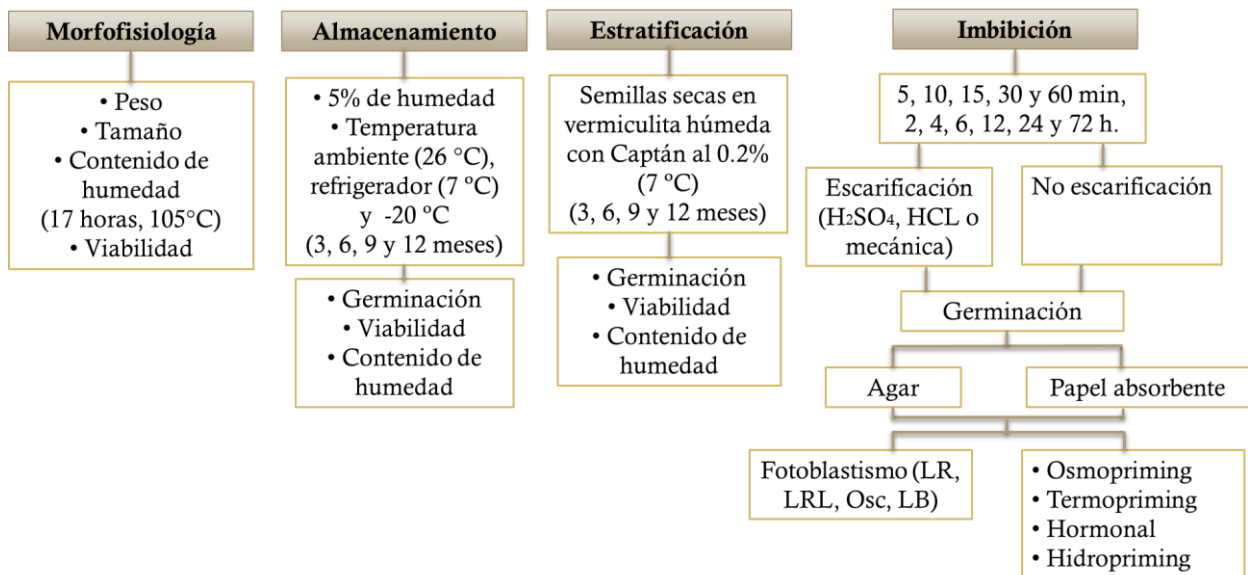


Fig. 7. Método seguido para la realización del trabajo.

7.12. Análisis estadístico

Con todos los resultados obtenidos en porcentaje de germinación, viabilidad y contenido de humedad se evaluó si cumplían con los criterios de homocedasticidad (Cochran, Bartley y Hartley) y distribución normal para realizar ANDEVAs (Statgraphics).

En caso de cumplir con los criterios anteriores, los resultados se analizaron con ANDEVAs y pruebas de rango múltiple de Tukey (p<0.05).

Los resultados que no cumplieron con los criterios anteriores, se analizaron con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y prueba de Dunn para identificar los tratamientos que causaron las diferencias significativas (p<0.05).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. ÁRNICA

8.1.1. SEMILLAS RECIÉN COLECTADAS

Tamaño

El tamaño promedio de las semillas fue de 3.58 ± 0.03 mm en el eje longitudinal y 1.11 ± 0.009 mm y en el eje transversal. Se determinó que la semilla es no endospermica y tiene un tamaño promedio reportado de 2 a 4 mm de largo (Osuna *et al.*, 2014) lo que concuerda con el tamaño promedio obtenido en la medición de este trabajo (3.58 ± 0.03 mm) (Fig. 8 y 9).



Fig. 8. Semilla no endospermica (aquenio) de *H. inuloides*.

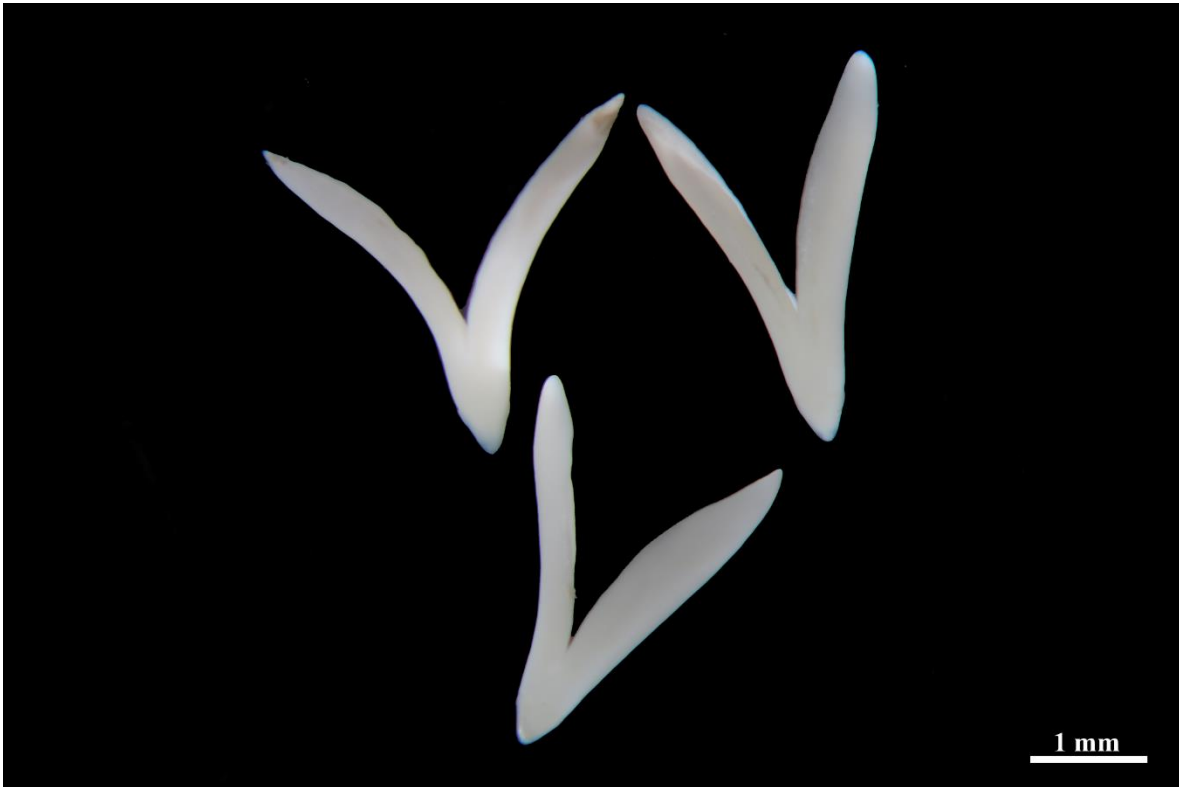


Fig. 9. Embriones extraídos de semillas de *H. inuloides*.

Peso de mil semillas

El peso de mil semillas fue de 0.8972 g.

El peso de mil semillas es un dato importante en el cultivo de plantas para el cálculo de las semillas necesarias para sembrar y evaluar su producción en un determinado espacio de terreno. Se ha reportado un peso promedio de mil semillas de *H. inuloides* de 0.5864g (Jardín Botánico de Kew), sin embargo, en el presente trabajo se obtuvo un peso mayor (0.8972g), dicha diferencia puede deberse a que, como se ha observado, un porcentaje de las semillas pueden tener o no vilano (estructura de la semilla para la dispersión), tener embriones inmaduros o estar vanas, lo que afecta el peso final.

Contenido de humedad

Se obtuvo un $3.6 \pm 0.87\%$ de humedad en la semilla de la colecta del predio “Las Ánimas”.

Al presentar un porcentaje de contenido de humedad inferior al 5%, es posible almacenar las semillas ya que poseen el contenido de humedad requerido para clasificarlas como semillas ortodoxa (Hong y Ellis, 1995).

Viabilidad con tetrazolio

Se obtuvo un 0% de viabilidad en el lote del predio Las Ánimas. Este lote fue descartado para las pruebas posteriores de germinación y almacenamiento, únicamente se utilizó para la prueba de imbibición, en la cual no es necesario que el embrión sea viable para observar la entrada de agua a la semilla.

Se obtuvo un 100% de viabilidad en el lote de Cuajimalpa 2015 con un 33% de semillas vanas, es decir, sin embriones y por lo tanto se consideran inviables. Con esta colecta se realizaron las pruebas de almacenamiento, condiciones de germinación y elección de sustrato.

La colecta del Jardín Cibac de 2015 obtuvo un 99% de viabilidad sin semillas vanas. Esta colecta fue utilizada para las pruebas de fotoblastismo y priming.

Las semillas del predio Las Ánimas resultaron todas inviables a pesar de que la mayoría de las semillas no fueron vanas, lo que sugiere que el estado fisiológico de las plantas madre en el momento de la floración (agua, luz, nitrógeno) pudo ser muy pobre, lo que influyó en el posterior estado de los aquenios generados, de igual manera el almacenamiento previo de los mismos, el cual se pudo efectuar en condiciones de humedad y temperatura inadecuadas fue un factor que deterioró la longevidad de las semillas, ya que no se utilizaron las semillas recién colectadas. En cambio, la alta viabilidad de los lotes de Cuajimalpa y del Jardín Cibac refleja plantas con requerimientos fisiológicos suficientes para generar semilla de buena calidad, sin embargo, en Cuajimalpa se observa un gran porcentaje de semillas vanas, que se generan principalmente por factores genéticos y ambientales como, por ejemplo, la falta de polinizadores.

Cuadro 2. Porcentaje de viabilidad de semillas recién colectadas de *H. inuloides* de diferentes sitios de colecta.

<i>Sitio de colecta</i>	<i>Porcentaje de viabilidad</i>
<i>Predio “Las Ánimas”</i>	0%
<i>Cuajimalpa 2015</i>	100%
<i>Jardín Cibac 2015</i>	99%

Germinación Agar vs. Papel Absorbente

Se obtuvo un 97% de germinación final en agar y un 96% en papel. Al paso de diez días de registro no se observaron más semillas germinadas (Fig. 10).

A pesar de que el porcentaje final de germinación fue similar, en la curva se observa que la germinación en papel siempre se mantuvo por debajo de la germinación en agar, por lo tanto, se seleccionó el agar como el sustrato preferente de las semillas para las pruebas de germinación posteriores. El agar proporciona una humedad elevada y constante para las semillas, a diferencia del papel, donde al no sellar de forma hermética las cajas Petri, la humedad no fue constante.

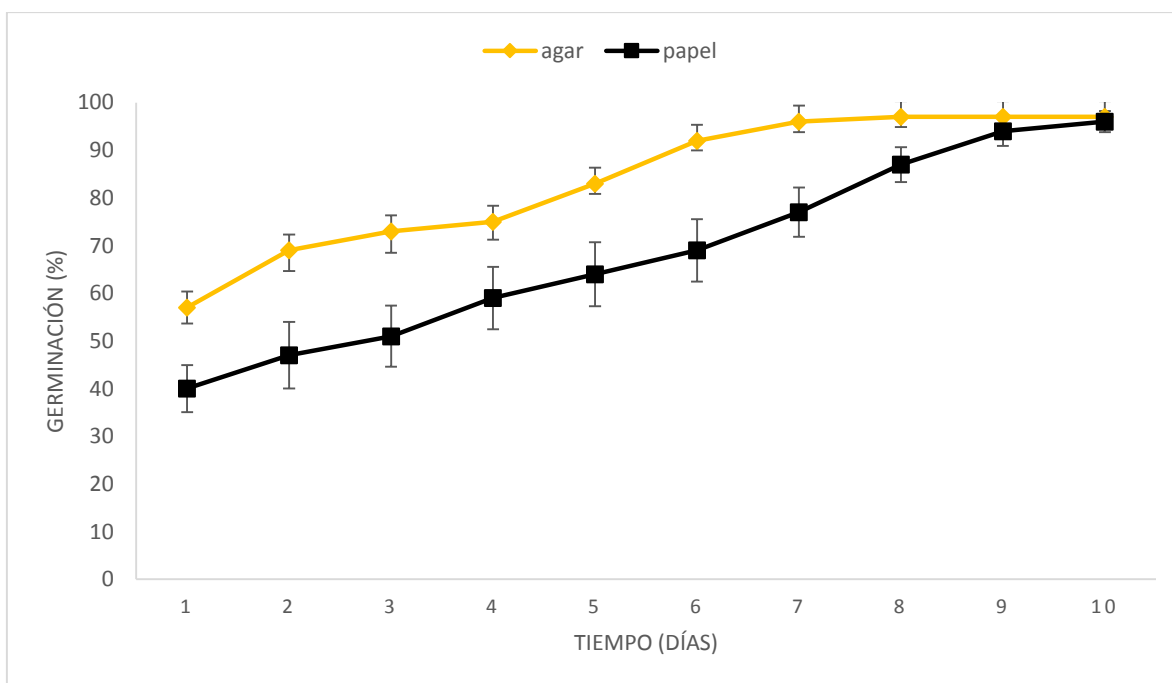


Fig. 10. Curva de germinación de semillas de *H. inuloides* en agar y papel de la colecta de Cuajimalpa de 2015 \pm error estándar (e. e).

Permeabilidad

Al concluir las 72 horas de imbibición el peso promedio final de las semillas de árnica de la colecta de Las Ánimas fue de 0.02898 g en comparación con el peso promedio inicial de 0.00965 g. El análisis estadístico mostró que en los primeros 30 minutos de imbibición ocurrió una entrada de agua significativamente diferente al resto de los demás tiempos de imbibición ($P=0.0$, Kruskal-Wallis) (Fig. 11). Las semillas son permeables y por lo tanto, no es necesaria la escarificación. Se observó que para la semilla de *H. inuloides*, la entrada de

agua significativa ocurre hasta los treinta minutos del experimento, después de los cuales no existen diferencias significativas con respecto a la medición de los pesos anteriores. La cantidad de agua que ingresa durante la imbibición depende de la naturaleza de la semilla y, dado que la entrada de agua ocurre muy rápidamente, se intuye que la testa no representa una barrera para la absorción de agua, al contrario, facilita la absorción de ésta y permite que ocurra una rápida imbibición, tanto así que el peso seco de la semilla (0.00965 g) se triplicó al término de 72 horas de imbibición (0.02898 g), aunque se ha observado que en muchas otras semillas la cantidad de agua que ingresa es relativamente poca, no excediendo de 2 a 3 veces el peso seco de la semilla. De igual manera se sugiere que la semilla tiene alto contenido proteico en sus sustancias de reserva ya que las proteínas tienen una alta afinidad por el agua (Lira, 1994).

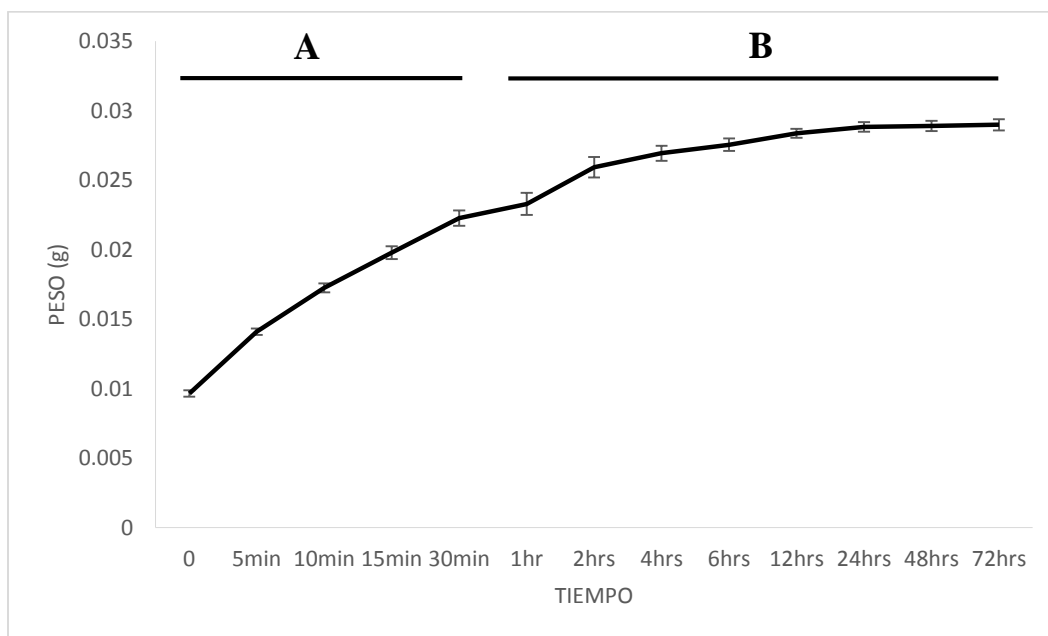


Fig. 11. Curva de imbibición de 72 horas de semillas de *H. inuloides* de la colecta de Las Ánimas \pm e. e. Se observa que la entrada de agua los primeros 30 minutos (A) es significativamente diferente a la entrada de agua durante los tiempos siguientes (B).

8.1.2. ALMACENAMIENTO

Contenido de humedad

Se presentaron diferencias significativas entre los tiempos de almacenamiento ($P= 0.0040$, Kruskal-Wallis) (Fig. 12, Cuadro 3).

Durante el periodo de almacenamiento evaluado, el contenido de humedad promedio se mantuvo generalmente por debajo del 5%. Hubo diferencias significativas entre las temperaturas de almacenamiento y el menor porcentaje fue registrado en la temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($P=0.0203$, Kruskal-Wallis). Sin embargo, en todas las condiciones de almacenamiento evaluadas se mantuvo un contenido de humedad adecuado para poder almacenar la semilla durante al menos 12 meses.

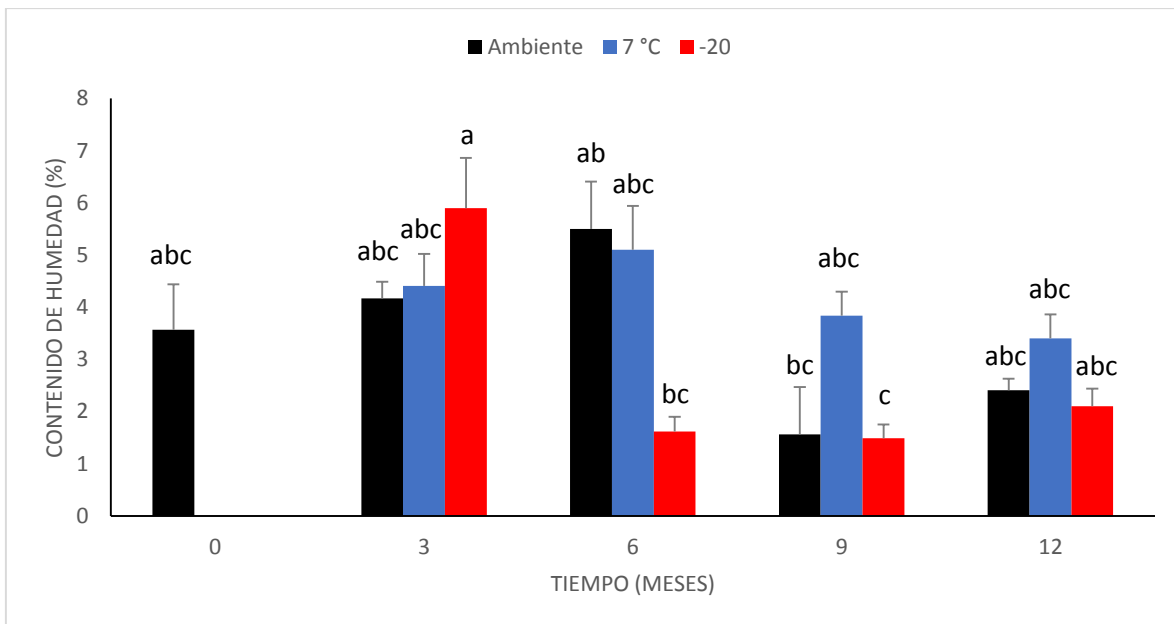


Fig. 12. Contenido de humedad de semillas de *H. inuloides* recién colectadas y almacenadas durante 3, 6, 9 y 12 meses + e. e. Letras diferentes denotan diferencias significativas ($\alpha= 0.05$).

Cuadro 3. Contenido de humedad de semillas de *H. inuloides* recién colectadas y a los 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento \pm e. e.

	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	Recién colectada
<i>Ambiente (26 °C)</i>	4.17 \pm 0.31%	5.49 \pm 0.91%	1.56 \pm 0.1 %	2.41 \pm 0.22%	3.6 \pm 0.87%
7 °C	4.41 \pm 0.61%	5 \pm 0.83%	3.84 \pm 0.45%	3.46 \pm 0.46%	
-20 °C	5.9 \pm 0.96%	1.62 \pm 0.28%	1.49 \pm 0.26%	2.1 \pm 0.34%	

Viabilidad

Después de 12 meses de almacenamiento se mantuvo la viabilidad con respecto de las semillas recién colectadas, sin embargo, se observó una disminución a partir los 9 meses de almacenamiento a la temperatura de -20 °C, por lo que periodos largos de almacenamiento a esta temperatura no son recomendables

Existen diferencias significativas en cuanto al tiempo de almacenamiento y temperaturas de almacenamiento ($P= 0.2500$, Kruskal-Wallis) y las semillas recién colectadas presentan el mayor porcentaje de viabilidad con respecto al resto de semillas almacenadas (temperatura ambiente, 7 °C y -20 °C) ($P= 4.1499 \times 10^{-9}$, Kruskal-Wallis). (Fig.13, Cuadro 4).

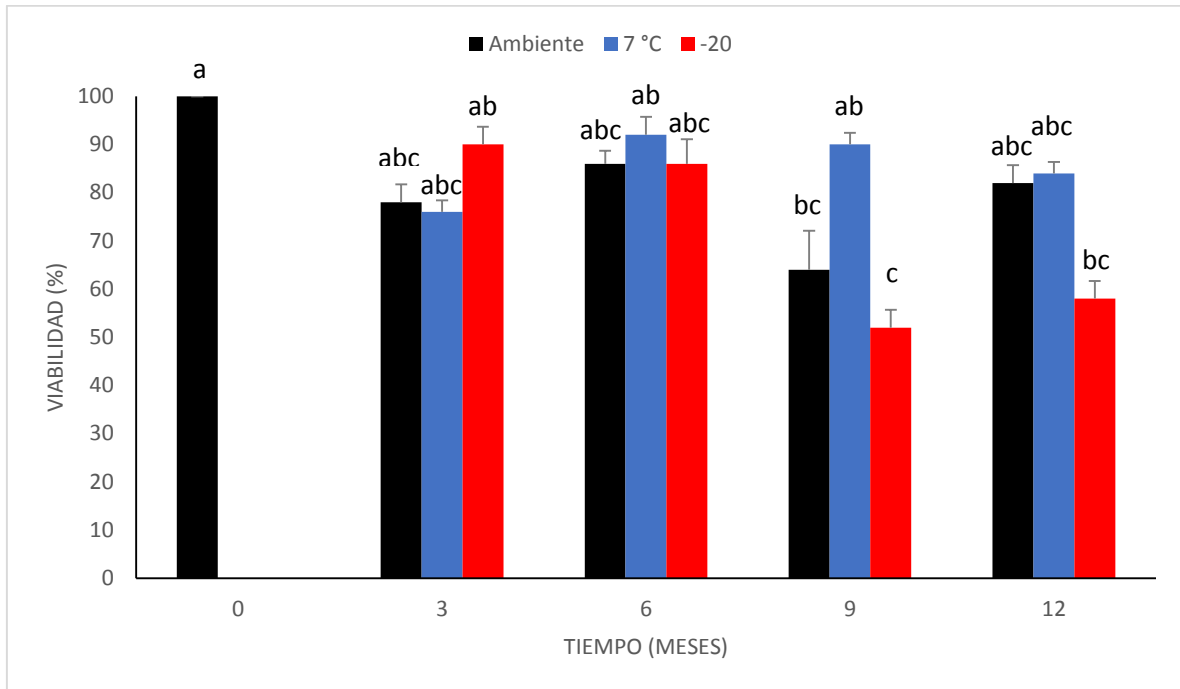


Fig. 13. Porcentaje de viabilidad de semillas de *H. inuloides* recién colectadas y almacenadas durante 3, 6, 9 y 12 meses + e. e. Letras diferentes denotan diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).

Cuadro 4. Porcentaje de viabilidad de semillas de *H. inuloides* recién colectadas y a los 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento \pm e. e.

	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	Recién colectada
Ambiente (26 °C)	78 \pm 3.7%	86 \pm 2.4%	64 \pm 8.1%	82 \pm 3.7%	100%
7 °C	76 \pm 2.4%	92 \pm 3.7%	90% \pm 2.4%	84 \pm 2.4%	
-20 °C	90 \pm 3.1%	86% \pm 5%	52% \pm 3.7%	58 \pm 3.7%	

Germinación

Después de 12 meses de almacenamiento se observó que se mantuvo la capacidad germinativa respecto a las semillas recién colectadas en la temperatura de almacenamiento de 7 °C (refrigerador), a diferencia de las condiciones de temperatura ambiente (donde hubo una porcentaje de germinación menor a los 3 y 9 meses) y -20 °C donde conforme avanzó el tiempo de almacenamiento, disminuyó la capacidad germinativa (Fig.14, Cuadro 5). Esta respuesta coincide con los resultados obtenidos en la viabilidad, donde el almacenamiento a 7 °C (refrigerador) fue la condición más favorable.

Se encontraron diferencias significativas entre los tiempos y temperaturas de almacenamiento con respecto a la semilla recién colectada ($P= 0.3421$, Kruskal-Wallis).

Con base en estos resultados se podría recomendar a los productores almacenar la semilla de árnica en el refrigerador (7 °C) en lugar de mantenerlas a temperatura ambiente para conservar su viabilidad al menos por un año.

H. inuloides presentó porcentajes de germinación altos en las semillas recién colectadas y almacenadas durante un año en contraste con lo que se ha reportado para la semilla de *Arnica montana* (Vârban *et al.*, 2012), cuya capacidad germinativa es muy baja en las semillas recién colectadas (45 y 38%), al menos a los 4 meses después la colecta, lo que explica que pueden estar en un periodo de latencia posterior a su dispersión. En este aspecto es recomendable utilizar las semillas de *H. inuloides* para una producción inmediata a la fecha de colecta, además de que la capacidad germinativa de las semillas recién colectadas de *H. inuloides* es mucho más alta (casi 100%) comparada con la reportada en experimentos anteriores con *Arnica montana* de Vârban *et al.*, 2012.

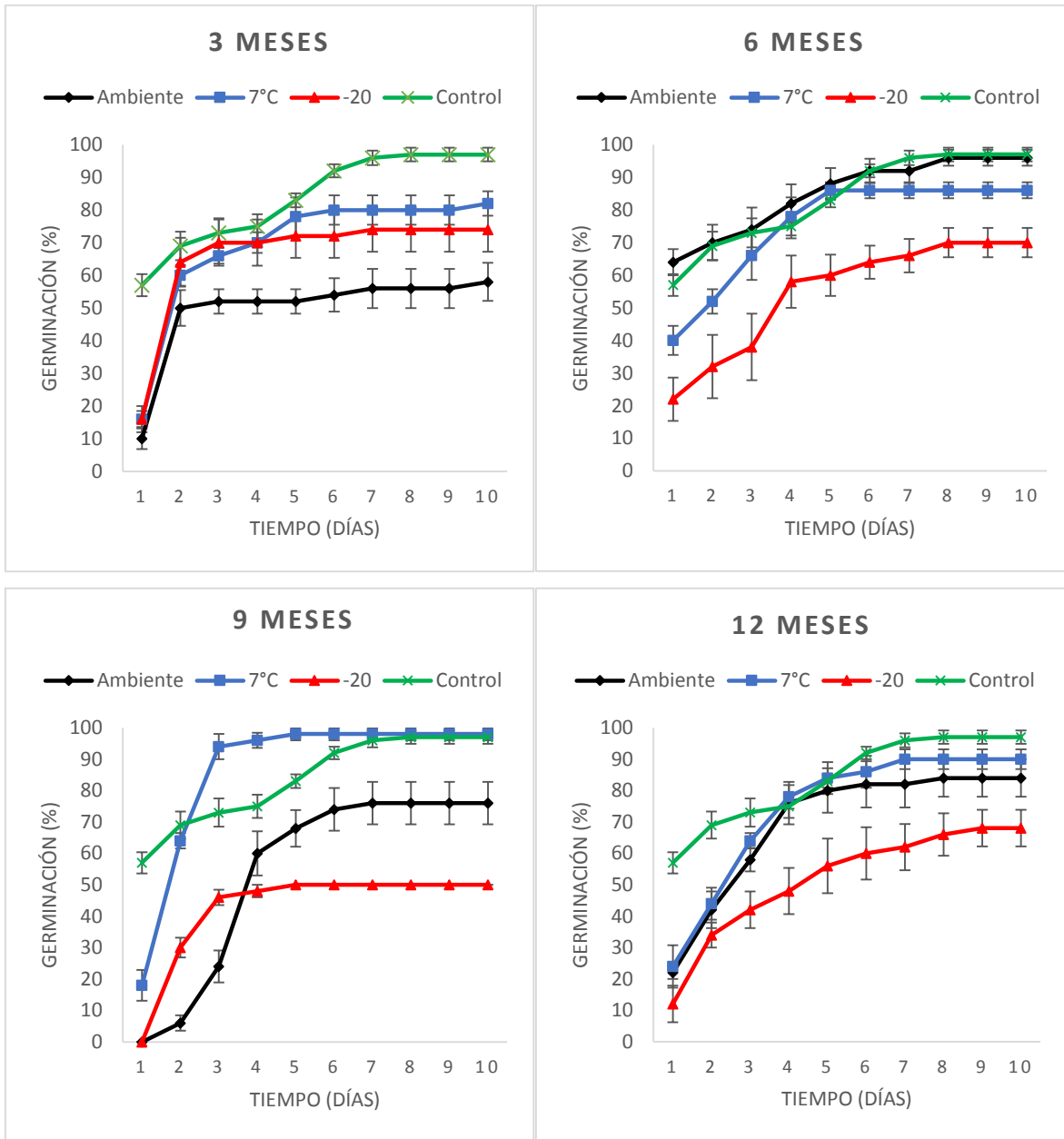


Fig. 14. Curvas de germinación de semillas de *H. inuloides* recién colectadas y almacenadas durante 3, 6, 9 y 12 meses \pm e. e.

Cuadro 5. Capacidad germinativa (Ymax) de semillas de *H. inuloides* recién colectadas y almacenadas durante 3, 6, 9 y 12 meses \pm e. e.

Letras distintas denotan diferencias significativas ($\alpha= 0.05$).

	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	Recién colectada
Ambiente (26 °C)	58 \pm 5.8% bc	96 \pm 2.4% a	76 \pm 6.7 % abc	84 \pm 6% abc	97 \pm 2.1% a
7 °C	82 \pm 3.7% abc	86 \pm 2.4% ab	98 \pm 4.4% a	90 \pm 3.1% abc	
-20 °C	74 \pm 6.7% abc	70 \pm 4.4% abc	50% c	68 \pm 5.8% abc	

Se tiene reportado para tres especies de margaritas: *Schoenia filifolia*, *Rhodanthe chlorocephala* y *Craspedia* sp. (Asteraceae), originarias de Australia, que el almacenamiento a menos de 18 meses y a bajas temperaturas (5 y 15 °C) aumenta el contenido de humedad, reduce la viabilidad y no promueve la germinación, mientras que el almacenamiento a altas temperaturas (25 y 38 °C) disminuye el contenido de humedad, mantiene la viabilidad y promueve la germinación por lo que se concluye que el almacenamiento en seco a altas temperaturas es importante para romper latencia en semillas de Asteraceae de algunas zonas áridas (Peishi *et al.*, 1999). Esto discrepa de los resultados encontrados en este estudio en los cuales el almacenamiento a 12 meses en frío conservó un contenido de humedad adecuado, la viabilidad y la capacidad germinativa de *H. inuloides*, pero a temperaturas aún más bajas (-20 °C) se ve disminuida la viabilidad y la capacidad germinativa, lo cual puede relacionarse con sus zonas de distribución que no corresponden a zonas áridas sino templadas.

Las semillas de margaritas utilizadas en un experimento realizado por Peishi *et al.* (1999) no germinaron inmediatamente después de su dispersión en primavera, sino hasta las lluvias de otoño y el almacenamiento a altas temperaturas promovió la germinación simulando las altas temperaturas del verano en zonas áridas. De esta manera, se sugiere que la semilla de *H. inuloides* no presenta ningún tipo de latencia aparentemente

relacionada con su dispersión y el clima prevaleciente en su área de origen y se ve favorecida al ser almacenada a bajas temperaturas obedeciendo la generalidad de que las semillas ortodoxas prefieren un almacenamiento en frío y seco para reducir su deterioro, no obstante, el almacenamiento a temperaturas muy frías (-20 °C) disminuyen a largo plazo la viabilidad y capacidad germinativa, por lo que si se desea almacenar las semillas a corto plazo (máximo 3 meses) se recomienda temperaturas por debajo de los 0 °C.

La velocidad de germinación (VG) más alta fue la del control (68.5), es decir, la de la semilla recién colectada que también obtuvo la mayor capacidad germinativa (97%), seguida por el tratamiento de 6 meses a temperatura ambiente (72.7), cuya viabilidad y capacidad germinativa también fueron las más altas, no obstante, en general, las velocidades más altas de germinación fueron obtenidas en la temperatura de 7° C, concordando con lo antes mencionado de que es la condición recomendada para el almacenamiento de las semillas de *H. inuloides* ya que a esta temperatura se obtienen mejores resultados a largo plazo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Velocidad de germinación máxima (VG) para la semilla de *H. inuloides* entre tratamientos de almacenamiento y condiciones de temperatura.

Tiempo	Tratamiento	Velocidad de germinación (VG)
3 meses	Ambiente (26 °C)	31.2
	7 °C	43.1
	-20 °C	42.7
6 meses	Ambiente (26 °C)	72.7
	7 °C	55.3
	-20 °C	35.8
9 meses	Ambiente (26 °C)	20.8
	7 °C	51.9
	-20 °C	21.2
12 meses	Ambiente (26 °C)	43.2
	7 °C	46.3
	-20 °C	30.4
Control		68.5

Estudios recientes han reportado que las semillas con un tamaño relativamente grande tienen una gran cantidad de reservas para promover una rápida germinación y generar una plántula de buen tamaño, con mejor tolerancia a la sombra y al daño físico (Leishman *et al.*, 2000). Sin embargo, en *H. inuloides*, a pesar de tener semillas pequeñas, se observó una velocidad de germinación alta y se alcanzó la capacidad germinativa máxima (Ymax) en

muy poco tiempo (10 días), por lo que la semilla debe tener gran cantidad de reservas para la germinación, esto concuerda con lo visto en la prueba de imbibición en donde se observó que la entrada de agua a la semilla ocurre en poco tiempo y se triplicó el peso seco de la misma, por lo que se sugiere que tiene un gran contenido proteico.

8.1.3. FOTOBLASTISMO

Se observó un alto porcentaje de germinación en las cuatro condiciones lumínicas, siendo la luz roja en la que se presenta el mayor porcentaje (99%) y la luz blanca el menor (87%). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y las semillas germinaron en todas las condiciones, por lo que la semilla se considera fotoblástica indiferente ($P=0.07$, Kruskal-Wallis). (Fig.15, Cuadro 7).

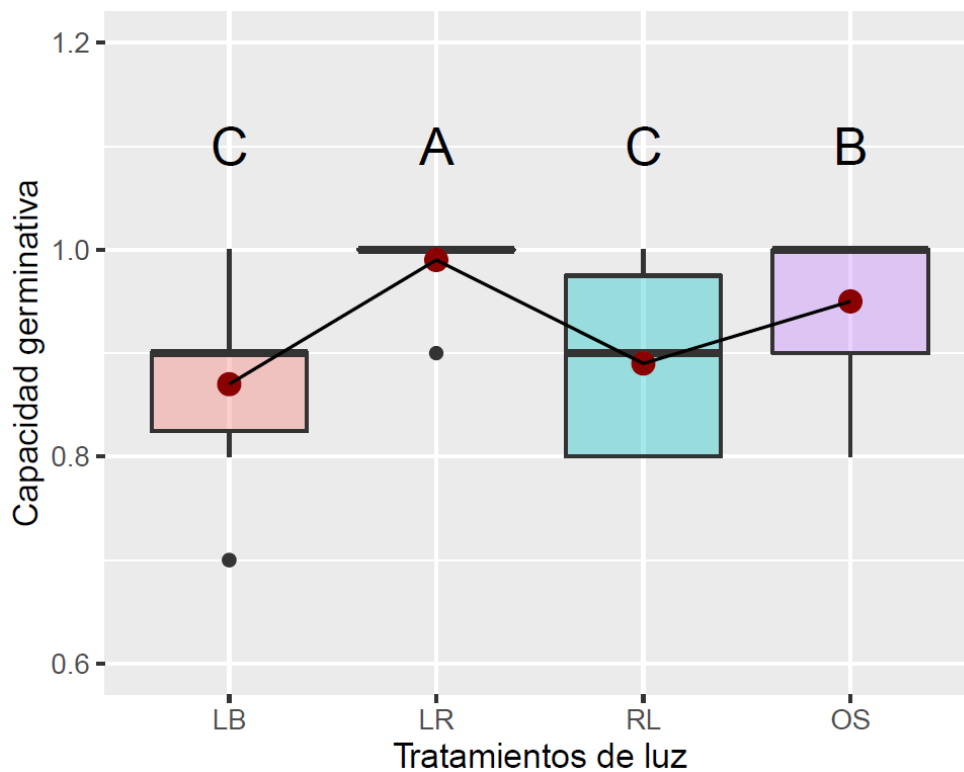


Fig. 15. Gráfica de caja del efecto de tratamientos de luz sobre la capacidad germinativa de semillas de *H. inuloides*. Los puntos rojos señalan el promedio por tratamiento, letras distintas denotan diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).

Cuadro 7. Capacidad germinativa (Ymax) de semillas de *H. inuloides* sometidas a diferentes condiciones lumínicas \pm e. e.

<i>Tratamiento</i>	<i>Porcentaje de germinación</i>
Luz roja	99 \pm 1.4%
Luz roja lejana	89 \pm 2.6%
Oscuridad	95 \pm 2.6%
Luz blanca	87 \pm 3.9%

Se observó un alto porcentaje de germinación de las semillas en cualquier condición lumínica evaluada, lo que demuestra una respuesta fotoblástica indiferente.

Se ha observado en estudios previos (Afolayan *et al.*, 1997), que en otras especies de uso medicinal de la familia Asteraceae como *H. aureonitens*, la oscuridad tiene un efecto negativo en la germinación y en cambio con luz blanca las semillas germinan un 10% más aproximadamente, lo que contrasta con lo visto en este estudio. Se sugiere que el estímulo de luz en esta especie con semillas pequeñas es ecológicamente efectivo ya que la germinación a una gran profundidad del suelo puede resultar en la muerte de la planta debido a una reserva endospermica insuficiente. Esta relación entre los requerimientos de luz y el tamaño de la semilla ha sido reportado anteriormente para varias especies de árboles y plantas herbáceas de Europa y América Central (Milberg *et al.*, 2000; Pearson *et al.*, 2002; Jankowska- Blaszczuk y Daws, 2007).

Debido a que en *H. inuloides* la calidad de luz no afectó significativamente la capacidad germinativa a pesar de ser una semilla pequeña, no endospermica, con una rápida entrada de agua a la semilla y rápida germinación, se especula que contiene un embrión rico en reservas para la germinación, el desarrollo y supervivencia de la plántula.

8.1.4. PRIMING

Los tratamientos de priming con los mejores resultados fueron el osmopriming de -3atm y -6atm, el termopriming a temperatura ambiente y el hormopriming con giberelinas en ambas concentraciones, 50ppm y 100ppm.

Osmopriming

Entre los días de germinación se observó que la diferencia significativa se presentó en los primeros 3 días de germinación, los cuales difieren y forman un grupo aparte del resto de los días ($P=0$, Kruskal-Wallis).

En cuanto a tratamientos hubo una diferencia significativa observada en el hidropriming (agua) con una menor germinación en comparación a -3atm y -6atm, dentro de los cuales no existen diferencias significativas ($P= 0.0089$, Kruskal-Wallis) (Fig.16, Cuadro 8).

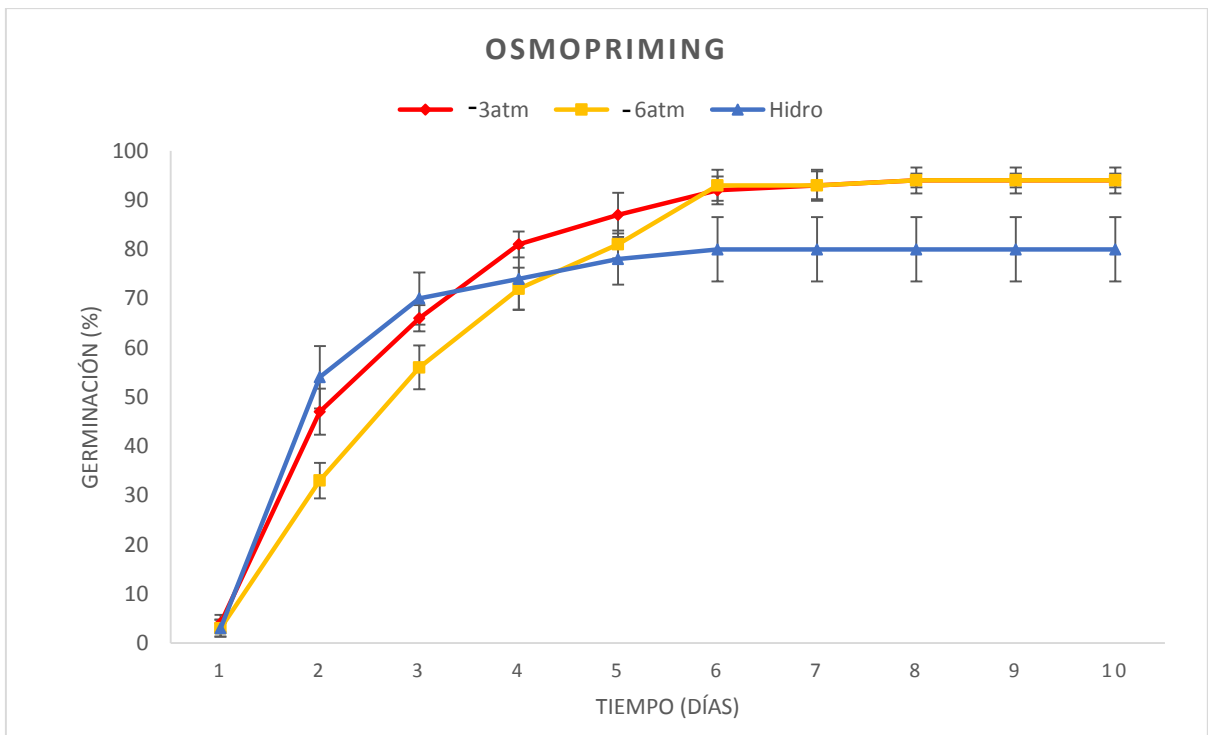


Fig. 16. Curvas de germinación de semillas de *H. inuloides* sometidas a diferentes tratamientos de priming osmótico \pm e. e.

Cuadro 8. Capacidad germinativa (Y_{max}) de semillas de *H. inuloides* sometidas a diferentes tratamientos de priming osmótico \pm e. e.

Osmopriming

-3atm	-6atm	Hidropriming
94 \pm 1.4%	94 \pm 2.6%	80 \pm 6.6%

La salinidad es uno de los factores abióticos que más afecta la producción de cultivos en áreas áridas y semiáridas. La germinación de la semilla y el crecimiento de la plántula son etapas muy sensibles a la salinidad y este estrés causa cambios fisiológicos y bioquímicos adversos en la semilla que está germinando. Esta salinidad puede retrasar o inhibir la germinación por varios factores como la reducción de agua disponible, cambios en la movilización de sustancias de reserva y afectar la organización estructural de las proteínas (Ibrahim, 2016).

Se ha reportado para algunas especies de la familia Asteraceae que el priming osmótico con diversos reactivos a altas concentraciones como NaCl, CaCl₂ y ZnSO₄ no favorece la velocidad de germinación y la capacidad germinativa máxima como lo hace normalmente el hidropriming, es decir, la salinidad en altas concentraciones en el medio no promueve una mejor germinación en algunas especies (Nasiri *et al.*, 2014; Amoo-Zad-Khalili *et al.*, 2013; Mirlotfi *et al.*, 2015).

En el presente trabajo el hidropriming presentó una menor capacidad germinativa que las semillas tratadas con otro tipo de priming osmótico por lo que se sugiere que el manitol a bajas concentraciones es una mejor alternativa para este tipo de priming en semillas de la familia Asteraceae a diferencia de otras sustancias que aumentan la salinidad del medio. Esto coincide con un estudio realizado por Afzal *et al.* (2011) con semillas de *Tagetes* spp., en el cual éstas fueron tratadas con manitol al 2, 4 y 6% por 24 horas y con un secado posterior a 30 °C. El tratamiento con manitol al 2 y 4% arrojó mejores porcentajes finales de germinación (>80%) comparado con las semillas no tratadas (<50%) y las semillas tratadas con manitol al 6% (<80%) por lo que es posible que este tipo de osmopriming a bajas concentraciones promueva una mejor difusión del agua a la semilla y por lo tanto una mejor capacidad germinativa y desarrollo de plántulas en comparación con semillas no

tratadas como se observa en este estudio para *H. inuloides* y en general para la familia Asteraceae.

Termopriming

Se encontraron diferencias significativas entre los días de germinación, conformándose dos bloques, uno entre los días 1-5 y otro entre los días 6-10 ($P=0$, Kruskal-Wallis).

Entre los tratamientos cada uno difiere significativamente de otro, siendo el más favorable el de temperatura ambiente ($26\text{ }^{\circ}\text{C}$), seguido de $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ y finalmente $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ con el menor porcentaje de germinación ($P=0$, Kruskal-Wallis) (Fig. 17, Cuadro 9).

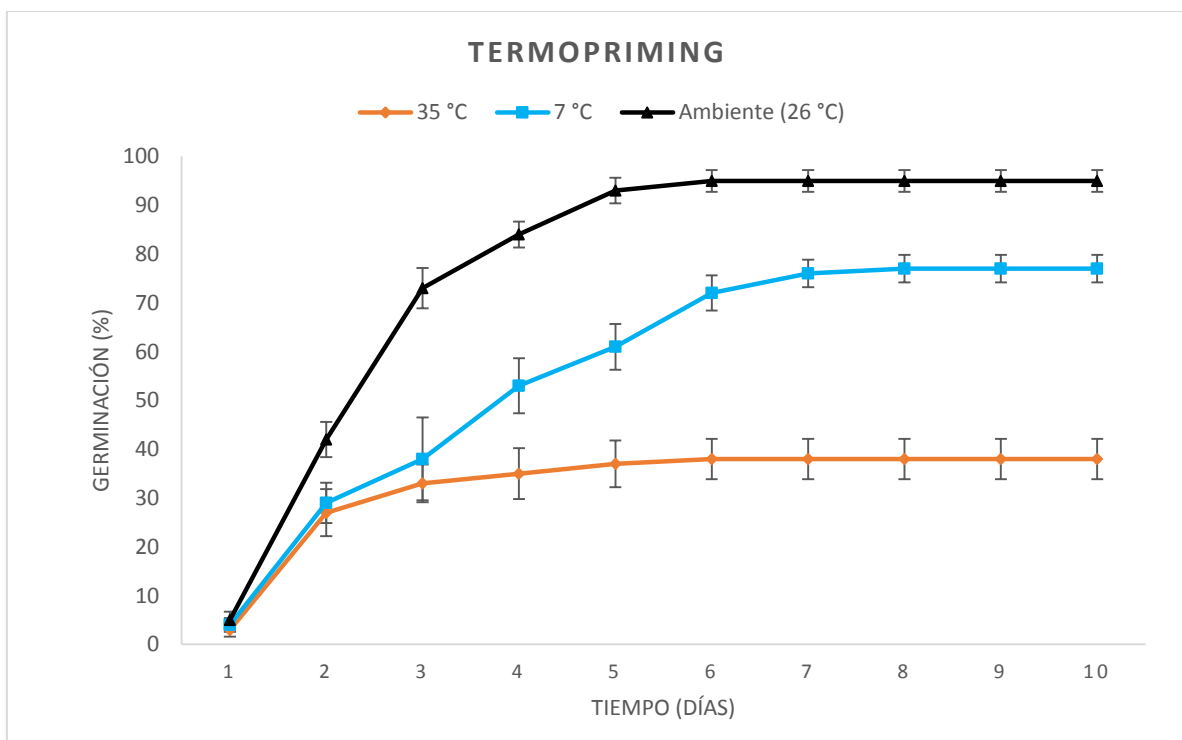


Fig. 17. Curvas de germinación de semillas de *H. inuloides* sometidas a diferentes tratamientos de priming térmico \pm e. e.

Cuadro 9. Capacidad germinativa (Ymax) de semillas de *H. inuloides* sometidas a diferentes tratamientos de priming térmico \pm e. e.

Termopriming

35 °C	7 °C	Ambiente (26 °C)
38 \pm 4.1%	77 \pm 2.8%	95 \pm 2.2%

La temperatura es uno de los factores críticos que determinan el éxito o fracaso en el establecimiento de una planta. Como se ha observado en otros estudios de germinación a diferentes temperaturas en semillas de la familia Asteraceae, existe un rango de temperaturas en la cual la semilla responde mejor.

Afolayan y colaboradores en 1997, reportaron que la semilla de *Helichrysum aureonitens* (Asteraceae) responde mejor en un rango de 25-30 °C y que a 35 °C la semilla tiene un pobre desempeño reportando un 1% de capacidad germinativa, por lo que esta semilla es muy sensible a altas temperaturas. Esto concuerda con lo visto para *H. inuloides* en donde la capacidad germinativa de la semilla expuesta a altas temperaturas se vio afectada negativamente aunque no tan drásticamente como en *H. aureonitens*.

De la misma manera Zarghani *et al.* (2014) reportaron para semillas de cinco especies de la familia Asteraceae un rango de germinación óptimo que va de 15-35 °C, siendo sólo dos especies las únicas que germinaron a temperaturas superiores a 35 °C y ninguna de las dos superando el 25% de capacidad germinativa. Se menciona que la baja capacidad germinativa a altas temperaturas es asociada a altas concentraciones de ácido abscísico, que inhibe la germinación actuando sobre la absorción de agua debido a que previene el debilitamiento de la pared celular (Schopfer y Plachy, 1985).

Hormopriming

Se observó que la germinación fue acelerada con este tratamiento al encontrar que entre los días de germinación hay dos bloques, uno conformado por los días 1-2 y otro conformado por los días 3-10 (P=0, Kruskal-Wallis).

Se observó que entre tratamientos las giberelinas tuvieron mejores resultados y aceleraron la germinación con respecto a las auxinas y el control (hidropriming). Entre concentraciones

de giberelinas no existen diferencias significativas (50 ppm o 100 ppm) ($P=0$, Kruskal-Wallis) (Fig. 18, Cuadro 10).

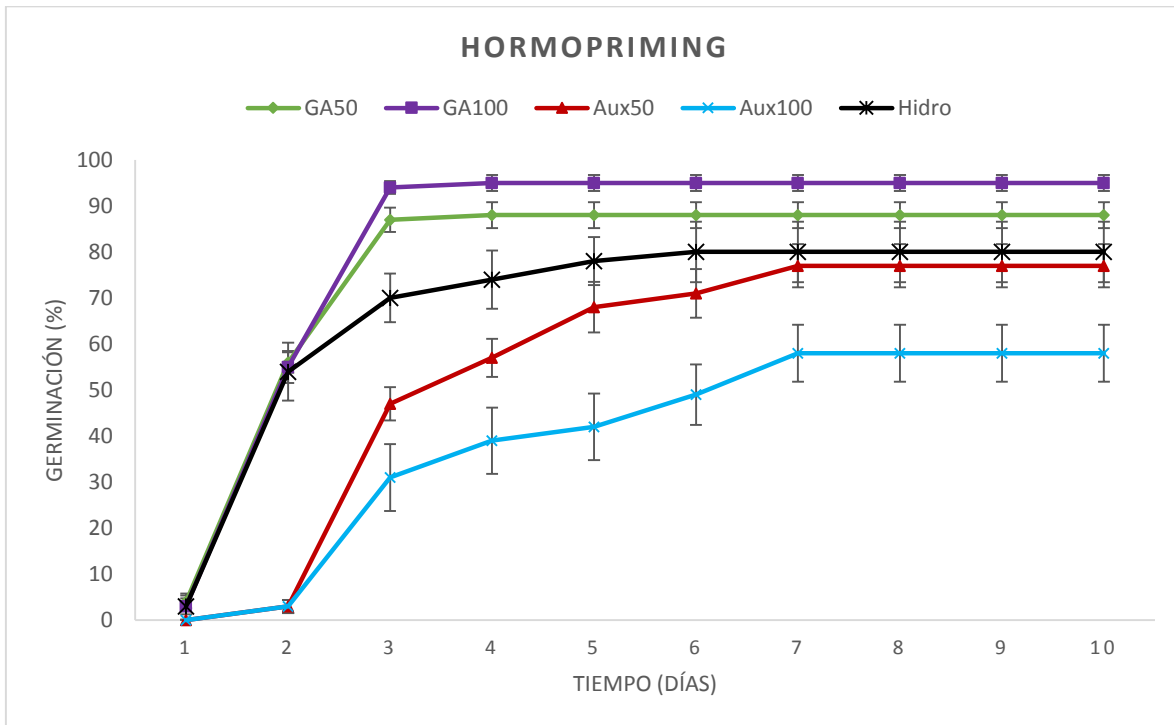


Fig. 18. Curvas de germinación de semillas de *H. inuloides* sometidas a diferentes tratamientos de hormopriming \pm e. e.

Cuadro 10. Capacidad germinativa (Y_{max}) de semillas de *H. inuloides* sometidas a diferentes tratamientos de hormopriming \pm e. e.

Hormopriming

GA50	GA100	Aux50	Aux100	Hidropriming
88 \pm 2.8%	95 \pm 1.7%	77 \pm 4.7%	58 \pm 6.2%	80 \pm 6.6%

Las fitohormonas son sustancias químicas que actúan en concentraciones bajas y afectan la función de diferentes tipos celulares, tejidos u órganos. La imbibición de semillas en concentraciones adecuadas de hormonas vegetales ha mostrado ser un método exitoso para el crecimiento de algunas especies de plantas, aumentando su reserva nutrimental debido al aumento de actividades fisiológicas y proliferación de la raíz (Afzal *et al.*, 2005).

Se ha comprobado que el ácido giberélico (GA), particularmente GA₃ juega un rol muy importante en la regulación de la germinación de las semillas. Las giberelinas pueden reemplazar el requerimiento de factores ambientales que se requieren para la germinación en semillas latentes, incluyendo la luz y la temperatura (Da Silva *et al.*, 2005) y de acuerdo con Benech-Arnold y Sanchez (2004) un incremento en los niveles de GA en la semilla puede estimular procesos metabólicos en el embrión y en el endospermo que desencadenen la germinación.

H. inuloides presentó una aceleración en la germinación y mayor capacidad germinativa en el tratamiento con giberelinas. Esto concuerda con estudios previos de semillas de la familia Asteraceae tratadas con GA₃, como el realizado por Ha (2014) en donde reporta para dos especies de la familia Asteraceae que el tratamiento a las semillas de *Brunonia australis* con giberelinas acelera la germinación y rompe una latencia impuesta en ciertas semillas de colectas recientes que presentan baja capacidad germinativa, del mismo modo en este estudio se realizó un tratamiento a las semillas de *Rhodanthe floribunda* obteniendo un porcentaje de germinación final mucho más alto (60%) en semillas tratadas con GA₃ 100mg.L⁻¹ respecto a semillas sin tratamiento (5%) por lo que el priming con giberelinas es altamente recomendable en semillas de la familia Asteraceae que presenten algún tipo de latencia por ser de una colecta reciente (como las semillas de *A. montana* por ejemplo) o para acelerar y optimizar su capacidad germinativa.

Se observó en este trabajo que las semillas de *H. inuloides* no presentan esta latencia por ser de una colecta reciente, sin embargo, su capacidad germinativa y velocidad de germinación se ve favorecida al ser tratada con giberelinas, aunque deben realizarse más estudios a diferentes concentraciones para determinar cuál es la concentración óptima.

Las auxinas por otro lado no afectaron de manera positiva la velocidad y capacidad germinativa en *H. inuloides* por lo que no es recomendable su uso para esta especie. Las auxinas parecen jugar un papel más activo en la embriogénesis y aunque los datos moleculares y genéticos recientes apoyan un papel esencial de las auxinas en la formación de un patrón basal-apical durante la embriogénesis, a nivel molecular hacen falta estudios que dilucidan el papel de las auxinas durante la germinación de la semilla (Fischer-Iglesias y Neuhaus, 2001; Teale *et al.*, 2005).

Tratamientos de priming con mejores resultados

Los osmopriming de -3atm y -6atm fueron los tratamientos con los que se obtuvo mejor capacidad germinativa para *H. inuloides*, ambos con el 94% de germinación final. De igual manera, con el tratamiento de giberelinas en ambas concentraciones la capacidad germinativa final fue alta, especialmente a 100ppm (95%) y además aceleró la velocidad de germinación con respecto a los demás tratamientos. Por último, la siembra con termopriming a temperatura ambiente mostró ser un tratamiento efectivo en comparación a 35 °C y a 7 °C.

Las velocidades de germinación más altas fueron las registradas para giberelinas en ambas concentraciones, asimismo, a los 4 días de registro se alcanzó la capacidad germinativa máxima en ambas concentraciones, siendo el tratamiento en alcanzar su capacidad germinativa máxima en el menor tiempo (Cuadro 11).

Cuadro 11. Velocidad de germinación máxima (VG) de semillas de *H. inuloides* entre tratamientos de priming con los mejores resultados.

Tratamiento	Velocidad de germinación (VG)									
	V24	V48	V72	V96	V120	V144	V168	V192	V216	V240
3atm	4	25.5	31.8	35.6	36.8	37.6	37.7	37.8	37.8	37.8
6atm	3	18	25.6	29.6	31.5	33.5	33.5	33.6	33.6	33.6
T. ambiente	5	23.5	33.8	36.6	38.4	38.7	38.7	38.7	38.7	38.7
Ga50	4	30	40.3	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6	40.6
Ga100	3	29	42	42.3	42.3	42.3	42.3	42.3	42.3	42.3

Cuadro 12. Capacidad germinativa (Ymax) de semillas de *H. inuloides* entre tratamientos de priming con los mejores resultados \pm e. e.

Mejores tratamientos

-3atm	-6atm	Ambiente (26 °C)	GA50	GA100
94 \pm 1.4%	94 \pm 2.6%	95 \pm 2.2%	88 \pm 2.8%	95 \pm 1.7%

8.1.5. RECOMENDACIONES A LOS PRODUCTORES

- Las semillas de *H. inuloides* obtuvieron buenos porcentajes de germinación en ambos sustratos utilizados, papel y agar, no obstante, en agar se alcanza la máxima capacidad germinativa en menor tiempo, por lo que es preferible el uso de este sustrato si es posible.
- Las semillas resultaron ser permeables por lo que no se requiere ningún método de escarificación.
- El contenido de humedad, la viabilidad y la capacidad germinativa se mantuvieron en porcentajes altos en relación con las semillas recién colectadas cuando fueron almacenadas en frío (7 °C) durante un año, sin embargo, si las semillas no se quieren almacenar por largos periodos de tiempo o no se cuenta con un refrigerador, guardarlas a temperatura ambiente (26 °C) es la opción más viable.
- Las semillas de árnica son fotoblásticas indiferentes pero su capacidad germinativa se ve ligeramente beneficiada al ponerlas a germinar en luz roja y oscuridad.
- Al aplicar a las semillas un tratamiento pre-germinativo con manitol a -3atm o -6atm se mejoran la capacidad y la velocidad germinativa.
- De igual manera, con un tratamiento de ácido giberélico (BIOGIB® 10 PS) a 50 o 100 ppm se mejora significativamente la capacidad y la velocidad germinativa.
- No se recomienda colocar las semillas a germinar a temperaturas muy altas o muy bajas, es mejor colocarlas a germinar a temperatura ambiente (26 °C) o temperaturas cercanas a ésta.

8.2. HINOJO

8.2.1. SEMILLAS RECIÉN COLECTADAS

Tamaño

El tamaño promedio de la semilla fue de 5.02 ± 0.08 mm en el eje longitudinal y 1.99 ± 0.02 mm en el eje transversal. Se determinó que es una semilla endospérmica que se desarrolla en frutos indehiscentes de nombre esquizocarpo; se ha reportado su tamaño en un rango de 3.5 a 6 mm de largo (Osuna *et al.*, 2014), dentro del cual se encuentra el tamaño promedio obtenido en este trabajo (Fig. 19 y 20).



Fig. 19. Frutos-semilla endospérmica (esquizocarpo) de *F. vulgare*.



Fig. 20. Embriones extraídos de semillas de *F. vulgare*.

Peso de mil semillas

El peso de mil semillas fue de 3.63 g En *F. vulgare* se reportó el peso de mil semillas de 3.5784g (Jardín Botánico de Kew), el cual se acerca mucho al obtenido en este trabajo, cuya variación puede deberse a embriones inmaduros y semillas inmaduras o semillas vanas.

Contenido de humedad

Se obtuvo un $4.7 \pm 0.31\%$ de humedad en la semilla de la colecta de San Gregorio Atlapulco, Xochimilco de 2014.

De la misma manera que la semilla de árnica, la semilla de *F. vulgare* presentó un porcentaje de contenido de humedad inferior al 5%, por lo tanto es posible almacenar la semilla ya que posee el contenido de humedad requerido para clasificarla como semilla ortodoxa (Hong y Ellis, 1995).

Viabilidad

Se obtuvo un $63 \pm 0.53\%$ de viabilidad en la colecta de San Gregorio Atlapulco, Xochimilco de 2014. Este lote presentó el mayor porcentaje de viabilidad, por lo tanto, se utilizó para las pruebas de almacenamiento y germinación.

Se obtuvo un $52 \pm 0.37\%$ de viabilidad en la colecta de Topilejo 2014. Este lote se utilizó para la prueba de germinación agar vs papel debido a que no se contaba con suficiente material del lote de San Gregorio Atlapulco para realizarla.

La baja viabilidad obtenida para las semillas de *F. vulgare* de ambos lotes expresa lo antes reportado para la semilla de hinojo, a la cual se le estima de 3 a 4 años de viabilidad en almacenamiento en condiciones óptimas al igual que otras semillas de plantas cultivadas que presentan frutos de tipo esquizocarpos como la zanahoria (*Daucus carota*, 4 años) y algunas especies del género *Malva* (2 años) (Giacconi y Escaff, 2006) y dado que la semilla fue recolectada en 2014, es natural que su viabilidad haya bajado considerablemente, esto aunado a las condiciones subóptimas de su almacenamiento previo a la entrega en el laboratorio y la calidad de la planta madre.

Germinación Agar vs. Papel

Para la colecta de Topilejo 2014 se obtuvo un $4.2 \pm 1.7\%$ de germinación en agar en comparación con el papel absorbente, donde se obtuvo un $9 \pm 2.7\%$ de germinación (Cuadro 13). Se determinó que el papel es el sustrato preferente y se procedió a realizar la prueba de viabilidad con tetrazolio a las semillas que no germinaron en agar para determinar posibles causas del bajo porcentaje de germinación. Se obtuvo $15.39 \pm 0.27\%$ de viabilidad, en donde las semillas inviables incluyen aquellas que no se tiñeron, semillas vanas, embriones inmaduros o semillas podridas

Cuadro 13. Capacidad germinativa (Y_{max}) de semillas de *F. vulgare* de la colecta de Topilejo en agar y papel \pm error estándar (e. e).

<i>Sustrato</i>	<i>Porcentaje de germinación</i>
<i>Agar</i>	$4.2 \pm 1.7\%$
<i>Papel absorbente</i>	$9 \pm 2.7\%$

Permeabilidad

El peso promedio final de la semilla de hinojo de la colecta de San Gregorio Atlapulco fue de 0.09428 g en comparación con el peso promedio inicial que fue de 0.03231 g. El análisis estadístico mostró que la primera hora de imbibición es significativamente diferente al resto de los tiempos de imbibición ($P=0.0$, Kruskal-Wallis) (Fig. 21).

Para las semillas de *F. vulgare* se observó que el peso inicial (0.03231 g) casi se triplicó al término del tratamiento (0.09428 g), por lo que la semilla es permeable, no requiere escarificación y tiene un alto contenido proteico como antes se mencionó con la semilla de *H. inuloides*, sin embargo, la entrada de agua significativa se registró una hora después de la imbibición, lo que sugiere que la cubierta a pesar de ser permeable, no permite una difusión tan rápida del agua comparada con la de *H. inuloides*, cuya velocidad máxima de imbibición ocurrió a los 30 minutos.

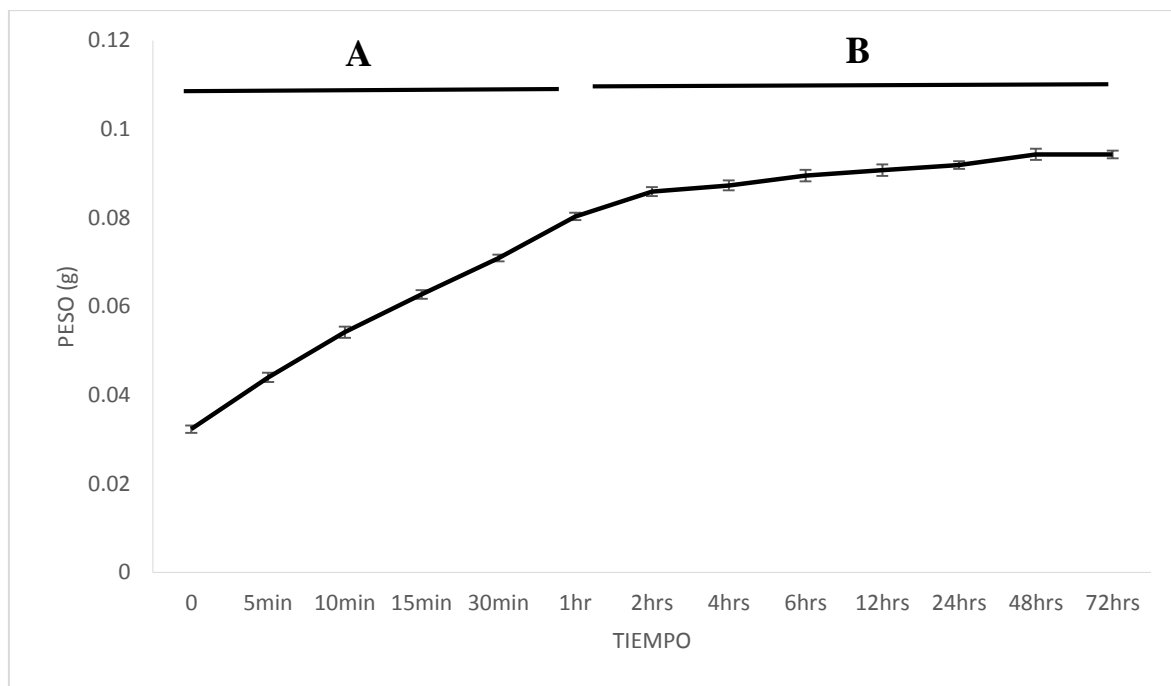


Fig. 21. Curva de imbibición de 72 horas de semillas de *F. vulgare* de la colecta de San Gregorio Atlapulco, Xochimilco \pm e. e. Se observa que la entrada de agua la primera hora (A) es significativamente diferente a la entrada de agua durante los tiempos siguientes (B).

Al término de la prueba se procedió a sembrar las semillas en 10 cajas Petri de plástico con 10 semillas cada una, con papel absorbente y 4ml de Captan al 0.2% para observar la respuesta germinativa. Se registró la germinación diariamente (Fig. 22).

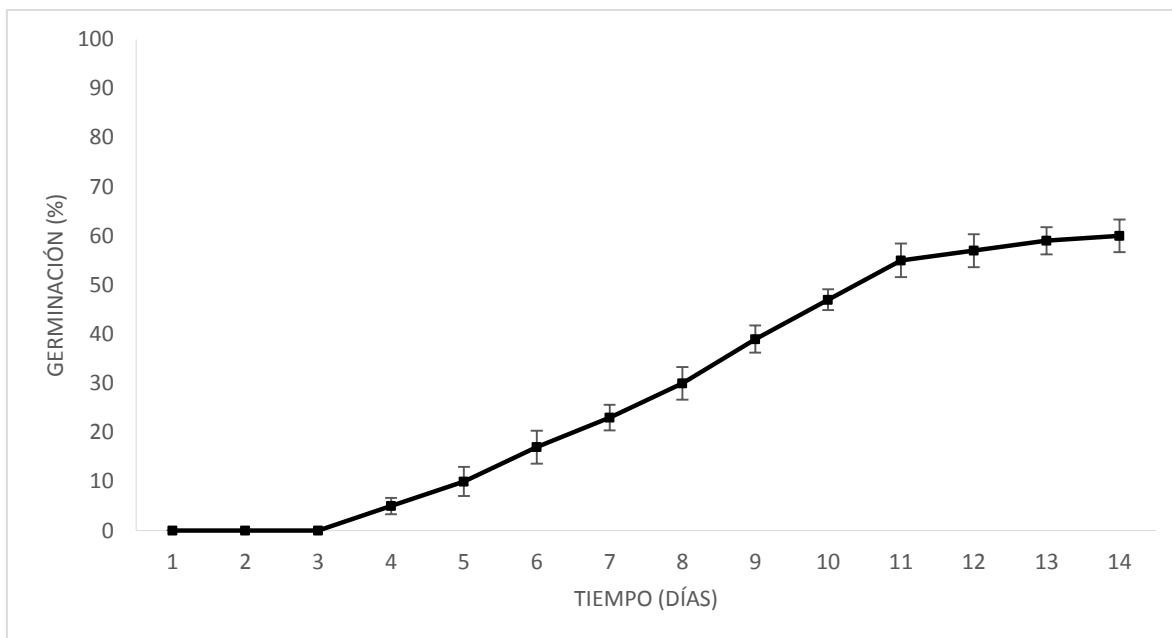


Fig. 22. Curva de germinación posterior a la imbibición de semillas de *F. vulgare* de la colecta de San Gregorio Atlapulco, Xochimilco \pm e. e.

Al paso de 14 días de registro no se presentó más respuesta germinativa, por lo tanto, se obtuvo un 60% de germinación.

8.2.2. ALMACENAMIENTO

Contenido de humedad

Durante el periodo de almacenamiento evaluado, el contenido de humedad promedio se mantuvo generalmente por debajo del 5%, se encontraron diferencias significativas entre temperaturas de almacenamiento y en el tiempo de 6 meses se observó un ligero aumento en el contenido de humedad con respecto a la semillas recién colectadas (ANDEVA y Tukey; $P < 0.05$) (Fig. 23, Cuadro 14).

Tiempo: $F = 12.20$ $P = 0.0001$; Tratamientos $F = 7.70$ $P = 0.0001$

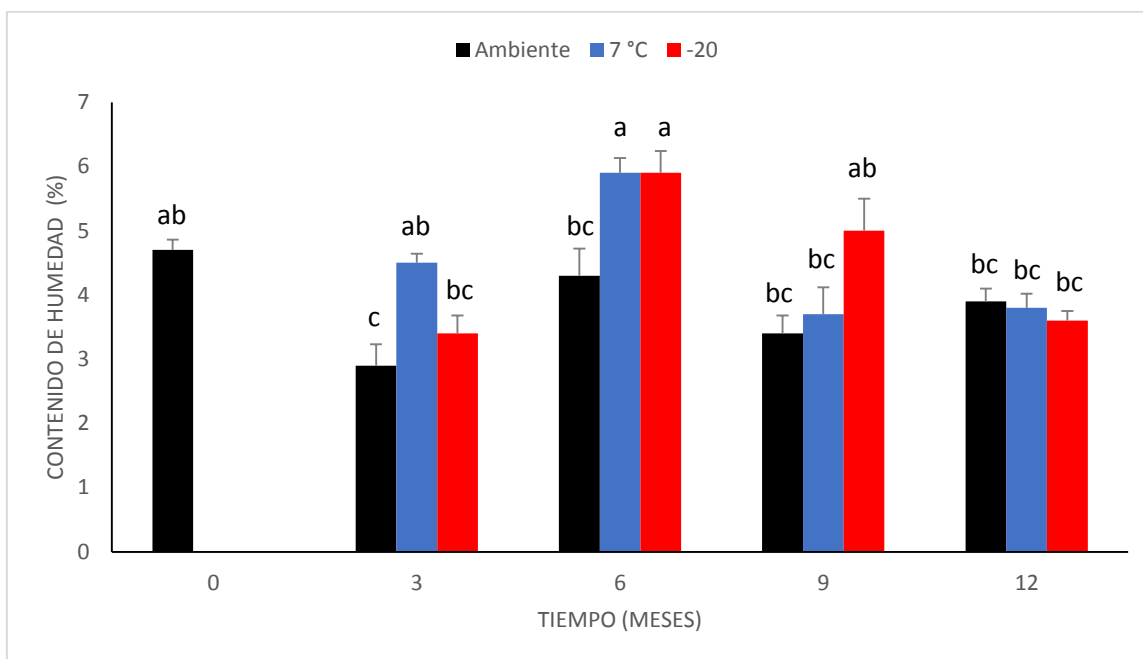


Fig. 23. Contenido de humedad de semillas de *F. vulgare* recién colectadas y almacenadas durante 3, 6, 9 y 12 meses + e. e. Letras diferentes denotan diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

Cuadro 14. Contenido de humedad de semillas de *F. vulgare* a los 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento \pm e. e.

	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	Recién colectada
Ambiente (26 °C)	2.9 \pm 0.33%	4.29 \pm 0.41%	3.4 \pm 0.28%	3.87 \pm 0.19%	4.7 \pm 0.31%
7 °C	4.5 \pm 0.14%	5.87 \pm 0.22%	3.72 \pm 0.42%	3.75 \pm 0.21%	
-20 °C	3.37 \pm 0.28%	5.89 \pm 0.33%	4.99 \pm 0.5%	3.62 \pm 0.15%	

Con base en estos resultados, las tres condiciones de almacenamiento mantuvieron un adecuado contenido de humedad durante el año de evaluación.

El aumento en el contenido de humedad a los 6 meses puede deberse a un error en la manipulación de los tubos Eppendorf y al aumento de la humedad relativa en el aire a la hora de la manipulación de las semillas.

El contenido de humedad de la semilla en todos los tratamientos disminuyó un poco al terminar los 12 meses de almacenamiento con respecto al de la semilla recién colectada, esto se contrapone con lo reportado por Rubim *et al.* (2013) en cuyo estudio se almacenaron semillas de hinojo durante un año en contenedores de vidrio sellados de la misma manera que los tubos Eppendorf, en frío y a temperatura ambiente, sin embargo, el contenido de humedad inicial (10.69%) en ambas condiciones no difiere tanto del contenido de humedad posterior a un año de almacenamiento (10.51% a temperatura ambiente y 10.73% en frío) por lo que tal vez los contenedores de vidrio mantienen un contenido de humedad más estable que los tubos Eppendorf de plástico.

Viabilidad

Se encontraron diferencias significativas entre temperaturas de almacenamiento, sin embargo, las semillas recién colectadas mostraron el mayor porcentaje de viabilidad y en el tiempo de 9 meses se presentó un porcentaje de viabilidad más uniforme en las tres temperaturas de almacenamiento con respecto a los demás tratamientos de tiempo. (P=0.0087, Kruskal-Wallis) (Fig. 24, Cuadro 15).

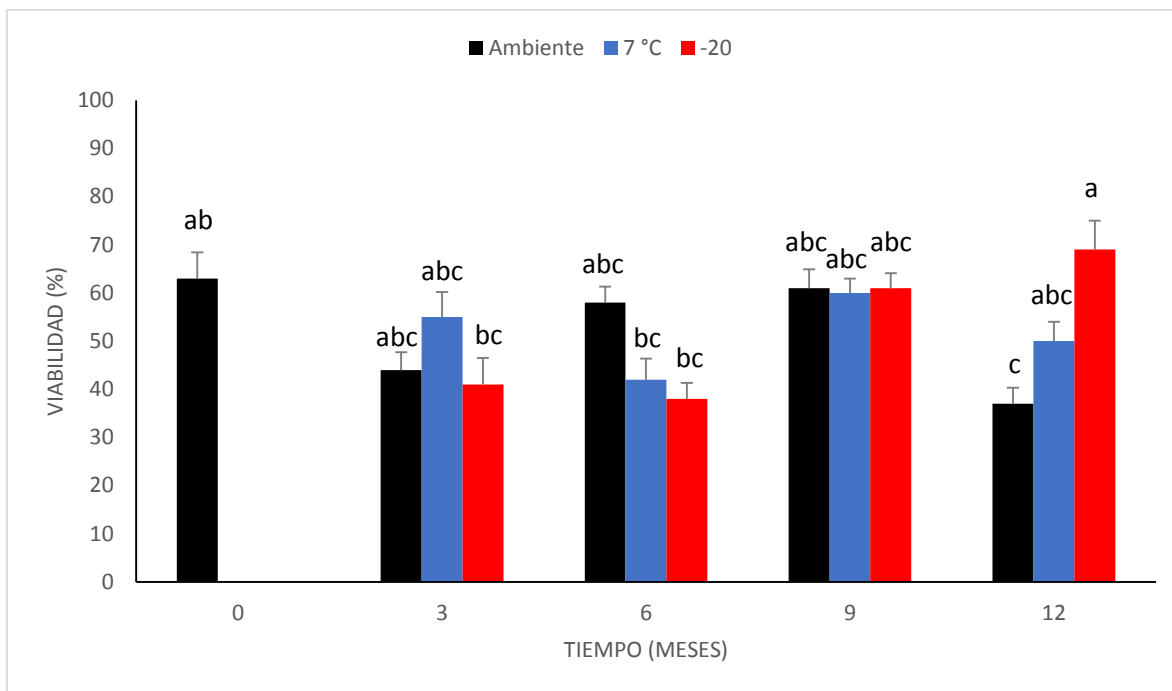


Fig. 24. Porcentaje de viabilidad de semillas de *F. vulgare* recién colectadas y almacenadas durante 3, 6, 9 y 12 meses + e. e. Letras distintas denotan diferencias significativas ($\alpha= 0.05$).

Cuadro 15. Porcentaje de viabilidad de semillas de *F. vulgare* recién colectadas y a los 3, 6, 9 y 12 meses de almacenamiento \pm e. e.

	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	Recién colectada
Ambiente (26 °C)	44 ± 3.7%	58 ± 3.3%	61 ± 3.7%	37 ± 3.3%	63 ± 0.53%
7 °C	55 ± 5.2%	42 ± 4.4%	60 ± 2.9%	50 ± 3.9%	
-20 °C	41 ± 5.5%	38 ± 3.3%	61 ± 3.1%	69 ± 5.6%	

Las semillas de *F. vulgare* son factibles de almacenarse durante un año con una disminución considerable de viabilidad y al igual que las semillas de *H. inuloides*, se podría recomendar a los productores su almacén en el refrigerador ya que a temperatura ambiente se observó la mayor disminución en la viabilidad después de 12 meses de almacenamiento.

Se ha observado que semillas de *F. vulgare* conservan cierto porcentaje de viabilidad hasta por 5 años, sin embargo, existen diferencias en la capacidad germinativa de la semilla dependiendo su edad, es decir, las semillas de colectas más recientes presentan porcentajes de germinación y viabilidad más altos y esto es atribuido al deterioro natural de las semillas almacenadas a temperatura ambiente (Torres *et al.*, 1989) y no se recomienda almacenarla más de 3 a 5 años ya que pierden velocidad de germinación y esto es indeseable para los productores. También se ha visto que existe un tiempo límite para el almacenaje de las semillas de hinojo. Montezuma-de-Carvalho *et al.*, (1987) reportaron que las semillas de hinojo colectadas del medio silvestre no germinan después de 8 años almacenadas a temperatura ambiente y mencionan que las semillas de hinojo almacenadas inapropiadamente presentan porcentajes de germinación deficientes, sin embargo, la pérdida gradual de su viabilidad también es influenciada por otros factores como la humedad relativa en el aire.

Germinación

La germinación de las semillas recién colectadas fue similar a la de 3 y 6 meses. La de 9 y 12 meses fue significativamente menor y se encontraron diferencias significativas entre tratamientos de temperatura y tiempos de almacenamiento ($P=0.31$, Kruskal-Wallis) (Fig. 25, Cuadro 16).

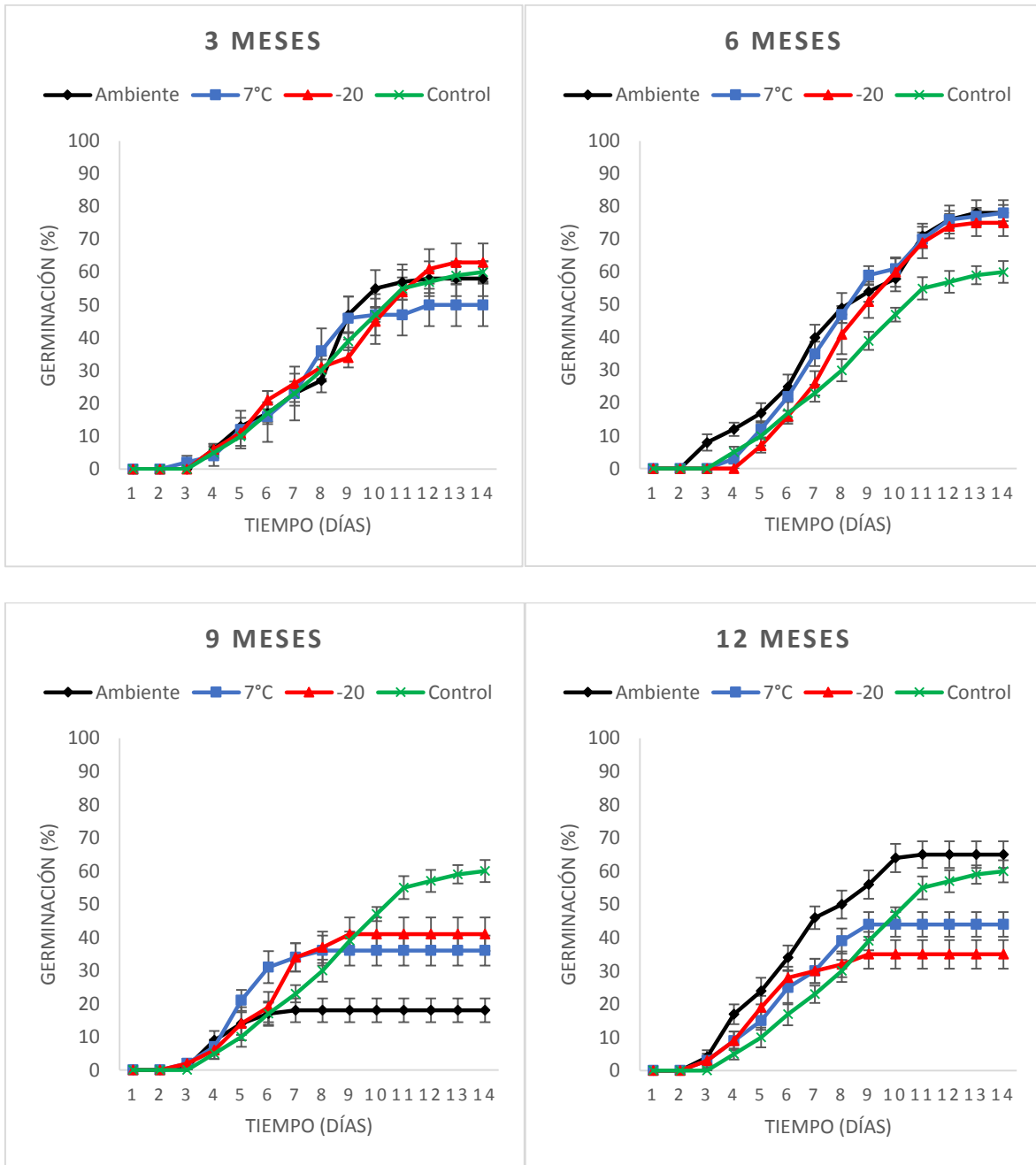


Fig. 25. Curvas de germinación de semillas de *F. vulgare* recién colectadas y almacenadas durante 3, 6, 9 y 12 meses \pm e. e.

Cuadro 16. Capacidad germinativa (Ymax) de semillas de *F. vulgare* recién colectadas y almacenadas durante 3, 6, 9 y 12 meses \pm e. e. Letras distintas denotan diferencias significativas ($\alpha= 0.05$).

	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	Recién colectada
Ambiente (26 °C)	58 \pm 5.3% abc	78 \pm 3.9% a	18 \pm 3.6% d	65 \pm 4% abc	60 \pm 3.3% abc
7 °C	50 \pm 6.5% abcd	78 \pm 2.5% a	36 \pm 4.5% cd	44 \pm 3.7% bcd	
-20 °C	63 \pm 5.8% abc	75 \pm 4% ab	41 \pm 5% cd	35 \pm 4.3% cd	

Lo visto en este estudio en cuanto a días que requiere la semilla de *F. vulgare* para alcanzar su máxima capacidad germinativa concuerda con lo antes reportado por Neacșu *et al.*, (2015), en donde mencionan que la semilla de hinojo tiene un periodo de germinación máximo de 10 a 14 días, después de los cuales las semillas han germinado completamente.

Cuando la semilla es almacenada a temperatura ambiente y en frío (7 °C) se tiene una mejor capacidad germinativa que a -20 °C. Se han encontrado resultados similares por Rubim *et al.*, (2013) en donde se almacenaron semillas de hinojo a 15.7 °C y a temperatura ambiente (21.6 °C – 28.6 °C), las cuales presentaron mayores porcentajes de germinación posterior al almacenamiento en 15 °C, no obstante, el material en el cual son almacenadas las semillas tiene un papel muy importante ya que en este estudio las semillas almacenadas en contenedores de cristal tuvieron mucho mejor capacidad germinativa y viabilidad que las almacenadas en bolsas de algodón y bolsas de papel.

Bezerra *et al.* (2004) también encontró que las semillas de *Moringa oleifera* Lam guardadas en botellas recicladas de PET conservaron un porcentaje de germinación similar cuando son almacenadas en condiciones controladas de frío durante un año con respecto a la semilla antes del almacenamiento. Sin embargo, cuando son almacenadas a temperatura ambiente durante el mismo periodo la germinación de las semillas es reducida en un 78%. Por lo que la temperatura en la cual se almacenen las semillas afecta de manera diferencial dependiendo la semilla, sin embargo, el almacenamiento en frío, como se ha visto en *F. vulgare* y en otras especies, contribuye a la reducción de la velocidad de procesos

degenerativos de la semilla, aunque manteniendo un porcentaje de germinación considerable durante un año de almacenamiento, no obstante, el almacenamiento a temperatura ambiente en este trabajo no redujo la capacidad germinativa de *F. vulgare* tan drásticamente como el reportado por Bezerra *et al.* Estos resultados también concuerdan con los reportados por Torres (2005), quien verificó que las semillas de sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) mantuvieron una gran calidad fisiológica cuando son almacenadas en condiciones controladas de frío, comparadas con las que son almacenadas en condiciones ambientales no controladas durante un año.

Se observó que las semillas germinaron mejor a los 3 y 6 meses después del almacenamiento en las tres condiciones, por lo que se especula que puede existir algún tipo de latencia que impida una óptima germinación a pesar de ser viables, no obstante, la respuesta germinativa difirió del porcentaje de viabilidad registrado después del almacenamiento a los 9 y 12 meses, en los cuales la viabilidad presentó porcentajes similares a la semilla recién colectada y la capacidad germinativa disminuyó considerablemente. Con estos resultados se piensa que puede existir algún impedimento fisiológico o morfofisiológico en el embrión que impida germinar a la semilla en algunas ocasiones a pesar de ser viable y no existir latencia.

Con lo visto anteriormente se podría almacenar la semilla hasta 6 meses en frío o temperatura ambiente para tener un porcentaje de germinación alto comparado con la semilla recién colectada.

La velocidad de germinación (VG) más alta fue a los 6 meses (11.9) a temperatura ambiente, que de igual manera presenta la capacidad germinativa más alta junto a la registrada a 7° C. Al igual que la capacidad germinativa, las velocidades de germinación disminuyeron después del almacenamiento a 9 y 12 meses.

Cuadro 17. Velocidad de germinación máxima (VG) para la semilla de *F. vulgare* entre tratamientos de almacenamiento y condiciones de temperatura.

Tiempo	Tratamiento	Velocidad de germinación (VG)
3 meses	Ambiente (26 °C)	8.2
	7 °C	7.5
	-20 °C	8.5
6 meses	Ambiente (26 °C)	11.9
	7 °C	10.6
	-20 °C	9.5
9 meses	Ambiente (26 °C)	3.9
	7 °C	7.06
	-20 °C	7.1
12 meses	Ambiente (26 °C)	11.4
	7 °C	7.8
	-20 °C	6.9
Control		8.06

8.2.3. ESTRATIFICACIÓN

3 Meses

Viabilidad

Posterior a los 3 meses de estratificación se obtuvo un $14 \pm 0.37\%$ de viabilidad, el cual es muy bajo, además de que las semillas presentaban una leve putrefacción, y en aquellas que lograron germinar dentro de las bolsas se apreciaba una radícula débil y en muchos casos muerta (Fig. 26).



Fig. 26. Semillas de *F. vulgare* con putrefacción parcial posterior a 3 meses de estratificación, se observan semillas germinadas con radículas débiles o muertas.

Contenido de humedad

Se obtuvo un $33 \pm 1.4\%$ de humedad en las semillas que no germinaron después de 3 meses en estratificación.

6 meses

Viabilidad

Después de 6 meses del tratamiento, las semillas presentaron en su mayoría putrefacción. A 34 semillas se les extrajeron los embriones para la prueba de viabilidad teniendo como resultado embriones diminutos y muertos (Fig. 27) y una nula tinción en aquellos que lograron extraerse íntegros, por lo tanto se obtuvo un 0% de viabilidad después de 6 meses de estratificación.

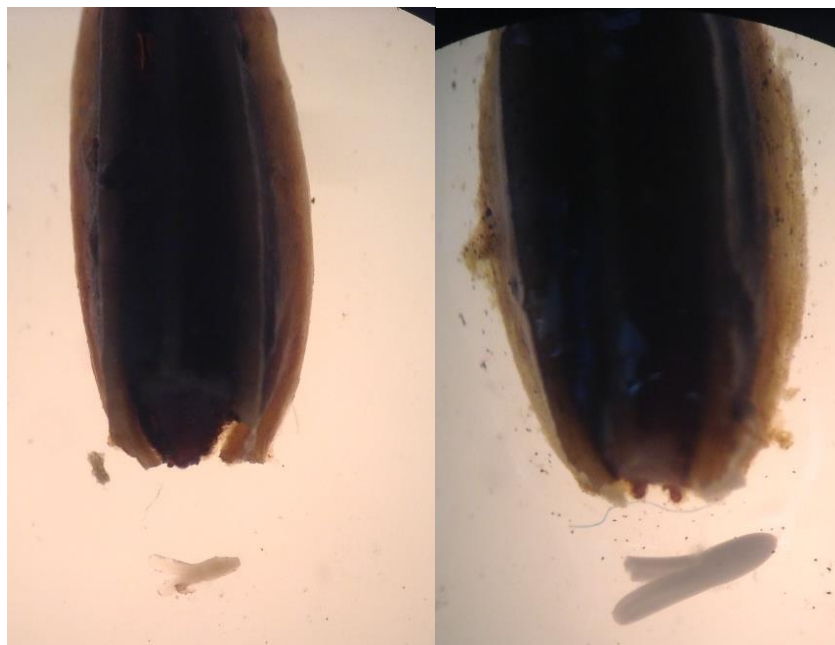


Fig. 27. Comparativa de un embrión extraído posterior a la estratificación 6 meses (izquierda) y un embrión extraído sin estratificación previa (derecha).

Las semillas germinadas a los 6 meses de estratificación presentaron en su totalidad radículas muertas y en estado de putrefacción.

Un estudio realizado por Tahaei *et al.*, (2016), en el cual se realizó una prueba de estratificación a semillas de *F. vulgare* por 15 días presentó porcentajes de germinación más altos (36.86%) que la semilla recién colectada (26.54%) y que los vistos en tratamientos de estratificación a 30 y 45 días, en los cuales el porcentaje de germinación disminuyó considerablemente (16.21% y 11.18% respectivamente). En el presente estudio, la estratificación a 3 meses (90 días aproximadamente) no fue favorable ya que las semillas y plántulas presentaron un leve estado de putrefacción y debilidad, mientras que a los 6 meses las semillas y las plántulas no fueron viables por lo que no es recomendable realizar el tratamiento de estratificación a fechas prolongadas o superiores a 3 meses, mientras que la estratificación a corto plazo parece promover la germinación de la semilla y romper latencia. La estratificación podría ser entonces favorable en tiempos cortos para la semilla de hinojo, aspecto que valdría la pena corroborar.

8.2.4. FOTOBLASTISMO

Se observó una respuesta similar en todas las condiciones lumínicas, sin embargo, la luz blanca presentó una diferencia significativa con respecto a las demás condiciones ($P=0.01$, Kruskal-Wallis) (Fig. 28, Cuadro 18). La semilla de *F. vulgare* es indiferente a la calidad de luz al germinar de forma similar en todas las condiciones lumínicas pero es sensible a la cantidad de luz ($33.2 \mu\text{mol/ m}^2/\text{s}$) al verse disminuida su capacidad germinativa en luz blanca.

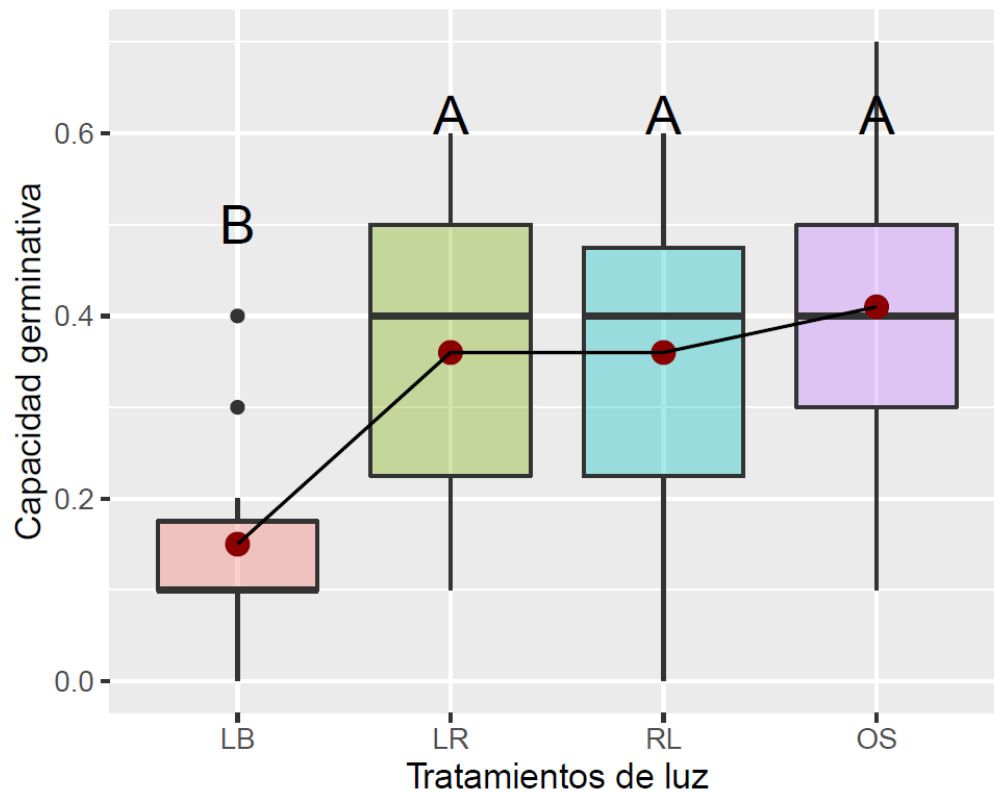


Fig. 28. Gráfico de caja del efecto de los tratamientos de luz sobre la capacidad germinativa de semillas de *F. vulgare*. Los puntos rojos señalan el promedio por tratamiento, letras distintas denotan diferencias significativas. ($\alpha = 0.05$).

Cuadro 18. Capacidad germinativa (Ymax) de semillas de *F. vulgare* sometidas a diferentes condiciones lumínicas \pm e. e.

<i>Tratamiento</i>	<i>Porcentaje de germinación</i>
Luz roja	36 \pm 5.3%
Luz roja lejana	36 \pm 6.9%
Oscuridad	41 \pm 5.3%
Luz blanca	15 \pm 4.8%

Se ha visto que las semillas de *F. vulgare* germinan mejor en obscuridad. Como reportó Thomas (1994), en cuyo estudio se germinaron semillas de hinojo en condiciones de luz y oscuridad, teniendo un mayor porcentaje y velocidad de germinación en oscuridad y a temperaturas que oscilan entre los 15 – 30 °C, siendo el rango con mejores resultados el de 20 a 25 °C. De la misma manera en un trabajo previo de Guy (1979), se observó que las semillas de hinojo presentaron mayor porcentaje de germinación en completa oscuridad (+8%). Sin embargo esto contrasta con lo reportado por Damato *et al.*, (1994) en donde se colocaron a germinar semillas de hinojo en luz y oscuridad teniendo como resultado un 3% más de germinación en luz y sugieren que la respuesta a la luz está bajo control genotípico como se ha observado en *Radicchio rosso* y otras especies (Pimpini *et al.*, 1993).

Como se ha mencionado, existe una relación entre el tamaño de la semilla y su respuesta a la luz para la germinación. Dado que se observa que esta semilla germina de mejor manera en oscuridad, se sugiere que el fruto-semilla de hinojo tiene un gran contenido de reservas para la germinación, sin embargo, la germinación se puede ver afectada por elementos externos o también tener latencia.

8.2.5. PRIMING

Se observó que entre los tratamientos de acondicionamiento a las semillas, los que dieron mejores resultados fueron las giberelinas al 50 ppm y 100 ppm y el termoprimering a temperatura ambiente, mientras que el osmoprimering presentó los porcentajes de germinación más bajos.

Osmoprimering

Entre los días de germinación no se observó un incremento en la aceleración de la misma, se observan dos bloques, uno que se conforma por los días 1-5 y otro por los días 6-14 ($P=0$, Kruskal-Wallis).

Existen diferencias significativas entre los tratamientos, siendo el hidropriming el que presentó el mejor resultado y con las concentraciones de -3atm y -6atm la germinación no fue favorecida ($P= 6.1479 \times 10^{-8}$, Kruskal-Wallis) (Fig. 29, Cuadro 19).

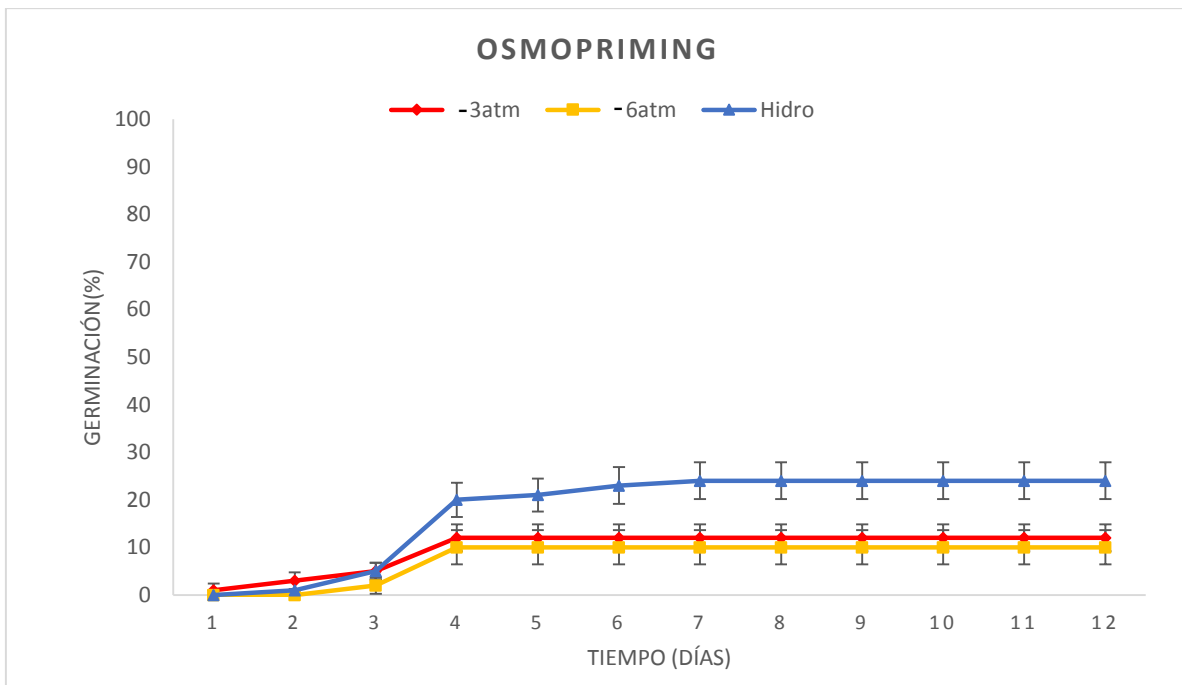


Fig. 29. Curvas de germinación de semillas de *F. vulgare* sometidas a diferentes tratamientos de priming osmótico \pm e. e.

Cuadro 19. Capacidad germinativa (Y_{max}) de semillas de *F. vulgare* sometidas a diferentes tratamientos de priming osmótico \pm e. e.

Osmopriming

-3atm	-6atm	Hidro
12 \pm 2.8%	10 \pm 3.6%	24 \pm 3.8%

El hidropiming es el tipo de priming más simple al consistir en hidratar las semillas con agua destilada y minimizar el uso de químicos. Varios autores han descrito efectos positivos del priming a semillas únicamente con agua (Harris *et al.*, 1999, 2002, 2004; Rashid *et al.*, 2002). Se ha visto que las plántulas de semillas tratadas únicamente con hidropiming emergen más rápido y crecen más vigorosas que aquellas que no son tratadas (Rashid *et al.*, 2002; Arif *et al.*, 2005; Miraj, 2005) y a pesar de que no se obtuvo un porcentaje de germinación considerablemente alto, el hidropiming muestra ser un tratamiento eficiente a la semilla de *F. vulgare* por encima del tratamiento con manitol. De la misma manera Sedghi *et al.*, (2010) reportaron que las semillas de hinojo tratadas con manitol presentaron los más bajos porcentajes y velocidades de germinación en comparación con las semillas tratadas con otros tipos de priming como son las giberelinas, agua destilada y NaCl. Del mismo modo, las plántulas emergidas de semillas tratadas con manitol presentaron la menor longitud de radícula y plúmula, por lo que no es conveniente aplicar este tratamiento a semillas de hinojo. Sin embargo, el tratamiento a semillas de otras especies con manitol ha demostrado ser un tratamiento efectivo que provee mejores porcentajes de germinación en contraste con semillas no tratadas y aquellas que son tratadas con hidropiming, esto se ha visto en semillas de garbanzo (*Cicer arietinum*) y quimbombó (*Abelmoschus esculentus*) (Sarwar *et al.*, 2006, Besma *et al.*, 2014).

A pesar de que en el presente estudio, el osmopriming con manitol no resultó adecuado para la semilla de hinojo, se ha observado que el tratamiento pre-germinativo a la semilla con otro tipo de priming osmótico con NaCl, PEG y K_2SO_4 ha beneficiado su capacidad y velocidad germinativa (Neamatollahi *et al.*, 2009).

Termopriming

Entre los días de germinación se observan dos bloques que se conforman uno por los días 1-5 y otro por los días 6-14, sin una aceleración en la germinación considerable ($P=0$, Kruskal-Wallis).

Hay diferencias significativas entre los tratamientos, siendo la temperatura ambiente la más favorable, seguido de la temperatura a 35 °C y finalmente la temperatura a 7 °C con porcentajes muy bajos de germinación ($P=0$, Kruskal-Wallis) (Fig. 30, Cuadro 20).

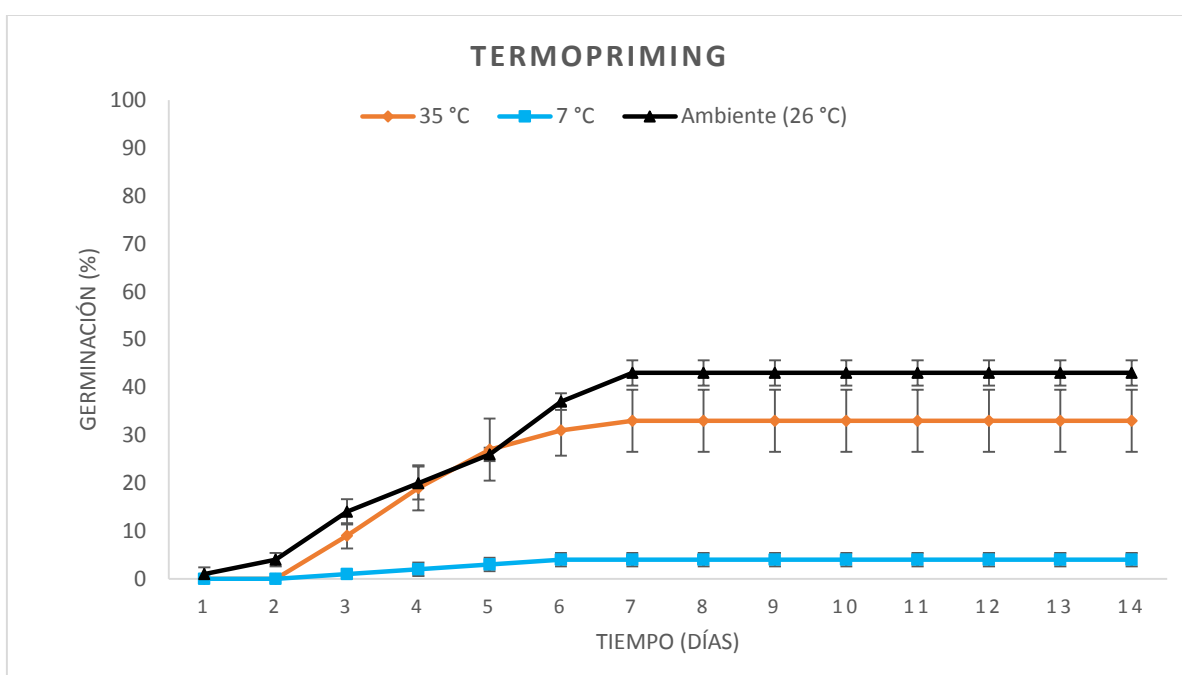


Fig. 30. Curvas de germinación de semillas de *F. vulgare* sometidas a diferentes tratamientos de priming térmico \pm e. e.

Cuadro 20. Capacidad germinativa (Ymax) de semillas de *F. vulgare* sometidas a diferentes tratamientos de priming térmico \pm e. e.

Termopriming

35 °C	7 °C	Ambiente (26 °C)
33 \pm 6.4%	4 \pm 1.4%	43 \pm 2.6%

Como se ha mencionado, la temperatura es un factor muy importante que regula la germinación ya sea determinando la velocidad y capacidad germinativa, eliminando latencia primaria o secundaria o también induciendo latencia secundaria. Sin embargo, los rangos de temperatura para la germinación de las semillas dependen en gran medida en el periodo del año en el cual las plantas completan sus ciclos vitales y el lugar geográfico de donde son originarias las especies (Besnier, 1989). No obstante, esto no aplica a algunas especies ya que existe la combinación de un gran número de factores naturales e interacciones en el ecosistema y esto hace que la germinación se vea afectada de diferentes maneras.

Existen semillas de diferentes especies originarias de países Mediterráneos que generalmente no necesitan una temperatura específica que promueva la germinación, aunque muchas de ellas usualmente prefieren altas temperaturas (Körner, 2003; Billings y Mooney, 1968). De la misma forma, se observó que la semilla de hinojo germina mejor a temperatura ambiente pero a 35 °C hay una respuesta un poco menor y a bajas temperaturas la germinación tampoco se ve favorecida. Sin embargo, esto contrasta con un estudio de Thomas (1994) en el que reportó para tres variedades de semilla de *F. vulgare* que temperaturas por encima de los 30 °C no favorecen la germinación y que la temperatura óptima para la germinación de esta semilla oscila entre los 20 y 25 °C. De cierta forma este rango de temperaturas podría considerarse dentro de la temperatura ambiente del valle de México por lo que en este aspecto concuerda con este estudio.

La semilla de *F. vulgare* ha demostrado un buen porcentaje de germinación a diferentes temperaturas, como reporta Damato *et al.* (1994), en cuyo experimento las semillas con un tratamiento a 35 °C no presentaron germinación, no obstante, la temperatura óptima para la germinación fue de 25 °C lo que concuerda también con los resultados obtenidos en este estudio, sin embargo, también se obtienen buenos resultados de germinación a 15, 20 y 30 °C.

Heidari *et al.*, (2014) de igual manera reportó para el hinojo que la semilla presenta un amplio rango de temperaturas en las cuales germina adecuadamente dependiendo la variedad de la especie (12 - 35 °C) y esta puede ser una característica prometedora para que el hinojo se adapte bien y se cultive en varias regiones e incluso en diferentes fechas de siembra. Sin embargo, la respuesta de la planta a la temperatura en otros estadios de crecimiento también debe ser estudiada.

Hormopriming

Se observó una aceleración en la germinación en el día dos con respecto a los demás tratamientos, por lo que este tratamiento de priming presentó los mejores resultados. Entre días se conformaron dos bloques, uno por los días 1-2 y otro por los días 3-14.

Las giberelinas arrojaron mejores resultados en cuanto a germinación, sin embargo, entre 50ppm y 100ppm no hubo diferencias significativas ($P=0$, Kruskal-Wallis).

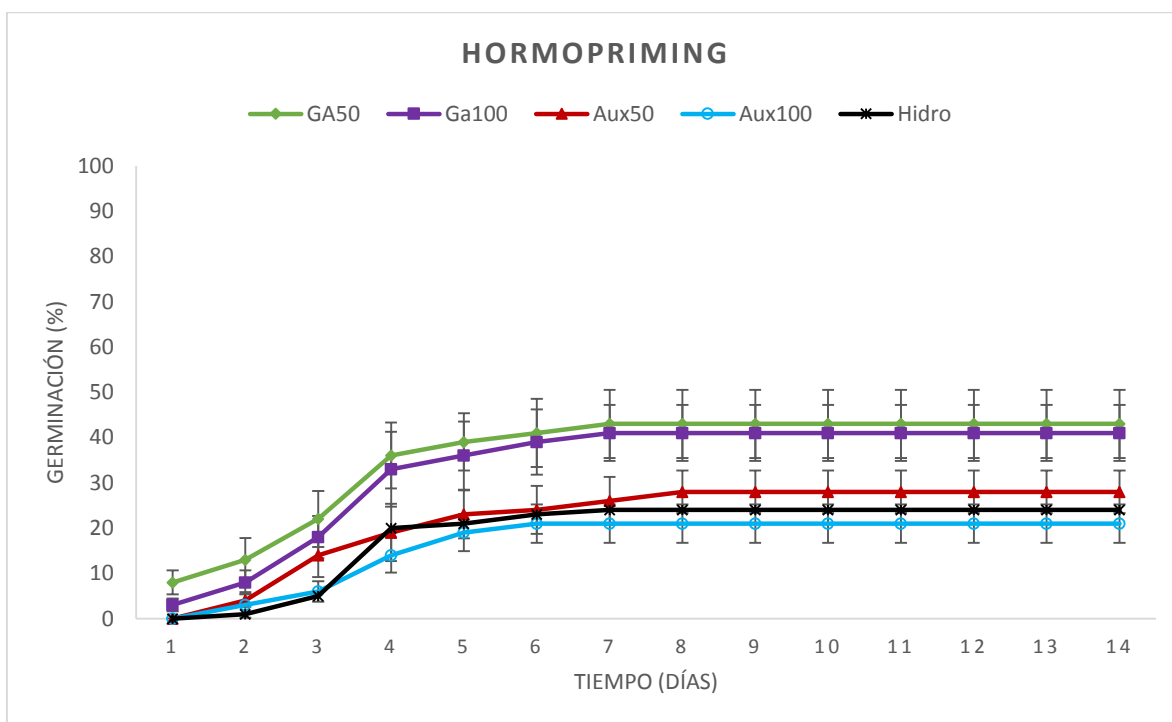


Fig. 31. Curvas de germinación de semillas de *F. vulgare* sometidas a diferentes tratamientos de hormopriming \pm e. e.

Cuadro 21. Capacidad germinativa (Y_{max}) de semillas de *F. vulgare* sometidas a diferentes tratamientos de hormopriming \pm e. e.

Hormopriming

GA50	GA100	Aux50	Aux100	Hidro
43 \pm 7.5%	41 \pm 6.1%	28 \pm 4.7%	21 \pm 4.2%	24 \pm 3.8%

El uso de giberelinas en la germinación ha brindado muchos resultados favorecedores para distintas especies y de la misma manera que en *H. inuloides*, las aplicación de giberelinas exógenas a la semilla resultó ser un buen tratamiento de priming en contraste con las auxinas.

Las giberelinas son capaces de afectar la germinación de la semilla promoviendo el crecimiento celular y su desarrollo. Las interacciones entre las hormonas vegetales y los genes de las plantas afectan el proceso de germinación de la semilla. En consecuencia, es posible regular la germinación de las semillas mediante la modificación de la expresión de genes (Miransari y Smith, 2009; Miransari y Smith, 2014; Liu *et al.*, 2013). También las giberelinas son capaces de activar semillas en latencia. A pesar de que las giberelinas no controlen la latencia, con el hormopriming se puede aumentar la velocidad de germinación mediante el incremento de la actividad de la enzima α -amilasa, resultando en la mejora del metabolismo del almidón y la solubilidad del azúcar (Afzal *et al.*, 2002; Afzal *et al.*, 2008; Duran-Paramo *et al.*, 2014; Misawa y Susuki, 1982).

Thomas (1994) reporta que en varias semillas la latencia está asociada a altas temperaturas y oscuridad, pero esta latencia se puede romper mediante el tratamiento con giberelinas. Asimismo reporta que a pesar de que el hinojo es diferente ya que germina mejor en oscuridad que en luz, su germinación, que es inhibida a altas temperaturas puede verse beneficiada mediante el uso de GA_{4/7}, indicando que las giberelinas parecen estar directamente involucradas en un control de la germinación de semillas foto-inhibidas y, en general, que el priming a semillas de hinojo con giberelinas es muy efectivo en cuanto a velocidad y porcentaje de germinación sin efectos adversos en el desarrollo de la plántula.

Se sabe que en Apiaceae la aplicación de giberelinas (GA₃) acelera considerablemente la velocidad de germinación en condiciones de salinidad (Atia *et al.*, 2009). De la misma forma, la aplicación de GA exógena puede ser efectiva para mitigar los efectos de la salinidad en

el medio para la germinación de varias especies como *Zygophyllum simplex*, *Arthrocnemum indicum* L. y *Prosopis juliflora*. (Khan *et al.*, 1998; Khan *et al.*, 2002; El-Keblawy *et al.*, 2005).

De igual manera, el ácido giberélico parece jugar un rol fundamental en el proceso de germinación especialmente en la liberación de carbohidratos y proteínas para ser degradados por enzimas en condiciones de estrés salino (Baes y Arechiga, 2007). Adicionalmente, Kim y Park (2008) reportaron que el estrés salino se puede evitar mediante la actividad de genes inducidos por el ácido giberélico en el proceso de germinación de semillas.

Así como se observó en este estudio, Sedghi *et al.*, (2010) reportaron para semillas de *F. vulgare* y *Calendula officinalis* tratadas con GA₃, que su capacidad germinativa, velocidad de germinación y desarrollo de plántula se ven beneficiados en contraste con semillas que no son tratadas. Se menciona igualmente que el GA₃ incrementa la síntesis de enzimas hidrolíticas en la capa aleurona y por la actividad de estas enzimas los compuestos almacenados se convierten en transferibles (sacarosa y glucosa) y son trasladados al embrión. Un factor vital para la transferencia de reservas es su solubilidad en agua que es disminuida cuando existe estrés salino y un tratamiento con giberelinas es esencial para evitar este tipo de problemas.

Dado que no existió ningún tipo de estrés salino en este estudio, la actividad de las giberelinas de acelerar las reacciones metabólicas en la semilla no se vio afectada y se manifestó con una velocidad y capacidad germinativa altas en comparación con los demás tipos de priming.

De la misma manera que con las semillas de árnica, en *F. vulgare* el tratamiento con auxinas no arrojó diferencias significativas con el grupo control por lo que parecen actuar en procesos morfogénicos posteriores a la germinación como se ha visto en otras especies, aunque se especula que a altas concentraciones pueden perjudicar el proceso germinativo.

Tratamientos de priming con mejores resultados

El hormoprimering con giberelinas a ambas concentraciones (50ppm y 100ppm) obtuvo la mejor capacidad germinativa además de una aceleración en la germinación con respecto a los demás tratamientos. El termoprimering a temperatura ambiente también mostró alta capacidad germinativa (43%) al igual que el tratamiento con giberelinas, sin embargo, éste

no aceleró la germinación de la misma manera y el osmoprimering en general obtuvo bajos porcentajes de germinación, siendo el hidropimering el más alto con 24%.

De la misma manera que se vio con *H. inuloides*, en *F. vulgare* las giberelinas presentaron los mejores resultados en cuanto a velocidad de germinación. Sin embargo, en todos los tratamientos de primering con mejores resultados, se alcanzó la capacidad máxima de germinación a los 7 días después de la siembra (Cuadro 22).

Cuadro 22. Velocidad de germinación máxima (VG) de semillas de *F. vulgare* entre tratamientos de primering con los mejores resultados.

Tratamiento	Velocidad de germinación (VG)													
	V24	V48	V72	V96	V120	V144	V168	V192	V216	V240	V264	V288	V312	V336
Hidro	0	0.5	1.8	5.6	5.8	6.1	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2
Ambiente (26°C)	1	2.5	5.8	7.3	8.5	10.4	11.2	11.2	11.2	11.2	11.2	11.2	11.2	11.2
Ga50	8	10.5	13.5	17	17.6	17.9	18.2	18.2	18.2	18.2	18.2	18.2	18.2	18.2
Ga100	3	5.5	8.8	12.6	13.1	13.7	13.9	13.9	13.9	13.9	13.9	13.9	13.9	13.9

Cuadro 23. Capacidad germinativa (Ymax) de semillas de *F. vulgare* entre tratamientos de primering con los mejores resultados \pm e. e.

**Mejores
tratamientos**

Hidro	Ambiente (26 °C)	GA50	GA100
24 \pm 3.8%	43 \pm 2.6%	43 \pm 7.5%	41 \pm 6.1%

8.2.6. RECOMENDACIONES A LOS PRODUCTORES

- Las semillas de *F. vulgare* germinaron considerablemente mejor en papel absorbente que en agar, así que se recomienda este sustrato o uno como éste, que mantenga la humedad constante y bien cubiertas a la semillas.
- La semilla resultó ser permeable por lo que no se requiere ningún método de escarificación.
- El contenido de humedad, la viabilidad y la capacidad germinativa se conservan con porcentajes considerablemente menores al de las semillas recién colectadas al ser almacenadas durante un año, se recomienda almacenar en frío (7 °C) o a temperatura ambiente (26 °C) y utilizar las semillas recién colectadas en lapsos de 3 a 6 meses para conservar su calidad y obtener buenos porcentajes de germinación después de la colecta y/o almacenamiento.
- Las semillas resultaron ser fotoblásticas indiferentes, sin embargo, son sensibles a la cantidad de luz, por lo que es preferible colocarlas a germinar en oscuridad o en sitios con poco flujo fotónico.
- No se recomienda utilizar manitol como tratamiento pre-germinativo o colocar las semillas a germinar a temperaturas bajas, es preferible la temperatura ambiente (26 °C).
- El tratamiento a las semillas con ácido giberélico (BIOGIB® 10 PS) a 50 o 100 ppm mejora significativamente la capacidad y la velocidad germinativa.

9. CONCLUSIONES

Las semillas de *H. inuloides* germinan mejor y más rápido en agar que en papel absorbente, por el contrario, las semillas de *F. vulgare* germinan mejor en papel absorbente que en agar.

Las semillas de ambas especies se caracterizaron como ortodoxas y permeables por lo que no es necesario escarificar las semillas.

La viabilidad de las semillas recién colectadas de *H. inuloides* fue alta pero se presentan muchas semillas vanas en todas las colectas, mientras que la viabilidad de semillas de *F. vulgare* se encontró por debajo del 65% en todas las colectas.

En general, las tres condiciones de almacenamiento (Ambiente, -20 °C y 7 °C) permitieron conservar un contenido de humedad menor al 5% por lo que las semillas de ambas especies pueden almacenarse durante un año.

La viabilidad y la capacidad germinativa de las semillas de ambas especies se mantuvieron durante 9 y 12 meses respecto a la de las semillas recién colectadas, siendo las semillas de *F. vulgare* más susceptibles a la pérdida de viabilidad y capacidad germinativa después del almacenamiento de un año.

El almacenamiento en frío (7 °C) conserva de mejor manera el contenido de humedad, viabilidad y mantiene la capacidad germinativa de las semillas de *H. inuloides* durante al menos 12 meses.

El almacenamiento en frío (7 °C) y a temperatura ambiente favorece la conservación de la viabilidad y mantiene un contenido de humedad adecuado para *F. vulgare*. Sin embargo, la semilla puede contener un tipo de latencia que le impida germinar a pesar de ser viable.

La estratificación de semillas de *F. vulgare* a 3 meses o más reduce considerablemente su viabilidad y capacidad germinativa, por lo que no se recomienda la aplicación de este tratamiento para esta especie.

Las semillas de ambas especies respondieron como fotoblásticas indiferentes, sin embargo, la semilla de *F. vulgare* germina mejor en condiciones de oscuridad así que puede ser sensible al flujo fotónico.

El priming de semillas con giberelinas (50 y 100pp) resultó ser el mejor tratamiento pre-germinativo para ambas especies ya que aumentó la velocidad de germinación y capacidad germinativa.

El osmopriming con manitol a -3atm y -6atm es un buen tratamiento pre-germinativo para las semillas de *H. inuloides* pero no se recomienda para *F. vulgare*.

En ambas especies se obtienen altos porcentajes de germinación al colocar las semillas a germinar en temperaturas cercanas al ambiente (26 °C).

10. LITERATURA CITADA

- Afzal, I., S. Basra, N. Ahmad, M. Cheema, E. Warraich y A. Khaliq. 2002. Effect of priming and growth regulator treatment on emergence and seedling growth of hybrid maize (*Zea mays*). *International Journal of Agriculture and Biology* 4: 303–306.
- Afzal, I., S. Basra, M. Farooq y A. Nawaz. 2006. Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid. *International Journal of Agriculture and Biology* 8: 23-28.
- Afzal, I., S. Basra y A. Iqbal. 2005. The effect of Seed Soaking with plant Growth Regulators on seedling vigor of wheat under salinity stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 1(1): 6-14.
- Afzal, I., S. Basra, M. Shahid, M. Farooq y M. Saleem. 2008. Priming enhances germination of spring maize (*Zea mays* L.) under cool conditions. *Seed Science and Technology* 36: 497–503.
- Afzal, I., S. Ashraf, M. Qasim, S. Basra, M. Shahid y B. Hussain. 2011. Mannitol Priming Induces Biochemical Changes and Enhances Germination Capacity and Seedling Vigor in Marigold (*Tagetes* spp.). *Acta Horticulturae* 898: 25-29. DOI: 10.17660/ActaHortic.2011.898.1
- Afolayan, A.J., J.J.M. Meyer y D.V. Leeuwner. 1997. Germination in *Helichrysum aureonitens* (Asteraceae): effects of temperature, light, gibberellic acid, scarification and smoke extract. *South African Journal of Botany* 63(1): 22-24.
- Amoo-Zad-Khalili, Z., M.M. Todashki y M. Eshraghi-Nejad. 2013. The effect of hydro and osmo (ZnSO₄) priming on seed germination characteristics under Salt (NaCl) Stress on *Silybum marianum* (Milk thistle) seeds. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 5(24): 2979-2984.
- Argerich, C.A. 1989. The effects of priming and aging on seed vigour in tomato. *Journal of Experimental Botany* 40: 599-607.
- Argueta, A. y M.C. Gallardo. 1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana, México. 1ª Edición. 1786pp.
- Arif, M., S. Ali, A. Shah, N. Javid, y A. Rashid. 2005. Seed priming maize for improving emergence and seedling growth. *Sarhad Journal of Agriculture* 21(4): 539–543.

- Atia, A., A. Debez, Z. Barhoumi, A. Smaoui y C. Abdelly. 2009. ABA, GA3, and nitrate may control seed germination of *Crithmum maritimum* (Apiaceae) under saline conditions. *Comptes Rendus Biologies* 332: 704–710.
- Badgujar, S.B., V.V. Patel y A.H. Bandivdekar. 2014. *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. *Hindawi Publishing Corporation*. BioMed Research International. Volume 2014, Article ID 842674, 32 pp. India.
- Baes, P.O. y M.R. Arechiga. 2007. Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. *Journal of Arid Environments* 69: 169-176.
- Barquín, L.M.P. y L.I. Zamora-Martínez. 1991. “Estudio etnobotánico de los municipios de Mineral del Monte y Mineral El Chico, estado de Hidalgo”. Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas-Instituto Politécnico Nacional, México, DF.
- Baskin, C.C. y J.M. Baskin. 1988. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany* 72(2): 286-305.
- Baskin, J.M. y C.C. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14: 1–16.
- Benech-Arnold, R.L. y R.A. Sanchez. Eds. 2004. “Handbook of Seed Physiology: Application to Agriculture” 479 p. CRC Press.
- Bennett, M., V.A. Fritz y N.W. Callan. 1992. Impact of seed treatments on crop stand establishment. *Hort Technology* 2: 345-349.
- Besma, B.D., I. Amani y D. Mounir. 2014. Germination and Seedling Emergence of Primed Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Seeds under Salt Stress and Low Temperature. *American Journal of Plant Physiology* 9: 38-45.
- Besnier, F. 1989. Semillas: Biología y Tecnología. Ed. Mundiprensa, Madrid. 524p.
- Bewley, J.D. y M. Black. 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. 2. Viability dormancy and environmental control. Springer, Berlín.
- Bewley, J.D. y M. Black. 1994. Seeds: Physiology of development and germination. 2nd ed. Plenum Press, NY. 445pp.
- Bezerra, A.M.E., S. Medeiros Filho, J.B.S. Freitas y E.M. Teófilo. 2004. Avaliação da qualidade das sementes de *Moringa oleífera* LAM. durante o armazenamento. *Ciência e Agrotecnologia* 28(6): 1240-1246.

- Billings, W.D. y H.A. Money. 1968. The ecology of arctic and alpine plants. *Biological Reviews*. 43: 481-529.
- Chadwick, J. 1976. *The Mycenae World*. Cambridge: University Press. p. 120.
- Cunha-Dias, D. 2005. Dormancia en semillas. *Seed news, la revista internacional de las semillas*. 9(4).
- Da Silva, E.A., P.E. Toorop, J. Nijse, J.D. Bewley y H.W.M. Hilhorst. 2005. Exogenous gibberellins inhibit coffee (cv. Rubi) seed *Coffea Arabica* germination and cause cell death in the embryo. *Journal of Experimental Botany* 56: 1029 – 1038.
- Damato, G., R.J. Downs y S. Vannella. 1994. Temperature, washing of “seeds”, light and high temperature duration on germination rate of florence fennel “seeds”. *Acta Horticulturae* 362: 173-180.
- Davies, P.J. 2004. *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* Springer Science and Business Media. 1a Edición.
- Delgado G., M. Del Socorro Olivares, M. Chávez, T. Ramírez-Apan, E. Linares, R. Bye y F.J. Espinosa-García. 2001. Antiinflammatory constituents from *Heterotheca inuloides*. *Journal of Natural Products* 64(7): 861-64.
- Dikshit. A. y A. Husain. 1984. Antifungal action of some essential oils against animal pathogens. *Fitoterapia* 55: 171–176.
- Duran-Paramo, E., H. Molina-Jimenez, M. Brito-Arias y F. Robles-Martinez. 2014. Gibberellic acid production by free and immobilized cells in different culture systems. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 114: 381–388.
- El-Keblawy, A., F. Al-Ansari y A. Al-Rawai. 2005. Effects of dormancy regulating chemicals on innate and salinity induced dormancy in the invasive *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. Shrub. *Plant Growth Regulation* 46: 161–168.
- Evenari, M. 1957. The physiological action and biological importance of germination inhibitors. *Symposia of the Society Experimental Biology* 11: 21–43. Cambridge University Press.
- FAO/IPGRI. 1994. Normas para bancos de genes. FAO e IPGRI, Roma, Italia. Disponible en http://www.biodiversityinternational.org/Publications/pubfile.asp?ID_PUB=1250.
- Fenner, M. y K. Thompson. 2005. *The Ecology of Seeds*. Cambridge University Press. USA. 250pp.

- FHEUM. Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, 1ª Ed. (2001). Secretaria de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. México.
- Fischer-Iglesias, C. y G. Neuhaus. 2001. Zygotic embryogenesis – Hormonal control of embryo development. En: Bhojwani, S.S. y W.Y. Soh. (Eds) *Current trends in the embryology of angiosperms*. pp. 223–247. Dordrecht, Kluwer Academic.
- Fonnegra, R. y S. Jiménez. 2007. Plantas medicinales aprobadas en Colombia (2ª Ed.). Colombia: Editorial Universidad de Antioquia.
- García, J. (1991). Manual de Repoblaciones Forestales. Tomo I. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes. Fundación Conde del Valle de Salazar. Madrid España. 794pp.
- García, F.C., L.F. Jiménez y R.J.M. Vázquez. 1995. Biochemical and cytological studies on osmoprimed maize seeds. *Seed Science Research* 5: 15-23.
- Giaconi, V. y M. Escaff. 2006. Cultivo de hortalizas. Colección Nueva Técnica, Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 336pp.
- González-Stuart, A. y J.O. Rivera. 2009. Comparison of herbal products use in two largest border communities between the US and Mexico. *HerbalGram* 81: 58-66.
- Gordon, A.G. 1991. Tree and shrub seed handbook. *International Seed Testing Association*, Zurich, Suiza.
- Gutiérrez, D.M.A. y A.Y. Betancourt. 2011. El mercado de plantas medicinales en México: situación actual y perspectivas de desarrollo. Disponible en: <http://www.prodiversitas.bioetica.org/nota65.htm>.
- Guy, R. 1979. Nouvelles observations sur la maturité, la dormance, la germination et la levée des semences de fenouil. *Revue Suisse d'Agriculture* 11: 215-217.
- Ha, T.M. 2014. The Physiological Dormancy and Germination Responses of *Brunonia australis* and *Rhodanthe floribunda* to Gibberellic Acid Treatment. *Journal of Tropical Crop Science* 1(2): 30-34.
- Harris Moran Seed Company. 2014. El Priming de semilla: Riesgos y ganancias. Recuperado en Diciembre 5, 2014, de: <http://www.harrismoran.com/mexico/technology/newsletters/4.htm>
- Harris, D., A. Joshi, P.A. Khan, P. Gothkar y P.S. Sodhi. 1999. On-farm seed priming in semi-arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. *Experimental Agriculture* 35: 15-29.

- Harris, D., B.S. Raghuwanshi, J.S. Gangwar, S.C. Singh, K. Joshi, A. Rashid y P.A. Hollington. 2001. Participatory evaluation by farmers of on-farm seed priming in wheat in India, Nepal and Pakistan. *Experimental Agriculture* 37(3): 403-415.
- Harris, D., A. Rashid, P.A. Hollington, L. Jasi y C. Riches. 2002. Prospects of improving maize yields with 'on-farm' seed priming, p. 180–185. En: N. P. Rajbhandari, J. K. Ransom, K. Adikhari, R. A. F. E. Palme (Eds.). Sustainable Maize Production Systems for Nepal: Proceedings of a Maize Symposium held, Kathmandu, Nepal, Diciembre 3–5, 2001. Narc and Cimmyt.
- Harris, D., A. Rashid, S. Ali y P.A. Hollington. 2004. 'On-farm' seed priming with maize in Pakistan, p. 316–324. En: G. Srinivasan, P.H. Zaidi, B.M. Prasanna, F. Gonzalez, K. Lesnick (Eds.). Proceedings of the 8th Asian Regional Maize Workshop: New Technologies for the New Millennium held Bangkok, Thailand, Cimmyt, Mexico, D.F., Agosto 5–8, 2002.
- Hartmann H.T. y D. Kester. 1994. Propagación de plantas: Principios y prácticas. México D.F. Editorial continental, S.A. de C.V. 710pp.
- Heidari, Z., B. Kamkar y J. Masoud Sinaki. 2014. Influence of Temperature on Seed Germination Response of Fennel. *Advances in Plants & Agriculture Research* 1(5): 00032. DOI: 10.15406/apar.2014.01.00032.
- Hernández, R. y M. Gally. 1981. Plantas Medicinales (12ª Ed.). Colombia: Árbol Editorial, de C.V. 254pp.
- Herrera, J., R. Alizaga, E. Guevara y V. Jiménez. 2006. Germinación y crecimiento de la planta (1ª Ed.). San José, Costa Rica: Editorial Universidad de Costa Rica. 108 pp.
- Heywood, V. 1999. Medicinal and aromatic plants as global resources. *Acta Horticulturae* 500: 21-29.
- Hickman, J.C. 1993. The Jepson Manual: Higher plants of California. University of California Press. Berkeley, California.
- Hong, T.D. y R.H. Ellis. 1995. Interspecific variation in seed storage behavior within two genera: Coffea and Citrus. *Seed Science and Technology*, v.23, p.165-181.
- Ibrahim, E.A. 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology* 15(192): 38-46.
- Iqbal, M. y M. Ashraf. 2013. Gibberellic acid mediated induction of salt tolerance in wheat plants: growth, ionic partitioning, photosynthesis, yield and hormonal

homeostasis. *Environmental and Experimental Botany* 86: 76-85. DOI: 10.1016/j.envexpbot. 2010.06.002.

- Jankowska-Blaszczuk, M. y M.I. Daws. 2007. Impact of red: far red ratios on germination of temperate forest herbs in relation to shade tolerance, seed mass and persistence in the soil. *Functional Ecology* 21: 1055–1062.
- Jann, R.C. y R.D. Amen. 1977. What is germination? En: Khan (ed.). The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination (pp. 7-25). Elsevier North Holland Biomedical Press.
- Janssen, A.M., N.L. Chin, J.J. Scheffer y A. Baerheim Svendsen. 1986. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. *Pharmazeutisch Weekblad (Scientific Edition)* 8: 289–292.
- Jardín Botánico de Kew. <http://data.kew.org/sid/>
- Jiisha, K.C., K. Vijayakumari y J.T. Puthur. 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiologiae Plantarum* 35: 1381 – 1396.
- Khan, M.A., G. Bilques y J.W. Darrell. 2002. Seed germination in the Great Basin halophyte *Salsola iberica*. *Canadian Journal of Botany* 80: 650–655.
- Khan, M.A., I.A. Ungar y B. Gul. 1998. Action of compatible osmotica and growth regulators in alleviating the effect of salinity on the germination of dimorphic seeds of *Arthrocnemum indicum* L., *International Journal of Plant Sciences* 159: 313–317.
- Kigel, J. 1995. Seed germination in arid and semiarid regions. En Kigel, J. y Galili, G. Seed development and germination. Marcel Dekker, Estados Unidos de América.
- Kim, S.G. y C.M. Park. 2008. Gibberellic acid-mediated salt signaling in seed germination. *Plant Signaling & Behavior* 3: 877-879.
- Kooti, W., M. Moradi, S. Ali Akbari, N. Sharafi-Ahvazi, M. Asadi-Samani y D. Ashtary-Larky. 2015. Therapeutic and pharmacological potential of *Foeniculum vulgare* Mill: a review. *Journal of Herbmed Pharmacology* 4(1): 1-9.
- Körner, C. 2003. Alpine plant life - Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems. Springer, Heidelberg. 344pp.
- Kubo, I., H. Muroi, A. Kubo, S.K. Chaudhuri, Y. Sanchez y T. Ogura. 1994. Antimicrobial Agents from *Heterotheca inuloides*. *Planta Medica* 60: 218-221.
- Kucera, B., M.A. Cohn y G. Leubner-Metzger. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research* 15: 281–307.

- Leishman, M.R., I.J. Wright, A.T. Moles y M. Westoby. 2000. The evolutionary ecology of seed size, en: Fenner, M. (Ed) (2000) *Seeds: The Ecology of Regeneration in Plant Communities* (2ª Ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 31-57.
- Lira, R. 1994. *Fisiología Vegetal*. Editorial Trillas. México. 273pp.
- Liu, A., F. Gao, Y. Kanno, M. Jordan, Y. Kamiya, M. Seo y B. Ayele. 2013. Regulation of wheat seed dormancy by after-ripening is mediated by specific transcriptional switches that induce changes in seed hormone metabolism and signaling. *PLoS One* 8(2): e56570.
- Liu, Q., H.W.M. Hilhorst, S.P.C. Groot y R.J. Bino. 1997. Amounts of nuclear DNA and internal morphology of gibberellin- and abscisic acid-deficient tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds during maturation, imbibition and germination. *Annals of Botany* 79: 161-168.
- Luz, M.L. 2002. Recubrimiento de Semillas. Medidores de Humedad: Importancia económica del contenido de humedad en semillas.
- Magnitskiy, S.V. y G.A. Plaza. 2007. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana* 25(1): 96-103.
- Márquez Guzmán, J., M. Collazo Ortega, M. Martínez Gordillo, A. Orozco Segovia y S. Vázquez Santana. 2013. *Biología de Angiospermas*. Facultad de Ciencias, Coordinación de la Investigación Científica, UNAM. Ciudad Universitaria, México, D.F, México. 622pp.
- Martínez, M. 1979. *Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas*. Fondo de Cultura Económica. México. 1248pp.
- Mascolo, N., G. Autore, F. Capasso, A. Menghini y M.P. Fasulo. 1987. Biological screening of Italian medicinal plants for antiinflammatory activity. *Phytotherapy Research* 1: 28–31.
- Mayer, A.M. y A. Poljakoff-Mayber. 1989. *The Germination of Seeds*, 4ª ed. Pergamon Press, Oxford. McDonald MB. 2000. Seed priming. En “Seed Technology and Its Biological Basis” (M. Black y J. D. Bewley, Eds.), pp. 287–325. Sheffield Academic Press, Sheffield, UK.
- McDonald, M.B. 2000. Seed priming. En “Seed Technology and Its Biological Basis” (M. Black y J. D. Bewley, Eds.), pp. 287–325. Sheffield Academic Press, Sheffield, UK.

- Méndez Natera, J.R., J.F. Merazo Pinto y N.J. Montaña Mata. 2008. Relación entre la tasa de imbibición y el porcentaje de germinación en semillas de maíz (*Zea mays* L.), carota (*Phaseolus vulgaris* L.) y quinchoncho (*Cajanus cajan* L.) (Mill.). *Revista UDO Agrícola* 8(1): 61-66.
- Milberg, P., L. Andersson y K. Thompson. 2000. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Science Research* 10: 99-104.
- Miraj, G. 2005. Effect of phosphorus and zinc priming on germination, seedling growth and yield of maize. M.Sc. (Hons.) Tesis. Dept. Agric. Chem., NWFP Agricultural University, Peshawar, Pakistan.
- Miransari, M. y D. Smith. 2009. Rhizobial lipo-chitooligosaccharides and gibberellins enhance barley (*Hordeum vulgare* L.) seed germination. *Biotechnology* 8: 270–275.
- Miransari, M. y D. Smith. 2014. Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany* 99: 110–121.
- Mirlotfi, A., S. Bakhtiari y A. Behzad Bazrgar. 2015. Effect of seed priming on germination and seedling traits of Marigold (*Calendula officinalis*) at saline condition. *Biological Forum – An International Journal*. 7(1): 1626-1630.
- Misawa, M. y T. Suzuki. 1982. Recent progress in plant cell culture. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 7: 205–216.
- Montezuma-de-Carvalho, J., J. Paiva y C.S. Pimienta. 1987. Effect of cold storage on seed viability of aromatic plants from the portuguese flora. International Symposium on Conservation of Genetic Resources of Aromatic and Medicinal Plants, (M. Mota y J. Baeta, eds.). Oeiras. 111-116.
- Morad. S. 2013. Study on some aspects of seed viability and vigor. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research* 1(12): 1692-1697.
- Moreno, E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. 1ª Ed. UNAM. México D.F. pp. 103-261.
- Munz, P.A. 1973. A Flora of California and Supplement. University of California Press. Berkeley, California. 240pp.
- Muñeton, P.P. 2009. Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos. Entrevista con el Mr. Erick Estrada Lugo. Revista Digital Universitaria. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num9/art58/int58.htm>.
- Muñoz, F. 2002. Plantas medicinales y aromáticas. Estudio, cultivo y procesado (Reimpresión). México: Ediciones Mundi-Prensa. 365pp.

- Nasiri, Y., P. Feyzi y A. Javanmard. 2014. Effects of Hydro and Hormonal Seed Priming on Seed Germination of Milk Thistle under Saline Stress Condition. *Notulae Scientia Biologicae* 6(3): 374-380.
- Neacșu, V.I., A.S. Apahidean, A.M. Husti y R. Cicevan. 2015. Study of Fennel seed germination (*Foeniculum vulgare* VAR. *Azoricum*). *Agriculture - Science and Practice* 1(2): 93-94.
- Neamatollahi, E., M. Bannayan, A. Ghanbari, M. Haydari y A. Ahmadiam. 2009. Does Hydro and Osmo-Priming Improve Fennel (*Foeniculum vulgare*) Seeds Germination and Seedlings Growth? *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 37(2): 190-194.
- Ocegueda, S., E. Moreno y P. Koleff. 2005. Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. CONABIO. *Biodiversitas* 62:12-15.
- Olguín-Santos, L.P. 2012. Organogénesis *in vitro* de *Picea chihuahuana* Martínez (Pinaceae). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México D.F.
- Olivas, M. 1999. Plantas medicinales del estado de Chihuahua (Vol. 1). Ciudad Juárez. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- Ordoñez, A. 1987. Germinación de las tres especies de *Nothofagus* siempreverdes (Coigües), y variabilidad en la germinación de procedencias de Coigüe común (*Nothofagus dombeyi* (Mirb) Oerst). Tesis Ing. Forestal. Facultad de Ciencias Forestales. Univ. Austral de Chile. Valdivia. 134pp.
- Orozco Segovia A. y M.E. Sánchez Coronado. 2013. Longevidad de la semilla. En: Márquez Guzmán, J., M. Collazo Ortega, M. Martínez Gordillo, A. Orozco Segovia y S. Vázquez Santana (Eds.). pp. 233-235. Biología de Angiospermas. Facultad de ciencias, Coordinación de la Investigación Científica, UNAM. Ciudad Universitaria, México, D. F, México.
- Osuna, H.R., A.G. Hernández, A. Fierro y A.M. Osuna. 2014. Catálogo de semillas de plantas medicinales, enfocado a su propagación (1ª Ed.). México: UNAM, Facultad de Ciencias. 90pp.
- Osuna, L., P. Tapia y C. Aguilar. 2005. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Barcelona: Universitat de Barcelona. 172pp.
- Pamplona, R.J. 2006. Salud por las plantas medicinales (Vol. 1). Madrid, España: Editorial Safeliz, S. L. 384pp.

- Paniagua, P.G., A.C. Hernández, M.F. Rico, P.F. Domínguez, O.E. Martínez y G.C. Martínez. 2015. Efecto de la luz led de alta intensidad sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de Brócoli (*Brassia olearacea* L.). Polibotánica. Núm. 40, pp. 199-212; México. DOI: 10.18387/polibotanica.40.13.
- Pearson, T.R.H., D.F.R.P. Burslem, C.E. Mullins y J.W. Dalling. 2002. Germination ecology of neotropical pioneers: interacting effects of environmental conditions and seed size. *Ecology* 83: 2798-2807.
- Peishi, Z., J.A. Plummer, D.W. Turner, D. Choengsaat y D.T. Bell. 1999. Low-and High-temperature Storage Effects on Viability and Germinability of Seeds of Three Australian Asteraceae. *Australian Journal of Botany* 47: 265-275.
- Pérez, C.R. 2009. Frutas y hortalizas orgánicas de la red de mercados y tianguis orgánicos de México. Estudio del Sial. *Claridades Agropecuarias* 194: 25-45.
- Pérez, F. y J.M. Pita. 2001. Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de semillas. Hojas divulgadoras, 2112, España. MAGRAMA.
- Pérez, G. F. y L.J.B. Martínez. 1994. Introducción a la fisiología vegetal. Ediciones Mundi-Prensa. pp. 157-162.
- Pill, W.G. y A.D. Necker. 2001. The effects of seed treatments on germination and establishment of Kentucky bluegrass (*Poa pratense* L.). *Seed Science and Technology* 29: 65-72.
- Pimpini, F., M.F. Filippini y G. Gianquinto. 1993. The influence of temperature and light on seed germination of radicchio (*Chicorium intybyls* L. var. *silvestre* Bishoff). *Seed Science and Technology* 21: 69-83.
- Rao, N.K., J. Hanson, M.E. Dulloo, K. Ghosh, D. Novell y M. Larinde. 2007. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Manuales para Bancos de Germoplasma No. 8. Bioversity International, Roma, Italia.
- Rashid, A., D. Harris, P.A. Hollington y R.A. Khattak. 2002. On-farm seed priming: a key technology for improving the livelihoods of resource-poor farmers on saline lands, p. 423-431. En: R. Ahmad, K. A. Malik (Eds.). *Prospects for Saline Agriculture*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Roberts, E.H. 1973. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology* 1: 499-514.
- Rocha, H.I., E. Blaisdell, V. Granados y A. Navarrete. 2010. Antinociceptive effect of 7-hidroxy-3, 4-dihidrocadalin isolated from *Heterotheca Inuloides*: Role of peripheral 5-HT₁ serotogenic receptors. *European Journal of Pharmacology* 649(1-3): 154-160.

- Rodríguez-Chávez, J.L., V. Egas, E. Linares, R. Bye, T. Hernández, F.J. Espinosa-García y G. Delgado. 2017. Mexican Arnica (*Heterotheca inuloides* Cass. Asteraceae: Astereae): Ethnomedical uses, chemical constituents and biological properties. *Journal of Ethnopharmacology* 195: 39–63.
- Rubim, R.R., S.D. Freitas, H.D. Vieira y G.D. Gravina. 2013. Physiological quality of fennel (*Foeniculum vulgare* Miller) seeds stored in different containers and environmental conditions. *Journal of Seed Science* 35(3): 331-339.
- Sarwar, N., S. Yousaf y F.F. Jamil. 2006. Induction of salt tolerance in chickpea by using simple and safe chemicals. *Pakistan Journal of Botany* 38: 325-329.
- Schifter, L., F.J. Puerto y P. Aceves. 2009. Las Farmacopeas de México y Estados Unidos en el nuevo milenio: paralelismos y divergencias. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. 75(4): 923-946.
- Schopfer, P. y C. Plachy. 1985. Control of seed germination by abscisic acid: III. Effect on embryo growth potential (mínimum turgor pressure) and growth coefficient (cell Wall extensibility) in *Braddica napus* L. *Plant Physiology* 77: 676-678.
- Sedhgi, M., A. Nemati y B. Esmailpour. 2010. Effect of seed priming on germination and seedling growth of two medicinal plants under salinity. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 22(2): 130-139.
- Sharma, S.K. y V.P. Singh. 1979. The antifungal activity of some essential oils. *Indian Drugs and Pharmaceuticals Industry*, 14: 3–6.
- Tahaei, A., A. Soleymani y M. Shams. 2016. Seed germination of medicinal plant, fennel (*Foeniculum vulgare* Mill), as affected by different priming techniques. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 180: 26–40.
- Tanira, M.O.M., A.H. Shah, A. Mohsin, A.M. Ageel y S. Quareshi. 1996. Pharmacological and toxicological investigations on *Foeniculum vulgare* dried fruit extract in experimental animals. *Phytotherapy Research* 10:33–36.
- Teale, W.D., I.A. Paponov, F. Ditungou y K. Palme. 2005. Auxin and the developing root of *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum* 123: 130–138.
- Thomas, T.H. 1994. Responses of Florence fennel (*Foeniculum vulgare azoricum*) seeds to light, temperature and gibberellin A_{4/7}. *Plant Growth Regulation* 14: 139-143.
- Toogood, A. 1999. Royal Horticultural Society Propagating Plants (RHS). UK: Dorling Kindersley. 320pp.

- Torres, L.B. 1999. "Plantas, curanderos y prospección biológica". *Ciencias* 55-56: 54-60.
- Torres, M., F. Muñoz, A. Cases y T. Ortega. 1989. Effect of age on the viability of fennel seeds from cultivated plants. *Acta Horticulturae* 253: 113-120.
- Torres, S.B. 2005. Qualidade de sementes de melancia armazenadas em diferentes embalagens e ambientes. *Ciência Agrônômica* 36(2): 163-168.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 05 Jul 2017 <<http://www.tropicos.org/Name/2732943>>
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. 05 Jul 2017 <<http://www.tropicos.org/Name/1700130>>
- Varier, A., A. Kuriakose Vari y M. Dadlani. 2010. The subcellular basis of seed priming. *Current Science* 99(4): 450-456.
- Vârban, D.I., R. Vârban y A. Odagiu, 2012. Testing Germination Capacity on Seeds of *Arnica Montana* L. Specie. *ProEnvironment* 5: 251-255.
- Vázquez-Yanes, C. 1997. Como viven las plantas. Fondo de Cultura Económica. Segunda edición. México. 95pp.
- Waizel-Bucay, J. y M. Cruz-Juárez. 2014. *Arnica montana* L., planta medicinal europea con relevancia. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 5(25).
- Wunderlin, R.P. 1998. Guide to the vascular plants of Florida. University Press of Florida. Gainesville. Florida, USA. 787pp.
- Zamorano, U.J. y S.H. Ríos. 2004. Importancia y perspectiva de los productos no tradicionales. *Claridades Agropecuarias* 132: 3-19.
- Zarghani, H., S. Mijani, S. E. Nasrabadi, M. Ghias- Abadi, S. Khorramdel y R. Azimi. 2014. Temperature Effects on the Seed Germination of Some Perennial and Annual Species of *Asteraceae* Family. *Plant Breeding and Seed Science* 69(1): 3-14. De doi:10.1515/plass-2015-0001

11. ANEXOS

1. Ficha técnica del producto comercial Radix® T3000.

**LEA ESTE DOCUMENTO ANTES DE USAR EL PRODUCTO Y
CONSULTE A UN PROFESIONAL EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**



FICHA TÉCNICA RADIX® T 3000

**REGULADOR DE CRECIMIENTO VEGETAL TIPO 1
LÍQUIDO**

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO:

RADIX® T 3000, es un producto regulador de crecimiento vegetal, formulado en líquido soluble, que contiene Ácido Indol-3-Butírico al 0.3 % como ingrediente activo, siendo la auxina más eficaz en la promoción de la iniciación de la formación de raíces adventicias o laterales.

ANÁLISIS GARANTIZADO:

Ácido Indol-3-butírico (4-(1 H-indol-3-yl)butyric acid) -----0.3%
Ingredientes Inertes-----99.7%

Un litro de **RADIX® T 3000** contiene el equivalente a 3 gramos de AIB puro.

Presentación: Caja de 15X1 litro.

FORMA DE ACCIÓN:

El Ácido Indol-3-Butírico ingrediente activo de **RADIX® T 3000**, es un regulador de crecimiento vegetal, una auxina presente en la naturaleza (p. ej. *Arabidopsis thaliana*, y *Salix*), que regula la iniciación y el crecimiento de las raíces laterales, modificando la arquitectura del sistema radicular de las plantas. El Ácido Indol-3-Butírico puede ser absorbido por cualquier parte de las plantas. Actúa por sí mismo y a través de su transformación en Ácido Indol-3-Acético, que también regula el crecimiento de las raíces.

Se recomienda su aplicación en hortalizas de trasplante o siembra directa; granos, forrajes, frutales, forestales y pastos; para estimular el desarrollo general de las plántulas y acelerar el restablecimiento de la plantación después del trasplante y/o siembra por medio de la inducción de desarrollo de raíces laterales.

En el proceso agrícola del trasplante de plántulas de hortalizas, sucede un fenómeno similar a la propagación vegetativa por enraizado de esquejes. Esto es, durante el trasplante, cerca de la totalidad de las raíces que ha desarrollado la plántula en el invernadero mueren y se degradan, dando paso a la iniciación de raíces laterales que parten desde la base del tallo, para formar un sistema de radicular prácticamente nuevo, similarmente al enraizado de esquejes.

La aplicación de **RADIX® T 3000**, después del trasplante induce artificialmente la regeneración y crecimiento de las raíces, anticipadamente a la respuesta natural del vegetal, acelerando su restablecimiento y contrarrestando el deterioro que se presenta por el trasplante, logrando por este medio un menor daño por la exposición de las raíces y por las condiciones del medio ambiente. Al restablecer y renovar el sistema radicular más rápidamente y con una mejor estructura, se incrementa el vigor y la fortaleza general de la planta, disminuyendo los efectos negativos que acompañan al trasplante.

Actualizado 18-02-2014

Página 1 de 3



INTERCONTINENTAL IMPORT EXPORT, S.A. DE C.V.
Libramiento Carretero Sur Km. 3.5, Predio "La Manga", CP 36881, Salamanca Gto. México.
Tel. (52) 464 647 4250 y Fax. (52) 464 647 4187 e-mail: contacto@interis.net

El rendimiento de la cosecha está relacionado con la sanidad, cantidad y calidad de la biomasa radicular. La causa más frecuente del deterioro en el desarrollo de las raíces, se debe a niveles inadecuados de humedad, la alteración de las cualidades del suelo y su infestación por plagas y enfermedades.

La oportuna aplicación **RADIX® T 3000**, así como las buenas prácticas sanitarias disminuyen el detrimiento del sistema radicular, induciendo el crecimiento y la formación de nuevas y más numerosas raíces, que alcanzan mayor profundidad y cobertura radial, aumentando la capacidad de la planta para la absorción de nutrientes y humedad, en una zona más amplia del suelo.

La arquitectura superior del sistema radicular artificialmente inducido con **RADIX® T 3000**, promueve el mejor desarrollo general de las plantas, produciendo cosechas de mayor calidad, uniformidad y cantidad.

RECOMENDACIONES DE USO: Úsese en los cultivos aquí recomendados

CULTIVO	DOSES	EPOCA	MÉTODO
AGAVE (Agave tequilana)	1 L sin dilución (3000 ppm)	Tratamiento de la "semilla" Antes de la plantación.	Aspersión sobre la base del esqueje
	1 L en 100 L de agua (30 ppm)	Aplicar cada 4 meses	Aplicación al suelo "drench" 100 c.c./planta
AJO (<i>Allium sativum</i>)	1 L en 200 L de agua (15 ppm)	Tratamiento de la "semilla"	Inmersión de la "semilla" por ½ hora.
	1 L por Ha	30 días después de la siembra	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
CEBOLLA (<i>Allium cepa</i>) ZANAHORIA (<i>Daucus carota</i>)	2 L por Ha	30 días después de la siembra	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
	4 L en 120 L de agua (100 ppm)	Aplicar cada 4 meses	Aplicación a sobre el como o al suelo "drench" 80 a 100 c.c. por planta.
BANANO (PLATANO) (<i>Musa paradisiaca</i>)	4 L en 120 L de agua (100 ppm)	Aplicar cada 4 meses	Aplicación a sobre el como o al suelo "drench" 80 a 100 c.c. por planta.
BROCOLI (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>), COL (var. <i>viridis</i>) COLIFLOR (var. <i>Botrytis</i>), LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i>)	En invernadero de germinación: 160 c.c. a 20 L de agua (24 ppm)	Antes de la siembra. Tratamiento a través del sustrato.	Humedecer el sustrato con la solución y antes de llenar las charolas.
	1 a 2 L por Ha	7 a 13 días después de trasplante.	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
CALABAZA (<i>Cucurbita pepo</i>) PEPINO (<i>Cucumis sativus</i>), MELÓN (<i>Cucumis melo</i>) Y SANDÍA (<i>Citrullus lanatus</i>)	1 a 2 L por Ha	7 a 13 días después de trasplante.	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
	4 L por Ha en cuatro aplicaciones de 1 L por Ha cada una	Aplicaciones a los: 10, 40, 130 y 190 días después de trasplante.	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
CHILE, PIMIENTO (<i>Capsicum annuum</i>), TOMATE (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	4 L por Ha en cuatro aplicaciones de 1 L por Ha cada una	Aplicaciones a los: 10, 40, 130 y 190 días después de trasplante.	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
	2 L por Ha	30 a 45 días después de la emergencia de las plantas.	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
CEBADA (<i>Hordeum vulgare</i>) MAIZ (<i>Zea mays</i>), TRIGO (<i>Triticum aestivum</i>), SORGO (<i>Sorghum vulgare</i>), etc.	1 L por Ha	Aplicar cada 4 meses	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
	1 L en 200 L de agua (15 ppm)	Antes de la siembra	Inmersión de los esquejes (estilones) en la solución por 2 a 8 Hr.
ESPARRAGO (<i>Asparagus officinalis</i>) FRAMBUESA (<i>Rubus idaeus</i>), ZARZAMORA (<i>Rubus fruticosus</i>)	1 L por Ha	Aplicar cada 4 meses	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
	1 L en 200 L de agua (15 ppm)	A los 30, 90, 150 y 210 días después de la plantación.	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
PAPA (<i>Solanum tuberosum</i>)	1 L en 200 L de agua (15 ppm)	Tratamiento de "semilla"	Aspersión sobre la "semilla" o inmersión instantánea de "semilla".
	1 L por Ha	30 a 45 días después de la siembra	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.

2 Actualizado 18-02-2014

Página 2 de 3



Libramiento Carretero Sur Km. 3.5, Predio "La Manga", CP 36881, Salamanca Gro. México.
Tel. (52) 464 647 4250 y Fax. (52) 464 647 4187 e-mail: contacto@interfie.net

CULTIVO	DOSIS	EPOCA	MÉTODO
FRUTALES: AGUACATE (<i>Persea americana</i>), MANZANO (<i>Malus domestica</i>), MANGO (<i>Mangifera indica</i>) NOGAL (<i>Juglans regia</i>), VID (<i>Vitis vinifera</i>), CAFÉ (<i>Coffea arabica</i>) CACAO (<i>Theobroma cacao</i>) Citricos	1 L en 1 L de agua (1500 ppm).	Propagación de esquejes porta-injertos o "patrones".	Inmersión instantánea del corte basal de los esquejes en la solución.
	2 a 4 L por Ha.	Aplicar cada 3 a 4 meses.	Aplicación foliar o a través de riego por goteo.
	4 L en 200 L de agua (60 ppm).	Aplicación cada 4 meses.	Aplicación al suelo "drench" 100 c.c./planta
PAPAYO (<i>Carica papaya</i>)	2 L en 200 L de agua (30 ppm).	Aplicar cada 30 a 60 días.	Aplicación al suelo "drench" 180 c.c./planta
PASTOS, CÉSPED, ALFALFA	1 L por Ha	Aplicar cada 30 a 60 días.	Aplicación foliar o a través de riego por aspersión.
PIÑA (Ananas comosus)	6 L por Ha	30 a 45 días después de la siembra	Aplicación foliar o a través de riego por aspersión.
PLANTAS DE ORNATO	1 L en 100 L de agua (30 ppm)	10 a 15 días después del trasplante cada 60 días	Aplicar en "drench" de 50 a 100 c.c. de la solución por planta

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS DE USO:

INCOMPATIBILIDAD:

Incompatible con compuestos halogenados. No se ha demostrado incompatibilidad con otros agroquímicos. Solo deberá mezclarlos con productos registrados en los cultivos autorizados. Se recomienda efectuar pruebas a pequeña escala para comprobar resultados antes de efectuar aplicaciones masivas. RADIX® T 3000 es estable en rangos de Ph de 4 a 11.

FITOTOXICIDAD: Este producto no ha presentado fito-toxicidad a las dosis recomendadas.

TOXICIDAD: Toxicidad del producto comercial:
Grupo IV. Productos que no tienen u ofrecen algún peligro.
LD50 Oral Aguda: > 2000 mg/Kg
LD50 Dérmica: > 2000 mg/Kg.
Índice de irritación ocular: 6 (En una escala de 0 - 110)

INTERVALO ENTRE LA ÚLTIMA APLICACIÓN Y LA COSECHA: Sin restricción.

INTERVALO DE REINGRESO AL ÁREA TRATADA: Sin restricción.

LÍMITE DE TOLERANCIA DE RESIDUOS: Exento de límite de tolerancias EPA.

REGISTRO CICOPFAEST: RSCO-3184/XII/94

FABRICANTE Y FORMULADOR:
INTERCONTINENTAL IMPORT EXPORT, S.A. DE C.V.
LIBRAMIENTO SUR KM. 3.5. SALAMANCA, GUANAJUATO, MÉXICO C.P. 36881
TEL.: 52 (464) 742-50. FAX: 52 (464) 741-87
E-MAIL: contacto@interie.net
Página Web: www.interie.net

Actualizado 18-02-2014

Página 3 de 3



INTERCONTINENTAL IMPORT EXPORT, S.A. DE C.V.
Libramiento Carretero Sur Km. 3.5, Predio "La Manga", CP 36881, Salamanca Gto. México.
Tel. (52) 464 647 4250 y Fax. (52) 464 647 4187 e-mail: contacto@interie.net

2. Ficha técnica del producto comercial BIOGIB® 10PS.



Arysta LifeScience

FICHA TÉCNICA BIOGIB

1 de 1

MÉXICO

DESARROLLO TÉCNICO

Julio, 2014

ESPECIFICACIONES DE AGROINSUMOS			
TIPO DE AGROINSUMO: Regulador de crecimiento vegetal			
NOMBRE COMERCIAL: BIOGIB® 10 PS			
FORMULACIÓN: Polvo	pH DE LA FORMULACION: 6.0 a 8.5 (solución al 5%)	COLOR: Blanco o crema claro	SOLUBILIDAD EN AGUA: Soluble
COMPOSICION PORCENTUAL: % EN PESO		PRINCIPALES COMPUESTOS DE LA FORMULACION:	
Acido giberélico (GA ₃)10		Acido giberélico	
Diluyentes y acondicionadores90		FAMILIA QUIMICA: Ácidos orgánicos	
Total 100		FORMULA QUIMICA: C ₁₉ H ₂₂ O ₆	
MODO DE ACCIÓN: BIOGIB® es un estimulante de crecimiento vegetal hecho a base de ácido giberélico (GA ₃) que favorece el crecimiento vegetativo mediante la división y/o elongación celular, en las regiones meristemáticas, promoviendo el desarrollo y crecimiento de la planta. Induce el amarre y crecimiento de frutos.			
CATEGORIA DE PELIGRO: No aplica	RESIDUALIDAD: No es Residual	NUMERO DE REGISTRO: RSCO-0038/II/95	
USOS AUTORIZADOS:			
Cultivos	Dosis y época de aplicación	Efectos	
Uva Flame sin semilla	De 15 a 37.5 gramos de BIOGIB® 10 PS por ha durante la floración, aplique cuando la mayoría de los racimos estén al 80% de floración. De 100 a 240 gramos de BIOGIB® 10 PS por ha después del raleo del racimo o cuando las bayas midan un promedio de 6 a 8 mm y la segunda aplicación durante los próximos 5 a 10 días.	Para disminuir el amarre reduciendo costos de raleo y acelerar la maduración. Aumenta el tamaño de los frutos.	
Uva Perlette	De 160 a 400 gramos de BIOGIB® 10 PS por ha cuando las bayas midan de 4 a 5 mm de diámetro. La primera aplicación después del raleo del racimo y la segunda dentro de los próximos 7 días. (Si la segunda aplicación ocurre a más de 14 días se reducirá el efecto potencial)	Para aumentar el tamaño de bayas y racimos.	
Uva Superior	100 gramos de BIOGIB® 10 PS por ha en una aplicación de 800 a 1,000 l/ha dos semanas después del raleo natural con un diámetro de baya de 10 a 15 mm.	Aumenta el tamaño de la baya y reduce el adelgazamiento de esta.	
Uva Thompson sin semilla	De 40 a 80 gramos de BIOGIB® 10 PS por ha antes de la floración cuando los racimos tengan un largo de 8 a 13 cm. De 160 a 400 gramos de BIOGIB® 10 PS por ha después del raleo del racimo cuando las bayas midan de 4 a 5 mm de diámetro o dos aplicaciones de igual cantidad, la primera dentro de 2 a 3 días después del raleo haciendo la segunda aplicación dentro de las dos próximas semanas.	Alargamiento de los racimos y reducción del costo de raleo. Aumento de tamaño en uvas y racimos.	
Uva Thompson sin semilla para pasas	De 20 a 30 gramos de BIOGIB® 10 PS por ha cuando la mayoría de los racimos estén en el 60 al 80% de floración.	Disminuye el amarre de las bayas, obtiene mejor calidad de pasas, acelera la maduración y reduce la pudrición.	
Fresa	10 gramos de BIOGIB® 10 PS por 100 litros de agua, al inicio del crecimiento de frutos y repita la misma dosis entre 15 a 20 días.	Para incremento del tamaño de frutos.	
Frambuesa Zarzamora	De 50 a 60 gramos de BIOGIB® 10 PS por ha, al inicio del crecimiento de frutos y repita la misma dosis de 15 a 20 días.	Para incremento del tamaño de frutos.	
RECOMENDACIONES ESPECIFICAS: Lea detenidamente la etiqueta del producto y siga las indicaciones de uso.	PRESENTACIONES COMERCIALES: Frasco de 10 g	RESPONSABLE DEL PRODUCTO: Arysta LifeScience México, S.A. de C.V. Blvd. Jesús Valdés Sánchez No. 2369 Col. Europa, C.P. 25290. Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México. Tel. 01 844 438 05 00.	