

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

INHIBICION DE GERMINACION
EN SEMILLA DE TORONJA

Tesis que para obtener el
título de Químico presenta
Noé Ponce Alcántara

México, D.F., 1980

M-42479



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO

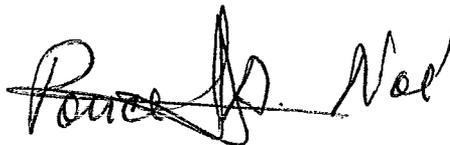
PRESIDENTE: PROFA. MARTA ALBORES VELASCO.
VOCAL: PROFA. GLORIA PEREZ CENDEJAS.
SECRETARIO: PROF. CARLOS RIUS ALONSO.
1er. SUPLENTE: PROF. YOLANDA CABALLERO ARROYO.
2do. SUPLENTE: PROFA. NILDA NAVARRO PADILLA.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA DE LA DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSGRADO, FACULTAD DE QUIMICA, U.N.A.M.

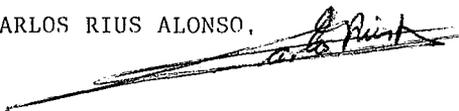
SUSTENTANTE:

NOE PONCE ALCANTARA.



ASESOR DEL TEMA:

DR. CARLOS RIUS ALONSO,



DEPTO. DE PASANTES Y
EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

Este trabajo fué realizado con el financiamiento económico del Consejo Nacional de Ciencia y - - Tecnología y de la Comisión Nacional de las Zonas Áridas, a quienes extiendo mi agradecimiento.

Al Dr. Gabriel Siade B.

Al Dr. Carlos Rius A.

Al M. en C. Eduardo Marambio D.

A mis Amigos y Compañeros\

A MIS PADRES:

Señor José Ponce Díaz

Señora Enedina Alcántara Argueta

A MIS HERMANOS

A Guillermina, Noé e Ismael.

I N D I C E

	Página
Introducción	1
Antecedentes	3
Discusión de Resultados	8
Parte Experimental	20
Conclusiones	31
Apéndice	
Bibliografía	33

FE DE ERRATAS

Hoja 9 renglón 28; Dice "empleándose los medios modificados"
Debe decir "empleándose los medios de ger-
minación usados en el primer ensayo, así
como los medios modificados"

Hoja 29 renglón 28; Dice " Para 1 ppm se tomaron 10 ml de
solución y se llevaron a 50 ml de agua
destilada"
Debe decir "Para 1 ppm se tomaron 10 ml
de solución y se llevaron a 50 ml en ace-
tona, se colocó 1 ml por molde más 50
ml de agua destilada, De esta última so-
lución...."

I. INTRODUCCION

I. INTRODUCCION

Los cítricos en México ocupan uno de los primeros lugares en cuanto a producción de frutales cultivados. Su orden de importancia es: limón, naranja, toronja, mandarina y lima; siendo los centros de producción más importantes los estados de Veracruz, Nuevo León, Coíma, Tamaulipas, Oaxaca, Sinaloa y Yucatán.

En el caso particular de la toronja, su cultivo se ha incrementado en los últimos años como lo especifican los datos de la siguiente tabla:

PRODUCCION DE TORONJA EN MEXICO¹

Año	Superficie cosechada (Has.)	Volumen producido (Tons.)	Valor (Pesos)
1974	3625	40 996	36'896 400.00
1975	3970	47 814	40'414 400.00
1976	4295	58 140	56'189 128.00
1977	4250	68 000	74'800 000.00
1978	4500	60 000	108'000 000.00
1979*	10000	187 000	542'300 000.00

*datos preliminares a nivel nacional.

Las variedades Ruby Red, Foster Pink, Duncan y Red Blush son las de mayor importancia comercial.²

Dado el carácter perecedero del fruto y la estacionalidad

en la producción, la comercialización del mismo enfrenta serios problemas como son: saturación de mercado y pérdidas por sobre maduración del fruto en los períodos de alta producción, pérdida de mercados internacionales, y escasez y aumento de precio en períodos de mínima producción.

Parte de los problemas anteriores se han resuelto empleando métodos para la conservación de frutos al estado fresco, llegando a conservar los mismos por espacio de 60-70 días.³ Sin embargo, hacia el período final de almacenamiento, se produce la germinación prematura de las semillas dentro del fruto, lo que provoca disminución en su calidad, que se refleja en la correspondiente pérdida de mercado.

El proceso de germinación prematura de las semillas dentro del fruto es un hecho difícil de explicar, puesto que como unidad reproductiva, la semilla tiene la función de asegurar la -- perpetuación y subsistencia de la especie que representa en el medio ambiente en que se encuentra.

En base a solucionar el problema de germinación prematura de las semillas dentro del fruto de toronja almacenado al estado fresco, el presente estudio se encaminó a encontrar un posible control sobre la germinación de semilla de toronja, utilizando para ello substancias reguladoras de crecimiento vegetal, inhibidores de crecimiento ó germinación vegetal y agentes químicos sintéticos que actúen suprimiendo la germinación de las semillas de alguna especie vegetal.

II, ANTECEDENTES

II.1. Generalidades

II.2. Inhibidores de germinación

II,1. Generalidades

La condición de vida latente que las semillas presentan se define⁴ como la suspensión del crecimiento y de la actividad metabólica, endogénamente controlada e impuesta temporalmente hasta la posible reunión de condiciones ambientales favorables para el surgimiento de una nueva unidad vegetal.

Durante el período de vida latente, la semilla atraviesa por cuatro etapas biológicas diferentes que son:⁹

1. Etapa inductiva.- Que se encuentra caracterizada mediante una marcada declinación en los niveles de las hormonas vegetales que favorecen el proceso de germinación y crecimiento vegetal (auxinas, giberelinas y citocininas); con el aumento en los niveles de hormonas responsables del estado de vida latente (ácido abscísico, cumarinas, fenoles, terpenos, etc.).

2. Etapa de mantenimiento.- En la cuál los procesos metabólicos en la semilla se manifiestan en su mínima expresión como resultado del predominio de inhibidores sobre promotores de germinación y crecimiento vegetal.

3.- Etapa de inducción a la germinación.- Período de tiempo en el cuál la semilla se encuentra en un estado de alta sensibilidad para detectar condiciones ambientales favorables al proceso germinativo. Este hecho está condicionado a la presencia en la semilla de un agente capaz de detectar e informar sobre dichas condiciones.

La función asignada a éste agente, es el desplazamiento de las concentraciones hormonales en la semilla para situarla en un estado previo a la germinación.

4.- Etapa de germinación.- Una vez desplazado el equilibrio hormonal hacia la germinación, en ésta etapa ocurren en la semilla reacciones de degradación de nutrientes, activación enzimática, síntesis de ácidos nucleicos y proteínas; y los procesos que traen como resultado la degradación, translocación, movilización y asimilación de nutrientes orgánicos cuya manifestación se realiza mediante la reproducción celular, la restauración del crecimiento y el desarrollo de los órganos, estructuras y funciones propias de una nueva unidad vegetal.

El período de vida latente que una semilla presenta es -- propio para cada especie y está determinado genéticamente, pudiendo obedecer a causas diversas entre las que están:⁵

- a).- Cubiertas de la semilla impermeables al agua y al oxígeno.
- b).- Presencia de cubiertas duras.
- c).- Presencia en la semilla de embriones no desarrollados.
- d).- Presencia de inhibidores de germinación.

Así también el período de vida latente y posterior proceso de germinación de una semilla, se ven afectados por factores ambientales⁶ como pueden ser luz, temperatura, atmósfera natural, humedad etc.

II.2. Inhibidores de germinación

Los inhibidores de germinación naturales están ampliamente difundidos en el reino vegetal⁷ y no confinados en familias vegetales específicas. Su localización dentro de las partes anatómicas del vegetal varía según la especie, pudiéndose encontrar en las hojas, tallos, vainas, partes florales, raíz ó semillas.

La detección de inhibidores de germinación naturales ó de actividad en compuestos químicos sintéticos se efectúa mediante bioensayos⁸ que consisten en empapar semillas de prueba directamente en el jugo, savia, extractos vegetales parcialmente purificados y soluciones preparadas expofeso. Generalmente las semillas usadas en éstos bioensayos son de especies vegetales con un alto poder germinativo comprobado como lechuga, trigo, frijol y berro; cuyo período de germinación es corto (2 a 6 días).

Los inhibidores de germinación y crecimiento vegetal tanto naturales como sintéticos poseen estructuras químicas muy diversas^{10,18} alcanzando a cubrir los grupos funcionales más comunes (ácidos, cetonas, aminas, etc.).

De los inhibidores de germinación y crecimiento vegetal naturales más difundidos en el reino vegetal se puede citar el caso del ácido abscísico (ABA),¹⁹ hormona vegetal que influye notoriamente no sólo sobre la germinación de las semillas sino sobre procesos variados, entre los que se pueden citar: el retarde de la floración, aceleración de la caída de hojas y frutos, inhibición de brotes y crecimiento de raíces; y en forma general retarda el crecimiento y desarrollo vegetal. En las primeras observaciones realizadas sobre la actividad de éste -- compuesto, a partir de extractos vegetales parcialmente purificados, la actividad inhibitoria se atribuyó a un complejo químico formado por ácidos grasos y compuestos fenólicos llamado complejo inhibidor β . Después de separar los componentes de éste complejo se encontró que la actividad mostrada se debía en su mayor parte al ácido abscísico (ABA).²⁰ Una vez establecida su estructura,²¹ la síntesis de dicho compuesto se efectuó años más tarde²² y en la actualidad la aplicación de ABA en forma exógena suprime la germinación en muchas especies vegetales.²³⁻²⁵

Actualmente se han sintetizado compuestos químicos con estructura similar a la de este ácido y algunos de ellos producen efectos comparables ó ligeramente superiores a los mencionados al ser aplicados en los bioensayos correspondientes.^{26,27}

En el caso de los cítricos se ha detectado ABA en la cubierta de los frutos y en las semillas²⁸ suponiéndose presente en otros tejidos en los que posiblemente está asociado con otros inhibidores, como por ejemplo, la xantoxina.

Otro grupo de inhibidores de germinación y crecimiento vegetal difundido ampliamente en la naturaleza es el de los compuestos fenólicos,³⁰ por ejemplo los ácidos caféico, ferúlico, gálico, etc., a los que se les atribuye, entre otros efectos, la inhibición de germinación de las semillas de frutos secos.²⁹

Cumarina y derivados,³¹ saponinas,^{32,34} terpenoides³⁶ y carotenoides³⁵ han sido detectados en diversos órganos vegetales en estado de letargo, así como también se han aplicado en forma exógena³⁷ para inhibir la germinación de semillas de rábano, avena, trigo y lechuga,

Entre los compuestos químicos sintéticos usados como inhibidores de germinación y crecimiento vegetal, se encuentran los siguientes: Morfactinas usadas para controlar malas hierbas en cultivos de cereales;³⁸ Amo-1618 (Cloruro de piperidina carboxilato de 5-hidroxicarvacril Trimetil amonio) y derivados de limoneno utilizados como inhibidores de germinación y

III. DISCUSION DE LOS RESULTADOS

crecimiento vegetal en naranja y toronja,^{39,40} EPTC (N,N-dipropiltiocarbamato de etilo), CDAA (2,4-dicloro-N,N-dialilacetamida) y 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) usados para controlar malezas en diversos cultivos vegetales,⁴¹ y por último, derivados de estilbeno y bibencilo también han resultado efectivos como inhibidores de germinación en los bioensayos correspondientes.⁴²

III, DISCUSION DE LOS RESULTADOS

{ El establecimiento de un ensayo biológico rápido y confiable es de gran importancia en el estudio de los efectos causados por agentes químicos sobre un organismo vivo. En el caso de bioensayos efectuados sobre semillas es fundamental observar el comportamiento de éstas con respecto a las condiciones ambientales en las que se lleva a cabo el proceso germinativo, de aquí que, en el estudio realizado sobre semillas de toronja, nuestro primer objetivo fué determinar las condiciones de germinación en el laboratorio en las cuales los resultados obtenidos fuesen reproducibles y confiables.

Condiciones de germinación en el laboratorio para las semillas de toronja.

Dado que la temperatura es un factor importante en el proceso germinativo de muchas especies vegetales, fué necesario observar el comportamiento de las semillas de toronja al germinarse a las temperaturas de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ y $20-23^\circ\text{C}$ (temperatura ambiente), en combinación con diferentes medios para germinar semillas en el laboratorio.

Los medios para germinar semillas en el laboratorio, empleados en ésta parte del estudio, fueron los siguientes:

1).- Medio nutriente de agar-agar con glucosa: empleado para germinar semillas y embriones de varias especies vegetales con resultados favorables.^{12, 13}

2).- Medio soporte de arena húmeda: usado para germinar semillas de cítricos en el invernadero.¹⁴

3).- Medio de papel húmedecido con agua destilada: cuyos resultados son satisfactorios para un gran número de especies vegetales.¹⁵

4).- Medio de algodón húmedo, al descubierto.

El objeto de germinar semillas de toronja en cada uno de éstos medios fué el de establecer aquel en el cual se obtuviera el mayor porcentaje de semillas germinadas, para emplearlo en las siguientes etapas del estudio.

En un primer lote de semillas de toronja, se probaron los tres primeros medios descritos anteriormente a la temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ y se observó tanto el porcentaje de semillas germinadas como el desarrollo de la plántula resultante a lo largo del período de incubación marcado. Los resultados obtenidos se dan en la gráfica G-0 (ver apéndice) en la cual se ha graficado el porcentaje de semillas germinadas a diferentes períodos de tiempo durante el período de incubación dado a las semillas; como puede observarse en ésta gráfica, el porcentaje de semillas germinadas en cada medio de germinación fué sumamente bajo debido, en gran parte, a una fuerte infección fungal en las semillas desde los primeros días de incubación. Esta infección fué más severa en el medio de agar-agar con glucosa, y menor en el de papel húmedo en agua destilada. El hecho anterior -- hizo necesario incluir en los ensayos de germinación posteriores, una ligera modificación en los medios empleados.

Se realizaron un segundo y tercer ensayos para la germinación de semillas de toronja en el laboratorio empleándose los

medios modificados (ver la preparación en la parte experimental) a las temperaturas de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ y $20-22^\circ\text{C}$ (temperatura ambiente). Los resultados obtenidos se dan en las gráficas G-1 a G-4 en las cuales se puede observar que el mayor porcentaje de semillas germinadas se obtuvo empleando el medio de papel húmedo en agua destilada, tanto a la temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ como a temperatura ambiente; así también el desarrollo alcanzado por las plantulillas resultantes del proceso germinativo fué muy superior al lo grado empleando alguno de los otros medios de germinación usados. En los medios que contienen glucosa, se produjeron de nueva cuenta graves infecciones fungales que influyeron notoriamente en los resultados obtenidos, en tanto que, los medios de algodón húmedo al descubierto resultaron inapropiados para la germinación de las semillas.

Por lo que respecta a la temperatura, el proceso germinativo y el desarrollo de las plántulas resultantes fué más rápido y más uniforme en los ensayos efectuados a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ al compararse con aquellos obtenidos en los ensayos efectuados a temperatura ambiente ($20-22^\circ\text{C}$).

En un cuarto ensayo, se aumentó al doble el número de semillas a germinar en el medio de papel húmedo en agua destilada y en el medio de agar-agar modificado (sin glucosa) con el objeto de obtener una mayor definición en los resultados de ambos medios. Se suprimieron los medios de algodón y se incubó sólo un lote a la temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$; la gráfica G-5 representa el comportamiento del lote durante el período de incubación dado.

Resumiendo los resultados de los cuatro ensayos realizados para germinar semillas de toronja en el laboratorio, se tiene que: el medio de germinación a base de papel húmedo en agua -

destilada presentó el mayor número de semillas germinadas, las infecciones fungales en éste medio no fueron tan intensas como en los otros medios de germinación, aunque si bien, no se logró erradicarlas por completo; y con respecto a la temperatura, $30 \pm 1^\circ\text{C}$ fué en la cuál el proceso germinativo de las semillas se logró en menor tiempo de incubación, fué más uniforme y se alcanzó un mayor desarrollo de las plántulas resultantes. En base a los resultados descritos, se decidió elegir el medio de papel húmedo en agua destilada y la temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ para germinar las semillas en las siguientes etapas del estudio.

La siguiente etapa del estudio fué la aplicación de inhibidores de germinación y crecimiento vegetal sobre las semillas.

Aplicación de inhibidores de germinación y crecimiento vegetal a las concentraciones de 25 y 250 ppm sobre el medio de germinación de las semillas.

Teniéndose ya condiciones para germinar las semillas de toronja en el laboratorio con resultados altos en cuanto a porcentaje de germinación, se seleccionaron una serie de compuestos químicos activos como inhibidores de germinación y crecimiento vegetal para aplicarse al medio de germinación de las semillas y observar los efectos producidos sobre el proceso germinativo y posterior desarrollo de las plántulas resultantes. A continuación se da la lista de los compuestos empleados, agrupados de acuerdo con el disolvente que se usó para introducirlos al medio de germinación, y cuyas estructuras químicas se encuentran en el apéndice.

GRUPO (A). Compuestos solubilizados en agua destilada.

1. ácido L-málico.
2. ácido crotónico*.
3. ácido salicílico.
4. ácido gálico.
5. cumarina*.
12. hidrazida maléica.
15. tetrahidroquinona.
16. ácido cítrico.
24. hidrazida isonicotínica.
27. saponina.
28. resorcinol.
29. hidroquinona.
30. pirocatecol.
33. 2,5-dihidroxi-1,4-benzoquinona.
38. cafeína.
42. ácido abscísico (ABA).

*solubilizado en agua caliente.

GRUPO (B). Compuestos solubilizados en acetona.

7. 2,4-dinitrofenol (DNF).
8. p-hidroxibenzoato de metilo.
9. ácido cinámico.

10. ácido 3-indolacético (3-IAA).
11. ácido 3-indolbutírico (3-IBA).
17. ácido palmítico.
18. ácido cáprico.
21. 2,4-diclorofenol.
22. ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D).
23. 2,4-diclorofenoxiacetona.
25. 4-hidroxycumarina.
26. éster isopropílico del 2,4-D
31. ácido 2,4-diclorobenzóico.
32. naringina.
35. 2,7-dihidroxi-naftaleno.
39. vainillina.
40. 1-(2,4-diclorofenil)-4,4-dicloro-1,3-butadieno.
41. 1-(3,4-diclorofenil)-4,4-dicloro-1,3-butadieno.

GRUPO (C). Compuestos solubilizados en éter etílico.

13. isotiocianato de alilo.
14. pulegona.
19. citral.
20. d-limoneno.
34. isotiocianato de fenilo.
36. safrol.
37. alcanfor natural.

GRUPO (D), Compuestos solubilizados en alcohol etílico.

6. 7-hidroxycumarina.
43. ácido giberélico (GA).

En el primer experimento, realizado aplicando éstos compuestos en concentración de 250 ppm al medio de germinación de las semillas, se observaron los siguientes resultados:

Los compuestos del GRUPO (A) siguieron una tendencia similar a la seguida por el testigo en cuanto a porcentaje de germinación alcanzado, excepto la cumarina (5) y la hidrazida maléica (12) que tuvieron efectos como inhibidores de crecimiento vegetal sobre las plántulas resultantes, ya que suprimieron totalmente el crecimiento tanto de raicilla como de embrión. El comportamiento de los compuestos de éste grupo a la concentración mencionada se compara respecto al testigo en la gráfica G-6.

Para los compuestos del GRUPO (B) se observaron los siguientes resultados: los valores más significativos en cuanto a inhibición de germinación se obtuvieron con los compuestos 2,4-dinitrofenol (7), ácido 2,4-D (22) y éster isopropílico del 2,4-D (26). Los compuestos 3-IAA (10) y 3-IBA (11) disminuyeron el porcentaje de germinación en forma menos notoria aún cuando actuaron como inhibidores de crecimiento sobre las plantulillas resultantes, sin embargo, éste último efecto no fué permanente. Los compuestos: ácido cáprico (18) y 2,4-diclorofenoxiacetona (23) resultaron con actividad media como inhibidores de germinación y con actividad no permanente como inhibidores de crecimiento (retardadores de crecimiento). Los

compuestos restantes de éste grupo resultaron con ligera ó nula actividad al compararse con el testigo, como puede apreciarse de la gráfica G-7.

Con los compuestos del GRUPO (C) se obtuvo lo siguiente: isotiocianato de alilo (13) y citral (19) resultaron ser débiles retardadores de crecimiento en tanto que el resto de los compuestos del grupo resultaron sin actividad. La gráfica G-8 muestra el comportamiento seguido por éste grupo a 250 ppm.

Para los compuestos del GRUPO (D), la gráfica G-9 dá el comportamiento observado. El compuesto 7-hidroxycumarina (6) presentó actividad media como inhibidor de germinación y crecimiento vegetal mientras que el compuesto GA₃ (43) resultó inactivo en ambos procesos.

Para el segundo experimento con éstos compuestos, efectuado a la concentración de 25 ppm, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

GRUPO (A).- A ésta concentración los compuestos del grupo (no se incluyó el compuesto 42, ABA) resultaron inactivos como inhibidores de germinación. Los compuestos cumarina (5) e hidrazida maléica (12) mostraron actividad sólo como retardadores de crecimiento, sobre todo en los primeros días de incubación; la gráfica G-10 representa el comportamiento seguido por el grupo de compuestos a lo largo del período de incubación dado:

Para los compuestos de los grupos (B) y (C) los resultados obtenidos no se tomaron como representativos debido a que una parte de los compuestos de cada grupo hubo de probarse

sobre semilla en mal estado (ligera infección fungal que se incrementó al incubarse la semilla en el medio de germinación) y la otra parte de los compuestos se ensayó sobre semilla en período de germinación prematura dentro del fruto. Los resultados se graficaron como en los otros casos y no pudo establecerse una comparación entre cada compuesto y el testigo correspondiente, ver gráficas G-11 y G-12.

Los hechos anteriores hicieron que no se probara el grupo (D).

Un tercer experimento a la concentración de 25 ppm, exclusivo para los grupos (B), (C) y (D) dió los siguientes resultados:

GRUPO (B).- Como puede observarse en la gráfica G-13, los compuestos DNF (7), 3-IBA (11), 2,4-D (22) y éster isopropílico del 2,4-D (26) se comportaron como inhibidores de germinación y crecimiento vegetal, el compuesto 3-IAA (10) actuó como retardador de crecimiento en los primeros días de incubación. El ácido 2,4-D (22) y el DNF (7) inhibieron totalmente el crecimiento de raicilla y embrión en las plántulas resultantes. El resto de los compuestos del grupo resultó sin actividad al compararse con el testigo correspondiente.

Las gráficas G-14 y G-15 señalan que los compuestos de los grupos (C) y (D) resultaron inactivos en el experimento. Los compuestos 40, 41 y 42 resultaron inactivos como se aprecia en la gráfica G-16.

Compuestos químicos más activos aplicados a diferentes concentraciones sobre el medio de germinación de las semillas.

De los resultados encontrados en los experimentos realizados a 250 y 25 ppm se concluyó que los compuestos útiles para los fines del estudio fueron: Cumarina (5) e hidrazida maléica (12) inhibidores de crecimiento sumamente potentes a la concentración de 250 ppm por lo que en ésta parte del estudio se probaron en concentraciones de 500, 250 y 125 ppm; 3-IAA (10) y 3-IBA (11) que fueron activos como retardadores de crecimiento vegetal a concentración de 25 ppm, y los compuestos 2,4-D (22) y DNF (7) que actuaron como inhibidores de germinación y crecimiento vegetal sumamente potentes fueron probados a las concentraciones de 5, 10, 25, 50 y 100 ppm. Los resultados que se obtuvieron se dan a continuación:

Acido 2,4-D (compuesto 22).- En la gráfica G-17 se puede observar el comportamiento de éste compuesto a las diferentes concentraciones probadas sobre las semillas. Fue notorio como aún la concentración más baja, 5 ppm, produjo efectos sumamente notorios sobre el porcentaje de germinación alcanzado por las semillas. Al aumentar la concentración del compuesto en el medio los brotes disminuyeron, llegándose a prevenir totalmente la germinación y el crecimiento de las plántulas a la concentración de 25 ppm y mayores.

DNF (compuesto 7).- A la concentración de 5 ppm éste compuesto no produjo efectos notorios como inhibidor de germinación pero sí como inhibidor de crecimiento. El porcentaje de germinación disminuyó al aumentar la concentración del compuesto en el medio, como puede observarse en la gráfica G-20. El proceso germinativo se suspendió totalmente a la concentra-

ción de 50 ppm y a 100 ppm se observaron efectos netamente tóxicos del compuesto sobre las semillas.

3-IBA (compuesto 11).- La tendencia seguida por éste compuesto fué mayor actividad como inhibidor de crecimiento vegetal a mayor concentración. No actuó como inhibidor de germinación potente aún a la concentración más alta y como se muestra en la gráfica G-18, las concentraciones bajas del compuesto no difirieron del comportamiento seguido por el testigo. Las concentraciones de 50 y 100 ppm produjeron un desarrollo inferior de la raicilla principal, con proliferación de raicillas laterales.

3-IAA (compuesto 10).- Este compuesto sólo mostró ligera actividad como retardador de crecimiento a la concentración de 100 ppm, las concentraciones más bajas del compuesto no afectaron ni el porcentaje de germinación, ni el desarrollo posterior de la plántula resultante al aplicarse en el medio de germinación de las semillas. El comportamiento del compuesto mencionado a las concentraciones señaladas puede compararse respecto al testigo en la gráfica G-19.

Cumarina (5) e hidrazida maléica (12) resultaron inactivos como inhibidores de germinación (G-21 y G-22) aunque mantuvieron actividad como inhibidores de crecimiento vegetal sumamente potentes aún a la concentración de 125 ppm.

Como última parte de nuestro estudio y teniendo en cuenta los resultados encontrados para el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) libre (22) y su éster isopropílico (26) se procedió a la síntesis de los ésteres etílico (EE) y oleílico (EO) de dicho ácido con objeto de observar sus efectos sobre la

germinación de las semillas de toronja.

Esteres del 2,4-D como inhibidores de germinación.

Este experimento consistió en adicionar los ésteres etílico (EE), isopropílico (EI) y oleílico (EO) del 2,4-D así como también el ácido libre, a las concentraciones de 5, 1, 0.5 y 0.05 ppm sobre el medio de germinación de las semillas. Los resultados obtenidos para esta parte del estudio fueron los siguientes:

El ácido libre mostró gran actividad como inhibidor de germinación y crecimiento vegetal aún a la concentración de 1 ppm (G-23). La disminución de la concentración de este inhibidor en el medio de germinación va acompañada de menor actividad, siendo el porcentaje de germinación alcanzado, comparable al del testigo cuando se empleó la concentración de 0.05 ppm.

Los ésteres etílico (EE) e isopropílico (EI) fueron tan activos como el ácido libre en el intervalo de concentraciones de 5 a 0.5 ppm siendo menos notorios los efectos como inhibidores de germinación a la concentración de 0.05 ppm respectivamente. El éster oleílico (EO) resultó menos activo al compararse con los anteriores; el porcentaje de germinación alcanzado por las semillas tratadas con este compuesto a la concentración de 0.05 ppm no difirió del alcanzado por el testigo, en forma notoria. Las gráficas G-24 a G-26 muestran el comportamiento de las semillas tratadas con estos compuestos durante el transcurso del experimento.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

IV.1. Condiciones de germinación en el laboratorio.

- a) Extracción y lavado de semillas.
- b) Medios de germinación empleados.
- c) Primer ensayo.
- d) Segundo y tercer ensayos.
- e) Cuarto ensayo.

IV.2. Aplicación de inhibidores en semilla.

- f) Primer experimento a 250 ppm
- g) Segundo experimento a 25 ppm.
- h) Tercer experimento a 25 ppm.

IV.3. Inhibidores de germinación más activos.

- i) Compuestos químicos más activos aplicados a diferentes concentraciones.
- j) Esteres del 2,4-D como inhibidores de germinación.

IV.1. Condiciones de germinación en el laboratorio.

a) Extracción y lavado de semillas (11).- La extracción de semillas se efectuó haciendo un corte alrededor del fruto, sin llegar al corazón, presionando y girando ambos extremos en sentido contrario se obtuvieron dos mitades que al exprimirse en forma manual expulsaron las semillas contenidas en él. Las semillas así obtenidas se lavaron con abundante agua corriente hasta separar totalmente el jugo y restos de pulpa de que venían impregnadas, se efectuaron dos lavados más con agua destilada, se escurrieron lo mejor posible y se dejaron secar a temperatura ambiente (23-25°C) por 7 horas. Una vez solo húmedas las semillas se procedió a seleccionarlas, separando aquellas que estuviesen dañadas ó atrofiadas, para emplearse en los ensayos correspondientes.

b) Medios de germinación empleados.- A continuación se da la preparación de los medios de germinación empleados en el estudio, numerados de acuerdo con las gráficas correspondientes:

1.- Medio nutriente de agar-agar con glucosa: Se pesaron, molieron y mezclaron lo más homogéneamente posible las cantidades señaladas de las siguientes sales minerales:

6.28 g. de KCl
2.70 g de FeCl_3
2.50 g de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
2.50 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
3.50 g de K_3PO_4
2.50 g de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
2.00 g de KNO_3

1.50 g de la mezcla resultante se suspendió en 1 litro de agua destilada, hervida y caliente; se agregaron 5.00 g de glucosa y 6.50 g de agar-agar agitándose vigorosamente hasta que se obtuvo una dispersión uniforme. En caliente se procedió a llenar las cajas de Petri usadas, para lo cuál se midieron 30 ml de suspensión y se colocaron en el fondo de la caja, se tapó ésta y se dejó enfriar; una vez coagulada la suspensión, se abrió la caja y se colocaron las semillas correspondientes sobre la superficie del agar, se tapó la caja nuevamente y se llevó a incubar.

1'.- Medio de agar-agar modificado: Corresponde a la modificación hecha al medio (1). Se preparó de igual manera -- que éste omitiéndose la adición de glucosa,

2.- Medio de arena húmeda en agua destilada: La caja Petri usada se llenó con arena de mar purificada, se sembraron en ella las semillas y se humedeció con 15 ml de -- agua destilada y hervida, se llevó a incubar la caja y la humedad en la misma se mantuvo en forma constante mediante la adición de agua destilada cada que fuese necesario.

2'.- Medio de arena húmeda en solución nutriente: Preparado de igual manera que el medio anterior, sólo que la humedad inicial se alcanzó mediante la adición de 20 ml de solución nutriente preparada por disolución de 1.50 g de la mezcla de sales descrita en el medio (1) en un litro de agua destilada hervida; reponiéndose con agua destilada cada que fuese necesario.

3.- Medio de papel húmedo en agua destilada: Se recortó un círculo de papel filtro (W-2 ó W-4) justo del diámetro

interno de una caja de Petri, se colocó en el fondo de la caja, se pusieron las semillas encima del papel y se saturó con agua destilada; se llevó a incubar la caja reponiéndose la humedad con agua destilada cuando así fuera requerido.

3'.- Medio de papel húmedo en solución nutriente: Modificación hecha al medio (3); la humedad inicial en la caja se alcanzó con 5 ml de solución nutriente descrita en el medio (2') y posteriormente se repuso con agua destilada en forma constante.

4.- Medio de algodón al descubierto: Se colocó un círculo de algodón grueso en el fondo de la caja Petri, sobre él se colocaron las semillas, se saturó el algodón con agua destilada y, sin taparse la caja, se llevó a incubar a la temperatura correspondiente manteniéndose el algodón constantemente saturado con agua destilada.

4'.- Medio de algodón con solución nutriente: Preparado en forma similar al anterior. El círculo de algodón se saturó inicialmente con 25 ml de solución nutriente, posteriormente la humedad se mantuvo en forma constante, adicionando -- agua destilada.

c) Primer ensayo. En éste primer ensayo de los medios de germinación, se emplearon sólo los medios (1), (2) y (3), la semilla usada fue extraída de frutos frescos y maduros pertenecientes a la variedad criolla pulpa roja. Cada uno de los medios ensayados constó de 5 cajas Petri (cajas de vidrio de 9 cm de diámetro interno que se esterilizaron en la estufa a 110°C por 8 horas mínimo) con 10 semillas seleccionadas por caja. La temperatura de incubación fué de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ¹⁶

durante los 18 días que duró el ensayo, efectuándose recuentos de semillas germinadas a los 11, 14 y 18 días transcurridos respectivamente. Los resultados obtenidos para éste ensayo se dan en la gráfica G-0, en la cuál se ha graficado el porcentaje de semillas germinadas contra el tiempo de incubación transcurrido, para cada uno de los medios señalados.

d) Segundo y tercer ensayos.- En éstos ensayos se incluyó la totalidad de los medios de germinación. La semilla usada perteneció a la variedad criolla pulpa roja y fué tratada con agua caliente (después de los lavados con agua destilada, la semilla se sometió a un baño con agua destilada y hervida a 55-60°C por 15 minutos). Cada medio de germinación se probó en 5 cajas de Petri con 10 semillas por caja y se prepararon dos lotes: LOTE A incubado a la temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, realizándose los recuentos de semillas germinadas a los 11, 14, 18 y 23 días transcurridos respectivamente; y, un LOTE B incubado a temperatura ambiente (20-22°C) en el que los recuentos de semillas germinadas fueron hechos a los 15, 18, 21 y 25 días transcurridos. Las gráficas G-1 a G-4 representan los resultados obtenidos en éstos ensayos.

e) Cuarto ensayo.- En éste último ensayo para los medios de germinación, no se probaron más los medios 4 y 4'; ni la temperatura ambiente (20-22°C). Los medios ensayados fueron 1, 2, 2' y 3' en 5 cajas con 10 semillas cada una y los medios 1' y 3 en 10 cajas con 10 semillas por caja, la temperatura de incubación se mantuvo en $30 \pm 2^\circ\text{C}$ y los recuentos de semillas germinadas se efectuaron a los 11, 14, 18 y 23 días transcurridos. Los resultados obtenidos se dan en la gráfica G-5 (con objeto de poder comparar los resultados de los medios

1' y 3 con los de los medios restantes, se dividió entre dos el número de semillas germinadas y se gráfico el promedio).

IV.2. Aplicación de inhibidores en semilla.

f) Primer experimento a la concentración de 250 ppm.- En vista de la volatilidad de algunos de los compuestos elegidos, hubo de modificarse la manera de incubar las semillas. En lugar de seguir usando la caja Petri, como en los en sayos para los medios de germinación, se empleó un molde mil usos de la marca comercial PIR-O-REY, dos rectángulos de papel filtro grueso enrollados en forma concéntrica, un círculo de papel filtro de 9 cm de diámetro y un rectángulo de celofán de 20 x 30 cm. La forma de colocar las semillas fué la siguiente: los moldes limpios y secos se metieron a la estufa por 10 hrs. mínimo a la temperatura de 110°C con objeto de esterilizarse, al sacarse de la misma se cubrieron con el rectángulo de celofán, y ya un poco más fríos, se colocaron varias ligas de hule a su alrededor con objeto de sellarlos. Una vez preparado el número requerido de moldes se procedió a colocar las semillas, para lo cuál, se destapó el molde por uno de los extremos, se introdujeron los rectángulos de papel enrollados y sobre éstos se colocó el círculo de papel filtro, las semillas sobre el círculo y por último se adicionó el volumen de solución del inhibidor, se colocó el celofán nuevamente en su lugar y se selló el molde con las ligas de hule para incubarse inmediatamente.

Compuestos del GRUPO (A).- 125 mg de compuesto se disolvieron en 500 ml de agua destilada y se colocaron 50 ml por cada caja. No se incluyó el compuesto 42 (ABA).

Compuestos del GRUPO (B).- 125 mg de compuesto se disolvieron en 10 ml de acetona; 1 ml de ésta solución se vertió sobre el círculo de papel filtro conteniendo ya las semillas y se dejó evaporar el disolvente para a continuación agregarse 50 ml de agua destilada en el fondo del molde. No se incluyeron los compuestos 40 y 41,

Compuestos de los GRUPOS (C) y (D).- Los compuestos de éstos grupos fueron adicionados como se indica en el caso anterior, utilizando respectivamente éter etílico y alcohol absoluto como disolventes. Se probó la totalidad de los compuestos de ambos grupos.

La semilla usada en éste experimento perteneció a la variedad criolla pulpa blanca, tratada con sulfato de 8-hidroxi-quinolina al 3% durante 5 minutos y almacenada en forma húmeda en bolsas de polietileno a 6-8°C durante 20 días.¹⁷ Por cada compuesto probado se incubaron 5 moldes conteniendo 20 semillas cada uno más los correspondientes blancos de disolventes y los testigos. La temperatura de incubación fué de $30 \pm 2^\circ\text{C}$ durante los 23 días que duró el experimento realizándose recuentos de semillas germinadas a los 11, 14, 18 y 23 días transcurridos respectivamente. Los resultados obtenidos se muestran en las gráficas G-6 a G-9.

g) Segundo experimento a la concentración de 25 ppm.-

Compuestos del GRUPO (A).- 12.5 mg de compuesto se disolvieron en 500 ml de agua destilada, se adicionaron 50 ml de la solución resultante por cada molde con semillas. No se incluyó el compuesto 42 (ABA); la semilla usada para éste grupo fué de la variedad criolla pulpa blanca, tratada con sulfato de 3-hidroxiquinolina y mantenida en bolsas de polietileno

a 6-8°C por 40 días. Cada compuesto se probó en 5 moldes con 20 semillas cada uno más el respectivo testigo en igual número, la temperatura de incubación fué de $30 \pm 2^\circ\text{C}$ durante los 23 -- días que duró el experimento efectuándose recuentos de semillas germinadas a los 11, 14, 18 y 23 días transcurridos respectivamente. Los resultados se dan en la gráfica G-10.

Compuestos del GRUPO (B).- 125 mg de compuesto se disolvieron en 100 ml de acetona, 1 ml de ésta solución se virtió sobre cada molde ya preparado y después de evaporarse el disolvente se agregaron 50 ml de agua destilada. No se incluyeron los siguientes compuestos: 25, 26, 31, 40 y 41. La semilla usada fué de la variedad "Ruby red" y la disposición del grupo quedó como sigue: compuestos 7, 8, 9, 10 y 11 probados sobre semilla refrigerada por 25 días y sin ningún tratamiento, parcialmente infectada por hongos, realizándose los recuentos de semillas germinadas a los 11, 14, 18 y 23 días. Compuestos 17, 18, 21, 22, 23, 32, 35 y 38 probados sobre semilla recién extraída y en período de germinación prematura dentro del fruto, por lo cuál los recuentos de semillas germinadas se efectuaron a los 5, 8, 12 y 17 días transcurridos. La gráfica G-11 resume los resultados obtenidos en éste experimento.

Compuestos del GRUPO (C).- Se prepararon de forma similar a los compuestos del grupo (B) usándose éter etílico en lugar de acetona. La semilla usada fué de la variedad "Ruby red" y el grupo quedó dispuesto como sigue: compuestos 13, 14 y 20 probados sobre semilla refrigerada; y compuestos 19, 34, 36 y 37 probados sobre semilla en período de germinación prematura. Al igual que para el grupo anterior, cada compuesto se probó en 5 moldes con 20 semillas cada uno más los blancos para el disolvente y los testigos respectivos en igual --

número; la temperatura se mantuvo, en $30 \pm 2^\circ\text{C}$ durante el periodo de incubación dado. No se probó el grupo (D) en ésta ocasión. Los resultados obtenidos se dan en la gráfica G-12.

h) Tercer experimento a la concentración de 25 ppm.- En vista de que el experimento anterior no fué satisfactorio para los compuestos de los grupos (B) y (C), se procedió a un nuevo experimento de éstos a la concentración señalada; también se probó el grupo (D) y los compuestos 40, 41 y 42. La semilla usada en éste experimento fué de la variedad criolla pulpa blanca, refrigerada por 90 días en bolsas de polietileno. La preparación de los grupos fué análoga a el experimento anterior. Para los compuestos 40 y 41 se pesaron 7.5 mg de compuesto y se disolvieron en 6 ml de acetona, 1 ml por cada molde preparado más 50 ml de agua destilada dieron la concentración señalada. Para el compuesto 42 (ABA) se partió de una solución 0.00001M (2,64 mg/l) del mismo. Se adicionaron 5 ml de ésta solución por molde preparado y se agregaron 45 ml de agua destilada lo que dió una concentración de 0.26 ppm. Las condiciones de incubación fueron 23 días a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ durante los cuáles se efectuaron recuentos de semillas germinadas a los 11, 14, 18 y 23 días transcurridos respectivamente. Los resultados obtenidos se representan en las gráficas G-13 a G-16.

IV.3. Inhibidores de germinación más activos.

i) Compuestos más activos a diferentes concentraciones.- Compuestos 5 y 12.- 250 mg de compuesto se disolvieron en 500 ml de agua destilada para dar la concentración de 500 ppm, 250 ml de ésta solución se llevaron 500 ml con agua destilada, dando la concentración de 250 ppm y de

aquí 250 ml se llevaron a 500 ml con agua destilada para dar la concentración de 125 ppm. Cada concentración de compuesto se probó en 5 moldes con 20 semillas cada uno, adicionándose 50 ml de solución por molde.

Compuestos 7, 10, 11 y 22.- 125 mg de compuesto se disolvieron en 100 ml de acetona. Para las concentraciones de 100, 50 y 25 ppm se colocaron 4, 2 y 1 ml respectivamente por molde preparado y después de evaporarse el disolvente se adicionaron 50 ml de agua destilada. Para 10 ppm, se tomaron 4 ml de solución y se llevaron a 10 ml con acetona, se colocó 1 ml por molde y 50 ml de agua destilada. Para la concentración de 5 ppm se tomaron 4 ml de solución y se llevaron a 10 ml en acetona, de aquí 4 ml se llevaron a 8 ml con acetona y se colocó un ml por molde preparado más 50 ml de agua destilada.

Cada concentración se probó sobre 5 moldes con 20 semillas cada uno más el blanco y testigo correspondiente en igual número. La semilla usada en éste experimento fué de la variedad criolla pulpa blanca, tratada con sulfato de 8-hidroxiquinolina y almacenada en refrigeración a 6-8°C por 110 días. Los moldes se incubaron a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 27 días haciéndose recuentos de semillas germinadas a los 11, 14, 18, 21, 24 y 27 días transcurridos. Los resultados obtenidos se dan en las gráficas G-17 a G-22.

j) Esteres del 2,4-D como inhibidores de germinación.

125 mg de compuesto se disolvieron en 500 ml de acetona, para 5 ppm se colocó 1 ml por molde más 50 ml de agua. Para 1 ppm se tomaron 10 ml de solución y se llevaron a 50 ml de agua destilada. De ésta última solución se hicieron

diluciones 1:1 y 1:10 en acetona para colocar 1 ml por molde y los 50 ml de agua correspondiente, dando las concentraciones de 0.5 y 0.05 ppm respectivamente. Cada concentración se probó como en el caso anterior, con semilla refrigerada por 180 días y los recuentos de semillas germinadas se efectuaron a los 11, 14, 18, 25 y 31 días transcurridos. Las -- gráficas G-23 a G-26 representan los resultados obtenidos en éste experimento.

CONCLUSIONES

I. De los medios de germinación empleados en el estudio, el medio de papel húmedo en agua destilada resultó ser el más apropiado para germinar las semillas de toronja en el laboratorio.

II. En lo que respecta a la temperatura, la más recomendable de las dos empleadas, fué la de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ debido a que se alcanzó un desarrollo mayor de las plántulas resultantes en comparación con el alcanzado a temperatura ambiente ($20-23^{\circ}\text{C}$) en períodos de tiempo similares.

III. El tratamiento dado a las semillas a base de agua caliente y sulfato de 8-hidroxiquinolina permite erradicar completamente las infecciones fungales de los experimentos, así como también permitió el almacenamiento de las semillas húmedas en refrigeración por al menos 120 días sin influir grandemente en el porcentaje de semillas germinadas alcanzado en los experimentos.

IV. A la concentración de 250 ppm los compuestos DNF, 2,4-D y 3-IBA resultaron ser inhibidores de germinación para las semillas de toronja. En menor proporción, los compuestos 3-IAA, ácido cáprico, 2,4-diclorofenoxiacetona y 7-hidroxicumarina influyeron en el porcentaje de germinación logrado. Como inhibidores de crecimiento sumamente activos resultaron los compuestos cumarina e hidrazida maléica.

V. A la concentración de 25 ppm los compuestos DNF y

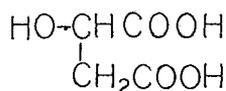
2,4-D resultaron efectivos inhibidores de germinación, el resto de los compuestos ensayados resultó sin actividad.

VI. Los compuestos cumarina e hidrazida maléica resultaron ser potentes inhibidores de crecimiento, aún a la concentración de 125 ppm.

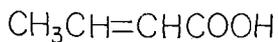
VII. Los ésteres etílico (EE) e isopropílico (EI) resultaron ser inhibidores de germinación tan activos ó más que el ácido 2,4-D libre en el intervalo de concentraciones de 5 a 0,5 ppm. El éster oleílico (EO) resultó menos activo en el mismo intervalo de concentraciones.

APENDICE

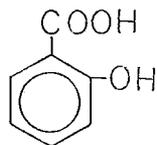
COMPUESTOS DEL GRUPO (A).



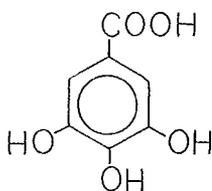
Acido L-Málico (1)



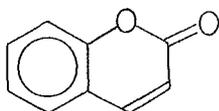
Acido Crotonico (2)



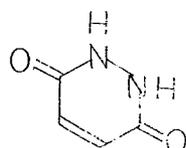
Acido Salicílico (3)



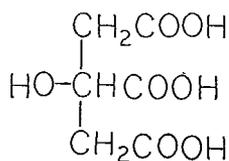
Acido Gálico (4)



Cumarina (5)



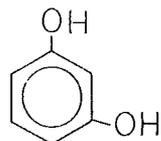
Hidantoina (6)



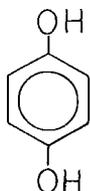
Acido Cítrico (16)



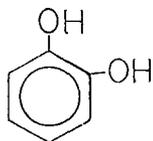
Hidrazida Isonicotínica (24)



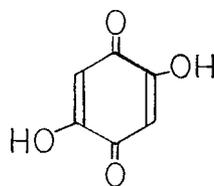
Resorcinol (28)



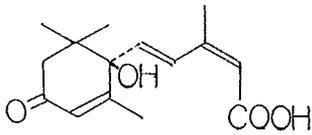
Hidroquinona (29)



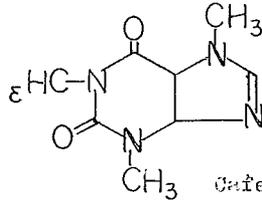
Pirocatecol (31)



2,5-dihidroxi-1,4-benzoquinona (33)

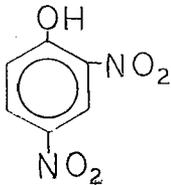


ácido Abseísico (42)

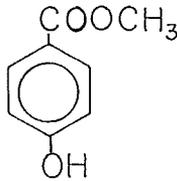


Cafeína (33)

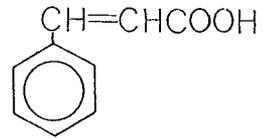
COMPUESTOS DEL GRUPO (B).



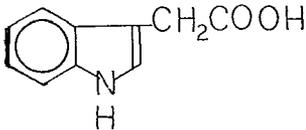
2,4-dinitrofenol (7)



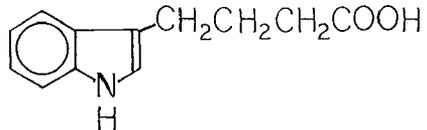
p-hidroxibenzoato de metilo (8)



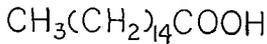
ácido Cinnámico(9)



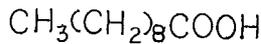
ácido 3-indolacético (10)



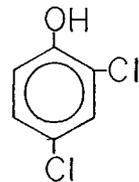
ácido 3-indolbutírico (11)



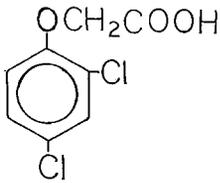
ácido palmítico (17)



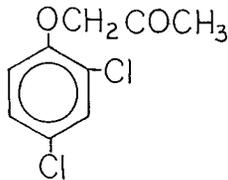
ácido cáprico (18)



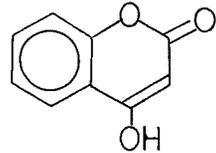
2,4-diclorofenol (21)



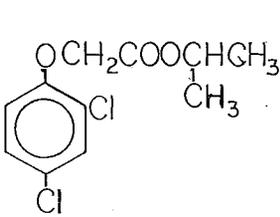
Acido 2,4-dicloro-
fenoxiacético (22)



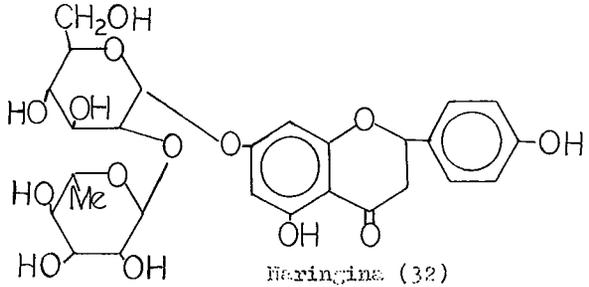
2,4-diclorofenoxi-
acetona (23)



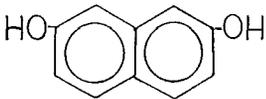
4-hidroxicumarina
(25)



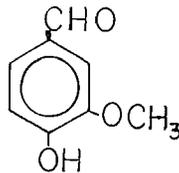
éster isopropílico
del 2,4-D (26)



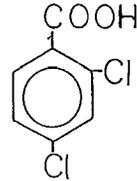
Naringina (32)



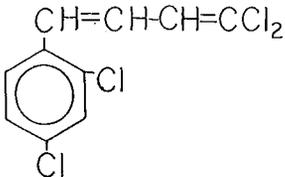
3,7-dihidroxifla-
veno (35)



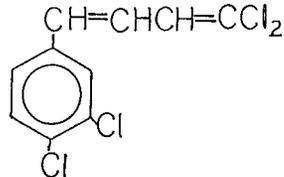
Vanilina (39)



Acido 2,4-dicloro-
benzoico (31)



1-(2,4-diclorofenil)-4,4-
dicloro-1,3-butadiéno (40)

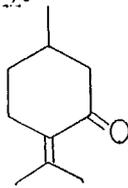


1-(3,4-diclorofenil)-4,4-
dicloro-1,3-butadiéno (41)

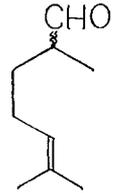
III. Tetraterpenos (13).



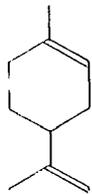
Isotiocianato de
Alilo (13)



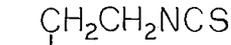
Auleonol (14)



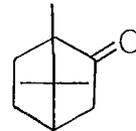
Citral (19)



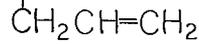
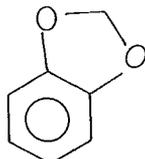
Desiprenol (20)



Isotiocianato de
Benilo (34)

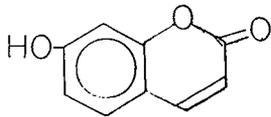


Alcamator (37)

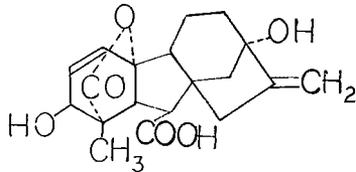


Bufrol (35)

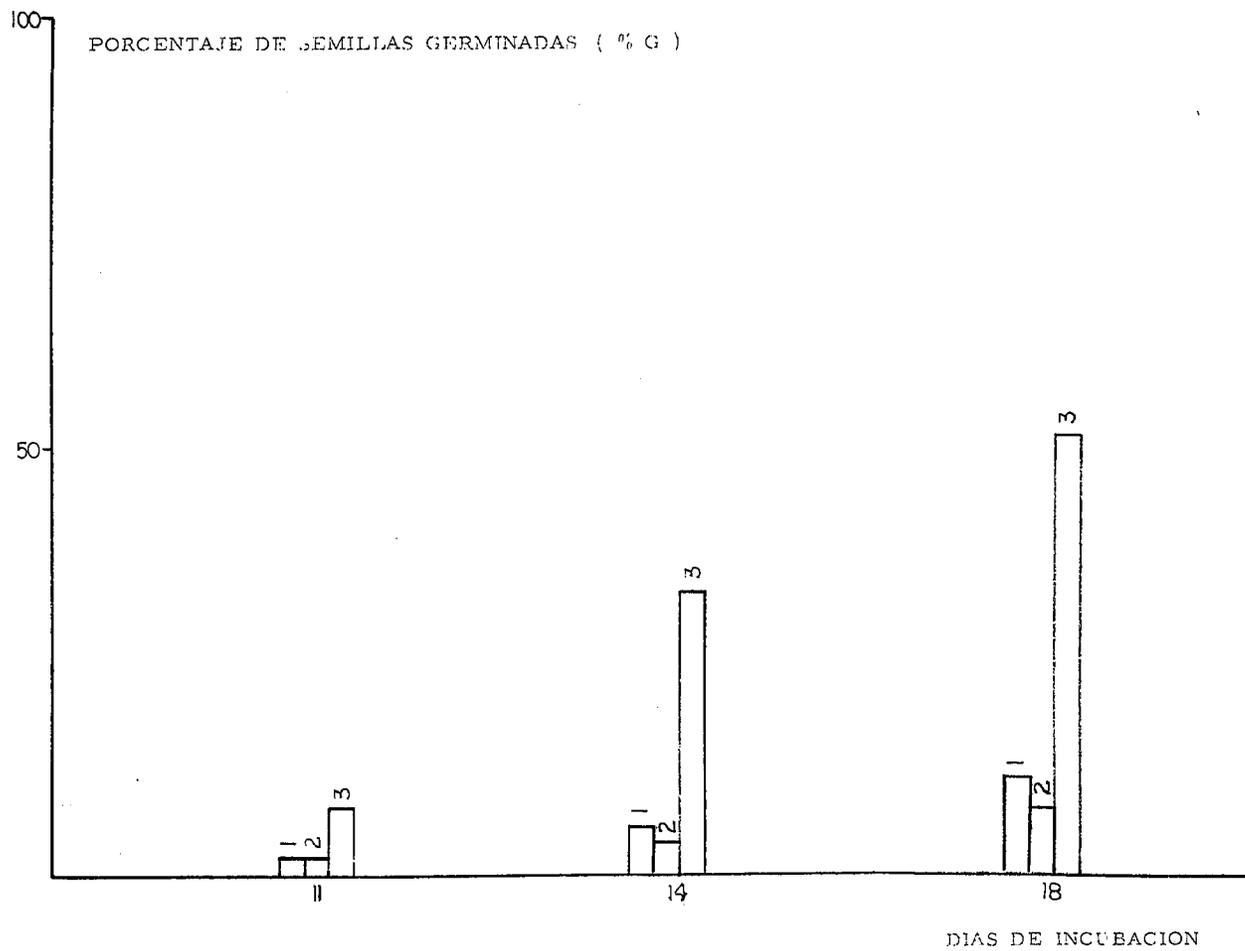
III. Triterpenos (11).

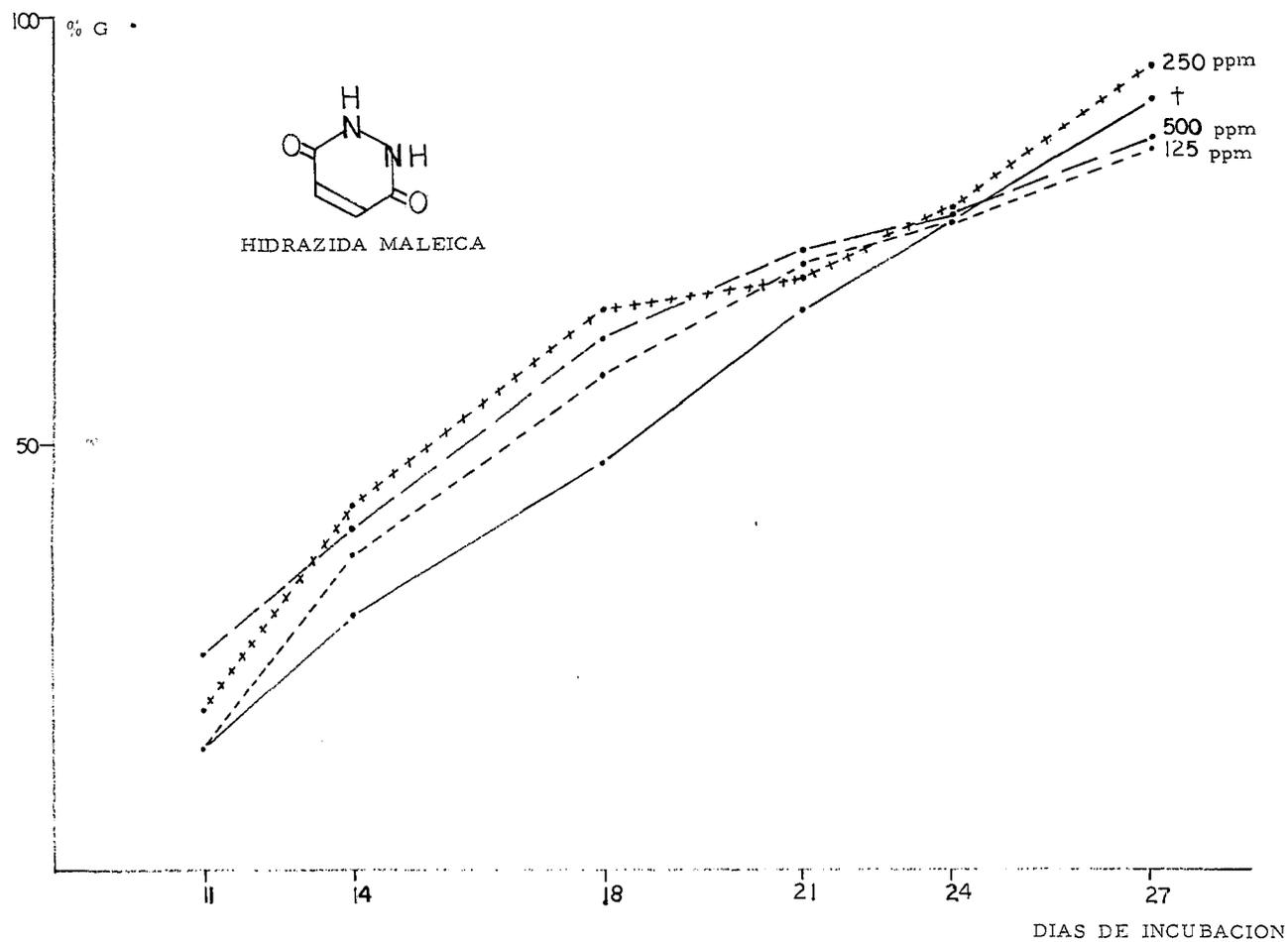


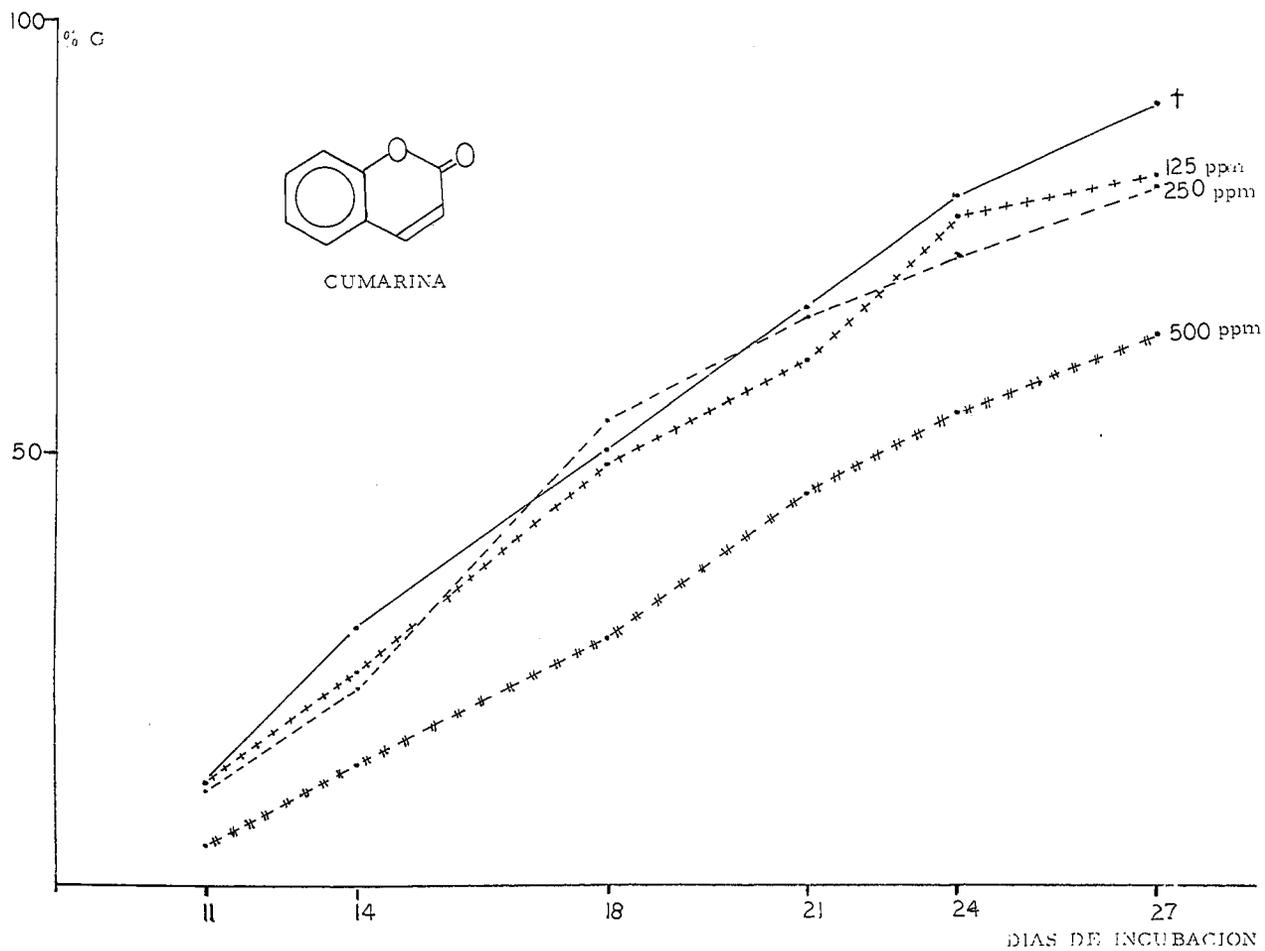
7-nitroxiemenol (40)

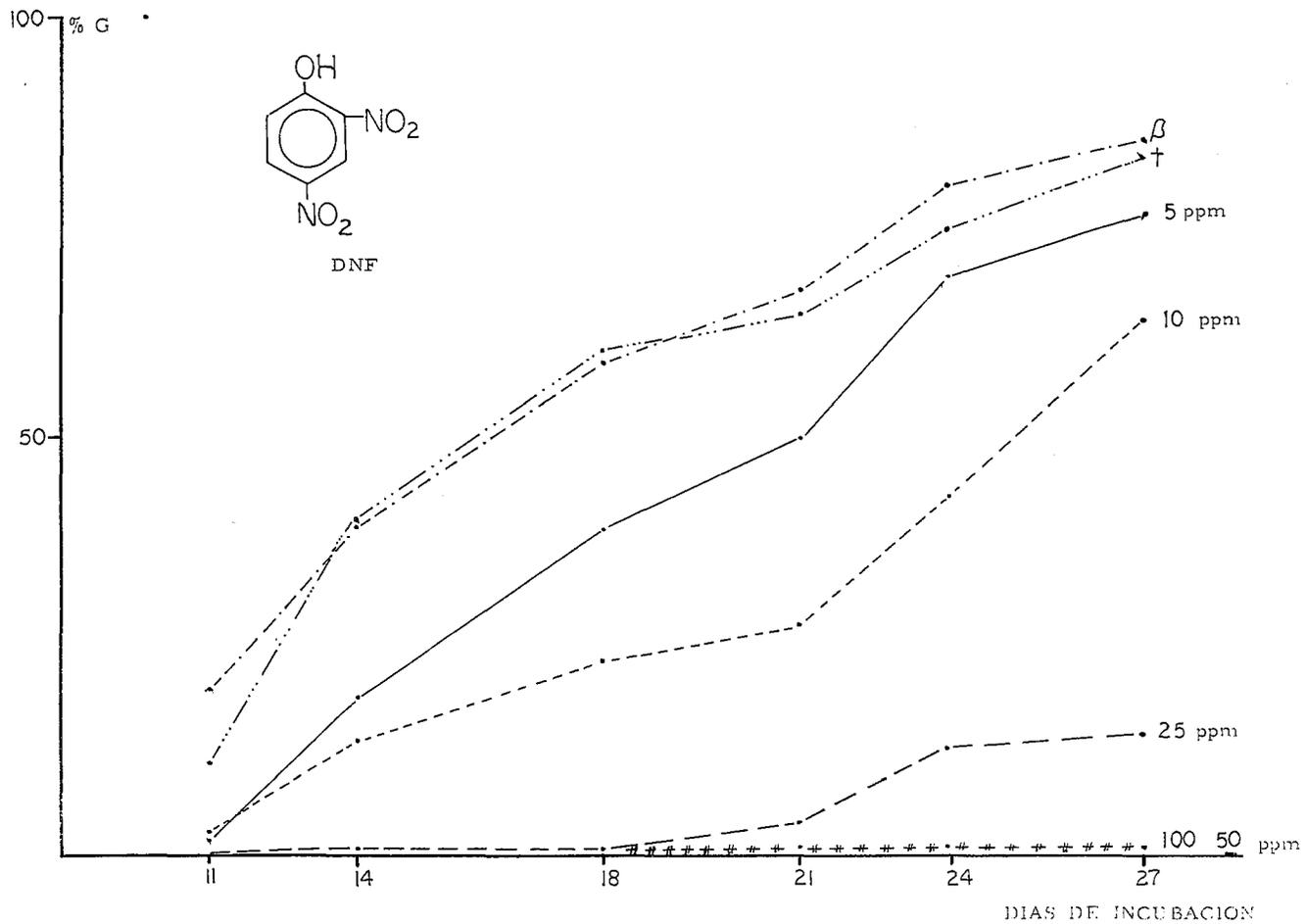


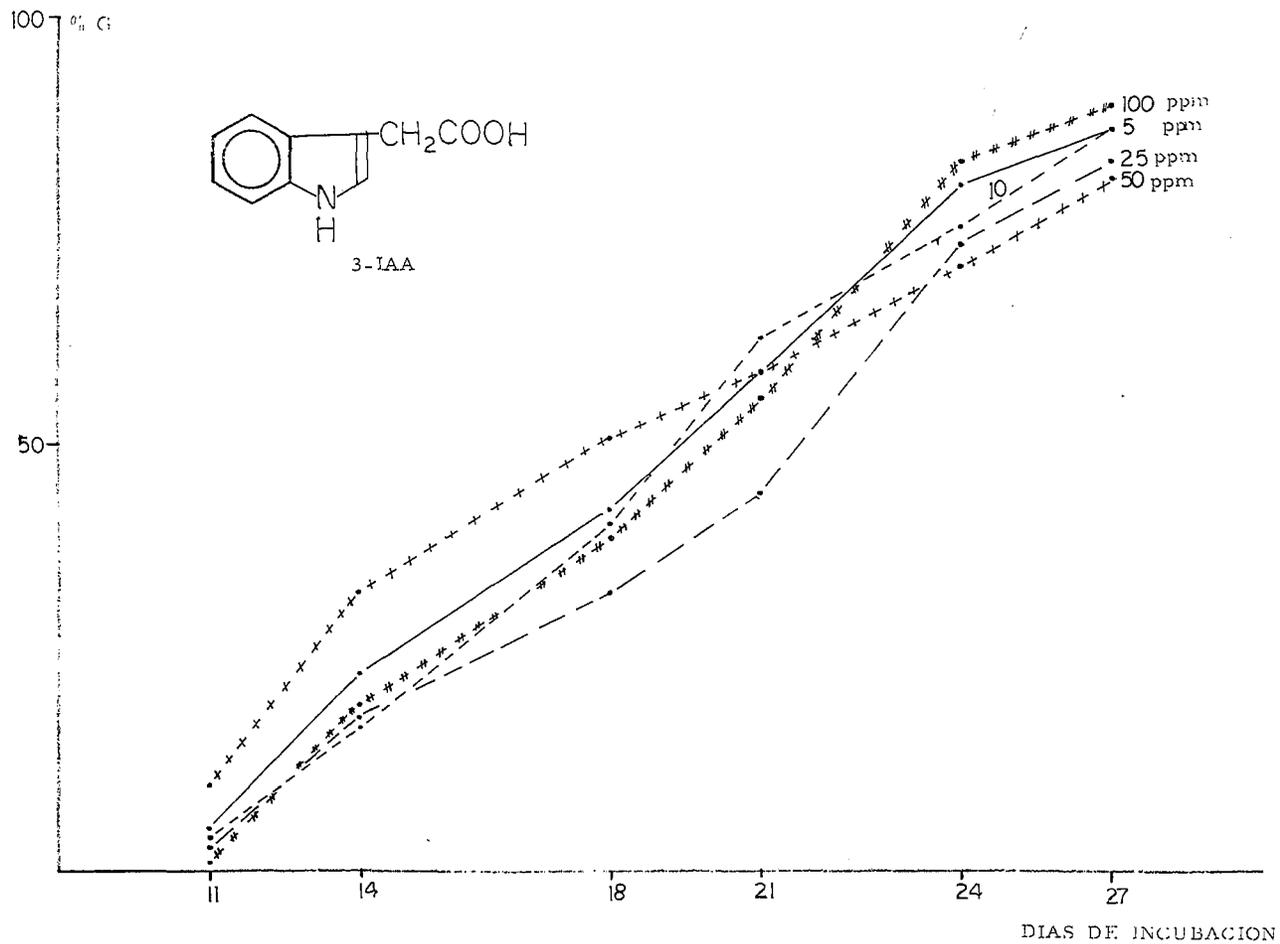
Ácido Hiberólico (43)

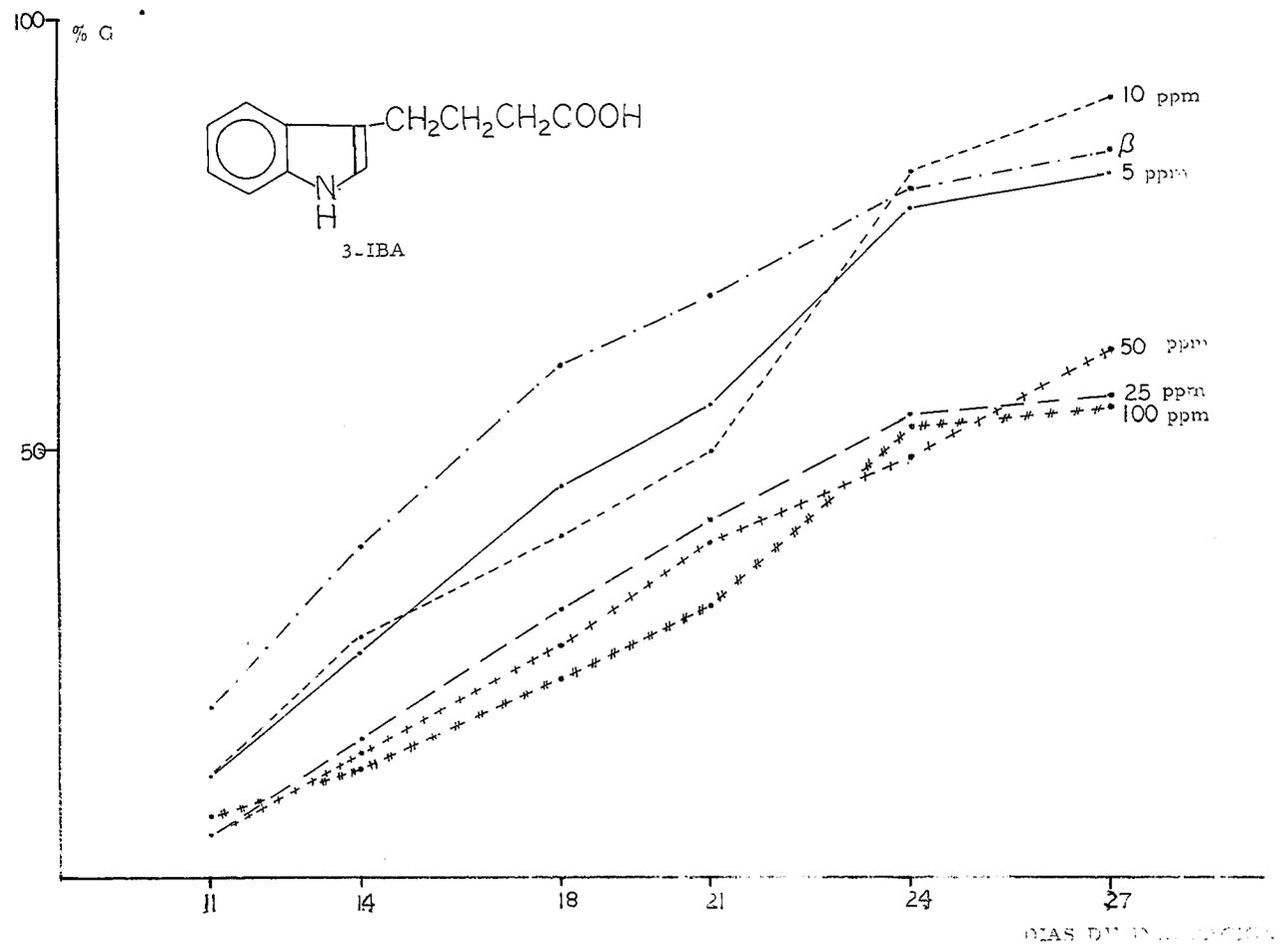


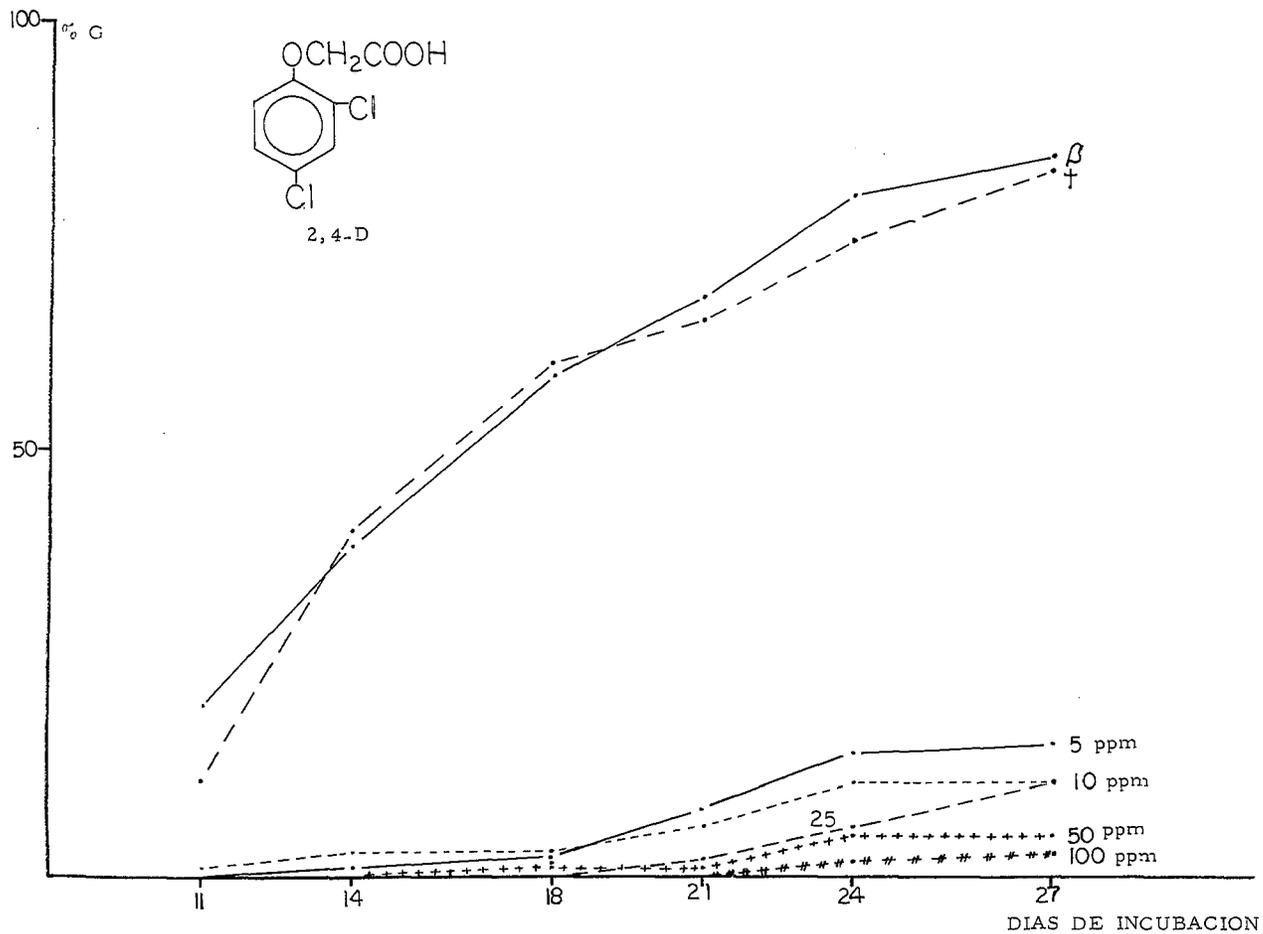


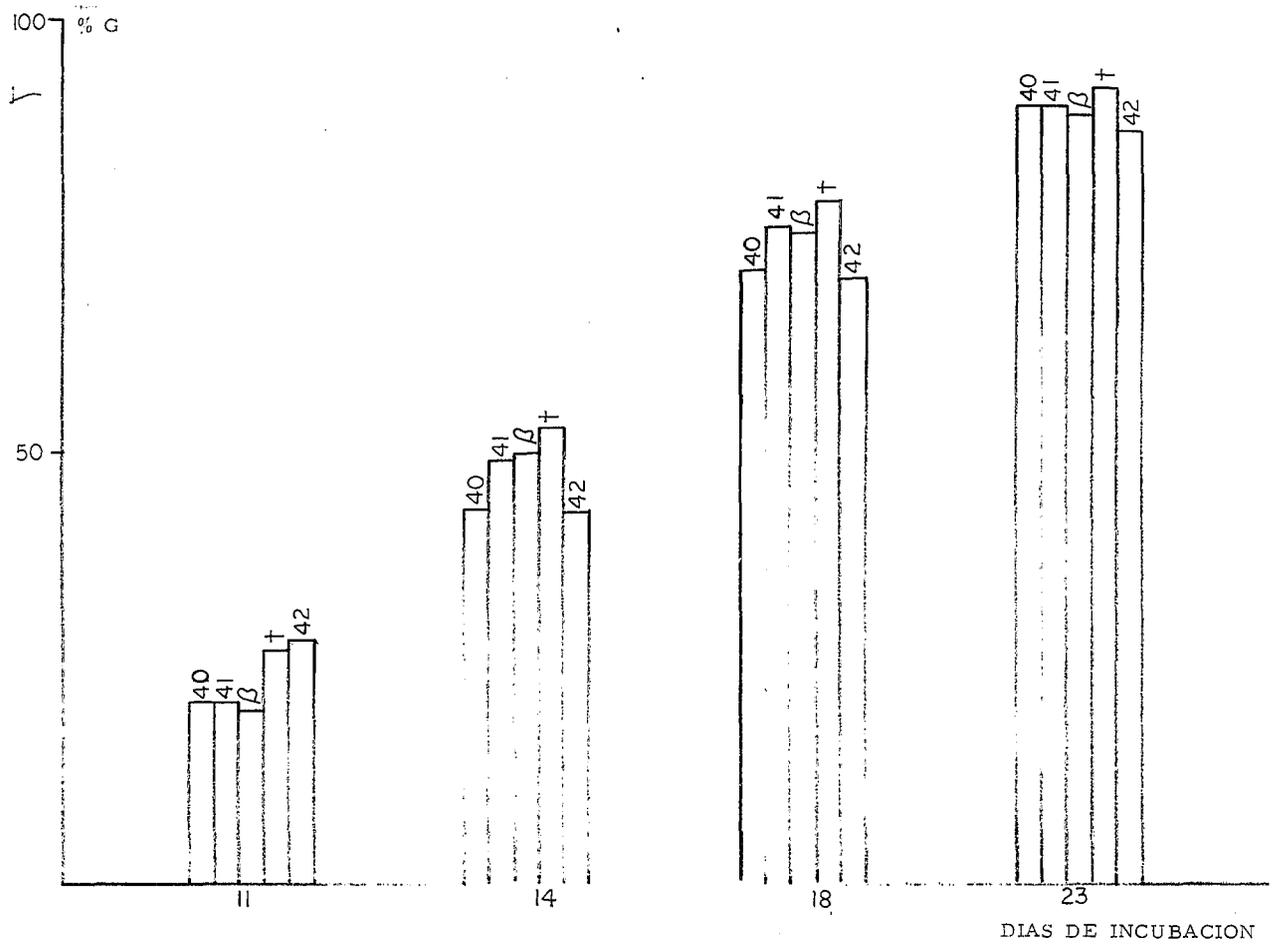


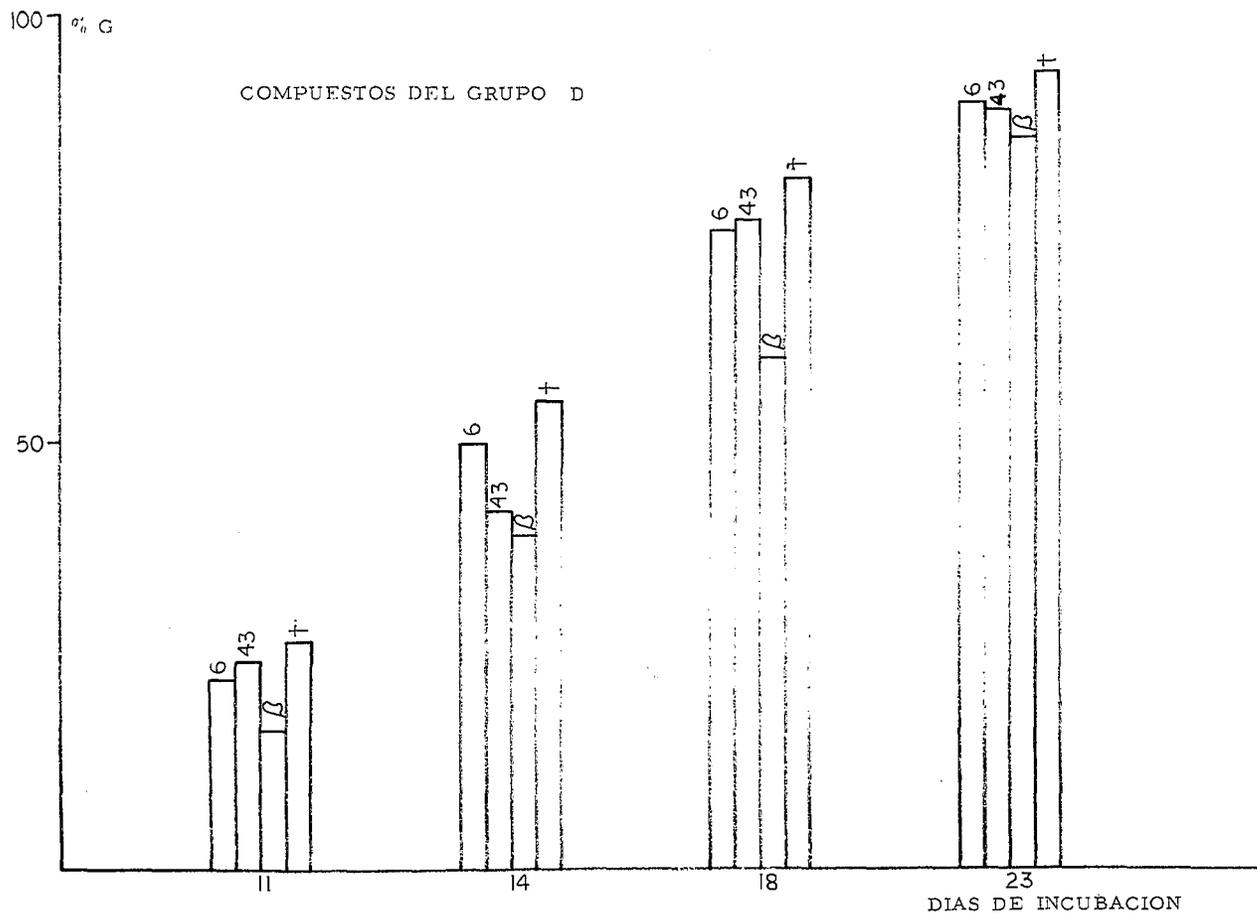


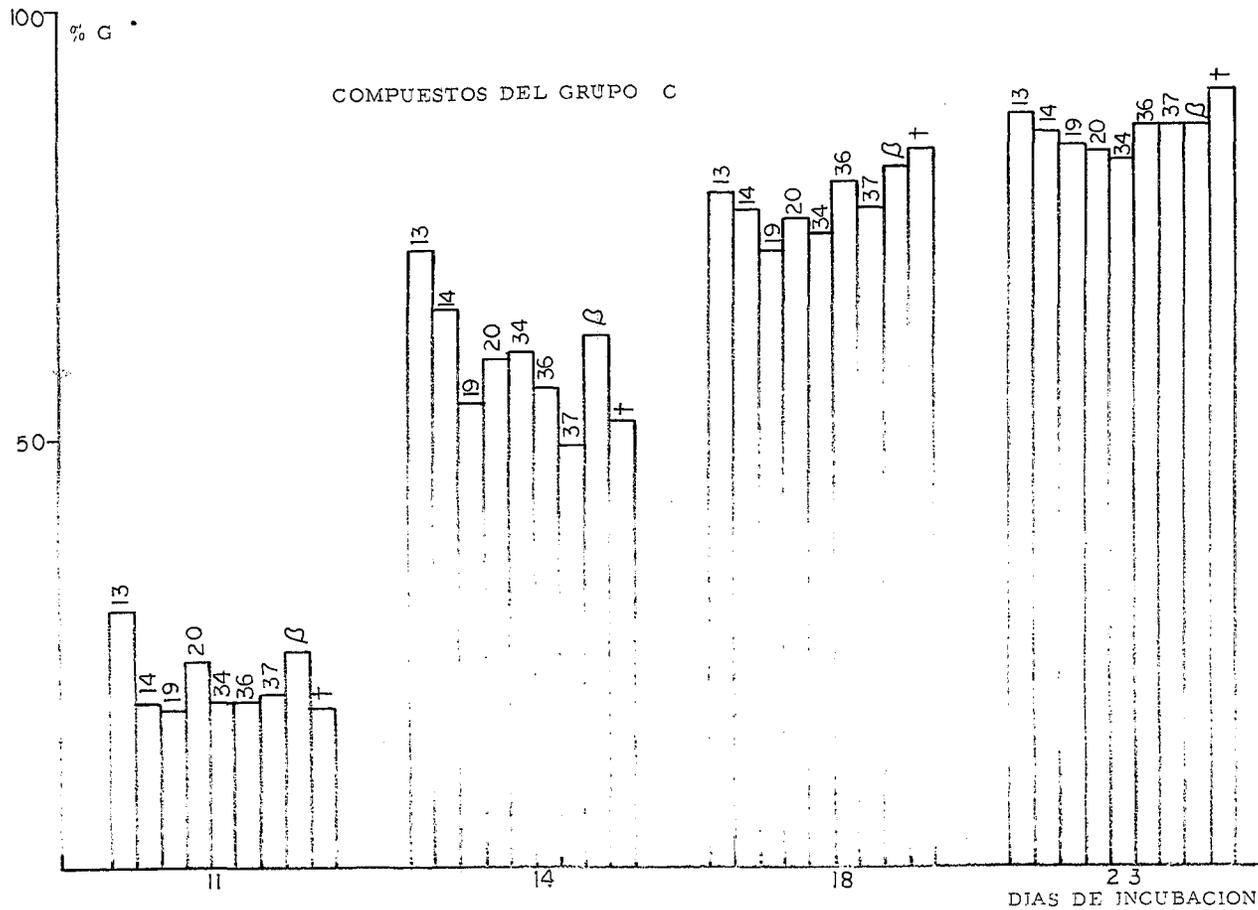


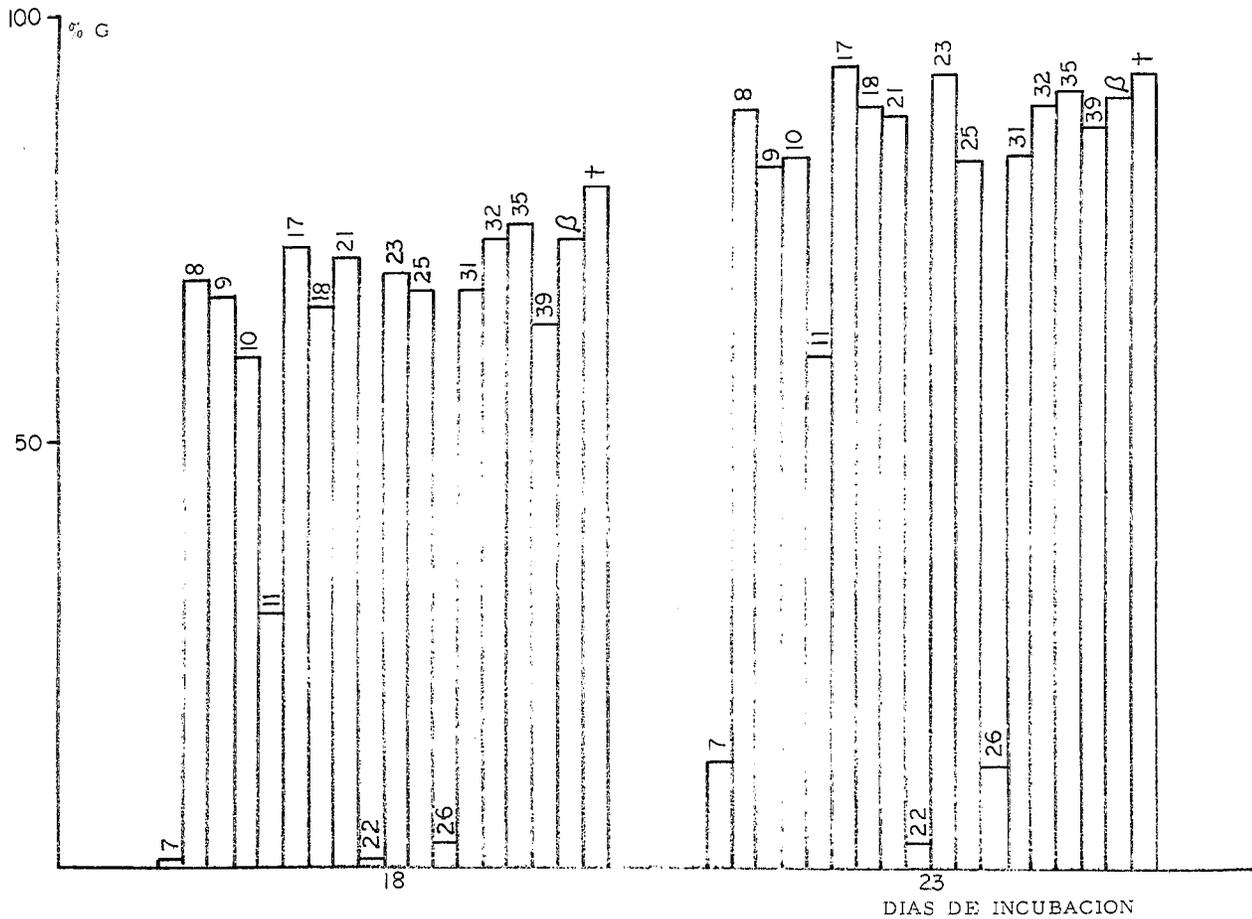




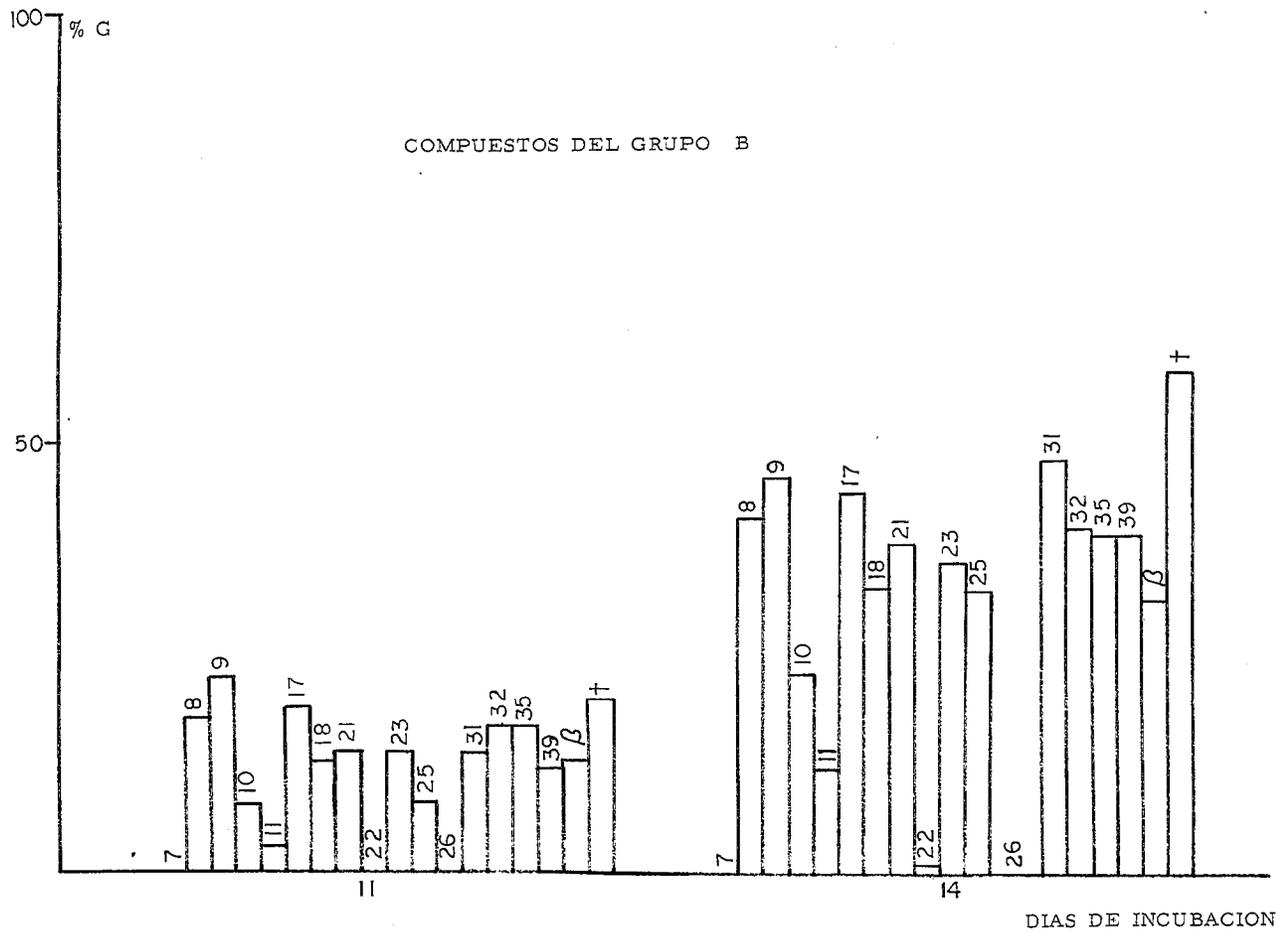


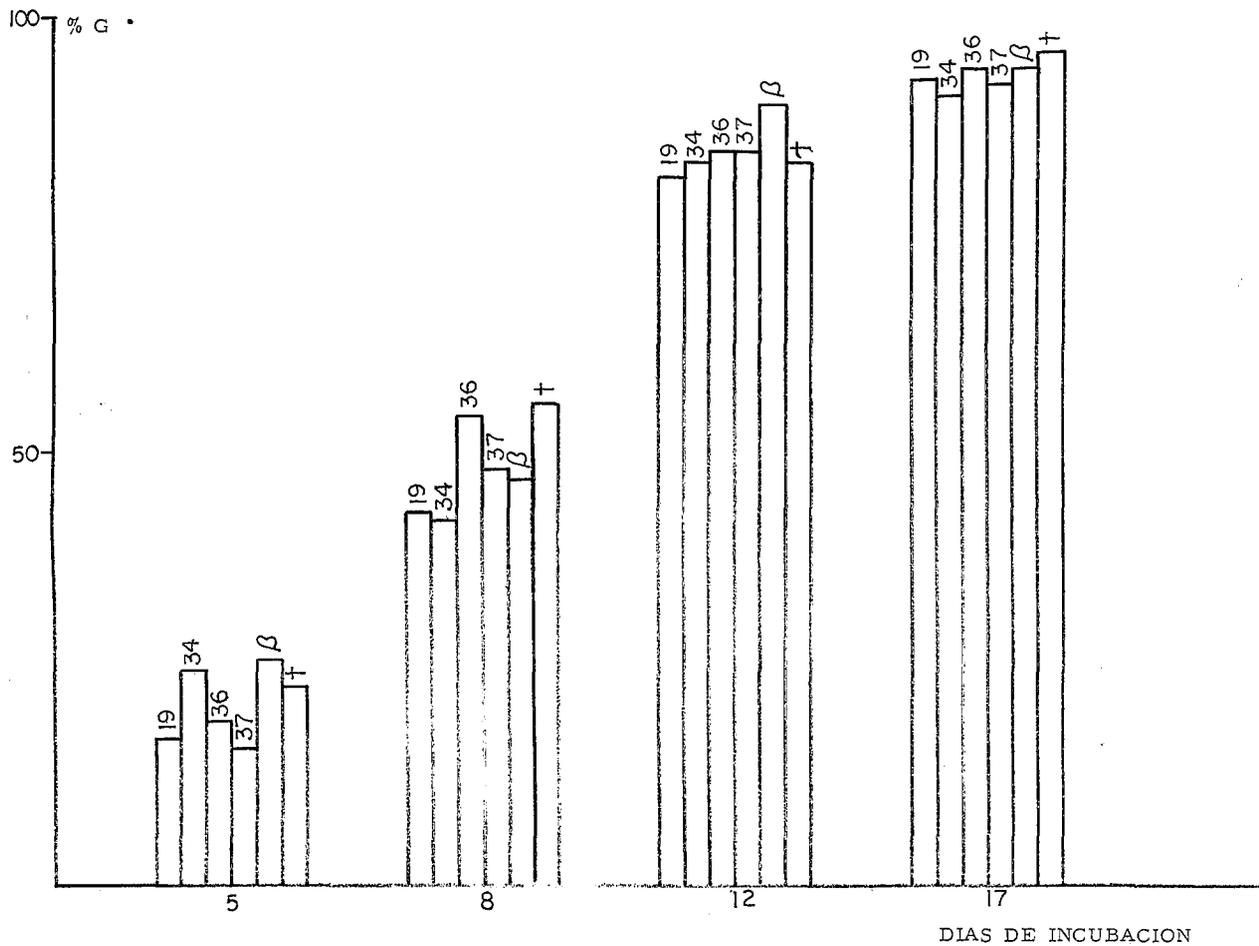


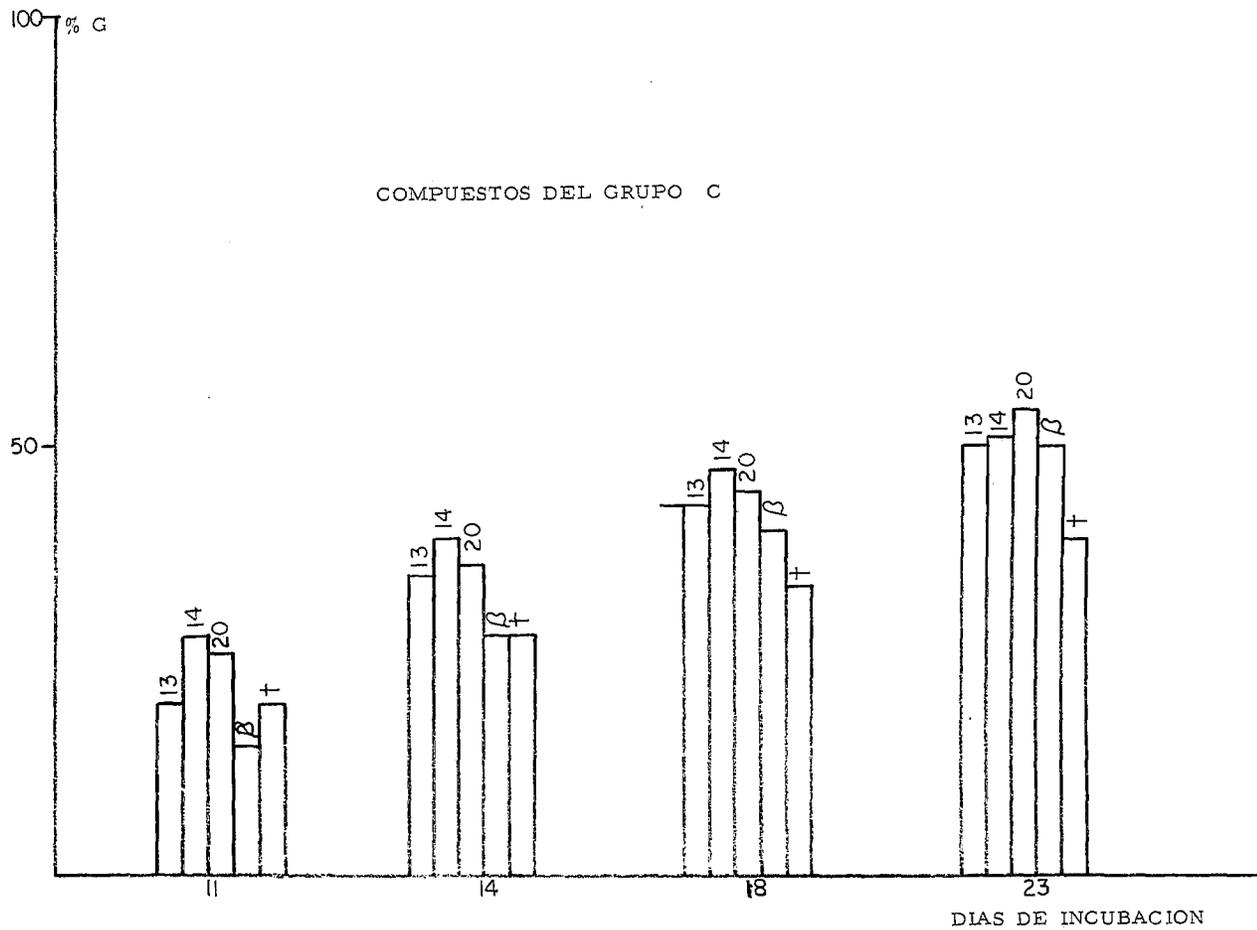




DIAS DE INCUBACION



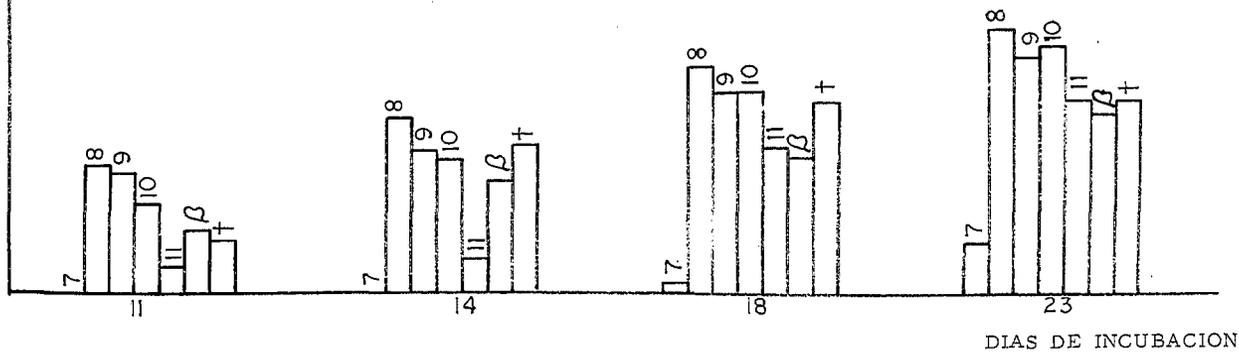




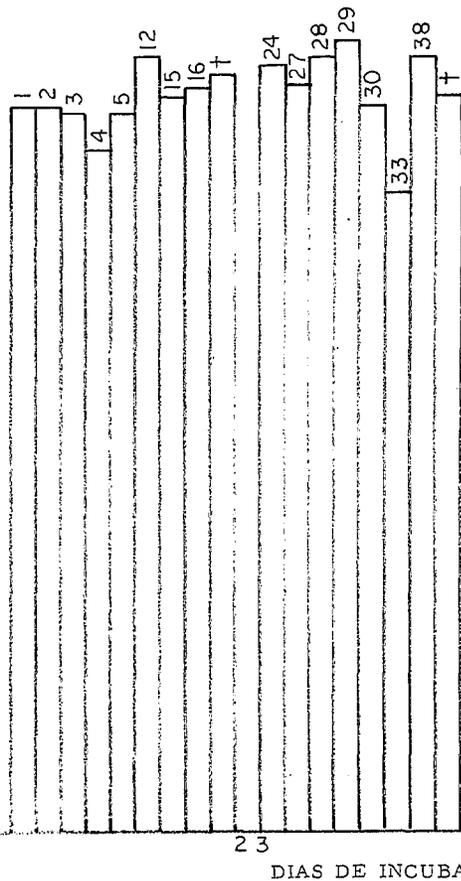
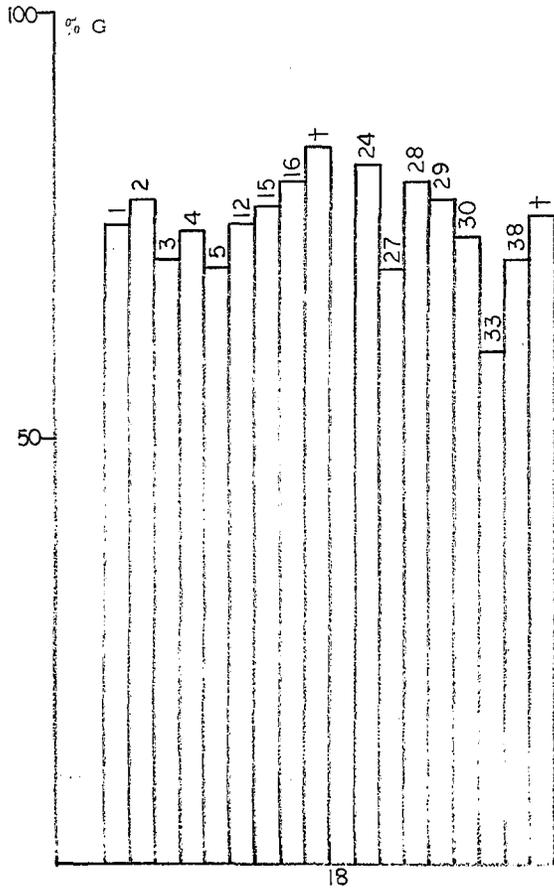
100 % G

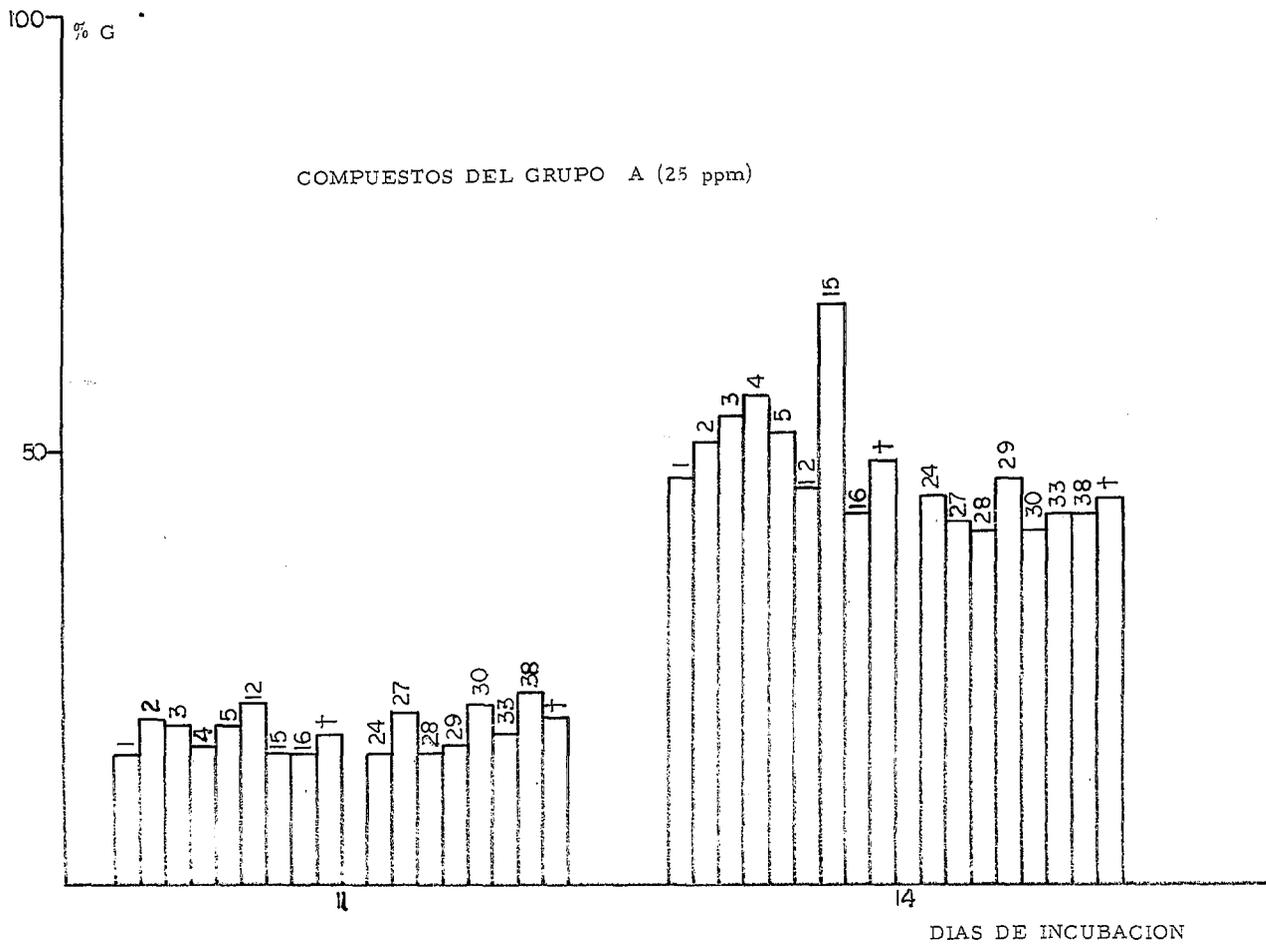
COMPUESTOS DEL GRUPO B (25 ppm)

50

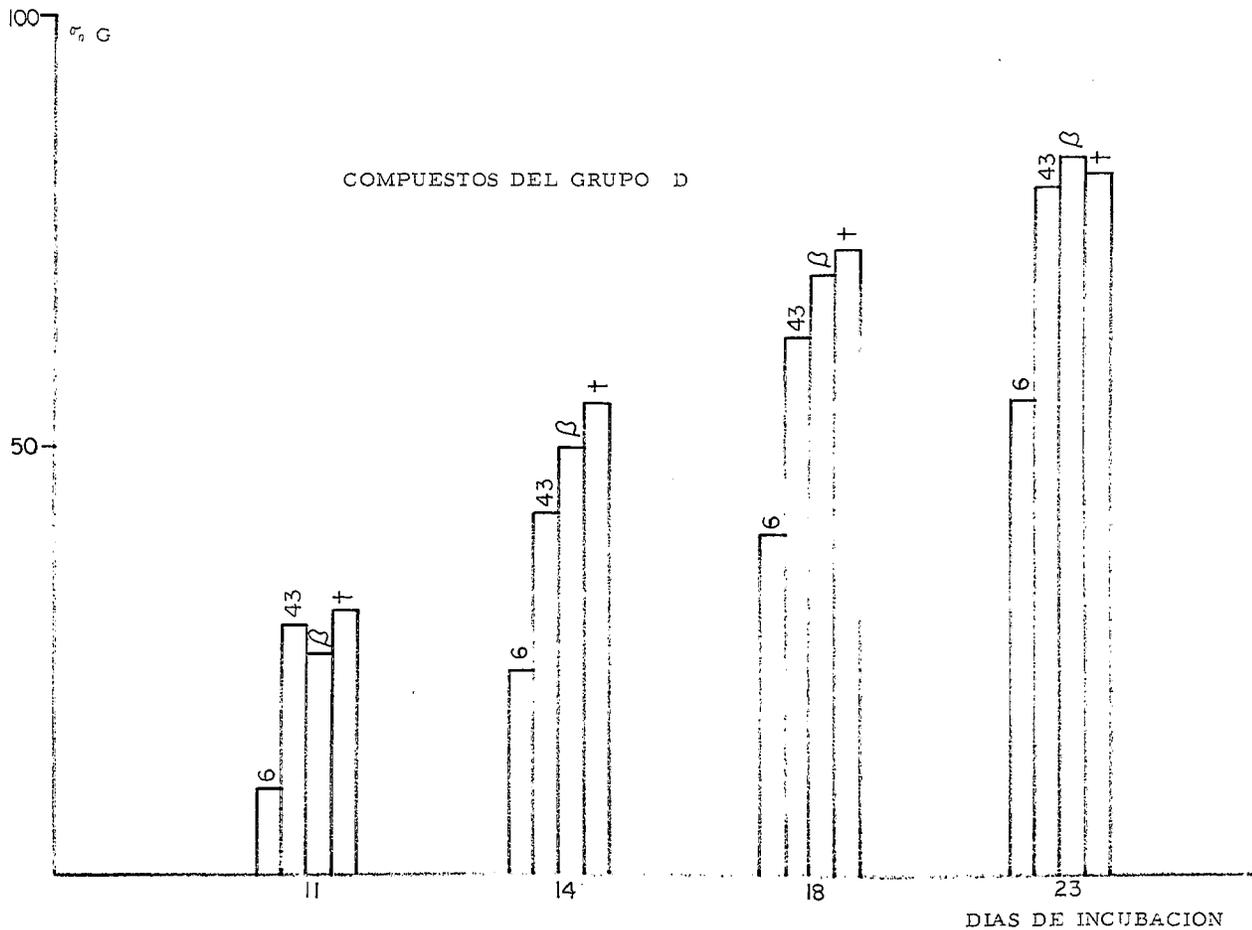


DIAS DE INCUBACION

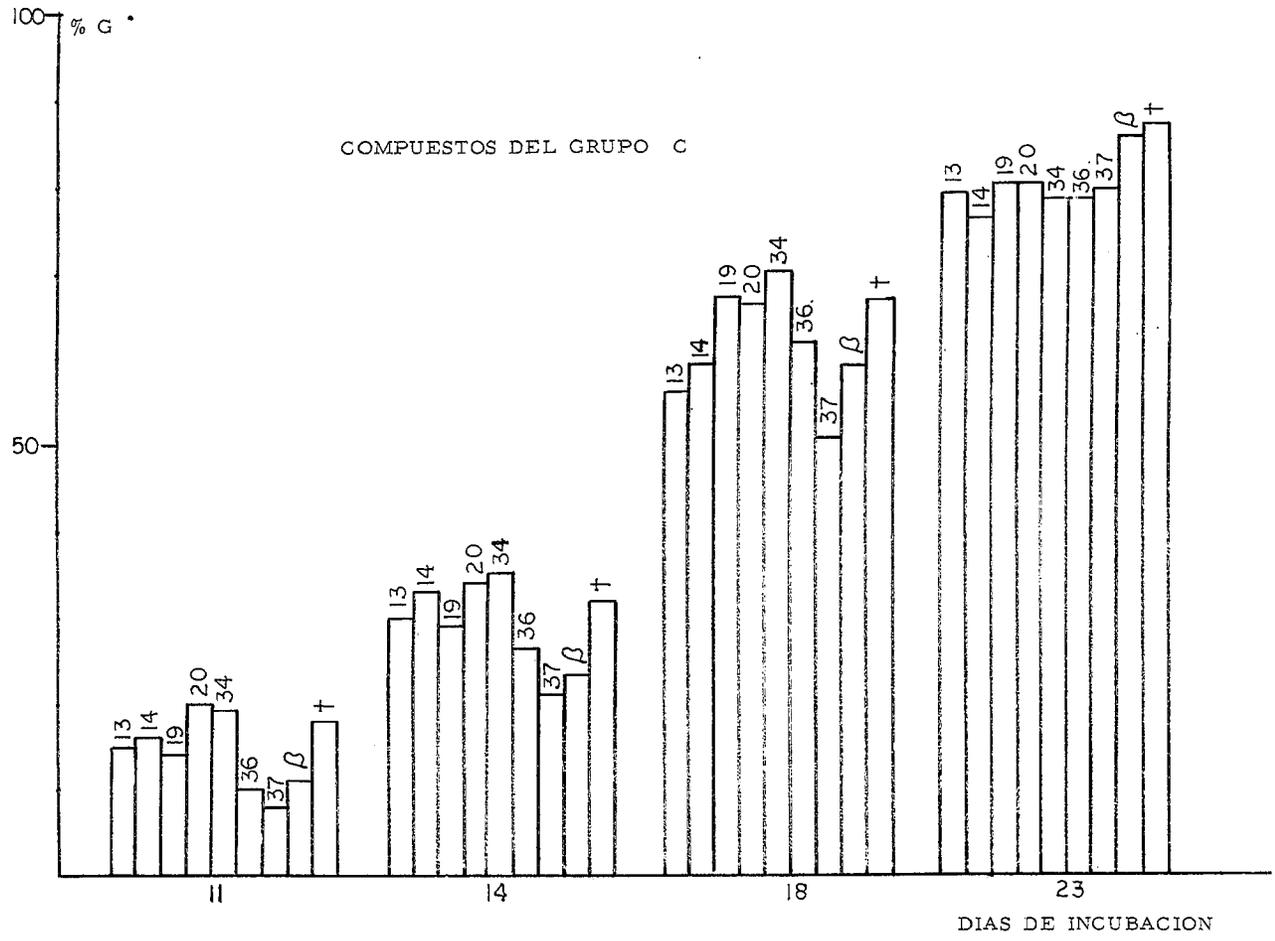


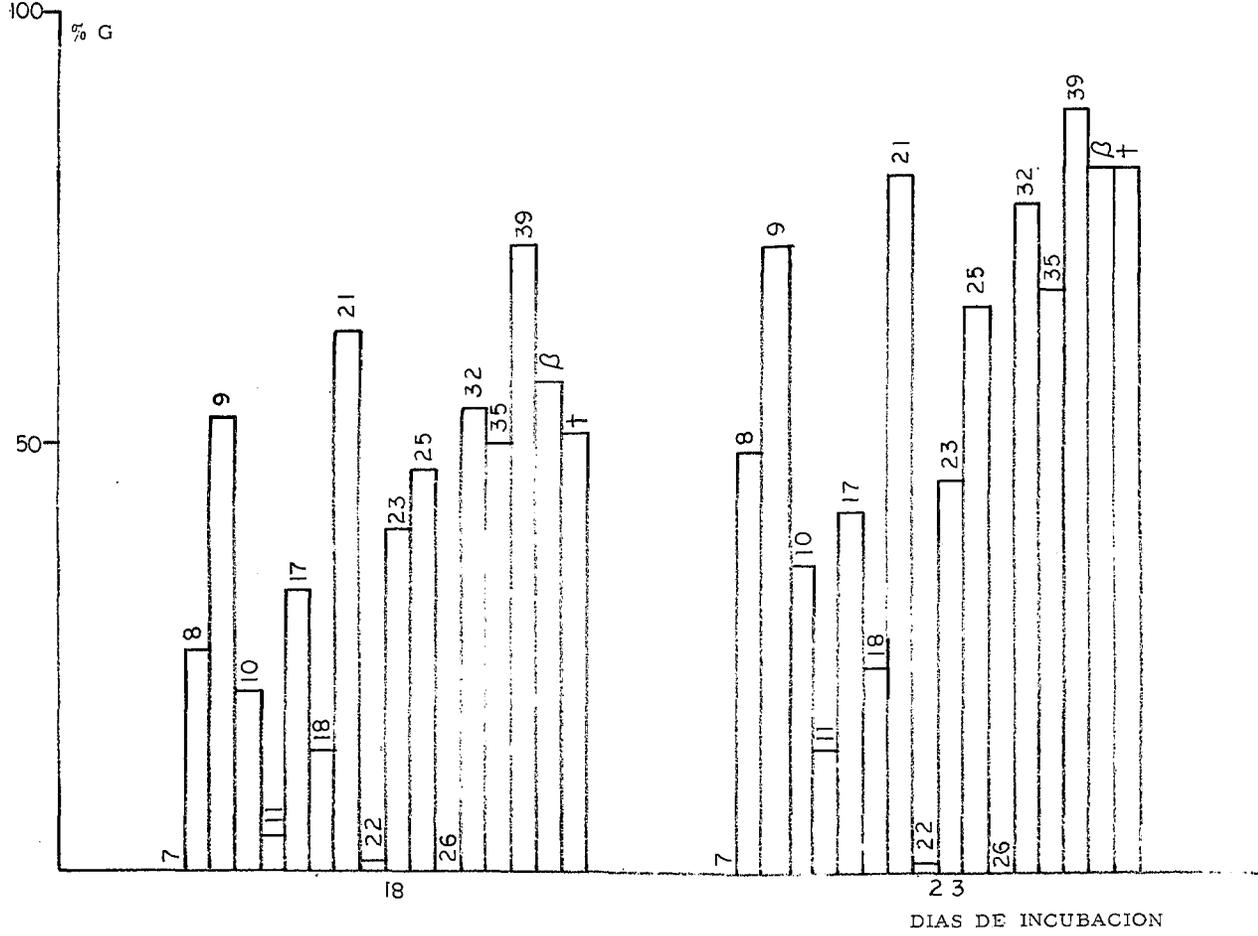


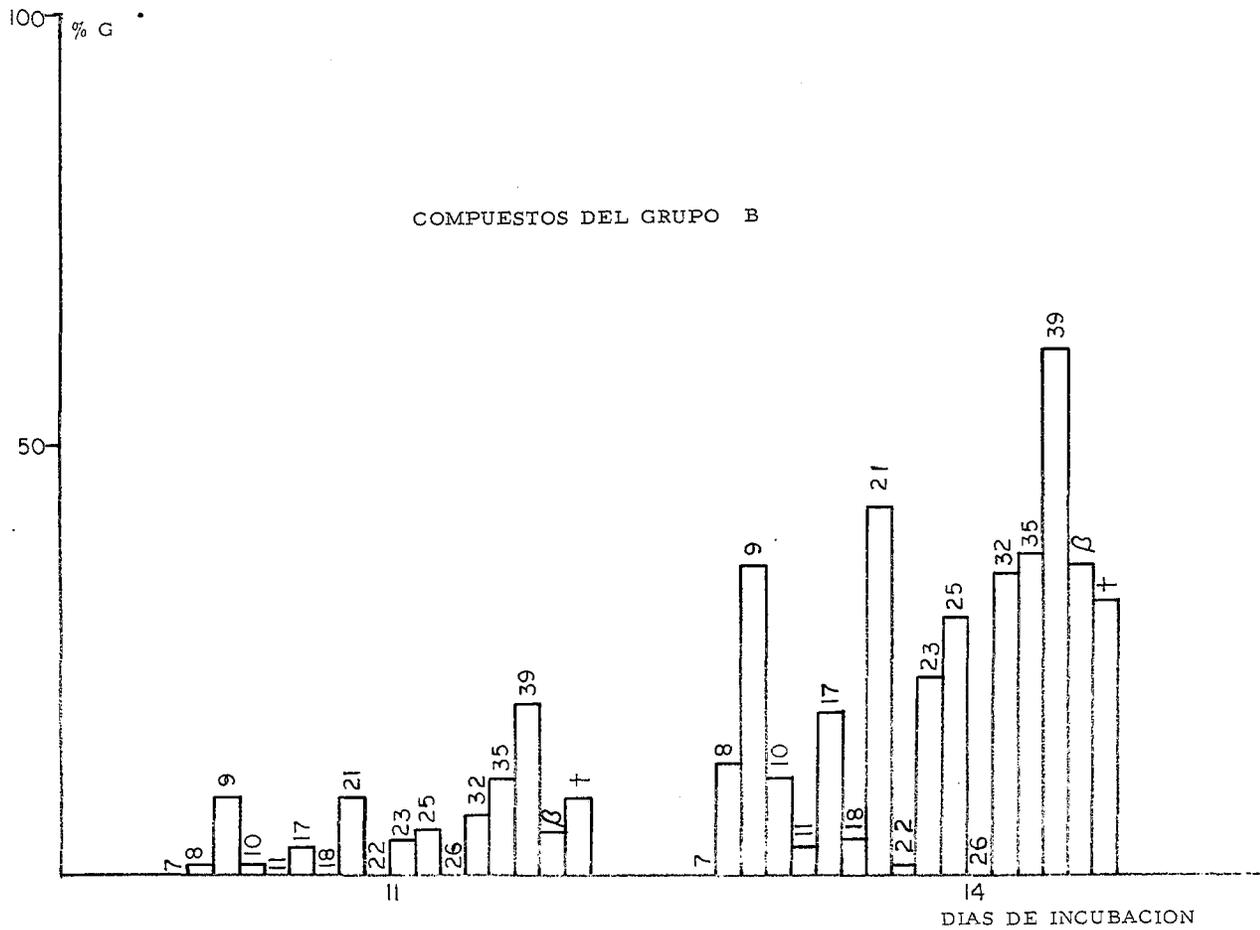
COMPUESTOS DEL GRUPO D



DIAS DE INCUBACION

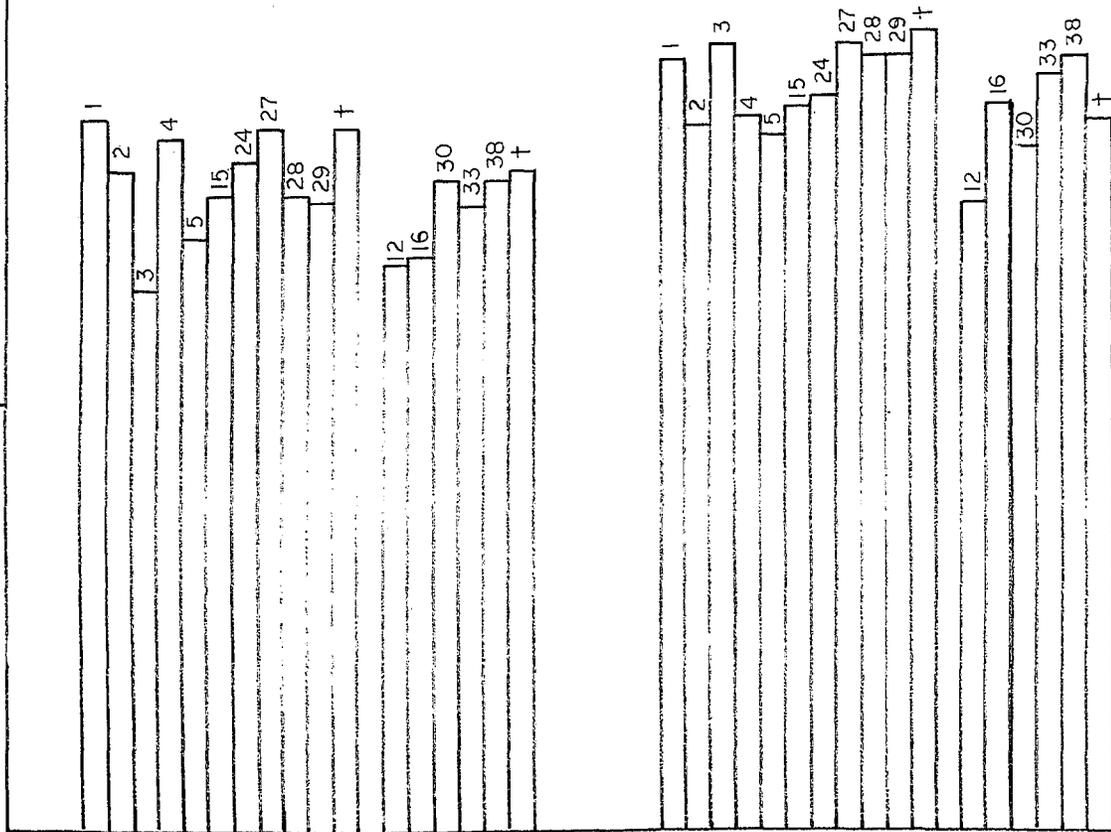






100 % C

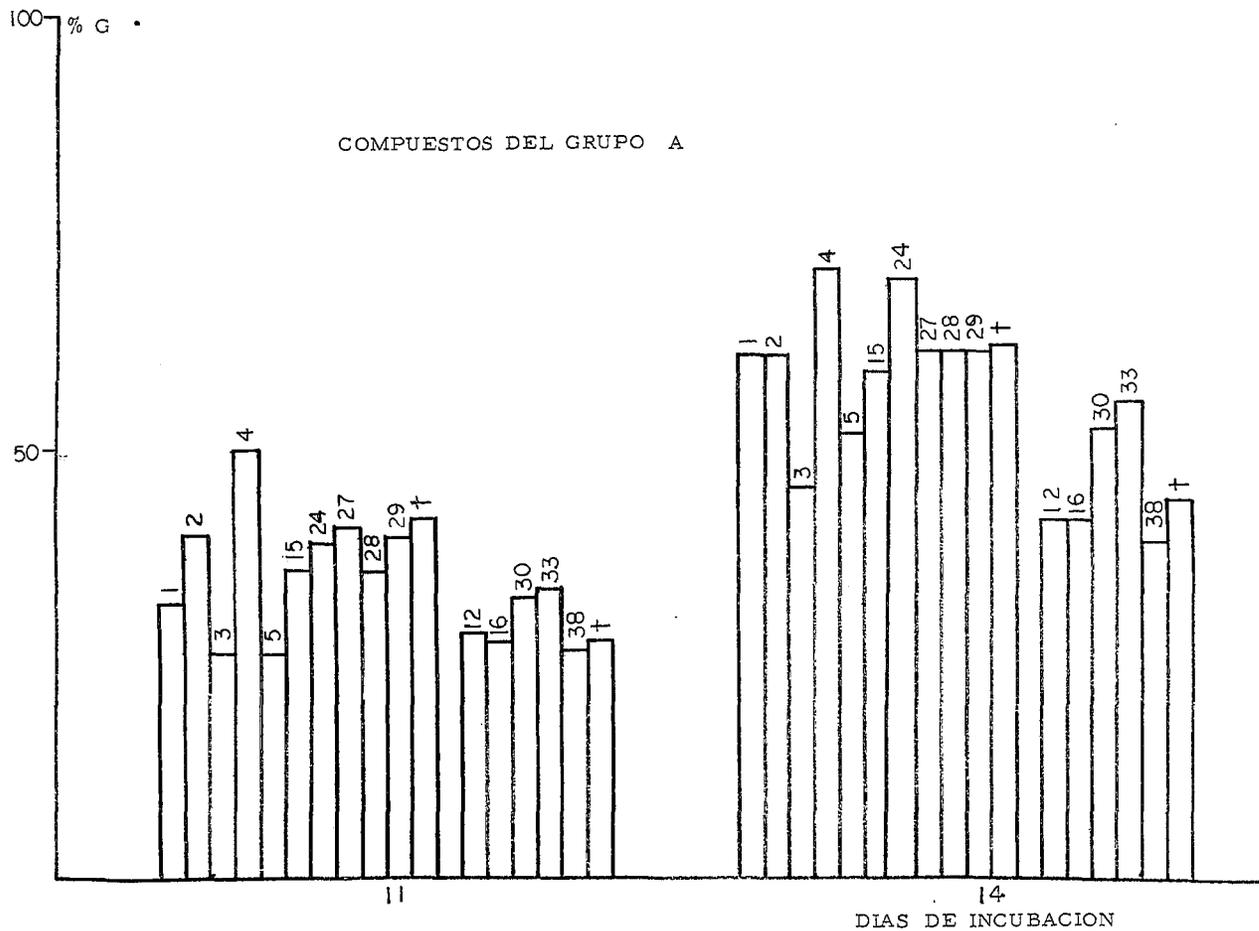
50

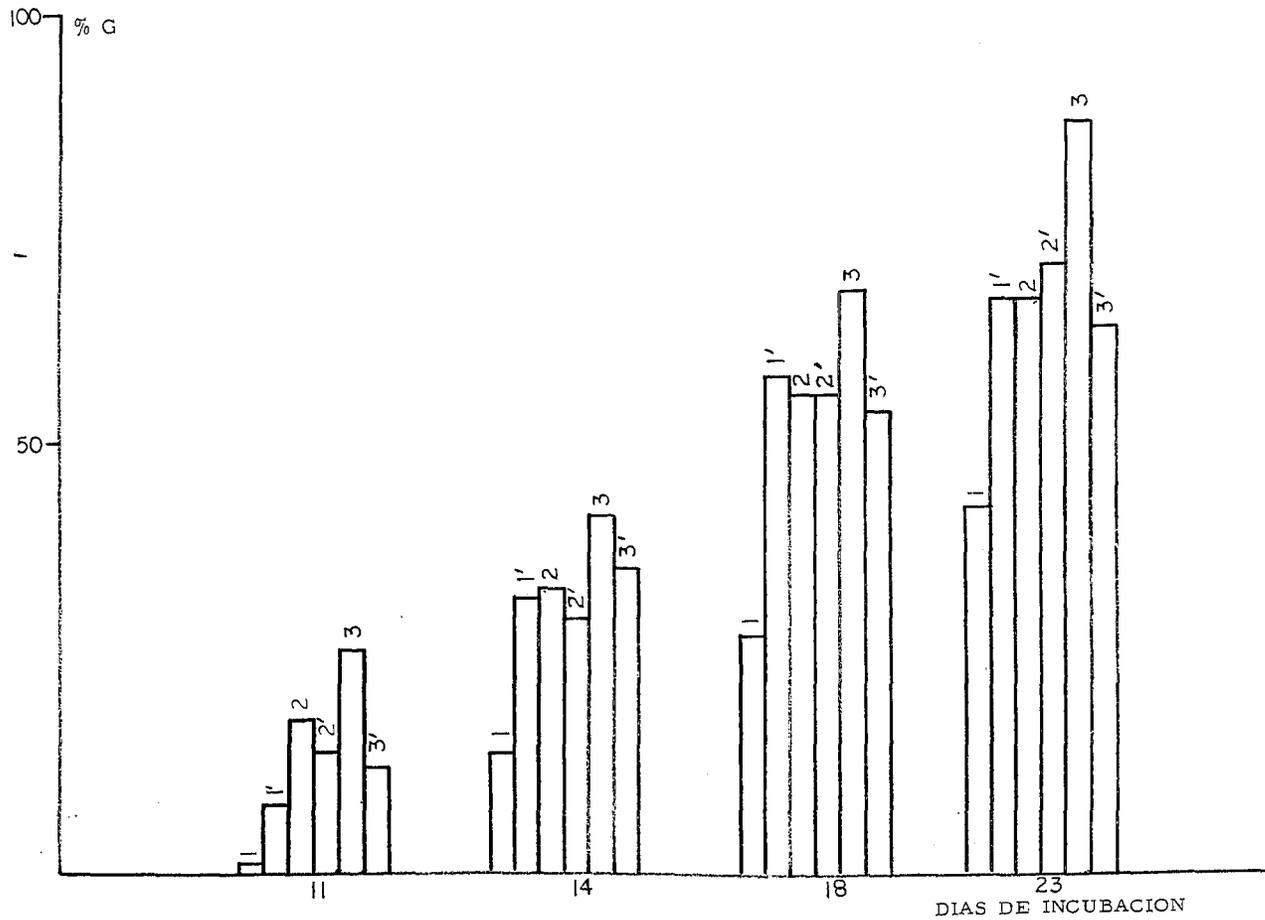


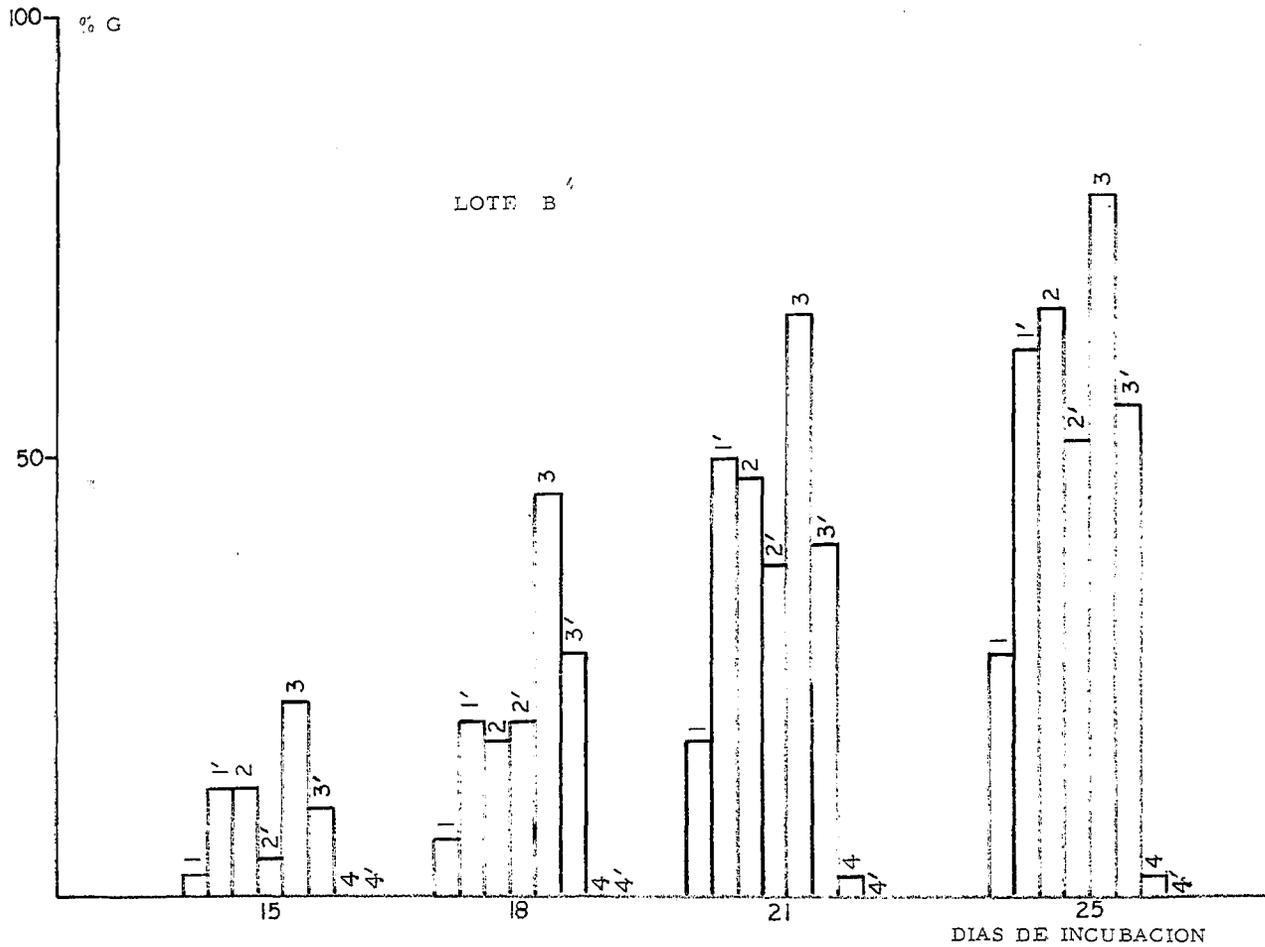
18

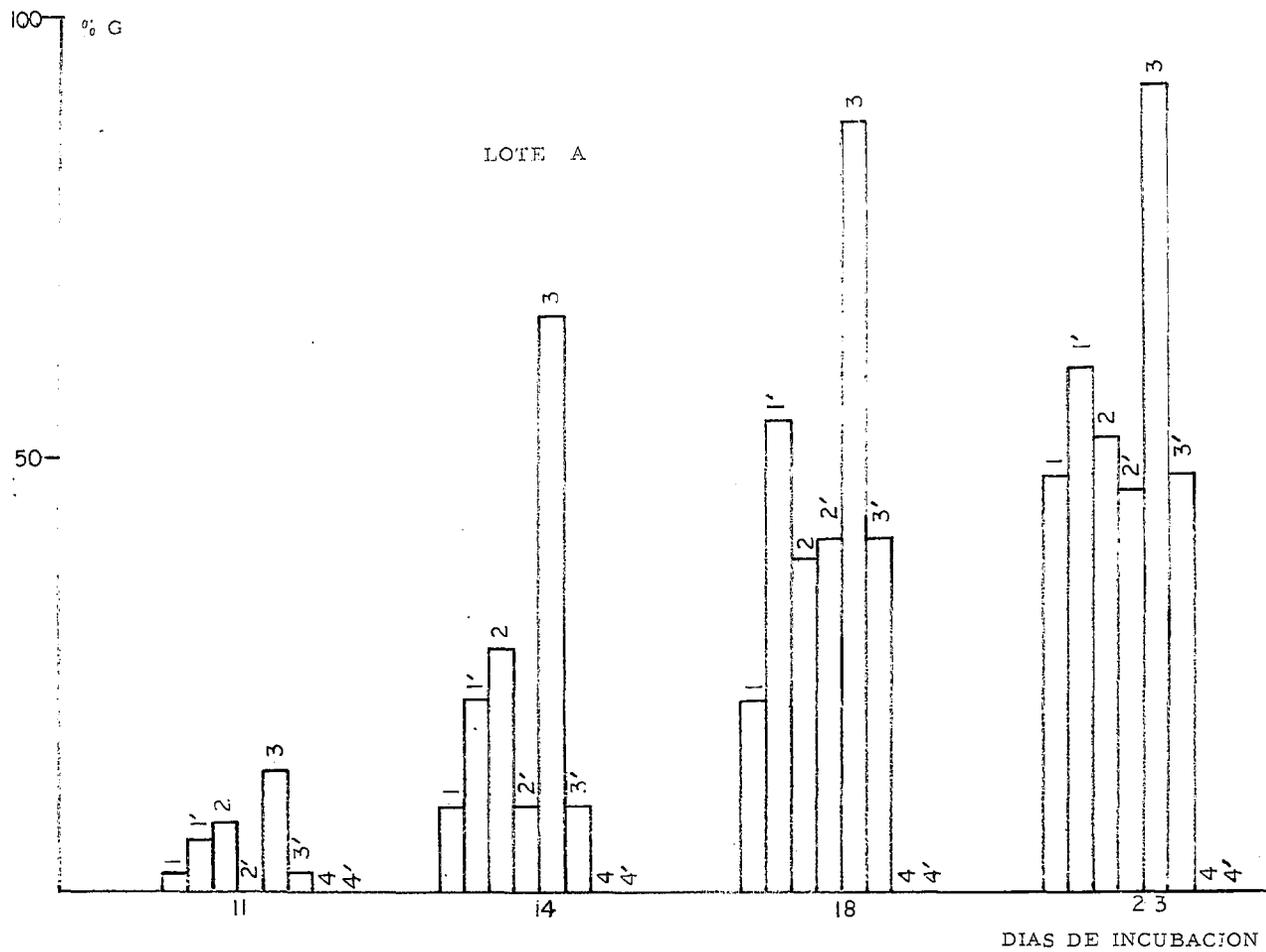
23

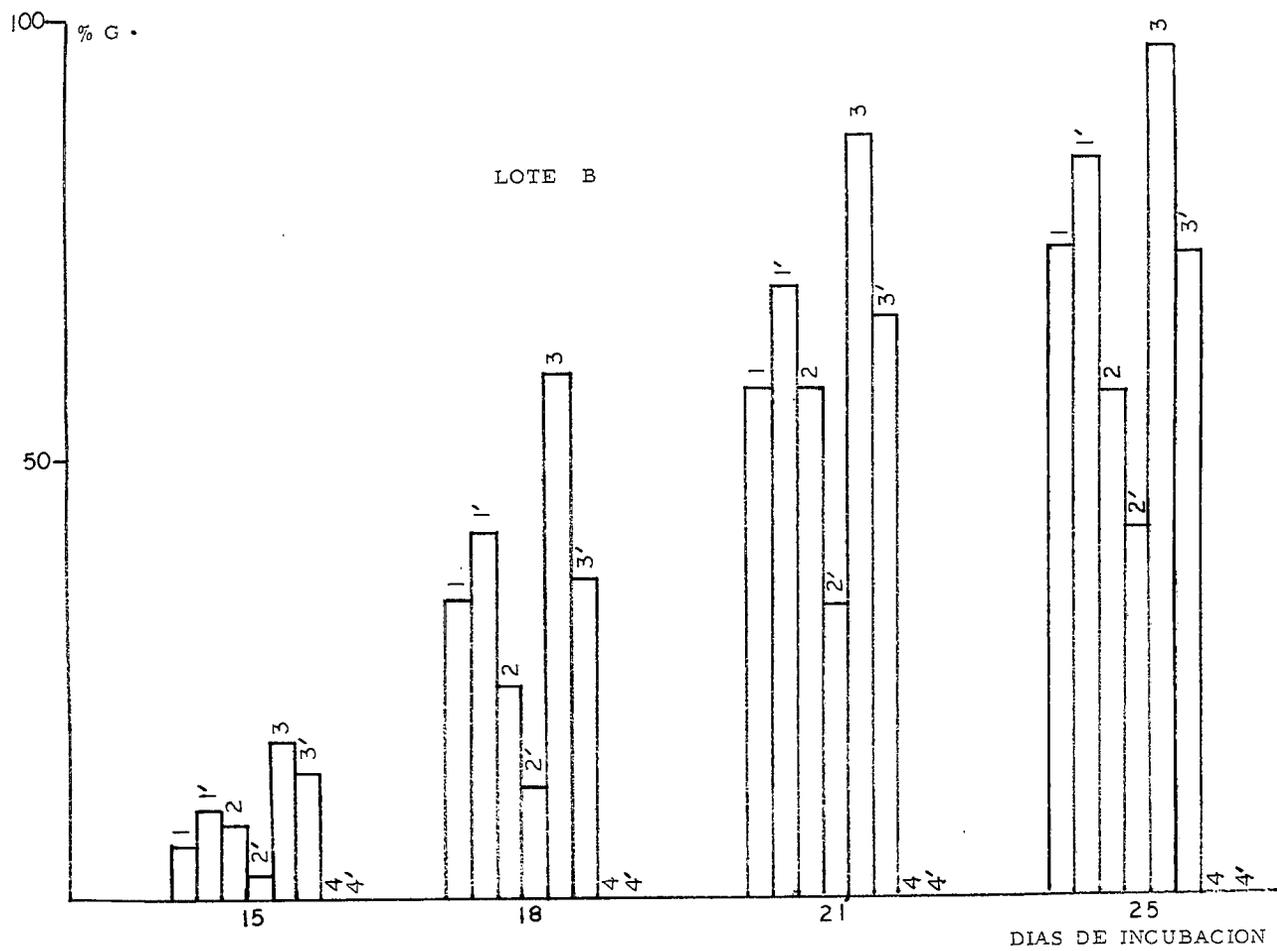
DIAS DE INCUBACION

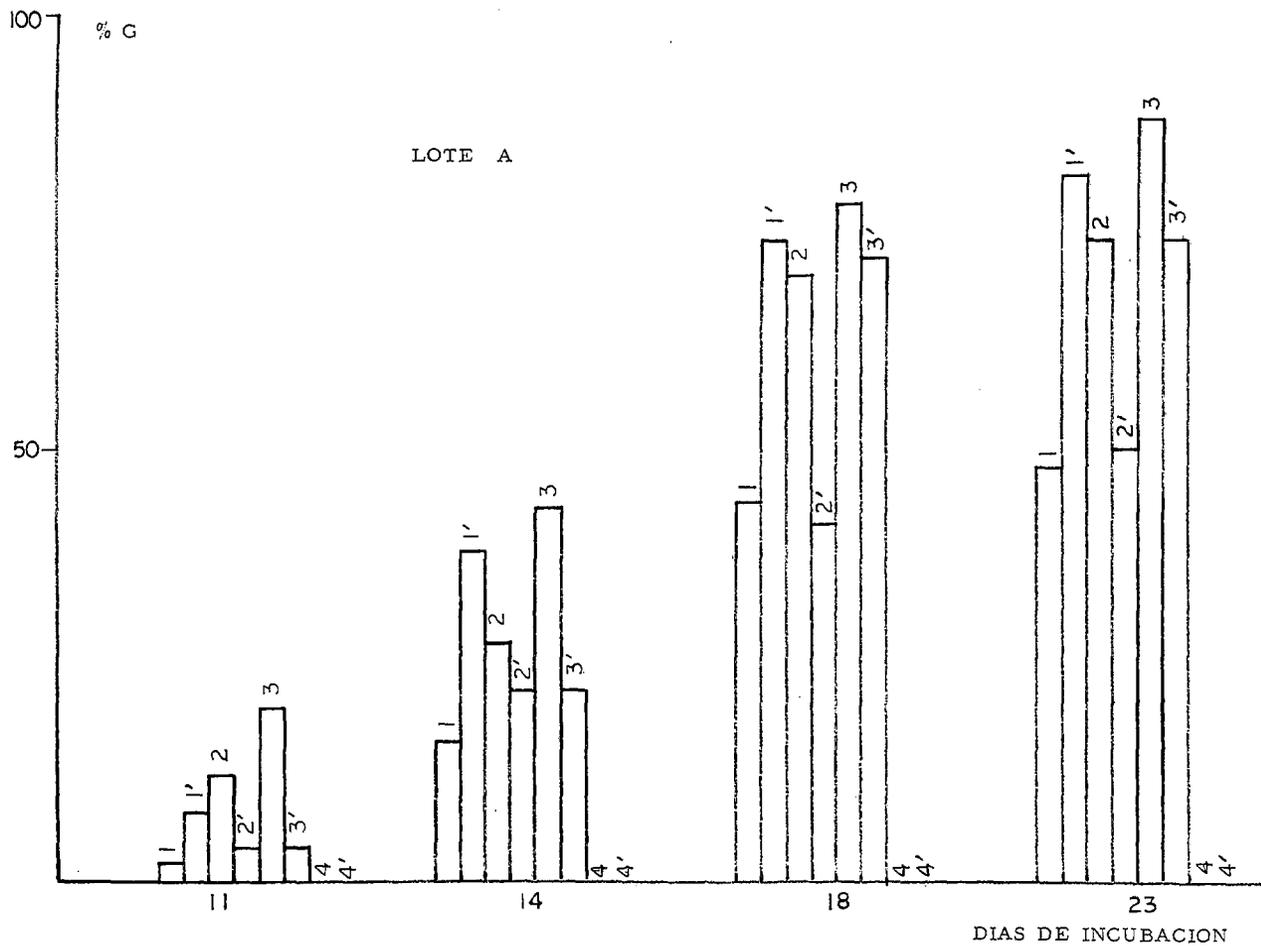


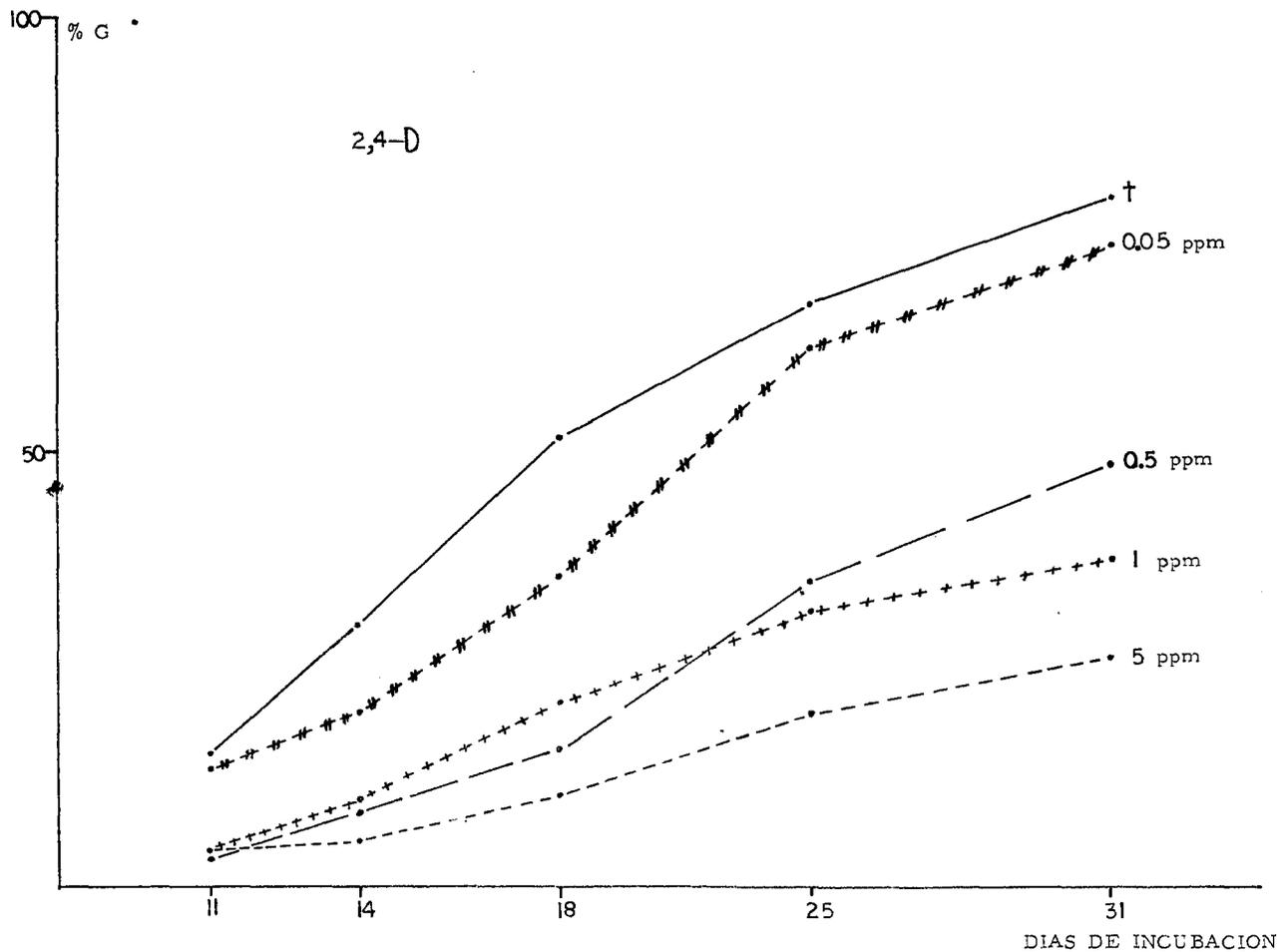


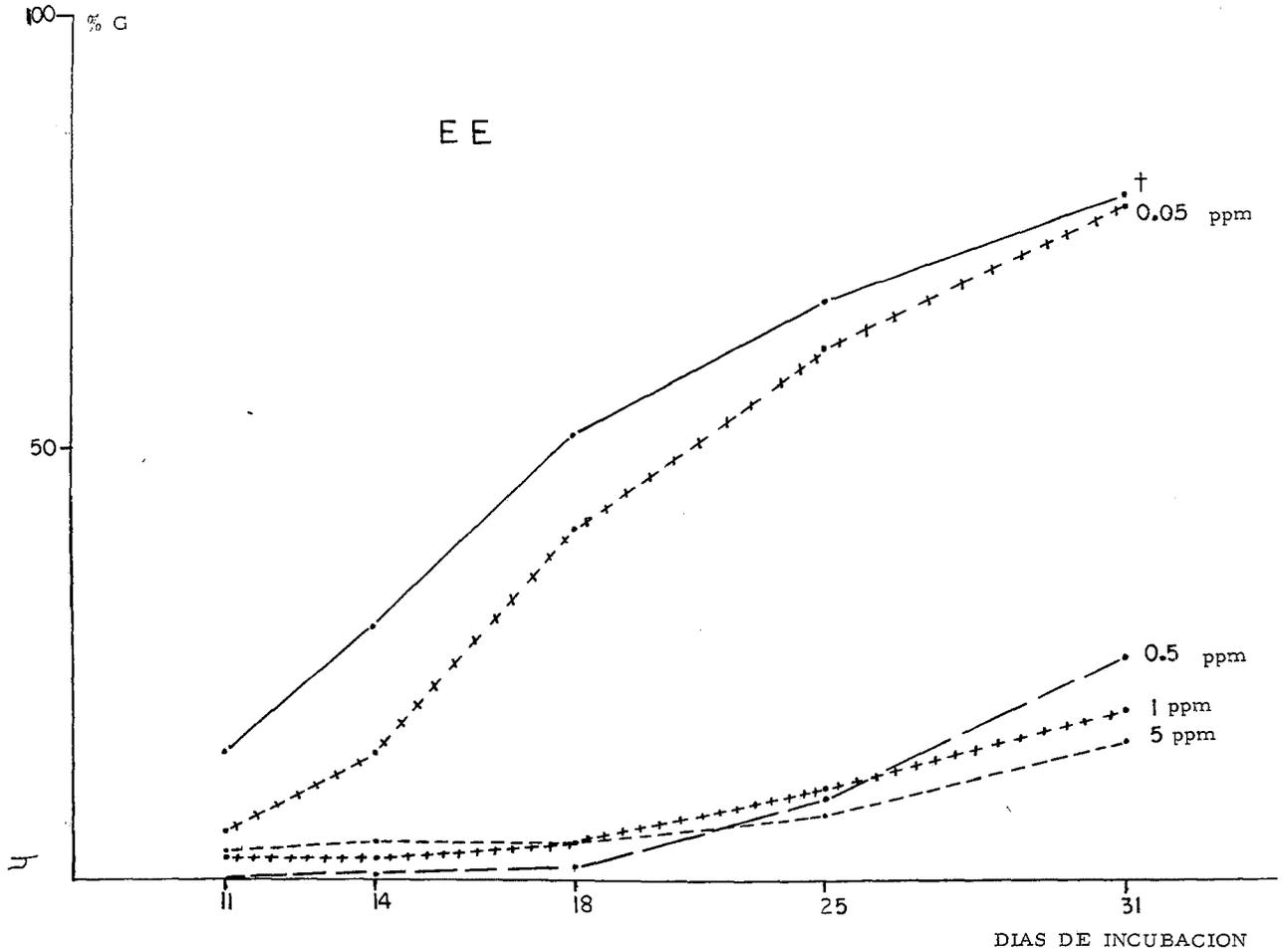


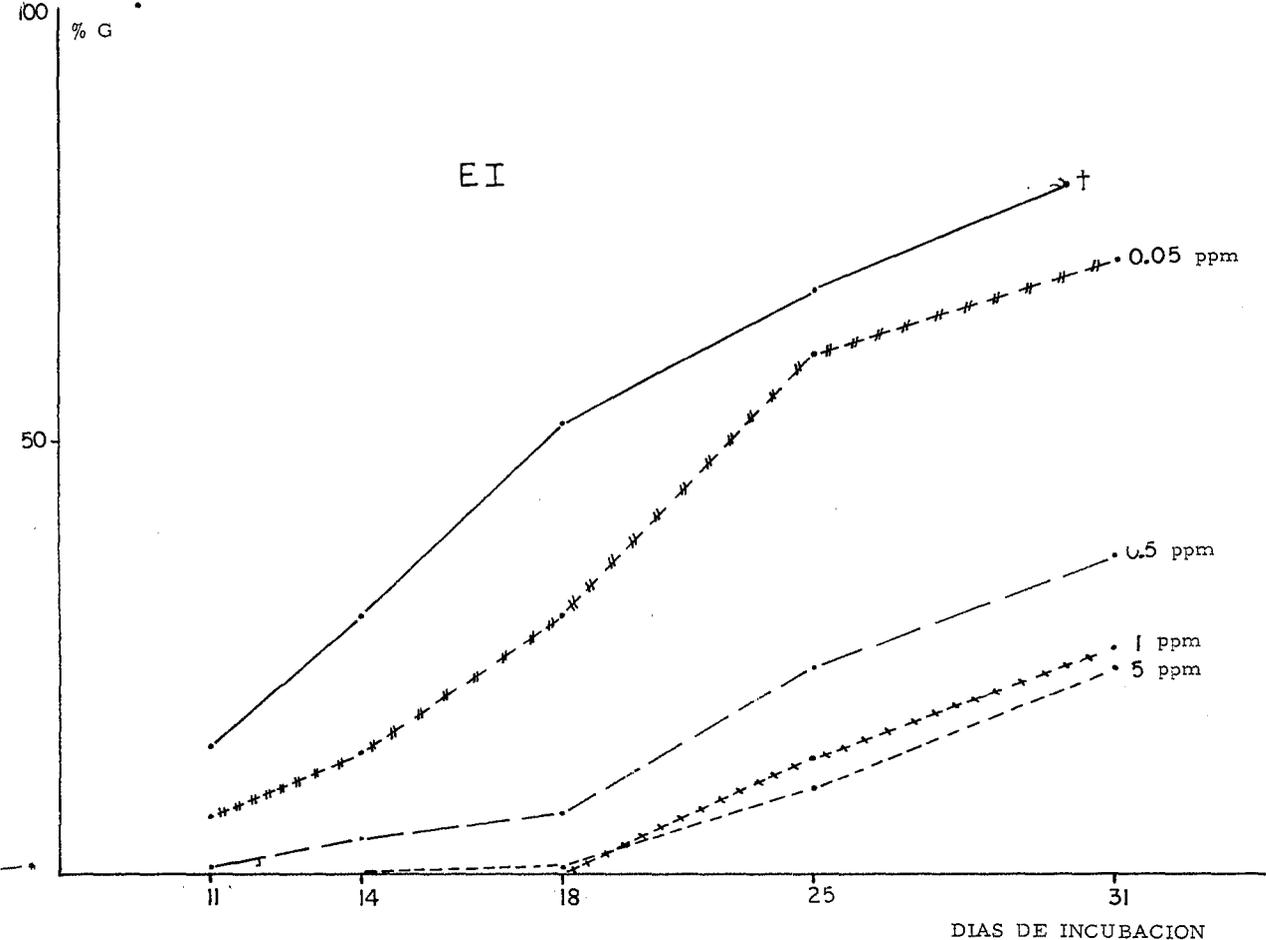


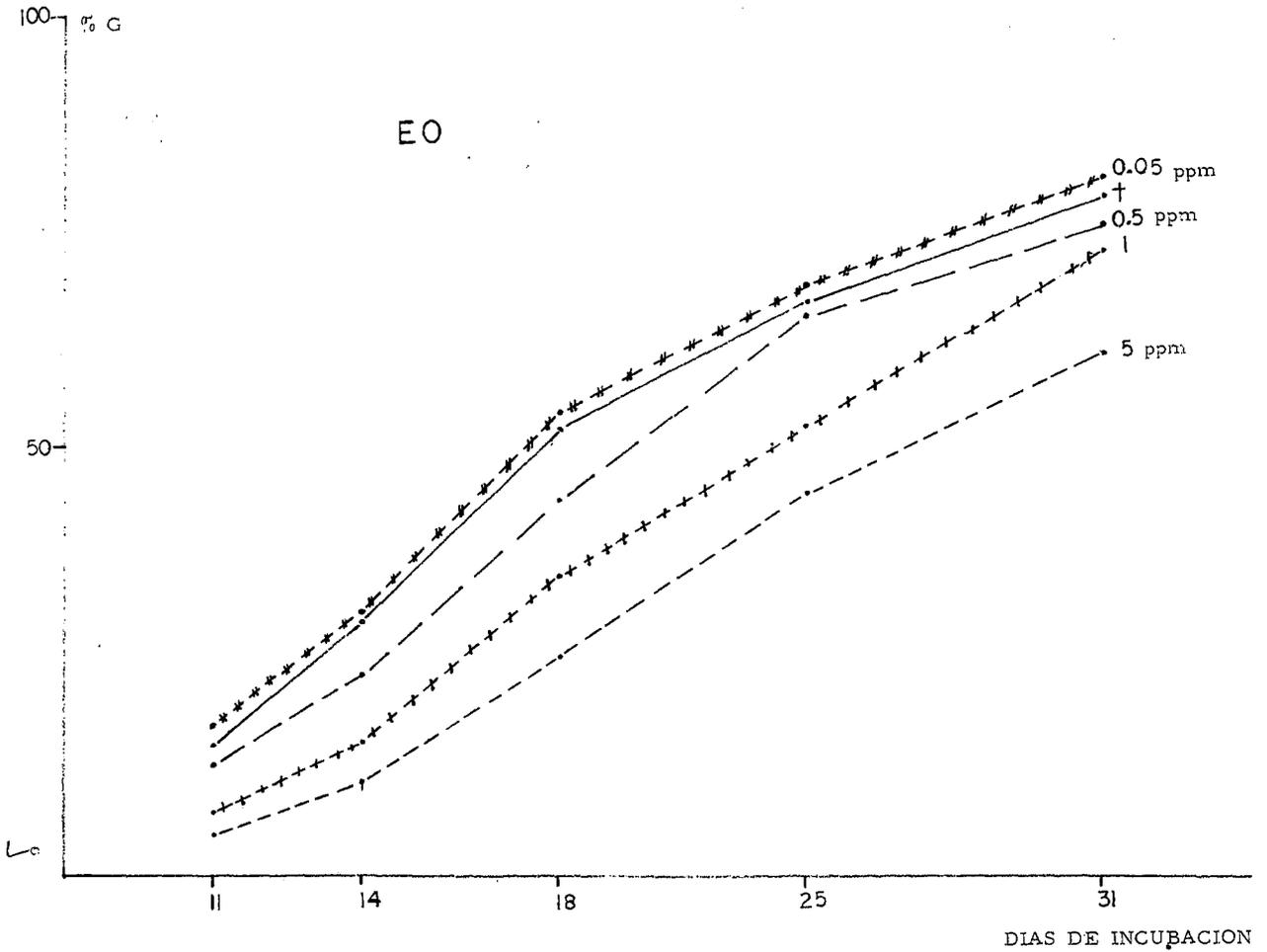












BIBLIOGRAFIA

1. Anuario de la Dirección General de Economía Agrícola. CONAFRUT, México 1977.
2. Relación de las variedades de frutales cultivados en los estados de la República Mexicana. CONAFRUT, México 1977.
3. "Preservación de naranja y toronja con emulsión de cera de candelilla". Ruíz, G. L.; Tesis Profesional UNAM 1975.
4. Amen, R. D.; Bot. Rev. 34:1-29 (1968).
5. Chen. S.S, and Varner, J, E. Seed Sci. & Technol. 1:325-338(1973).
6. "The Germination of Seeds". Mayer, A. and Poljakoff-Mayber, A. Second Edition. Pergamon Press, N. Y. 1975.
7. Evenari, M. Bot. Rev. 15:153-194 (1949).
8. Ketring, D. L. Seed Sci. & Technol. 1:305-324 (1973).
9. "Seed Biology". Kozlowsky, T.T. (ed.) Vol. I. Academic Press, N.Y. 1972.
10. "Plants Chemicals and Growth" Steward, C.F. and Krikorian, D. A. Academic Press, N.Y. 1971.
11. "The Citrus Industry". Reuther, W. (ed.) California, Berkerley 1973.
12. Ozsan, M. and Cameron, W.J.; Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 82: 210-216 (1963).
13. Tukey, B.H.; Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 32:313-322 (1934)
14. Miller, V.E. and Jablonski, R.J.; Food Res. 14:492-498 (1949).

15. "Laboratory Plant Physiology", Meyer, B. Van Nostrand Co. 1941.
16. "The Citrus Industry". Weber, B, E. California Press 1948.
17. Nauer, M.E. and Roistacher, N.C.: Calif. Citrogr. 47:140 (1962).
18. Gross, D.F.; Phytochem. 14:2105-2112 (1975).
19. Wareing, P.F. and Ryback, G. Endeavour 29:84-88 (1970).
20. Milborrow, B.V. Planta 76:93-113 (1967).
21. Cornforth, J.W. Nature 206:715(1965).
22. Okuma, K. et al. Tetrahedron Letters (29):2529-2535(1965).
23. Halloin, J.M. Plant Physiol. 57:454-455(1976).
24. Martinez, C.J. Rev. Esp. Fisiol. 31:187-190(1975).
25. Sondheimer, E. et al. Plant Physiol. 43:1443-1447(1968).
26. Takayuki, O. and Yamashita, K. Agr. Biol. Chem. 38:801-808(1974).
27. Tamura, S. and Nagao, M. Planta 85:209-212(1969).
28. Goldschmit, E. et al. Hort. Sci. 11:95-99(1976).
29. Varga, M. and Köves, E. Nature 183:401 (1959).
30. Chang, Ch. et al. Agr. Biol. Chem. 33:398-408(1969)
31. Berrie, A.M. et al. Phytochem. 7:567;573(1968).
32. Vendrig, J.C. Nature 203:1301-1302(1964).
33. Marchaim, U. Plant Cell Physiol. 11:511-514(1970).
34. Marchaim, U. and Dourat, A. J. Exp. Bot. 23:302-309 (1972).
35. Dimopoulos, J.S. Chem. Chrom. 1:233-237(1972).
36. Owen, A.R. Phytochem, 7:1995-1997(1968).

37. Asplund, R.O, Weed Sci. 17:454-455 (1969).
38. Ziegler, H. Endeavour 29:112-116(1970).
39. Yalenosky, G. et al. HortScience 8:102-103(1973).
40. Newhall, W.F. and Pieringer, A.P. HortScience 7:254-255
(1972).
41. Kozslowsky, T.T. et al. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 93:
655-662(1968).
42. Saito, M. and Kondo, N. Plant Cell Physiol. 17:411-416
(1976).