



Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

CARRERA DE BIOLOGIA

DETERMINACION DE ALGUNOS PARAMETROS AMBIENTALES
QUE INFLUYEN EN LA RUPTURA DE LA LATENCIA EN
SEMILLAS DE Stenocereus griseus (Haw)
Buxbaum (PITAYO DE MAYO)

2501147
8.2

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
PRESENTA
ELVA MARTINEZ HOLGUIN

MARZO DE 1983



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A mi madre

porque su manera de visualizar el futuro
fué un ejemplo para forjar el mío.

A Paquito

por el camino que le falta por
recorrer

A Rosalía y Alvaro

Agradezco a la M.C. Ofelia Grajales Muñiz, director de esta tesis, la orientación que me brindó para el desarrollo de la misma; así mismo a los Biólogos Gabriel Camarena, Carlos Acosta, Silvia Zepeda e Ignacio Peñalosa por la revisión y las sugerencias aportadas.

También hago patente mi gratitud a mis compañeros y amigos por su apoyo desinteresado, el que me alentó durante el desarrollo de este libro.

Mi especial agradecimiento a Rocío Tenorio por la ayuda brindada para el inicio de este trabajo y a Rosalía Martínez por sus sugerencias para la redacción.

La parte experimental de este trabajo se
realizó en el laboratorio de "Fisiología -
Vegetal" de la Facultad de Estudios - - -
Superiores Cuautitlán, UNAM, Rancho - -
Almaráz.

C O N T E N I D O .

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	
II. 1 Antecedentes generales de <u>Stenocereus griseus</u> (Haw) Buxbaum,	
II. 1. 1. Taxonomía	5
II. 1. 2. Descripción	5
II. 1. 3. Distribución	6
II. 1. 4. Importancia y usos	6
II. 2 Latencia y germinación	
II 2. 1. Latencia	7
II. 2. 2. Ruptura de la latencia o germinación	
II. 2. 2. 1. Concepto	10
II. 2. 2. 2. Factores que influyen en la ruptura de la latencia.	
1. Agua	11
2. Gases	13
3. Temperatura	14
4. Luz	16
II. 2. 2. 3. Aspectos metabólicos de la germinación	20
1. Acido abscísico	22
2. Giberelinas	23

3. Citocininas	24
4. Etileno	25
III. MATERIALES Y METODOS	
III. 1. Adaptación de instrumentos	
III. 1. 1. Sección de manipulación y conteo	27
III. 1. 2. Sección de imbibición	27
III. 1. 3. Sección de irradiación	29
III. 1. 4. Sección de incubación	39
III. 2 Obtención de las semillas	39
III.3 Determinación de condiciones para la germinación	40
1. Tiempo de imbibición	40
2. Calidad de la luz	41
3. Tiempo de irradiación con luz roja	42
4. Temperatura de incubación	42
5. Reversión por rojo/rojo lejano	42
III. 4 Presentación de resultados	43
IV. RESULTADOS	44
IV. 1 Tiempo de imbibición	47
IV. 2 Calidad de la luz	66
IV. 3 Tiempo de irradiación con luz roja	71
IV. 4 Temperatura de incubación	79
V. DISCUSION	88
VI. REFERENCIAS	102

I. INTRODUCCION.

En la literatura existen numerosas investigaciones relacionadas con la germinación de las semillas y los requerimientos específicos que desencadenan dicho proceso (Taylorson and Hendricks, 1977). Debido a su importancia en la alimentación, las especies agrícolas han sido estudiadas en gran escala; sin embargo, el establecimiento de estas especies frecuentemente ha propiciado el uso inadecuado y anárquico de la tierra, provocando la desaparición innecesaria de la vegetación natural, la alteración del ambiente ecológico y, muchas veces, la total desertificación de la zona (Rzedowski, 1978). Por otra parte, las especies no cultivadas han recibido poca atención y muchas de éstas, en última instancia, pueden ser aprovechadas como alimento (de hecho en muchas zonas lo son), pero en este caso se presenta la necesidad de racionalizar su aprovechamiento, incrementando el conocimiento de dichas especies en todos sus aspectos (Rzedowski, 1978). Entre las plantas no cultivadas que presentan potencialidad para la producción de alimentos se encuentran las que habitan las zonas áridas y semiáridas (incluidas en la vegetación de matorral xerófilo) que ocupan grandes extensiones de nuestro país y en donde particularmente abundan las cactáceas.

Los trabajos relativos a la propagación de especies no cultivadas de las zonas áridas, específicamente de cactáceas, son pocos. Algunos se centran en el estudio morfológico de las plántulas en desarrollo (Bernard, 1967; Mauseth, 1979 y 1980; White, 1979) y otros estudian únicamente la reproducción vegetativa (Robinson, 1979), pero muy pocos estudian el proceso de establecimiento de la semilla, v.g. germinación.

Si se considera que las especies no cultivadas están adaptadas al medio en que se encuentran y que pueden ser fuentes de producción de alimentos, entonces se hace necesario un estudio fisiológico profundo de las mismas. Dicho estudio debe iniciarse preferentemente en el proceso de germinación, esto es, con la dilucidación de los requerimientos mínimos para el establecimiento de los individuos ya sea en condiciones naturales o de laboratorio.

El estudio de la especie Stenocereus griseus (Haw.) Buxbaum, es de gran importancia porque a pesar de que no se encuentra en forma silvestre, pues no es nativa de nuestro país, es cultivada sólo a nivel de huertos familiares y los productos cosechados se comercializan en las zonas de producción (parte de Puebla y Oaxaca). Los lugares en donde se producen son considerados "zonas marginadas", esto es, el nivel de ingresos es mínimo y no contribuyen con la economía nacional. Si se inicia el conocimiento de esta especie podría existir la posibilidad de lograr una producción a gran escala, lo que sería una fuente de ingresos para los habitantes de estas zonas. Asimismo podrían utilizarse como especies de reforestación, ya que su misma adaptación a las condiciones de estas zonas implicaría una disminución en el presupuesto para su mantenimiento (v.g. riegos) y, una vez establecidas, los cuidados serían mínimos.

Williams y Arias (1978) estudiaron la germinación de semillas de S. griseus y determinaron que la falta de germinación en semillas recién cosechadas se debía a la presencia de ciertas sustancias aisladas, denominadas como: fracción fenólica, fracción II parecida a ABA y fracción III componente no identificado. Asimismo encontraron que las semillas después de 9 semanas de almacenamiento en seco res-

pondían con altos porcentajes de germinación bajo constante iluminación y a 25°C. Encontraron que sustancias tales como GA₃ y citocininas inhibían los efectos de inhibición de soluciones de extracto de jugo diluidas al 5%, y que las cantidades extraíbles de inhibidores se reducían después del almacenamiento de 17 a 5 - - nmoles/g de peso seco.

De lo anterior puede mencionarse que las semillas de S. griseus pasan de una latencia química (presente cuando son recién cosechados los frutos) a una latencia fisiológica superficial después de un almacenamiento en seco, así como que estas semillas presentan fotoblastismo positivo.

Stephanis y Langhans (1980) utilizando algunas cactáceas y crasuláceas determinaron que un rango de temperatura de 29 a 35°C, una humedad relativa alta y un fotoperíodo de 18 horas con una intensidad de radiación de 220 uE.m⁻²s⁻¹ (16 klx), son óptimos para la germinación de Cephalocereus senilis, Cereus - - peruvianus y Echinocereus dasyacanthus.

Siendo S. griseus una especie adaptada a las zonas áridas y que presenta fotoblastismo positivo, se espera obtener una máxima germinación cuando sea sometida a tiempos de imbibición prolongados, a irradiaciones con luz roja e incubaciones a temperaturas que vayan de 25 a 29°C.

Con la presente investigación se pretende lo siguiente:

1. Determinar el grado de hidratación requerido para que la semilla responda a irradiación con luz roja.
2. Demostrar si el fotorreceptor responsable para el disparo de la germinación

es el fitocromo.

3. Detectar si diferentes tiempos de irradiación alteran la respuesta final de germinación.
4. Definir la temperatura óptima de germinación.

II. ANTECEDENTES.

II.1 Antecedentes generales de Stenocereus griseus (Haw) Buxbaum.

II.1.1. Taxonomía.

La especie Stenocereus griseus (Haw.) Buxbaum, se incluye dentro de la siguiente clasificación taxonómica: Familia Cactaceae Lindl., Subfamilia Ceroideae Schum., Tribu Pachycereae Buxb., Subtribu Stenocereinae Buxb., Género Stenocereus (Berg.) Ricc. También ha sido incluida dentro de los géneros Cereus (C. griseus Salm-Dyck, C. crenulatus griseus, C. resupinatus, C. gladiger Lemaire) Lemaireocereus (L. griseus (Haw) Britt. et Rose) y Reitterocereus (R. griseus (Haw) Backeberg) (Bravo, 1978).

Comúnmente se le conoce por los nombres de "pitaya" (Bravo, 1978), "pitayo de mayo", "pitayo de Mitla" (Martínez, M.1979) ó "pitaya de mayo".

II.1.2. Descripción.

Bravo (1978) las describe como plantas "arborescentes de 6 a 9 m. de altura, ramosas, con tronco bien definido, como de 35 cm. de diámetro, o con ramas desde la base. Ramas de color verde más o menos glauco, generalmente erectas, a veces flexuosas. Costillas 8 a 10. Aréolas distantes entre sí 2 a 3 cm., de 8 mm. de longitud, con fieltro moreno, con el tiempo grisáceo. Espinas más o menos subuladas. Espinas radiales 10 a 11, de 6 a 10 mm. de largo. Espinas centrales 3, de 15 mm. de largo o más; las más largas hasta de 4 cm. de longitud, al principio color rojo claro con la punta oscura, después

grisáceas. Flores hasta de 10 cm. de longitud; segmentos exteriores del perianto rojizos, segmentos interiores del perianto blancos; botón floral obtuso o redondeado, con el ápice cubierto por escamas obtusas, morenas. Fruto globoso hasta ligeramente ovoide, de 5 cm. de diámetro, provisto de aréolas espinosas y caducas, color que varía desde el verde amarillento hasta el rojo o moreno púrpuro; pulpa del mismo color que el pericarpelo, comestible. Las semillas de las especies que pertenecen a este género son grandes con testa negra, lisa hasta verrucosa, hilo hundido; embrión curvo; cotiledones grandes y triangulares; plántulas con hipocótilo breve."

II.1.3. Distribución.

La mayoría de las pitayas conocidas son nativas del país (Anónimo, 1930), no siendo este el caso de *S. griseus* cuya localidad tipo se sitúa en Sudamérica -localidad aún no definida- (Britton and Rose, 1963) pero que se encuentra ampliamente distribuida, pues en forma silvestre existe en Venezuela e islas adyacentes, así como en México en el sur de Tamaulipas y en Veracruz (Bravo, 1978)

II.1.4. Importancia y usos.

Al parecer sólo en México se consume como fruta fresca, pues en otras partes del continente se utiliza la parte vegetativa como vegetal o como seto vivo. También se utiliza como madera para fabricar techos y paredes o como fertilizante debido a su alto contenido de Potasio (Britton and Rose, 1963).

Su importancia comercial -a escala nacional y no regional- es restringida debido a las dificultades que presenta para su manejo, aunque se considera "como de

las mejores frutas frescas, que como de lujo llegan a encontrarse magníficos ejemplares en los mercados" (Anónimo, 1930).

En México esta especie se cultiva en los estados de Puebla, Veracruz y Oaxaca en huertos familiares por el sabor agradable de sus frutos (Bravo, 1978) siendo ésta la pitaya más importante en la Mesa Central de México y parte del Sur -- (Anónimo, 1930).

11.2 Latencia y Germinación.

El ciclo vital de las plantas superiores incluye la reproducción sexual con la subsecuente formación de semillas, también denominadas "unidades dispersantes" que, en términos generales, consisten de un embrión acompañado de una reserva de alimentos y envueltos ambos por cubiertas protectoras desarrolladas a partir de las paredes originales del óvulo. Dichas cubiertas a menudo son de gran resistencia y por ello protegen al embrión de condiciones desfavorables del ambiente (Medina, 1977). La semilla, aparte de su importancia como fuente de variabilidad genética, presenta la habilidad de permanecer viable por períodos muy prolongados sin germinar (latente), siendo ésta una de las propiedades adaptativas más importantes de las plantas puesto que les permite sobrevivir a condiciones muy adversas (Nikolaeva, 1977).

11.2.1. Latencia

Al hablar de latencia en semillas se hace referencia a la interrupción en el desarrollo del embrión, aún bajo condiciones apropiadas para el crecimiento (Taylorson and Hendricks, 1977); dicho estado se expresa antes de la emergen

cia de la radícula.

Según Nikolaeva (1977) el término latencia puede dividirse en:

1. Latencia impuesta. Se refiere a la falta de germinación de las semillas debido a la ausencia de condiciones adecuadas. La causa común de este tipo de latencia es el bajo contenido de humedad en la semilla madura.
2. Latencia orgánica. Se relaciona con las propiedades de la semilla. Dependiendo de la especie y de lo severo de las condiciones para la germinación - - existirá una disminución o una completa ausencia de la misma.

La latencia orgánica es subdividida a su vez en exógena, endógena y combinada: con base en la relación entre los factores responsables de la inhibición en la germinación y los requeridos para eliminar tal inhibición.

Exógena. Se relaciona principalmente con las cubiertas de la semilla, quienes promueven algún efecto inhibitor sobre la germinación del embrión tales como: impermeabilidad hacia el agua (latencia física), resistencia hacia el crecimiento del embrión (latencia mecánica), y a la presencia de inhibidores (latencia química). Wareing y Saunders (1971) incluyen este último tipo dentro de la "latencia impuesta por la cubierta". Tanto la latencia mecánica como la química no se encuentran como tales, sino en combinación con otros tipos de latencia.

Endógena. Puede encontrarse con o sin la combinación de la latencia exógena, y está determinada por peculiaridades anatómicas, morfológicas o fisiológicas específicas del embrión, y en este caso sólo aquéllos factores que ocasionan cambios fisiológicos pueden romperla, tales como estratificación, iluminación o

administración de promotores del crecimiento. Cuando se habla de "inmadurez del embrión" se hace referencia a la latencia morfológica, que generalmente va acompañada por mecanismos fisiológicos de inhibición (latencia morfofisiológica o combinada). La necesidad de bajas temperaturas, almacenamientos post-cosecha o presencia de luz requeridos por algunas semillas se incluyen dentro de la latencia fisiológica, la que a su vez puede ser superficial (plantas agrícolas y semillas fotoblásticas), intermedia (requieren períodos prolongados de estratificación) y profunda (requieren estratificación fría prolongada a temperaturas de 1 a 7°C).

La latencia es un estado fisiológico que requiere de un mecanismo de mantenimiento y que, con excepción de la latencia física, dicho mecanismo debe estar actuando a nivel celular, en donde necesariamente estén involucradas tanto la promoción como la inhibición del crecimiento. Dicha promoción e inhibición ha sido asignada a la presencia o ausencia de fitohormonas o a la actividad o inactividad de fotorreceptores tales como el fitocromo; sin embargo, el mecanismo específico que mantiene el estado de latencia aún no ha sido explicado.

Taylorson y Hendricks (1977) mencionan que "la latencia en las semillas con embriones maduros, no restringidos por las cubiertas, se origina por la falta de integración de los sistemas metabólicos requeridos para la germinación. Dicha integración requiere de un intercambio de productos entre los compartimentos celulares tales como las mitocondrias, etioplastos y glioxisomas, y tal intercambio probablemente está controlado por acciones hormonales y del fitocromo en las membranas que limitan a los organelos. Por otra parte, una causa proba-

ble, aunque rara, de la latencia es la falta de integración metabólica a nivel de control enzimático en el citoplasma".

11.2.2. Ruptura de la latencia o germinación.

11.2.2.1. Concepto.

La germinación ha sido definida desde muchos puntos de vista. Heydecker (1977) menciona que es un proceso que consiste de tres fases que se sobreponen: - - 1) imbibición, 2) fase estacionaria, en donde aparentemente no sucede nada y 3) protrusión de la radícula. Es una serie de procesos que transforman a una semilla de una entidad casi inerte a una más activa en crecimiento. La germinación es distinta del crecimiento y las condiciones que los limitan pueden ser diferentes.

Jann y Amen (1977) la visualizan desde tres puntos de vista: 1) Morfológico, es la transformación de un embrión en una plántula; 2) Fisiológico, es la reanudación del crecimiento y metabolismo, que estaban reprimidos o suspendidos, y el disparo de la transcripción del genoma; 3) Bioquímico, es la diferenciación - secuencial de los patrones oxidativos y sintéticos.

Mayer y Shain(1974) mencionan que la germinación es la serie de pasos que ocurren antes de la emergencia de la radícula a través de las cubiertas de la semilla.

Desde cualquier punto de vista que se trate, se puede decir que la germinación es una respuesta fisiológica disparada al encontrarse factores medioambienta-

les presentes en combinaciones muy particulares para cada especie.

11.2.2.2. Factores que influyen en la ruptura de la latencia.

Mayer y Poljakoff-Mayber (1975) mencionan que los factores medioambientales que influyen en la germinación son: agua, gases, temperatura y luz.

1. Agua.

Las unidades dispersantes (semillas) se encuentran en alto grado de deshidratación (el peso del agua es un 10% o menos del peso total de la semilla, Medina, 1977) y debido a su naturaleza coloidal las semillas secas que no tienen cubiertas impermeables, tienen un gran poder de absorción cuando son colocadas en agua (Hartman y Kester, 1975) a consecuencia del bajo potencial hídrico de sus tejidos.

El proceso de absorción de agua, conocido bajo el nombre de imbibición, es puramente físico y en ninguna forma puede relacionarse con la viabilidad de las semillas, puesto que ocurre de la misma forma en semillas vivas así como en las que han sido sometidas a procesos físicos que maten al embrión (Mayer and Poljakoff -Mayber, 1975). El grado de imbibición de una semilla estará determinado por: la composición de la semilla, la permeabilidad de las cubiertas de la misma o del fruto hacia el agua y la disponibilidad que de ella exista ya sea en forma líquida o gaseosa en el medio (Mayer and Poljakoff-Mayber, 1975) así como por la temperatura (Hartman y Kester, 1975). El componente principal que imbibie agua son las proteínas, seguidos por los mucílagos así como parte de la celulosa y las sustancias pécticas, no incluyendo a los almidones.

Las semillas con cubiertas impermeables no imbiben aún bajo condiciones favorables sino hasta que esta impermeabilidad cambia por otros factores externos. Por otra parte, las cubiertas de las semillas de varias especies pueden mostrar permeabilidad hacia el agua y estas diferencias pueden relacionarse con la composición de las mismas, especialmente con los componentes lipoides. Se ha determinado que la permeabilidad de la cubierta es generalmente mayor en el extremo micropilar, en donde es casi invariablemente más delgada que el resto de la misma. También el lugar de entrada de agua varía con la especie, así en las leguminosas entra a través del estróbilo y en otras entra vía la fisura hilar; en algunas semillas la cubierta es permeable en toda su área.

La composición del medio de germinación también determina la imbibición de las semillas, puesto que determina la disponibilidad de agua, lo que es de importancia en condiciones naturales en donde el agua no se encuentra en forma pura, sino conteniendo solutos, lo cual disminuye la imbibición.

En relación a la temperatura durante la imbibición, Taylorson y Hendricks (1972) indican que el rango de adquisición en Amaranthus retroflexus aumenta conforme asciende la temperatura (en rangos de temperaturas del orden de 10°C) durante las primeras horas de imbibición, pero que el total de agua imbibida al final será la misma, no importando la temperatura utilizada.

Se podría pensar que el factor agua no implica valores críticos, pero se sabe que cada especie responde en forma muy particular a este factor, puesto que la humedad proporcionada puede afectar tanto al porcentaje como a la velocidad de germinación (Hartman y Kester, 1975) así las semillas también germinan adecuadamen-

te con requerimientos específicos de contenidos de humedad, aunque - - - Heydecker (1977) menciona que "en un lote de semillas de una misma especie - puede existir tendencia a la capacidad de germinar en un amplio rango de niveles de humedad" lo que puede ser un ejemplo de plasticidad genética. Por su - parte, la velocidad de hidratación también puede afectar a la semilla. En los - casos en que las semillas son duras, la entrada de agua es lenta lo cual no implica peligro, pero cuando las semillas entran en contacto con agua pura, se - rehidratan en forma abrupta lo que puede provocar prevención en la germinación o muerte posterior de la radícula (Mayer & Shain, 1974) posiblemente debido a que los contenidos celulares se hidraten y se movilizan, pero que las - membranas celulares aún no estén restauradas y que no impidan la salida de - estos contenidos (Heydecker, 1977). Por otra parte la rápida imbibición podría prevenir la difusión de oxígeno hacia las células (Mayer & Shain, 1974).

En muchas especies (v.g. fotoblásticas) el simple proceso de imbibición no - dispara la germinación, pero el agua de hidratación sensibiliza a la semilla - para que pueda responder a otros factores, tales como la luz (Heydecker, 1977).

2. Gases.

Siendo la germinación un proceso relacionado con células vivas necesariamente involucra un gasto de energía, que es extraída en el proceso de oxidación de la glucosa, en presencia o ausencia de oxígeno (respiración o fermentación). - Estos procesos implican necesariamente un intercambio gaseoso (O_2 y CO_2) - que se realiza a través de las cubiertas de la semilla (Mayer and Poljakoff - Mayber. 1975).

La concentración de oxígeno que se encuentra en la atmósfera es de 20% y la de CO_2 es de 0.03% y se ha determinado que ambos son importantes en la promoción o inhibición de la germinación. En la mayoría de los casos, la germinación se ve disminuida si el oxígeno disminuye y el CO_2 aumenta en el medio, pero existen casos extraordinarios en los cuales se rompe la latencia cuando el CO_2 alcanza concentraciones que van del 10 al 15% (Trifolium subterraneum) (Mayer and Poljakoff-Mayber, 1975).

El intercambio gaseoso en la mayoría de las especies está relacionado con la imbibición, pues en semillas deshidratadas el rango de intercambio es extremadamente bajo. Tal diferencia puede estar relacionada, en algunas especies, con la ruptura de las cubiertas por la presión de imbibición, lo que permite el paso del oxígeno en forma más libre (Milthorpe and Moorby, 1974).

3. Temperatura.

Los cambios que ocurren en las semillas que germinan comprenden procesos metabólicos que están en estrecha relación con la temperatura y el efecto de este parámetro se expresa finalmente en el porcentaje o en la velocidad de germinación (Vázquez-Yanes, 1976)

Las semillas diferentes presentan rangos de temperaturas específicos dentro de los cuales germinarán (Mayer and Poljakoff-Mayber, 1975) lo cual dependerá de la especie, variedad, región de crecimiento y duración del tiempo de almacenamiento (Leopold and Kriedeman, 1975) y en muchos casos de la presencia o

ausencia de luz (Vázquez-Yanes, 1976; Mayer and Poljakoff-Mayber, 1975). El rango de temperatura, en donde la vasta mayoría de los miembros de una población germinarán, se incluye dentro de las "temperaturas cardinales" es decir la mínima, óptima y máxima, mientras que una proporción de individuos en incremento responden a temperaturas menores o mayores mediante la inhibición de la germinación (Heydecker, 1977). La temperatura óptima será aquella en la que la población viable alcanza el máximo porcentaje de germinación en el mínimo tiempo (puede ser distinta dependiendo del intervalo de tiempo que se imponga) por encima o debajo (máxima o mínima) de la cual la germinación se ve retrasada, pero no prevenida.

Los rangos de temperaturas óptimas se encuentran entre los 15 y 30°C y para muchas especies la máxima está entre 35 y 40°C. Normalmente las temperaturas mínimas son difíciles de establecer debido a la lentitud de la germinación.

La norma en la naturaleza es que la temperatura se presente con fluctuaciones o alternancia, esto es, en cualquier medio natural la temperatura nunca va a ser constante, de tal forma que para muchas semillas de especies no domesticadas, la presencia de termoperíodos será benéfica, incrementándose tanto el porcentaje como el rango de germinación, o en muchos casos podrán ser requeridos absolutamente para que sea posible la germinación (Heydecker, 1977). La estimulación por termoperíodo ha sido adscrita al efecto que tiene la temperatura en reacciones secuenciales durante la germinación (Mayer and Poljakoff-Mayber, 1975).

4. Luz.

La luz es un parámetro ambiental que afecta el desarrollo de las plantas durante todo su ciclo biológico, puesto que no sólo es necesaria para la fotosíntesis sino que interviene en procesos fotomorfogenéticos tales como floración, etiolación y germinación, siendo la inducción o inhibición de este último proceso uno de los casos más claros de control de un proceso fisiológico por un factor ambiental (Vázquez-Yanes, 1976).

La sensibilidad hacia la luz que presentan las semillas de una misma especie puede no ser constante y estar afectada por factores tales como: edad de la semilla, período de imbibición, temperatura de imbibición, estratificación, temperatura de germinación y presencia de sustancias químicas (Leopold and Kriedeman, 1975).

Las semillas, generalmente de plantas no domesticadas, presentan variabilidad en cuanto a su comportamiento hacia la luz y se dividen en: las que germinan sólo en la oscuridad (fotoblastismo negativo), las que lo hacen en luz continua, las que germinan después de una breve iluminación (fotoblastismo positivo) y las que son indiferentes a la presencia o ausencia de luz durante la germinación. También existen semillas que responden a fotoperíodos específicos (Mayer and Poljakoff-Mayber, 1975) como Nemphila insignis que responde a días cortos, Betula que responde a días largos y Escholtzia argy que responde a termoperíodo combinado con períodos de luz y oscuridad alternantes (Vegis, 1974).

El tópico de requerimientos de luz en la germinación ha sido sujeto a estudios

detallados bajo condiciones de laboratorio, los cuales han mostrado que dicha respuesta está condicionada tanto por la calidad como por la cantidad de luz que sea aplicada. Muchos experimentos han versado sobre la calidad de la luz, lo cual ha mostrado que las diferentes zonas del espectro luminoso afectan la germinación en forma muy diferente. Así se ha demostrado que las longitudes de onda menores a 290 nm inhiben la germinación, que entre 290 y 400 nm los efectos no son muy claros y que en el rango de 400 a 700 nm (especialmente en el rojo) la germinación se ve promovida (Mayer and Poljakoff-Mayber, 1975).

Con tales experimentos se ha llegado a la conclusión de que en las semillas existe un fotorreceptor que activa o inhibe una gran variedad de procesos morfogénicos, incluyendo la germinación. Todos los procesos muestran un espectro de absorción de un pigmento fotorreceptor ampliamente estudiado en la actualidad y que se ha denominado "fitocromo" (fig. 1).

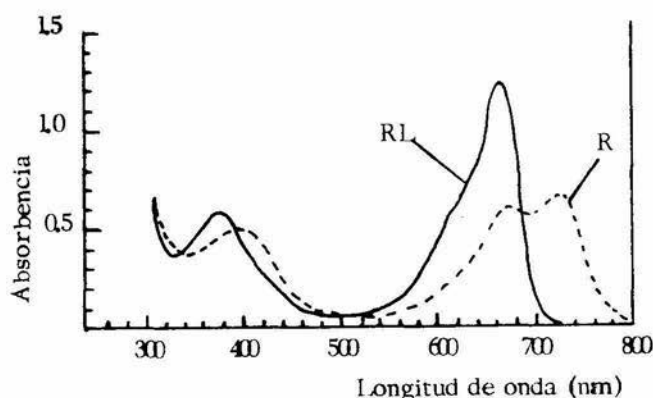


Fig. 1. Espectro de absorción de una solución de fitocromo de avena después de irradiación con luz roja (R) y rojo lejano (RL). El espectro observado después de irradiación con rojo lejano es el espectro de absorción para Pr; el observado después de irradiación con rojo es el espectro de absorción para Pfr. (Siegelman and Butler, 1965).

Acerca de la molécula de fitocromo se ha determinado lo siguiente:

- a) El fitocromo consiste de dos monómeros, cada uno de ellos de alrededor de 120,000 daltons y unidos en forma independiente a un cromóforo (tetrapirrol lineal) en forma covalente a través de un residuo de cisteína. Contiene también un PO_4^{-3} por monómero. Al parecer contiene un porcentaje muy bajo de carbohidratos, por lo que no se puede decir que se trate de una glicoproteína. (Pratt, 1982).
- b) Existe en dos formas fotointerconvertibles: Pr, forma fisiológicamente inactiva que absorbe el rojo, y Pfr, forma fisiológicamente activa que absorbe el rojo lejano (Pratt, 1982).
- c) En la fototransformación de Pr a Pfr y viceversa, existen intermediarios, pero ninguno es común (Briggs y Rice, 1972).
- d) El Pfr puede llevar a cabo reversión a Pr así como una destrucción, ambos procesos en la oscuridad (Briggs y Rice, 1972).

Está aceptado que el fitocromo influye en los procesos morfogénéticos ya mencionados, pero su mecanismo de acción aún no ha sido completamente establecido. Marmé (1977) discute que el mecanismo de acción primario puede ser alterando las membranas celulares. Se ha determinado que el fitocromo en su estado inactivo (Pr) puede encontrarse como una proteína soluble en el citoplasma, y que en su estado activo (Pfr) se ve asociado con las membranas, principalmente en la membrana plasmática, en donde puede funcionar como:

- a) Modulador de actividades enzimáticas (v.g. ATPasas) capaces de controlar el transporte activo de iones y moléculas intra o extracelulares. En este efecto se podrían incluir el flujo iónico de K^+ y Cl^- que se observa en el movimiento de las hojas de Albizzia julibrissin y Samanea saman, o el transporte de sacarosa y de acetato de sodio observado en algunos experimentos (Marmé, 1977). En estos casos el fitocromo puede actuar ya sea directamente en el mecanismo de transporte o en el metabolismo energético que influye en el proceso activo.
- b) Modulador en el metabolismo de moléculas unidas a las membranas de etio-plastos (v.g. sustancias parecidas a las giberelinas).
- c) Responsable de cambios en los potenciales de membrana como en el caso de adhesión de puntas de raíces.

Schopfer (1977) menciona que la hipótesis de la alteración a nivel de membranas celulares no especifica la siguiente consecuencia de eventos metabólicos, que pueden entre otras cosas, involucrar control de la transcripción y traducción como consecuencia remota de la acción del fitocromo. Habla entonces de la hipótesis de regulación de genes por la acción del Pfr, la cual está apoyada por estudios realizados en relación al control que ejerce sobre algunas enzimas.

Las dos hipótesis aún requieren de una vasta investigación, por lo que no se puede decir que cualquiera de ellas sea la mejor.

Por lo pronto, lo que ha quedado establecido es que el fitocromo es el único pigmento claramente definido en las plantas verdes, capaz de percibir las señales luminosas del medio ambiente físico y de traducir estas señales en el lenguaje de reacciones metabólicas (sea a nivel de membranas como mecanismo de acción primario con una subsecuente regulación de genes) que gobiernan el desarrollo, incluyendo la germinación.

II.2.2.3. Aspectos metabólicos de la germinación.

Una vez que la semilla se encuentra en presencia de los agentes externos específicos, se rompe la latencia y se inicia la germinación. Si se considera que este proceso es la serie de pasos que ocurren antes de la emergencia de la radícula, pero que finalizan en ello, entonces es necesario mencionar de qué procesos se trata. Tales procesos se refieren a la activación del metabolismo en la semilla.

Aún no ha sido establecido si cada uno de los factores externos influye en forma específica en algún proceso metabólico, por lo que esta parte se tratará en forma muy generalizada.

Los procesos metabólicos durante la germinación pueden dividirse en los que se presentan en los estadios tempranos (primeros minutos u horas de imbibición) y los estadios tardíos que pueden requerir de varias horas de imbibición o de germinación.

Al hablar de metabolismo se involucran reacciones enzimáticas, las cuales requieren en primera instancia de la presencia de enzimas en estado activo, así

como de energía. En este aspecto se sabe que el proceso de síntesis de novo, por muy rápido que se realice no puede llevarse a cabo durante las primeras horas de imbibición. Se ha determinado que las semillas contienen enzimas inactivas en el estado deshidratado (Mayer, 1977) y que dichas enzimas se activan durante la imbibición. Entre otras se puede mencionar a las enzimas de la glucólisis, pues se ha determinado que este proceso opera en las semillas tan pronto como imbiben agua. Si aparte de enzimas activas se requiere de energía, entonces debe existir algún proceso que sea el proveedor de ésta, pudiéndose pensar que se obtiene a partir de la glucólisis misma.

Otra característica que se observa durante las primeras horas de imbibición es la referente a la restauración de la integridad de las membranas plasmáticas así como al rápido desarrollo de sistemas membranales después o junto con la imbibición. El retículo endoplásmico se vuelve más pronunciado, en parte por reorganización y en parte por síntesis de nuevos elementos. Las membranas mitocondriales cambian sus propiedades y sus crestas se hacen más pronunciadas. El número de vesículas de Golgi se incrementa en forma marcada. Hay suficientes informes que indican que uno de los eventos primarios y más importantes en la germinación es la formación o transformación de las membranas por cambios en su permeabilidad, y que tales cambios ocurren antes que muchos otros eventos.

El sistema membranal mitocondrial se restaura también con la imbibición, pero este proceso no es suficiente, pues al parecer la incorporación de componentes a las membranas requiere de reacciones de transferencia. Una vez que la

mitocondria es funcional se inicia el proceso de respiración. Los sustratos que se requieren en los estadios tempranos no son el resultado del rompimiento de las reservas (v.g. almidones) puesto que se requiere de síntesis de novo de algunas enzimas (v.g. alfa-amilasa), sino que se utilizan pequeñas cantidades de mono di y trisacáridos presentes en la semilla.

Se ha mencionado que algunos sistemas enzimáticos se activan tan pronto como la semilla imbebe, y que son sistemas que están listos para una actividad inmediata (fases tempranas). Existe un segundo grupo de enzimas que se activan con retraso, generalmente después de varias horas. Estas enzimas requieren algo más que la imbibición para su actividad, se dice que se activan durante la germinación. Un tercer grupo de enzimas se activan aún más tarde y su aparición requiere de traducción en la síntesis de proteínas, pero no de transcripción (formación de -RNAm nuevo). Por último, algunas actividades aparecen aún más tarde y requieren del aparato entero de síntesis de proteínas: Transcripción por activación genética. Los últimos dos grupos de enzimas requieren posiblemente de un control por el embrión, y se ha concluido que dicho control es de naturaleza hormonal.

Las hormonas que han sido involucradas en el proceso de germinación son: ácido abscísico (ABA) como inhibidor, giberelinas (GA), citocininas y etileno como promotores.

1. Acido abscísico.

Numerosos trabajos han reportado la existencia de ABA en semillas latentes, con

una reducción posterior a tratamientos tales como estratificación. Por ello al parecer lo que hace esta hormona es inducir el estado de latencia. Tal estado al parecer es mantenido en presencia de ABA debido a que esta sustancia inhibe la síntesis de enzimas importantes para los estadios tempranos de la germinación (visto en tejidos de aleurona de cereales y embriones de algodón).

Se ha propuesto que en la embriogénesis del algodón, el ABA se sintetiza en el óvulo y se transporta hacia el embrión que, en el estado de desarrollo, se encuentra sintetizando RNAm para las "enzimas de la germinación". La presencia de ABA inhibe la síntesis de estas enzimas previniendo así la germinación precoz del embrión. Por otra parte, se ha postulado que la síntesis de ABA se realiza debido a que cuando la semilla está en estados avanzados de embriogénesis su contenido hídrico comienza a disminuir demandando una respuesta similar a la detectada en "stress" de sequía. Así, los niveles de ABA se ven aumentados al principio, pero disminuyen posteriormente debido posiblemente a que la falta de agua inhibe la síntesis en mayor proporción que el catabolismo de esta sustancia (Walton, 1977).

2. Giberelinas.

El papel de las giberelinas en el desarrollo del fruto y la semilla aún es ambiguo. Se ha reportado ampliamente que existe un efecto estimulador de la germinación con estas sustancias, lo que ha llevado a postular que juegan un papel universal en la germinación de las semillas, aunque tal proposición no está del todo garantizada en las bases de las evidencias que se tienen.

Se ha determinado que en semillas maduras los niveles de giberelinas son bajos, en relación a estadios de crecimiento anteriores, lo que podría ser consecuencia de la acumulación de moléculas biológicamente inactivas. Al parecer estas moléculas son movilizadas en los primeros estadios de la germinación (posiblemente vía fitocromo en semillas fotoblásticas), pero parece que la mayoría de las especies requieren síntesis posterior, debido a que las cantidades contenidas en la semilla no sean las suficientes para mantener el crecimiento.

En relación a su papel en la germinación, se han efectuado estudios con cereales y se ha establecido que el mecanismo de acción es el rompimiento de almidón y otros sustratos como resultado de la acción enzimática inducida por dichas sustancias, pero se dice que este fenómeno es post-germinativo. También se ha mencionado que regula el camino pentosafosfato en forma indirecta vía un efecto en el ciclo del glóxilato y, consecuentemente, en la formación de peróxido que sirve en la oxidación de NADPH (Jones and Stoddart, 1977).

3. Citocininas.

El descubrimiento de que las citocininas exógenas pueden invertir los efectos de varios reguladores e inhibidores de la germinación indica que estas sustancias pueden ser un prerrequisito para la germinación en algunas especies. Existen evidencias que indican que el papel de las citocininas puede ser en la promoción de síntesis protéica y que también pueden estar involucradas en el fenómeno de permeabilidad.

En cuanto a su presencia en las semillas, es posible que durante el desarrollo

de las mismas, las citocininas activas sean convertidas a ribonucleótidos inactivos, los cuales son entonces almacenados hasta que la semilla imbebe suficiente agua como para que ocurran los primeros estadios de la germinación.

Se ha visto que las citocininas pueden alterar la inhibición creada por ABA, pero el mecanismo aún no se define (Thomas, 1977).

4. Etileno.

Algunas investigaciones han sugerido que el etileno puede romper latencia de semillas, que es un producto natural de las mismas y que puede retener y aumentar el vigor de algunas semillas y estimular el metabolismo en las mismas. En muchas semillas la producción de este gas se ve incrementada en presencia de CO_2 .

La producción de etileno no va asociada con el proceso de germinación en sí (antes de la salida de la radícula) sino que se asocia con el proceso de crecimiento, pues el máximo de etileno se detecta en el tiempo de la emergencia. Esta producción está muy relacionada con la germinabilidad y vigorosidad de la semilla, pues en semillas sometidas a condiciones de almacenamiento inadecuados (v.g. humedades elevadas), la producción de etileno se ve retrasada.

En cuanto a su mecanismo de acción, se ha postulado que aparentemente afecta síntesis y secreción enzimática y que interactúa con inhibidores del crecimiento a un nivel básico de metabolismo (Ketring, 1977).

Es obvio que durante la germinación ocurren una serie de eventos metabólicos en una secuencia temporal bien establecida. La temporalización de tales secuencias es sin duda establecida parcialmente por control nuclear, v.g. por activación de diferentes partes del genoma a diferentes estadios del proceso de germinación. Aunque este control no involucra necesariamente factores adicionales externos, su intervención parece extremadamente probable. La semilla en germinación debe ser capaz de responder, mediante la temporalización de sus eventos metabólicos, a condiciones externas cambiantes tales como luz, humedad y temperatura.

III. MATERIALES Y METODOS.

III.1 Adaptación de instrumentos.

III.1.1. Sección de manipulación y conteo.

Se adaptó en una campana de extracción cuyo interior fué pintado de color negro mate, para eliminar así una gran cantidad de luz exterior (Barthelemy et. al., 1975) se cubrieron con papel aluminio todos los orificios internos así como la ventana de la misma. La fuente de luz de la campana consta de dos lámparas fluorescentes marca Philips, luz de día, TL 20 w T38(T12)/54 y se encuentran a una distancia aproximada de 1 m. de la mesa de trabajo. Se utilizó papel celofán verde para cubrir la fuente de luz (dos capas) así como la ventana de acceso (fig. 3.1). El espectro de transmisión para el papel celofán utilizado como filtro en esta sección se muestra en la figura 3.4. Las lámparas de la campana no se encuentran en forma horizontal sino que presentan cierta inclinación, por lo que la luz no incide directamente en la mesa de trabajo.

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

III.1.2. Sección de imbibición.

Esta sección consta de un cristalizador con agua destilada estéril cubierto con papel aluminio, todo esto colocado dentro de una estufa de cultivo marca - - -

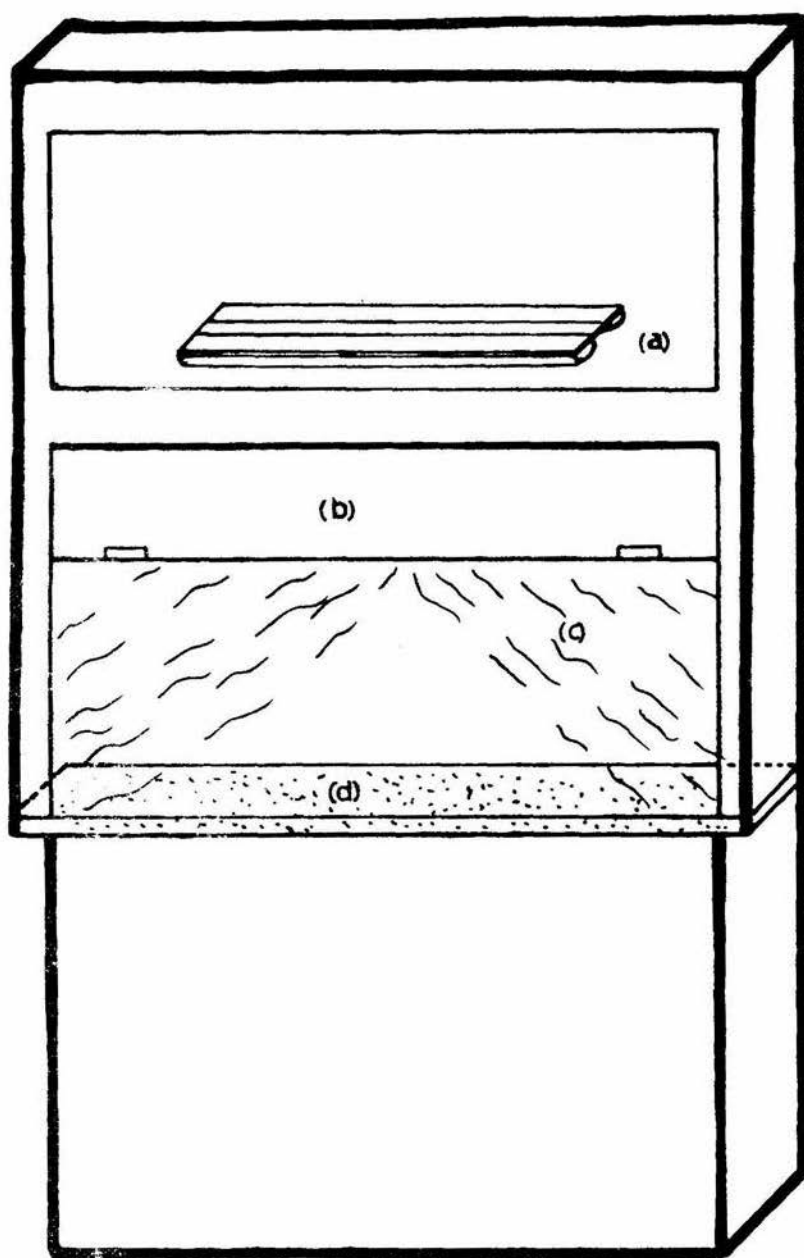


Fig. 3.1 Sección de manipulación y conteo. a) fuente de luz, b) ventana forrada con papel aluminio, c) cortina de papel celofán, d) mesa de trabajo.

"Riosa" (SIC-DGE 9673) a la temperatura deseada.

III. I. 3. Sección de irradiación.

Los trabajos reportados en los que se varía la calidad de la luz (normalmente rojo y rojo lejano) recomiendan para este fin filtros (Ikuma and Thimann, 1963; Leff, 1964; Górski, 1975; Scheibe and Lang, 1965; Sivaji et. al., 1976; Negm et. al., 1973) o lámparas (Negm, et. al. 1973) que son de difícil obtención o elevado costo en nuestro país. Algunos autores utilizan materiales más accesibles (Barthelemy, et. al. 1975; Taylorson and Hendricks, 1972; Tanada, 1972; Rickert, 1971; Bickford y Dunn, 1972) tales como lámparas fluorescentes, incandescentes y papel celofán comercial, obteniéndose con estos artículos resultados adecuados.

El aparato utilizado para esta sección de irradiación, se diseñó de acuerdo a los modelos presentados por Tanada (1972), Bickford y Dunn (1972), Ross (1974), Barthelemy, et. al. (1975) y Taylorson y Hendricks (1972) con algunas variaciones considerando el material disponible. Tanada (1972) utiliza lámparas fluorescentes con acabado luz de día, de 15 vatios; en este caso las lámparas utilizadas fueron de 20 vatios. Barthelemy, et. al. (1975) recomiendan papel celofán sólo accesible en los Estados Unidos de Norteamérica, y en este caso se utilizó papel celofán nacional. Taylorson y Hendricks (1972) utilizan lámparas fluorescentes acabado blanco frío para el recurso de luz roja, en este caso se utilizaron lámparas fluorescentes con acabado blanco cálido. Este mismo autor coloca la fuente luminosa a 1 m. del material a irradiar, en este caso se colocó a 35 cm. del material. El aparato se muestra en la figura 3.2.

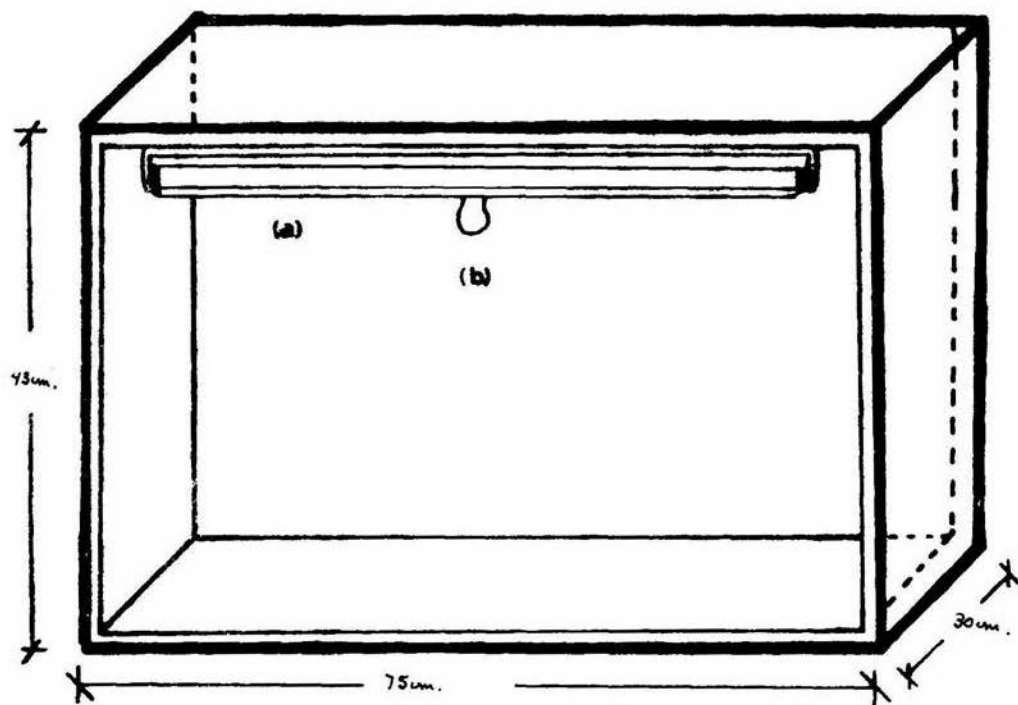


Fig. 3.2 Sección de irradiación. a) lámparas fluorescentes de 20 vatios.
b) lámpara incandescente de 60 vatios.

La calidad de la luz fué lograda intercambiando lámparas y filtros. Para evitar incidencia de otro tipo de luz, esta sección se introdujo en una campana de extracción a la que se le cubrió la ventana con papel aluminio y que se cerraba en el momento de irradiar.

La calidad de luz utilizada fué la siguiente:

- a) ROJO. Se logró colocando dos lámparas fluorescentes de 20 vatios, marca Solar 20w/T38/BC/AP (Precalentamiento 20), acabado blanco cálido y un filtro de dos capas de papel celofán rojo (fig. 3.3 a y 3.5).
- b) VERDE. Se utilizaron dos lámparas fluorescentes marca Philips TL 20wT38(T12)/54, acabado luz de día y un filtro de dos capas de papel celofán comercial verde (fig. 3.3 b y 3.4)
- c) AZUL. Se colocaron dos lámparas fluorescentes marca Philips TL 20wT38 (T12)/54, acabado luz de día y un filtro de dos capas de papel celofán azul (fig. 3.3 c y 3.6)
- d) LUZ DE DIA: Fueron empleadas dos lámparas fluorescentes marca Philips TL 20wT38(T12)/54, acabado luz de día y una lámpara incandescente General Electric de 60 vatios. (fig. 3.3 d y 3.7)
- e) ROJO LEJANO: Con el uso de una lámpara incandescente General Electric de 60 vatios, un cristalizador con 2 cm. de agua y un filtro de dos capas de papel celofán rojo y dos de azul (fig. 3.8 y 3.9)

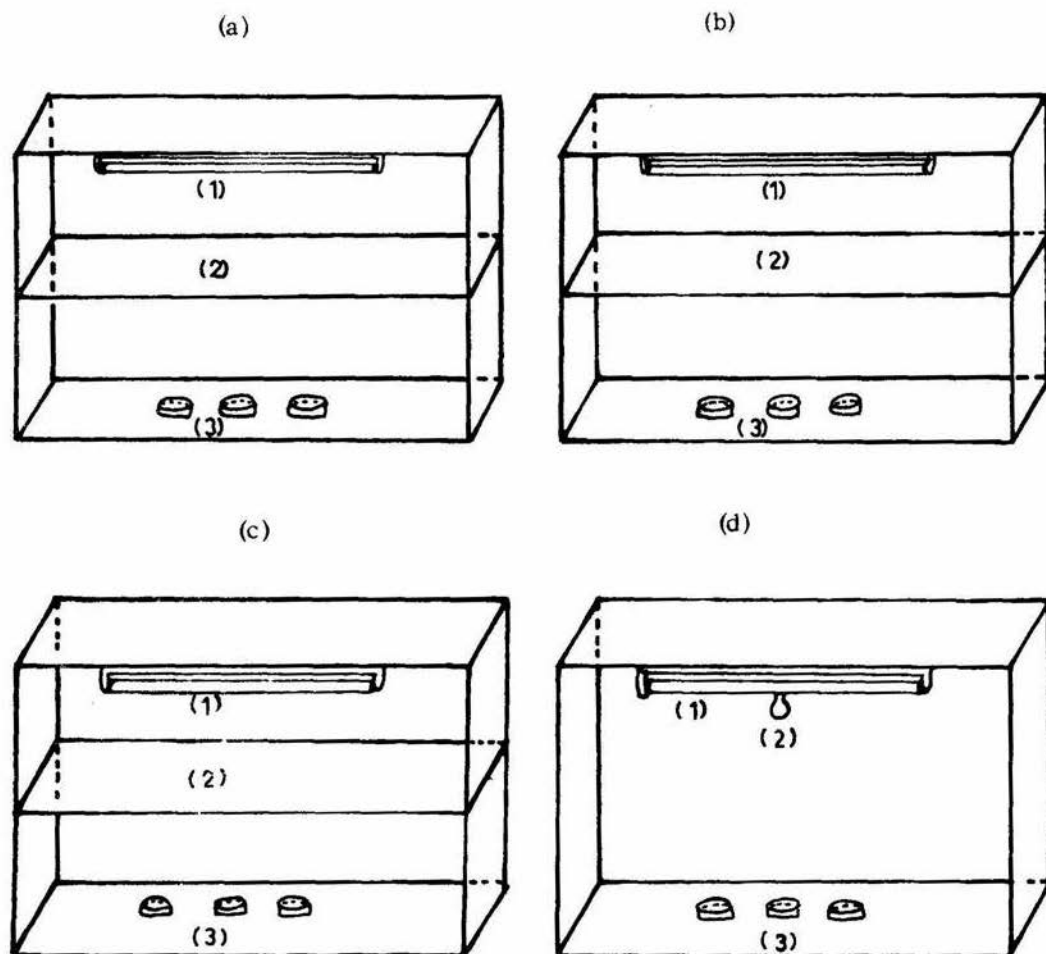


Fig. 3.3 Sección de irradiación para ROJO (a), VERDE (b), AZUL (c) y LUZ DE DIA (d). (a): 1. lámpara fluorescente acabado blanco cálido. 2. filtro rojo; (b): 1. lámpara fluorescente acabado luz de día, 2. filtro verde; (c): 1. lámpara fluorescente acabado luz de día, 2. filtro azul; (d): 1. lámpara fluorescente acabado luz de día, 2. lámpara incandescente - de 60 vatios. En todos 3. semillas en irradiación.

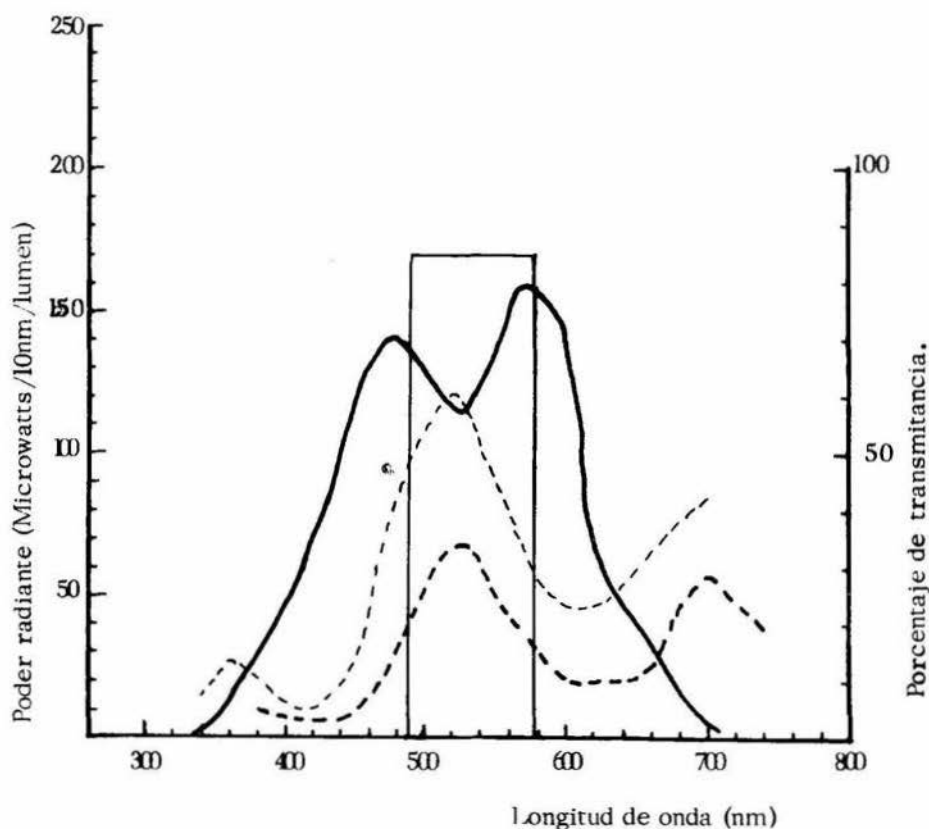


Fig. 3.4 Características de las lámparas y filtro utilizados para LUZ VERDE y para la sección de manipulación y conteo.

- Poder radiante vs. longitud de onda para una lámpara fluorescente acabado luz de día (Bickford and Dunn, 1972)
- ... Porcentaje de transmitancia para papel celofán verde "K" 210°C (Barthelemy, et. al, 1975)
- - - Porcentaje de transmitancia para papel celofán comercial utilizado como filtro.
- Región del verde (490 - 560 nm).

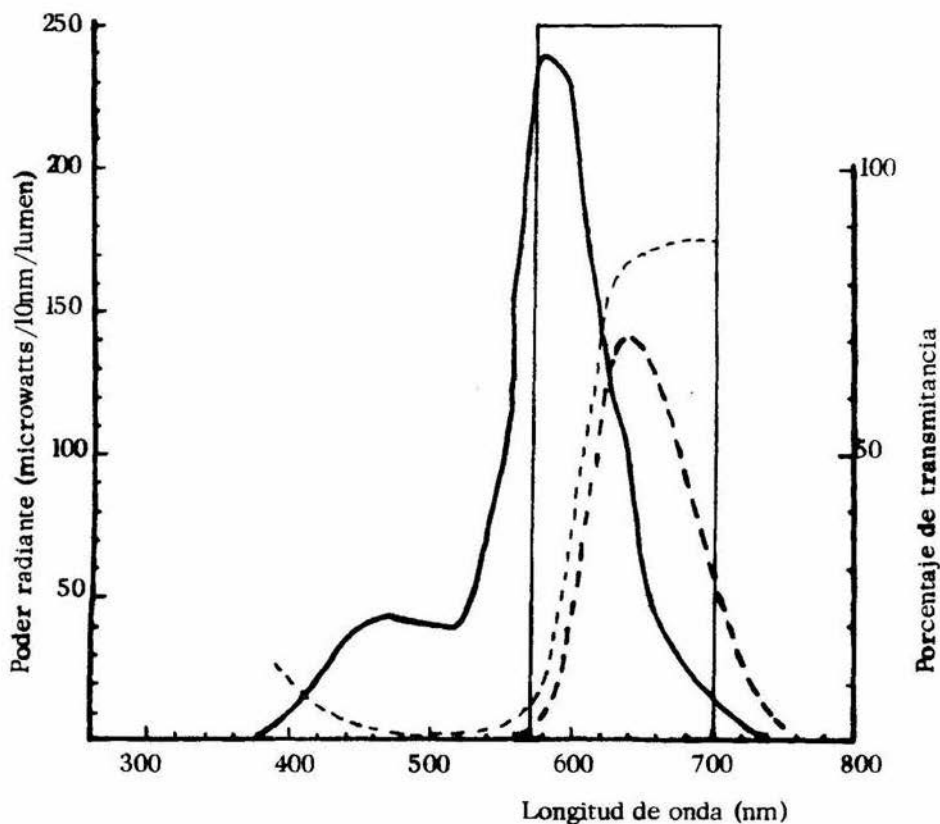


Fig. 3.5 Características de las lámparas y filtro utilizados para LUZ ROJA.

- Poder radiante vs. longitud de onda para una lámpara fluorescente acabado blanco cálido (Bickford and Dunn, 1972).
- Porcentaje de transmitancia para papel celofán rojo "K" 210 FC (Barthelemy, et. al. 1975)
- Porcentaje de transmitancia del papel celofán comercial - utilizado como filtro.
- Región del rojo (570 - 700 nm).

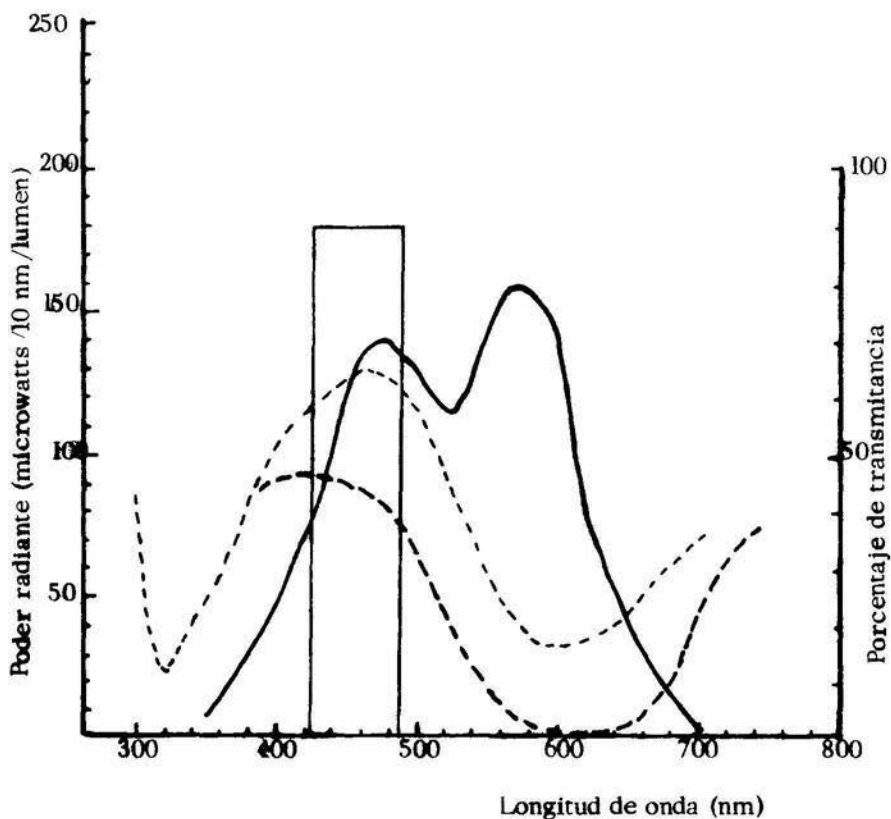


Fig. 3.6 Características de las lámparas y filtros utilizados para LUZ AZUL.

- Poder radiante vs. longitud de onda para lámparas acabadas con luz de día (Bickford and Dunn, 1972).
- · · Porcentaje de transmitancia para papel celofán azul "K" 210 (Barthelemy, et. al. 1975)
- - - Porcentaje de transmitancia del papel celofán comercial utilizado como filtro.
- ▭ Región del azul (725 - 790 nm).

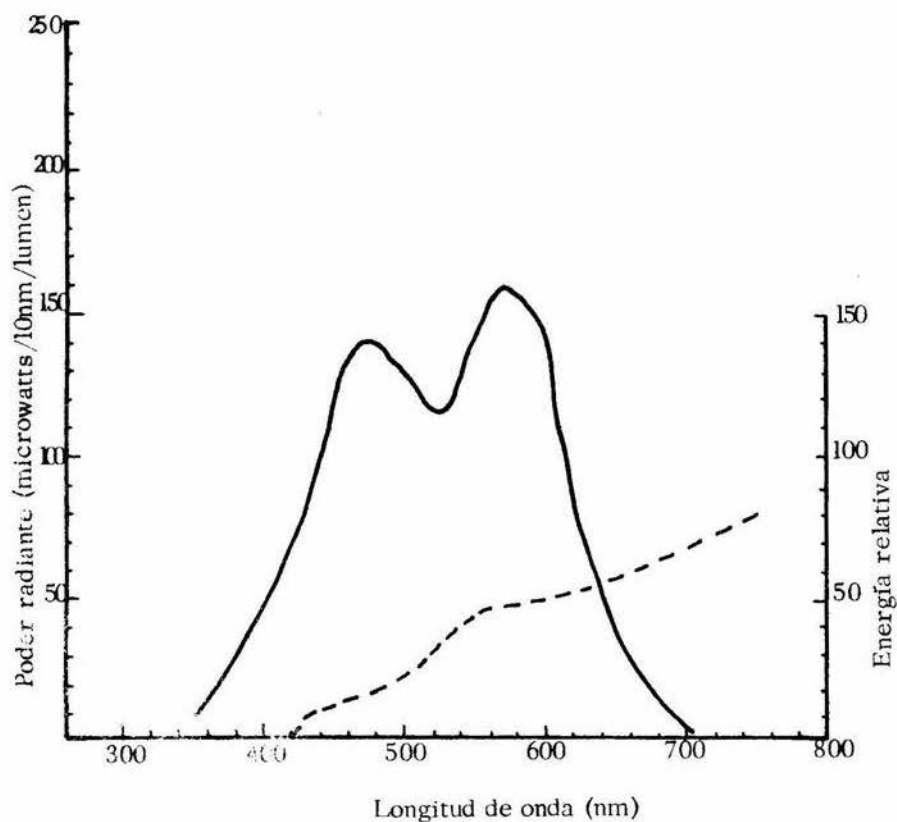


Fig. 3.7 Características de las lámparas utilizadas para LUZ DE DÍA.

- Poder radiante de una lámpara fluorescente acabado luz de día (Bickford and Dunn, 1972).
- - - Energía relativa de una lámpara incandescente de 500 - vatios (Barthelemy, et. al. 1975)

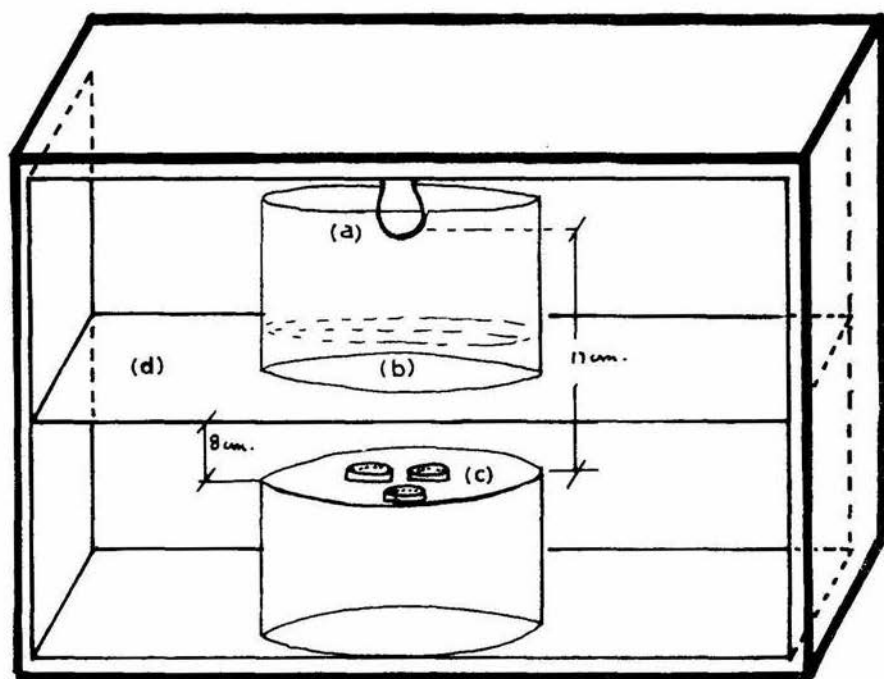


Fig. 3.8 Sección de irradiación para ROJO LEJANO. a) lámpara incandescente de 60 vatios; b) cristalizador con 2 cm. de agua; c) semillas en irradiación; d) filtro.

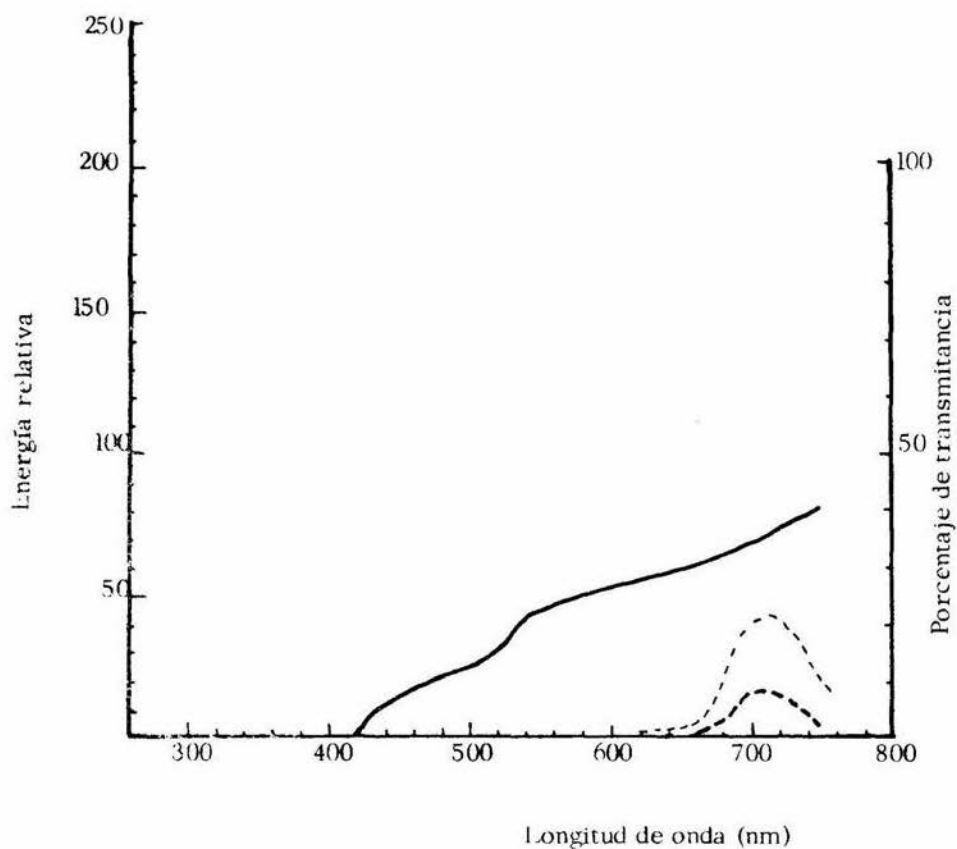


Fig. 3.9 Características de las lámparas y filtro utilizados para luz ROJO LEJANO.

- Energía relativa de una bombilla incandescente de 500 vatios (Barthelemy, et. al. 1975)
- Características ópticas del filtro Corning CS 2-113 (Vázquez-Yanes, 1976).
- Transmitancia del filtro rojo lejano utilizado.

III.1.4. Sección de incubación.

Se utilizaron dos estufas de cultivo marca "Riosa" así como dos germinadoras marca "Burrows" (Burrows Master Germinator) en las que se estabilizó la temperatura requerida.

III.2 Obtención de las semillas.

Las semillas de Stenocereus griseus fueron obtenidas a partir de frutos maduros de "pitaya" que se adquirieron en el mes de mayo de 1982 -temporada que corresponde a su producción- directamente en huertos particulares localizados en la población de Trinidad Oaxtepec, Municipio de Chazumba, Oaxaca. Se reunieron 83 frutos únicamente - por la escasa producción de este año - de los cuales se determinó el peso fresco total (sin espina), utilizando para ello una balanza granataria "Ohaus Triple Beam" con capacidad para 2610 g.

La extracción de la semilla se realizó siguiendo la técnica descrita por Williams y Arias (1978) que consiste en términos generales en la separación de la semilla de la pulpa haciendo lavados continuos con agua corriente, enjuagando posteriormente la semilla con agua destilada y dejándolas secar a temperatura ambiente. Una vez seca la semilla se determinó su peso total y se guardó en bolsas de papel cubiertas con plástico, las cuales fueron colocadas en un lugar seco del laboratorio a temperatura ambiente (20 a 25°C).

Las pruebas experimentales fueron iniciadas en el mes de septiembre del mismo año (16 semanas después) ya que Williams y Arias (1978) mencionan que este tiempo es suficiente para que disminuya la concentración de inhibidores (ABA)

de la semilla,

III.3 Determinación de condiciones para la germinación.

La germinación se analizó utilizando las siguientes variables:

1. Tiempo de imbibición a 25°C.
2. Calidad de la luz.
3. Tiempo de irradiación con luz roja.
4. Temperatura de incubación.
5. Reversión por rojo/rojo lejano.

1. Tiempo de imbibición.

El tiempo se varió como sigue: 15, 30 min., 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas.

Debido a que la semilla es muy pequeña, la manipulación de muchos lotes de 100 se vuelve complicada, por lo que cada lote se colocó en "bolsitas" elaboradas con manta de cielo, facilitando así su manejo. Dicho procedimiento fué utilizado siempre que las semillas fueron sometidas a imbibición previa.

Cuando el tiempo de imbibición era mayor de 12 horas, el agua se cambió en forma periódica al menos cada 24 horas.

Este tratamiento se llevó a cabo utilizando la sección de imbibición. Una vez transcurrido el tiempo de imbibición, los lotes de semillas se trasladaron a la sección de manipulación para colocarlos sobre papel filtro y en cajas de Pe-

tri de 5 cm. de diámetro forradas con aluminio, humedeciéndolas y colocándolas enseguida en la sección de irradiación, en donde se irradiaron durante 30 minutos, con luz roja, como se muestra en la fig. 3.3 a. Una vez finalizado esto, en la sección de manipulación se cambiaron a cajas de Petri más grandes (9 cm. de diámetro) también forradas con aluminio y conteniendo papel filtro, se agregaban 4 ml. de agua destilada, según recomiendan Williams y Arias (1978) y fueron colocadas en la sección de incubación a 25°C.

El conteo en este caso y en los que se describen más adelante se realizó cada 24 horas (al menos durante los primeros 3 días) en la sección de manipulación y conteo, bajo el criterio de que una semilla había germinado cuando presentara fractura de la testa y no hasta que fuera visible su radícula.

En forma paralela a esta parte del experimento se determinó el porcentaje de absorción de agua en las semillas dependiendo del tiempo que fueran sometidas a imbibición, tanto a 25 como a 30°C. En este caso las mediciones se hicieron hasta 168 horas de imbibición. La determinación de absorción de agua se hizo tomando en cuenta el peso inicial de la semilla y se reportó en porcentaje. Para tal efecto se utilizó una balanza granataria marca Sauter, modelo GmbH D-7470.

2. Calidad de la luz.

La luz utilizada fué: Rojo (640 nm), azul (470 nm), verde (530 nm), rojo lejano (730 nm) y luz de día (400 - 800 nm), irradiando en cada caso durante 30 min. en la forma como se muestra en las figuras 3.3 a, b, c, d, y 3.8. La im-

bibición previa fué la misma utilizada que en el punto 2 de calidad de luz así como también la temperatura de incubación.

3. Tiempo de irradiación con luz roja.

Los tiempos utilizados fueron 5, 30, 45, 60, 75, 90 y 120 minutos, con el método mostrado en la figura 3.3a La imbibición previa fué la misma utilizada que en "calidad de luz" así como también la temperatura de incubación.

4. Temperatura de incubación.

Para esto se contó con la sección de incubación ya descrita, aclarando que en los casos en que se tuvieron que utilizar las germinadoras, las cajas conteniendo a las semillas se colocaron en bolsas de plástico para evitar el exceso de humedad.

Las temperaturas utilizadas fueron: 21, 23, 25 (que en este caso fué el testigo), 27, 29, 31, 33 y 35°C, previa imbibición de 2 horas a 25°C e irradiación con luz roja durante 120 min.

5. Reversión por rojo/rojo lejano.

En este caso se utilizaron los aparatos mostrados en las figuras 3.3a y 3.8, irradiando las semillas durante 30 min. con luz roja e inmediatamente después durante otros 30 minutos con rojo lejano. La imbibición previa fué de 2 horas a 25°C y la incubación fué a 25°C.

III.4 Presentación de resultados.

Los resultados finales de germinación se reportaron como porcentaje de germinación, que fué el promedio de 3 lotes de 100 semillas c/u, después de 7 días de incubación en oscuridad (resultados indicados en tablas).

Se obtuvo la velocidad de germinación, indicada como tasa de germinación para cada caso individual. Asimismo se obtuvo la velocidad de imbibición, también indicada como tasa de imbibición. Dichos valores fueron obtenidos calculando la pendiente de la recta en cada periodo de tiempo (tomando el tiempo en horas, 24 ó 48 horas) reportándose finalmente como porcentaje.

En todos los casos (tanto los resultados de porcentaje de germinación después de 7 días, como en cada caso individual) se calculó la media de los tres lotes, su desviación standard y se utilizó la prueba t de Student's para determinar el rango de confiabilidad de los resultados al 95%. Se analizaron los resultados con la misma prueba tanto para uno como para dos grados de libertad con un índice de confiabilidad de 0.05%. Lo mismo se hizo para la determinación del porcentaje de imbibición, en donde también se utilizaron tres lotes de 100 semillas c/u.

Se elaboraron las gráficas generales en cada tratamiento, es decir indicándose los valores de porcentaje de germinación obtenidos después de 7 días de incubación, así como las curvas de germinación en donde se indica también la tasa de germinación.

IV. RESULTADOS.

Se realizaron pruebas preliminares con variación del tiempo de imbibición a 25°C y con variación en la calidad de luz irradiada. Al variar el tiempo de imbibición, las semillas se irradiaron con luz roja durante 5 minutos, tiempo utilizado en la mayoría de los experimentos de este tipo, y se incubaron a 25°C . Este tiempo de irradiación no reportó resultados adecuados en ninguno de los tratamientos, pues el máximo porcentaje de germinación fué de 19%. Los resultados de las pruebas preliminares se resumen en la tabla 3.1 y se muestran en forma gráfica en la fig. 4.1.

Normalmente los autores reportan la energía que incide sobre el material estudiado, pero en este caso se carece de instrumentos de medición para ésto. Considerando que el bajo porcentaje de germinación obtenido en este tratamiento preliminar pudiera deberse a que la energía incidente no sea la adecuada en el aparato diseñado, se decidió aumentar el tiempo de irradiación a 30 minutos.

TABLA 4.1 Resultados obtenidos en el tratamiento de imbibición a diferentes periodos de tiempo a 25°C incubación a 25°C e irradiación con luz roja durante 5 minutos.

Tiempo de imbibición (horas)	n	Porcentaje de germinación	Desviación standard	$S_{\bar{x}}$	Intervalo de confianza $t_{0.05(2)}vS_{\bar{x}}$	Rang o
Testigo	3	2	0	0	0	2
0.25	3	5	1.7	1	4.3	0.5 - 9.3
0.5	3	11	2.6	1.5	6.5	4.4 - 17.5
1	3	12	2.6	1.5	6.5	5.4 - 18.5
2	3	14	1	0.6	2.5	11.5 - 16.5
3	3	15	0.6	0.3	1.4	13.6 - 16.4
4	3	14	2.6	1.5	6.6	7.4 - 20.6
6	3	19	1	0.6	2.5	16.5 = 21.5
8	3	12	1	0.6	2.5	9.5 - 14.5
10	3	18	2.6	1.5	6.6	11.4 = 24.6
12	3	8.7	2.1	1.2	5.2	3.5 = 13.9
24	3	11	1.5	0.9	3.8	7.0 = 14.8
48	3	8	1.7	1	4.3	3.7 = 12
72	3	7	1	0.6	2.5	4.5 - 9.5

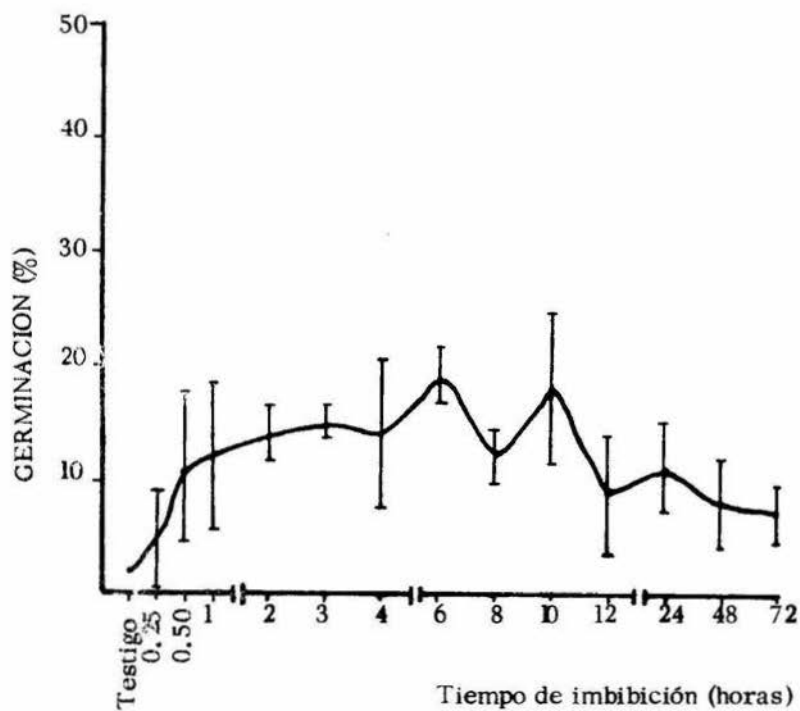


Fig. 4.1 Porcentaje de germinación vs. tiempo de imbibición a 25°C de las semillas irradiadas durante 5 minutos con luz roja e incubadas a 25°C. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%.

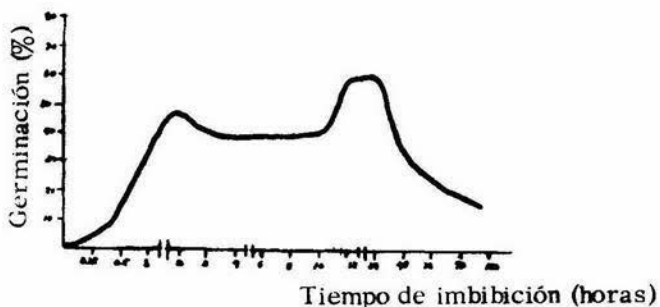
IV.1 Variación en el tiempo de imbibición a 25°C, irradiación durante 30 minutos e incubación posterior en oscuridad a 25°C.

Los resultados de este tratamiento se resumen en la tabla 4.2 y se muestran en forma gráfica en la figura 4.2

La figura 4.2 muestra gráficamente que el porcentaje de germinación asciende en forma notoria desde el testigo (sin imbibición previa) hasta las dos horas, después de este tiempo se detecta una disminución en tres horas manteniéndose más o menos constante hasta 48 horas, después de esto disminuye en forma notoria.

Estadísticamente existen diferencias significativas entre el porcentaje de germinación obtenido para el testigo y todos los períodos de imbibición hasta 96 horas, no encontrándose diferencias con 120 horas. La diferencia es notoria entre 15, 30 min. y 1 hora, lo que significa que el porcentaje de germinación va en continuo ascenso pero los valores de 1 y 2 horas caen dentro del intervalo para dos grados de libertad, aunque el último es ligeramente mayor que el primero (para un grado de libertad). Después de las dos horas de imbibición el porcentaje decae en forma significativa no detectándose cambios sino hasta 12 horas en donde vuelve a aumentar. Entre 12 y 24 horas no hay diferencia pero disminuye en forma considerable de 48 horas en adelante. Los valores para 12 y 24 horas de imbibición son mayores que el obtenido en 2 horas, estableciéndose con esto que el máximo porcentaje de germinación se obtiene cuando la semilla ha permanecido en imbibición entre 12 y 24 horas.

El comportamiento en el porcentaje de germinación en relación al tiempo de imbibición podría establecerse en forma gráfica como sigue, basándose en la prueba estadística:

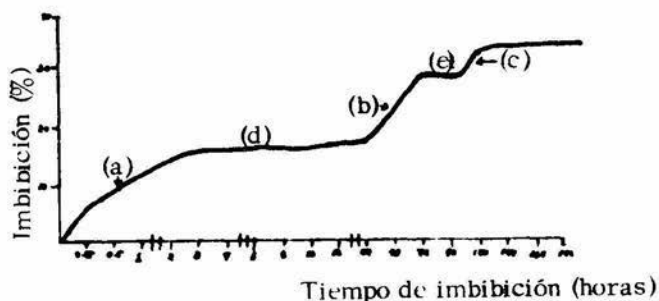


Analizando la figura 4.3 (valores presentados en tabla 4.3) se observa que la tasa de imbibición mayor (es decir, la velocidad de absorción) se detecta entre 15 min. y 3 horas, disminuyendo posteriormente. Se puede también observar que el porcentaje de imbibición alcanza un punto máximo en 3 horas y se mantiene más o menos constante posteriormente, aumentando ligeramente en 12 horas y en forma abrupta a 48 horas, manteniéndose después dentro de los mismos valores.

La prueba estadística indica que las diferencias en porcentaje de imbibición son significativas hasta tres horas, lo que muestra que la imbibición es constante hasta este tiempo. Después los valores próximos entre sí (4-6, 6-8, 8-10, --

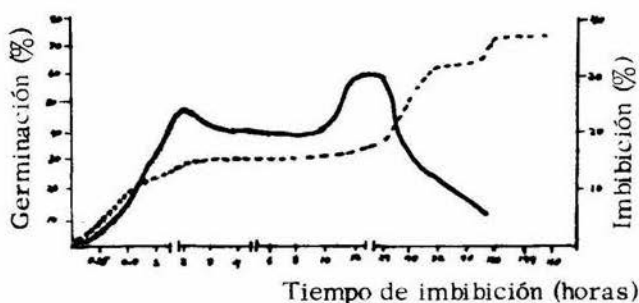
10-12 y 12-24 horas) caen dentro de los mismos intervalos con pequeñas diferencias bajo un grado de libertad, lo que indica que la imbibición continúa pero en forma gradual. Después de 24 horas nuevamente aumenta la imbibición hasta 72 horas y se mantiene estable hasta 96, aumentando después en 120 horas y manteniéndose constante nuevamente.

Si se graficaran los resultados estadísticos, quedaría lo siguiente:



Esta gráfica indica que la semilla presenta tres fases de incorporación de agua (indicadas como a, b, c) y dos fases estacionarias (indicadas como d, e).

Ahora bien, si se compara esta gráfica con la presentada para el porcentaje de germinación, también en forma estadística, se obtiene lo siguiente:



Esta relación indica que conforme aumenta el porcentaje de imbibición llega a un punto máximo en el cual la germinación disminuye (en 3 y 48 horas), los valores máximos de germinación se detectan antes de los dos valores máximos de incorporación de agua (2 y 24 horas). Esto indica que el máximo de germinación se obtiene cuando la semilla está hidratada al 20% (2 horas) y al 33% (12 ó 24 horas).

Por otra parte, si se analizan las curvas de germinación en forma individual (figuras 4.5 a 4.12) se observa que en todos los casos el valor máximo de germinación se alcanza después de 5 a 7 días de incubación, y que la tasa máxima de germinación (velocidad de germinación) casi siempre se alcanza a los 2 días, con excepción del caso de 120 horas en donde se alcanza hasta los 3 días. Al parecer las diferencias primordiales pueden detectarse en la tasa de germinación, pues en tres horas de imbibición (fig. 4.8 a) que es cuando se presenta la primera disminución en el porcentaje de germinación, dicha tasa se alcanza hasta los 3 días de incubación. Lo mismo sucede con 48 horas de imbibición (fig. 4.11 b), segunda disminución en porcentaje de germinación.

Otro caso anormal es el referente a 15 min. de imbibición (fig. 4.5 b) en donde la tasa máxima se detecta hasta los 3 días. En 96 y 120 horas de imbibición (fig. 4.12 a y b respectivamente) la máxima tasa de germinación se detecta desde el primer día de incubación.

En cuanto a los resultados obtenidos respecto a imbibición a 30°C, el comportamiento de absorción de agua por las semillas es muy parecido al obtenido para 25°C (fig. 4.4, datos en tabla 4.4).

TABLA 4.2 Resultados obtenidos en el tratamiento de imbibición a diferentes periodos de tiempo a 25°C, incubación a 25°C, con irradiación previa con luz roja durante 30 minutos.

Tiempo de imbibición (horas)	n	Porcentaje de germinación	Desviación standard	$S_{\bar{x}}$	Intervalo de confianza $\pm t_{0.05(2)}vS_{\bar{x}}$	Rango
Testigo	3	8	1	0,6	2,49	5,5 - 10,5
0.25	3	17	2,6	1,5	6,45	10,5 - 23,5
0.5	3	22,3	0,58	0,3	1,46	20,8 - 23,8
1	3	35,7	5	2,9	12,5	23,2 - 48,2
2	3	48,7	5,5	3,2	13,8	34,9 - 62,5
3	3	34	2,6	1,5	6,5	27,6 - 40,5
4	3	33,3	2,5	1,45	6,2	27,1 - 39,5
6	3	34,7	1,1	0,6	2,7	31,9 - 37,4
8	3	35,7	2,5	1,5	6,3	29,4 - 41,9
10	3	36,7	2,5	1,5	6,2	30,5 - 42,9
12	3	39,7	3,5	2,0	8,7	31,0 - 48,4
24	3	43,3	4	2,3	10,1	33,2 - 53,4
48	3	37,7	2,5	1,5	6,3	31,4 - 43,9
72	3	27	6,6	3,8	16,3	10,7 - 43,3
96	3	23	1	0,6	2,5	20,5 - 25,5
120	3	10,7	1,5	0,9	3,8	6,9 - 14,5

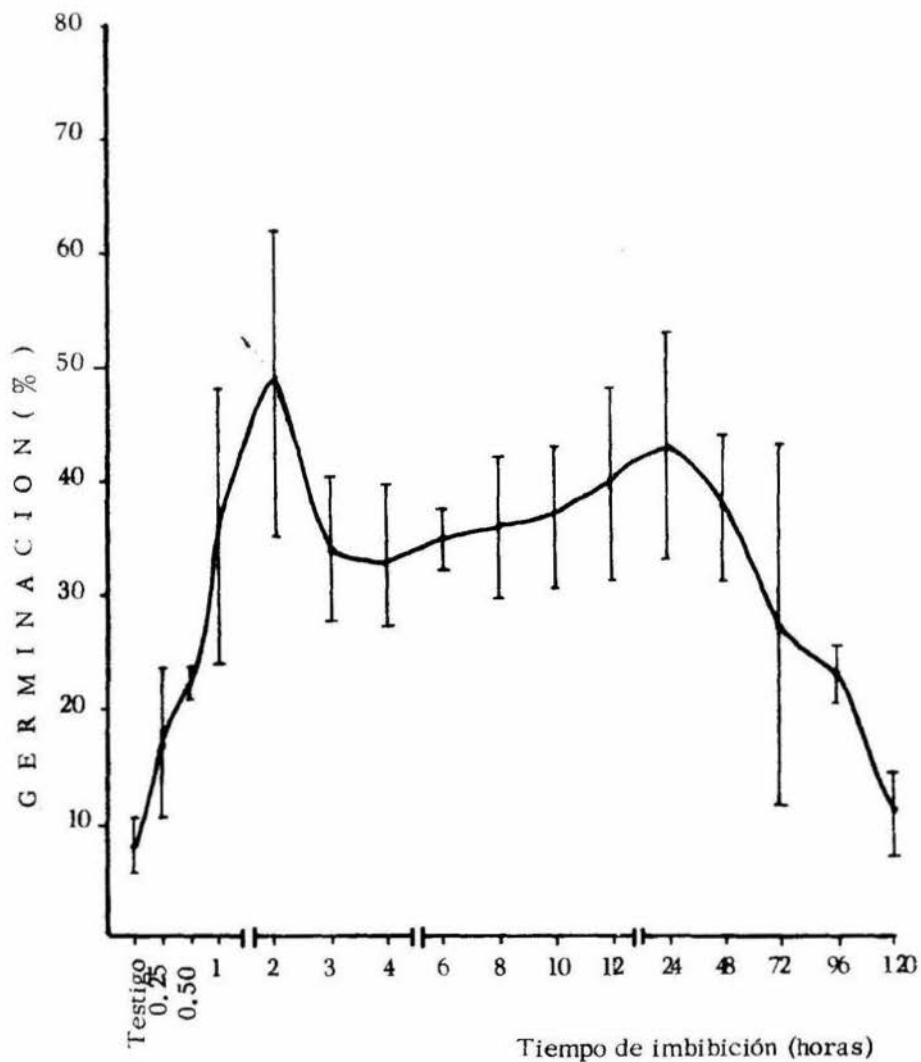


Fig. 4.2 Porcentaje de germinación vs. tiempo de imbibición a 25°C de las semillas irradiadas durante 30 minutos con luz roja e incubación a 25°C . Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%.

TABLA 4.3 Resultados de porcentaje de imbibición (peso final - peso inicial) de las semillas a diferentes periodos de imbibición a 25°C.

Tiempo de imbibición (horas)	n	Porcentaje de imbibición	Desviación standard	S_x	Intervalo de confianza $t_{0.05(2)}vS_x$	Rango
0.25	3	9.8	0.69	0.4	1.7	8.1 - 11.5
0.5	3	13.3	0.54	0.3	1.3	11.9 - 14.6
1	3	16	0.43	0.25	1.1	14.9 - 17.1
2	3	20.2	0.56	0.32	1.4	18.8 - 21.6
3	3	25.7	0.27	0.16	0.7	25 - 26.4
4	3	24.5	1.9	1.1	4.7	19.8 - 29.2
6	3	28.8	0.99	0.6	2.5	26.3 - 31.3
8	3	29.7	0.97	0.6	2.4	27.3 - 32.1
10	3	30.1	0.84	0.5	2.1	28 - 32.2
12	3	31.8	4.12	2.4	10.2	21.6 - 42
24	3	33.2	1.56	0.9	3.9	29.3 - 37.1
48	3	39	1.14	0.7	2.8	36.2 - 41.8
72	3	34.1	1.24	0.7	3.1	31.0 - 37.2
96	3	35.5	0.65	0.4	1.6	33.9 - 37.1
120	3	37.7	0.33	0.19	0.8	36.9 - 38.5
144	3	35.7	0.96	0.55	2.4	33.3 - 38.1
168	3	35.6	0.71	0.41	1.8	33.8 - 37.4

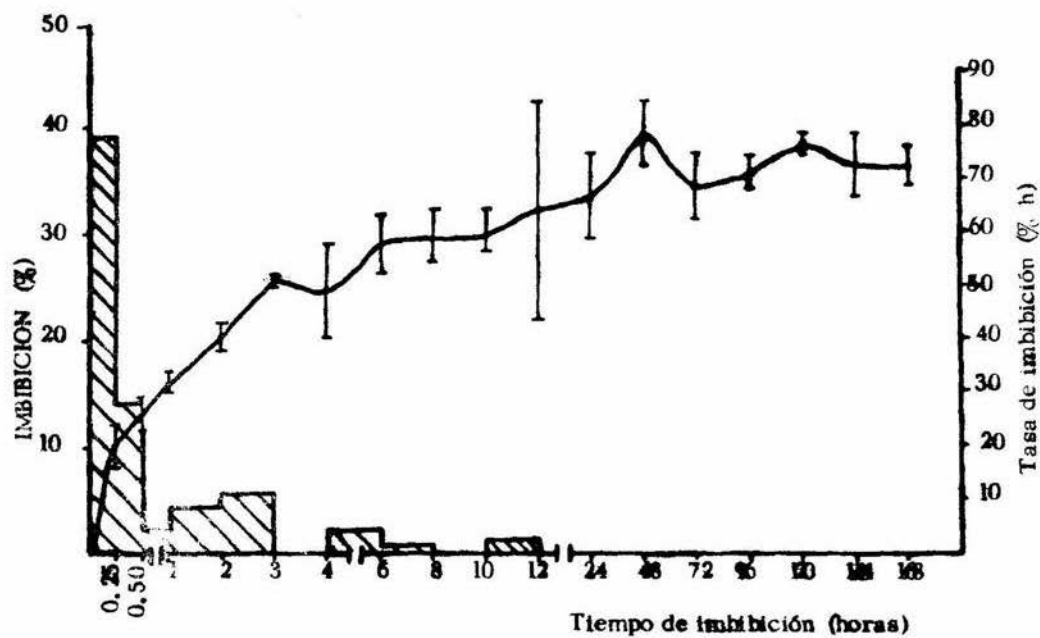


Fig. 4.3 Porcentaje de imbibición de agua a 25°C. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%, las barras indican la tasa de absorción.

TABLA 4.4 Resultados de porcentaje de imbibición (peso final - peso inicial) de las semillas a diferentes periodos de imbibición a 30°C.

Tiempo de imbibición (horas)	n	Porcentaje de imbibición	Desviación standard	$S_{\bar{x}}$	Intervalo de confianza $t_{0.05(2)}v S_{\bar{x}}$	Rango
0.25	3	9.7	0.5	0.3	1.3	8.5 = 11
0.5	3	12.9	0.4	0.2	0.4	12.5 - 13.3
1	3	17.4	0.7	0.4	1.7	15.7 - 19.0
2	3	21	0.3	0.2	0.9	20.0 = 22
3	3	25.5	0.7	0.4	1.6	23.9 - 27
4	3	27.7	0.3	0.2	0.9	26.8 - 28.6
6	3	28.6	1.9	1.1	4.7	23.9 - 33.3
8	3	30.4	1.1	0.63	2.7	27.7 - 33.1
10	3	30.8	0.3	0.19	0.8	30.0 - 31.6
12	3	32.6	0.4	0.24	1	31.6 - 33.6
24	3	32.6	0.4	0.24	1	31.6 = 33.6
48	3	39.5	1.6	0.94	4	35.5 = 43.5
72	3	34.3	0.9	0.51	2.2	32.1 = 36.5
96	3	35.3	0.7	0.43	1.9	33.5 = 37
120	3	37.2	1.2	0.7	2.9	34.2 - 40.1
168	3	36.8	0.6	0.36	1.5	35.3 - 38.3

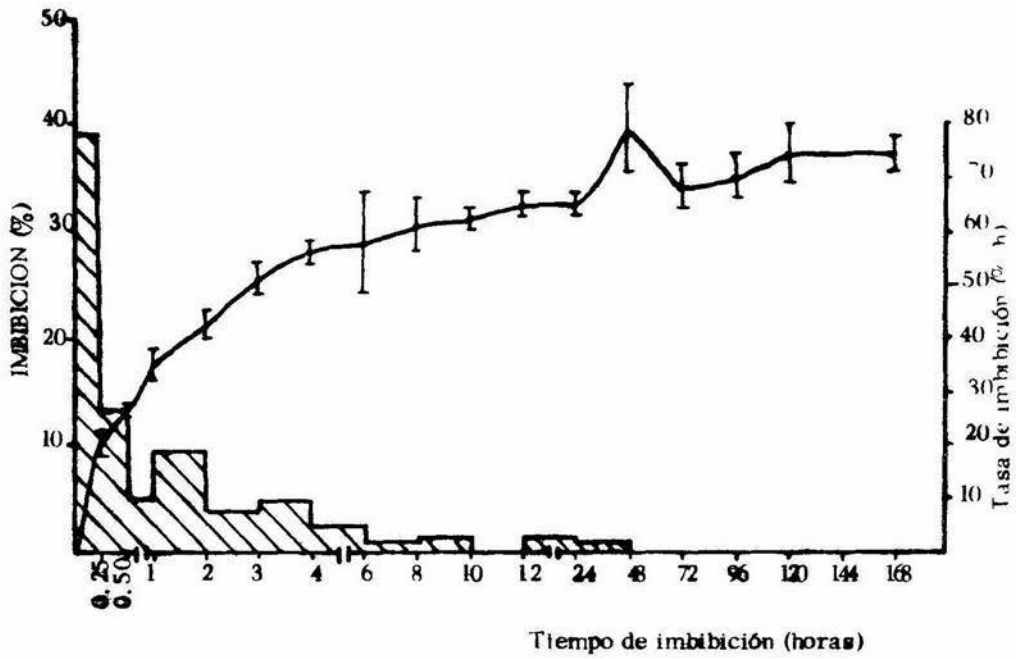


Fig. 4.4 Porcentaje de imbibición de agua a 30°C. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%, las barras indican la tasa de absorción.

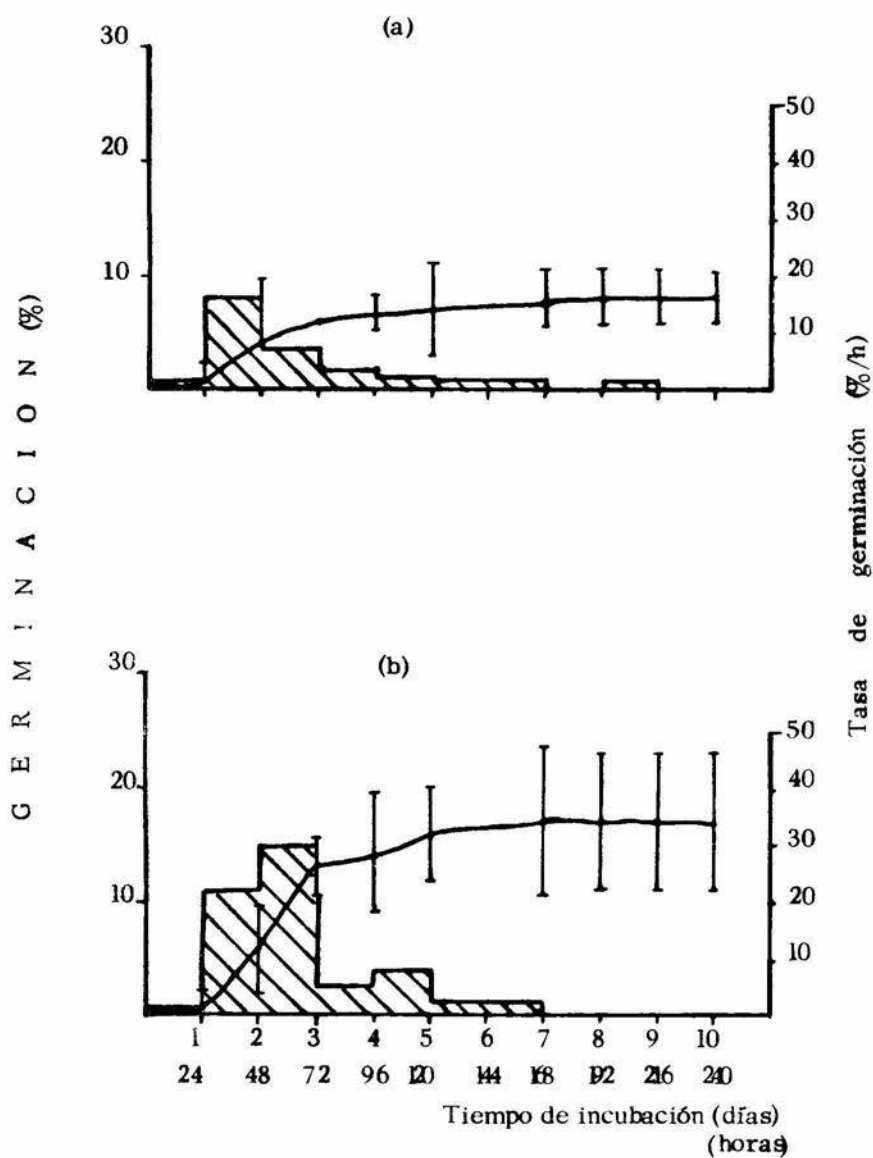


Fig. 4.5 Curva de germinación para (a) testigo. (b) imbibición durante 15 minutos. Líneas verticales 95% intervalo de confianza. Barras, tasa de germinación.

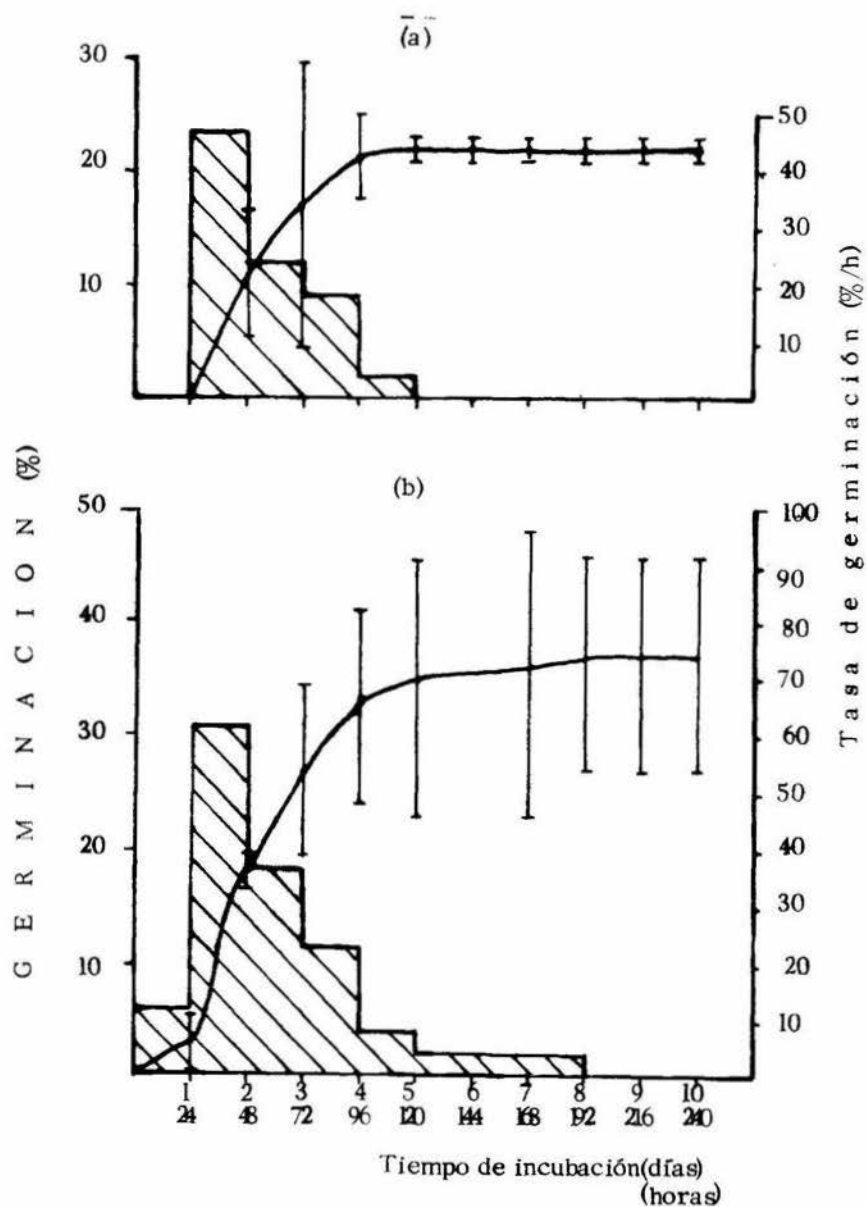


Fig. 4.6 Curva de germinación para (a) 30 min. de imbibición. (b) 1 hora de imbibición. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras. tasa de germinación.

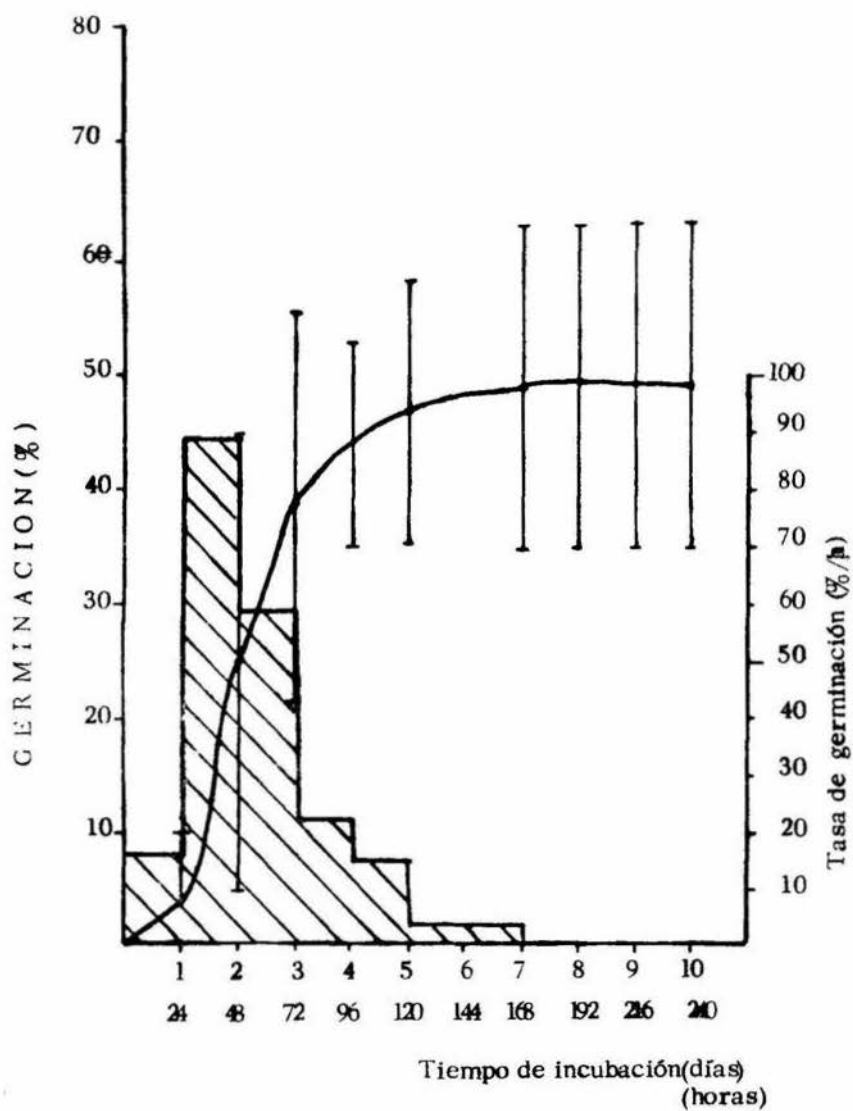


Fig. 4.7 Curva de germinación para 2 horas de imbibición. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

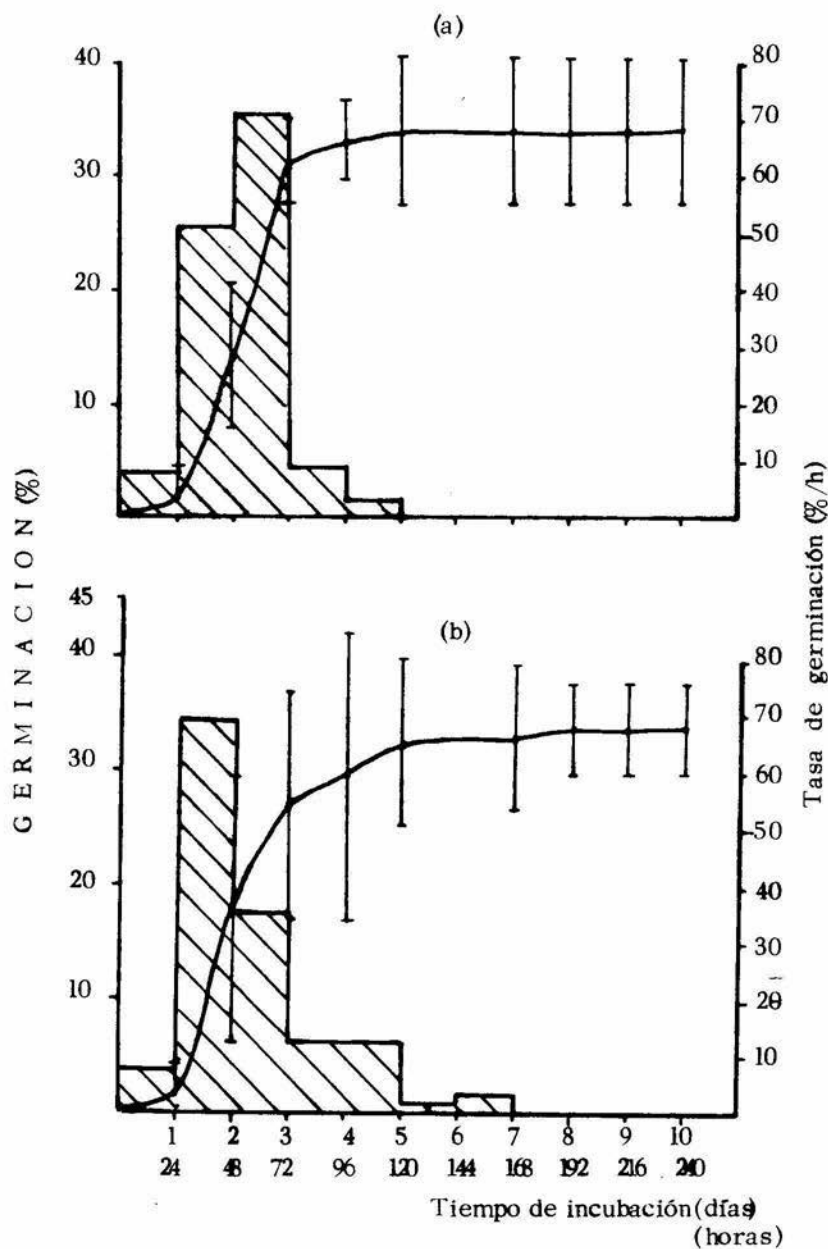


Fig. 4.8 Curva de germinación para (a) 3 horas de imbibición, (b) 4 horas de imbibición. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

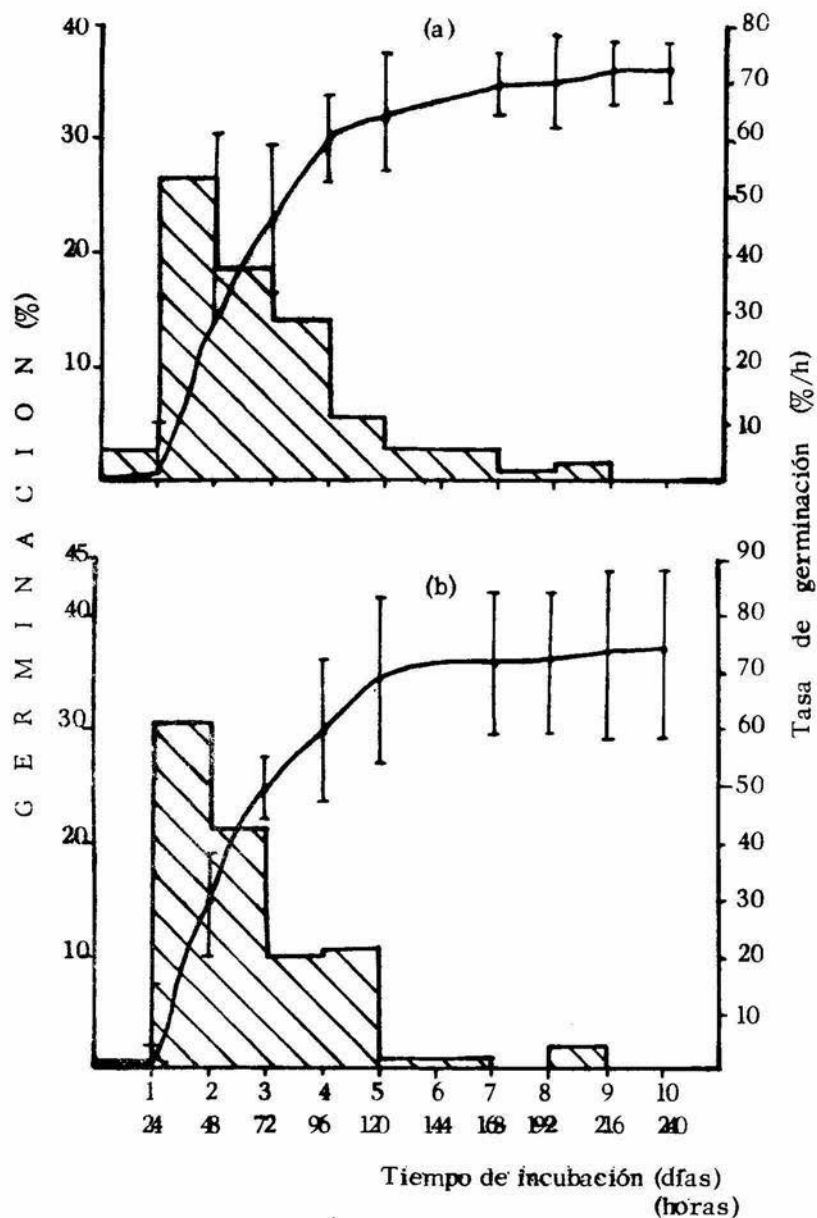


Fig. 4.9 Curva de germinación para (a) 6 horas de imbibición. (b) 8 horas de imbibición. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

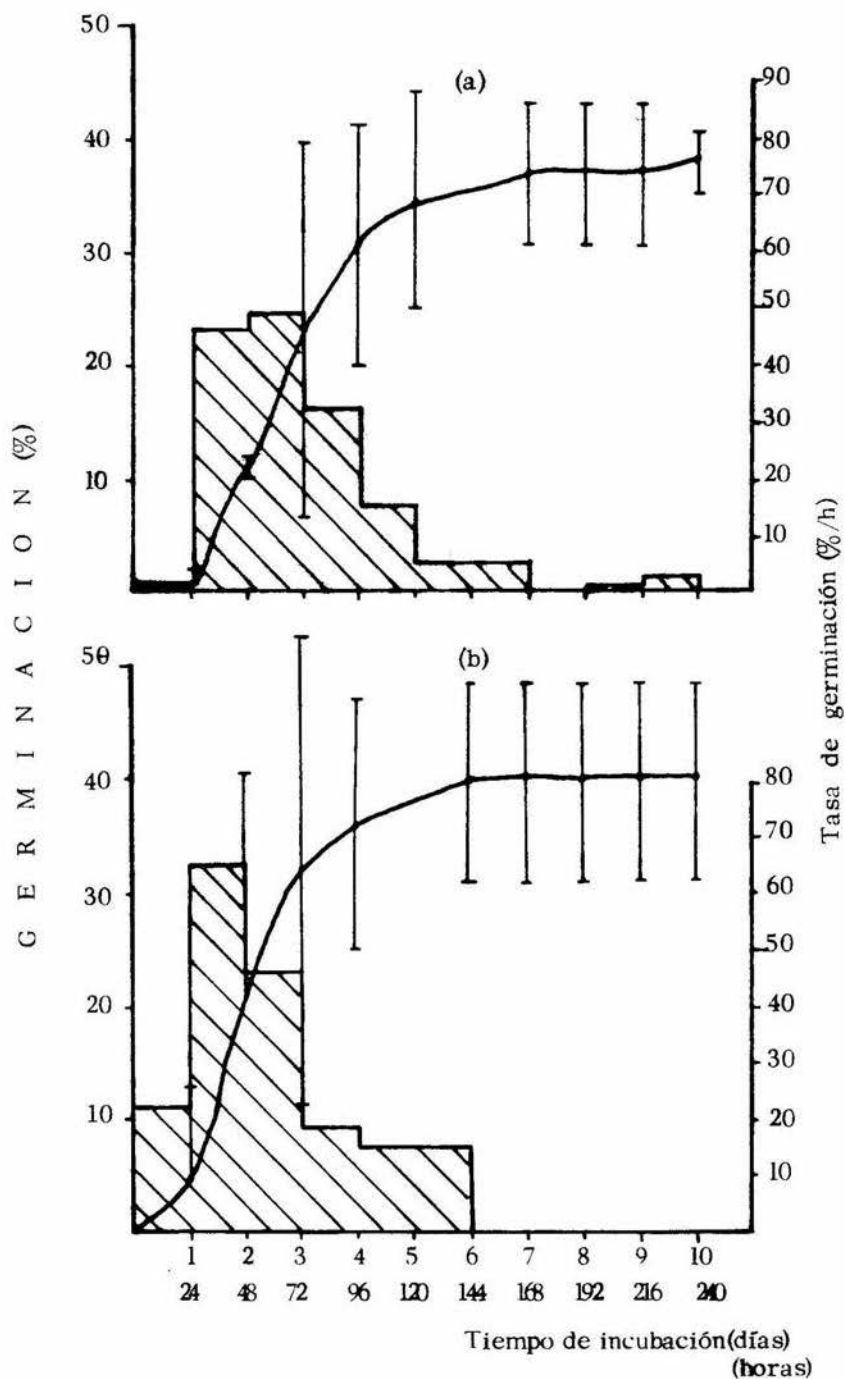


Fig. 4.10 Curva de germinación para (a) 10 horas de imbibición, (b) 12 horas de imbibición. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

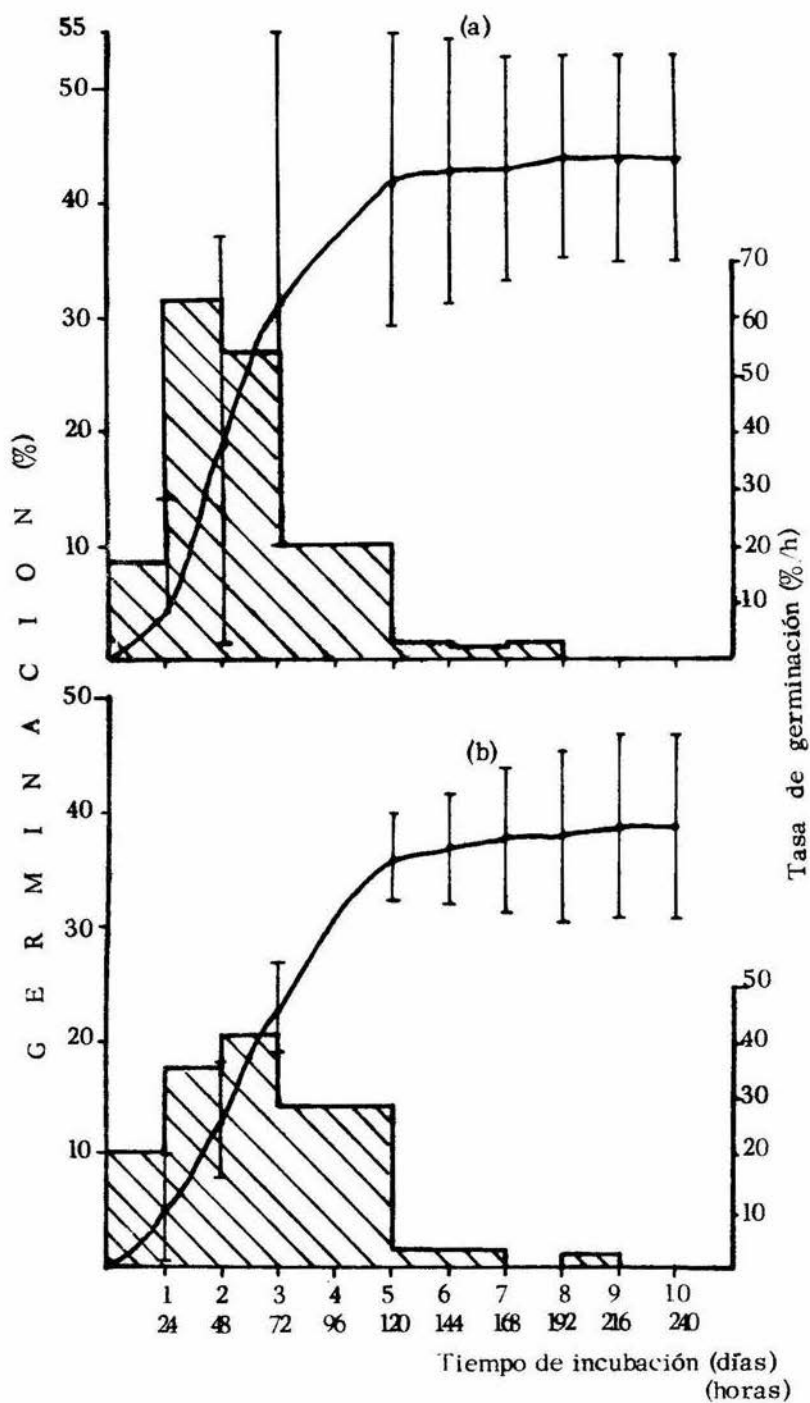


Fig. 4.11 Curva de germinación para (a) 24h de imbibición. (b) 48 horas de imbibición. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

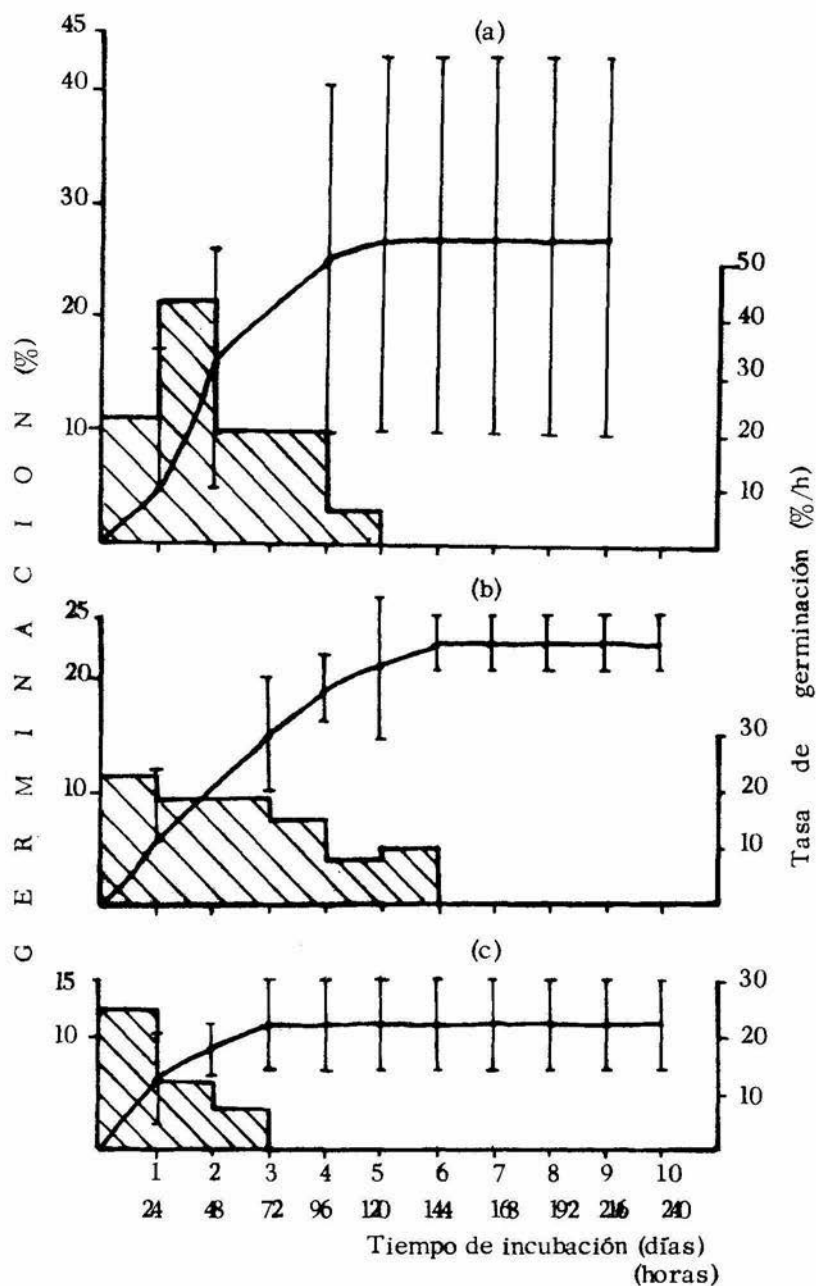


Fig. 4.12 Curva de germinación para (a) 2 horas de imbibición, (b) 96 horas de imbibición, (c) 120 horas de imbibición. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. - - Barras, tasa de germinación.

IV.2 Variación en la calidad de luz, irradiación durante 30 minutos a diferentes longitudes de onda, previa imbibición de 2 horas a 25^o C e incubación posterior a 25^oC.

Los resultados se resumen en la tabla 4.5 y se muestran en forma gráfica en la figura 4.13. Asimismo se muestran los resultados obtenidos para el tratamiento de reversión por rojo/rojo lejano.

Según se aprecia en la fig. 4.13, el máximo porcentaje de germinación se obtiene cuando las semillas son irradiadas con luz roja, siguiendo en orden decreciente las irradiadas con luz de día y posteriormente las de luz verde. La germinación es casi nula tanto en oscuridad como en azul, rojo lejano y en el tratamiento de irradiación con rojo seguida por rojo lejano.

La prueba estadística indica que el valor obtenido para el testigo (sin irradiación) es el mismo que el obtenido bajo la irradiación con azul, pero que difiere de todos los demás en forma significativa. Por su parte, el valor obtenido cuando la irradiación fué con rojo es muy diferente a los obtenidos en cualquiera de los otros casos.

Si se analizan las curvas de germinación individuales (fig. 4.14 y 4.15), se puede apreciar que en los casos en que se detectó germinación apreciable (verde, rojo, luz de día), el valor máximo de germinación siempre fué alcanzado al 6^o día de incubación. Por otra parte, la tasa máxima de germinación en estos tres casos se detectó a los 2 días de incubación. En los casos de irradiación con rojo lejano y de irradiación con rojo seguida por rojo lejano, las curvas de germinación son muy similares (fig. 4.15 b y c respectivamente).

TABLA 4.5 Resultados obtenidos en el tratamiento de variación en la calidad de la luz, con irradiación durante 30 minutos en cada caso, previa imbibición de 2 horas a 25°C e incubación posterior a 25°C; así como los obtenidos para el tratamiento de reversión por rojo/rojo lejano.

Longitud de onda (nm)	n	Porcentaje de germinación	Desviación standard	$S_{\bar{x}}$	Intervalo de confianza $t_{0.05(2)}vS_{\bar{x}}$	Rango
Testigo	3	1	0	0	0	1
Azul (470)	3	0.3	0.6	0.33	1.4	0.3 - 1.7
Verde (530)	3	7.3	0.6	0.33	1.4	5.9 - 8.7
Rojo (640)	3	37.0	1	0.6	2.5	34.5 - 40.0
Rojo lejano (730)	3	3.3	0.6	0.33	1.4	1.9 - 4.7
Luz de día (400-800)	3	13.3	2.5	1.45	6.2	7.1 - 19.5
Rojo + R. lejano	3	4	1	0.58	2.4	1.6 - 6.4

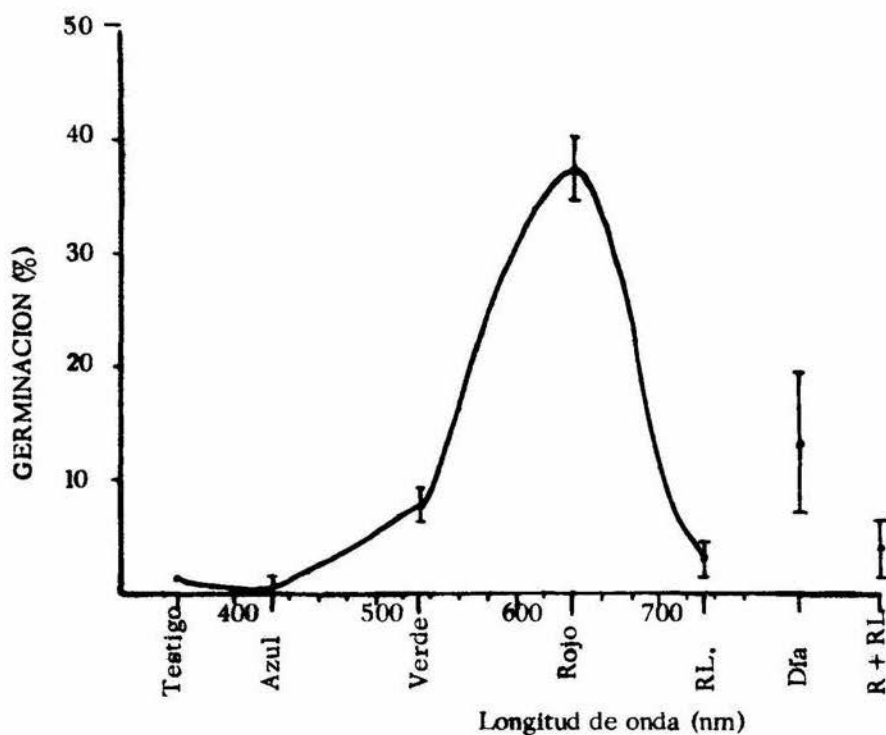


Fig. 4.13 Porcentaje de germinación vs. longitud de onda. Previa imbibición durante 2 horas a 25°C, irradiación durante 30 minutos, incubación posterior a 25°C. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%. (RL = Rojo lejano, R + RL = Rojo + Rojo lejano).

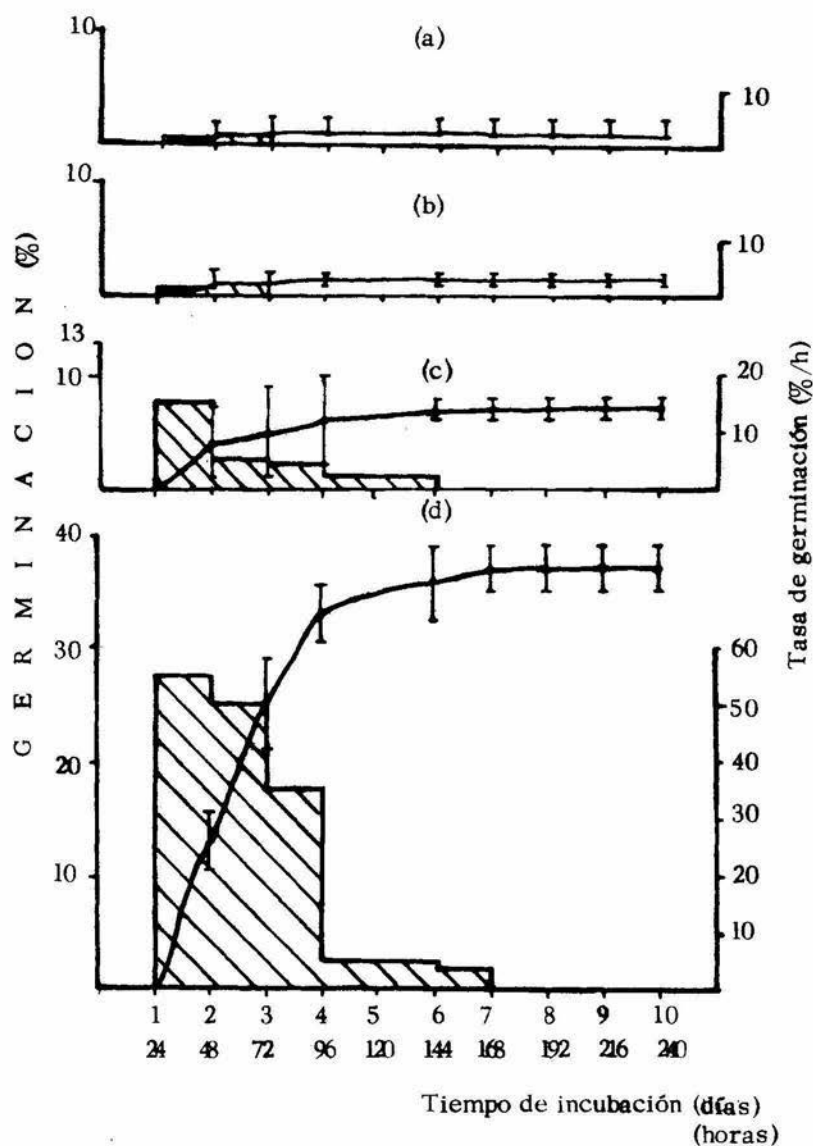


Fig. 4.14 Curva de germinación para (a) Testigo, (b) irradiación con luz azul, (c) irradiación con luz verde, (d) irradiación con luz roja. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

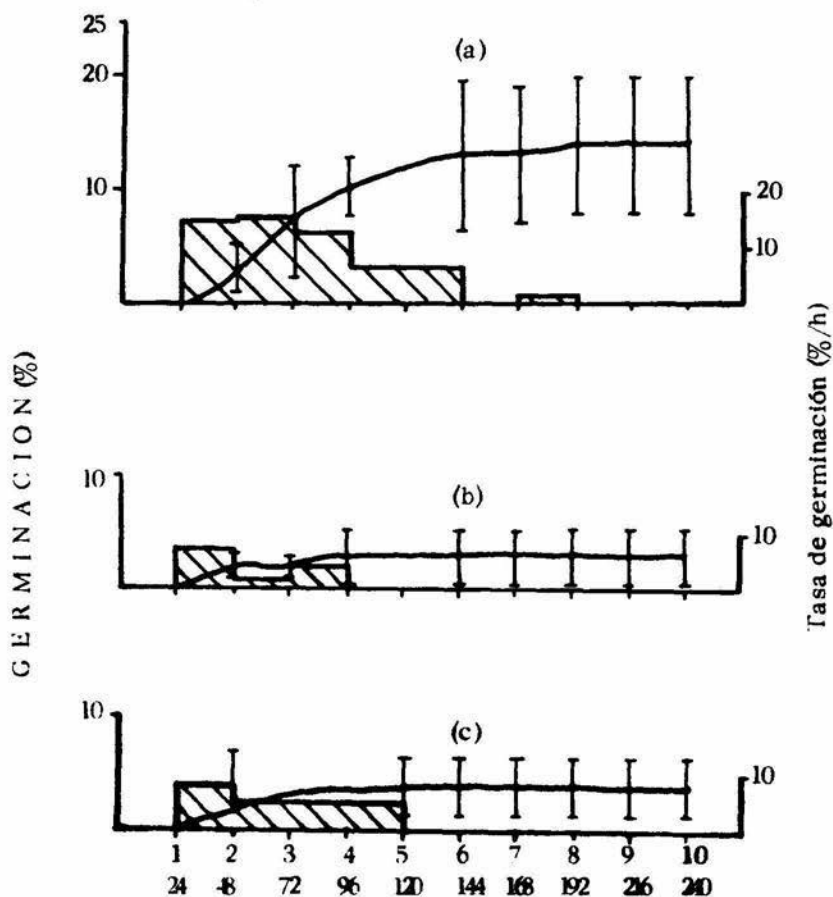


Fig. 4.15 Curva de germinación para (a) luz de día, (b) irradiación con rojo lejano, (c) irradiación con rojo y posteriormente con rojo lejano. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras tasa de germinación.

IV.3. Variación en el tiempo de irradiación, imbibición previa de 2 horas a 25°C , incubación posterior a 25°C .

Los resultados se resumen en la tabla 4.6 y se muestran en forma gráfica en la figura 4.16.

La figura 4.16 muestra un ascenso considerable en el porcentaje de germinación desde el testigo hasta 30 minutos de irradiación, después del cual se observan ascensos poco considerables.

Estadísticamente se detectan diferencias significativas entre el testigo (oscuridad) y con todos los tratamientos hasta 120 minutos de irradiación. Por otra parte, las diferencias también son significativas entre 5 y 30 min., pero de 30 a 120 min. ya no son significativas, pues no se detectan aumentos. Los resultados caen dentro del mismo intervalo (dos grados de libertad) hasta 60 minutos; entre 60 y 75 minutos existe un ligero ascenso (1 grado de libertad).

Si se analizan las curvas de germinación individuales (fig. 4.17 a 4.20) se puede observar que su comportamiento es similar, alcanzando su máximo porcentaje de germinación entre 5 y 7 días. Las diferencias que se detectan son en relación a la tasa de germinación. Esto es, en 5 min. de irradiación, la máxima tasa se obtiene hasta los tres días (fig. 4.17 b), mientras que en los otros tiempos dicha tasa presenta su máximo valor a los dos días. Otra diferencia que se detecta es que en 5 minutos (fig. 4.17 b) la tasa de germinación presenta dos valores altos, en 3 y 5 días, aunque este último valor no es el más alto. Dicho comportamiento no se presenta en ningún caso estudiado hasta el momento. Referente a los valores en la tasa de germinación, éstos son muy similares entre

30 y 90 minutos, pero el máximo se obtiene con 120 minutos de irradiación - -
(fig. 4.20).

TABLA 4.6 Resultados obtenidos en el tratamiento de variación en el tiempo de irradiación con luz roja previa imbibición de 2 horas a 25°C, con incubación posterior a 25°C.

Tiempo de irradiación (minutos)	n	Porcentaje de germinación	Desviación standard	$S_{\bar{x}}$	Intervalo de confianza $t_{0.05(2)}vS_{\bar{x}}$	Rango	
Testigo	3	1.33	0.58	0.33	1.4	1	- 3
5	3	14.0	1	0.6	2.5	11.5	- 16.5
30	3	39.7	4.5	2.6	11.2	18.0	- 60
45	3	42	5.2	3	13.0	29	- 55
60	3	31.3	6.1	3.5	15.0	16	- 46
75	3	49.3	2.5	1.5	6	43	- 55.5
90	3	46.6	3.1	1.8	7	39	- 54
120	3	51.7	4.0	2.3	10	42	- 61.5

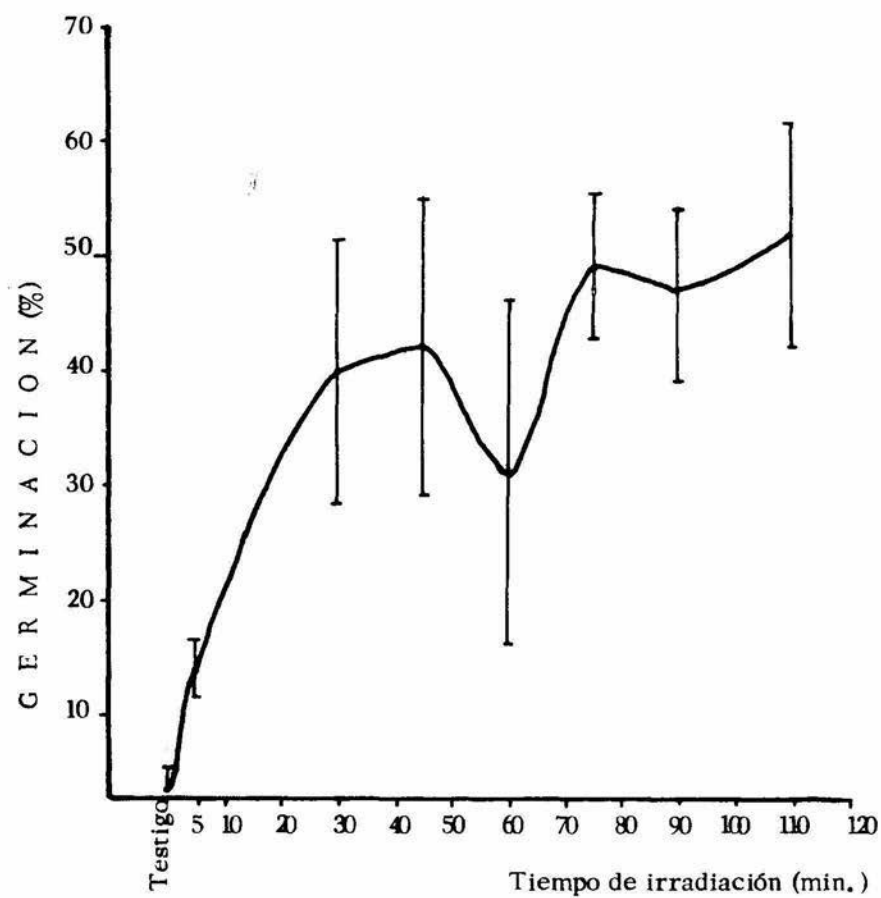


Fig. 4.16 Porcentaje de germinación vs. tiempo de irradiación con luz roja. Previa imbibición de 2 horas a 25°C, incubación a 25°C. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%.

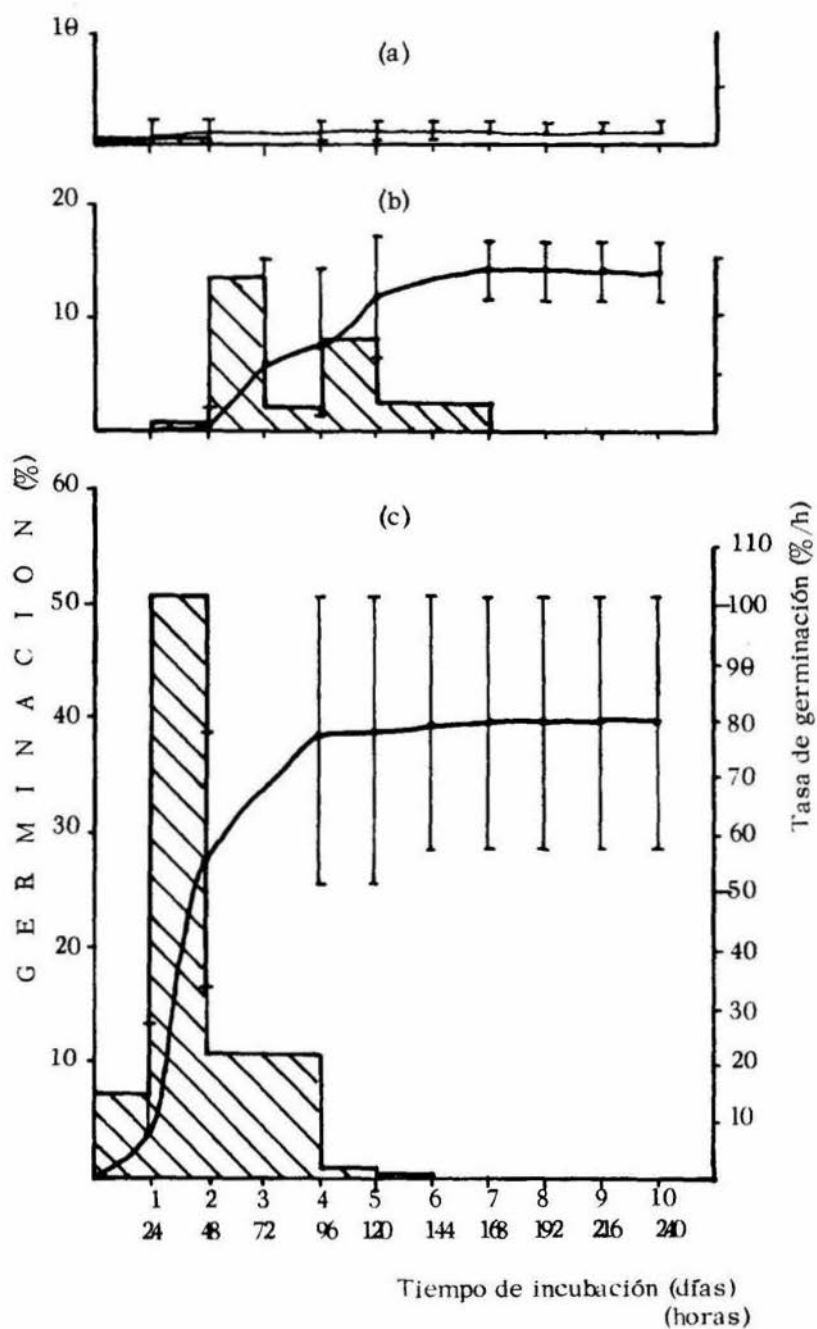


Fig. 4.17 Curva de germinación para (a) testigo. (b) 5 min. de irradiación. (c) 30 min. de irradiación. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

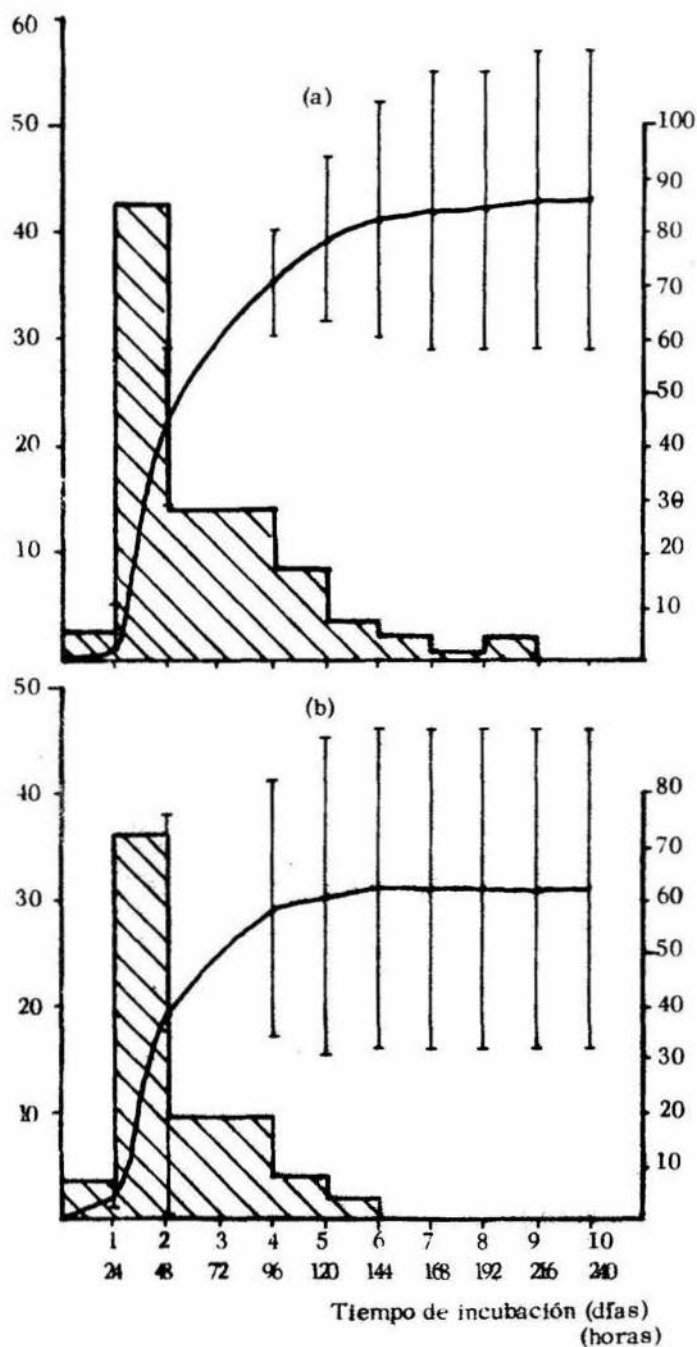


Fig. 4.18 Curva de germinación para (a) 45 minutos de irradiación, (b) 60 minutos de irradiación. Líneas verticales, intervalo de confianza. Barras, tasa de germinación.

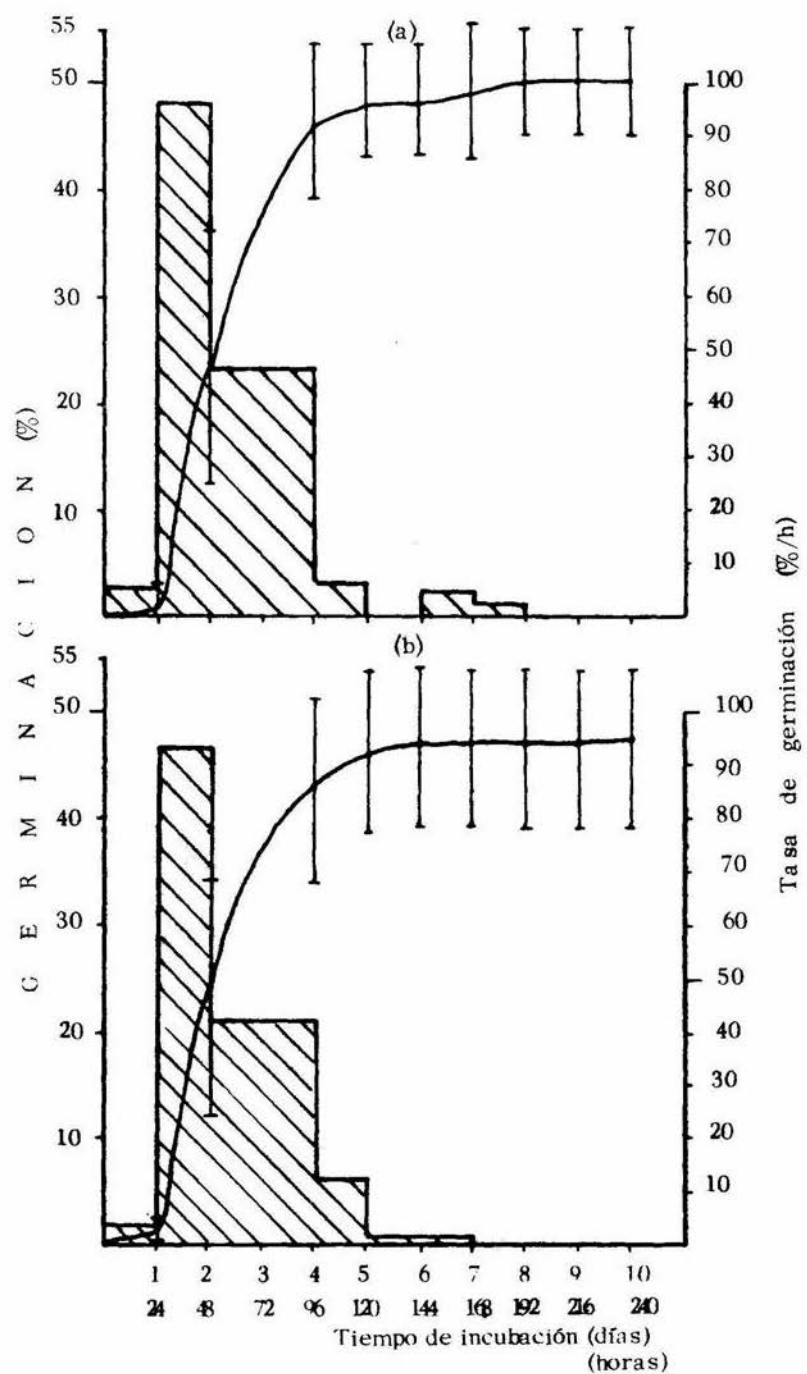


Fig. 4.19 Curva de germinación para (a) 75 minutos de irradiación; (b) 90 minutos. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras tasa de germinación.

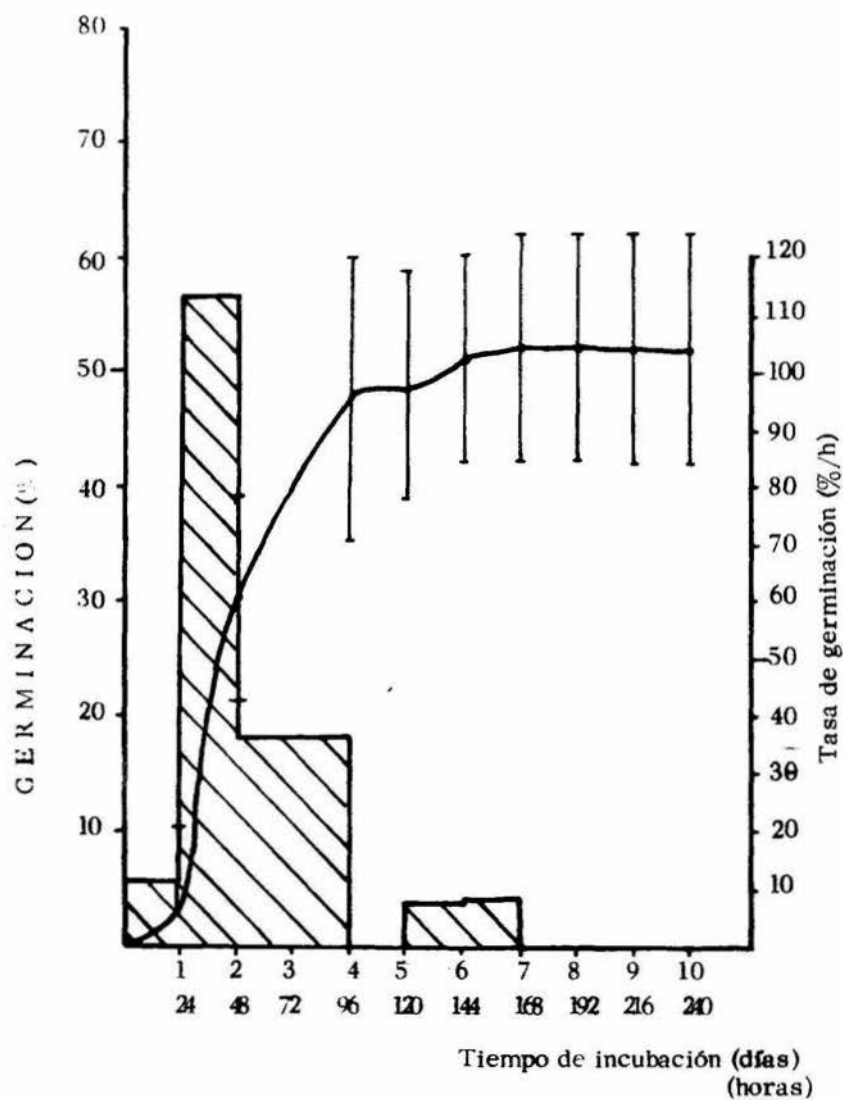


Fig. 4.20 Curva de germinación para 120 minutos de irradiación. Líneas - verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

IV.4 Variación en la temperatura de incubación, imbibición previa de 2 horas a 25°C, irradiación con rojo durante 120 minutos.

Los resultados se resumen en la tabla 4.7 y se muestran en forma gráfica en la figura 4.21.

Si se analiza la figura 4.21 se observa que el más alto porcentaje de germinación se obtiene bajo una temperatura de incubación de 21°C y que dicho porcentaje se ve disminuido en forma gradual hasta 27°C, posteriormente la disminución es marcada entre 27 y 29°C y nuevamente se mantiene en forma gradual hasta 35°C.

La prueba estadística indica que existen diferencias significativas entre 21 y 23°C, pero de 23 a 27°C no existen diferencias aunque el valor obtenido para 23°C es ligeramente mayor que los de 25 y 27°C (para un grado de libertad). Por otra parte, entre 27 y 29°C se detecta otra diferencia marcada, disminuyendo posteriormente en forma gradual nuevamente.

Si se analizan las curvas de germinación (figuras 4.22 a 4.26) puede detectarse que su comportamiento es similar, pues el máximo porcentaje de germinación se alcanza entre 5 y 7 días de incubación, pero las diferencias se detectan más bien en la tasa de germinación. En el caso de incubación a 21°C, la máxima tasa de germinación se obtiene hasta 3 y 4 días, permaneciendo constante durante estos dos periodos. Por otra parte, en el caso de 23°C, la tasa de germinación también es la máxima hasta el tercer día y no disminuye en forma considerable como en los otros tratamientos, esto es que se mantiene durante más tiempo. Si se analiza la fig. 4.24, se observa que a 25°C la tasa de germinación es máxima al

segundo día, aunque tampoco disminuye en forma abrupta, mientras que de 27^o en adelante sí se observa disminución marcada. En los casos de germinación a temperatura de 21 a 25^oC, no hay germinación detectable el primer día, mientras que de 27 a 35^oC sí existe, aunque no es la máxima.

TABLA 4.7 Resultados obtenidos en el tratamiento de variación en la temperatura de incubación, previa imbibición de 2 horas a 25°C, e irradiación con luz roja durante 120 minutos.

Temperatura de incubación (°C)	n	Porcentaje de germinación	Desviación standard	$S_{\bar{x}}$	Intervalo de confianza $t_{0.05(2)}vS_{\bar{x}}$	Rango
21	3	77.7	2.3	1.3	5.7	72.0 - 83.4
23	3	65.3	2.3	1.3	5.7	60.0 - 71.0
25 (testigo)	3	56	2.1	1.2	5.2	51.0 - 61.5
27	3	53	3.5	2	8.6	44.4 - 61.6
29	3	24.3	1.5	1	3.8	20.5 - 28.0
31	3	18.7	3.2	1.9	8	10.7 - 26.6
33	3	8.3	1.2	0.7	2.8	5.5 - 11.0
35	3	11.7	1.5	0.9	3.8	7.9 - 15.5

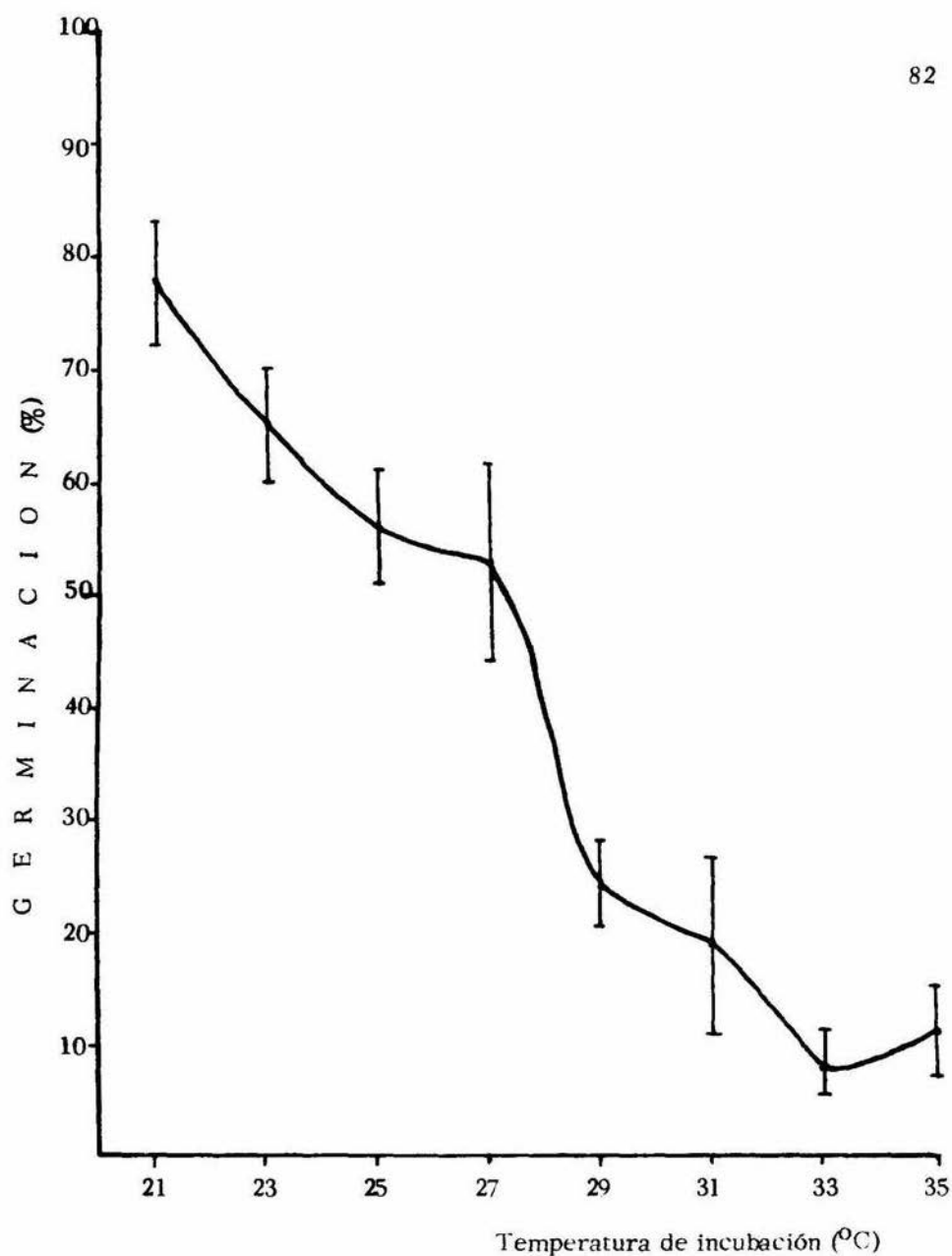


Fig. 4.21 Porcentaje de germinación vs. temperatura de incubación, previa -- imbibición de 2 horas e irradiación con rojo durante 120 minutos. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza al 95%.

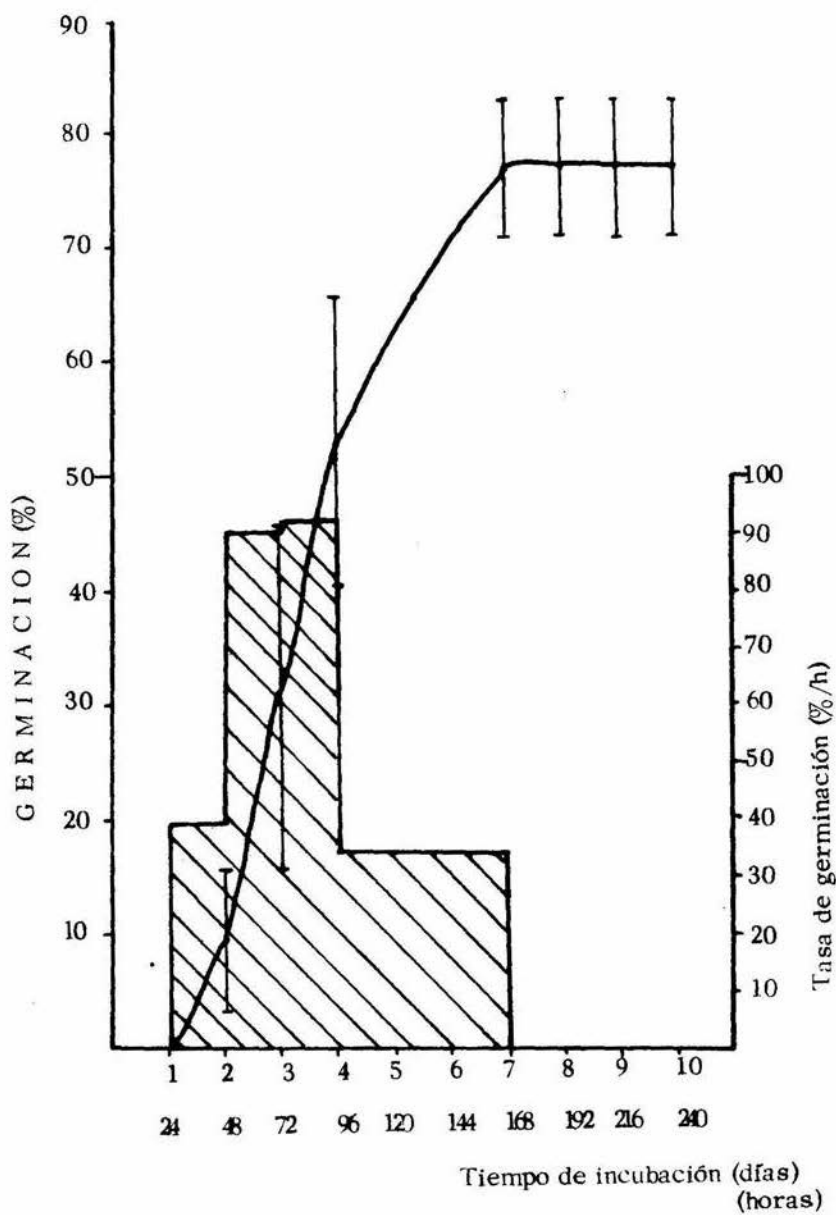


Fig. 4.22 Curva de germinación para incubación a 21°C. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

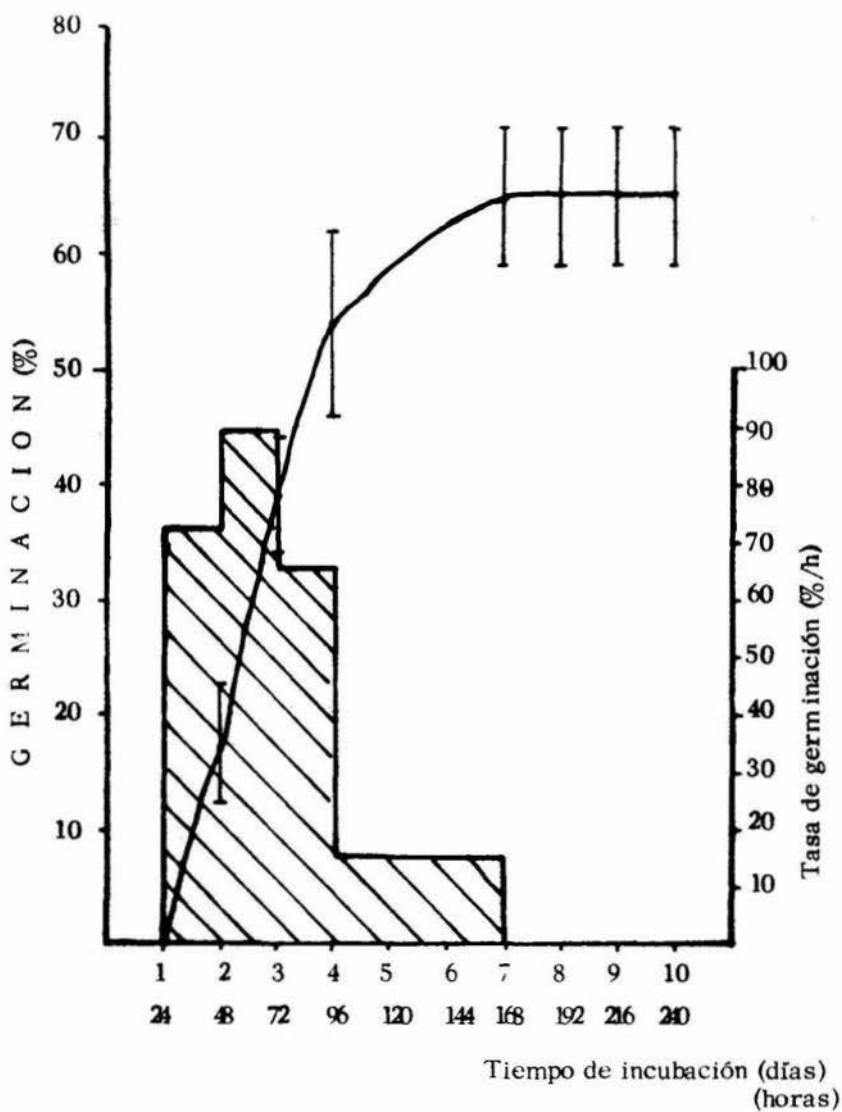


Fig. 4.23 Curva de germinación para incubación a 23°C . Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

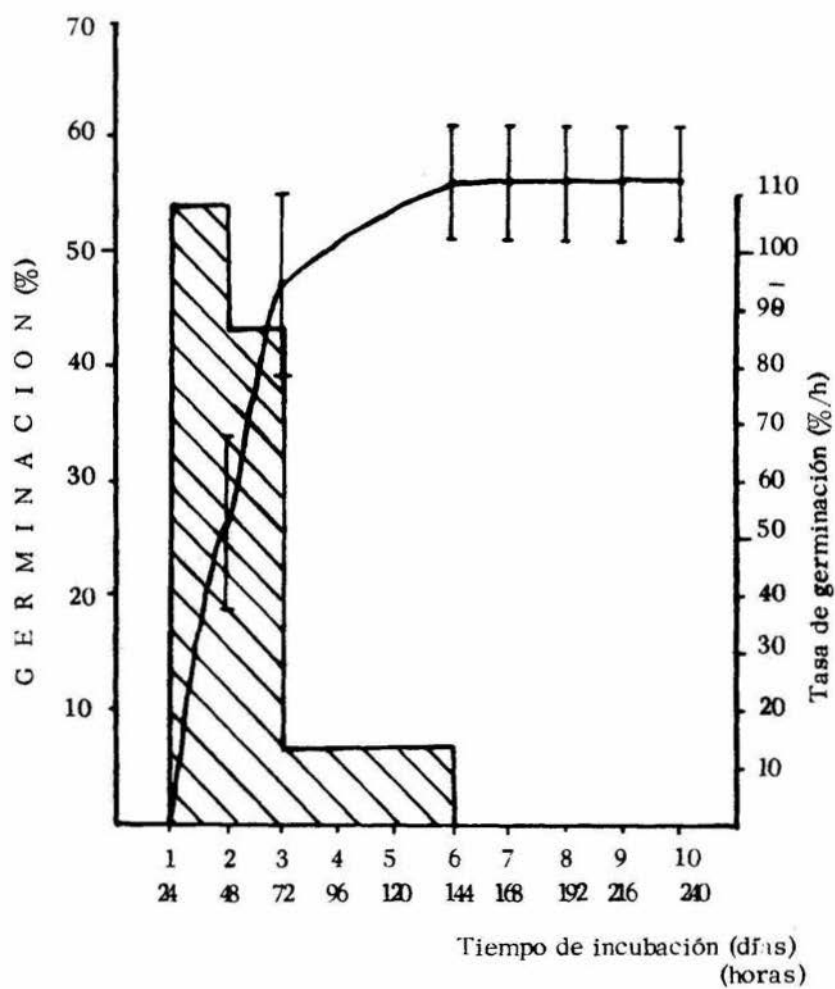


Fig. 4.24 Curva de germinación para incubación a 25°C. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

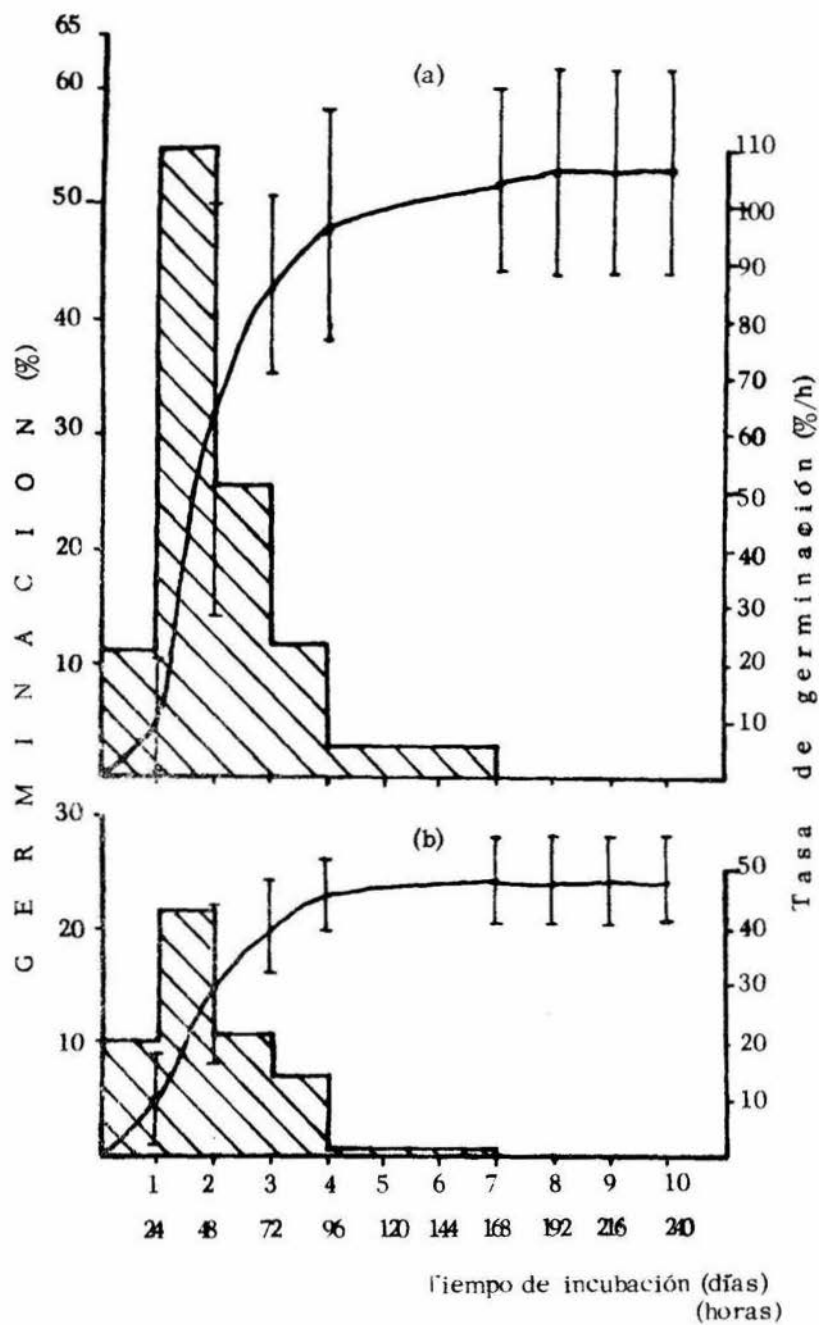


fig. 4.25 Curva de germinación para (a) incubación a 27°C. (b) incubación a 29°C. Líneas verticales, intervalo de confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

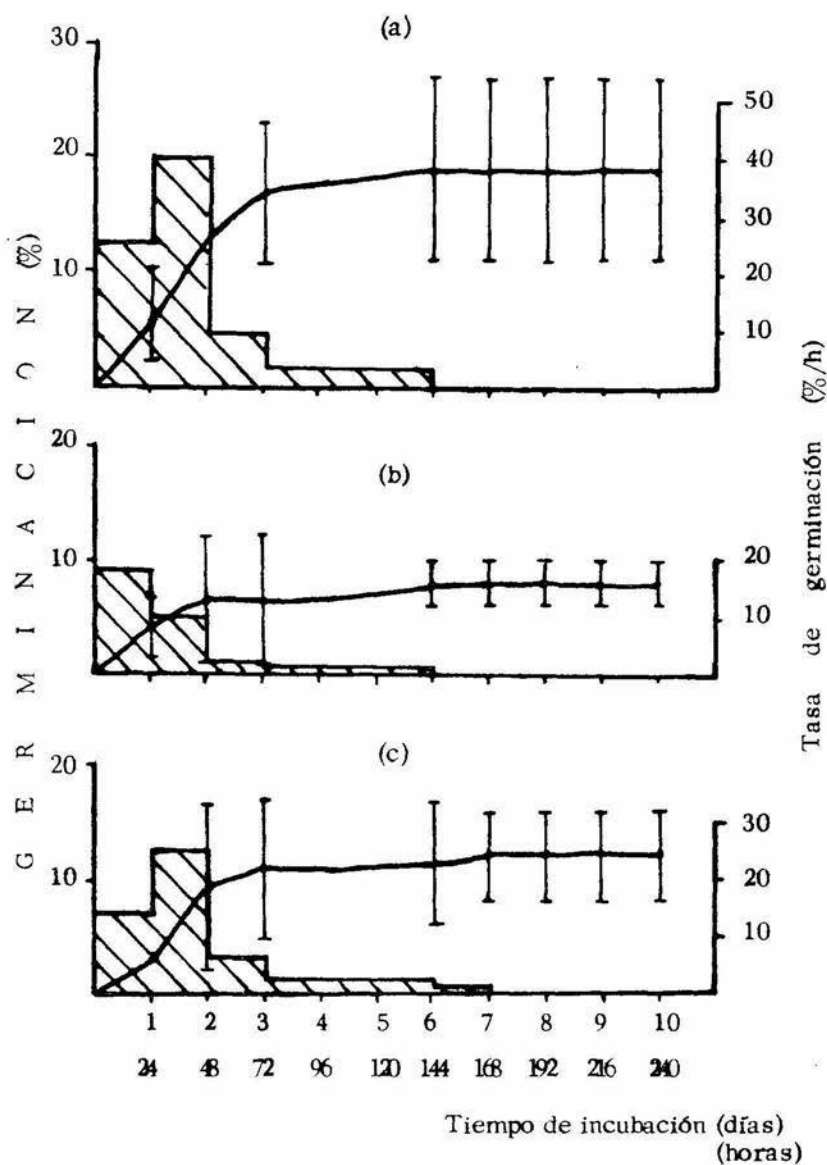


Fig. 4.26 Curva de germinación para (a) incubación a 31°C, (b) incubación a 33°C, (c) incubación a 35°C. Líneas verticales, intervalo de -- confianza al 95%. Barras, tasa de germinación.

V. DISCUSION

En primer término se explicarán los resultados obtenidos en la determinación del porcentaje de imbibición.

La semilla, al tener un bajo contenido hídrico y ser colocada en presencia de agua destilada, tenderá a incorporar agua rápidamente durante los primeros minutos, lo cual se comprueba por los valores de tasa de imbibición obtenidos durante los primeros 15 minutos, tanto a 25 como a 30°C (fig. 4.3 y 4.4). Lo anterior se relaciona simplemente con la existencia de un gradiente de potencial hídrico, no existiendo en este momento procesos metabólicos que pongan en disponibilidad solutos que influyan en este gradiente. Desde 15 minutos hasta 3 horas continúa la absorción, aunque a más baja velocidad. Cuando la semilla ha permanecido durante 3 horas en contacto con el agua ésta llega a un equilibrio hídrico con el medio (por la presión de imbibición). Posterior a esto se detecta absorción de agua pero muy lentamente. Esto podría explicarse como que en este momento las células han restablecido sus sistemas membranales y se han activado enzimas que pueden estar llevando a cabo procesos metabólicos que pongan en disponibilidad algunos solutos, lo que hace que exista nuevamente un gradiente de potencial hídrico. Estos procesos son lentos, lo que explica la baja absorción hasta 24 horas. Después de este tiempo que puede haber sido suficiente para llevar a cabo síntesis de enzimas, a partir de RNAm preexistente, y que podrían ser de tipo hidrolítico. Entonces, si se trata de enzimas hidrolíticas la absorción de agua puede deberse a que dichas enzimas hayan puesto en disponibilidad algunas moléculas que influyan en la creación de un gradiente

de potencial hídrico. Este posible proceso de hidrólisis se mantiene durante 48 horas (desde 24 hasta 72 horas), y se detiene durante 24 horas (hasta 96) -- después de lo cual se detecta otro ascenso que podría deberse a síntesis, no sólo a nivel de traducción sino incluso de transcripción.

El mencionar que los procesos involucrados sean de tipo metabólico se apoya en el hecho de que en ningún momento, incluso hasta después de 192 horas de imbibición se detectó rompimiento de testas de la semilla. Por ello el ascenso en la absorción de agua no puede deberse a un gradiente creado por disminución en el potencial de presión.

Con lo anterior podría sugerirse que el agua activa sistemas enzimáticos en las semillas de *S. griseus* y que posiblemente durante la imbibición se lleve a cabo síntesis a nivel de traducción e incluso de transcripción, pero que el agua por sí misma no es capaz de disparar la germinación de estas semillas.

Ahora bien, se tiene el antecedente (Williams y Arias, 1978) de que *S. griseus* germina en presencia de luz (no se determina la calidad, ni si en su ausencia lo hacen). Esto indica que en la germinación de estas semillas está implicado un fotorreceptor que con toda seguridad es el fitocromo, es decir, que estas semillas requieren de la presencia de luz roja después de someterlas a imbibición. Pero, ¿qué grado de hidratación es necesario para que respondan al estímulo?

Taylorson y Hendricks (1972) mencionan que las semillas sensibles a la luz (*S. griseus* lo es) requieren un período mínimo de imbibición antes de que un estímulo luminoso pueda desencadenar la germinación. Ellos experimentaron -

con semillas de Amaranthus retroflexus L., y determinaron que cuando las semillas contenían de 17 a 19% de agua, no importando la temperatura de imbibición, el fitocromo estaba hidratado (medido fisiológicamente). Esto es, que cuando la semilla había imbibido alrededor de la mitad de agua que puede tomar, la rehidratación del fitocromo era aparentemente completa.

Si se toma como base lo anterior para discutir los resultados de germinación obtenidos, se observa (fig. 4.2) que se obtienen altos porcentajes de germinación cuando las semillas se encuentran hidratadas al 20% y al 33%, 2 horas y 12-24 horas de imbibición a 25°C (fig. 4.3) respectivamente. El resultado de porcentaje de germinación obtenido para 2 horas de hidratación puede explicarse en los términos mencionados por Taylorson y Hendricks (1972). Es decir, que en este momento el fitocromo se encuentra hidratado como para responder a una irradiación (reversión de Pr hacia Pfr) e inducir el proceso de germinación. El resultado obtenido para 12 y 24 horas puede explicarse en los mismos términos, pues estos autores mencionan que la imbibición oscura puede ser considerablemente mayor que el mínimo requerido para lograr la completa expresión del estímulo rojo sin apreciable pérdida de sensibilidad, pero no especifican qué tan prolongado pueda ser el tiempo de imbibición. Por otra parte, mencionan que los períodos cortos de imbibición no llevan a una alta germinación y que puede relacionarse con la falta de fitocromo fototransformable. Con esto podrían explicarse los bajos porcentajes de germinación obtenidos en los primeros períodos de imbibición hasta 1 hora (fig. 4.2).

Marmé (1977) alude al hecho de que el fitocromo en su forma activa (Pr) se encuentra en forma soluble en el citoplasma, no posee asociación con membranas, y que la forma activa (Pfr) se encuentra asociada con las membranas. Si se considera que con la imbibición se regeneran todos los sistemas membranales de la célula y que el fitocromo activo (Pfr) se encuentra asociado con membranas, entonces se podría hipotetizar que la hidratación de la semilla no se relaciona directamente con la molécula de fitocromo, sino más bien con el grado de restauración que en el momento de irradiación tengan las membranas. Lo anterior facilitaría la incorporación de la molécula de fitocromo. Ahora, si se piensa que el fitocromo en realidad se hidrata, se podría sugerir que exista un sinergismo, esto es, membrana restaurada con fitocromo hidratado daría la máxima respuesta.

El proceso de germinación de las semillas hasta 48 horas de imbibición puede relacionarse con una acción directa del fitocromo sobre el metabolismo adecuado de la semilla. Para explicar la disminución en el porcentaje de germinación después de 48 horas (fig. 4.2) no sería posible mencionar que haga falta fitocromo fototransformable. Más bien podría relacionarse con que algunos procesos hayan sido activados durante todo ese tiempo de imbibición o que algunos puedan verse inhibidos, y que ya no sea posible que se lleve a cabo una germinación adecuada.

La disminución en el porcentaje de germinación podría compararse con una reducción en la viabilidad de las semillas cuando éstas han sido sometidas a almacenamientos en condiciones de humedad elevada. Se ha visto que en las se-

millas sometidas a estas condiciones, la capacidad de producción de etileno se retrasa. La producción de esta hormona está muy relacionada con la vigorosidad de las semillas, y aunque no se asocia con el proceso de germinación en sí (antes de la emergencia de la radícula) se asocia con el proceso de crecimiento, pues su máxima producción se detecta en el tiempo de emergencia de la radícula (Ketring, 1977). Podría sugerirse entonces que las semillas de *S. griseus* después de 48 horas de imbibición pierden la capacidad de producción mínima de etileno para el crecimiento. Esto podría apoyarse con el hecho de que en los tratamientos desde 30 min. hasta 24 horas, las tasas de germinación son alcanzadas rápidamente, lo cual puede implicar un rápido crecimiento de la radícula (fig. 4.6 a 4.11 a), y disminuyen posteriormente en forma abrupta. Lo anterior estaría relacionado con la rápida producción de etileno en las semillas que aún son viables.

Ahora bien, se mencionó que existen diferencias en cuanto a las tasas de germinación. Esto es, en 3 horas de imbibición (fig. 4.8a) que curiosamente es el punto máximo de la primera fase de incorporación de agua y la primera disminución en el porcentaje de germinación (fig. 4.2 y 4.3). En 48 h. de imbibición (fig. 4.11 b), segunda fase de incorporación de agua y segundo descenso en el porcentaje de germinación (fig. 4.2 y 4.3) la máxima tasa de germinación se detecta hasta los 3 días de incubación, a diferencia de las otras (fig. 4.6, 4.7, 4.8 b - 4.10, 4.11 a y 4.12) en donde la máxima tasa de germinación se detecta desde los 2 días de incubación. Estos casos no pueden tratarse desde el punto de vista de que no exista fitocromo fototransformable, por lo discutido anteriormente. Más bien podría elucubrarse que existan algunos procesos me-

tabólicos que se interpongan a su efecto, recordar que al menos en 48 horas de imbibición hay absorción de agua después de una fase de equilibrio, lo cual implica forzosamente procesos metabólicos importantes. También se detecta retardo en la germinación en 15 min. de imbibición (fig. 4.5 b). Podría mencionarse que la hidratación no fué suficiente para activar algunos procesos anteriores a la irradiación y que puedan ser necesarios para una óptima incorporación del fitocromo. La rápida germinación en 96 y 72 horas de imbibición puede deberse a que muchos procesos ya han sido realizados durante dicha imbibición.

Si existen diferencias en porcentaje de germinación entre 2 horas de imbibición (el fitocromo está hidratado y/o las membranas restauradas) y 12 y 24 horas, siendo mayor en estos casos, en estas semillas se deben presentar procesos metabólicos tempranos que llevan a una máxima respuesta. Dichos procesos probablemente impliquen síntesis a partir de RNAm preexistente.

Puede concluirse que la semilla está lista para responder a un estímulo luminoso después de 2 horas de imbibición (20% de hidratación), pero que requiere un tiempo mayor para que se realicen los procesos tempranos de la germinación, v.g. total restauración de membranas, activación de enzimas, síntesis a partir de RNAm preexistente, de tal forma que la respuesta de germinación podrá ser la máxima.

Se ha determinado hasta aquí el grado mínimo de hidratación de la semilla requerido para responder a un estímulo luminoso (luz roja) lo cual implica la presencia del fitocromo y su posible regulación de ciertos procesos de la ger-

minación.

El tratamiento que se hizo en relación a la variación en la calidad de luz, obviamente fué para establecer que es el fitocromo el fotorreceptor responsable para este proceso de germinación. Se utilizó el período de imbibición de 2 horas por las siguientes razones:

- a) Fué en el que se detectó la máxima tasa de germinación (fig. 4.7).
- b) Es el mínimo de tiempo requerido para la hidratación del fitocromo y/o restauración de membranas (20%) y se acerca mucho al valor reportado por Taylorson y Hendricks (1972) para *A. retroflexus* (17 - 19%)

En este tratamiento la diferencia es clara en los resultados obtenidos, siendo la mayor en el rojo, seguida por la de luz de día y el verde. Sin germinación en oscuridad, azul o rojo lejano (fig. 4.13).

Los resultados obtenidos apoyan en forma concluyente que las semillas presentan fotoblastismo positivo y que el fotorreceptor responsable de su germinación es el fitocromo. Lo anterior se apoya en que la máxima germinación se obtuvo exactamente en la región del espectro en la que absorbe el fitocromo (Pr) (fig. 1) mientras que el rojo lejano no activa respuesta e incluso revierte la inducción, como se muestra en la fig. 4.13 para R + RL.

Por su parte, la luz de día induce germinación, pero es mucho menor a la detectada con rojo. Si se toma en cuenta que la luz de día incluye desde 400 hasta 800 nm (Smith, 1982) se está involucrando la presencia de ondas tanto del rojo (640 nm) como del rojo lejano (730 nm). Si se considera que las plantas en su

ambiente natural estarán sometidas a ambos tipos de radiación, entonces se debe pensar que la respuesta final dependerá de la cantidad que exista tanto de Pfr como de Pr en la célula. Esto es, las semillas fotoblásticas en estado natural germinarán cuando su fotoequilibrio Pfr/Pr_{total} sea adecuado (Morgan and Smith, - - 1976). Dicho fotoequilibrio dependerá de la relación Rojo:Rojo lejano que se encuentre en el medio. Esta relación se refiere a la cantidad de luz roja así como de rojo lejano que fluya de la fuente luminosa (Smith, 1982). Si se toma en cuenta lo anterior, entonces la respuesta obtenida para luz de día puede explicarse en términos de que el fotoequilibrio no es el adecuado (posiblemente requiera más tiempo de irradiación con esta luz) para que se dispare completamente la germinación. Si se compara con lo sucedido con el rojo, en donde la conversión es únicamente $Pr \rightarrow Pfr$, entonces puede entenderse en los términos mencionados.

Por otra parte, bajo luz verde supuestamente no debe haber respuesta, pues -- esta calidad de luz no está involucrada en respuestas fotomorfogénicas, y -- además el fitocromo no absorbe en esta región. El pequeño porcentaje detectado bajo esta calidad de luz puede deberse a que el filtro no fué del todo adecuado puesto que dejaba pasar luz roja (fig. 3.4) que fué responsable de la germinación detectada.

Hasta el momento el máximo porcentaje de germinación obtenido ha sido de 50%, lo que implica introducir variación en los factores utilizados. Si se considera que la luz es un factor importante y además comprobado, y se habla de que debe existir un fotoequilibrio, podría pensarse que al aumentar el tiempo de - - -

irradiación existiría mayor cantidad de Pfr, lo cual aumentaría el porcentaje de germinación. Por esto se procedió a variar el tiempo de irradiación.

Los resultados obtenidos (fig. 4.16) indican una clara diferencia entre 5 y 30 min. de irradiación, después de este tiempo ya no existen diferencias marcadas. Se puede decir en forma concluyente que se requiere un mínimo de fitocromo activo para que se de la respuesta de germinación y que este mínimo se alcanza con 30 min. de irradiación. Las diferencias entre 5 y 30 min. se ven claramente si se comparan las figuras 4.17 b y c. A pesar de no existir diferencias en cuanto a porcentaje de germinación de 30 min. en adelante, sí existe una diferencia muy notoria en relación a que en 120 min. de irradiación (fig. 4.20) la tasa de germinación obtenida es mucho mayor que para los otros tiempos.

El proceso de germinación incluye varias etapas, de las cuales las primeras (primeras horas de imbibición) no implican síntesis de proteínas nuevas (generalmente enzimas). Considerando que en los estadios tempranos de la germinación son restauradas las membranas e integrado el fitocromo en ellas, es necesario pensar que una vez que se activa este fotorreceptor provoque una alteración en la permeabilidad de las mismas, y como consecuencia se realice un transporte de sustancias extra e intracelulares que regulen en última instancia los procesos metabólicos posteriores, tales como la síntesis de proteínas (mayormente enzimas) tanto a nivel de transcripción como traducción. Al pensar en este hecho, necesariamente debe involucrarse a las fitohormonas tales como las giberelinas y las citocininas.

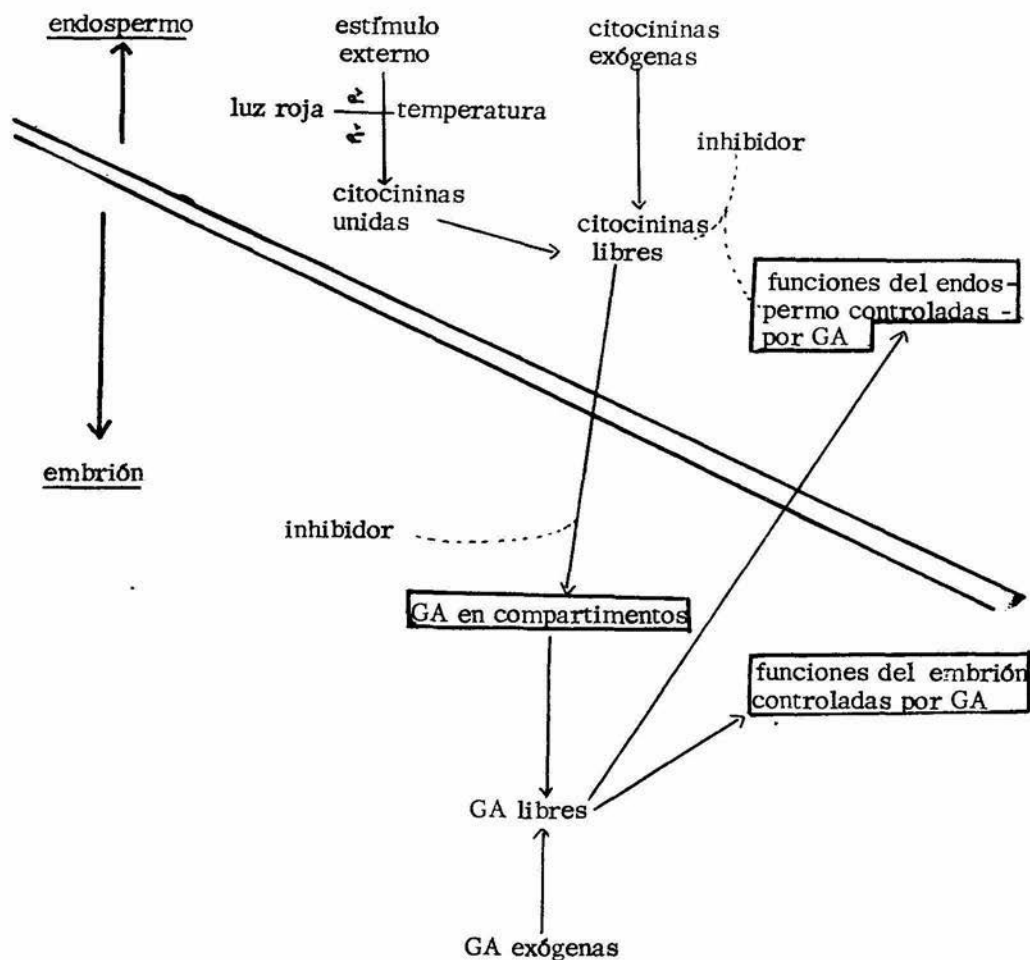
Thomas (1977) menciona que el control de la latencia y la germinación involucra un balance entre compuestos estimuladores e inhibidores dentro de la semilla. En el caso de *S. griseus* se reporta que después del almacenamiento la cantidad de inhibidores presentes es muy baja (Williams y Arias, 1978) por lo tanto la germinación en este caso dependerá de la acción de estimuladores (citocininas y giberelinas).

Se ha sugerido que las citocininas puedan estar involucradas en la promoción de la síntesis protéica y en la alteración de la permeabilidad de las membranas. Asimismo se ha determinado que:

- 1) con exposiciones cortas de luz roja se incrementan las cantidades extraíbles de citocininas, y al parecer la luz absorbida por el fitocromo estimula la conversión de ribótidos inactivos hacia ribótidos activos y bases libres de citocininas.
- 2) las citocininas pueden actuar a nivel de liberación de GA mediante alteración en la permeabilidad de membranas.
- 3) las citocininas se encuentran en las capas exteriores y las GA en el embrión.

Burdet (1972) propone que las GA estimulan un proceso capaz de mantener a cierto nivel el Pfr formado, cuando la semilla se incuba en oscuridad.

Thomas (1977) propone el siguiente modelo:



Con las variables utilizadas se logró un máximo de germinación de sólo el 50%, lo que sugirió que además de los factores externos como agua y luz, era necesario analizar el factor temperatura de incubación.

La temperatura de incubación se analizó irradiando las semillas con 120 minutos, simplemente por el hecho de haberse obtenido en este tiempo de irradiación la máxima tasa de germinación.

Antes de discutir esta parte, puede ya establecerse que la temperatura óptima para la germinación de estas semillas es de 21°C (no se comprobó si temperaturas menores aumentarían más la germinación) pues el valor de porcentaje de germinación es estadísticamente mayor que para cualquiera de las otras temperaturas analizadas. También se puede decir que posiblemente la máxima temperatura esté muy cerca a los 35°C.

Si hasta el momento se ha hablado de la importante participación que tiene el fitocromo en la germinación de estas semillas y además se ha establecido que dicho fotorreceptor en su estado activo se integra a las membranas, entonces puede sugerirse que la temperatura tendrá un papel importante a nivel de dichas estructuras.

Cárabez (1982) menciona que las membranas son estructuras dinámicas cuya composición y arreglo molecular puede, y de hecho cambia en presencia de condiciones cambiantes. Se sabe que las membranas biológicas están formadas por una matriz de fosfolípidos, los cuales son importantes en el mantenimiento de la fluidez de las mismas. Esta fluidez estará muy relacionada con la temperatura y dependerá de: a) la longitud de las cadenas de ácidos grasos, 2) del grado de saturación de estas cadenas, y 3) de la presencia -y posiblemente la proporción- de colesterol.

Cárabez (1982) menciona que por debajo de cierta temperatura (que la denomina temperatura de transición) las cadenas hidrocarbonadas de los fosfolípidos se encuentran relativamente rígidas; por arriba de la temperatura de transición, las cadenas se hacen más fluidas y pasan a un estado cristal-líquido. Dichos

cambios producen una disminución del grosor de la bicapa y un aumento en el área ocupada por molécula, así como un aumento en el volumen total. En este estado la membrana se interpondrá mucho menos como barrera para el paso de moléculas orgánicas que puedan disolverse y penetrar las membranas.

Al asociarse el fitocromo a la membrana éste actúa posiblemente como un regulador de transporte de sustancias (posiblemente específicas tales como GA) intra y extracelular. Puede sugerirse que cuando la temperatura es baja (21°C) la fluidez de la membrana es la adecuada como para que el fitocromo se asocie a la misma y también como para que ejerza su acción reguladora. Ahora, si la temperatura aumenta (25 - 27°C) la fluidez puede alterarse, resultando en una disminución de la regulación de transporte. Si la temperatura aumenta más (29 - 35°C) posiblemente la membrana alcance un estado tan fluido que ya no sea posible que el fitocromo regule el transporte y las moléculas orgánicas pasen más libremente, resultando en una disminución en la germinación por la falta de orden en los procesos de transporte.

De lo anterior puede resumirse lo siguiente:

La germinación en semillas de *S. griseus* es un proceso que requiere para su disparo de la activación del fitocromo y éste necesita estar presente en cantidades adecuadas (fotoequilibrio) lo que se logra con 30 minutos de irradiación. Para que pueda activarse este fotorreceptor es necesario que la semilla presente una hidratación mínima de 20% en relación a su peso seco, lo que se logra con dos horas de imbibición en agua destilada a 25°C, y la acción de dicho fotorre-

ceptor es óptima a una temperatura de 21°C. Entonces, los factores medio--ambientales que influyen directamente en la ruptura de la latencia de semillas de *S. griseus* son principalmente: agua, luz y temperatura. Éstos tres en combinaciones muy específicas.

Por otra parte, de los objetivos planteados para esta investigación se logró establecer lo siguiente:

1. Que el grado mínimo de hidratación para que la semilla responda al estímulo luminoso es de 20% y el máximo de 33%.
2. Que el fitocromo es el fotorreceptor responsable para el disparo de la germinación de estas semillas.
3. Que existe un mínimo de tiempo de irradiación requerido para la respuesta, y que el aumento en tiempo de irradiación después de 30 minutos no altera el valor de porcentaje de germinación.
4. Que la temperatura óptima de germinación es de 21°C;

En relación a la hipótesis inicial, se desecha el punto relacionado con que germinarán mejor bajo imbibición prolongada, así como el relativo a la temperatura óptima de germinación que se mencionó sería de 25 a 29°C, habiéndose comprobado únicamente que la luz roja influye en el proceso de germinación de esta especie.

VI. REFERENCIAS

1. Anónimo (1926) ZONAS PRODUCTORAS DE PITAHAYA. Boletín Mensual, -
Departamento de Economía y Estadística. Dirección de Agri-
cultura y Ganadería, México. 1(15):108-110
2. Barthelemy, R. E., J. R. Dawson Jr., and A. E. Lee. (1975) TECNICAS PA-
RA EL LABORATORIO DE BIOLOGIA. C. N. E. B. CECSA
México. p. p. 107-127
3. Bernard, Ch. M. (1967) GERMINATION ET PLANTULES DE QUELQUES
CACTACEES. Adansonia, sér. 2, 6(4):593-641
4. Bickford, E. D. and S. Dunn (1972) LIGHTING FOR PLANT GROWTH, The
Kent State University Press. USA p. p. 24-45
5. Bravo-Hollis, H. (1978) Las Cactáceas de México, UNAM. México. - -
p. p. 567-570, 578-580
6. Briggs, W. H. and H. V. Rice (1972) PHYTOCHROME: CHEMICAL AND - -
PHYSICAL PROPERTIES AND MECHANISM OF ACTION. Ann.
Rev. Plant Physiol. 23:293-34.
7. Britton N. L. and J. N. Rose (1963) THE CACTACEAE: DESCRIPTIONS AND - -
ILLUSTRATIONS OF PLANTS OF THE CACTUS FAMILY. - -
Dover Publications, Inc., New York. USA Vol. II. p. p. 87-88
8. Burdett, A. N. (1972) TWO EFFECTS OF PROLONGED FAR RED LIGHT ON
THE RESPONSE OF LETTUCE SEEDS TO EXOGENOUS GIBBE-
RELLIN. Plant Physiol. 49:531-534
9. Cárabez, A. (1982) MEMBRANAS BIOLÓGICAS. Apuntes. Centro de Inves-
tigaciones en Fisiología Celular, UNAM.
10. Górski, T. (1975) GERMINATION OF SEEDS IN THE SHADOW OF PLANTS.
Physiol. Plant. 34:342-346.
11. Hartman, H. T. y D. E. Kester (1975) PROPAGACION DE PLANTAS: PRIN-
CIPIOS Y PRACTICAS. CECSA México. p. p. 145-189.
12. Heydecker, W. (1977) STRESS AND SEED GERMINATION: AN AGRONOMIC
VIEW. En: Khan (ed.) The Physiology and Biochemistry of - -
Seed Dormancy and Germination. Elsevier/North Holland - -
Biomedical Press.

13. Ikuma, H. and K.V. Thimann (1963) THE ROLE OF THE SEED COATS IN GERMINATION OF PHOTSENSITIVE LETTUCE SEEDS. *Plant and Cell Physiol.*, 4:169-185.
14. Jann, R.C. and R.D. Amen (1977) WHAT IS GERMINATION? En: Khan -- (ed.). *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy -- and Germination.* Elsevier/North Holland Biomedical Press.
15. Jones, R.L. and J.L. Stoddart (1977) GIBBERELLINS AND SEED GERMINATION. En: Khan (ed) *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination.* Elsevier/North Holland Biomedical Press.
16. Ketring, D.L. (1977) ETHYLENE AND SEED GERMINATION. En: Khan (ed.) *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination.* Elsevier/North Holland Biomedical Press.
17. Leff, J. (1964) INTERACTION BETWEEN KINETIN AND LIGHT ON -- GERMINATION OF GRAND RAPIDS LETTUCE SEEDS. *Plant Physiology* 39 (3) 299-303
18. Leopold, A.C. and P.E. Kriedeman (1975) *PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT.* Second Edition, Mc. Graw Hill Inc. N.Y. p.p. 223-247
19. Marmé, D. (1977) PHYTOCHROME: MEMBRANES AS POSSIBLE SITES OF PRIMARY ACTION. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 28:173-98.
20. Martínez, M. (1979) CATALOGO DE NOMBRES VULGARES Y CIENTIFICOS DE PLANTAS MEXICANAS. F.C.E. México p.p. 739-42
21. Mauseth, J.D. (1979) CYTOKININ ELICITED FORMATION OF THE PITH RIB MERISTEM AND OTHER EFFECTS OF GROWTH REGULATORS ON THE MORPHOGENESIS OF *Echinocereus engelmannii* CACTACEAE SEEDLING SHOOT APICAL MERISTEMS. *Am. J. Bot.* 66(4):446-451
22. Mauseth, J.D. (1980) A MORPHOMETRIC STUDY OF THE ULTRASTRUCTURE OF *Echinocereus engelmannii* CACTACEAE. I. SHOOT APICAL MERISTEMS AT GERMINATION. *Am. J. Bot.* 67(2): 173-181
23. Mayer, A.M. and Y. Shain (1974) CONTROL OF SEED GERMINATION. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25:167-193.

24. Mayer, A.M. and Poljakoff-Mayber (1975) THE GERMINATION OF SEEDS. Second Edition. Pergamon Press, N.Y.
25. Mayer, A.M. (1977) METABOLIC CONTROL OF GERMINATION. En: Khan (ed.) The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and -- Germination. Elsevier/North Holland Biomedical Press.
26. Medina, E. (1977) INTRODUCCION A LA ECOFISIOLOGIA VEGETAL. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. OEA. Washington, USA.
27. Milthorpe, F.L. and J. Moorby (1974) AN INTRODUCTION TO CROP PHYSIOLOGY. Cambridge University Press. Great Britain. - - p.p. 110-123
28. Morgan, C. and H. Smith (1976) LINEAR RELATIONSHIP BETWEEN - - PHYTOCHROME PHOTOEQUILIBRIUM AND GROWTH IN PLANTS UNDER SIMULATED NATURAL RADIATION. Nature 262:210-212
29. Negm, F., O.E. Smith and J. Kumamoto (1973) THE ROLE OF PHYTOCHROME IN AN INTERACTION WITH ETHYLENE AND CO₂ IN OVERCOMING LETTUCE SEED THERMODYNAMIC DORMANCY. Plant Physiol. 51:1089-1094.
30. Nikolaeva, M.G. (1977) FACTORS CONTROLLING THE SEED DORMANCY PATTERN. En: Khan (ed.) The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination. Elsevier/North Holland - - Biomedical Press.
31. Pratt, L.H. (1982) PHYTOCHROME: THE PROTEIN MOIETY. Ann. Rev. Plant Physiol. 33:557-82
32. Rickert, F.B. (1971) EFECTO DE LUZ Y OTROS FACTORES EN LA GERMINACION DE LAS SEMILLAS. En: Problemas de Investigación en Botánica. C.N.E.B. Limusa Wiley, México. p.p. 281-283
33. Robinson, G.D. (1979) UTILIZING NATIVE VEGETATION TO ENHANCE - MAN'S ENVIRONMENT, U.S. Dept. of Agriculture Cooperative Research Office, Nevada, Reno, USA.
34. Ross, W.C. (1974) PLANT PHYSIOLOGY LABORATORY MANUAL. Wadsworth Publishing Co. Inc., Belmont California, USA. p.p.165-70

35. Rzedowski, J. (1978) VEGETACION DE MEXICO, Limusa, México. p.p.9-11
36. Scheibe, J. and A. Lang (1965) LETTUCE SEED GERMINATION: EVIDENCE FOR A REVERSIBLE LIGHT-INDUCED INCREASE IN GROWTH POTENTIAL AND FOR PHYTOCHROME MEDIATION OF THE -- LOW TEMPERATURE EFFECT. *Plant Physiology* 485-492
37. Schopfer, P. (1977) PHYTOCHROME CONTROL OF ENZIMES. *Ann. Rev. - Plant Physiol.* 28:223-252
38. Siegelman, H.W. and W.L. Butler (1965) PROPERTIES OF PHYTOCHROME. *Ann. Rev. Plant Physiol.* (16):383-392
39. Sivaji, R., J.W. Braun and A.A. Khan (1976) PROMOTIVE EFFECTS OF - - ORGANIC SOLVENTS AND KINETIN ON DARK GERMINATION OF LETTUCE SEEDS. *Plant Physiol.* 57:446-449
40. Smith, H. (1982) LIGHT QUALITY, PHOTOPERCEPTION, AND PLANT - - STRATEGY. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33:481-518.
41. Stephanis, J. and R.W. Langhans (1980) FACTORS INFLUENCING THE -- CULTURE AND PROPAGATION OF XEROPHYTIC SUCCULENT SPECIES. *Hort. Science* 15(4):504-505
42. Tanada, T. (1972) PHYTOCHROME CONTROL OF ANOTHER PHYTOCHROME MEDIATED PROCESS. *Plant Physiol.* 49:560-62
43. Taylorson, R.B. and S.B. Hendricks (1972) REHYDRATION OF PHYTO- - - CHROME IN IMBIBING SEEDS OF Amaranthus retroflexus L. *Plant Physiol.* 49:663-665
44. Taylorson, R.B. and S.B. Hendricks (1977) DORMANCY IN SEEDS. *Ann. - Rev. Plant Physiol.* 28:331-354
45. Thomas, T.H. (1977) CYTOKININS CITOKININ-ACTIVE COMPOUNDS AND SEED GERMINATION. En: Khan (ed.) *The Physiology and - - Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*. Elsevier/ North Holland Biomedical Press.
46. Vázquez-Yanes, C. (1976) ESTUDIOS SOBRE ECOFISIOLOGIA DE LA GER-- MINACION EN UNA ZONA CALIDO-HUMEDA DE MEXICO. En: Gómez Pompa, A. et. al. (ed) *Regeneración de Selvas*. CONACYT México. p.p. 279-387
47. Vegis, A. (1964) DORMANCY IN HIGHER PLANTS. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 15:185-224.

48. Walton, D.C. (1977) ABSCISIC ACID AND SEED GERMINATION. En: Khan (ed) The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination. Elsevier/North Holland Biomedical Press.
49. Wareing, P.F. and P.F. Saunders (1971) HORMONES AND DORMANCY. Ann. Rev. Plant Physiol. 22:261-288.
50. White, J.W. (1979) ROOT ENVIRONMENT REGIMES FOR FLORICULTURAL CROPS. U.S. Dept. of Agriculture, Cooperative Research Office, Pennsylvania University Park, Pennsylvania, USA.
51. Williams, P.M. and I. Arias (1978) PHYSIO-ECOLOGICAL STUDIES OF - PLANT SPECIES FROM THE ARID AND SEMI-ARID REGIONS OF VENEZUELA. I. THE ROLE OF ENDOGENOUS INHIBITORS IN GERMINATION OF THE *Cereus griseus* (Haw) Br. & R. (CACTACEAE) Acta. Cient. Venezolana. 29(2):93-97