



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

Germinación y establecimiento de plántulas en  
invernadero de *Randia echinocarpa* Sessé et Mociño  
(Rubiaceae)

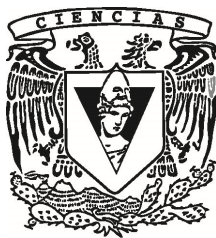
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

Cayetana Ortiz Monasterio O'Dogherty



DIRECTORA DE TESIS:  
Dra. Helia Reyna Osuna Fernández  
2015

Ciudad Universitaria, D. F.



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.

**1. Datos del alumno**

Ortiz Monasterio  
O'Dogherty  
Cayetana  
55404588  
Universidad Nacional  
Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
410061176

**2. Datos del Tutor**

Dra.  
Helia Reyna  
Osuna  
Fernández

**3. Datos del sinodal 1**

Dra.  
Esther Aurora  
Ruiz  
Huerta

**4. Datos del sinodal 2**

Dr  
Sol  
Cristians  
Niizawa

**5. Datos del sinodal 3**

M. en C.  
Armando  
Gómez  
Campos

**6. Datos del sinodal 4**

M. en C.  
María Eugenia  
Muñiz  
Díaz de León

**7. Datos del trabajo escrito**

Germinación y establecimiento de  
plántulas en invernadero de *Randia*  
*echinocarpa* Sessé et Mociño (Rubiaceae)  
88 p  
2015

## **Agradecimientos**

A mi asesora la Dra. Helia Reyna Osuna Fernández por toda su paciencia y dedicación.

A la M. en C. María Eugenia Muñiz Díaz de León por su ayuda, asesoría y préstamo de material durante el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Gilberto Vela de la UAM Xochimilco y al Biol. Oscar Cano por su ayuda con la caracterización del suelo del sitio de estudio.

A la Dra. Esther Aurora Ruiz Huerta y al Dr. Juan Miguel Gómez Bernal por su ayuda en el desarrollo de esta tesis.

Al Dr. Guillermo Laguna Hernández y a la Dra. Alicia Enriqueta Brechú Franco por su asesoría a lo largo del taller.

A Rosalía Ramos Bello del Laboratorio de Edafología de la Facultad de Ciencias por su ayuda con la caracterización del fósforo y potasio del suelo.

Al Biol. Jorge Santana Carrillo del Herbario de la UAM Iztapalapa por la identificación taxonómica del material botánico en estudio.

***Para mis abuelos***

*Caminante, son tus huellas el camino y nada más;  
Caminante, no hay camino, se hace camino al andar.  
Al andar se hace camino y al volver la vista atrás  
se ve la senda que nunca se ha de volver a pisar.*

## CONTENIDO

<b>1</b>	<b>Introducción</b> .....	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Marco teórico</b> .....	<b>4</b>
2.1	Propagación de plantas.....	4
2.2	Germinación.....	5
2.2.1	Factores internos o intrínsecos.....	6
2.2.2	Factores extrínsecos.....	7
2.3	Hormonas en la germinación.....	8
2.3.1	Auxinas.....	8
2.3.2	Giberelinas.....	9
2.4	Priming ó acondicionamiento.....	10
2.4.1	Osmopriming.....	10
2.4.2	Termopriming.....	11
2.4.3	Priming con hormonas.....	12
2.5	Relaciones planta-suelo.....	12
2.6	Especie de Estudio.....	14
2.7	Descripción de la especie.....	14
2.8	Usos y distribución.....	16
2.9	Investigaciones realizadas.....	18
<b>3</b>	<b>Justificación</b> .....	<b>18</b>
<b>4</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>19</b>
4.1	Objetivo General.....	19
4.2	Objetivos particulares.....	19
4.3	Hipótesis.....	19
<b>5</b>	<b>Método</b> .....	<b>20</b>
5.1	Sitio de Estudio.....	20
5.2	Colecta de material.....	23
5.3	Calidad del suelo.....	24
5.4	Procesamiento del fruto.....	24
5.4.1	Calidad de la semilla.....	28
5.4.2	Experimentos de germinación con acondicionamiento o priming.....	32
5.4.3	Análisis estadístico.....	34
5.4.4	Trasplante y supervivencia.....	35
5.4.5	Crecimiento con urea y auxinas.....	36
<b>6</b>	<b>Resultados</b> .....	<b>38</b>

6.1	Material Colectado .....	38
6.1	Calidad del suelo .....	38
6.2	Procesamiento del fruto y las semillas.....	40
6.2.1	Procesamiento del fruto.....	40
6.2.2	Procesamiento de la semilla .....	44
6.3	Calidad de la semilla.....	46
6.3.1	Viabilidad.....	46
6.3.2	Germinación.....	47
6.4	Experimentos de Germinación.....	48
6.4.1	Osmopriming.....	48
6.4.2	Termopriming.....	57
6.4.3	Priming con hormonas de crecimiento .....	60
6.5	Crecimiento con urea y auxinas .....	63
<b>7</b>	<b>Discusión .....</b>	<b>67</b>
7.1	Calidad del suelo .....	67
7.2	Calidad de la semilla.....	69
7.3	Osmopriming.....	70
7.4	Termopriming.....	73
7.5	Priming con hormonas .....	74
7.6	Crecimiento con urea y auxinas .....	78
<b>8</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>81</b>
<b>9</b>	<b>Literatura citada .....</b>	<b>83</b>

## RESUMEN

*Randia echinocarpa*, comúnmente llamada Granjel, es un arbusto de la familia Rubiaceae que habita en la selva baja subcaducifolia de varios estados de México. Esta especie tiene potencial medicinal, en general relacionado con problemas de riñón, ya sea para eliminar las piedras en los riñones o como agente diurético. Muchas plantas medicinales en México se han visto afectadas por la deforestación y por el consumo desmedido. En el caso de *Randia echinocarpa* se han observado disminuciones en las poblaciones, principalmente en el estado de Puebla, en el municipio de Tehuiztzingo. Aunado a esto, las plántulas de esta especie tienen una germinación y un crecimiento muy lentos, por lo cual se evidencia la necesidad de generar algún método para optimizar estos dos procesos. En este estudio se evaluó la respuesta de las semillas de *R. echinocarpa* al osmoprimering, termoprimering y al primering con hormonas y posteriormente se probó la adición de urea y auxinas para optimizar su crecimiento. Las semillas en los tratamientos de osmoprimering y termoprimering no mostraron diferencias significativas, sin embargo, las semillas con primering hormonal respondieron positivamente ante el estímulo. El primering con hormonas aumentó significativamente el porcentaje de germinación de las semillas en los tratamientos de giberelinas 50 ppm ( $70\% \pm 6.32$ ) y giberelinas 100 ppm ( $66\% \pm 4.76$ ) con respecto al grupo control ( $40\% \pm 6.38$ ) y a los tratamientos con auxinas ( $p=0.0023$ ). Además se estimuló la velocidad de germinación con respecto al grupo control (50 días y 85 días respectivamente). Esto resulta importante al tratar con la reproducción de plantas como *R. echinocarpa*, ya que estas pueden tardar hasta 4 meses en germinar. Esta lenta germinación se debe a factores internos de la semilla tales como una latencia dada por algún inhibidor o por las barreras mecánicas debidas a una testa dura. Las giberelinas juegan un papel muy importante en el debilitamiento del endospermo, posiblemente debido a la inhibición del ABA (ácido abscísico) y a la estimulación en la síntesis de enzimas. Por otro lado el crecimiento de las plántulas de *R. echinocarpa* es muy lento, con tasas de crecimiento de menos de 0.002cm por día. La adición de urea y de auxinas al sustrato durante los meses de octubre y diciembre, respectivamente, no pareció estimular el crecimiento de las plántulas. En los datos de crecimiento se puede observar una clara disminución en las tasas de crecimiento durante los meses fríos y un aumento en la tasa de crecimiento durante los meses con mayor temperatura y precipitación, por lo que los meses que se eligieron para la fertilización no fueron favorables. A pesar de no encontrar un aumento significativo en los tratamientos para estimular el crecimiento, los datos brindan un punto de partida para futuros estudios de *R. echinocarpa*.



## 1 INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional representa el conocimiento histórico sobre la tierra y el uso de las plantas medicinales que varios pueblos indígenas conservan. Esta medicina ha fungido, en muchos casos, como la única opción para aquellos con servicios de salud insuficientes (Konig, 2011).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en los años 70's decidió incorporar a la medicina tradicional en el combate de los problemas de salud pública. Este apoyo se dio a partir de la declaración de Alma Ata (1978), en el cual la OMS propuso apoyar el uso de recursos tradicionales en la medicina. Con este acto, se favoreció un incremento en la aceptación de medicinas alternativas como tratamiento (Taddei Bringas *et al.*, 1999). La OMS estima que más de un 80% de la población mundial depende principalmente de la medicina tradicional (Canter *et al.*, 2005). Para más de 40 millones de mexicanos, la medicina tradicional es la única alternativa debido a los altos costos de los medicamentos alópatas. Por su parte, en zonas rurales, la gente acude con los "chamanes" para recibir un tratamiento, mientras que en las ciudades la gente acude a los mercados dónde los vendedores les prescriben distintos remedios para las enfermedades. Se estima que hay cuatro médicos tradicionales por cada médico alópata (Jorand, 2008). Curiosamente, el uso de la medicina tradicional no se limita a los países en desarrollo, también un gran porcentaje de la población en países desarrollados están optando por la medicina tradicional, por ejemplo, un 25% de la población del Reino Unido toma este tipo de remedios (Canter *et al.*, 2005).

Por su parte, muchos doctores no están de acuerdo con el uso de plantas medicinales en los tratamientos ya que carecen de evidencias farmacológicas y estudios toxicológicos que prueben su eficacia. Aun así la medicina tradicional ha desarrollado tratamientos eficaces basados en los conocimientos acumulados a través de cientos de años, conocimientos que se han vuelto base en los estudios para fitomedicamentos. Hoy en día, tanto la medicina alópata como la medicina tradicional realizan importantes aportes a la prevención y curación de enfermedades (Taddei Bringas *et al.*, 1999).

México tiene cerca del 10% del total de especies conocidas. Se estima que alrededor de 7,000 de estas especies tienen algún tipo de uso ya sea medicinal, para combustibles, vestimentas, refugio o para necesidades culturales. De estas especies, 4,000 tienen propiedades medicinales y son utilizadas por la población mexicana. Se recolectan de forma silvestre aproximadamente 3,600 especies y solo 370 se cultivan en huertos familiares (Schlaepfer y Mendoza-Espinoza, 2010).

El comercio de plantas medicinales ha crecido mundialmente. En México al igual que en otros países, la mayor parte de las plantas medicinales se obtienen del medio silvestre. El

crecimiento en la demanda de plantas medicinales y su forma de obtención, ha generado una gran problemática que puede resultar en la desaparición de especies de gran importancia y en una reducción de la diversidad genética (Canter *et al.*, 2005; Hersch-Martinez, 1997). En México aproximadamente el 90% de la flora medicinal es de origen silvestre (Schlaepfer y Mendoza-Espinoza, 2010) lo que evidencia la necesidad de implementar un programa de propagación para cubrir la demanda y evitar la depredación y extinción de especies vegetales importantes (Osuna *et al.*, 2005; König 2011; Rendón *et al.*, 2001). Cabe mencionar que el uso de las plantas es el menor de los problemas ya que la destrucción de hábitats participa activamente en la extinción de miles de especies. Las tasas de extinción de las plantas han aumentado considerablemente en los últimos años, dejando a miles de especies amenazadas (Schlaepfer y Mendoza-Espinoza, 2010).

Lo anterior habla de la necesidad de recuperar el conocimiento tradicional de manera conjunta con la recuperación de la biodiversidad ya que, según Schlaepfer y Mendoza-Espinoza (2010), “la biodiversidad surge de la colaboración e interdependencia entre el medio y las culturas humanas.” Gran parte del conocimiento de plantas medicinales se encuentra en manos de pueblos indígenas, tanto en lo que se refiere a su uso como, de su reproducción.

*Randia echinocarpa* (Moc. et Sesse ex DC) también llamada Granjel pertenece a la familia Rubiaceae y ha sido usada para problemas de los riñones, problemas reumáticos, inflamación del riñón, dolores de cintura, problemas respiratorios, tos, inflamación de las vías urinarias, contra el mal de orín, para limpiar la vejiga y para las pierdas en los riñones, entre otras (Bye, *et al.*, 1991; Hersch y Fierro, 2001; Salinas *et al.*, 2009). Esta especie se distribuye en la costa del Pacífico de México (Bye, *et al.* 1991; Santos-Cervantes, *et al.*, 2007), desde el sur de Sonora (límite norte es el desierto de Sonora) y parte de Chihuahua (suroeste) hacia Guerrero y el suroeste de Puebla. El límite norte de la distribución de *R. echinocarpa* es el desierto de Sonora, y el límite sur es el río Balsas en Guerrero (Bye, *et al.* 1991). Existe una creciente disminución de las poblaciones de plantas debido a la pérdida de diversidad, las extinciones locales y la pérdida de hábitats, tal es el caso de *Randia echinocarpa*, por lo que se estudiará su propagación a través de la germinación de semillas y el establecimiento de las plántulas en invernadero para su posterior inserción en el medio natural.

## **2 MARCO TEÓRICO**

La creciente preocupación por la disminución de las poblaciones de plantas, la pérdida de diversidad, las extinciones locales y la pérdida de hábitats ha llevado a la búsqueda de estrategias de conservación de este recurso. El cultivo doméstico o en invernadero es una alternativa viable para superar los problemas dados por la extracción de plantas. Elegir esta opción representa una gran alternativa aunada a la protección, regulación y uso sustentable de plantas medicinales. (Canter *et al.*, 2005).

Los cultivos domésticos o en invernadero permiten la optimización de procesos importantes durante el crecimiento además de mejorar la calidad del producto que se busca obtener. Las condiciones extremas en las que se pueden encontrar los cultivos en el medio silvestre, pueden dañar las cosechas, mientras que en cultivos domésticos este tipo de condiciones extremas se pueden controlar fácilmente. Esto permite que se puedan germinar semillas casi en cualquier época del año. Otra ventaja del cultivo doméstico, es que se vuelve viable la manipulación de variación fenotípica para aumentar la concentración de determinado compuesto de importancia medicinal. Con esto se puede reducir la toxicidad y mejorar los extractos, dado que los metabolitos secundarios, compuestos importantes medicinalmente, se generan como adaptaciones ya sea a fluctuaciones de temperatura, luz, agua, condiciones del suelo, estrés, infecciones o herbivoría. La variación de estas condiciones puede favorecer la obtención del metabolito secundario deseado (Canter *et al.*, 2005).

En muchos casos el cultivo de plantas medicinales ha resultado complicado, ya que estas pueden tener requerimientos ecológicos muy específicos, como el suelo, la cantidad de agua, los procesos de degradación de la testa y la temperatura entre otros, además de tener tasas de germinación muy bajas. Pero es importante reconocer que esto se debe a un desconocimiento de los requerimientos esenciales de la planta durante su germinación y crecimiento. La baja germinación en estos casos se debe comúnmente a la infección por hongos o al daño mecánico de la semilla, problema que se puede resolver con técnicas adecuadas y un almacenamiento óptimo (Canter *et al.*, 2005).

### **2.1 PROPAGACIÓN DE PLANTAS**

La propagación es la multiplicación de plantas donde se conservan algunas de las características de las plantas madre en la descendencia. La propagación se da mediante la reproducción ya sea asexual o sexual de plantas. La reproducción asexual se refiere a un tipo de reproducción que no requiere de células sexuales ni semillas, se da mediante la división celular en

extremos o ápices de tallos, raíces y yemas, donde se encuentran los meristemos primarios, haciendo un duplicado de las células. La propagación sexual es aquella en la que se necesita la existencia de células sexuales masculinas y femeninas que a través de los procesos de polinización y fecundación forman la semilla, unidad fundamental de la propagación (Álvarez, 2011; Irigoyen y Cruz, 2005; Soc. Esp. Cien. Hort, 1998). Este tipo de propagación favorece la variabilidad en las especies, y es fundamental para la evolución y supervivencia de estas (Álvarez, 2011).

Para la propagación sexual de cualquier planta es importante conocer la estructura de la semilla. La semilla es la unidad fundamental para la formación de nuevas plántulas. Este órgano está compuesto por un embrión con radícula, un eje embrionario y cotiledones, un endospermo y una cubierta o testa. Las semillas tienen distintas formas para dispersarse dependiendo de sus características, algunas requieren de alta humedad en el ambiente, otras se dispersan por viento y otras se liberan de las vainas al estar maduras (Álvarez, 2011).

El éxito de la reproducción sexual depende de varios factores como la capacidad germinativa de la semilla que es determinada por factores genéticos y por la calidad de la semilla, determinada por su vigor. Por lo anterior, es recomendable antes de iniciar la siembra, realizar pruebas de viabilidad, humedad y germinación. Además de los factores anteriores, los factores ambientales de humedad, aireación en el suelo, temperatura y cantidad de luz son determinantes para la germinación y el crecimiento de las plantas. Este tipo de reproducción, se da con o sin la necesidad del humano, pero es una buena iniciativa hacia la conservación y el uso eficiente de los recursos, evitando así que las plantas se tomen del medio silvestre (Barahona y Sancho, 2000).

## **2.2 GERMINACIÓN**

La germinación según Moreno (1984) está definida como la emergencia y el desarrollo de las estructuras esenciales provenientes del embrión. Estas estructuras manifiestan la capacidad de la semilla para producir plantas normales en condiciones óptimas. Las estructuras esenciales de las plántulas germinadas normales son: el sistema radicular bien desarrollado, el hipocótilo y los cotiledones.

Las plántulas pueden presentar determinados defectos y aun así ser consideradas normales. Entre estos defectos se encuentra un daño superficial en el hipocótilo o cotiledones, siempre y cuando no afecte a los tejidos conductores y la emergencia de un solo cotiledón (en el caso de las dicotiledóneas). Por otro lado plántulas sin cotiledones, con fisuras o lesiones en el tejido conductor del hipocótilo, epicótilo o raíz, o deformes, se consideran como anormales y tendrán un desarrollo pobre y una baja probabilidad de sobrevivir (Moreno, 1984).

La germinación de semillas es un proceso complejo y dinámico donde se activa la semilla para pasar de una etapa de almacenamiento a una de movilización. El proceso de germinación comprende tres fases principales, la primera de imbibición o hidratación, en la cual la semilla permite la entrada de agua, pero ocurre poca actividad metabólica; en la segunda fase poca agua entra a la semilla y la actividad metabólica aumenta; en la tercera fase la cantidad de agua dentro de la semilla coincide con el crecimiento y emergencia de la radícula. La primera y segunda fase son reversibles, en cambio la tercera fase es irreversible ya que se dio la emergencia de la radícula. La duración de estas fases depende de las propiedades de las semillas, del contenido de compuestos hidratables y de la permeabilidad de las cubiertas. Además de esto las condiciones del medio como la humedad, el sustrato y la temperatura, afectan la germinación de las semillas (Ashraf y Foolad, 2005; García Breijo, *et al.*, 2006).

Existen múltiples razones por las cuales una semilla puede no germinar. Primero que nada, hay semillas con una cubierta impermeable que dificulta la entrada de agua a la semilla y por lo tanto la activación del metabolismo. Este tipo de semillas se llaman semillas duras y posiblemente requieran de procesos específicos que debiliten la cubierta (Moreno, 1984). Por otro lado hay semillas latentes, las cuales tienen una actividad mínima, sin intercambio de nutrientes, sin crecimiento, y con una función respiratoria mínima (Álvarez, 2011), donde las semillas son viables pero no germinan, y finalmente hay semillas consideradas muertas (Moreno, 1984).

### **2.2.1 Factores internos o intrínsecos**

Los factores que afectan la germinación de las semillas son de dos tipos, los factores internos o intrínsecos y los factores externos o extrínsecos. Los factores internos principales son: la madurez y la viabilidad de las semillas. Una semilla madura es aquella que ha alcanzado un desarrollo morfológico y fisiológico completo. La madurez morfológica se alcanza cuando las estructuras de la semilla se han desarrollado. Es importante aclarar que aún a pesar de que la semilla sea morfológicamente madura, en algunos casos puede ser incapaz de germinar debido a que aún no ha madurado fisiológicamente. La maduración fisiológica consiste en la pérdida de sustancias que inhiben la germinación o en la acumulación de sustancias que la promuevan. En esta maduración existen reajustes hormonales y cambios en la sensibilidad de los tejidos a distintas sustancias. En muchos casos la madurez fisiológica se alcanza al mismo tiempo que la morfológica, pero puede existir una diferencia entre estas (García Breijo *et al.*, 2006).

La viabilidad de las semillas es otro factor intrínseco muy importante, que se refiere al periodo de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad germinativa. Este factor depende

del tiempo en el cual las semillas permanecen viables. La viabilidad es variable en las distintas especies, algunas como *Nelumbo nucifera* tienen un longevidad de más de 250 años, mientras que otras pueden ser viables solo unos días como las semillas de sauces o arce (García Breijo *et al.*, 2006).

Las semillas que presentan un retraso en la germinación, pueden ser semillas latentes. Puede existir una latencia endógena o una latencia exógena. La latencia exógena se da por las cubiertas seminales impermeables. Estas cubiertas actúan como barrera para el paso de agua. En condiciones naturales, la flora del suelo y la temperatura pueden ayudar a debilitar las cubiertas y volverlas impermeables. En laboratorio, estos procesos se pueden dar mediante una escarificación química o mecánica, en la cual se debilita la cubierta. Para la escarificación química se pueden usar sustancias como ácido sulfúrico o ácido clorhídrico o altas temperaturas, entre otras cosas, mientras que en la escarificación mecánica se perfora una parte de la cubierta (García Breijo *et al.*, 2006; Sanchis *et al.*, 2004).

### **2.2.2 Factores extrínsecos**

Los factores externos o extrínsecos son aquellos que dependen del ambiente, como la cantidad de agua, la temperatura y los gases. La temperatura es uno de los factores extrínsecos más importantes en la germinación ya que influye en las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones que ocurren en la semilla al rehidratarse. La actividad de cada enzima depende de la temperatura, soportando un mínimo y un máximo de temperatura, donde el óptimo está en medio. Por esto mismo se da un rango de temperatura en el cual germinan las semillas. Con temperaturas extremas no se logrará favorecer la germinación. Este requerimiento varía de acuerdo a cada especie y se define como la temperatura a la cual germina el mayor número de semillas en el menor tiempo. En muchos casos los cambios de frío a calor desencadenan el proceso germinativo.

El agua es otro factor importante para el proceso de germinación. La captación de agua por la semilla durante la germinación es determinante. Este fenómeno permite una rehidratación de las reservas y una reactivación del sistema enzimático para la hidrólisis de estas reservas. Por su parte los gases, principalmente el oxígeno, son vitales para la germinación. La mayoría de las semillas requieren de un mínimo de 20% de oxígeno para germinar, aunque hay especies como el arroz, que requieren de cantidades mínimas de oxígeno (0.2%). La luz también es necesaria para la germinación de muchas semillas (García Breijo *et al.*, 2006; Sanchis *et al.*, 2004).

Además de la temperatura hay otros factores bióticos y abióticos que afectan la germinación de la semilla como la compactación del suelo, falta o exceso de agua, la salinidad y patógenos o insectos (Ashraf y Foolad, 2005).

### **2.3 HORMONAS EN LA GERMINACIÓN.**

Las hormonas vegetales son un grupo de sustancias orgánicas que se producen de manera natural y que afectan los procesos fisiológicos de las plantas a bajas concentraciones. Influyen en los procesos de crecimiento, diferenciación, desarrollo y movimiento de los estomas, entre otros. Las hormonas son sustancias que se transfieren de una parte del organismo a otra. Las primeras hormonas descubiertas fueron las auxinas que inducen una respuesta de crecimiento en zonas distantes de su sitio de síntesis.

La influencia de las hormonas vegetales sobre el crecimiento y el desarrollo de las plantas depende de la cantidad presente, de su ubicación y de la sensibilidad del tejido a determinada hormona, siendo la concentración la característica que tiene mayor importancia, ya que aunque la sensibilidad se modifique, un cambio en la concentración de la hormona puede provocar una reacción (Davies, 2004).

#### **2.3.1 Auxinas**

Desde hace muchos años, las auxinas se usan comercialmente en la propagación de plantas. Esto se debe a que las auxinas promueven la formación de raíces adventicias (Davies, 2004).

El ácido indolacético (IAA) es la auxina más común. Este se sintetiza del triptofano principalmente en los primordios foliares y en hojas jóvenes así como en semillas en desarrollo. Se transporta de célula a célula, principalmente por el cambium y el procambium. Esta hormona tiene múltiples funciones en las plantas, entre las que están las siguientes:

- Crecimiento de células
- División celular
- Diferenciación del tejido vascular
- Estimulación de la iniciación de la raíz y su posterior diferenciación.
- Tropismo en respuesta a la gravedad y a la luz.
- Induce la fructificación
- Induce florecimiento

A concentraciones muy altas, las auxinas pueden ser inhibitorias (Davies, 2004).

### **2.3.2 Giberelinas**

El ácido giberélico o GA<sub>3</sub> es la giberelina más común. Estas se sintetizan del gliceraldehido-3-fostato en tejidos jóvenes y semillas en desarrollo. Su biosíntesis empieza en el cloroplasto y se transporta por el floema y xilema. Las principales funciones de esta hormona son las siguientes:

- Crecimiento del tallo por la estimulación de la división y elongación celular.
- Induce la germinación de semillas, principalmente en aquellas que requieren de estratificación en frío o germinación inducida por la luz.
- Producción de enzimas durante la germinación, principalmente de la alfa amilasa.
- La aplicación exógena de esta hormona puede inducir el crecimiento del fruto (Davies, 2004).

La concentración de giberelinas en las plantas va de un rango de 10<sup>-11</sup> a 10<sup>-19</sup> g/g (Davies, 2004). En especies dicotiledóneas como la lechuga, la germinación de semillas se estimula por la exposición a la luz. Esta reacción promueve la producción de giberelinas que inducen la síntesis de enzimas para digerir el endospermo que puede estar actuando como barrera mecánica para la emergencia de la radícula (Davies, 2004).

### **2.3.3 Ácido abscísico**

El ácido abscísico o ABA es un regulador del crecimiento. Este actúa regulando el inicio y el mantenimiento de la dormición de semillas y yemas en la respuesta al estrés principalmente hídrico (Taiz y Zeiger, 2006). Las principales funciones del ABA son:

- Inducir la adquisición de la tolerancia a la desecación.
- Inducir la latencia en las semillas. Usualmente las semillas secas tienen grandes cantidades de ABA ya que el estrés hídrico estimula la síntesis de este, desencadenando una serie de respuestas adaptativas.
- Puede causar el cierre de los estomas en algunas plantas, disminuyendo con esto la pérdida de agua por transpiración y los requerimientos hídricos de la planta.
- Acelera la absorción de hojas y frutos.
- Influye en aspectos del desarrollo interactuando como antagonistas de citoquininas, giberelinas y etileno (García, *et al.*, 2006; Gómez y García, 2006; Taiz y Zeiger, 2006).



## **2.4 PRIMING Ó ACONDICIONAMIENTO**

El priming es un método que consiste en la hidratación parcial de las semillas iniciando los procesos metabólicos involucrados en la germinación sin la emergencia de radícula. Usualmente, después del priming las semillas se secan nuevamente, para que al ser embebidas presenten una rápida germinación (Eskandari y Kazemi, 2011). En las últimas dos décadas, el priming en semillas se ha vuelto una práctica común debido a que incrementa la tasa y la uniformidad en la germinación y emergencia de muchas plantas (Bradford, 1986; Eskandari y Kazemi, 2011). Entre las técnicas comunes se encuentra el osmopriming (imbibición de semillas en soluciones osmóticas), halopriming (imbibición en soluciones salinas), hidropriming (imbibición en agua), termopriming (imbibición de semillas en agua a altas o bajas temperaturas) y el priming con hormonas. En general cualquiera de estos tratamientos aumentan el vigor de las semillas, además de que pueden debilitar el endospermo y permitir una mejor emergencia de la radícula (Ashraf y Foolad, 2005).

La falta de rendimiento en las semillas, principalmente por su falta de uniformidad al germinar, es una característica no deseada en la agricultura, que demanda que las semillas germinen rápido y uniformemente para un óptimo establecimiento. Por lo que para minimizar este problema se han utilizado tratamientos pre germinativos que mejoren la germinación de las semillas, tales como el priming (McDonald, 2000).

### **2.4.1 Osmopriming**

Se define al acondicionamiento osmótico de semillas u osmopriming de semillas como un tratamiento de pre-siembra en el cual las semillas se remojan en una solución osmótica que permite la imbibición pero no la emergencia de la radícula a través de la cubierta seminal (Ashraf y Foolad, 2005; López y Piedrahíta, 1998). Este ayuda a reducir el tiempo de germinación, a sincronizarla y a mejorar sus porcentajes, debido a que el movimiento de agua ocurre de forma espontánea, desde regiones donde el agua es abundante y con alta energía libre (mayor potencial hídrico  $\Psi_w$ , indicado por un valor menos negativo), hacia regiones con baja energía libre (menor  $\Psi_w$ =valor más negativo) (Ospina-Yepes, *et al.*, 2013). Distintas soluciones se han usado con este propósito, tales como el  $K_3PO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $MgSO_4$ ,  $NaCl$ , glicerol y manitol (Janick, 1992).

Se ha demostrado que el priming mejora la germinación y la emergencia de semillas de distintas especies, principalmente de vegetales pequeños y pastos. Las semillas del tomate a soluciones de PEG a -0.8MPa (-8 atm) mostraron un aumento en la germinación en medios salinos.

En el caso del pepino (*Cucumis sativus*) en soluciones con manitol al 0.7 M mejoraron su germinación. Además el osmopriming aumentó las tasas de crecimiento de la radícula, mejoró la emergencia de las semillas, la expansión de los cotiledones y de las primeras hojas en el pepino (Ashraf y Foolad, 2005).

#### **2.4.2 Termopriming**

La germinación de las semillas se puede ver afectada por cambios en las temperaturas del medio externo. Cada especie tiene requerimientos óptimos de temperatura, sin embargo los procesos pregerminativos con altas o bajas temperaturas pueden resultar favorables para las tasas de germinación. A este tipo de tratamientos se les conoce como termopriming. En algunas especies la germinación puede verse inhibida por altas temperaturas, fenómeno conocido como termo-inhibición. Se ha probado que esta inhibición puede ser interrumpida mediante el termopriming. En la espinaca (*Spinacia oleracea*) el 50% de la germinación se alcanza más rápido en semillas con termopriming (Huang *et al.*, 2002). Las semillas de *Ensete ventricosum*, llegaron a un máximo de germinación después de ser embebidas en agua a 40°C por 24-48 horas (Tesfaye, 1992). En el caso de la “bitter gourds”, se requiere de temperaturas de entre 25-28°C para germinar. En algunos casos una temperatura excesiva puede llegar a dañar a la semilla, sin embargo la temperatura óptima varía de acuerdo a la especie. Se ha probado la relación entre el termopriming y la actividad de determinadas enzimas que pueden debilitar al endospermo y a eliminar la latencia de las semillas (Ashraf y Foolad, 2005).

La mayor parte de las semillas que requieren de procesos de enfriamiento, contienen lípidos y proteínas en lugar de almidón como sustancia de reserva en el endospermo. Durante los procesos de enfriamiento el embrión puede crecer considerablemente debido a la movilización de compuestos de nitrógeno y carbono de los tejidos de reserva. A causa de la degradación de lípidos y proteínas, se genera una acumulación de azúcar que da energía al embrión. Esta acumulación de azúcar, modifica la presión osmótica facilitando la entrada de agua a la semilla (Salisbury y Ross, 1992). Esta acumulación de azúcar es común para aquellas semillas que requieren de enfriamiento, además este proceso puede estar desintegrando a los inhibidores permitiendo la activación y acumulación de giberelinas y citocininas (Khan, 1977; Ashraf y Foolad, 2005).

Además de los efectos sobre la germinación de las semillas, el termoprimering tiene efectos en el establecimiento de las plántulas. En el caso de las semillas de tomate sometidas a temperaturas de 50-60°C se observó un aumento significativo en el número de hojas, el ancho del tallo, el número de flores entre otras cosas (Klein and Hebbe, 1994) También se han encontrado efectos positivos en las semillas de algodón, probando que el termoprimering tiene efectos sobre el crecimiento de las plantas (Ashraf y Foolad, 2005).

### **2.4.3 Priming con hormonas**

La meta principal al intentar establecer un cultivo es obtener una germinación rápida y uniforme. Las fitohormonas tienen un papel muy importante tanto en la respuesta de las plantas al estrés como para su adaptación. La aplicación exógena de auxinas, giberelinas y citocininas ayudan a que las plantas respondan a situaciones de estrés salino, a mejorar la germinación, el crecimiento y el desarrollo (Afzal *et al.*, 2005; Yarnia y Farajzadeh, 2012).

Se ha probado que el uso de priming con hormonas ha aumentado el establecimiento de las plántulas en suelos salinos y no salinos. La imbibición de semillas con concentraciones óptimas de fitohormonas ha mostrado ser benéfica para el crecimiento de algunas especies de plantas, aumentando la reserva de nutrientes debido al aumento en las actividades fisiológicas y por la proliferación de la raíz (Afzal *et al.*, 2005).

## **2.5 RELACIONES PLANTA-SUELO**

El suelo es uno de los principales factores que afectan el establecimiento y el desarrollo de una planta. Las propiedades físicas y químicas son importantes para la relación entre el suelo y la planta. Las propiedades físicas incluyen la textura, la profundidad, la conductividad, la compactación y la capacidad de retener agua, entre otras. Las propiedades químicas incluyen la fertilidad, la capacidad de intercambio catiónico, el pH, la materia orgánica, y el contenido de macro y micronutrientes.

El suelo proporciona a las plantas los elementos esenciales para su desarrollo. Entre estos están el soporte mecánico, los nutrientes, el agua y el oxígeno para la respiración. Existen dos tipos de nutrientes, los micronutrientes y los macronutrientes (Thompson y Troeh, 1988). Los macronutrientes son aquellos que se necesitan en grandes cantidades como el carbono, oxígeno, nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre (Kass, 1998; Thompson y Troeh, 1988). Los micronutrientes son aquellos que requiere la planta en una muy pequeña pero vital cantidad

(Thompson y Troeh, 1988). Entre los micronutrientes están el hierro, cobre, boro, zinc, manganeso, molibdeno y cloro (Kass, 1998).

Solo un pequeño porcentaje de los nutrientes presentes en el suelo se encuentra disponible para las plantas, ya que el resto está ligado a la fracción mineral o a la materia orgánica, haciéndolos inaccesibles para las plantas (Thompson y Troeh, 1988). El contenido óptimo de los nutrientes se refiere a una adecuada concentración de estos en la solución del suelo, donde la planta puede absorberlos fácilmente. Sin embargo un desbalance en la cantidad de algún nutriente puede generar un antagonismo, donde grandes cantidades de un nutriente bloquea la absorción de otro. Los antagonistas principales son el calcio y el magnesio, el calcio y el potasio y el magnesio y el potasio. Un exceso de alguno de esto puede generar la deficiencia de otro. También pueden existir deficiencias de los nutrientes en el suelo, que afectan el crecimiento de las plantas (Kass, 1998).

## 2.6 ESPECIE DE ESTUDIO

*Randia echinocarpa* (Moc. et Sesse ex DC) también llamada Granjel, Grangel, Chacua (nahuatl o purépecha que significa quelite o vegetal o se refiere al contenedor usado en un juego antiguo, respectivamente ya que el fruto seco tiene una cascarilla muy gruesa que sirve como contenedor). También se le puede encontrar con el nombre de Cuahuixcoloctli en Morelos, Asagola, Kakawari, Papache (Chihuahua, Sonora, Sinaloa) (zona norte), Crucillo, Granjel, Tecoloche, Chacua (Zona sur) y en el mercado de Sonora se ha encontrado que también lo llaman “Cabeza de negro” dado su parecido con el cabello ondulado (rizado) de los negros (Bye, *et al.* 1991; Gómez-Pompa, 1993) (Figura 1).



**Figura 1.** Distribución de los nombres comunes de *Randia echinocarpa*. C: Crucillo, G: Granjel, K: Kakawari, P: Papache, T: Tecoloche, X: Xacua. (Bye, *et al.* 1991).

## 2.7 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

**Familia:** Rubiaceae (Bye, *et al.* 1991; Salinas *et al.*, 2009)

**Subgénero:** Basanacantha

**Sinónimos:** *Basanacantha echinocarpa* (Ses. Et Moc. Ex DC.), *Solena echinocarpa*, *Genipa echinocarpa*, *Randia aculeata* (Bib. Dig. Med. Trad. Mex.)

*Randia echinocarpa* es un arbusto de entre 2 y 3m de altura con ramas grisáceas. Estas terminan en 4 espinas, de 1 a 3 cm, y tiene **hojas** sésiles, con una lámina de forma variada, usualmente

ovada, elíptica, u obovada. Miden entre 4.5 y 8.5cm por 2 a 5 cm y tienen un ápice obtuso, acuminado o agudo. Son hojas opuestas, siempreverdes ( Figura 2).

Es una planta dioica con **flores** que son usualmente terminales, unisexuales y sésiles.



a)

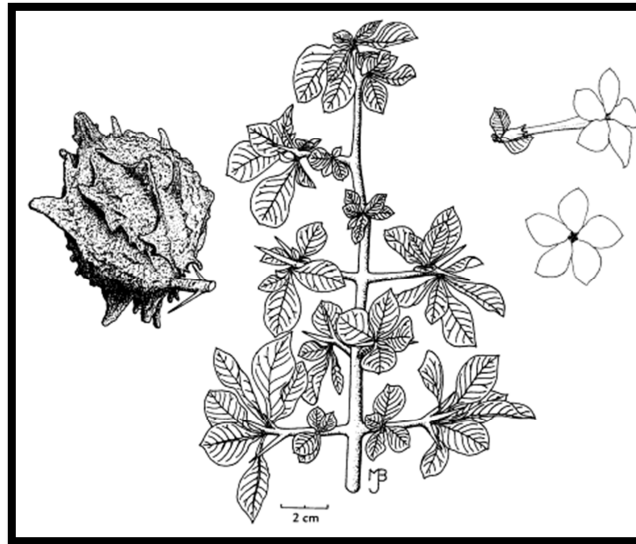


b)

**Figura 2** a) Planta de Randia echinocarpa de aproximadamente 3m de altura ubicada en el pueblo de Tlachinola, Puebla. b) Rama de Randia echinocarpa, donde son visibles las características de las hojas y las espinas terminales.

Los **frutos** son subglobosos de 4.5-10cm y están cubiertos por una superficie irregular con protuberancias de entre 0.5-3cm (ver Figura 3). Estos frutos son verdes, aunque ya maduros se tornan amarillos o cafés. Las **semillas** son redondas cubiertas por una pulpa negra al madurar, la pulpa inmadura es color crema. Estas presentan una cutícula que rodea al endospermo de la semilla, por lo que se les confiere la característica de dureza e impermeabilidad. El endospermo está compuesto por proteínas como sustancia de reserva en lugar de almidón. El embrión

presenta una forma de hongo y está compuesto por cotiledones y una radícula-hipocótilo (De la Palma, 2013). La época de floración corresponde a los meses de marzo a julio y los frutos maduran de julio a marzo (Borhidi, 2006; Bye *et al.*, 1991).



**Figura 3** Ilustración de *Randia echinocarpa* (Felger, et al., 2001).

## 2.8 USOS Y DISTRIBUCIÓN

Esta especie se distribuye en la costa del Pacífico de México (ver Figura 4) (Bye *et al.* 1991; Santos-Cervantes *et al.* 2007). Usualmente crece entre el nivel del mar y los 1700 msnm. La mayoría de las poblaciones se encuentran entre los 255 y los 1200 msnm. Se distribuye desde el sur de Sonora (límite norte es el desierto de Sonora) y parte de Chihuahua (suroeste) hacia Guerrero y el suroeste de Puebla. El límite norte de la distribución de *R. echinocarpa* es el Desierto de Sonora, y el límite Sur es el río Balsas en Guerrero (Bye *et al.*, 1991).

La primera referencia publicada sobre su uso medicinal fue la de Maximino Martínez quien en 1939 publicó sobre las plantas medicinales de México (Gómez-Pompa, 1993) ubicando a esta especie en la medicina popular. Por otro lado se tienen registros sobre otros usos en 1885, cuando Edward Palmer colectó el fruto para usarlo como alimento y como tinte. Dado que no hay registros dentro de la herbolaria mexicana con respecto a *R. echinocarpa* se cree que solo se usaba como remedio local en el centro de México, pero que a finales del siglo XIX y principios de XX se difundió su conocimiento (Bye *et al.*, 1991).



**Figura 4** Mapa de distribución de *Randia echinocarpa* (Bye et al., 1991).

*Randia echinocarpa* ha sido usada para problemas de los riñones, problemas reumáticos, inflamación del riñón, dolores de cintura, problemas respiratorios, tos, inflamación de las vías urinarias, contra el mal de orín, para limpiar la vejiga y para las piedras en los riñones, entre otras (Bye et al., 1991; Hersch y Fierro, 2001; Salinas et al., 2009). El fruto se prepara en infusión o por decocción: 1 fruto por  $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$  litro de agua. Se toma como té o como “agua de uso” tres veces al día (Bye et al., 1991). También se aconseja tomar el cocimiento de las hojas (3 veces al día). El té del fruto o de las hojas se emplea para la tos, la circulación, la diabetes y la diarrea. En algunos casos también se utilizan las raíces.

Otro de los posibles usos de *Randia echinocarpa* es como anticancerígeno. Muchas plantas en México se han probado científicamente con respecto a sus usos cancerígenos y *Randia echinocarpa* a pesar de no ser una de estas, se encuentra como opción a probar. Varias plantas de la familia Rubiaceae tales como *Hamelia patens*, *Hintonia latiflora* y *Morinda royoc*, se han reportado con actividades anticancerígenas. *Hamelia patens* se ha reportado para el cáncer cervical, *H. latiflora* para el cáncer gástrico y *M. royoc* para tumores (Alonso-Castro et al., 2011).



Además *Randia echinocarpa* se encuentra en diuréticos comunes como el “Riñosán” y la “tisana uva.” Finalmente, aunado a los usos medicinales, la pulpa del fruto se usa como aditivo para la fermentación, para hacer tinta azul y como alucinógeno (Bye *et al.*, 1991; Cortés, 2000).

## 2.9 INVESTIGACIONES REALIZADAS

Santos Cervantes *et al.* (2007) reportan por primera vez los efectos antioxidantes y antimutagénicos del fruto de *Randia echinocarpa*, colectada en Sinaloa. El ácido ursólico y oleanólico que se encuentran en el fruto de *R. echinocarpa* tienen actividades antioxidantes, antimutagénicas y anticancerígenas. Estos componentes reducen la clastogenicidad de la desoxirubicina en células de la medula de ratones (Santos-Cervantes *et al.*, 2007).

Del fruto se han aislado compuestos tales como el manitol, el B-sitosterol, ácido quinóvico, oxoquinóvico, ursólico y oleanólico (Santos-Cervantes *et al.*, 2007), pero según Bye (1991) solo el manitol es osmodiurético, sin embargo esto no explica las propiedades diuréticas atribuidas a esta planta.

Esta especie es ampliamente utilizada para trastornos urinarios en los estados de Guerrero, Morelos, Michoacán y Sonora. La gente toma decocciones del fruto tres veces al día. Algunos estudios mencionan que la administración oral de *Randia echinocarpa* si actúa como diurético, pero favorece la formación urolítica (Vargas y Pérez, 2002).

Por otro lado, Alarcón- Aguilar, *et al.* (1998), realizaron estudios en cuanto a las propiedades anti-hiperglicémicas del fruto. El extracto pareció disminuir la glicemia, pero no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Además de esto mencionan que se ha probado que el extracto acuoso del fruto acelera la cicatrización de heridas en ratas (Alarcón- Aguilar, *et al.*, 1998).

No se encontraron trabajos en cuanto a la propagación de *Randia echinocarpa*, por lo que esta planta se extrae de medio silvestre como lo mencionan algunos autores (Hersch y Fierro, 2001; Bye, *et al.* 1991).

## 3 JUSTIFICACIÓN

*Randia echinocarpa* es una planta medicinal con diversos usos registrados. La recuperación del conocimiento sobre la medicina tradicional puede generar grandes beneficios a la salud de muchas poblaciones. Sin embargo, el uso indiscriminado de recursos ha generado la pérdida de biodiversidad y de hábitats, poniendo en peligro a muchas especies. La comunidad en Tehuiztzingo,

Puebla ha señalado que las poblaciones de *Randia echinocarpa* han disminuido en la región, por lo que se evidencia la necesidad de implementar un plan de propagación para esta especie ya que no existen estudios respecto a esto. Se evidencia la necesidad de motivar la propagación de esta especie en las comunidades que hacen uso del recurso.

#### **4 OBJETIVOS**

##### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la germinación de semillas de *Randia echinocarpa* y el desarrollo de plántulas en invernadero.

##### **4.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

- a) Determinar los porcentajes de viabilidad y germinación de las semillas recién colectadas.
- b) Evaluar el efecto del osmopriming, termopriming y priming con hormonas, en la germinación de semillas de *Randia echinocarpa*.
- c) Evaluar el crecimiento de las plántulas de *R. echinocarpa* con la aplicación de urea y auxinas.

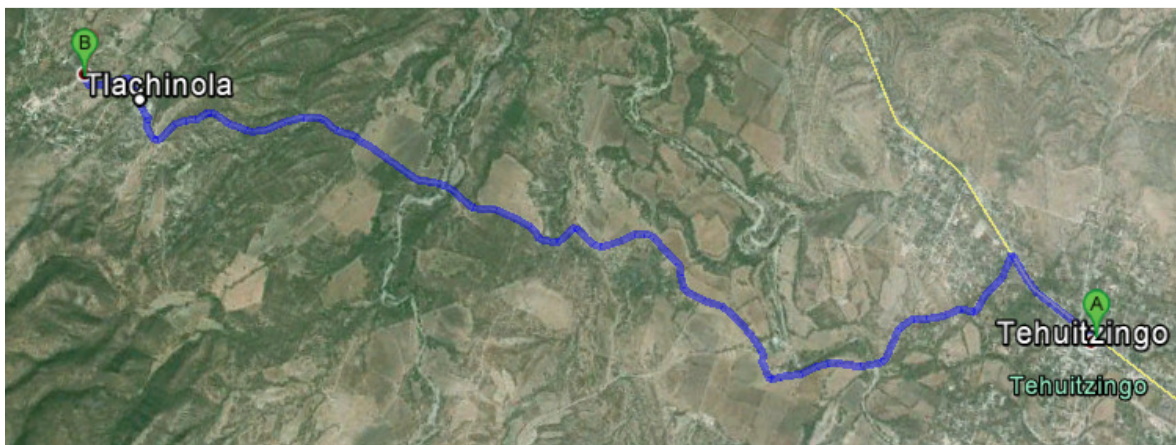
##### **4.3 HIPÓTESIS**

Los tratamientos de osmopriming, termopriming y priming con hormonas, permitirán mejorar la germinación y el establecimiento de las plántulas de *Randia echinocarpa*. La aplicación de urea y auxinas durante la etapa de plántula, estimulará su crecimiento mediante la formación de raíces.

## 5 MÉTODO

### 5.1 SITIO DE ESTUDIO

Los frutos de *R. echinocarpa* fueron colectados en el pueblo de Tlachinola, situado en el Municipio de Tehuiztzingo al sur del estado de Puebla. Tlachinola se encuentra a una altitud de 1073 msnm, a 18°19.979'N y 98°19.815'W (Figura 5). Aproximadamente 194 personas habitan el sitio. Toda la región se encuentra dentro de la cuenca hidrográfica del Río Atoyac. Hacia el norte y noreste está limitado por los Valles de Atlixco, Izúcar de Matamoros y de Chiautla, mientras que al suroeste colinda con la Sierra de Acatlán (Villegas –Soto, *et al.*, 1977).



**Figura 5** Mapa de Tehuiztzingo a Tlachinola, sitio de estudio (Googlemaps.com, 2014)



**Figura 6** Selaginella hallada cercana a *R. echinocarpa*.

El tipo de vegetación del sitio es la Selva Baja subcaducifolia (Figura 7) (Rzedowski, 1978). En este tipo de vegetación los árboles tienen una altura de entre los 8 y 15m y generalmente pierden su follaje durante la época seca del año que va de noviembre a abril (Villegas-Soto *et al.*, 1977). Este tipo de vegetación se distribuye en 17% del territorio mexicano en estados como Morelos, Guerrero, Michoacán, Oaxaca y Jalisco. Además de encontrar a *Randia echinocarpa*, objeto de estudio de este trabajo, en la zona se encuentran otras

plantas utilizadas en la medicina tradicional tales como *Selaginella lepydophylla* (Figura 6), *Serjania schiedeana* (Tres costillas), *Crecentia alata* (Cuatecomate), *Amphipterygium adstringens*

(Cuachalalate), *Hemiangium excelsum* (Cancerina) y *Haematoxylon brasiletto* (Palo Brasil) (Hersch-Martínez, 1997).



**Figura 7** Vegetación de selva baja subcaducifolia, característica de Tlachinola, Puebla.

El clima, según el sistema de clasificación de Köppen (modificado por García, 1964) es el siguiente:

A w<sub>o</sub>" (w) (i') g

Esto habla de un clima caliente con temperatura media anual entre los 22°C y los 26°C (Figura 8). El mes más frío tiene temperatura mayor a los 18°C y coincide con ser el mes más seco con presencia de canícula (sequía intraestival). Los meses de mayor precipitación son junio y septiembre. La precipitación durante el invierno es muy escasa, ni siquiera representa un 10% de la precipitación anual (Figura 9). En algunos casos se han identificado temperaturas máximas de hasta 36°C o mínimas de entre 12°C y 14°C (Soto-Mora y Jáuregui-Ostos, 1968).

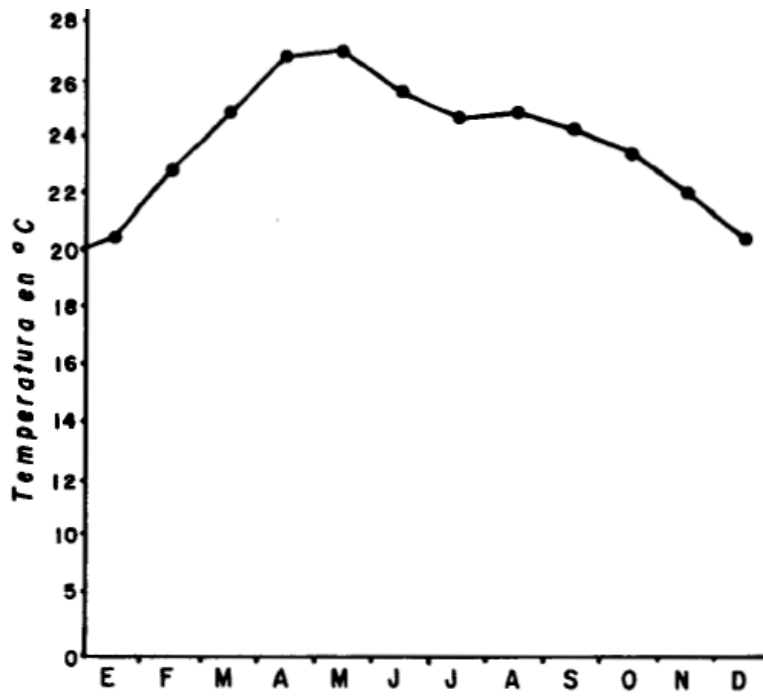


Figura 8 Temperatura media mensual de Tehuitzingo (Villegas-Soto, et al., 1977).

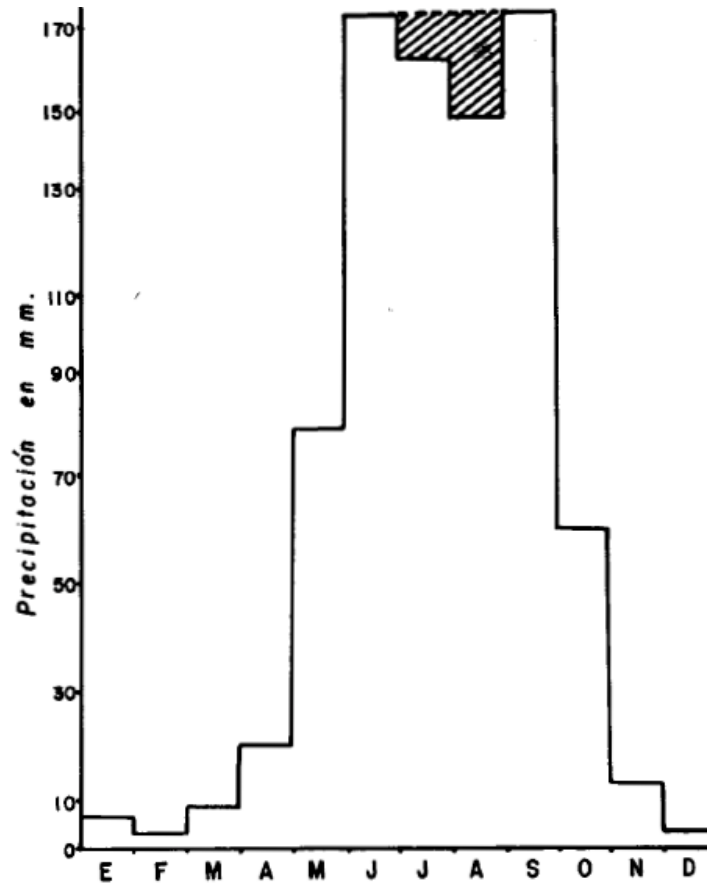
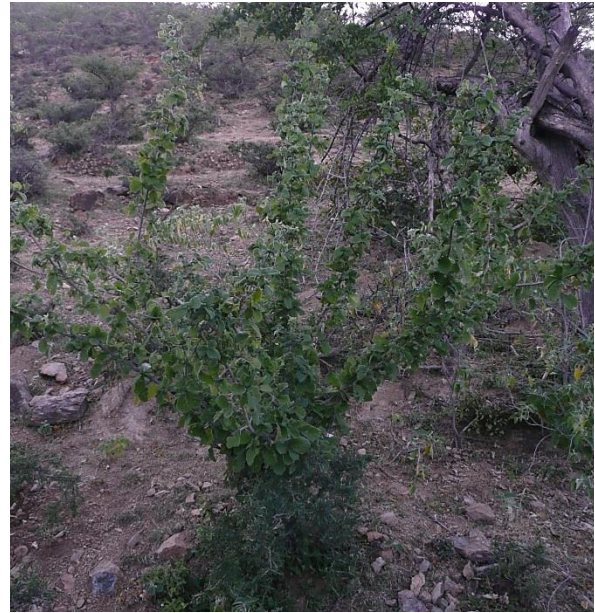


Figura 9 Precipitación mensual del municipio de Tehuitzingo (Villegas-Soto, et al., 1977).

## Zonas de colecta dentro del Sitio de Estudio



a)



b)



c)

**Figura 10.** Zonas de colecta de *Randia echinocarpa* en Tlachinola, Puebla. a) Zona 1, b) Zona 2, c) Zona 3.

### 5.2 COLECTA DE MATERIAL

Se realizó una colecta de material en Tlachinola, al sur de Puebla, México, en Octubre del 2012. La colecta de material consistió en la recolecta de frutos de *R. echinocarpa* y muestras de suelo en 3 zonas del pueblo (Figura 10). La zona 1 se encuentra muy cerca de asentamientos humanos, presenta una pedregosidad alta, poca vegetación y una ligera inclinación. La

zona 2 presenta una inclinación muy pronunciada (mayor a 45°), un suelo muy pedregoso, vegetación abundante y está lejos de asentamientos humanos. La zona 3 tiene una inclinación moderada (10°) una alta pedregosidad y se encuentra al borde de los caminos. En estas 3 zonas es en donde se encontraron plantas adultas con frutos, siendo evidente la escasez del recurso. Se contaron todas las plantas de las distintas zonas con y sin frutos y se tomaron las coordenadas de éstas. Se colectaron entre 5 y 10 frutos por planta, los cuales se guardaron en bolsas de tela para su transporte y posterior análisis.

Para las colectas del suelo, se realizaron triangulaciones en las 3 zonas con plantas de *Randia echinocarpa*. Las muestras de suelo se tomaron en los vértices de dichos triángulos, por lo que de cada sitio se colectaron 3 muestras de 1.5 kg de suelo. Estas colectas se realizaron en los primeros 15cm del suelo debido a lo pedregoso de este. El suelo se guardó en bolsas de plástico etiquetadas, para su transporte y posterior análisis.

Se colectaron ejemplares de *Randia echinocarpa* que fueron registrados en el herbario de la UAM Iztapalapa bajo el número 78159, identificados por el M en C. Jorge Santana Carrillo.

### **5.3 CALIDAD DEL SUELO**

El suelo colectado se secó a temperatura ambiente (27°C) por una semana. Las nueve muestras de suelo se tamizaron con una malla de 10mm y se molieron, por separado. Posteriormente se analizó el suelo en el Laboratorio de Edafología de la UAM Xochimilco, bajo la asesoría del Dr. Gilberto Vela y el Biólogo Oscar Cano.

Las pruebas físico químicas realizadas fueron las siguientes: Humedad del suelo (método gravimétrico), densidad aparente (método de la probeta), densidad real (método del Picnómetro), Textura (Método del hidrómetro de Bouyoucos), Materia orgánica (Walkley y Black, 1947), pH (Método Nessler), Capacidad de intercambio catiónico, cantidad de Na y K (Método para suelos ácidos y neutros), determinación de Ca y Mg (Método del Versenato).

Adicionalmente se realizaron las pruebas de Fósforo (Método de Bray and Kurtz) y Nitratos (Método del Ácido – Fenol-Disulfónico), con la asesoría de la Dra. Rosalía Ramos Bello en el Laboratorio de Edafología de la Facultad de Ciencias, UNAM.

### **5.4 PROCESAMIENTO DEL FRUTO**

Los 48 frutos colectados en Tlachinola, se etiquetaron por zona y planta. En la zona 1, sólo tres de los nueve ejemplares de *Randia echinocarpa* presentaron frutos. Colectando un total de 22 frutos de esta zona. En la zona 2, se encontraron solo dos ejemplares de los cuales uno tenía frutos y el otro no, por lo que se colectaron 8 frutos. Por último en la zona 3, se encontraron 7 ejemplares, de los cuales 3 tenían frutos, por lo que se colectaron 18 frutos.



**Figura 11** Frutos de *R. echinocarpa*

Todos los frutos se colocaron en charolas de plástico dentro de una estufa de secado a 28°C durante 18 días (Figura 11). Posterior al secado, se midieron cada uno de los frutos ecuatorial y longitudinalmente con ayuda de un vernier digital. La medida longitudinal se tomó desde el sitio de unión del fruto con la planta madre hacia abajo, mientras que la ecuatorial fue la medida perpendicular a esta, de extremo a extremo (Figura 12 y Figura 13) Los frutos se pesaron en una balanza analítica.

Los frutos se abrieron con un cincel y unas pinzas, debido a la dureza del exocarpo. Las semillas se encontraron inmersas en una pulpa negra y pegajosa que se retiró mediante lavados con agua destilada. Se realizaron 5 lavados en agua destilada de 5 minutos cada uno, para las semillas proveniente de cada fruto. Estos lavados se realizaron con un vaso de precipitados de 500 ml, en el que se colocaron 200 ml de agua destilada sobre un agitador magnético. Las semillas lavadas se pusieron a secar en charolas con papel secante por una semana (Figura 14).

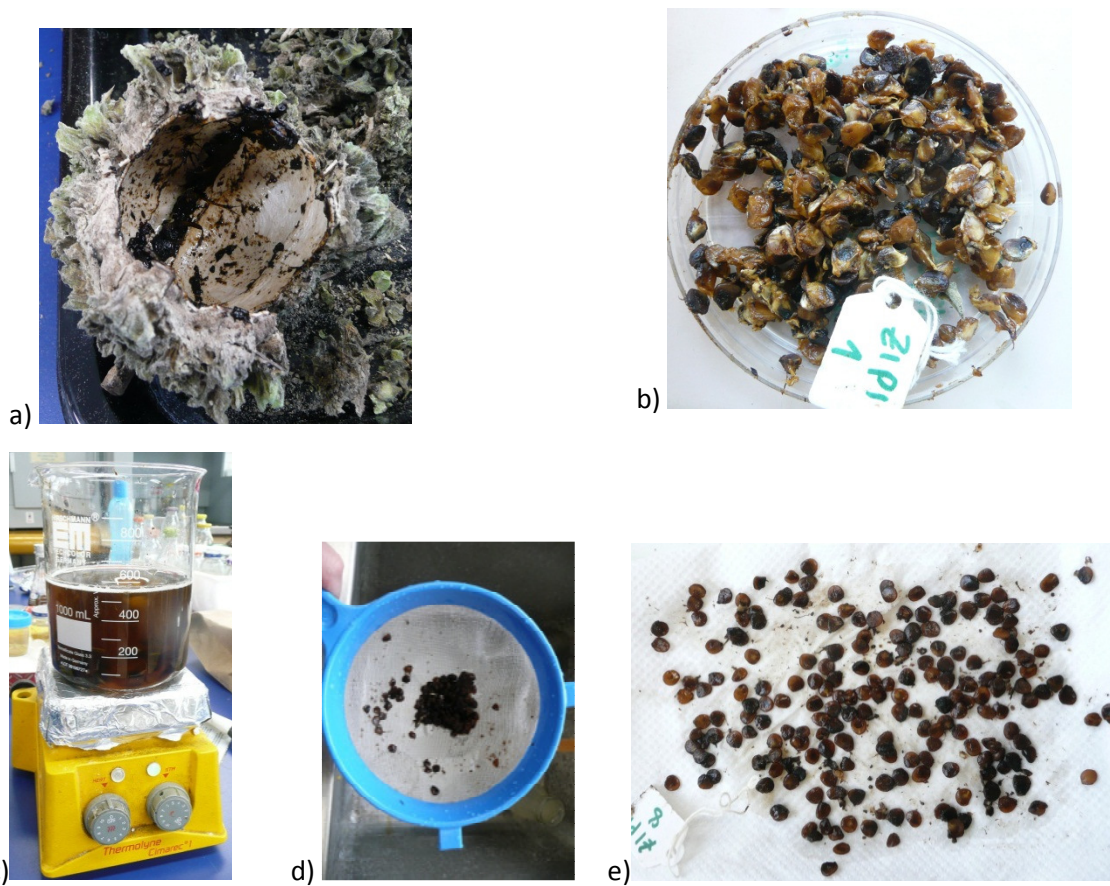


**Figura 12** Medida ecuatorial del fruto.



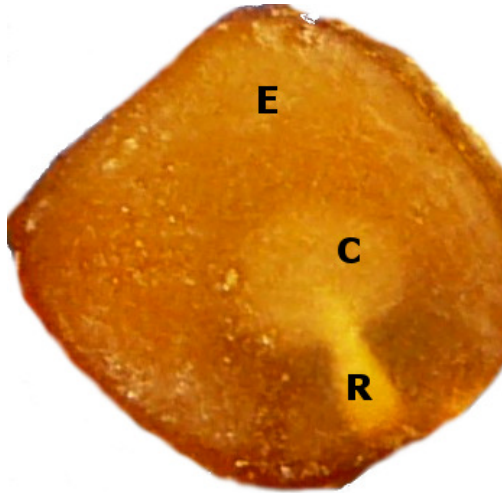
**Figura 13** Medida longitudinal del fruto.





**Figura 14** Proceso para obtener las semillas de *R. echinocarpa*. a) apertura del fruto. b) Semillas inmersas en una pulpa negra. c) lavado de semillas en el agitador magnético. d) Semillas en papel absorbente.

Transcurrida la semana, se contaron las semillas por fruto y se clasificaron en semillas en buen estado y semillas en mal estado. Esta clasificación se realizó de acuerdo a las características físicas cualitativas de las semillas. Las características fueron: la forma, el color, el grosor de la semilla, daños físicos, y en caso de ser posible identificación del embrión (Figura 15 y Figura 16). Después de haber contado las semillas en buen estado y en mal estado de cada fruto, se mezclaron en dos frascos de vidrio, uno para las semillas en buen estado y otro para las semillas en mal estado.



**Figura 15** Semilla de Randia echinocarpa en buen estado. E: endospermo; C: Cotiledones; R: Radícula.



**Figura 16** Semillas de Randia echinocarpa en mal estado

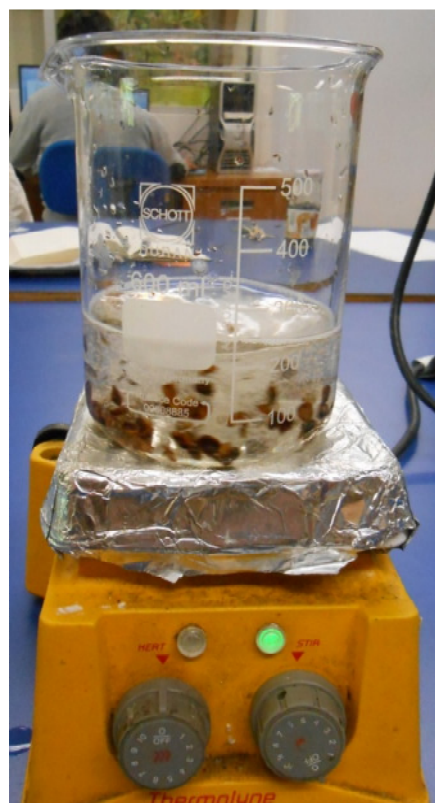
#### 5.4.1 *Calidad de la semilla*

Para evaluar la calidad y el estado de las semillas recién colectadas, se evaluó la viabilidad, la humedad y la germinación.

##### 5.4.1.1 *Lavado, esscarificación de imbibición de semillas*

###### **Lavado de semillas**

Las semillas se desinfectaron con sucesivos lavados en agua destilada y con la aplicación de distintos desinfectantes. En el primer lavado se metieron las semillas en 200ml de agua destilada con 12 gotas de Tween 20, durante 20 minutos, que con ayuda de un agitador magnético y una mosca, se mantuvieron en constante movimiento. Posteriormente se realizaron 3 lavados con 200ml agua destilada de 3 minutos cada uno. Por último se realizó un lavado en 200ml de agua destilada y 12 gotas de Microdyn® por 20 minutos.



**Figura 17** Proceso de lavado de semillas de *Randia echinocarpa* previo a la siembra.

###### **Escarificación**

La esscarificación es un proceso mecánico para permitir la entrada de agua a las semillas impermeables. En este caso se realizó una esscarificación mecánica con ayuda de un cortaúñas. Se tomó la semilla con la mano y posteriormente con el cortaúñas se cortó la semilla en el extremo contrario al embrión.



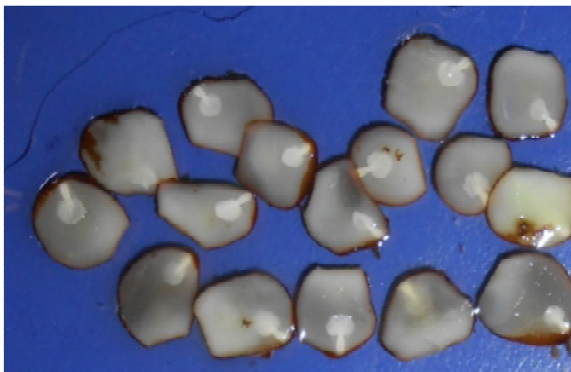
**Figura 18** Escarificación de las semillas de *Randia echinocarpa*.

### **Imbibición**

La imbibición es el proceso mediante el cual se permite la entrada de agua a la semilla para activar sus procesos metabólicos. Las semillas se colocan en frascos con agua y en las diferentes soluciones de priming, durante 24 horas, previas a la iniciación de las pruebas de germinación.

#### **5.4.1.2 Viabilidad**

La viabilidad se evaluó mediante el método del Tetrazolio el cual se basa en la reducción de la sal de Tetrazolio en Formazán. Para esta prueba se tomó un lote de 50 semillas, las cuales se



**Figura 19** Semillas cortadas a la mitad con ayuda de una navaja.

escarificaron y se pusieron en imbibición por 24 horas. Pasadas las 24 horas las semillas se cortaron a la mitad longitudinalmente con ayuda de una navaja afilada. (Figura 19) Posteriormente se seleccionó la mitad con el embrión más completo. Las 50 mitades de semillas se distribuyeron en 5 frascos de plástico negros con 10 semillas cada uno y 3ml de Tetrazolio al 1%, por 24 horas. Transcurridas las 24 horas se

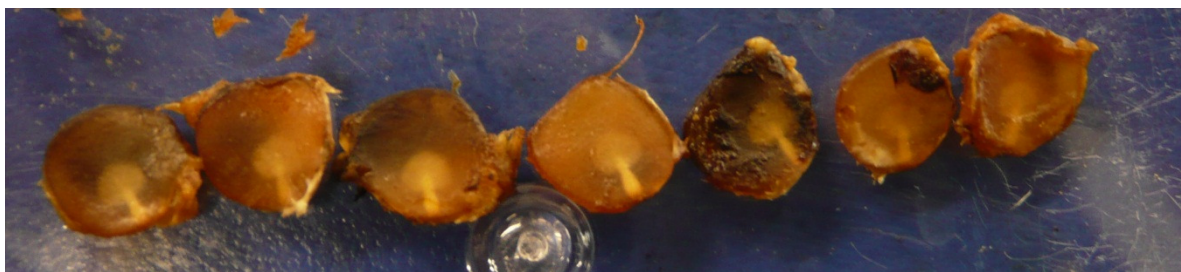
revisaron cuidadosamente las semillas, observando la coloración de las partes del embrión:

cotiledones, radícula y eje embrionario. Las semillas coloreadas de rojo se consideraron viables, mientras que las semillas que no estuvieran coloreadas de rojo se consideraron inviables. Semillas cuya coloración no resultara homogénea, fueron analizadas cuidadosamente, tomando como inviables aquellas semillas donde no hubo coloración roja en el extremo meristemático de la radícula, en la unión de la radícula con los cotiledones y/o los cotiledones. Por otro lado si estas partes se encontraban de color rojo, las semillas se consideraron viables.

El porcentaje de viabilidad se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Viabilidad} = \frac{\text{No. de semillas teñidas}}{\text{No. de semillas totales}} * 100$$

Los resultados se promediaron y se obtuvo su desviación estándar.



a)



b)

**Figura 20** a) Semillas de *R. echinocarpa* lavadas, previo a la escarificación e imbibición. b) Semillas de *R. echinocarpa* después de la prueba de viabilidad.

#### 5.4.1.3 Humedad

Para conocer el contenido de humedad de las semillas, se utilizó el método propuesto por Moreno (1984). En esta prueba se utilizaron 50 semillas distribuidas en 5 lotes de 10 semillas cada uno. Los lotes se colocaron en 5 cajas de aluminio de 5cm de diámetro con tapa. Posteriormente se introdujeron a un horno a 105°C durante 24 horas, eliminando así la humedad de estas. Para obtener el porcentaje de humedad se pesó: a) la caja con tapa vacía, b) la caja con tapa conteniendo a las semillas húmedas y c) la caja con tapa conteniendo a las semillas secas.

El porcentaje de humedad se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

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

Dónde:

P1: peso en gramos de la caja con tapa vacía

P2: peso en gramos de la caja con tapa conteniendo a las semillas húmedas

P3: peso en gramos de la caja con tapa conteniendo a las semillas secas (después del secado en la estufa).

Los resultados de las cinco cajas fueron promediados.

#### 5.4.1.4 Germinación

Para esta prueba se tomó un lote de 100 semillas. Estas 100 semillas se escarificaron y posteriormente se lavaron (Ver 5.4.1.1). Después de lavarlas se pusieron en imbibición por 24 horas. Pasadas las 24 horas, 50 de estas semillas se distribuyeron en 5 cajas Petri, 10 semillas en cada una, con 3 círculos de papel absorbente y 5 ml de Captán al 2% (Figura 21). Las otras 50 semillas se pusieron a secar durante una semana y posteriormente se sembraron igual que las anteriores.



**Figura 21** Caja Petri con semillas de Randia echinocarpa.

Este proceso se llevó a cabo con material previamente esterilizado y dentro de una campana con mechero. Las cajas se sellaron con papel elástico y se colocaron dentro de una incubadora a 25°C con

un fotoperiodo 12/12. Se registró la germinación cada semana, durante 12 semanas.

El porcentaje de germinación se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \textit{ Germinación} = \frac{\textit{No. de semillas germinadas}}{\textit{No. de semillas totales}} * 100$$

Posteriormente los resultados se promediaron y se obtuvo su desviación estándar.

#### **5.4.2 Experimentos de germinación con acondicionamiento o priming**

En esta etapa se probaron distintos tratamientos pre-germinativos para estimular la germinación de las semillas. El primer tratamiento fue el osmopriming, el segundo el termopriming y el tercero el priming con hormonas de crecimiento.

##### **5.4.2.1 Osmopriming**

Para el osmopriming se realizaron dos experimentos, el primero consistió en embeber a las semillas por cuatro semanas en las soluciones osmóticas, y la segunda consistió en embeber a las semillas en las soluciones osmóticas que dieron mejores resultados en el experimento 1.

##### **Experimento 1**

Se prepararon 6 soluciones osmóticas con distintas concentraciones de manitol, -3 atm, -6 atm, -9 atm, -12 atm, -15 atm y agua destilada (concentración cero) las cuales fueron esterilizadas en la autoclave. Posteriormente se tomó un lote de 300 semillas, que se escarificaron y se lavaron (Ver 5.4.1.1). Las semillas se distribuyeron en 30 cajas Petri estériles, 10 semillas por caja, con 3 círculos de papel absorbente esterilizados previamente. Las 30 cajas se dividieron entre los 6 tratamientos, a 5 cajas Petri se les puso 10 ml de la solución de -3 atm, a otras 5 cajas se les puso 10 ml de la solución de -6 atm, a otras 5 cajas se les puso 10 ml de la solución de -9 atm, y así sucesivamente. La siembra se realizó dentro de una campana con mechero. Posteriormente las cajas Petri se etiquetaron y sellaron con papel elástico. Estas se colocaron en una incubadora a 25°C con un fotoperiodo 12/12. La germinación se registró por semana.

Después de cuatro semanas en las soluciones osmóticas, las semillas no germinadas se lavaron 3 veces por 5 minutos en agua destilada, respetando su tratamiento osmótico correspondiente. Estas semillas se sembraron nuevamente en cajas Petri con 3 círculos de papel absorbente y 5 ml de Captan al 2%. Nuevamente se sellaron con papel elástico y se pusieron en la incubadora a 25° C

con un fotoperiodo 12/12. Se continuó con los registros de germinación por semana. Todas las cajas fueron etiquetadas con su respectivo tratamiento, fecha y número de caja.

## **Experimento 2**

Para este experimento se decidió evaluar aquellos tratamientos que dieron la mayor germinación en el experimento 1.

Se tomó un lote de 300 semillas, que se escarificaron y se lavaron como se señaló anteriormente para posteriormente embeberse en las distintas soluciones osmóticas (Ver 5.4.1.1). Se colocaron 100 semillas en cada solución osmótica, -3atm, -6atm y agua por 24 horas a temperatura ambiente, 26 °C. Al día siguiente se prosiguió con la siembra de la mitad de las semillas de cada tratamiento (50 semillas por tratamiento), en cajas Petri, con 3 círculos de papel absorbente y 5ml de Captán al 2%. Se sembraron 10 semillas en cada caja Petri, obteniendo 5 cajas Petri por tratamiento osmótico. La otra mitad de las semillas se pusieron a secar en una charola con papel absorbente durante 1 semana. Al transcurrir la semana las semillas secas se sembraron de la misma manera que las otras. En total se obtuvieron 5 cajas Petri con 10 semillas húmedas, y 5 cajas con 10 semillas secas para cada tratamiento osmótico de -3atm, -6atm y agua. Se colocaron en la incubadora a 28°C con un fotoperiodo 12/12, y se registró la germinación por semana. Todas las cajas fueron etiquetadas con su respectivo tratamiento, fecha y número de caja.

### **5.4.2.2 Termopriming**

Se tomó un lote de 300 semillas, las cuales se escarificaron y se lavaron como se señaló anteriormente (Ver 5.4.1.1). Las semillas se dividieron en 3 frascos con agua destilada a diferentes temperaturas. El primer lote de 100 semillas, se colocó a temperatura ambiente (27°C), el segundo lote se colocó a 6°C y el tercer lote a 35°C. Se mantuvieron a estas temperaturas por 24 horas. Posteriormente la mitad de las semillas por tratamiento se sembraron en cajas Petri con 3 círculos de papel filtro y 5ml de Captán al 2%, dentro de una campana con mechero. Estas cajas se etiquetaron y sellaron con papel elástico colocándose en la incubadora a 28°C con un fotoperiodo 12/12. El resto de las semillas se pusieron a secar a temperatura ambiente en charolas de plástico con papel absorbente durante una semana, respetando su respectivo tratamiento. Posteriormente



se sembraron de igual manera que las otras. Todas las cajas fueron etiquetadas con su respectivo tratamiento, fecha y número de caja.

#### **5.4.2.3 Priming con hormonas de crecimiento**

Para estas pruebas se aumentó el tamaño de la muestra, por lo que se tomó un lote de 500 semillas. Estas semillas se lavaron durante 45 minutos en agua destilada con ayuda de un agitador con mosca. Esto con la finalidad de identificar fácilmente al embrión para la escarificación de la semilla. Posterior a su escarificación se lavaron las semillas como se señaló anteriormente (Ver 5.4.1.1) y se embebieron 100 semillas en cada uno de los tratamientos a temperatura ambiente, 26°C. Los tratamientos fueron los siguientes:

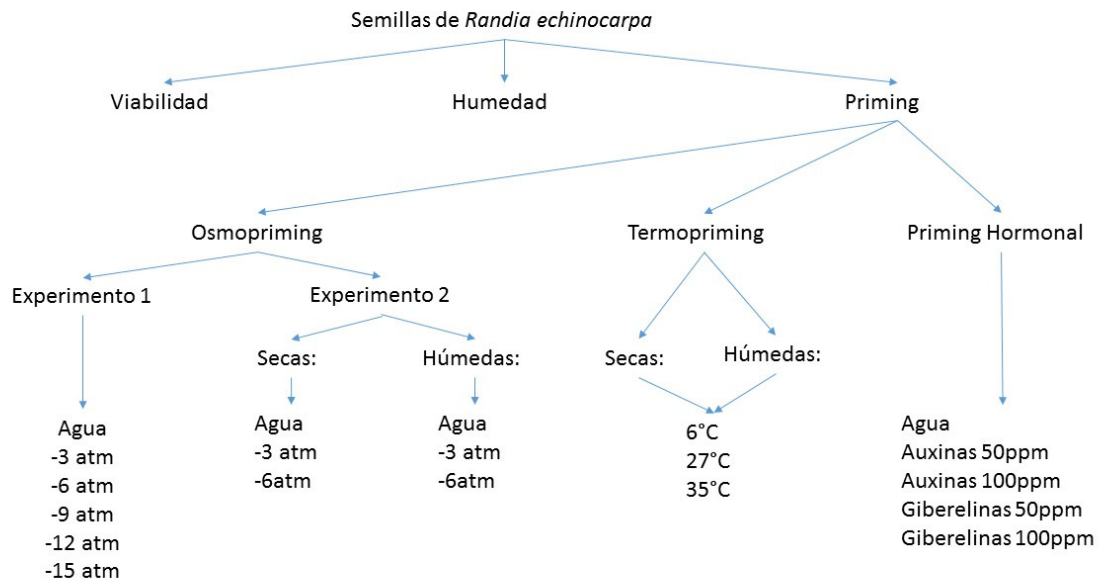
- 1) Agua destilada
- 2) Auxinas 50ppm
- 3) Auxinas 100ppm
- 4) Giberelinas 50ppm
- 5) Giberelinas 100ppm

Los tratamientos con auxinas se prepararon con Radix T 3000 (liquido de 1 L), mientras que los de giberelinas se prepararon con BIOGIB 10PS (de 10mg).

Las semillas se dejaron en las soluciones por 24 horas, y pasado el tiempo se sembraron en cajas Petri con 10 semillas cada una y 3 círculos de papel filtro y 5ml de Captán al 2%, se sellaron con papel elástico, y se colocaron en la incubadora a 28°C con un fotoperiodo 12/12. Todas las cajas fueron etiquetadas con su respectivo tratamiento, fecha y número de caja.

#### **5.4.3 Análisis estadístico**

En caso de cumplir con los supuestos de homogeneidad de varianzas (Prueba de Levene) y de distribución normal (Prueba de Shapiro- Wilk), los resultados se analizaron mediante una prueba de ANOVA y posteriormente una prueba de Tukey para identificar diferencias entre los tratamientos. Si los supuesto no se cumplieron se realizó en lugar del ANOVA la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y de Duncan. Se utilizó el programa STATISTICA 8 para el análisis de datos.



**Figura 22** Diagrama de flujo de la metodología para semillas de *R. echinocarpa*.

#### 5.4.4 **Trasplante y supervivencia**

Las semillas germinadas de cada tratamiento se fueron trasplantando primero a charolas con papel absorbente, y posteriormente a charolas con agrolita y vermiculita, 1:1, respetando el tratamiento del que provenían. Posteriormente cuando las plántulas alcanzaron un tamaño aproximado de 3 cm se trasplantaron a bolsas de vivero, con agrolita y vermiculita, 3:1. Estas plántulas se colocaron en una casa de sombra (malla 50% sombra) con una temperatura promedio máxima de 30°C y una mínima de 10°C, durante 1 mes. Posteriormente se trasplantaron a bolsas con agrolita y tierra 3:1.

Se registró el porcentaje de supervivencia de cada uno de los trasplantes, para los distintos experimentos: osmopriming experimento 1 (-3atm, -6atm, -9atm, -12atm, -15atm y agua), experimento 2 (-3atm seca/húmeda, -6atm seca/húmeda, agua seca/húmeda), termopriming (35°C, 27°C y 6°C) y priming con hormonas (Auxinas, Giberelinas y agua).

El porcentaje de supervivencia se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Supervivencia} = \frac{\text{No. de plántulas vivas}}{\text{No. de plántulas totales}} * 100$$

Durante los meses más secos (Septiembre a Marzo) las plántulas se regaban 2 veces por semana con aproximadamente 50ml, mientras que durante los meses de lluvia (Abril a Agosto) las plántulas sólo recibieron el agua de lluvia. Dichas plantas eran revisadas constantemente para evitar encharcamientos.

#### **5.4.5 Crecimiento con urea y auxinas**

Las plántulas trasplantadas a bolsas correspondientes al osmopriming, se midieron para evaluar su crecimiento, respetando el tratamiento del cual provenían. Se tomaron los siguientes datos:

- a) El número de hojas
- b) La longitud del ápice de la planta a la base de las hojas
- c) La longitud del ápice de la plántula a la primera raíz
- d) El ancho del tallo de la plántula

Los incisos b), c) y d) se midieron con la ayuda de un Vernier Digital durante 4 meses (Octubre, Noviembre, Diciembre, Enero), Los datos se tomaron semanalmente durante 6 semanas, posteriormente se tomaron cada 15 días.

Con estos datos se calculó la tasa de crecimiento relativa mediante la fórmula propuesta por Leopold y Kriedemann (1975) (Aristizabal, 2010), según la cual:

$$TCR = \frac{\ln A2 - \ln A1}{T2 - T1}$$

Dónde:

Ln: Logaritmo natural

A2 y A1 : Alturas de las plantas en lecturas sucesivas

T2 y T1 : Tiempos de lecturas sucesivas

Durante este tiempo, se aplicaron distintos tratamientos a las plántulas. El primer tratamiento consistió en la adición de urea, y el segundo tratamiento consistió en la adición de auxinas.

#### **a. Urea**

En la búsqueda de incrementar el crecimiento de las plántulas obtenidas se aplicó urea como fertilizante. Las plántulas del experimento 1 de osmopriming que ya se encontraban trasplantadas en bolsas y que ya estaban medidas, se dividieron a la mitad, respetando el tratamiento del cual provenían. A la mitad de las plántulas se les agregó 0.036gr de urea en 50ml de agua a cada una, mientras que a la otra mitad solo se les agregó 50ml de agua por planta. Se continuó con las mediciones semanales mencionadas en la sección **5.4.5** y nuevamente se calculó la tasa de crecimiento con la fórmula de Leopold y Kriedemann (1975) (Aristizabal, 2010).

Para encontrar diferencias significativas se aplicó una prueba ANOVA y posteriormente una prueba de Tukey.

#### **b. Auxinas**

Se preparó una solución de auxinas utilizando el Raizal 400. Se agregaron 5gr de Raizal 400 por cada litro de agua, y se homogeneizó la mezcla.

Nuevamente se tomaron las plántulas obtenidas del experimento 1, tanto a las que se les había agregado urea como a las que solo tenían agua. Estas plántulas se dividieron a la mitad, respetando el tratamiento del cual provenían. A la primera mitad de las plántulas, se les agregaron 50ml de la solución preparada con auxinas. A la otra mitad se les agregaron 50ml de agua.

Se continuó con las mediciones semanales mencionadas en la sección **5.4.5** y nuevamente se calculó la tasa de crecimiento con la fórmula de Leopold y Kriedemann (1975) (Aristizabal, 2010).

Para encontrar diferencias significativas se aplicó una prueba ANOVA y posteriormente una prueba de Tukey.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 MATERIAL COLECTADO

En el Pueblo de Tlachinola, ubicado en el municipio de Tehuiztzingo, se encontraron tres zonas con plantas de *Randia echinocarpa*. De estas tres zonas se obtuvieron los siguientes resultados (Cuadro 1):

**Cuadro 1** Colecta de frutos y suelo en las tres zonas con *Randia echinocarpa*.

Zona	Descripción	Número de plantas totales/ con fruto	Numero de frutos	Muestras de suelo
1	Zona con una inclinación de menos de 5°. Poca vegetación alrededor, cerca de asentamientos humanos. Suelo muy pedregoso.	3/9	22	3
2	Zona de monte, con una inclinación muy pronunciada (mayor a 45°). Se encuentra mayor vegetación y abundante <i>Selaginella lepydophylla</i> . Lejos de asentamientos humanos. Suelo muy pedregoso.	1 / 2	8	3
3	Zona con inclinación moderada (10°). Con poca vegetación aledaña, y cerca del camino de tierra que lleva al cementerio. Las plantas presentan solo frutos en la parte alta. Suelo muy pedregoso.	3/7	18	3

### 6.1 CALIDAD DEL SUELO

Las muestras de suelo de las tres zonas de muestreo de Tlachinola, Puebla, resultaron ser semejantes, con una textura franco arenosa y una caracterización como suelos no salinos con base en su conductividad eléctrica. No se encontraron diferencias significativas entre las distintas zonas (Cuadro 2, Cuadro 3 y Cuadro 4). Sólo se encontraron diferencias significativas en el contenido de fósforo ( $F_{(2, 15)}=10.107$ ,  $p=.00166$ ) y magnesio ( $F_{(2,6)}=7.428$ ,  $p=0.02381$ ) con un mayor contenido de estos macronutrientes en el suelo de la zona 1 (Cuadro 4).

**Cuadro 2** Textura del suelo de Tlachinola, Puebla en cada uno de los tres sitios de muestreo.

	Porosidad (%)	Arena (%)	Arcilla (%)	Limo (%)	Clase textural
zona 1	52.52±2.24	67.43±3.8	12.57±4.75	20±0.96	Franco arenoso
zona 2	54.71±0.54	60.97±4.81	13.12±2.24	25.91±3.29	Franco arenoso
zona 3	52.20±3.04	74.1±3.88	9.79±3.88	16.11±2.42	Franco arenoso

**Cuadro 3** Caracterización del suelo de Tlachinola, Puebla, donde se encuentra *Randia echinocarpa*.

			Promedio de las tres zonas	Error	Clasificación (Kass,1998; Rioja Molina, 2002)
Humedad		%	50.17	±1.11	
Densidad	aparente	mg/m <sup>-3</sup>	1.00	±0.03	
	Relativa		2.13	±0.05	
	pH		6.99	±0.12	Neutro
	MO	%	6.49	±1.04	alta
	CO		3.76	±0.61	
	Nt		0.32	±0.05	
	CIC		33.54	±2.19	alto
Cationes intercambiable	Ca <sup>2+</sup>	meq/100g-1	30.16	±4.98	Alto
	Mg <sup>2+</sup>		8.93	±2.20	Medio /normal
	Na <sup>+</sup>		3.72	±0.69	Medio
	K <sup>+</sup>		2.90	±0.53	Medio
	P	Mg kg-1	13.085	±2.67	Normal/Medio
Conductividad eléctrica		mS	0.22	±0.047	No salino

Se muestran relaciones importantes entre los cationes intercambiables (Cuadro 4). En todos los casos estas relaciones muestran un buen balance dentro del suelo, indicando que las cantidades de cada catión no intervienen con la asimilación o fijación de otro.

**Cuadro 4** Relación entre Cationes Intercambiables del suelo (Kass, 1998)

	Desbalance	Balance	Desbalance
<b>Ca/Mg</b>	2	2-5	>5
<b>Mg/K</b>	2.5	2.5-15	>15
<b>Ca+Mg/K</b>	10	10-40	>40
<b>Ca/K</b>	5	5-25	>25

**Cuadro 5** Cantidad de Fósforo (mg kg<sup>-1</sup>) y Mg (meq/100g) en las 3 zonas de colecta de *Randia echinocarpa*. Las letras distintas indican las diferencias significativas.

Zona	1	2	3	P
<b>P (mg kg-1)</b>	24.84 ±5.88 <b>a</b>	8.07 ± 5.69 <b>b</b>	6.34 ± 3.08 <b>b</b>	0.00166
<b>Mg (meq/100g)</b>	14.285 ±0.893 <b>b</b>	10.714 ± 3.892 <b>ab</b>	1.785 ± 0.892 <b>b</b>	0.02381

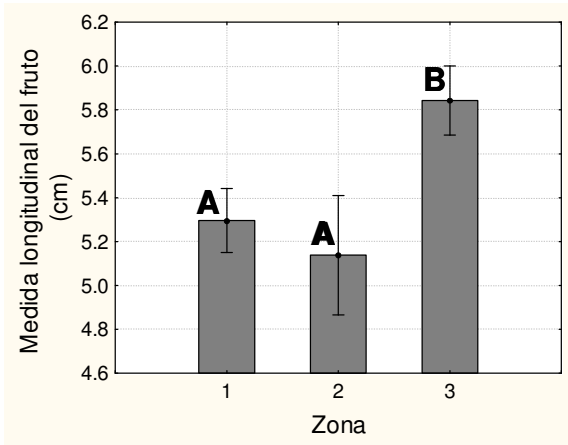
## 6.2 PROCESAMIENTO DEL FRUTO Y LAS SEMILLAS

### 6.2.1 *Procesamiento del fruto*

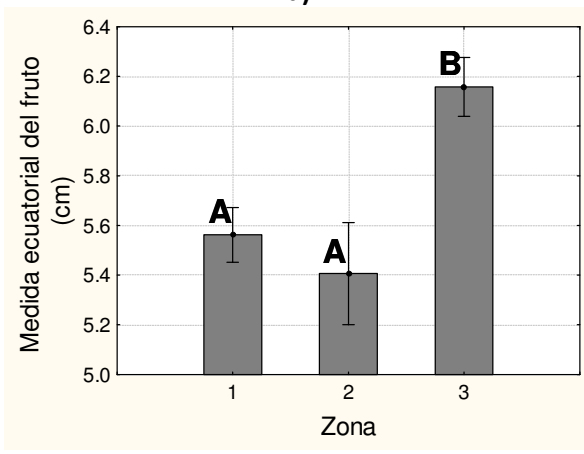
De los frutos colectados en Tlachinola, Puebla, el peso promedio fue de 42.7611 g  $\pm$ 2.2, para frutos que midieron 5.48 cm por 5.76 cm (Cuadro 6). Se encontraron diferencias significativas en el tamaño y el peso de los frutos. En la zona 3 se encontraron los frutos más grandes y con mayor peso (Figura 23).

**Cuadro 6** Dimensión y peso de los frutos de *Randia echinocarpa*.

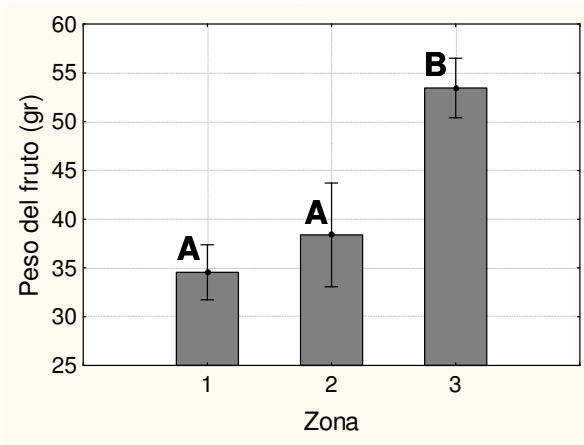
	Longitudinal (cm)	Ecuatorial (cm)	peso (g)
promedio	5.48929	5.76860	42.7611
desv est	0.705123	0.58922	15.3106
error est	$\pm$ 0.10177	$\pm$ 0.08509	$\pm$ 2.2099



b)



d)



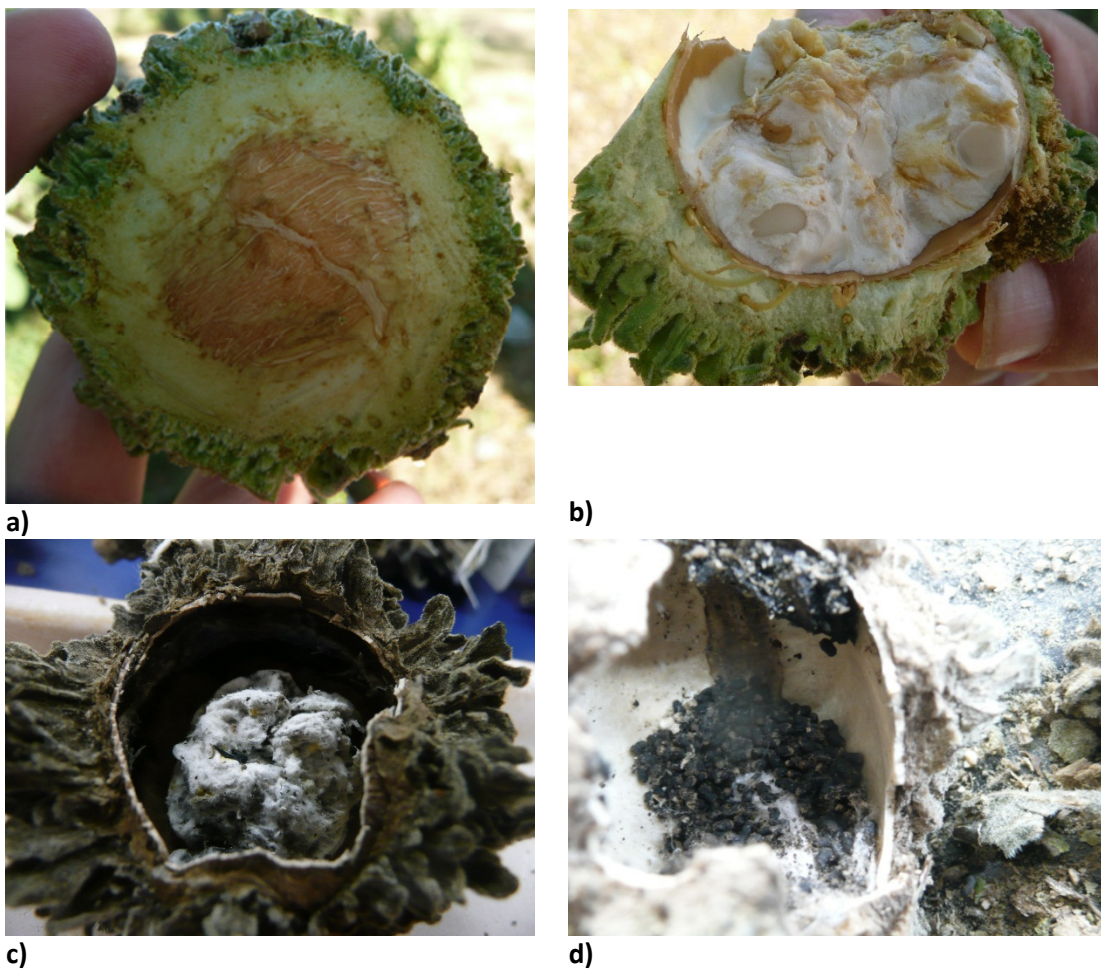
f)

e)

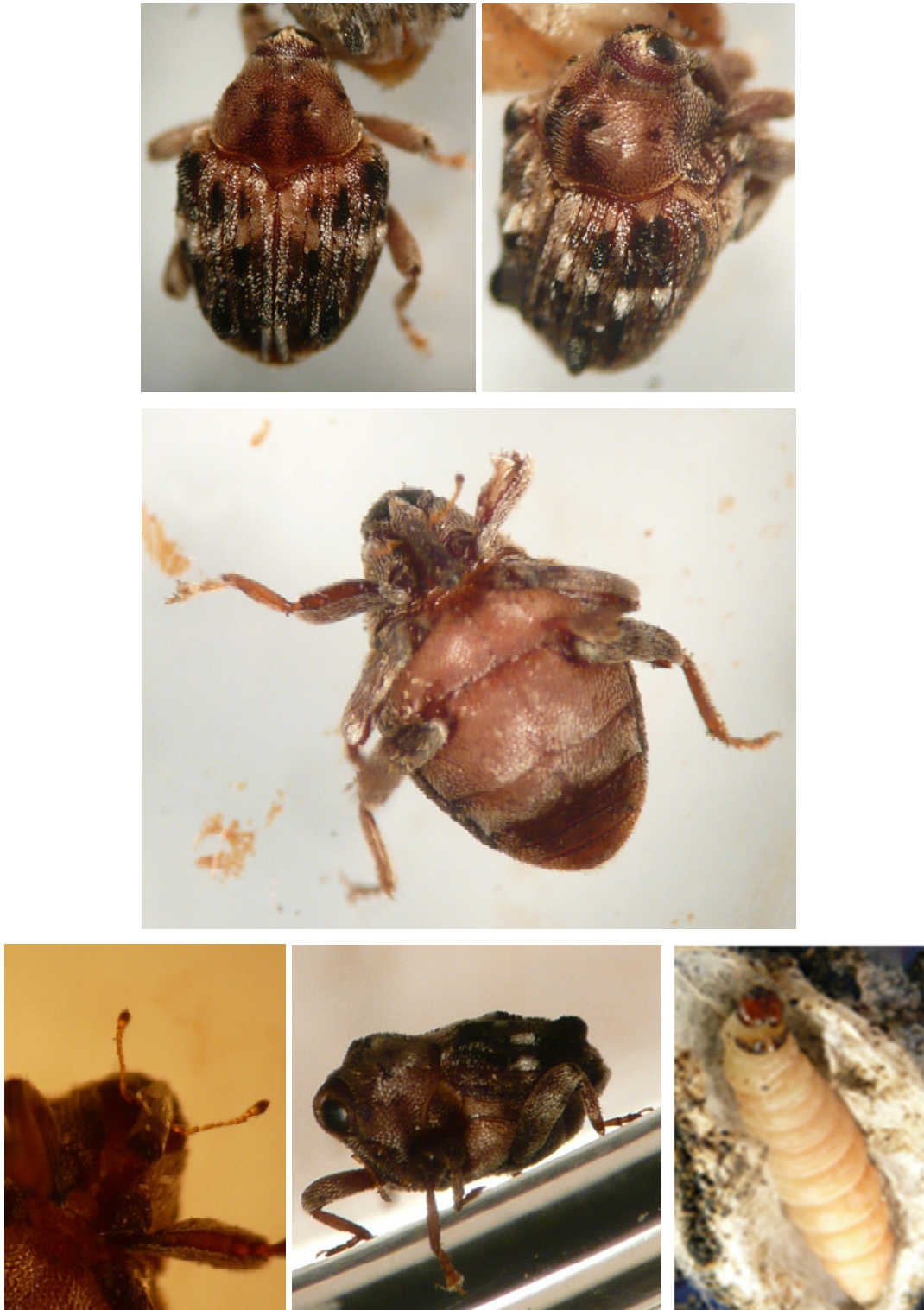
**Figura 23** Relación entre la morfometría del fruto y la zona de colecta. a) y b) eje longitudinal ( $F_{(2,42)}=4.2388$ ,  $p=0.02105$ ). c) y d) Eje ecuatorial ( $F_{(2,43)}=8.6702$ ,  $p=0.00070$ ). e) y f) ( $F_{(2,42)}=10.598$ ,  $p=0.00019$ ). f) Peso del fruto de *Randia echinocarpa*. Las letras distintas indican diferencias significativas.



Algunos frutos resultaron plagados por insectos del orden Coleóptera, familia Curculionidae o invadidos por hongos, dañando el estado de las semillas (Figura 24 y Figura 25). Los insectos se alimentaron de las semillas, pulverizándolas, mientras que los hongos las endurecieron y compactaron.

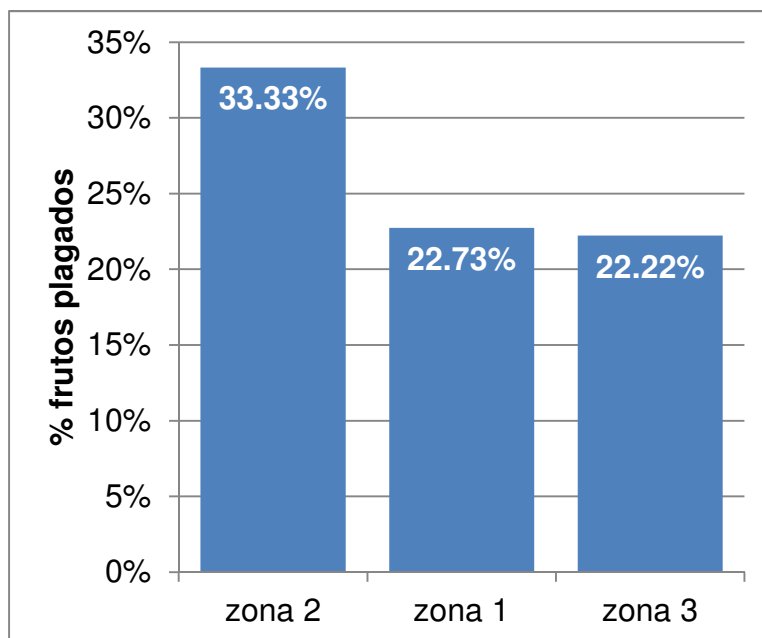


**Figura 24** a) Cobertura dura del fruto. b) Fruto inmaduro abierto. c) Semillas de *R. echinocarpa* con hongos. d) Semillas de *R. echinocarpa* plagado.



**Figura 25** Coléoptero de la familia *Curculionidae*, que se encontró plagando los frutos de *Randia echinocarpa*. El coleóptero medía aproximadamente de 3 a 4 mm.

Al observar los porcentajes de frutos plagados, la zona 2 es la que resultó tener los frutos más plagados, mientras que la zona 3, es la que tuvo menor plaga (Figura 26)



**Figura 26** Porcentaje de frutos de *Randia echinocarpa* plagados por zona, en Tlachinola, Puebla.

### 6.2.2 *Procesamiento de la semilla*

De los 48 frutos de *Randia echinocarpa*, se obtuvieron un total de 8,826 semillas. Al clasificar a las semillas por su estado (bueno o malo) se encontró que aproximadamente la mitad de estas se encuentran en buen estado y la otra mitad en mal estado (Figura 27 y Figura 28) (Cuadro 7).

Por otro lado el promedio de semillas por fruto fue de  $226.3 \pm 9.62$  (Cuadro 8).

**Cuadro 7** Clasificación de semillas por su estado

Semillas		
en buen estado	en mal estado	Totales
4598	4228	8826

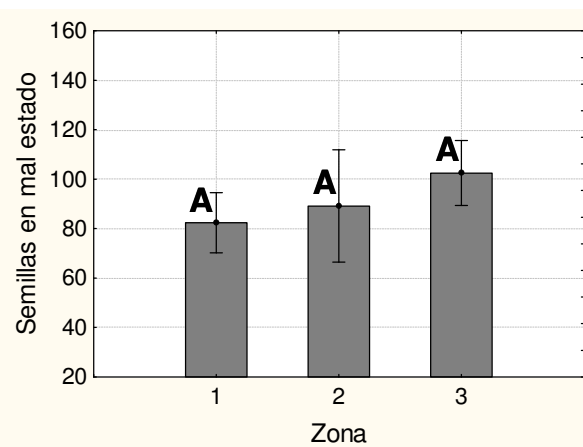
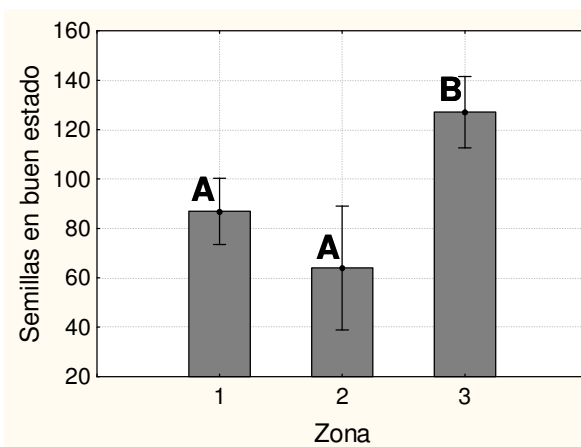
**Cuadro 8** Promedio de semillas en buen y en mal estado por fruto (n=48).

	# semillas en buen estado	# semillas en mal estado	# semillas totales
promedio	117.8974	108.4102	226.3076
desv est.	51.3393	41.3494	66.6795
error	7.4101	5.9682	9.6243



**Figura 27** Semillas en buen estado

**Figura 28** Semillas en mal estado



a)

b)

**Figura 29** a) Relación entre el número de semillas en buen estado por fruto y la zona de colecta ( $F_{(2,42)}=3.2697$ ,  $p=0.04789$ ). b) Relación entre el número de semillas en mal estado por fruto y la zona de colecta ( $F_{(2,42)}=0.63865$ ,  $p=0.5533$ ). Las letras distintas indican diferencias significativas.

### 6.3 CALIDAD DE LA SEMILLA

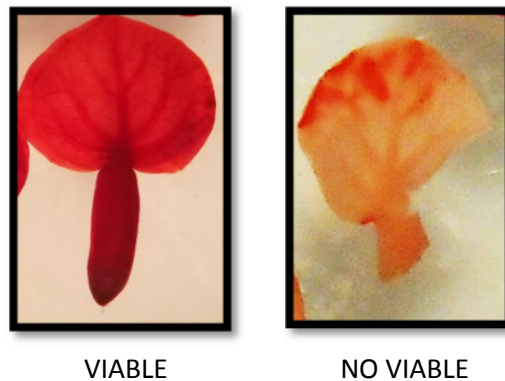
La calidad de la semilla es de suma importancia para conocer el estado en el que se encuentra esta. Los resultados para los tres parámetros, viabilidad, humedad y germinación fueron los siguientes:

**Cuadro 9** Calidad de la semilla recién colectada.

Viabilidad	Humedad	Germinación
71.17%±4.8	9.09% ± 0.42	68.92%± 0.68

#### 6.3.1 Viabilidad

La viabilidad de las semillas fue de un 71.17% ± 4.8 para las semillas recién colectadas (Figura 30).



**Figura 30** Comparación entre semillas viables y no viables de *Randia echinocarpa*.

**Cuadro 10** Características de las semillas viables y no viables de *Randia echinocarpa*

Condición	Embrión bien desarrollado y con tinción roja	Pequeñas áreas necróticas en la parte distal de la radícula	Embrión con pequeñas áreas necróticas en los cotiledones (excepto en unión con la radícula y eje embrionario)
Viable			



### 6.3.2 Germinación

Para esta prueba se obtuvo un  $68.92\% \pm 0.68$  de germinación final en un plazo de 9 semanas, posterior a este tiempo la germinación no aumentó. La germinación comenzó a partir de la cuarta semana (Figura 31 y Figura 32).

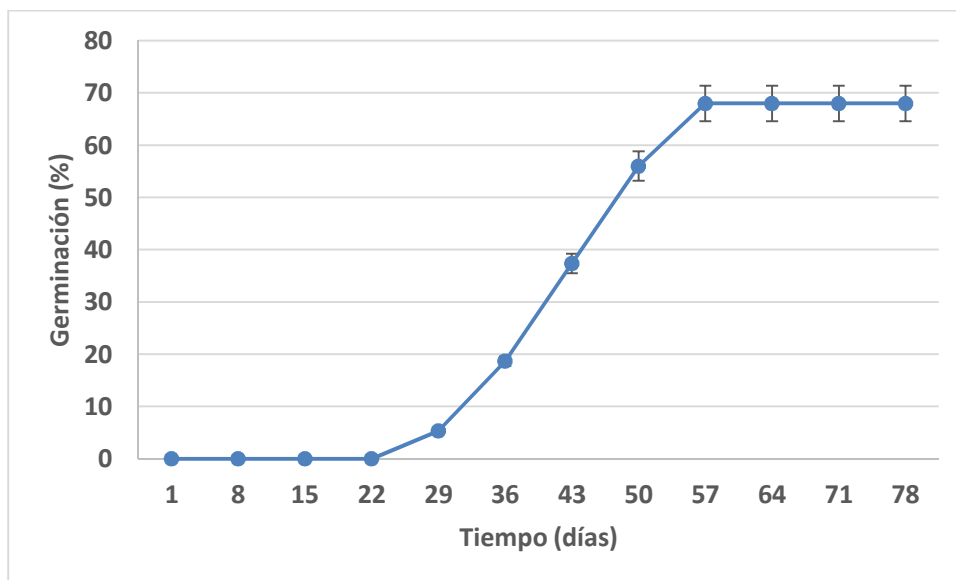
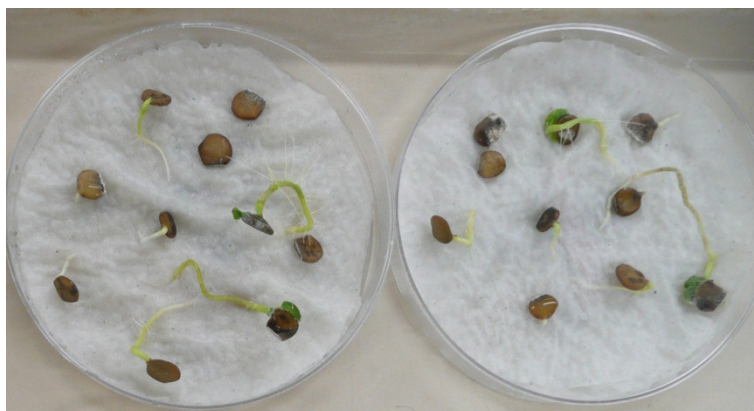


Figura 31 Germinación de semillas de *Randia echinocarpa* en un total de 12 semanas



**Figura 32** Semillas germinadas de *Randia echinocarpa*.

## 6.4 EXPERIMENTOS DE GERMINACIÓN

### 6.4.1 Osmopriming

#### Experimento 1.

Los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron con las soluciones de manitol de -3 atm y -6 atm, cuya máxima germinación se dio entre la semana 10 y la semana 12 (Cuadro 11).

**Cuadro 11** Resultados de germinación en los tratamientos osmóticos.

Tratamiento	Germinación final (%)
Agua	68.92 ± 0.68
-3atm	78 ± 5.09
-6 atm	78 ± 5.09
-9 atm	72 ± 4.89
-12atm	53.33 ± 8.81
-15 atm	33.33 ± 14.53

Se observó un retardo en la germinación de las semillas en las soluciones más concentradas, de -12atm y -15atm, mientras que en el resto de los tratamientos la germinación fue relativamente similar (Figura 33). Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de -3, -6, -9 atm y agua con respecto a los de -12 y -15 atm. Las soluciones más concentradas de -12, y -15, afectaron significativamente la germinación de las semillas, disminuyéndola gravemente. La máxima germinación fue del 78% y la mínima de un 33.33% (Figura 34).

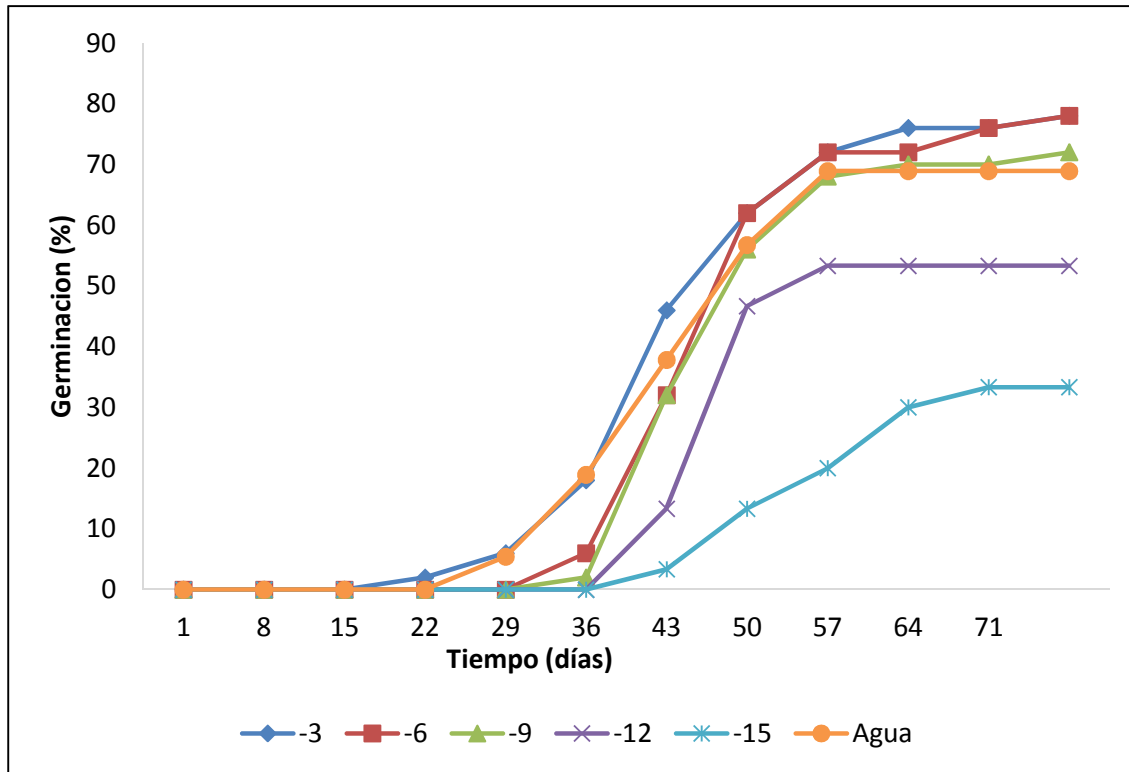


Figura 33 Germinación de las semillas de *Randia echinocarpa* en diferentes soluciones osmóticas.

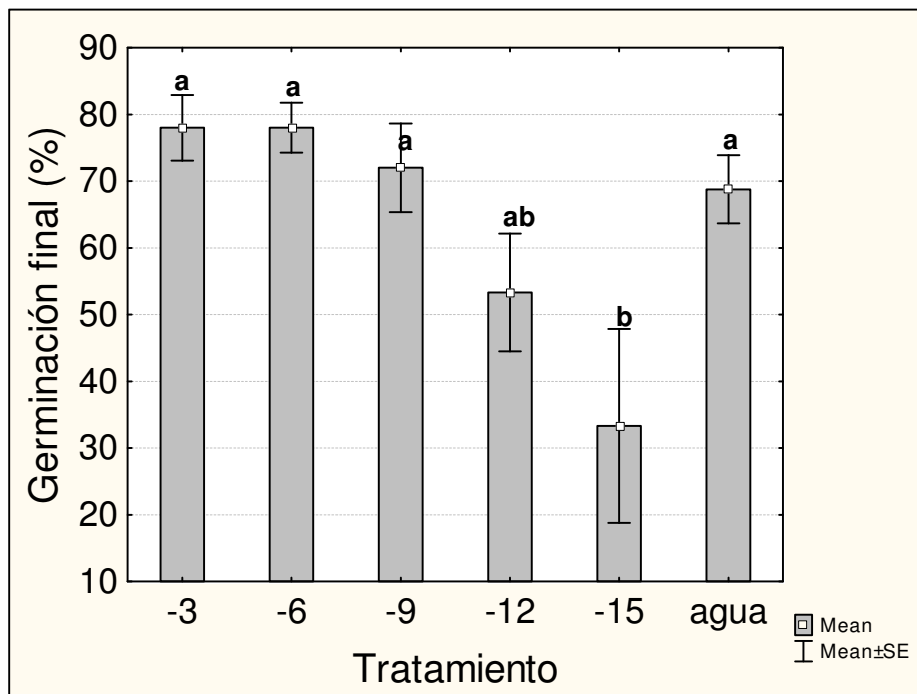


Figura 34 Porcentaje final de germinación en cada uno de los tratamientos osmóticos. ( $F_{(5,22)}=3.7816$ ,  $p=0.01270$ ). Las letras distintas indican diferencias significativas.

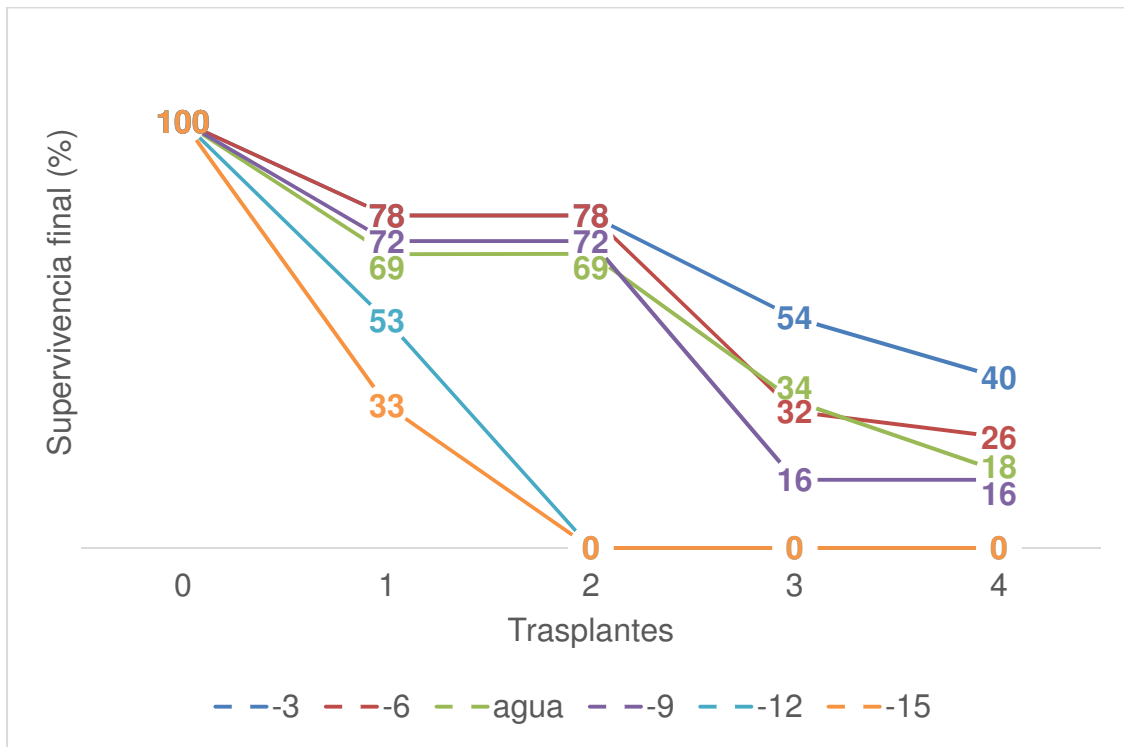


En cuanto a la supervivencia de plántulas para este experimento, se puede apreciar la supervivencia final de las semillas después de los 3 trasplantes, el primero a charola de plástico transparentes con tapa y con papel húmedo, el segundo a charola con tapa, con agrolita y vermiculita (1:1) y el último en bolsa de vivero con agrolita y vermiculita (3:1). Los porcentajes de germinación de las semillas en los tratamientos de -3, -6, -9 atm y agua, se encontraron entre un 69% y un 80%, mientras que los de los tratamientos de -12 y -15 atm, se encontraron por debajo de un 53%. Esta disminución en germinación de los tratamientos más concentrados se vio reflejado posteriormente en la nula supervivencia al trasplante a charola con papel húmedo. Por otro lado, las semillas germinadas de los otros tratamientos (-3,-6,-9 y agua) no sufrieron deterioro al ser trasplantadas a charolas con papel húmedo. En estas charolas la temperatura y la humedad se mantuvieron relativamente constantes debido a la tapa.

En el segundo trasplante a charolas con agrolita y vermiculita 1:1, se pudo observar una reducción de la supervivencia y la capacidad de las plántulas para establecerse. El tratamiento de -3atm resulto tener la supervivencia más alta, por arriba de un 50%, mientras que los tratamientos de -6atm y agua apenas rebasaron un 30%, y el de -9 fue menor a 20%.

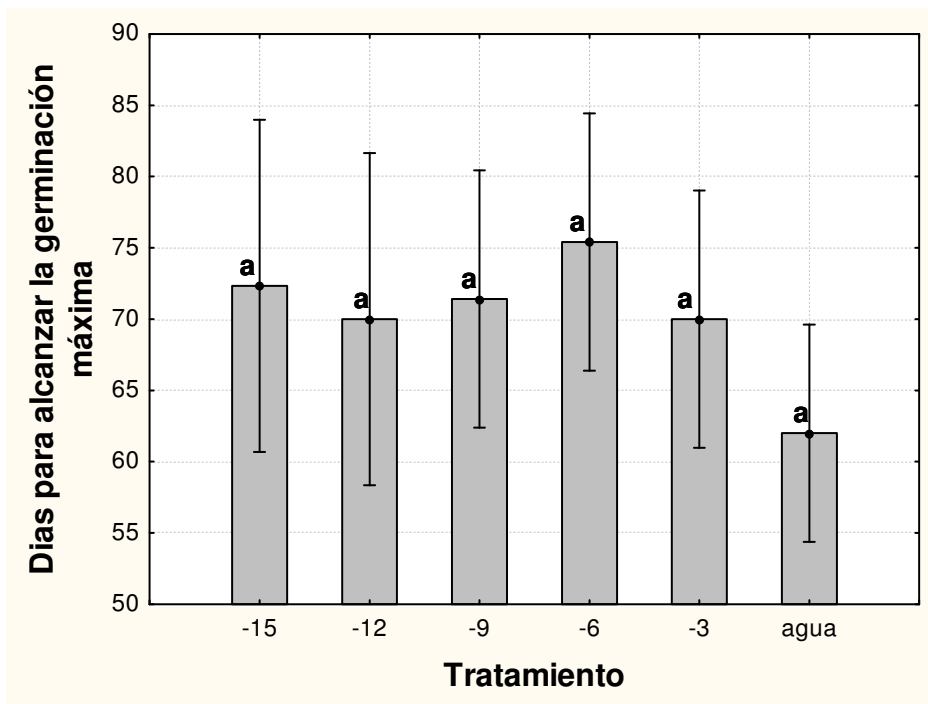
Por último, en el trasplante a bolsa, nuevamente se redujo la supervivencia en todos los casos por debajo de un 40%. Este trasplante fue determinante debido a que las plántulas pasan de charolas tapadas a bolsas expuestas, por lo que las variaciones de humedad y temperatura son mayores.

Por lo tanto, aproximadamente entre un 60-80% de las 300 semillas que se pusieron a germinar en los tratamientos de -3,-6,-9 y agua, murieron para el final del experimento. Siendo los porcentajes de supervivencia de -3atm, los más altos, y los de -9atm los más bajos. En el caso de los tratamientos de -12 y -15 no se obtuvieron plántulas ya que su supervivencia fue nula (Figura 35).



**Figura 35** Porcentaje de supervivencia en los trasplantes de *Randia echinocarpa* del experimento de osmoprimering 1. 0) Semillas totales. 1) Porcentaje de supervivencia de semillas germinadas en cajas Petri. 2) trasplante a charolas con agrolita y vermiculita 1:1. 3) trasplante a bolsas con agrolita y vermiculita 3:1. 4) trasplante a tierra con agrolita.

El tiempo para alcanzar la máxima germinación fue similar en todos los casos (Figura 36). A pesar de no haber encontrado diferencias significativas en este tiempo, se debe recordar que si existieron diferencias significativas en la germinación final de cada uno de los tratamientos osmóticos.



**Figura 36** Días para alcanzar la máxima germinación en los distintos tratamientos osmóticos ( $F(5, 22)=1.2925$ ,  $p=0.3028$ ). Las letras distintas indican diferencias significativas.

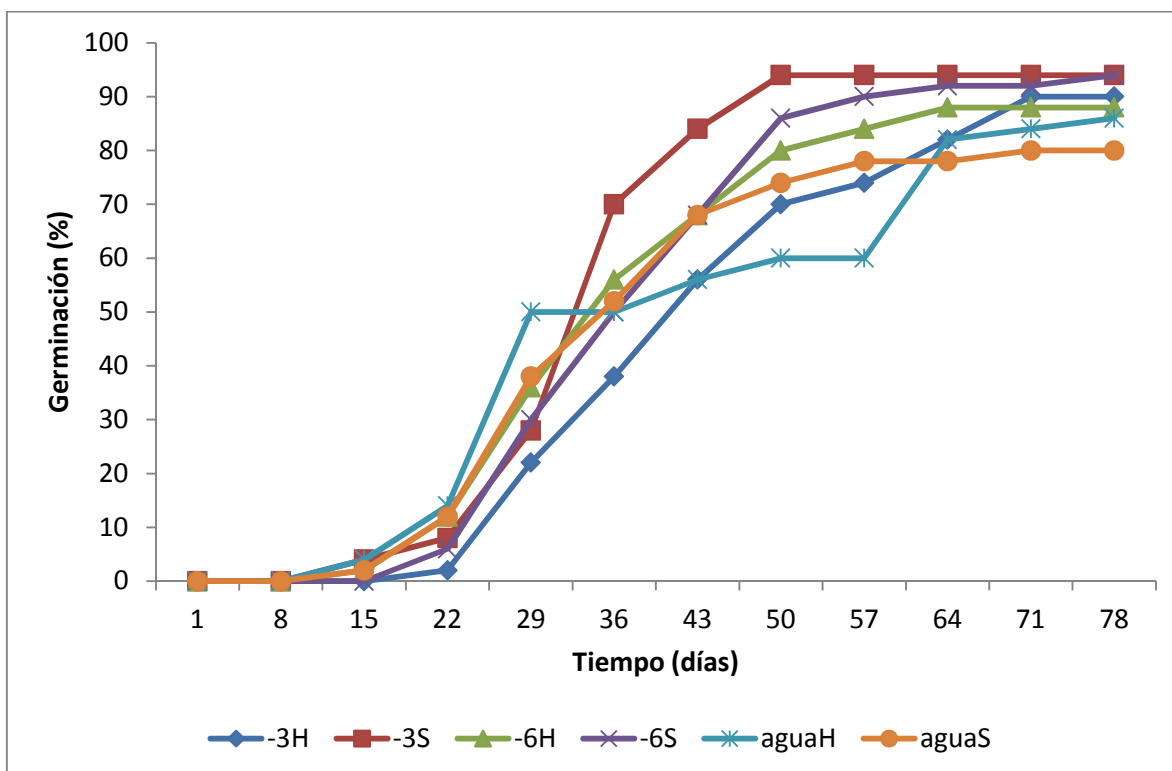
A partir de los experimentos anteriores se eligieron los tratamientos osmóticos de -3atm, -6atm y agua como grupo control, para el siguiente experimento. La elección se basó en aquellos tratamientos con mayor germinación y supervivencia a lo largo del experimento. A pesar de no haber encontrado diferencias significativas en la germinación entre los tratamientos de -3 atm, -6atm y -9atm, y agua, se decidió omitir el tratamiento de -9 debido a su baja supervivencia.

### Experimento 2

La germinación para todos los casos fue superior al 80%. La respuesta germinativa se incrementó a partir de la cuarta semana para todos los tratamientos. Entre la semana 11 y la 12 se alcanzaron los mayores porcentajes de germinación y posteriormente el proceso se detuvo (Cuadro 12) (Figura 37).

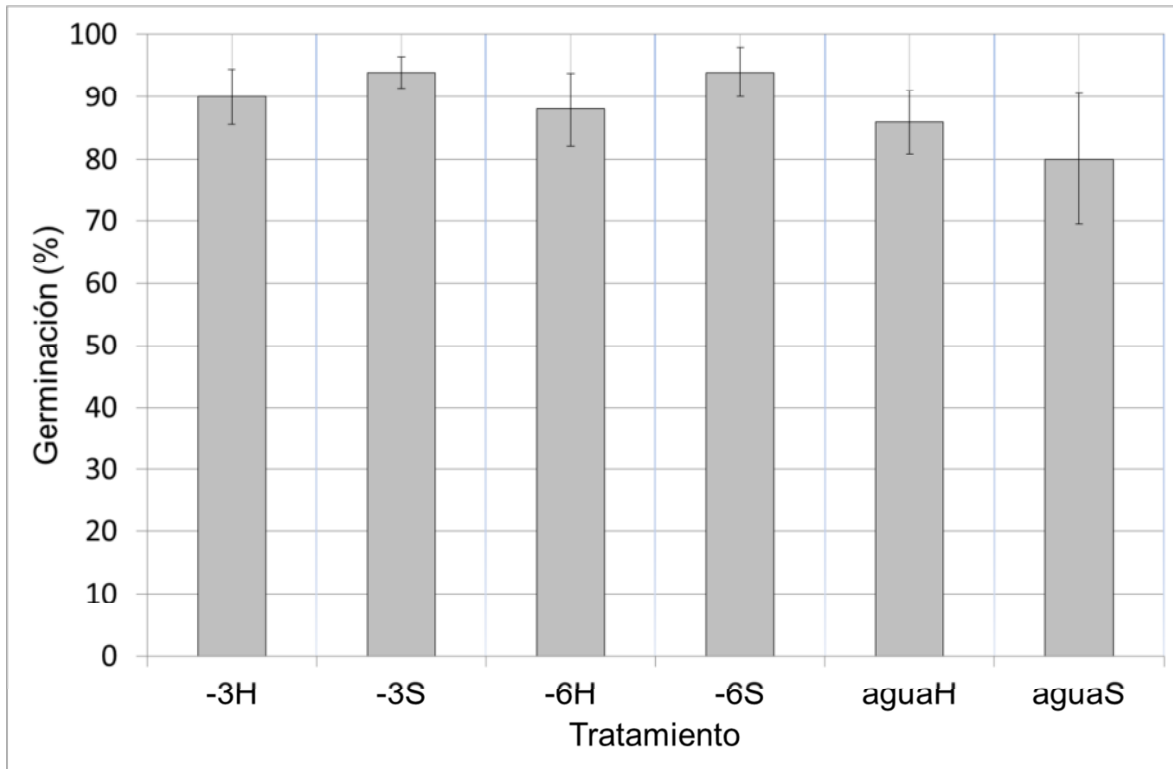
**Cuadro 12** Resultados de germinación en los tratamientos osmóticos del experimento 2.

Tratamiento		Germinación final (%)
Agua	Húmeda	86± 5.09
Agua	Seca	80± 10.49
-3 atm	Húmeda	90±4.47
-3 atm	Seca	94±2.45
-6atm	Húmeda	88± 5.83
-6 atm	Seca	94± 4



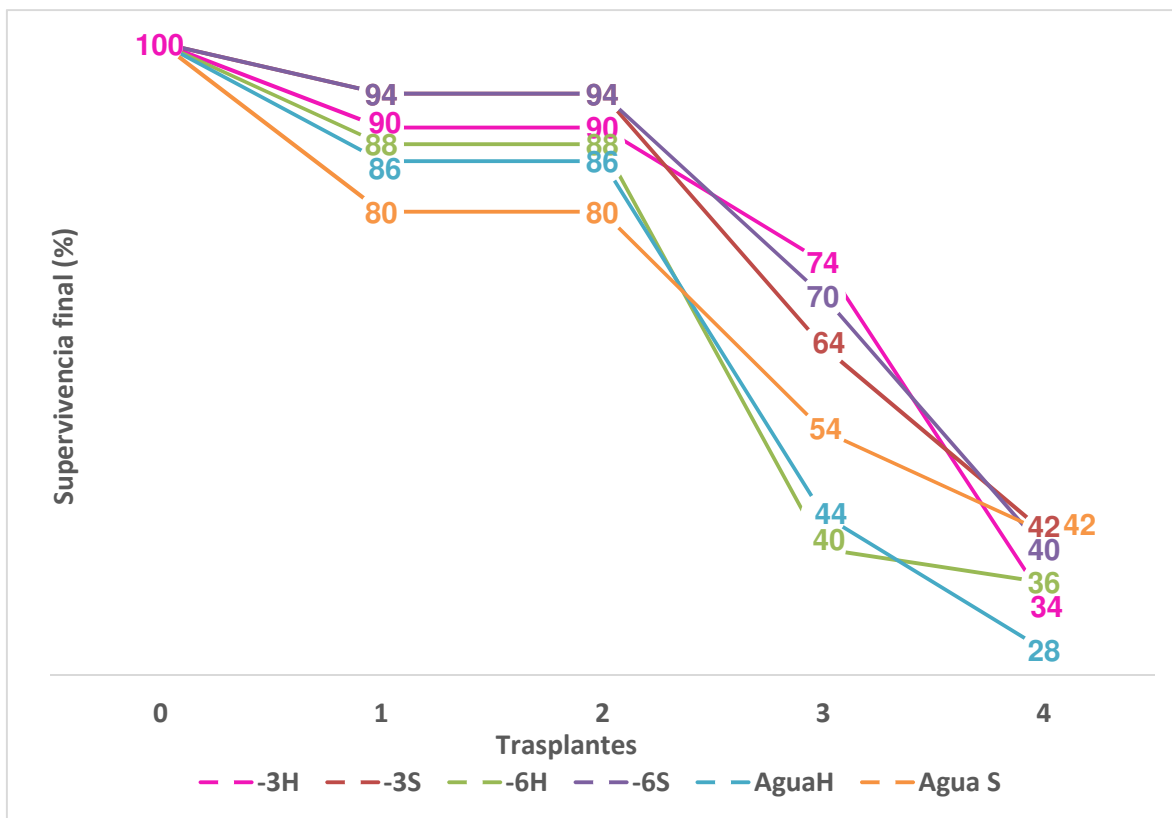
**Figura 37** Germinación de semillas de *Randia echinocarpa* en la segunda prueba con soluciones osmóticas. H= semillas húmedas S= semillas secas.

Se realizó un análisis de Kruskal Wallis, ya que los datos no cumplieron con los supuestos para realizar un ANOVA. Esta prueba no arrojó diferencias significativas entre las semillas secas (S) o húmedas (H), ni entre los tratamientos osmóticos (Figura 38).



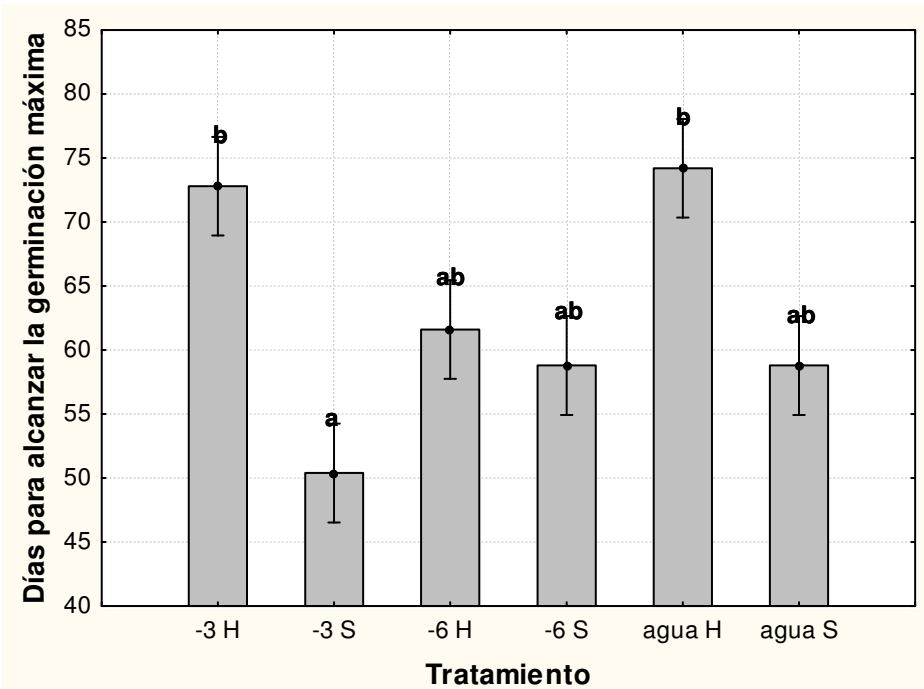
**Figura 38** Porcentaje de germinación en cada uno de los tratamientos osmóticos del experimento 2 de osmopriming. Kruskal-Wallis test:  $H(5, N=30) = 2.363279$   $p = 0.7969$ . Las letras distintas indican diferencias significativas.

La supervivencia de las semillas es otro de los factores determinantes para el establecimiento de plántulas de *Randia echinocarpa*. En este segundo experimento la supervivencia de las semillas germinadas trasplantadas a charolas con papel húmedo fue del 100%, pero en el siguiente trasplante a charolas con agrolita y vermiculita, la supervivencia disminuyó a porcentajes entre un 40-70%. Finalmente la supervivencia final en bolsa fue entre un 30 a 40% (Figura 39).

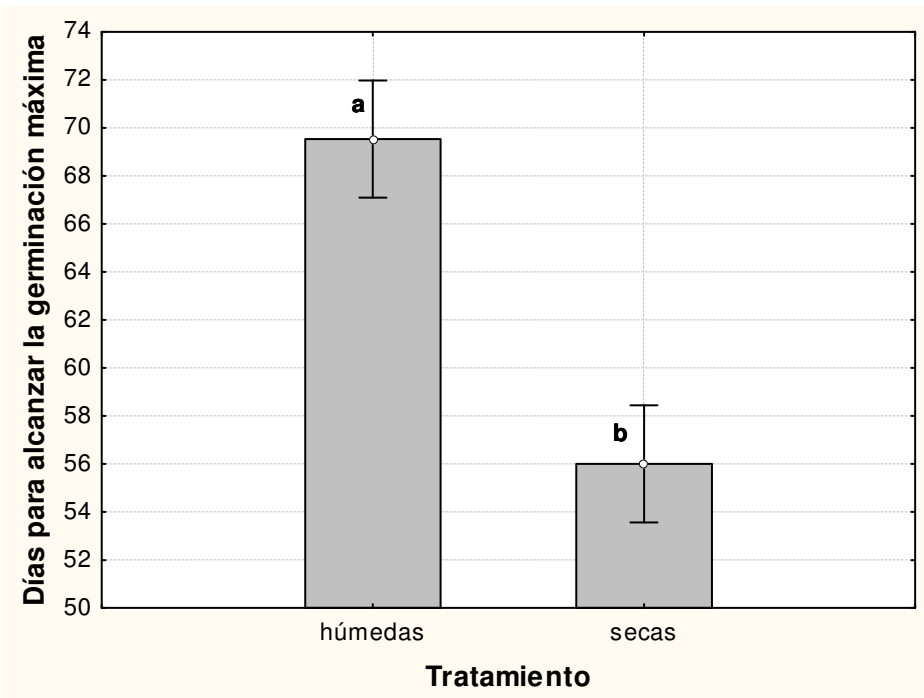


**Figura 39** Porcentaje de supervivencia en los trasplantes de las semillas de *Randia echinocarpa* del experimento de osmopriming 2. 0) Semillas totales. 1) Porcentaje de supervivencia de semillas germinadas en cajas Petri. 2) trasplante a charolas con agrolita y vermiculita 1:1. 3) trasplante a bolsas con agrolita y vermiculita 3:1. 4) trasplante a tierra con agrolita.

A pesar de no encontrar diferencias significativas en la germinación de las semillas, se encontraron diferencias significativas en el tiempo que tardaron en germinar. Se puede observar que los tratamientos con semillas secas tuvieron un tiempo de germinación menor, es decir, una mayor velocidad de germinación, particularmente en el tratamiento de -3 atm (Figura 40 y Figura 41). Por lo tanto a pesar de no haber encontrado diferencias significativas en la germinación de los distintos tratamientos, en el tiempo de germinación se observó una diferencia significativa, lo cual nos indica que puede ser recomendable secar las semillas antes de sembrarlas.



**Figura 40** Días para alcanzar la máxima germinación en los distintos tratamientos osmóticos del experimento 2 ( $F_{(5, 24)} = 5.6132$ ,  $p = .00145$ ). Las letras distintas indican diferencias significativas.



**Figura 41** Días para alcanzar la máxima germinación en tratamientos osmóticos con semillas secas y húmedas. ( $F_{(1, 28)} = 15.411$ ,  $p = .00051$ ). Las letras distintas indican diferencias significativas.

### 6.4.2 Termopriming

Antes de iniciar el acondicionamiento térmico, se realizó una prueba de viabilidad para ver el estado de la semilla, ya que esta se realizó 8 meses después que las anteriores. Se encontró una viabilidad del  $52\% \pm 7.16$ , lo cual resultó un 20% más bajo que el resultado de viabilidad inicial, por lo que el almacenamiento a temperatura ambiente provocó un deterioro de las semillas.

La germinación inició a partir de la primer semana en lugar de en la cuarta como en las pruebas anteriores (Cuadro 13) (Figura 42). La mayor germinación se alcanzó con el tratamiento térmico de 6°C con las semillas sembradas húmedas, mientras que la menor resultó ser la de 6°C secas.

Cuadro 13 Resultados del Termopriming

Tratamiento		Germinación final (%)
27°C	húmedas	$62 \pm 8.6$
27°C	secas	$58 \pm 6.6$
6°C	húmedas	$74 \pm 10.78$
6°C	secas	$56 \pm 5.09$
35°C	húmedas	$58 \pm 7.3$

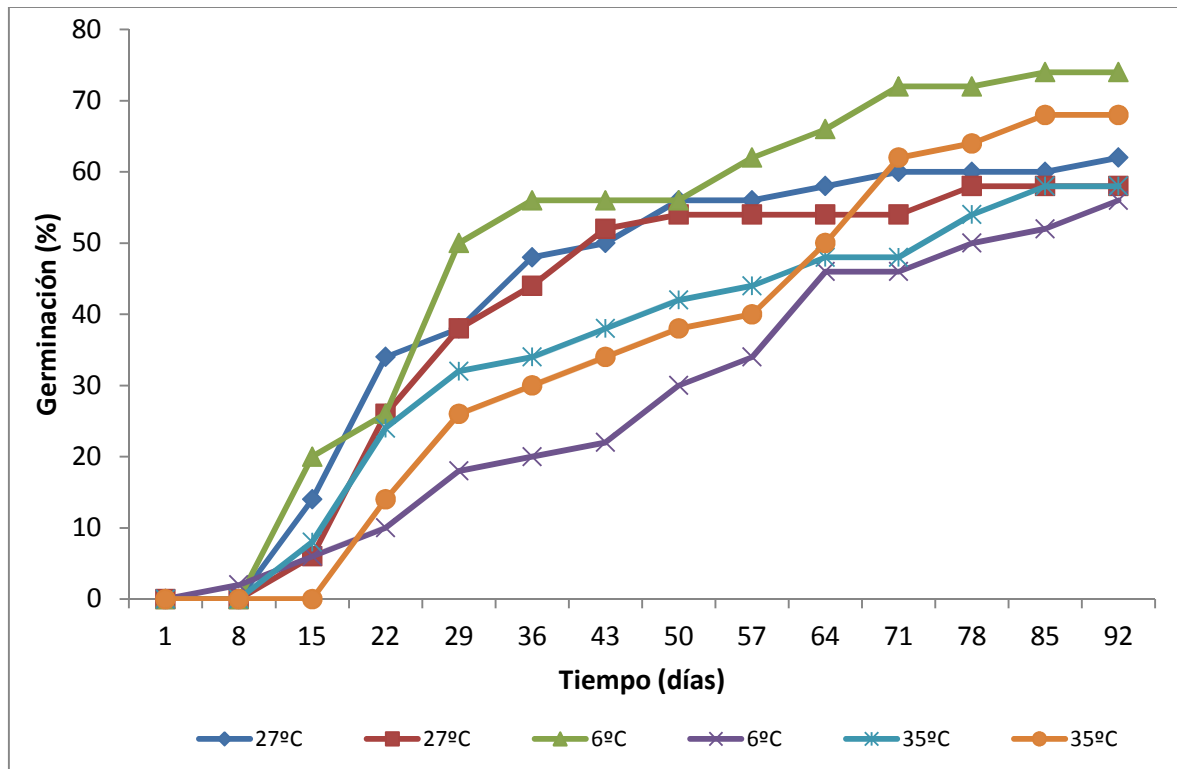
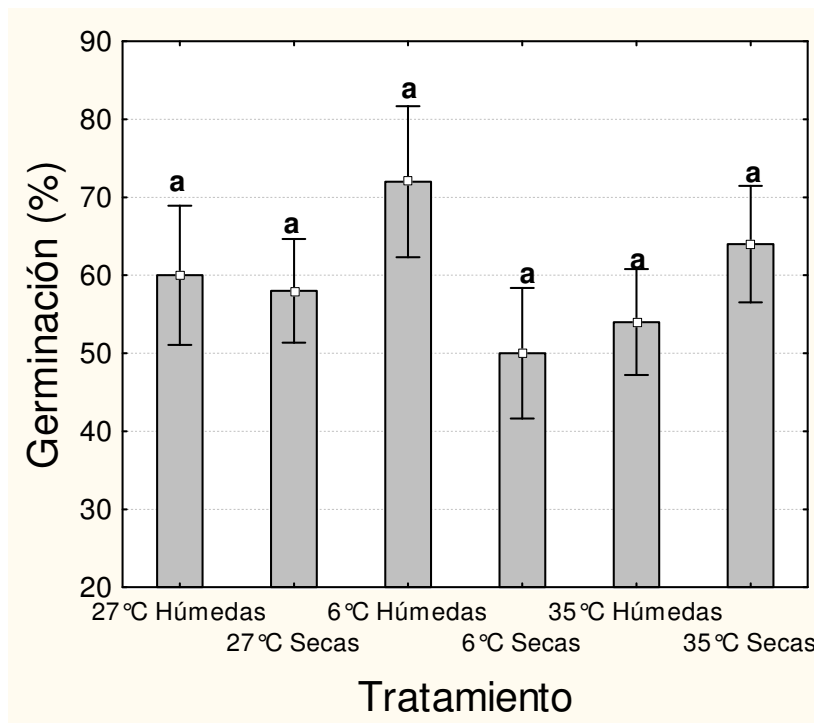


Figura 42 Germinación de las semillas de *R. echinocarpa* con acondicionamiento térmico.

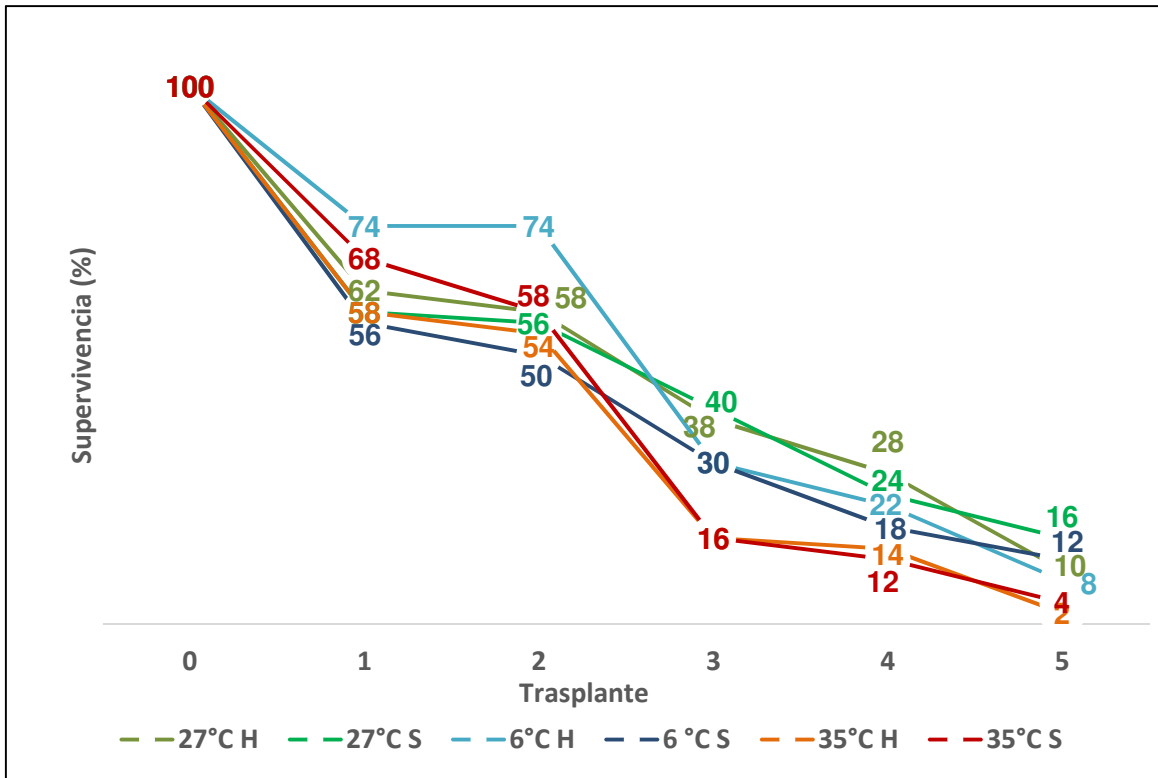


Sin embargo, al realizar la prueba de ANOVA no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos térmicos, ni entre las semillas sembradas húmedas o secas (Figura 43).

Por otro lado, los porcentajes de supervivencia obtenidos en este experimento resultaron mucho menores a los de osmopriming. Se obtuvieron valores de supervivencia final menores a un 20% (Figura 44).

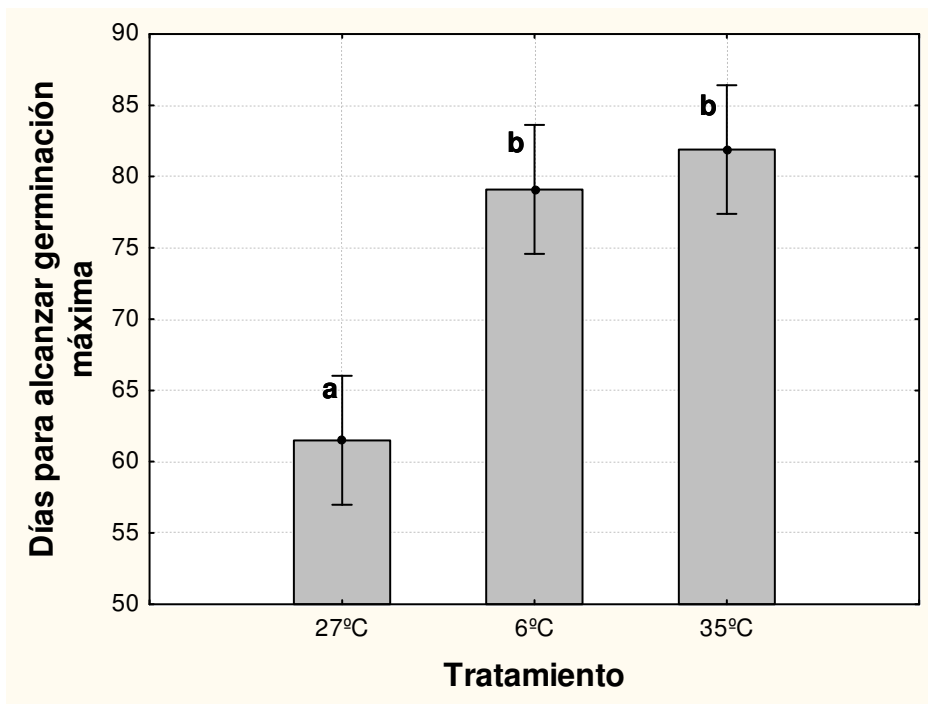


**Figura 43** Germinación de las semillas de acondicionamiento térmico ( $F_{(5, 24)}=1.0147$ ,  $p=.430844$ ). Las letras distintas indican diferencias significativas.



**Figura 44** Porcentaje de supervivencia en los trasplantes de las semillas de *Randia echinocarpa* del experimento de termoprimering. 0) Semillas totales. 1) Porcentaje de supervivencia de semillas germinadas en cajas Petri. 2) trasplante a charolas con papel absorbente húmedo. 3) trasplante a charolas con agrolita y vermiculita 1:1. 4) trasplante a bolsas con agrolita y vermiculita 3:1. 5) trasplante a tierra con agrolita.

Se encontraron diferencias significativas en el tiempo que tardó cada tratamiento en alcanzar su máxima germinación. El tratamiento a 27°C, que corresponde al grupo control a temperatura ambiente, resulto alcanzar su máxima germinación en el menor tiempo (Figura 45). Por lo que a pesar de no haber encontrado diferencias significativas en la germinación en los distintos tratamientos, si hay diferencia en el número de días para alcanzar la máxima germinación. En este caso no se encontraron diferencias significativas entre la velocidad de germinación de semillas secas o húmedas.



**Figura 45** Días para alcanzar la máxima germinación en los distintos tratamientos de termoprimering ( $F_{(2, 27)}=5.9988$ ,  $p=.00699$ ). Las letras distintas indican diferencias significativas.

### 6.4.3 Priming con hormonas de crecimiento

La adición de distintas concentraciones de hormonas durante la imbibición mostró resultados significativos. Los porcentajes más altos de germinación fueron los obtenidos con la aplicación de giberelinas a 50 ppm y 100 ppm y los menores los de auxinas 100ppm y agua (Figura 46). Al igual que en el acondicionamiento térmico, la germinación comenzó a partir de la segunda semana.

**Cuadro 14** Resultados de germinación para semillas con tratamientos hormonales.

Tratamiento	Germinación final (%)
agua	40 ± 6.38
giberelinas 50ppm	70 ± 6.32
giberelinas 100ppm	66 ± 4.76
auxinas 50ppm	47 ± 5.78
auxinas 50ppm	38 ± 8.79

Los resultados analizados con un ANOVA fueron significativamente diferentes (Figura 48). El tratamiento de giberelinas a 50ppm resultó ser significativamente diferente al grupo control, agua,

y al tratamiento con auxinas 100ppm. En este caso si resultó efectivo el uso de hormonas para estimular la germinación.

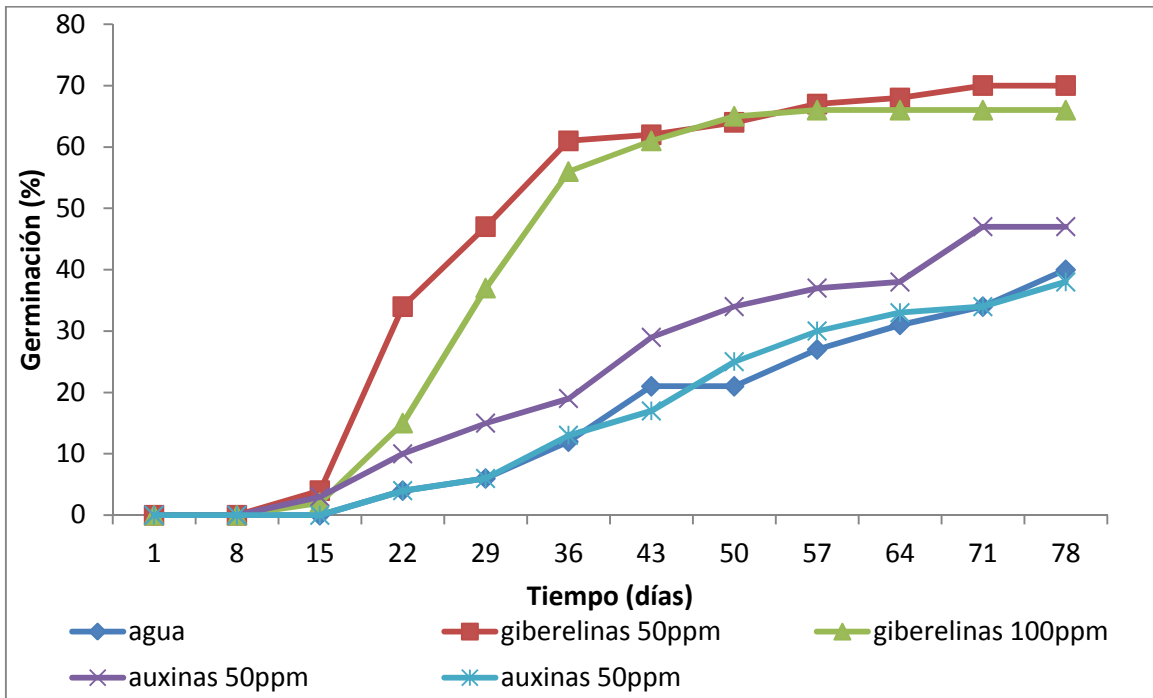


Figura 46 Curva de germinación de semillas de *R. echinocarpa* con tratamientos hormonales.

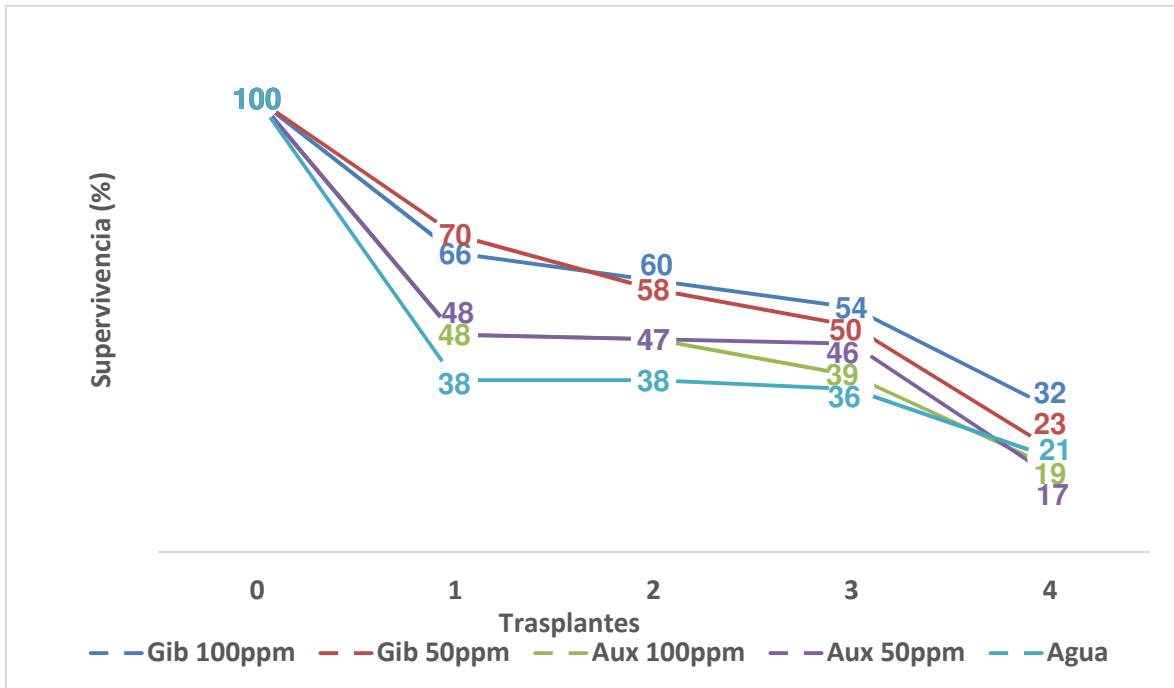
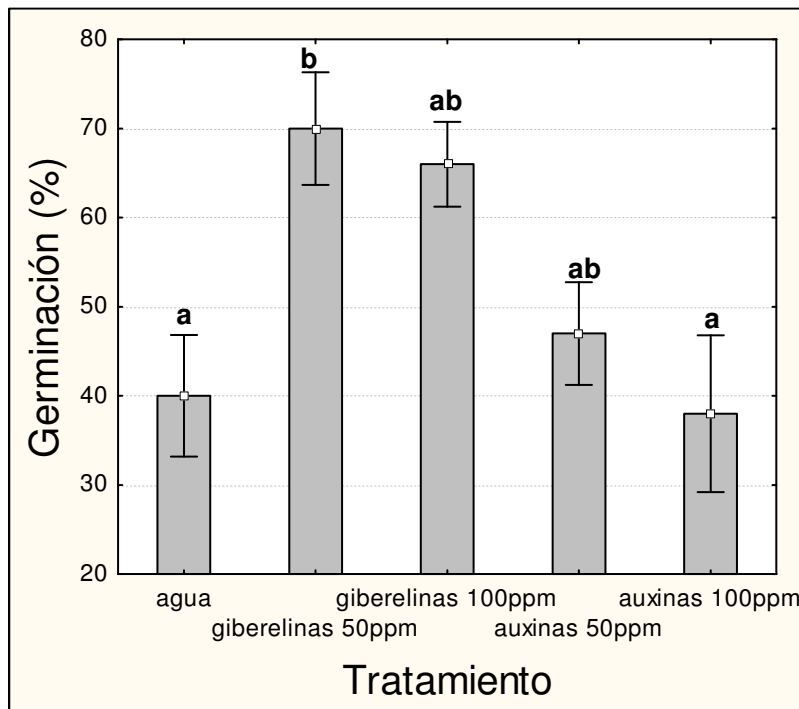


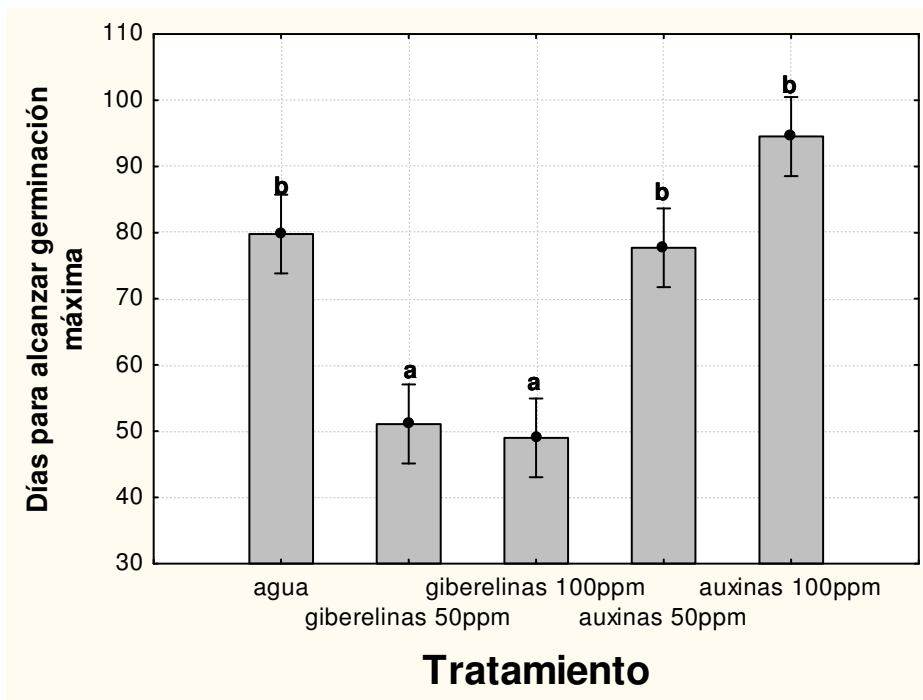
Figura 47 Porcentaje de supervivencia en los trasplantes de las semillas de *Randia echinocarpa* del experimento de priming con hormonas. 0) Semillas totales. 1) supervivencia de semillas recién germinadas en cajas Petri. 2) sobrevivencia al trasplante a charolas con papel absorbente húmedo. 3) sobrevivencia al trasplante a charolas con agrolita y vermiculita 1:1. 4) trasplante a bolsas con agrolita y vermiculita 3:1.

Con respecto a la supervivencia que se muestra en la Figura 47, nuevamente los tratamientos con giberelinas a 50ppm y a 100ppm tuvieron los porcentajes más altos de supervivencia.

Con la finalidad de comprobar los resultados obtenidos con las distintas hormonas se graficaron los días transcurridos para llegar a la máxima germinación en cada uno de los tratamientos hormonales. Los resultados obtenidos analizados mediante un ANOVA arrojaron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 48). Los tratamientos hormonales con Giberelinas a 50ppm y a 100ppm, resultaron ser los que se tardaron menos tiempo en alcanzar su germinación máxima (Figura 49). Esto concuerda con los resultados de germinación, donde estos dos tratamientos fueron los de mayores porcentajes. Es importante notar que los resultados fueron significativamente diferentes a los del grupo control (agua), con lo que se confirma la efectividad de dicho tratamiento.



**Figura 48** Germinación final en los tratamientos pre germinativos con hormonas  $F_{(4, 45)}=4.8891$ ,  $p=.00233$ . Las letras distintas indican diferencias significativas.



**Figura 49** Días para alcanzar la máxima germinación en los distintos tratamientos hormonales ( $F_{(4, 45)}=10.940$ ,  $p=.00000$ ). Las letras distintas indican diferencias significativas.

### 6.5 CRECIMIENTO CON UREA Y AUXINAS

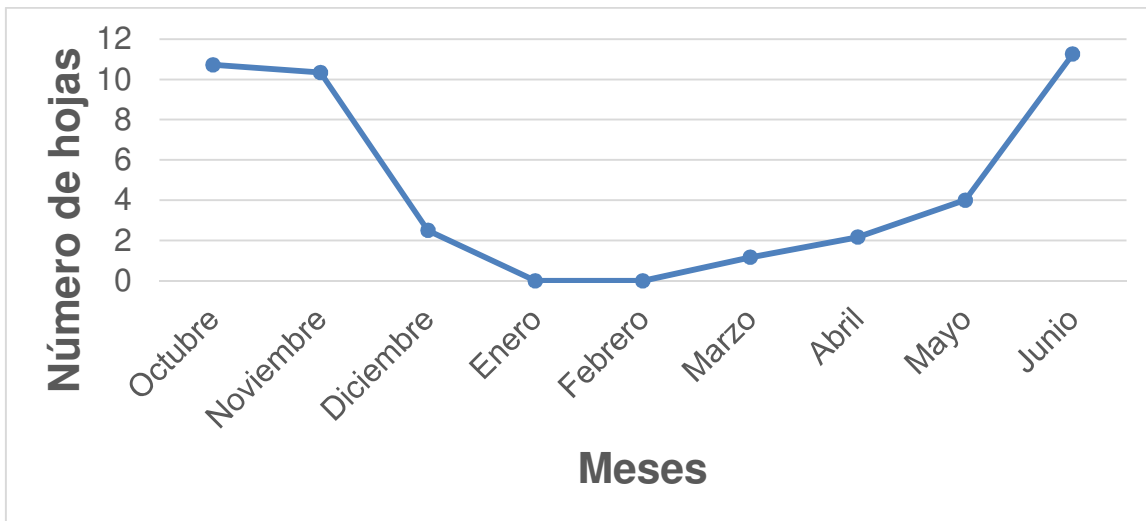
Durante los meses de Octubre, Noviembre, Diciembre y Enero se tomaron los siguientes datos del crecimiento de plántulas de *R. echinocarpa*: a) El número de hojas, b) La longitud del ápice de la planta a la base de las hojas, c) La longitud del ápice de la plántula a la primera raíz y d) El ancho del tallo de la plántula. En el Cuadro 15 se muestran los resultados del crecimiento de las plantas donde se puede observar un lento crecimiento anual para las distintas variables.

**Cuadro 15** Tasa de crecimiento de las plántulas de *Randia echinocarpa*.

	Crecimiento		
	por día	por mes	por año
ápice a base de las hojas	0.00165cm±0.00048	0.0504cm ± 0.00576	0.6058cm ± 0.1752
ápice a raíz	0.00212cm ± 0.0008	0.0646cm ± 0.024	0.7762cm ± 0.292
ancho del tallo	0.00251mm ± 0.0007	0.0764mm ± 0.02129	0.9176mm ± 0.255

Por otro lado el número de hojas de cada planta se contabilizó desde el mes de octubre hasta el mes de junio, reportándose el número promedio de hojas por mes. Los resultados se analizaron con el objetivo de encontrar diferencias en los tratamientos aplicados (urea, urea+auxina, auxinas, control) mediante un ANOVA. Este ANOVA no arrojó diferencias significativas, todos los tratamientos presentaron un número similar de hojas ( $p<0.05$ ). Con los promedios de los distintos

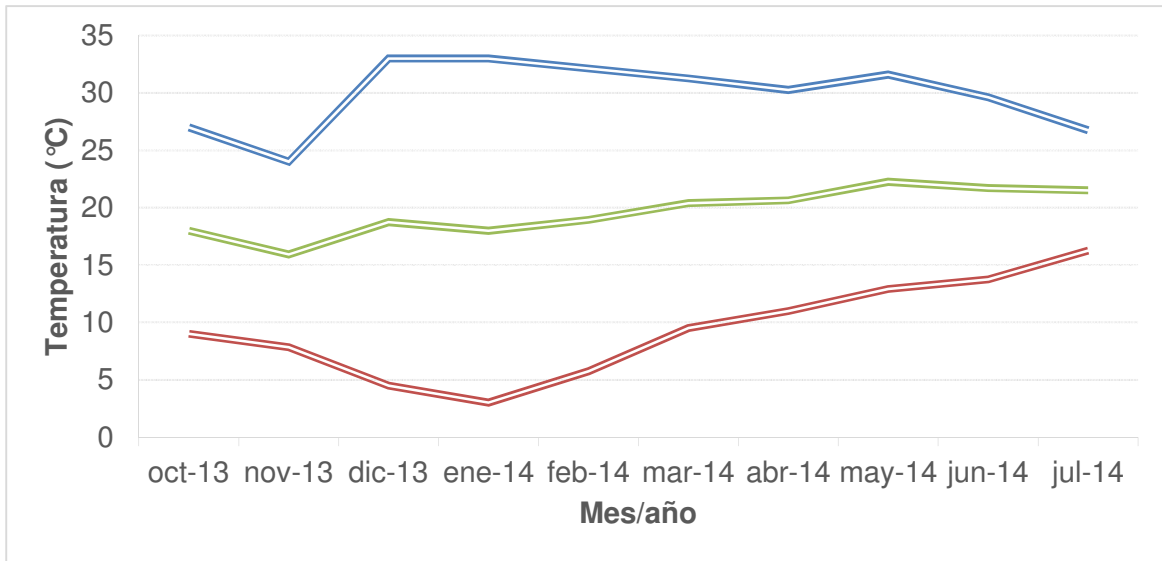
tratamientos (Figura 50), se puede observar que durante los meses de octubre y noviembre el número de hojas fue constante, hasta finales de diciembre y principios de enero fue cuando las plántulas perdieron todas sus hojas, como era de esperarse al tratarse de una especie caducifolia.



**Figura 50** Número de hojas de plántulas de *Randia echinocarpa* a través de los meses.

Este periodo de pérdida de hojas se puede relacionar con temperaturas bajas y con la baja disponibilidad de agua, ya que a pesar de que estas fueron regadas constantemente, no se contó con un aporte externo de agua de lluvia como en otros meses.

Puede observarse un descenso en la temperatura, alcanzada en enero y febrero ( $<5^{\circ}\text{C}$ ) (Figura 51). Posteriormente en Marzo, la temperatura aumentó nuevamente, al igual que el número de hojas en las plántulas de *R. echinocarpa*. En el mes de junio el promedio de hojas por plántula alcanzó el valor máximo con 18 hojas (Figura 50).



**Figura 51** Temperatura máxima (azul), mínima (rojo) y promedio (verde) dentro de la casa de sombra en la cual se encontraban las plántulas de Randia echinocarpa.

En la Figura 52 se observan distintas gráficas, las cuales indican el cambio en la tasa de crecimiento a través de los meses y como esta tasa afecta la velocidad de crecimiento de las plántulas de *R. echinocarpa*.

En el inciso a) se muestra en rojo el crecimiento (en mm) del ancho del tallo de las plántulas de *R. echinocarpa*, mientras que en azul se muestra la tasa de crecimiento de dichas plántulas (mm/día).

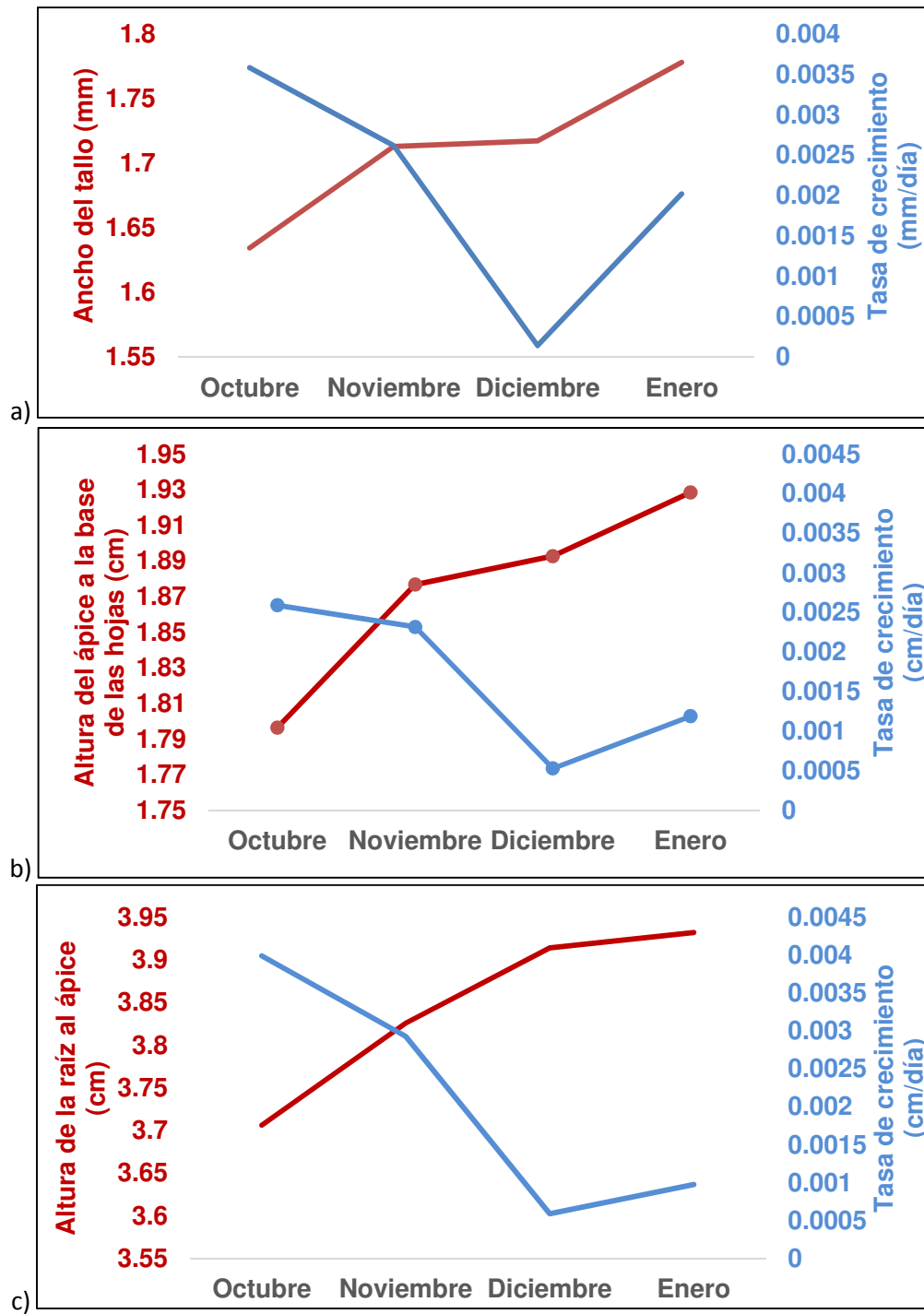
En el inciso b) se muestra en rojo el crecimiento (en cm) de las plántulas desde el ápice hasta la base de las hojas, mientras que en azul se muestra la tasa de crecimiento (en cm/día).

En el inciso c) se muestra en rojo el crecimiento (en cm) de las plántulas desde la raíz hasta el ápice, mientras que en azul se muestra la tasa de crecimiento (en cm/día).

En los 3 incisos se puede observar un claro estancamiento del crecimiento de las distintas variables medidas de las plantas en los meses de Noviembre y Diciembre. Este estancamiento se relaciona con una clara disminución en las tasas de crecimiento durante esos meses, donde en Diciembre alcanza su punto mínimo (casi cero). La disminución en las tasas de crecimiento también se relaciona con la pérdida de hojas que desde el mes de noviembre comenzaron a secarse, y se fueron cayendo en el mes de diciembre.

Posterior a los meses con bajas temperaturas, el crecimiento se vio reiniciado junto con el aumento en el número de hojas promedio.





**Figura 52** Tasas de crecimiento de las distintas partes medidas de las plántulas de *Randia echinocarpa* para los meses de Octubre a Enero. a) ancho del tallo b) altura de la base de las hojas al ápice c) altura de la plántula de la raíz al ápice.

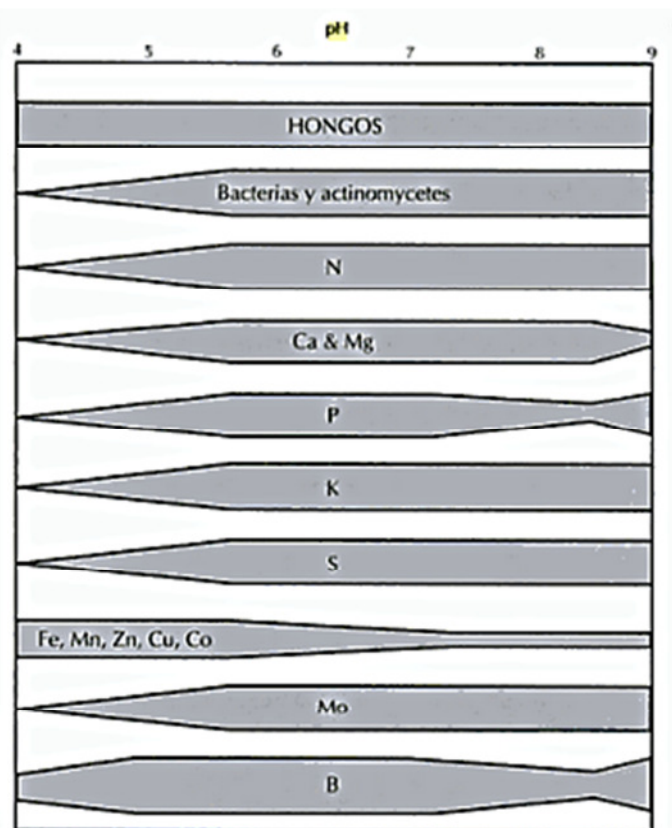
## 7 DISCUSIÓN

### 7.1 CALIDAD DEL SUELO

Los estudios de suelo realizados no mostraron diferencias significativas en las distintas zonas de colecta. En general se encontraron suelos de textura franco arenosa, donde el mayor porcentaje se obtuvo para la arena (>60%). Este tipo de textura no resulta del todo buena, aunque es preferible a un suelo arenoso, ya que este retiene poca humedad. La textura es de vital importancia en la relación entre el suelo y las plantas. Los suelos arcillosos son poco permeables, mientras que los arenosos son demasiado permeables y no retienen el agua ni los nutrientes (Leiton, 1985).

Los resultados de suelo concuerdan con el estudio de Villegas-Soto *et al* (1977) donde menciona que hay zonas que presentan una textura de migajón arcillo-arenoso, suelos francos o migajón arenoso en los primeros 40 cm de suelo.

Con respecto a la conductividad eléctrica el valor obtenido en este estudio fue de 0.22 mS, y según Villegas-Soto (1997), en esta área los valores de conductividad variaron de los 0.16 a 0.60 mS. Por otro lado el pH varía un poco de los resultados de Villegas-Soto ya que el promedio de pH de este estudio fue de 7, mientras que para ellos fue de 7.6. Estos valores de pH, neutros o ligeramente alcalinos, son comunes para suelos en climas áridos, mientras que suelos ácidos se encuentran en climas húmedos (Leiton, 1985). La mayoría de las plantas se desarrollan bien en suelos ligeramente



**Figura 53.** Influencia de pH en la disponibilidad de los nutrientes y en la actividad de los microorganismos. Máxima disponibilidad a pH de 6-7 (Arias Jiménez, 2007).

ácidos (entre 6 y 7), debido a que en este intervalo la mayoría de los nutrientes se encuentran disponibles. (Arias Jiménez, 2007).

Esto concuerda con los resultados del contenido de nutrientes, en los cuales los valores se encuentran dentro de los rangos óptimos para suelos (Marín García *et al.*, 2002). El calcio se encuentra en una proporción de un 66%, el magnesio en un 19%, el potasio en un 6% y el sodio en un 8% (Cuadro 3). Estos porcentajes se aproximan a los porcentajes óptimos según Bernier-Villarreal (2000). Las relaciones entre los nutrientes se encuentran en los rangos óptimos, donde la relación entre Ca/Mg es de 3.3, siendo el óptimo entre 2 y 5; y la relación Mg/K de 3, siendo el óptimo entre 2.5 y 15. Estas relaciones son importantes ya que el exceso de alguno de los iones podría interferir con la absorción de otro. Por otro lado, los niveles de sodio están un poco elevados (8%) aunque no llegan a un 10% que puede indicar que existen problemas de salinidad en el suelo (Bernier-Villarreal, 2000). Dado lo anterior, debido al valor de pH óptimo (entre 6 y 7) y a la baja conductividad, el valor aparentemente alto de sodio en el suelo no representa un problema, ya que las variables anteriores nos permiten descartar la posibilidad de un suelo con problemas de salinidad.

Se compararon las distintas zonas y sus características, tanto del suelo como del fruto y se encontraron algunas diferencias. La zona 1, a las afueras del pueblo, presentó una inclinación casi nula, y un gran número de plantas, 9 en total, de las cuales se colectaron el mayor número de frutos (22 frutos). Para esta zona se encontró que los valores de magnesio y fósforo resultaron significativamente mayores que en la zona 2 y 3. Sin embargo, los frutos resultaron ser los más pequeños que en la zona 3.

Por otro lado, la zona 3 se encontró cerca del camino, por lo que se encontraron menos frutos y en las partes altas de la planta. En esta zona, los frutos resultaron ser significativamente más grandes y pesados que en la zona 1 y 2. Además de esto tuvieron significativamente más semillas clasificadas “en buen estado” que los demás sitios.

Por último, en la zona 2 se encontraron la menor cantidad de frutos y con un 33% de estos plagados por insectos de la familia Curculionidae (Figura 25 y Figura 26). Esta zona es en la que se encontró la mayor inclinación (mayor a 45°), y es una zona relativamente lejana a asentamientos humanos. En los cultivos de café se ha observado la plaga de los frutos por la especie *Hypothenemus hampei*, perteneciente a la familia Curculionidae. Esta plaga es de importancia

mundial ya que puede generar la pérdida parcial o total del fruto, disminuyendo el rendimiento y la calidad del café (Vázquez *et al.*, 2012). En las semillas de *Randia echinocarpa*, este insecto disminuyó la calidad del fruto y de las semillas. Sería importante cuidar la expansión de esta plaga, ya que al afectar los frutos de *R. echinocarpa*, afecta su capacidad de reproducción y reduce la probabilidad de establecimiento.

Esta es una de las plagas más problemáticas en el cultivo del café. Esta se alimenta y reproduce dentro del grano, reduciendo su calidad debido a la destrucción total o parcial de este. Este puede llegar a ocasionar pérdidas de hasta el 80% en la producción. Se ha controlado biológicamente esta plaga por medio de parasitoides principalmente de 4 especies: *Prorops nasuta*, *Cephalonomia stephanoderis*, *Heterospillus coffeicola* y *Phymastichus coffea*. Además de dichas especies se ha registrado que varios hongos entomopatógenos atacan a la broca del café, como *Beauveria bassiana*. Este hongo ataca de manera natural a la broca y puede controlarla en un 50%. Estos métodos biológicos en lugar de químicos podrían ser ideales en el caso de *Randia echinocarpa* ya que estos métodos no alterarían a la planta (Cruz, 2012).

## 7.2 CALIDAD DE LA SEMILLA

Las semillas se separaron en semillas “en buen estado” y “en mal estado” con la finalidad de homogeneizar la muestra y mejorar la calidad de las semillas sembradas. Este primer filtro contribuye a la selección de semillas de mejor calidad para las pruebas que se realizaron.

Además de esta caracterización cualitativa, se evaluaron otros aspectos de la semilla para evaluar su calidad. Las semillas con mejor calidad tienen múltiples ventajas sobre otras, como una mejor condición para el almacenamiento, un mínimo desperdicio de semilla y plantas uniformes en vivero entre otras. Las semillas de alta calidad son la base para desarrollar sistemas de producción, utilizando la siembra de una sola semilla por maceta (Poulsen, 2000). El porcentaje de germinación no es suficiente para expresar la calidad, también se debe conocer su longevidad, ya que una semilla pierde viabilidad a través del tiempo. Por lo tanto la evaluación de las propiedades de viabilidad y humedad resultan igual de importantes que la germinación, para complementar el estudio (Poulsen, 2000). En las semillas recién colectadas de *Randia echinocarpa* se encontró que la viabilidad fue de un  $71.17\% \pm 4.8$ , su humedad de un  $9.09\% \pm 0.42$  y su germinación de un  $68.92\% \pm 0.68$ . En estudios realizados unos meses después, la viabilidad se redujo a un  $52\% \pm 7.16$ . Se presentó un deterioro de las semillas por el almacenamiento a temperatura ambiente. Sería

necesario evaluar su respuesta al almacenamiento a bajas temperaturas para determinar si puede evitarse la disminución en la viabilidad.

### **7.3 OSMOPRIMING**

El priming de semillas es una técnica utilizada para mejorar el rendimiento de las semillas, aumentar la velocidad y uniformizar la germinación. La estrategia del osmopriming se basa en controlar la entrada de agua a las semillas durante el periodo de imbibición (Bewley y Black, 1994). Para el primer experimento de osmopriming, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, donde aquellos tratamientos muy concentrados, -12 atm y -15 atm, fueron significativamente más bajos que el resto. Estas soluciones reducen mucho la entrada de agua a la semilla, impidiendo que se active el metabolismo de esta. Según Hardegree (1996) hay tratamientos ya sea con muy bajos/altos potenciales del agua o altas temperaturas que pueden tener efectos negativos sobre la germinación, como es el caso de los tratamientos mencionados anteriormente. El agua es el recurso principal para iniciar los cambios fisiológicos que llevan a la germinación. Este resulta indispensable para activar el metabolismo y el crecimiento de las células y por lo tanto de los tejidos (Bradford, 1995). La germinación de una semilla y su velocidad, dependen de los gradientes de potenciales hídricos entre la semilla y el medio (Welbaum y Bradford, 1989; Welbaum *et al.*, 1989). Un exceso de sales en el suelo puede inducir la dormancia de las semillas ya que la entrada de agua a la semilla se reduce significativamente y el embrión no alcanza la turgencia necesaria para romper con las cubiertas seminales (Bewley y Black, 1994; Bradford, 1995; Ruiz y Parera, 2013). Por lo tanto los tratamientos más concentrados no estimularon la germinación sino que la inhibieron, ya que se redujo la entrada de agua a la semilla.

Por otro lado, los porcentajes de germinación de los tratamientos de -3atm, -6atm y agua resultaron significativamente mayores que los de las soluciones más concentradas. Sin embargo, entre los tratamientos de -3atm, -6atm y agua no se encontraron diferencias significativas. A pesar de que la tendencia indica que los tratamientos de -3atm y -6atm son mayores, al no resultar significativamente diferentes al agua (grupo control) no se puede afirmar su eficacia.

Además de esto la supervivencia final de las plántulas germinadas en los tratamientos más concentrados fue de 0%, mientras que para el resto de los tratamientos la supervivencia final fue de 40% para -3atm, 26% para -6atm y 18% para agua (control). Según Bradford (1986) el osmopriming de semillas en soluciones con alto potencial osmótico con polietilen glicol y con

sales, además de ser usado para reducir el tiempo de germinación y sincronizar la germinación, es utilizado debido a que mejora el establecimiento de plántulas. Aparentemente la supervivencia es mayor en los tratamientos osmóticos menos concentrados; sin embargo, se requiere aumentar el tamaño de muestra que permita distinguir si existen diferencias significativas entre estos porcentajes de supervivencia. Por otro lado, no se encontró diferencia en el tiempo que tardó cada tratamiento en alcanzar su máxima germinación, lo cual no brinda información que sustente el uso de este tratamiento. El porcentaje de germinación aunado al porcentaje de supervivencia y al establecimiento de plántulas en cada tratamiento osmótico, permitió que se eligieran los tratamientos de -3atm, -6atm y agua para el experimento 2.

A pesar de haber repetido el experimento anterior con pocas variaciones, no se encontraron diferencias significativas entre la germinación de los distintos tratamientos. Las semillas sembradas húmedas o secas no mostraron diferencias significativas en cuanto a su germinación, por lo que no se puede probar la eficiencia de este tratamiento pre-germinativo sobre las semillas de *R. echinocarpa*. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre el total de días para alcanzar la germinación máxima. Se encontró que el tratamiento de -3atm seco es significativamente distinto al resto, con el menor número de días para alcanzar esta germinación máxima en otras palabras, con la mayor velocidad de germinación. Además de esto se encontró que los tratamientos con semillas secas tardaron por lo menos 15 días menos en alcanzar su germinación máxima que aquellos con semillas húmedas. Según Al-Karaki (2008) al someter a las semillas de trigo y cebada a tratamientos osmóticos, se muestra una mayor absorción de agua que en aquellas sin tratamiento. Al disminuir el potencial hídrico (- 8 atm y -12 atm), la absorción disminuye significativamente generando un mayor estrés para la semilla. Las semillas sometidas a tratamientos osmóticos aumentan su porcentaje de germinación y disminuyen su tiempo de germinación un 50%, principalmente en aquellos tratamientos con altos potenciales hídricos (4 atm o -0.4MPa). En el caso de *R. echinocarpa* las semillas en el potencial osmótico (hídrico) de -3atm seco (potencial hídrico alto) resultaron tardar entre 10 y 20 días menos que aquellas semillas sin tratamiento.

En el segundo experimento de osmopriming se observó una mayor germinación que en el primero, aunque esta no es significativa debido a que los errores son muy grandes por lo que se recomendaría ampliar el tamaño de muestra. En ambos experimentos la germinación comenzó a partir de los 15 días (2 semanas) y los porcentajes de supervivencia fueron similares a los del

experimento 1, con un máximo de 42% para los tratamientos agua secas y -3 atm secas, y un mínimo de 28% para el tratamiento Agua húmedas. Araby y Hegazi (2004) encontraron que el osmopríming mejora la germinación de semillas además de incrementar el crecimiento y uniformar los trasplantes. Por otro lado Al-Karaki (2008) menciona que en semillas de trigo y avena sometidos a tratamientos osmóticos, en potenciales de entre 0 y -0.4MPa (-4 atm) se observa un aumento en la longitud y el peso de las raíces (Al-Karaki, 2008). En el caso de *R. echinocarpa*, a pesar de no tener datos sobre la longitud radicular de las plántulas, se puede inferir que la supervivencia mayor de las plántulas del tratamiento -3atm en ambos experimentos, se pudo deber a una mayor cantidad de raíces.

En el experimento 2, los porcentajes de viabilidad que deben de estar en estrecha concordancia con los porcentajes de germinación, resultaron mucho más bajos. La viabilidad fue de un 50%, mientras que la germinación resultó un 20% arriba de esta. Los resultados de las pruebas de tetrazolio y de germinación generalmente se encuentran en estrecha concordancia. Los límites de variación entre la germinación y la viabilidad de las semillas son de entre un 3 a un 5%, el cual se puede incluir dentro del error de muestreo. Sin embargo, esta concordancia se da mejor en lotes de semillas de alta calidad y homogéneos (Moreno, 1984). El lote de semillas debe ser lo más homogéneo posible, en todos sus componentes. La falta de concordancia entre los valores de la viabilidad y de la germinación en semillas de *Randia echinocarpa* se pudo deber a la falta de homogeneidad en el lote de semillas, debido a que provienen de una población silvestre. Además, la diferencia entre estos valores también pudo deberse a una mala interpretación de resultados de la prueba de tetrazolio y a la inexactitud de este tipo de pruebas cualitativas (Moreno, 1984).

Es importante recordar que las semillas pueden no germinar debido a una latencia, a una inmadurez o a la infección por hongos. Al someter a las semillas en los tratamientos con manitol se aumentó la probabilidad de infección por hongos. Una buena parte de las semillas se vieron infectadas reduciendo los porcentajes de germinación. Estos resultados concuerdan con los de Szopinska y Tylkowska (2009), quienes encontraron que la infección de semillas de *Zinnia elegans* por hongos ocurre más en semillas tratadas con polietilén glicol, a pesar de esto, el priming aumentó el porcentaje de germinación de estas.

Diversos autores hablan de la eficacia los tratamientos osmóticos. Singh, *et al.* (2014) probaron que las semilla de *Vigna unguiculata* mejoraron su germinación al ser embebidas en soluciones

osmóticas con  $\text{KNO}_3$  por 6 horas; Araby y Hegazi (2004) encontraron que mejora la germinación de semillas además de incrementar el crecimiento y uniformar los trasplantes; Chojnowski, *et al.* (1997) encontraron que la inmersión de semillas en PEG aumentó significativamente la germinación en semillas de *Helianthus annuus*; McDonald (2000) menciona que los cambios metabólicos que ocurren durante esta imbibición no son suficientes para inducir la protrusión de la radícula y que se tiene evidencia sobre la reparación del DNA, RNA, proteínas, membranas y enzimas durante la imbibición. Por su parte, Hardegree (1996) encontró que existe una relación en la que los tratamientos con mayor germinación son también aquellos que tienen la mayor velocidad de germinación. Dados los resultados con múltiples especies de plantas con respecto al osmoprimering, se esperaba que las semillas de *R. echinocarpa* mostraran diferencias significativas determinantes. Sin embargo, no se mostraron diferencias al grado que mencionan otros autores por lo que se recomienda hacer un muestreo mayor para disminuir el error y desenmascarar las diferencias reales que puedan existir entre los tratamientos.

#### **7.4 TERMOPRIMING**

El priming con muy altas o bajas temperaturas puede afectar positivamente el porcentaje de germinación (Hardegree, 1996). Para *R. echinocarpa* la mayor germinación se alcanzó con el tratamiento térmico de 6°C con las semillas sembradas húmedas, mientras que la menor resultó ser la de 6°C secas. Aun así, al realizar la prueba de ANOVA, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos térmicos, ni entre las semillas sembradas húmedas o secas (Figura 43). Los tratamientos pre-germinativos a bajas temperaturas son comunes y efectivos para mejorar la germinación de semillas en diferentes condiciones ambientales (Ashraf y Foolad, 2005). Sin embargo, las semillas de *R. echinocarpa* no presentaron resultados significativamente diferentes.

Muchas semillas contienen lípidos y proteínas como compuestos de reserva y pocas cantidades de almidón, en el caso de *Randia echinocarpa* principalmente proteínas. Durante el enfriamiento, el embrión crece considerablemente debido a la movilización del carbono y nitrógeno de los tejidos de reserva. Además debido a la degradación de lípidos y proteínas, se acumulan azúcares que son usadas como fuente de energía para generar una presión osmótica que facilite la entrada de agua y la posterior germinación (Salisbury y Ross, 1992). El termoprimering en frío también puede ayudar a la desintegración de inhibidores de la germinación y a la acumulación de reguladores del crecimiento tales como giberelinas y citocininas (Khan, 1977).



Sin embargo, otros autores, a diferencia de lo que ocurrió con *R. echinocarpa*, registran que las semillas alcanzan su máxima germinación a 40°C durante 24-48hr (Tesfaye, 1992).

Los porcentajes de supervivencia para el termoprimering resultaron mucho menores a los de osmoprimering. Se obtuvieron valores de supervivencia final menores a un 20% (Figura 44). Dado que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos se recomendaría aumentar el número de repeticiones por tratamiento para minimizar los errores y encontrar diferencias significativas si es que existen. Aunque con base en los resultados obtenidos, el osmoprimering resultó más promisorio que el termoprimering en la germinación de *R. echinocarpa*.

## 7.5 PRIMING CON HORMONAS

La aplicación exógena de auxinas y giberelinas se ha probado que ayudan a que las plantas respondan a situaciones de estrés salino, a mejorar la germinación, el crecimiento y el desarrollo (Afzal *et al.*, 2005; Jamil y Shik, 2007; Yarnia y Farajzadeh, 2012).

La imbibición de semillas con concentraciones óptimas de fitohormonas ha mostrado ser benéfico para el crecimiento de algunas especies de plantas, aumentando la reserva de nutrientes debido al aumento en las actividades fisiológicas y por la proliferación de la raíz (Afzal *et al.*, 2005).

En el caso de *R. echinocarpa* se analizaron las diferencias entre la inmersión de semillas en auxinas y la inmersión en giberelinas. Los resultados analizados con un ANOVA fueron significativamente diferentes, donde el tratamiento de giberelinas a 50ppm resultó tener una mayor germinación (70%) que el grupo control, agua (40%), y que el tratamiento con auxinas 100ppm (<40%) (Figura 48). Esto se contraponen con los resultados obtenidos para el cafeto (*Coffea arabica*) el cual pertenece a la familia Rubiaceae. Se esperaba que *R. echinocarpa* reaccionara de manera parecida a esta especie al ser de la misma familia; sin embargo, la acción de giberelina exógena sobre las semillas de cafeto resulta ser inhibitoria y parece ser estimulado por las auxinas, que aumentan el porcentaje de germinación tras su inmersión en IAA o IBA de 25ppm a 100ppm (Bradbeer, 1988; Rojas Garcidueñas y Ramírez, 1993). Estos resultados se contraponen con los obtenidos para *R. echinocarpa*, ya que en este caso la inmersión de semillas en giberelinas favoreció la respuesta a diferencia de la aplicación de auxinas donde los porcentajes de germinación no fueron distintos al grupo control (agua) (Figura 48).

Las giberelinas inducen la germinación de semillas principalmente en aquellas que requieren de estratificación en frío o germinación inducida por la luz y promueven la producción de enzimas durante la germinación, principalmente de la alfa amilasa (Davies, 2004). El uso de giberelinas en la germinación ha brindado muchos resultados favorecedores para distintas

especies. En Chile, semillas de cinco especies de *Nothofagus* aumentaron su velocidad de germinación y su germinación total con la inmersión de semillas en solución de giberelinas a 25 ppm durante 15 o 30 horas (Rocuant, 1984). En el naranjo (*Citrus sinensis*) la inmersión de semillas de giberelinas 1000 ppm ha dado un buen resultado, aumentando el porcentaje de germinación además de inducir un crecimiento más rápido durante varios meses (Burns y Coggins, 1969). En semillas de papaya la aplicación de giberelinas de 50 a 500 ppm aumento la tasa de germinación (Bartholomew y Criley, 1983). En el pino y el ciprés también se ha demostrado la estimulación de la germinación por aplicación de fitohormonas (Rojas Garcidueñas y Ramírez, 1993). En semillas de *Dianthus barbatus*, Zahedi *et al.*, (2012) encontraron que el priming con giberelinas a 100ppm aumentó la germinación y la longitud de la raíz. Ellos recomiendan el uso de esta técnica para plantas con semillas de difícil germinación.

En semillas con una cubierta muy dura, que en general requieren ser escarificadas y que requieren de ser estratificadas en frío, la aplicación de giberelina puede sustituir esos procesos (Rojas Garcidueñas y Ramírez, 1993). Las semillas de *R. echinocarpa* presentan una cubierta muy dura e impermeable, que le impide al embrión la emergencia. Debido a esto las semillas son escarificadas, facilitando la emergencia de la radícula y el crecimiento de los cotiledones. La adición de giberelinas pudo haber debilitado la cubierta de las semillas, mostrando así un aumento tanto en la velocidad de germinación como en la germinación final. En semillas de nogal pecanero (*Corya illinoensis*) se ha comprobado que la inmersión en giberelinas debilita las cubiertas duras, mejorando así su germinación (Rojas Garcidueñas y Ramírez, 1993). Hernández, *et al.*, (2009) también mencionan que las giberelinas incrementan el potencial de crecimiento del embrión y le ayudan a vencer la resistencia mecánica de los tejidos que rodean la radícula. Las giberelinas también han mostrado aumentar la tasa de crecimiento de los embriones (Groot y Karssen, 1987; Ogawa, *et al.*, 2003).

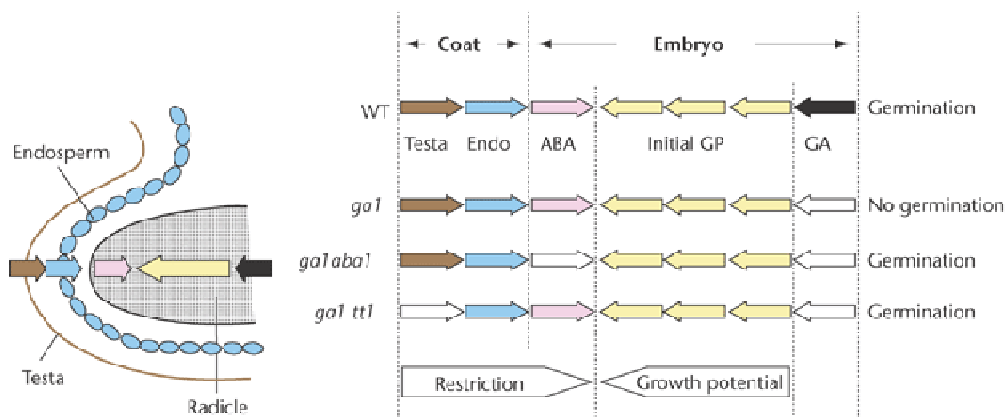
En *R. echinocarpa* además del incremento en la germinación, se observó un aumento en la velocidad de germinación donde los tratamientos hormonales con giberelinas a 50ppm y a 100ppm resultaron ser los que se tardaron menos tiempo en alcanzar su germinación máxima (50 días). Los tratamientos de agua, auxinas 50ppm, auxinas a 100ppm tardaron 85, 78 y 95 días, respectivamente. Hernández, *et al.*, (2009) probaron que las semillas de *V. meridionale* además de ser fotoblásticas positivas, tienen una latencia fisiológica no profunda que se pudo remover con la imbibición de semillas en giberelinas. Además de un aumento en el porcentaje de germinación, también aumentó la velocidad de germinación de estas. Por otra parte las semillas del cafeto también aumentaron su velocidad de germinación, de 5 a 7 días antes, con la inmersión de

semillas en tiourea a 1500ppm (Bartholomew y Criley, 1983; Rojas Garcidueñas y Ramírez, 1993). Jamil y Shik (2007) reportan que el priming con ácido giberelico a una concentración de 150 y 200mg/L por 10 horas redujo el tiempo de germinación en semillas de *Beta vulgaris L.* Los autores atribuyen este aumento en la velocidad de germinación a una absorción de agua mayor en las semillas con priming.

Hernández *et al.*, (2009) mencionan que el incremento en la germinación debido a las giberelinas está dado por que la remoción de la latencia se regula mediante señales ambientales y señales endógenas. Las semillas de *R. echinocarpa*, posiblemente latentes se vieron favorecidas al igual que la de *V. meridionale* aumentando su velocidad de germinación. Guangwu y Xuwen (2014) encontraron que la aplicación exógena de GA<sub>3</sub> mejoró la germinación y el vigor de las semillas de *Pinus massoniana* ya que promueve la respiración de la semilla, disminuye los niveles de ABA y estimula la biosíntesis de IAA y GA1.

Las giberelinas son necesarias para superar la resistencia mecánica que implican los tejidos que rodean al embrión como la aleurona y la testa. Por lo tanto se ha probado que además de inducir la protrusión de la radícula, las giberelinas ayudan a debilitar el tejido que rodea al embrión en semillas de *Arabidopsis* (Ogawa *et al.*, 2003). Algunos genes inducidos por GA que debilitan la pared celular se han identificado en semillas de tomate y en semillas de café (*Coffea arabica*), como la  $\beta$ -mannasa (Amaral da Silva *et al.*, 2004; Groot y Karssen , 1987; Martínez-Andújar, *et al.*, 2012), la expansina (Chen y Bradford, 2000) entre otros, algunos de los cuales son expresados específicamente en el endospermo alrededor de la radícula (endospermo micropilar). La activación de estos genes inducidos por GA permiten que la radícula emerja a través de la testa (Amaral da Silva *et al.*, 2004; Ogawa *et al.*, 2003).

Se sabe que las giberelinas inhiben la biosíntesis de ABA, el cual actúa como inhibidor de la germinación. Por lo que al disminuir su biosíntesis, la germinación aumenta (Bewley y Black, 1994; Nonogaki, 2008; Ogawa *et al.*, 2003; Welbaum *et al.*, 1989). El ABA actúa como inhibidor de la germinación ya que inhibe la absorción de agua debido a que previene el debilitamiento de la pared celular (Schopfer y Plachy 1985). En la Figura 54 se muestra como la testa, el endospermo y el ABA actúan como inhibidores de la germinación, sin embargo, las giberelinas promueven el potencial de crecimiento del embrión facilitando la germinación de las semillas (Nonogaki, 2006).



**Figura 54** Hipótesis sobre los mecanismos de germinación. La emergencia de la radícula está determinada por el balance entre los mecanismos de resistencia mecánica (testa y endospermo), el ABA y por el potencial de crecimiento del embrión. Se observa que la testa (flecha café), el endospermo (flecha azul) y el ABA (flecha rosa) inhiben la germinación. Por otro lado el potencial de crecimiento (Flechas amarillas) actúa a favor de la germinación, estimulado por las giberelinas (flecha negra) (Nonogaki, 2006).

La acción inhibitoria del ABA en semillas es similar y aditiva a un potencial hídrico reducido (Schopfer y Plachy 1985). Altos niveles de ABA en las semillas promueven que las semillas reduzcan el potencial hídrico, y por lo tanto su potencial para germinar. Por lo que las auxinas, al inhibir al ABA, aumentan el potencial hídrico y permiten que las semillas germinen (Arteca, 1996). Los resultados obtenidos con *R. echinocarpa* coinciden con los autores antes mencionados ya que la adición de giberelinas estimuló tanto el porcentaje de germinación como su velocidad de germinación.

Se recomendaría una medición posterior de las plántulas, para identificar si el beneficio que brindan las giberelinas durante la germinación se mantiene en posteriores etapas del crecimiento. Según Azfal *et al.*, (2005) la imbibición de semillas con concentraciones óptimas de fitohormonas ha mostrado ser benéfica para el crecimiento de algunas especies de plantas, aumentando la reserva de nutrientes debido al aumento en las actividades fisiológicas y por la proliferación de la raíz. Además, Davies (2004) menciona que las giberelinas promueven el crecimiento del tallo por la estimulación de la división y elongación celular y su aplicación exógena puede inducir la fructificación y el crecimiento del fruto.

Gupta y Mukherjee (1982) estudiaron la influencia del GA3 en el patrón de distribución de proteínas soluble, aminoácidos libres y los ácidos orgánicos en el endospermo, la raíz, el coleóptilo y la hoja primaria de semillas de *Pennisetum typhoides*. Encontraron altos niveles de proteínas

solubles y aminoácidos libres en la semilla, los cuales favorecieron una rápida germinación. Además el GA3 generó una retención de nitrógeno libre en el coleóptilo y en la raíz que se translocó hacia las hojas primarias (Gupta y Mukherjee, 1982). Esta retención de nitrógeno, favoreció el crecimiento y el establecimiento de plántulas de *Pennisetum typhoides*.

## 7.6 CRECIMIENTO CON UREA Y AUXINAS

Con la aplicación de fertilizantes nitrogenados al sustrato (urea), no se logró estimular de manera satisfactoria el crecimiento de plantas de *R. echinocarpa* en su primer año de desarrollo (Cuadro 15). La fertilización con compuestos nitrogenados se hizo con la finalidad de estimular el crecimiento de la planta, ya que el nitrógeno es un macronutriente de vital importancia para el crecimiento vigoroso de las plantas y el desarrollo del fruto ya que interviene en la utilización de carbohidratos y en la formación de aminoácidos y proteínas. Además participa en la formación de clorofila (Alvarado Soto y Rojas Cubero, 2007). Morales (2004), probó la fertilización de plantas de *Gevuina* con distintos fertilizantes aplicado al sustrato, entre ellos urea (20kg/N/Ha) y salitre (20, 40 y 80 kg/N/Ha). Las plantas de *Gevuina* solo manifestaron respuesta a la aplicación de fertilizantes nitrogenados al medir la altura de las plantas. Sin embargo, no encontraron diferencias en ningún otro parámetro medido (diámetro del cuello, número de hojas, peso seco, raíces, etc) por lo que concluye que las plantas de *Gevuina* en su primer año de crecimiento no responden satisfactoriamente a la aplicación de fertilizantes nitrogenados. Por esto, realizó otra prueba con plantas de dos años, a las cuales fertilizó vía foliar a inicios del verano. Estas respondieron positivamente a la aplicación de fertilizantes (urea) aumentando la mayoría de los índices de crecimiento. Sin embargo, los tratamientos con fertilizantes al suelo y en forma foliar efectuados al final del verano, no produjeron aumento significativo en el crecimiento, lo cual indica que el momento de aplicación es un factor de gran importancia en la respuesta de *Gevuina* a la fertilización. Morales argumenta que esto se debe a que el momento y el tipo de aplicación de fertilizante son factores de gran importancia en la respuesta de *Gevuina* a la fertilización. Por lo tanto, en el caso de *R. echinocarpa*, las condiciones climáticas pudieron no ser ideales ya que la fertilización se realizó en el mes de octubre, cuando la temperatura y la precipitación son relativamente bajas. Dado esto se recomienda que la fertilización se haga en los meses de verano. Además, se podría probar si la fertilización foliar da resultados significativos como en el caso de *Gevuina*.

La aplicación de auxinas tampoco generó cambios significativos en el crecimiento de las plántulas. Visualmente pareció aumentar el número de raíces después de la adición de auxinas. Para poder comprobar esto se debieron tomar medidas más precisas sobre el peso de las distintas partes de la planta, en este caso de la raíz. Sin embargo, por la tardada germinación y la escasez de semillas de *R. echinocarpa*, se decidieron tomar medidas menos invasivas. Además de esto se buscaba la obtención de un número significativo de plantas para llevarlas al sitio de estudio y contribuir con su conservación.

Dado que la aplicación de urea y auxinas no brindó resultados significativos en ninguno de los tratamientos osmóticos, se promediaron los datos de cada medida para obtener tasas de crecimiento generales para *R. echinocarpa*. Las tasas de crecimiento de los 3 datos obtenidos, longitud del ápice de la planta a la base de las hojas, la longitud del ápice de la plántula a la primera raíz y el ancho del tallo de la plántula, resultaron muy bajas, 0.00156 cm/día, 0.00212 cm/día y 0.00251 mm/día, respectivamente. Por otro lado, el número de hojas fue relativamente estable en los meses cálidos, pero al llegar a los meses fríos (principalmente diciembre y enero) las plántulas perdieron por completo sus hojas, recuperándolas hasta Abril y alcanzando el mayor número en Junio (Figura 50). La temperatura, la humedad y la precipitación son factores fundamentales en el crecimiento de plántulas. Villegas-Soto *et al.*, (1977) describen las características climáticas del municipio de Tehuizingo. Se observa, que los datos de temperatura de la casa de sombra, guardan la misma tendencia, donde diciembre, enero y febrero son los meses más fríos y Abril, Mayo y Junio son los más cálidos (Figura 51). Sin embargo, la temperatura en la casa de sombra es  $\approx 5$  °C menor que los valores registrados por estos autores. Respecto a la precipitación, los meses de mayor precipitación coinciden con los de Villegas-Soto *et al* (1977) siendo: mayo, junio, julio, agosto y septiembre. Es importante mencionar que los meses de mayor precipitación fueron aquellos donde las plántulas aumentaron su número de hojas además de observarse una tendencia al aumento en la tasa de crecimiento. Por otro lado, los meses de más frío y menos lluvia coincidieron con la pérdida total de las hojas, lo cual también fue visible en las tasas de crecimiento de las plántulas, ya que en los meses de noviembre y diciembre estas tasas disminuyeron notoriamente (Figura 52).

Esta caracterización básica del crecimiento de *Randia echinocarpa* nos brinda un punto de partida para futuros estudios en relación a la estimulación de su crecimiento. Queda claro que los meses ideales para la fertilización de esta son en los meses de verano, donde la temperatura y la precipitación son óptimos para el crecimiento. Con base en los resultados obtenidos no resultó

favorable la aplicación de fertilizantes en la época de frío, ya que perdió todas sus hojas ocasionando una disminución drástica en su tasa de crecimiento.

Debido al lento crecimiento que se registró para esta planta, se recomendaría probar con algún método de reproducción asexual, como el estacado, acodado o micropropagación.

## 8 CONCLUSIONES

- El suelo del sitio de colecta (Tlalchinola, Puebla) resultó adecuado con una textura franco arenosa un pH de 7 y una conductividad de 0.22mS que lo caracteriza como no salino.
- Los valores de los nutrientes en el suelo se encuentran dentro del rango óptimo y los principales nutrientes antagonistas, Mg, K y Ca se encuentran en las proporciones ideales, por lo que ninguno bloquea la absorción de otro.
- Se encontraron diferencias entre los sitios de colecta. En la zona 3 de colecta, los frutos resultaron más grandes, pesados y con mayor cantidad de semillas en buen estado. En la zona 2 se encontró el mayor porcentaje de frutos plagados por un insecto de la familia Curculionidae, el cual se alimenta de las semillas. Es importante un monitoreo para evitar que la plaga se expanda.
- Los frutos de *R. echinocarpa* tienen en promedio 118 semillas en buen estado, con una viabilidad del 71.2%, un contenido de humedad de 9.1% y germinación de semillas escarificadas del 69% en un tiempo máximo de 60 días. La supervivencia final de las plántulas obtenidas fue un 18%.
- El priming de semillas con giberelinas a 50ppm y a 100ppm aumentó el porcentaje de germinación (66% y 70% respectivamente) y la velocidad de geminación (51y 49 días respectivamente)) con respecto al grupo control (agua) (80 días). La supervivencia final de las plántulas obtenidas en estos tratamientos fue de 32% para Giberelinas a 100ppm y 23% para aquellas con tratamiento de giberelinas a 50ppm.
- Los tratamientos de osmopriming y termopriming no mostraron diferencias significativas con respecto al grupo control, por lo que para *R. echinocarpa* no se recomienda su uso.
- *R. echinocarpa* tiene un crecimiento muy lento y pierde sus hojas en los meses fríos. La adición de urea y de auxinas al sustrato durante los meses de Octubre y Diciembre, no estimuló el crecimiento de las plántulas.
- Se observó una clara disminución en las tasas de crecimiento durante los meses fríos y un aumento en la tasa de crecimiento durante los meses con mayor temperatura y precipitación. Se recomendaría probar la adición de urea y auxinas nuevamente en los meses de mayo o junio. 7



### **Perspectivas**

Debido a las características de lenta germinación y crecimiento de las semillas y plántulas de *R. echinocarpa*, se recomendaría probar algún tipo de reproducción asexual que permitiera alcanzar en menor tiempo el desarrollo y la madurez suficiente para fructificar. Este momento es de gran importancia ya que es principalmente el fruto el que se utiliza como remedio. Además se recomienda evaluar la respuesta de las semillas al almacenamiento.

## 9 LITERATURA CITADA

- Afzal, I., Basra, S. y Iqbal, A. 2005. The effect of Seed Soaking with plant Growth Regulators on seedling vigor of wheat under salinity stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. Vol 1. No. 1. 6-14pp.
- Alarcón-Aguilara, F.J., Roman-Ramos, R., Pérez Gutiérrez, S., Aguilar Contreras, A., Contreras-Weber, C.C. y Flores-Saenz, J.L. 1998. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology* 61 (1998) 101-110pp.
- Al-Karaki, G. 2008. Response of Wheat and Barley during Germination to Seed Osmopriming at Different Water Potential. *Journal of Agronomy and Crop Science*. Vol 181. No.4. 229-235pp.
- Alonso-Castro, A.J., Villareal, M.L., Salazar-Olivo, L.A., Gómez-Sánchez, M., Domínguez, F. y García. Carranca, A. 2011. Mexican plants used for cáncer treatment: Pharmacological Phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of Ethnopharmacology* 133 (2011) 945-972.
- Alvarado Soto, M. y Rojas Cubero, G. 2007. El cultivo beneficiado del Café. 2 reimpresión de 1 ed. Editorial Universidad Estatal a Distancia San José, Costa Rica. 66pp.
- Álvarez, M. 2011. Multiplicación de plantas. 1ª edición, Editorial Albatros SACI. Buenos Aires, Argentina. 12-14pp.
- Amaral da Silva, E.A., Troorop, P.E., Van Aelst, A.C. y Hilhorst, H.W. 2004. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea Arabica* cv. Rubi) seed Germination. *Planta*. Vol 220, No 2, 251-261pp.
- Araby, M.M., y Hegazi, A.Z. 2004. Responses of tomato seeds to hydro- and osmo-priming, and posible relations of some antioxidant enzymes and endogenous polyamine fractions. *Egyptian Journal of Biology*. Vol 6. 81-93pp.
- Arias Jiménez, A.C. 2007. Suelos Tropicales. 1 edición. EUNED. Costa Rica. 60pp
- Aristizábal, M. 2010. Evaluación del crecimiento y desarrollo foliar del plátano hondureño enano (*musa AAB*) en una región cafetera Colombiana. *Agronomía*. 16(2): 23 – 30pp.
- Arteca, R.N. 1996. Plant Growth Substances: Principles and Applications. Chapman & Hall. Nueva York. 114pp
- Ashraf, M., Foolad, M.R. 2005. Pre-Sowing Seed Treatment-A Shotgun approach to Improve Germination, Plant Growth, and Crop Yield under Saline and Non-Saline Conditions. *Advances in Agronomy*, Volume No 88. Elsevier Inc. 223-271pp.
- Barahona, M. Y Sancho, E. 2000. Fruticultura General: Fruticultura I. Segunda Edición, EUNED. Costa Rica. 63-64pp.

- Bartholomew y Criley, 1983. En Rojas Garcidueñas, M. y Ramírez, H.1993. Control Hormonal del Desarrollo de las Plantas. Fisiología-Tecnología-Experimentación. 2 edición. Limusa /Noriega. México. 1993. 108-115pp.
- Bernier Villarroel, R. 2000.“Técnicas de Diagnóstico de Fertilidad del Suelo, Fertilización de Praderas, Cultivos y Mejoramiento de Praderas.” Instituto de Investigaciones Agropecuarias: Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Actas No. 4.
- Bewley, J.D. y Black, M.1994. Seeds. Physiology of development and germination, 2nd Ed. New York: Plenum; 147-197pp.
- Borhidi, A. 2006. Rubiáceas de México. Editorial Casa Editora de la Academia de Ciencias de Hungría. Budapest.
- Bradford K J. 1986, Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditons. Hort. Sci. 21, 105–112pp.
- Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. En: Seed Development and Germination. Jaime Kigel y Gad Galili (Ed). Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, USA; 1995. 351-396pp.
- Bradbeer, J.W. 1988. Seed Dormancy and Germination. Chapman and Hall. New York.
- Burns y Coggins, 1969. En Rojas Garcidueñas, M. y Ramírez, H.1993. Control Hormonal del Desarrollo de las Plantas. Fisiología-Tecnología-Experimentación. Segunda edición. Limusa /Noriega. México. 108-115pp.
- Bye, R., Linares, E., Mata, R., Albor, C., Castañeda, P. y Delgado, G. 1991. Ethnobotanical and Phytochemical investigation of *Randia echinocarpa* (Rubiaceae). Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Ser. Bot. 62 (1): 87-106pp.
- Canter, P., Thomas, H. and Ernst, E. 2005. Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. Trends in Biotechnology. Vol 23 No. 4. 1-6pp
- Chen y Bradford, 2000. En Ogawa, M., Hanada, A., Yamauchi, Y., Kuwahara, A., Kamiya, Y. y Yamaguchi, S. 2003. Gibberellin Biosynthesis and Response during Arabidopsis Seed Germination. The Plant Cell, Vol 15. 1591-1604pp.
- Chojnowski, M., Corbineau, F., y Come, D. 1997. Physiological and biochemical changes induced in sunflower seed by osmopriming and subsequent drying, storage and ageing. Seed Science Research. Vol 7. No 04. Cambridge University Press. 323-333pp
- Cortés, F. 2000. Medicine, Myths and Magic the Folk Healers of a Mexican Market. Economic Botany 54 (4) NY. 427-438pp.
- Cruz, A. 2012. Estudio para establecer la variación en las infestaciones de la broca del café en tres fincas en la región de Coatepec, Veracruz. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz. 1-30pp.

- Davies, P.J. 2004. *Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action!* Springer Science and Business Media. 1 Edición.
- De la Palma, P. 2013. *Histología de semillas y desarrollo de plántulas de "Granjel" Randia echinocarpa Sessé & Mociño ex DC., (Rubiaceae).* Tesis de Licenciatura. UAM-Xochimilco.
- Eskandari, H. y Kazemi, K. 2011. Effect of Seed Priming on germination Properties and Seedling Establishment of cowpea (*Vigna sinensis*). *Notulae Scientia Biologicae*, 3 (4). 113-116pp.
- Felger, R., Johnson, M. y Wilson, M. 2001. *Trees of Sonora, México.* Oxford University Press. New York. 285pp
- García Breijo, F.J., Roselló Caselles, J. y Santamarina Siurana, M.P. 2006. *Introducción al funcionamiento de las plantas.* Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia. Valencia. 163-169pp.
- García, Enriqueta. 1964. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la república Mexicana).* México, D.F. Offset Larios S.A. 71pp.
- García, F.J., Rosello, J. y Santamarina, M.P. 2006. *Introducción al Funcionamiento de las Plantas.* Editorial de la UPV. Valencia. 108-110 pp
- Gómez, A. y García, P. 2006. *Fitohormonas: Metabolismo y Modo de Acción.* Tercera Edición. Publicacions de la Universitat Jaume I. 83-85pp
- Gómez-Pompa, A. 1993. Las raíces de la Etnobotánica Mexicana. *Acta Biológica panamensis*. Vol 1. 87-100pp.
- Groot, S.P.C. y Karssen, C.M. 1987. Gibberellins regulate seed germination y tomato by endosperm weakening: a study with gibberellin-deficient mutants. *Planta*. Springer-Verlag. Vol 171. 525-531pp
- Guangwu, Z. y Xuwen, J. 2014. Roles of Gibberellin and Auxin in Promoting Seed Germination and Seedling Vigor in *Pinus massoniana*. *Forest Science*. Vol 60, No 2. 367-373pp.
- Gupta, P. y Mukherjee, D. 1982. "Influence of GA3 pre-soaking of seeds on biochemical changes in seedling parts of *Pennisetum typhoides* Rich," *Proceedings of Indian National Science Academy*, vol. 48, no. 5. 642-648pp.
- Hardegree, S. P. 1996. Optimization of seed priming treatments to increase low-temperature germination rate. *Journal of Range Management*. 49 (1). Pp87-92
- Hernández, M.A., Lobo, M., Medina, C.I, Regulo, J. Delgado, O.A. 2009. Comportamiento de la germinación y categorización de la latencia en semillas de mortiño (*Vaccinium meridionale* Swartz). *Agronomía Colombiana*. Vol 27 No. 1.
- Hersch, P. Y Fierro, A. 2001. El comercio de plantas medicinales: Algunos rasgos significativos en el centro de México. Página 53-75. En: *Plantas cultura y sociedad: Estudio sobre la relación entre seres humanos y plantas en los albores del siglo XXI.*

- Hersch-Martínez, P. (1997). Medicinal Plants and Regional Traders in Mexico: Physiographic Differences and Conservational Challenge. *Economic Botany*, 2(51), 107-120pp.
- Huang, Y.M., Wang, H.J y Chen, K.H. 2002. Application of seed priming treatments in spinach (*Spinaca oleracea* L.) production. *J. Chinese Soc. Hort.Sci.* 48, 117-123pp
- Irigoyen, J.N. y Cruz, M.A. 2005. Guía Técnica de semilleros y viveros frutales. Programa Nacional de Frutas de El Salvador. Ministerio de Agricultura y Ganadería. El Salvador. Pagina 6.
- Jamil, M. y Shik, E. 2007. Gibberellic Acid (GA3) Enhance Seed Water Uptake, Germination and Early Seedling Growth in Sugar Beet unde Salt Stress. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (4) 654-658pp
- Janick, J. 1992. Horticultural Reviews. Volumen 13. Wiley.Interscience Publication. Canadá. 131-147 pp.
- Jorand, B. 2008. Formas de transformación del conocimiento de la medicina tradicional en los pueblos nahuas del municipio de Hueyapan, Sierra Norte de Puebla. *Cuicuilco* vol.15 no.44. México. Colegio de Postgraduados.
- Kass, D.C.L. 1998. Fertilidad de Suelos. Editorial Universidad Estatal a Distancia. EUNED. Costa Rica. 190-191pp
- Khan, A. 1977. Seed Dormancy: Changing concepts and theories. In "The Physiology and Biochemistry of Seed Formancy and Germination. Editorial North Holland Publ. Co. Amsterdam and NY. 29-50pp
- Klein and Hebbe, 1994. En Ashraf, M., Foolad, M.R. 2005. Pre-Sowing Seed Treatment-A Shotgun approach to Improve Germination, Plant Growth, and Crop Yield under Saline and Non-Saline Conditions. *Advances in Agronomy*, Volume No 88. Elsevier Inc. Pp 223-271
- Konig, S. 2011. La Medicina Indígena: un sistema de salud: Entrevista a Teresa Rivas. Espacio de comunicación intercultural de la Unidad de Apoyo a las Comunidades Indígenas. Jalisco, México. Num. 6. 4pp.
- Leiton, J.S. 1985. Riego y Drenaje. EUNED. Costa Rica. 24-25pp.
- Leopold y Kriedemann. 1975. En Aristizábal, M.2010. Evaluación del crecimiento y desarrollo foliar del plátano hondureño enano (*musa AAB*) en una región cafetera Colombiana. *Agronomía*. 16(2): 23 – 30.
- López, J. y Piedrahíta, E. 1998. Respuesta de la Semilla de Cedro Negro (*Juglans neotropica* Diels) a la Aplicación de Tratamientos Pregerminativos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía de Medellin*. Vol 51. No. 1. 217-235pp.
- Marín García, M.L., Aragón Revuelta, P. y Gómez Benito, C. 2002. Análisis Químico de Suelos y Aguas: Manual de Laboratorio. Editorial Universidad Politécnica de Valencia. 19 pp.

- Martínez-Andújar, C., Pluskota, W.E., Bassel, G.W., Asahina, M., Pupel, P., Nguyen, T.T., Takeda-Kamiya, N., Toubiana, D., Bai, B., Górecki, R.J., Fait, A., Yamaguchi, S. y Nonogaki, H. 2012. *The Plant Journal*. Volumen 71, No 4. 575-586pp.
- McDonald M B. (2000), Seed priming. En: Black, M., J. D. Bewley, (Eds.), *Seed Technology and Its Biological Basis*. Sheffield Academic Press/CRC Press, Sheffield, UK, 287–325pp.
- Morales Pino, R.M. 2004. *Crecimiento en vivero de plantas de Gevuina avellana Mol. Procedentes de distintos árboles semilleros, en función de la fertilización y sus formas de aplicación (Tesis)*. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia Chile.
- Moreno, E. 1984. *Análisis físico y biológico de semillas agrícolas*. Primera edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 103-261pp.
- Nonogaki, H. 2006. Seed Germination: The Biochemical and Molecular Mechanisms. *Breeding Science*, Vol 56. 93-105pp.
- Nonogaki, H. 2008. Seed Germination and Reserve Mobilization. *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester.
- Ogawa, M., Hanada, A., Yamauchi, Y., Kuwahara, A., Kamiya, Y. y Yamaguchi, S. 2003. Gibberellin Biosynthesis and Response during Arabidopsis Seed Germination. *The Plant Cell*, Vol 15. 1591-1604pp.
- Ospina-Yepes, J.P., López-Martínez, N., y Guzmán-Piedrahita, O.A. 2013. Efecto del Potencial hídrico en la germinación de semillas de trigo (*Triticum spp.*) con la tolerancia y sensibilidad a la sequía. *Agronomía*. 21 (1). 37-47pp.
- Osuna, L., Tapia, M.E., Aguilar, A. 2005. *Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánica, fitoquímico y farmacológico*. Publicacions i edicions de la Universitat de Barcelona. Madrid, España. 17pp.
- Poulsen, K.M. 2000. Calidad de la Semilla, En *Técnicas para la Germinación de Semillas Forestales*. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Costa Rica. 1-14pp.
- BIBLIOTECA DIGITAL DE LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA. *Randia echinocarpa*  
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Grangel&id=7557>  
 [En línea, 29 de Octubre del 2012]
- Rendón, B., Rebollar, S., Caballero, J. Y Martínez, M.A. 2001. *Plantas, cultura y sociedad. Estudios sobre la relación entre seres humanos y plantas en los albores del siglo XXI*. UAM Iztapalapa y Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. México. 24-25pp.
- Rioja Molina, A. (2002), *Apuntes de Fitotecnia General*, E.U.I.T.A., Ciudad Real.
- Rocuant, T. 1984. Efecto de Giberelina y de Tiourea en la Germinación de Semillas: Especies del género *Nothofagus*. *Bosque* 5 (2): pagina 53-58.

- Rojas Garcidueñas, M. y Ramírez, H. 1993. Control Hormonal del Desarrollo de las Plantas. Fisiología-Tecnología-Experimentación. 2 edición. Limusa /Noriega. México. 1993. 108-115pp.
- Ruiz, M., y Parera, C. 2013. Efecto del Estrés Hídrico y salino sobre la Germinación de *Atriplex nummularia* (Chenopodiaceae). Acta Biologica Colombiana. Vol 18. No 1. 99-106pp.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Limusa, México
- Salinas Sánchez, D., Arteaga Nájera, G., León Rivera, I., Dorado Ramírez, O., Valladares Cisneros, M.G. y Navarro García, V. 2009. (Antimicrobial activity of medicinal plants from the Huautla sierra Biosphere reserve in Morelos (México). Polibotanica. Num. 28, 213-225pp.
- Salisbury, F.B. y Ross, C.W. 1992. Plant Physiology. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California.
- Sanchis, E., Bordón, Y. y Fos Causera, M. 2004. Biogeografía. Editorial Universidad. Valencia. Politécnica de Valencia. 58-63pp.
- Santos-Cervantes, M.E., Ibarra-Zazueta, M.E., Lorca-Piña, G., Paredes- López, O. y Delgado-Vargas, F. 2007. Antioxidant and antimutagenic activities of *Randia echinocarpa* Fruit. Plant Foods Human Nutrition 62:71-77pp.
- Schlaepfer, L. y Mendoza-Espinoza, J.A. 2010. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, Vol 41. Num. 4. Distrito Federal, México. 18-27pp.
- Schopfer, P. y Plachy, C. 1985. Control of Seed Germination by Abscisic Acid: III. Effect on embryo growth potential (Minimum turgor pressure) and Growth Coefficient (Cell wall Extensibility) in *Braddica napus* L. Plant Physiology. Vol 77. 676-678pp
- Singh, A., Dahiru, R., Musa, M. y Sani, B. 2014. Effect of Osmoprimer Duration on Germination, Emergence and Early Growth of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in the Sudan Savanna of Nigeria. International Journal of Agronomy. Volumen 2014.
- Sociedad Española de Ciencias Hortícolas. 1998. Diccionario de las Ciencias Hortícolas. Ediciones Mundi.-Prensa. Madrid. 343pp.
- Soto-Mora y Jáuregui-Ostos, 1968. En Villegas-Soto, M., Reyuna Trujillo, R., y Gomez-Tagle-Rojas A. (1977). Los suelos del la Region de Tehuiztingo, estado de Puebla. *Revista del Instituto de Geología*, 1(2), 195-203pp.
- Szopinska, D. y Tylkowska, S. 2009. Effect of Osmoprimer on Germination, Vigour and Location of Fungi in *Zinnia elegans* seeds. Scientific Journal "Phytopathologia". No. 54. Polonia. Pp 34-43
- Taddei Bringas, G.A., Santillana Macedo, M.A., Romero Cancio, J.A y Romero Téllez, M.B. 1999. Aceptación y uso de la Herbolaria en Medicina Familiar. *Salud Pública de México*. Mayo-Junio. Vol 41. No. 003, 216-20pp. México.

- Taiz, L. y Zeiger, E. 2006. Fisiología Vegetal. Volumen 2. Tercera Edición. Publicacions de la Universitat Jaume I. 137pp
- Tesfaye, M. 1992. The effect of soaking, temperature and other pretreatments on the germination of "enset" seed. *Seed Sci. Technol.* 20: 533-638pp.
- Thompson, L., Troeh, F. 1988. Los suelos y su fertilidad. Cuarta edición. Editorial Reverté. España. 396-398pp.
- Vargas Solis, R. y Perez Gutierrez, R.M. 2002. Diuretic and urolithiatic activities of the aqueous extract of the fruit *Randia echinocarpa* on rats. *Journal of Ethnofarmacology* 83 (2002) 145-147pp.
- Vázquez, L., Alfonso, J., Ramos, Y., Martínez, A., Moreno, D. y Matienzo, Y. 2012 Relaciones de *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) con el suelo del cafetal como base para su manejo agroecológico. *Agroecología* 7. 81-90pp.
- Villegas-Soto, M., Reyuna Trujillo, R., y Gomez-Tagle-Rojas A. (1977). Los suelos del la Region de Tehuiztzingo, estado de Puebla. *Revista del Instituto de Geología*, 1(2), 195-203pp
- Walkley, A. 1947. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils - effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci.* 63:251-264pp.
- Welbaum, G.E. y Bradford, K. 1989. Water Relations of Seed Development and Germination in Muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Plant Physiology*, Vol 92. 1046-1052pp.
- Welbaum, G.E., Tissaoui, T., y Bradford, K. 1989. Water Relations of Seed Development and Germination in Muskmelon (*Cucumis melo* L.): III. Sensitivity of Germination to Water Potential and Abscisis Acid during Development. *Plant Physiology*, Vol 92. 1029-1037pp.
- Yarnia, M. y Farajzadeh, E. 2012. Effect of Seed Priming with different Concentration of GA3, IAA and Kinetin on Azarshahr Onion Germination and Seedling Growth. *Journal of Basic and Applied Scientific Research.* 2 (3). 2657-2661pp.
- Zahedi, S.M., Azizi, M., y Gheysari, H. (2012). Effect of seed priming on germination and initial growth of Sweet William (*Dianthus barbatus*). *Annals of Biological Research*, Vol 3, Num. 8. 3192-4194pp