

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Pruebas de Germinación para Romper la Latencia en Semillas de *Echinacea purpurea* L. con Cuatro Diferentes Tratamientos

Por:

ANA LAURA MARTÍNEZ ROSALES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre del 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Pruebas de Germinación para Romper la Latencia en Semillas de *Echinacea purpurea* L. con Cuatro Diferentes Tratamientos

Por:

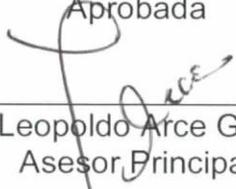
ANA LAURA MARTÍNEZ ROSALES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada


M.C. Leopoldo Arce González
Asesor Principal


M.C. Antonio Valdez Oyervides
Coasesor


M.C. Federico Facio Parra
Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía
Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre del 2013

AGRADECIMIENTOS

ANTES QUE NADA TENGO QUE AGRADECER A LA PERSONA QUE ME DIO LA VIDA, QUE HA ESTADO A MI LADO SIEMPRE, QUE TRABAJÓ POR MÍ Y QUE CON SU EJEMPLO Y DEDICACIÓN ME HIZO LA PERSONA QUE HOY SOY, SOLO PUEDO DECIR “GRACIAS MAMA (FRANCISCA ROSALES)” POR TODO LO QUE ME HAS DADO Y QUE NUNCA TERMINARE DE AGRADECER.

Y GRACIAS A LAS PERSONAS QUE NOS APOYARON TANTO A MI MAMA Y A MÍ, Y QUE NUNCA NOS HAN DEJADO SOLAS Y A LOS CUELES LES DEBO TANTO: MIS ABUELOS (GUADALUPE ROSALES Y GUADALUPE MORALES), MIS TÍOS (PEDRO ROSALES Y JUANA ROSALES) Y LAS PRIMAS CON LAS QUE CRECÍ (ADI, PATY Y GABY).

Y COMO OLVIDAR A LAS PERSONAS QUE LLEGARON DESPUÉS A NUESTRAS VIDAS: UN PAPA (DON ELIAS) Y UNOS CUANTOS HERMANOS (ARIADNA, TAVO Y ELIAS), GRACIAS POR HACERNOS PARTE DE SU FAMILIA, POR EL APOYO Y CARIÑO QUE NOS HAN DADO HASTA EL DÍA DE HOY.

Y GRACIAS A TI (EDGAR) POR LLEGAR Y COMPARTIR CONMIGO EL CAMINO RECORRIDO HASTA LA CULMINACIÓN DE ESTA CARRERA Y DE JUNTOS CON UNA PEQUEÑITA VIDA (UNA NIÑA TRAVIESA LLAMADA REGINA) FORMAR AHORA NUESTRA PROPIA FAMILIA.

Y NO ME QUEDA MÁS QUE AGRADECER A DIOS POR HABERLOS PUESTO EN MI CAMINO Y A LOS CUALES HOY PUEDO LLAMAR “MI FAMILIA”.

Y UN ESPECIAL GRACIAS A MI ASESOR (EL BIOL. LEOPOLDO ARCE) POR LA PACIENCIA PUESTA EN ESTE TRABAJO Y EN UNA SERVIDORA. “GRACIAS

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	IV
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
III. HIPÓTESIS	3
IV. Revisión de literatura	4
4.1. Clasificación Botánica de la Familia Asteraceae	4
4.1.1. Clasificación Botánica y Descripción de <i>Echinacea purpurea</i> (L)	4
4.1.2. Importancia de <i>Echinacea purpurea</i> (L)	5
4.2. La Semilla	6
4.2.1. Estructura básica de la semilla	7
4.3. Germinación	8
4.3.1. Germinación Hipogea.	9
4.3.2. Germinación Epigea	10
4.4. Proceso de Germinación	11
4.4.1. Requerimientos o condiciones para la germinación	13
4.5. Vigor	15
4.6. Problemáticas de la Germinación	16
4.6.1. Tipos de Latencia	16
4.6.2. Tratamiento para romper la latencia en una semilla	18
4.6.3. Tratamientos para romper la latencia física.	19
4.6.4. Tratamientos para romper la latencia química	20
4.6.5. Tratamientos para romper la latencia mecánica	20
4.6.6. Tratamientos para romper la latencia fisiológica	21
4.6.7. Tratamientos para romper la latencia morfológica	22
4.7. Prueba de germinación	23
4.7.1. Tratamientos para las pruebas de germinación	25
4.7.2. Preenfriamiento	25
4.7.3. Nitrato de potasio.	26
4.7.4. Luz	26
4.7.5. Lombricomposta y abonos orgánicos.	27
4.8. Problemáticas de la germinación en <i>E. purpurea</i>	28
V. MATERIALES Y MÉTODOS	29
5.1. Ubicación del experimento	29
5.2. Materiales y métodos	29
5.3. Variables	31
5.4. Modelo Estadístico	32
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
6.1. Germinación	33
6.2. Longitud de plúmula y radícula	36
VII. CONCLUSIÓN	42
VIII. LITERATURA CITADA	43

Cuadro 1. Cuadrados medios de las variables de germinación: Índice de velocidad de germinación (IVG) y Capacidad de germinación (C.G).	35
Cuadro 2. Comparación de medias de las variables de germinación: Índice de velocidad de germinación (IVG) y Capacidad de germinación (C.G).	35
Cuadro 3. Cuadrados medios de la variable de longitud (cm) de radícula y plúmula.	38
Cuadro 4. Comparación de medias de la variable longitud (cm) de radícula y plúmula.	38
Grafica No. 1. Germinación Total	36
Grafica No.2. Longitud de plúmula y radícula	39
Fotografía No. 1	39
Fotografía No. 2	40
Fotografía No. 3	40
Fotografía No. 4	41
Fotografía No. 5	41
Fotografía No. 6	41

Resumen

Las *Echinaceas* son plantas de la familia de las Asteraceae ampliamente utilizadas como medicinales y ornamentales. (Villar y Heras, 2005).

Es ampliamente utilizada en la prevención y el tratamiento de infecciones respiratorias y del tracto urinario, fundamentalmente en casos de gripe, resfriado común y bronquitis. Uno de los principales problemas con este cultivo es la baja germinación que presenta. Por lo que se proponen cuatro tratamientos para aumentar la germinación de la semilla de *Echinace purpurea L.*, se realizaron siete repeticiones por tratamiento y cada repetición con un lote de 25 semillas. Las semillas utilizadas para cada tratamiento fueron sometidas a una fase de preenfriamiento por un periodo de tres meses.

La prueba de germinación se realizó de acuerdo a las normas de la ISTA (1996). Los tratamientos consistieron en: preenfriamiento de la semilla; preenfriamiento + luz (24 hr durante todo el experimento); preenfriamiento + lombricomposta y preenfriamiento + KNO_3 al 0.2%, con lo cual se busca que al menos uno de los tratamientos aumente el porcentaje de germinación en *Echinacea purpurea L.*

De acuerdo a el ANVA los resultados mostraron tener diferencia significativa al 0.5, lo que nos dice que al menos uno de los tratamientos tuvo efecto positivo, siendo el tratamiento No. 3 (frio+lombricomposta) el que presenta un mejor resultado con un porcentaje de germinación del 55%, al realizar la evaluación de medias los tratamientos se dividen en tres grupos A,B y AB, en tanto que el testigo fue el que presento un menor porcentaje de germinación de tan solo 35%.

Se obtuvo una diferencia altamente significativa entre los tratamientos a 0.01 en el ANVA de la variable IVG (Índice de velocidad de germinación), lo que nos dice que más de un tratamiento tuvo efectos positivos. El tratamiento con mejor vigor fue el tratamiento No. 3 (frio+lombricomposta) con un IVG de 3.91, presentando la mayor germinación dentro del cuarto al séptimo día de la evaluación. En la comparación de medias se encuentra que existe una diferencia estadística entre los

tratamientos, siendo el testigo el que presenta un menor vigor con apenas 1.18 en su IVG.

Realizando la evaluación de la variable longitud de radícula se encontró que existe diferencia altamente significativa de los tratamientos al 0.01, es decir, al menos un tratamiento dio resultados positivos, encontrándose como mejor tratamiento al No.3 (Frio + lombricomposta). Al realizar la comparación de medias, no existe una diferencia estadística entre los tratamientos, sin embargo, el T1, T2, T3 y T4 muestran un mejor resultado en relación al testigo, siendo el tratamiento No.3 (Frio + lombricomposta) el que presentó una mayor longitud de 3.27 cm, en tanto que el testigo solo presentó una longitud de 43%.

Respecto a la variable longitud de plúmula se encontró que existe una diferencia altamente significativa entre los tratamientos al 0.01 y el tratamiento que presentó los mejores resultados fue el tratamiento No. 3 (Frio + lombricomposta) con una longitud de 3.50 cm. en tanto que el testigo presentó una longitud 43% respecto al tratamiento No.3.

Por lo que realizado un análisis general se encuentra que el tratamiento No. 3 (Frio + lombricomposta), es el que presentó un mayor número de semillas germinada y un mejor tamaño de radícula y plúmula.

I. INTRODUCCIÓN

Las *Echinaceas* son plantas de la familia de las Asteraceae ampliamente utilizadas como medicinales y ornamentales, las tres especies más utilizadas con uso medicinal son la *Echinacea purpurea* L., *E. angustifolia* DC. y *E. pallida* Nutt. (Villar y Heras, 2005). *Echinacea purpurea* L. es una planta perenne o bianual que puede crecer 1.5 m de alto y 46 cm de ancho aproximadamente. El tallo es áspero y presenta vellosidades, su raíz es fibrosa, cilíndrica, entera de desarrollo ligeramente espiral, longitudinalmente ranurado, quebradizo y de corte delgada. Sus flores son cabezuelas de color rojizo oscuro de apariencia similar a la margarita, puede tener 13 cm de diámetro, con pétalos purpura encorvados en el centro. Las semillas son aquenios con cuatro líneas de dehiscencia.

Esta especie es explotada por sus raíces, inflorescencias, semillas e incluso el extracto de toda la planta. La *Echinacea purpurea* L. es capaz de crecer sin problemas con un poco de atención y puede desarrollarse en una gran variedad de condiciones. El principal problema en su cultivo es la geminación, la cual requiere de estratificación adecuada sin la cual la germinación de la semilla es muy baja del 10 al 40 %. (Montero, 2001)

Dentro de los tratamientos para romper la latencia en semillas de *Equinacea* se han utilizado tratamientos como luz, preenfriamiento, nitrato de potasio, lombricomposta, etc.

Se consideró la luz como tratamiento ya que tiene gran importancia en la germinación de semillas de algunas especies. Bajo condiciones de laboratorio se ha demostrado que la intensidad, calidad y duración de la iluminación afectan la germinación siendo los requerimientos de iluminación una característica específica. (www.bibliotecadigital.ilce.edu.mx)

El efecto del nitrato de potasio es bien conocido como tratamiento para la germinación en semillas de diferentes especies y se puede explicar su utilización

porque suplen los requerimientos del sistema de fitocromo en las semillas. (Camacho, 1994)

El humus de lombricomposta influye de manera efectiva en la germinación de las semillas debido a que contiene una elevada carga enzimática y bacteriana que aumenta la solubilidad de los nutrientes. Por otro lado el humus de lombricomposta se caracteriza por ser rico en hormonas tales como las auxinas, citoquininas y giberelinas producidas a partir del metabolismo de las bacterias que se encuentran en el aparato digestivo de la lombriz, estas hormonas estimulan los procesos de germinación en las semillas, además de mejorar el sistema radicular y la longitud de plúmula de la plántula (García, 1999).

II. OBJETIVOS

- ❖ Evaluar el efecto de diferentes tratamientos físicos, químicos y biológicos para estimular la germinación en semillas de *Echinacea purpurea L.*

III. HIPÓTESIS

- ❖ Al menos uno de los tratamientos aumentara el porcentaje de germinación en *Echinacea purpurea L.*

IV. Revisión de literatura

4.1. Clasificación Botánica de la Familia Asteraceae

Las Asteraceas constituyen una de las familias más amplias y diversificadas así como de mayor dificultad para su estudio ya que contiene 900 géneros y cerca de 22,000 especies cosmopolitas.

La familia de las Asteraceae son hierbas o arbustos, rara vez árboles, a veces con látex; hojas alternas, opuestas, rara vez verticiladas, simples, raramente compuestas, algunas veces reducidas, sin estipulas; flores agrupadas en capítulos o cabezuelas rodeadas de brácteas que forman el involucre pudiendo tener una, dos o varias series de brácteas secas o membranosas; flores del centro de forma generalmente tubular y las de la periferia generalmente liguladas; los capítulos son variadamente arreglados en espigas, corimbos, panículas o racimos; flores radiadas o bilaterales, hermafroditas, masculinas o femeninas, cáliz epigino representado por cerdas, escamas, pelos llamados papus o vilano, corola con 5 pétalos unidos lobulados o tubulares, algunas veces liguladas con 3 a 5 dientes o bilabiada con 3 lóbulos superiores y 2 lóbulos inferiores. Estambres 4-5 epipétalos con las anteras unidas, gineceo ínfero bicarpelar y bilocular. (Rodríguez y Carmen, 2008)

4.1.1. Clasificación Botánica y Descripción de *Echinacea purpurea* L

El nombre botánico del género deriva del griego *echinos*, que significa erizo de mar y hace referencia al aspecto de las flores tubulares en la inflorescencia. El género *Echinacea* pertenece a la familia *Asteraceae* y comprende un grupo de especies herbáceas perennes frecuentemente cultivadas por sus capítulos vistosos.

Echinacea purpurea L es una planta perenne que puede crecer 1.5 m de alto y 46 cm de ancho aproximadamente. El tallo es áspero y presenta vellosidades, su raíz es fibrosa, cilíndrica, entera de desarrollo ligeramente espiral, longitudinalmente ranurado, quebradizo y de corte delgada.

Sus flores son cabezuelas de color rojizo oscuro de apariencia similar a la margarita, puede tener 13 cm de ancho, con pétalos purpura encorvados en el centro. El receptáculo floral es fuertemente abombado, las flores liguladas se disponen colgantes respecto al receptáculo floral pudiendo ser de colores variados y apareciendo frecuentemente como blancas, amarillo- anaranjadas o purpúreas y presentándose de 2-4 cm de largo, las flores tubulosas son bracteadas. El período de floración comprende de junio a octubre y se desarrolla en sotoles y bosquetes sobre suelos frescos. Las semillas son aquenios con cuatro líneas de dehiscencia. Las hojas presentan una disposición basal o semibasal, sus hojas son de apariencia oval-lanceoladas largamente pecioladas y muy ásperas en el haz. Su distribución como planta natural se extiende desde Norteamérica donde se encuentra entre Illinois y Nebraska y hacia el sur hasta Misuri, Luisiana, Oklahoma, Kansas, Florida, Texas y México, donde crece en llanuras, praderas y colinas secas. (Villar y Heras. 2005).

4.1.2. Importancia de *Echinacea purpurea* L

Existen tres especies de *Echinacea* que por su uso medicinal son de gran importancia: *Echinacea purpurea* L. Moench, *E. angustifolia* DC. y *E. pallida* Nutt.

Los primeros datos que evidencian el uso de *Equinácea* con fines curativos por las poblaciones indígenas de América del Norte se remontan a 1870, describiéndose su aplicación en una gran variedad de afecciones: alivio de la irritación de garganta, encías y boca, curación de heridas y como antídoto en la mordedura de serpiente. Posteriormente, la *Equinácea* se ha utilizado en la

prevención y el tratamiento de infecciones respiratorias y del tracto urinario, fundamentalmente en casos de gripe, resfriado común y bronquitis.

Echinacea. angustifolia DC fue la especie utilizada originariamente en Estados Unidos por H.C.M. Meyer, que desarrolló un producto para el tratamiento de la mordedura de serpiente, y por la empresa Lloyd-Brothers, que comenzó la exportación a Europa de los preparados de *Equinácea* a finales del siglo XIX. En 1930 se introdujo *Echinacea purpurea L.* como planta medicinal en Europa, iniciándose su cultivo comercial en Alemania. Sin embargo, ha sido en la última década cuando se ha extendido su uso, coincidiendo con el reciente auge de la fitoterapia y con los hallazgos sobre su mecanismo de acción. Existen distintos preparados comerciales de *Equinácea*, desde los zumos frescos por prensado directo a los extractos etanólicos o acuosos de los pedúnculos florados y flores desecadas y trituradas. La mayoría de los estudios clínicos y farmacológicos se han realizado con preparados de *E. purpurea L.* La clasificación terapéutica es como planta inmunoestimulante, inmunomoduladora y antiviral, aunque no se han podido establecer con claridad las indicaciones terapéuticas, formas de administración y dosis a administrar. (Villar y Heras, 2005)

4.2. La Semilla

La formación de la semilla en las plantas superiores depende del proceso de la reproducción sexual en la flor. Seis pasos tienen lugar en el desarrollo de la estructura de la planta que da lugar a la formación de la semilla (U.S.D.A. 1980):

1. La formación de estambres y del pistilo en la yema de la flor.
2. La floración, que indica la madurez sexual de estos órganos
3. La polinización, que consiste en el transporte del polen de los estambres al pistilo
4. La germinación del polen
5. La formación del tubo polínico

6. La fecundación del núcleo del huevo y de los núcleos polares por los núcleos espermáticos a través del tubo polínico.

Duffus y Slaughter (1985), definen a la semilla como unidades de diseminación y reproducción sexual de las plantas superiores, procedentes del desarrollo de los óvulos de sus flores. Están compuestas de uno o varios embriones, reservas nutritivas y una o varias capas protectoras originadas a partir de los tegumentos del ovulo, del ovario, de los tejidos de otras partes de la flor e, incluso de la inflorescencia.

4.2.1. Estructura básica de la semilla

Refiriéndose Diehl *et al.* (1973), a las angiospermas, la semilla es una estructura derivada de un proceso de reproducción sexual, y de doble fecundación. Como consecuencia, uno de los núcleos espermáticos del grano de polen germinado penetra en la oosfera o gameto femenino, dando lugar al cigoto principalmente, diploide; el segundo núcleo espermático se une a los núcleos polares del saco embrionario, con formación de un cigoto accesorio, triploide.

De acuerdo a Duffus y Slaughter (1985), en la mayor parte de la semilla, los integumentos del ovulo llegan hacer las duras cubiertas de las semillas. Las diferencias en la estructura de las semillas económicamente importantes derivan principalmente de la variación en las proporciones del embrión y del endospermo presente. Todas las semillas tienen un endospermo derivado de la fusión inicial nuclear triploide dentro del ovulo. El embrión es una parte importante de la semilla dicotiledónea y contiene las reservas principales de alimento. La proteína es el principal material nitrogenado de reserva de las semillas. Cierta cantidad de hormonas se encuentra en las plantas, incluyendo las giberelinas, las citoquininas, las auxinas y el ácido abscísico.

Los dos cigotos resultantes del proceso fecundativo darán lugar a órganos muy diferentes. El principal se transformará en el embrión o germen de la semilla, mientras que el accesorio producirá el endospermo, cuya misión será la de nutrir el embrión o más tarde la plántula. (Diehl *et al.* 1973).

4.3. Germinación

Moreno, (1976) define a la germinación como el proceso mediante el cual una semilla se desarrolla hasta convertirse en una nueva planta. Este proceso se lleva a cabo cuando el embrión se hincha y la cubierta de la semilla se rompe. Para lograr esto, toda nueva planta requiere de elementos básicos para su desarrollo: luz, agua, oxígeno y sales minerales.

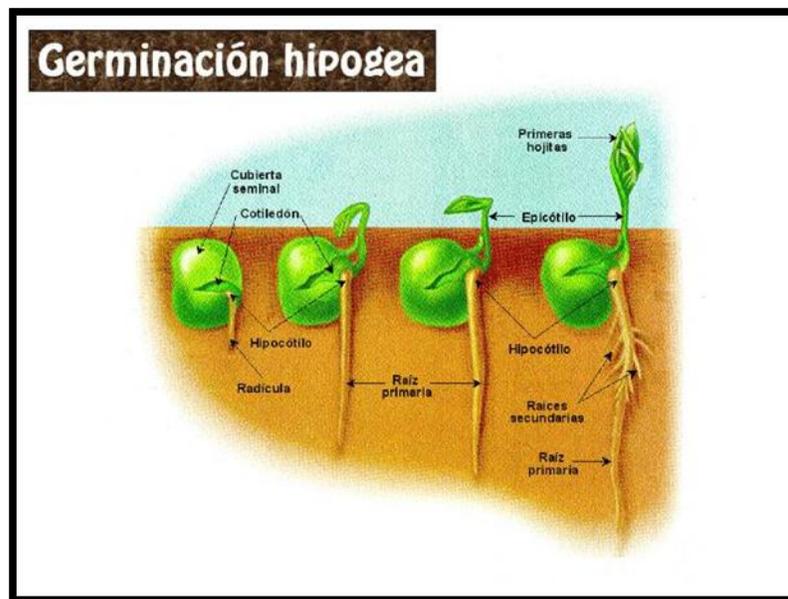
Las condiciones básicas para la germinación son, las mismas que las del metabolismo activo. Pasan por un periodo de desecación durante la maduración, la primera fase de la germinación es la absorción de agua (imbibición), en la mayor parte de los casos también hay necesidad de oxígeno, ya que la respiración oxidativa es la norma, aunque en las etapas tempranas, frecuentemente, la energía se libera a través de la fermentación de las reservas de alimento, algunas especies necesitan, la luz de longitud de onda particular o el etileno producido por las bacterias del suelo.

Copeland y McDonald (2001), hacen referencia a la morfología de la germinación basados en el destino que toman los cotiledones durante el proceso de germinación clasificándola en dos tipos: germinación hipogea y germinación epigea

4.3.1. Germinación Hipogea.

Copeland y McDonald (2001), explican que durante la germinación de las plántulas hipogreas los cotiledones u órganos similares de almacenamiento permanecen bajo el suelo, mientras que la plúmula empuja hacia arriba y emerge por encima del suelo, el epicótilo es la estructura de rápida elongación. Los cotiledones u órganos similares de almacenamiento seguirán prestando apoyo nutritivo a los puntos de crecimiento a lo largo de la germinación.

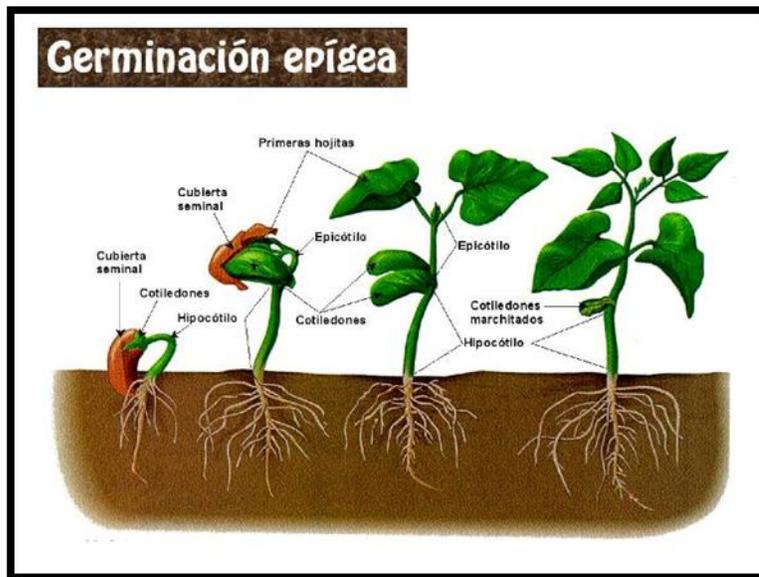
En muchas especies se puede encontrar una estructura asociada a la germinación hipogea el coleoptilo (funda temporal que encierra la plúmula) que proporciona protección y rigidez para que emerja la plúmula. (Flores, 2004).



www.euita.upv.es

4.3.2. Germinación Epigea

Flores (2004), menciona que durante el establecimiento de la raíz, el hipocotilo (porción comprendida entre la radícula y el punto de inserción de los cotiledones) principia a alargarse penetrando en las capas inferiores del suelo (raíz primaria) y empujando a los cotiledones que encierran la plúmula (epicotilo). Los cotiledones tienden a ubicarse sobre la superficie del suelo y continúan aportando nutrientes a los puntos de crecimiento. Una vez que el hipocotilo se encuentra por encima de la superficie del suelo, los cotiledones se abren y la plúmula continúa su crecimiento formando las hojas y finalmente, comienza el desarrollo del epicótilo (porción del eje comprendida entre el punto de inserción de los cotiledones y las primeras hojas).



www.euita.upv.es

4.4. Proceso de Germinación

Para que el proceso de germinación, es decir, la recuperación de la actividad biológica por parte de la semilla, tenga lugar, es necesario que se den una serie de condiciones ambientales favorables como son: un sustrato húmedo, suficiente disponibilidad de oxígeno que permita la respiración aerobia y, una temperatura adecuada para los distintos procesos metabólicos y para el desarrollo de la plántula. (www.euita.upv.es)

En el proceso de germinación podemos distinguir tres etapas (www.euita.upv.es):

Fase de hidratación: La absorción de agua es el primer paso de la germinación, sin el cual el proceso no puede darse. Durante esta etapa se produce una intensa absorción de agua por parte de los distintos tejidos que forman la semilla. Dicho incremento va acompañado de un aumento proporcional en la actividad respiratoria

Fase de germinación: Representa el verdadero proceso de la germinación. En ella se producen las transformaciones metabólicas, necesarias para el correcto desarrollo de la plántula. En esta fase la absorción de agua se reduce considerablemente, llegando incluso a detenerse.

Fase de crecimiento: Es la última fase de la germinación y se asocia con la emergencia de la radícula (cambio morfológico visible). Esta fase se caracteriza porque la absorción de agua vuelve a aumentar, así como la actividad respiratoria.

También Duffus y Slaughter (1985), mencionan que la mayor parte de las semillas son tejidos relativamente secos, de manera que la germinación comienza con la imbibición de agua. Las semillas se hinchan debido a la absorción de agua por el material polimérico de reserva, aunque este proceso puede ocurrir tanto en semillas muertas como en viables. Muy rápidamente, en el caso de semillas saludables, ocurren varios cambios metabólicos dentro del embrión. Los primeros que se reconocen son los incrementos en los niveles de metabolitos intermedios

y de enzimas asociadas con la producción de energía, particularmente el ciclo de Krebs. En una escala gruesa, este cambio se refleja en un gran incremento de la tasa de intercambio de gases, aunque los cambios en los valores RQ (Cociente de respiración) depende, considerablemente, de la especie y de la naturaleza de la reserva alimenticia. Por lo común, en el transcurso de una cuantas horas después de la absorción de agua, la síntesis de proteína se lleva a cabo, probablemente usando ARNm que sobrevive del periodo de maduración. La siguiente fase involucra la síntesis de ADN, el comienzo de la división celular y la diferenciación de tejidos dentro del embrión.

Sucesos comunes que se realizan en la germinación:

1. Imbibición de la semilla.
2. Desaminación de los aminoácidos del eje embrionario.
3. Utilización en la glucólisis, de los monómeros obtenidos a partir de los aminoácidos.
4. Reducción de los nucleótidos de la piridina mediante las pentosas fosfatadas y la glicólisis.
5. Oxidación de los nucleótidos de la piridina mediante el sistema nitrato-reductasa con formación de ATP.
6. Asimilación de los monómeros para la elongación celular, (este paso es inducido por las auxinas).
7. Hidrólisis de los polímeros de los tejidos nutritivos, (inducido por las giberelinas).
8. Translocación de los monómeros de los tejidos nutritivos al eje embrionario, en este punto el metabolismo de las semillas pasa de una fase predominante anaeróbica a una predominante aeróbica.
9. Aumento de la actividad del ciclo de KREBS.
10. Incremento de la transcripción del ADN en el embrión.
11. Síntesis de nuevas proteínas en el embrión.
12. Replicación del ADN y división celular en el embrión, lo que es inducido por las citocininas.

13. Incremento de la respiración y síntesis de nuevas proteínas en el embrión, para que por último se inicie un crecimiento visible con la emisión de la radícula.

De acuerdo a Camacho (1994), la germinación termina cuando la plántula no depende ya, para su existencia, de los tejidos nutritivos, pues es capaz de producir sus propios alimentos: en términos prácticos se dice que la semilla ha germinado cuando en siembra de laboratorio emite la radícula, o cuando emerge del suelo en siembras realizadas en tierra. No todas las semillas que emiten la radícula, u otro órgano, a través de la cubierta son capaces de producir una planta con posibilidad de llegar a ser adulta; por ello, en el laboratorio no se considera como semilla germinada aquellas que originan plántulas anormales, es decir, que presenten defectos que les impidiera su desarrollo posterior

4.4.1. Requerimientos o condiciones para la germinación

Condiciones intrínsecas

Diehl *et al.* (1973), señalan que una semilla solo podrá germinar si reúne las siguientes características:

- ✚ Tener vitalidad (que no haya sobrepasado el límite de longevidad).
- ✚ Estar normalmente constituida (embrión y reservas internas).
- ✚ Tener tegumentos permeables.
- ✚ Que haya alcanzado la madurez fisiológica.

Se tiene la costumbre de considerar una semilla como madura cuando ha alcanzado su grado de desecación normal (generalmente entre 10 y 15% de agua) que permite una buena conservación. Esta es la madurez práctica o madurez comercial. Cuando la semilla la ha adquirido, debería estar en condiciones de germinar, una vez colocada en condiciones convenientes de medio y dar lugar a un nuevo individuo. Esta es la noción de madurez fisiológica.

Condiciones extrínsecas

La humedad, la temperatura y los gases, principalmente el bióxido de carbono y el oxígeno, pueden afectar profundamente a las enzimas y a los compuestos químicos de la célula viva. Los hongos, los insectos, las bacterias, las sustancias químicas o la luz, puede disminuir o destruir el poder germinativo de la semilla. Muchos de los mismos factores, en las concentraciones o combinaciones correctas pueden incrementar los procesos vitales de la semilla (U.S.D.A., 1980).

Diehl *et al.* (1973), señalan que la reanudación de la vida activa del embrión queda bajo la estrecha dependencia de la absorción de una cierta cantidad de agua y únicamente puede producirse en medio aireado y a una temperatura suficiente. Además, en el suelo, medio donde se desarrolla el fenómeno, otros factores son susceptibles de intervenir y que se refieren frecuentemente a errores en las técnicas culturales.

Basnier (1999) señala, que la semilla seca que cae al suelo, en reposo o aletargada, se hidrata más o menos rápida y completamente, salvo que posea cubiertas impermeables. La rapidez de la hidratación depende de tres factores: la diferencia de potencial hídrico entre la semilla y el suelo, o cualquier otro sustrato; la amplitud del contacto entre semilla y suelo; y los obstáculos que existan en la semilla a la entrada del agua.

Con respecto a la temperatura Basnier (1999) hace referencia a que existen semillas que requieren temperaturas alternas y algunas que requieren temperaturas fijas para romper su letargo, la germinación, es un proceso bioquímico y de crecimiento y, como tal, su velocidad depende de la temperatura a que se desarrolle. Es posible que las distintas fases de la germinación (imbibición, alargamiento de la radícula, división celular, etc), no tengan todas las mismas temperaturas óptimas.

Diehl *et al.* (1973), nos dicen que la mayor parte de las plantas cultivadas tienen un punto óptimo de germinación comprendido entre los 20 y 30°C, las temperaturas máximas y mínimas tienen, en general, gran importancia desde el

punto de vista agronómico. La temperatura mínima de germinación tiene particular importancia, en algunas plantas puede comenzar desde 0°C.

De acuerdo a Basnier (1999), la luz no es imprescindible para la geminación de las semillas en reposo pero su efecto, a través del fitocromo, puede romper el letargo o, contrariamente, producir letargo secundario. La necesidad de la luz que tienen muchas semillas para romper su letargo constituye un mecanismo para impedir la germinación a excesiva profundidad en semillas pequeñas con escasas reservas.

Diehl *et al.* (1973) concuerda en que las semillas son, en general, indiferentes a este factor en lo que se refiere a la germinación. Sin embargo algunas semillas germinan mejor a la luz.

4.5. Vigor

Basnier (1999), define el vigor como la capacidad de las semillas para producir rápida y uniformemente, plántulas normales en condiciones específicas de laboratorio. Esta capacidad depende, fundamentalmente, de tres condiciones principales; estado de la maquinaria bioquímica, amplitud de las reservas nutritivas y constitución genética. El vigor de las semillas es la expresión de diferentes características fisiológicas que les permite no solo germinar más rápidamente, sino también soportar mejores condiciones adversas durante la nacencia y generar plantas mejor desarrolladas que suelen conducir a incrementos de la producción. Pueden estimarse estas características de las semillas a través de los análisis de germinación, pero es necesario tener en cuenta que el poder germinativo mide solamente la capacidad que tienen las semillas para, en un plazo más o menos largo, germinar. Las normas establecidas por la ISTA marcan las fechas en que deben realizarse el primer y último conteo a partir del inicio del ensayo de germinación.

Urbano (2002) menciona que como una medida del vigor germinativo se pueden adoptar los siguientes criterios.

- Porcentaje de simientes germinadas en la mitad o en el primer tercio de la duración normal del ensayo de germinación.
- Tiempo necesario para que se produzca la germinación del 50% de la muestra analizada.

4.6. Problemáticas de la Germinación

En español se han usado las palabras dormancia, latencia, letargo, reposo y vida latente, para referirse a la ausencia o inhibición del crecimiento vegetal y en particular de la germinación (Camacho, 1994)

Desai *et al.* (1997), nos dice que el término "latencia de las semillas" se ha utilizado para describir dos condiciones inactivas: una consecuencia de condiciones desfavorables del medio ambiente y el otro debido a las condiciones internas de la semilla

4.6.1. Tipos de latencia

Camacho (1994) menciona que en los embriones de las semillas con latencia fisiológica, la actividad enzimática es baja, lo mismo que la producción de enzimas, coenzimas y ácidos nucleicos. El clasifica la latencia de acuerdo a los factores que la provocan:

1. La latencia física se manifiesta cuando, al final de las pruebas de germinación, queda una cantidad de semillas cuyo volumen y dureza no se modifiquen y que se conoce como semillas duras o impermeables. Muchos autores están de acuerdo en que la latencia física se debe a la presencia de una testa impermeable, debido a que la capa restringe físicamente el crecimiento del embrión o actúa como una barrera al intercambio libre de gases o a la absorción de agua.

2. La latencia química. La germinación es bloqueada por aquellos inhibidores que se encuentran en la cubierta más expuesta al medio y que pueden ser el pericarpio, la testa o las partes florales adheridas a la semilla.
3. Algunos de los inhibidores presentes en semillas que tienen latencia física son compuestos fenólicos, cumarina, cafeína, lactonas no saturadas, ácidos abscísico, cinámico, cianhídrico, oxobenzoico, salicílico.
4. Latencia mecánica. En las semillas con testa o endospermo duros, y sobre todo en las cubiertas por un endocarpio grueso, duro e indehisciente, la demora de la germinación puede atribuirse a que estos tejidos oponen resistencia mecánica al crecimiento del embrión. A pesar de que lo anterior es teóricamente posible, no existe evidencia contundente, ya que las semillas que se piensan poseen latencia mecánica, también presentan latencia fisiológica, inhibidores en las cubiertas o ambas cosas, lo que afecta enormemente la fuerza que puede desarrollar el embrión.
5. Latencia fisiológica. Es el resultado de bloqueo metabólico en el embrión, sostenidos por la baja permeabilidad de la cubierta a los gases. Dicho bloqueo se manifiesta en la incapacidad del embrión para crecer y atravesar las cubiertas. Duffus y Slaughter (1985).

Copeland y McDonald (2001) describen algunos de los mecanismos causantes de la latencia:

- ✚ Impermeabilidad al agua. La impermeabilidad de las cubiertas seminales al agua es típica de muchas especies, estas son conocidas como semillas duras. La impermeabilidad es causada por factores genéticos y ambientales.
- ✚ Baja permeabilidad a los gases. La impermeabilidad de los gases a través de la cubierta de la semilla ha sido descrito como un mecanismo de latencia impuesto por la cubierta de la semilla, la cubierta de la semilla puede ser selectivamente permeable a uno, pero a otros no, además, el mecanismo por el cual los gases se limitan a partir del embrión es difícil de determinar debido a la naturaleza volátil de los gases, el mecanismo general de acción

se cree que está relacionado con la permeabilidad de la testa al oxígeno: las semillas con la latencia son menos permeables al oxígeno, retardando así el metabolismo aeróbico.

Para Flores (2004) los mecanismos causantes de la latencia pueden ser:

- ✚ Resistencia mecánica al crecimiento del embrión. El embrión no desarrolla suficientemente fuerte para emerger aun cuando la cubierta no sea limitante para ello.
- ✚ Permeabilidad selectiva a los reguladores del crecimiento
- ✚ Bloqueo metabólico
- ✚ Presencia de inhibidores
- ✚ Embriones rudimentarios. La inmadurez del embrión es atribuido a que el embrión inmaduro es capaz de germinar, este proceso es conocido como dormancia rudimentaria del embrión o dormancia fisiológica. La maduración del embrión ocurre después de que la semilla ha sido dispersa y puede tomar unos pocos días o varios meses para llegar a ser capaz de germinar.
- ✚ Adquisición de mecanismos inhibidores.

4.6.2. Tratamiento para romper la latencia en una semilla

Para Copeland y McDonald (2001), el principal problema agronómico que se tiene con la semilla latente es la selección del mejor tratamiento para estimular la germinación con el fin de:

- Aprovechar al máximo la capacidad de un lote para obtener plantas productivas
- Lograr una germinación rápida, compleja y uniforme que facilite las labores y ayude al establecimiento del cultivo.

Existen varios métodos para romper la latencia fisiológica. Las semillas que presentan inhibición latente osmótica pueden germinar después de retirar la semilla de la influencia del inhibidor o diluir el inhibidor de la semilla en un proceso llamado lixiviación el cual requiere la exposición de la semilla a un exceso de agua que diluye o elimina el inhibidor de la semilla.

Semillas que poseen inhibidores metabólicos localizados en la capa de semilla puede ser relevado de la latencia con la eliminación de la cubierta de la semilla por escarificación mecánica.

La escarificación convencional se utiliza para el rompimiento de testas duras e impermeables, para permitir la penetración del agua se realiza normalmente mediante diversos procedimientos, incluyendo el uso de abrasivos o ácidos, o simplemente la perforación de la cubierta de la semilla.

4.6.3. Tratamientos para romper la latencia física.

Camacho (1994) propone diferentes métodos contra la latencia física:

1. Congelamiento: consiste en someter a las semillas a temperaturas por debajo de los 0°C (generalmente en seco). El congelamiento se consigue con aparatos de refrigeración o con inmersiones en gases licuados que lleguen a alcanzar temperaturas por debajo de los -18 °C.
2. Escarificación mecánica: consiste en raspar, quebrar o perforar las cubiertas de las semillas, ya sea manualmente o con aparatos. La escarificación manual está considerada como el método que de los mejores resultados en semillas de muchas especies.
3. Disolventes orgánicos. Con la inmersión de las semillas en sustancias como la acetona, el etanol y el xileno, entre otras; generalmente se obtienen resultados muy variables. No es aplicable a todas las semillas con latencia física y como tratamiento, no es más ventajoso que el agua caliente.

4.6.4. Tratamientos para romper la latencia química

La germinación es bloqueada por aquellos inhibidores del crecimiento que se encuentran en la cubierta más expuesta al medio y que pueden ser el pericarpio, la testa o las partes florales adheridas a la semilla.

Camacho (1994) propone diferentes métodos contra la latencia química:

1. Productos cáusticos: elimina la latencia química ya que destruye la cubierta que contiene a los inhibidores al usarse en soluciones concentradas y ayuda a su lixiviación cuando se emplean soluciones diluidas.
2. Escarificación mecánica: su efectividad depende de que se retire la mayor parte de la cubierta externa.
3. Fermentación e intemperización: la descomposición de las cubiertas, sobre todo si son carnosas, se puede lograr poniendo las semillas en agua o mezclándolas con estiércol y dejándolas fermentar durante varios días.
La intemperización consiste en dejar las semillas durante varias semanas expuestas al sol y a la lluvia.
4. Remojo: la lixiviación de los inhibidores puede lograrse mediante un remojo continuo en agua, o alternar el remojo con periodos de secado. Es importante que las semillas se encuentren debidamente oxigenadas.

4.6.5. Tratamientos para romper la latencia mecánica

En las semillas con testa o endospermo duro, y sobre todo en las cubiertas por un endocarpio grueso, duro e indehisciente, la demora de la germinación puede atribuirse a que estos tejidos oponen resistencia mecánica al crecimiento del embrión.

Camacho (1994) propone diferentes métodos contra la latencia mecánica:

1. Productos cáusticos: estos tratamientos se han recomendado para estimular la germinación de las plantas que poseen semillas con cubiertas duras.

2. Escarificación mecánica: este tratamiento no siempre ha dado resultados satisfactorios con semillas de cubiertas gruesas, cuando se usan aparatos mecánicos, sin embargo, quitar manualmente el endocarpio siempre facilitara la germinación de las semillas.
3. Estratificación cálida: consiste en revolver las semillas con un sustrato que puede ser turba, musgo o una mezcla de arena y estiércol y colocarlas dentro de un recipiente a temperaturas mayores de 10°C.

4.6.6. Tratamientos para romper la latencia fisiológica

En los embriones de las semillas con latencia fisiológica, la actividad enzimática es baja, lo mismo que la producción de enzimas, coenzimas y ácidos nucleicos.

Camacho (1994) propone diferentes métodos contra la latencia fisiológica:

1. Aceptores de electrones: compuestos como el azul de metileno, cloruro de trifeniltetrazolio, nitritos y peróxido de hidrogeno eliminan la latencia leve, ya que actúa como reoxidantes alternos del NADPH, o bien inhibe la catalasa. Las sustancias más usadas son los nitratos y el agua oxigenada.
2. Almacenamiento en seco. Es un tratamiento barato que tiene la desventaja de requerir mucho tiempo para eliminar la latencia en caso de no emplear calentamiento artificial, que puede acelerar la pérdida de viabilidad por envejecimiento.
3. Atmosfera controlada: una forma sencilla de aumentar la concentración de CO₂ es hacer germinar la semilla dentro de una bolsa de polietileno cerrada.
4. Congelamiento: se ha encontrado que este tratamiento estimula la germinación de semillas con latencia en algunas especies.
5. Enfriamiento en húmedo: consiste en poner las semillas de modo que permanezcan húmedas, con buena aireación y a bajas temperaturas, se conoce también como estratificación fría. La temperatura óptima para que la semilla pierda la latencia con el enfriamiento en húmedo varía según la

especie. Antes de iniciar el tratamiento conviene remojar la semilla de 12 a 24 horas en agua corriente o fría.

6. Escarificación: este tratamiento estimula la germinación de semillas con latencia.
7. Hormonas: las sustancias más empleadas son las giberelinas, las citocininas, cinetina, benziladenina y 6-aminopurina, el etileno y la fucocinina
8. Control de temperatura e iluminación: se puede obtener temperatura y fotoperiodos que favorezcan la germinación de semillas con latencia fisiológica.

4.6.7. Tratamientos para romper la latencia morfológica

En algunas plantas el crecimiento de los embriones se detiene cuando no se han desarrollado completamente, por lo que sus semillas maduras presentan embriones rudimentarios.

Camacho (1994) propone diferentes métodos contra la latencia morfológica:

Estratificación cálida: este tratamiento tiene como objetivo proporcionar condiciones óptimas para el desarrollo de los embriones. Consiste en ponerlas húmedas en una bolsa de plástico bien cerrada, a una temperatura de 38°C a 40°C de 48 a 60 días, el contenido de humedad debe ser de 22%.

Hormonas: existe un mayor porcentaje de germinación con la aplicación de hormonas que sin ellas.

4.7. Prueba de germinación

De acuerdo a la FAO (1985) la germinación es una importante característica de la semilla que se determina mediante un análisis de germinación, cuyo resultado se expresa en porcentaje. La semilla de alta calidad debe tener la más alta germinación posible. El porcentaje de germinación se calcula solamente por el número de plántulas normales que puede suponerse que se convertirán en plantas fuertes

De acuerdo a la ISTA (1996) la germinación de una semilla en una prueba de laboratorio, es el surgimiento y desarrollo de la estructura esencial de una plántula, lo que indica si es o no capaz de desarrollar satisfactoriamente una planta en condiciones favorables en el suelo.

En un laboratorio de semillas la germinación se define como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que, de acuerdo a la semilla en estudio, son indicadores de su habilidad para producir una plántula normal bajo condiciones favorables. En una prueba de germinación la semilla se coloca bajo condiciones controladas muy precisas, consideradas como óptimas para la semilla que se está evaluando durante determinados periodos de tiempo.

Para Amarjst y Basra (1995), los objetivos para las pruebas de vigor serán diferentes para distintas aplicaciones. Sin embargo, algunos requerimientos básicos de una prueba de vigor han sido establecidos.

1. Proporcionar un índice más sensitivo de calidad de la semilla de la prueba de germinación.
2. Proporcionar una clasificación uniforme de lotes de semillas en términos de rendimiento potencial.
3. Ser objetiva, rápida, sencilla, práctica y económica.
4. Ser reproducibles e interpretables.

Germinación, en una prueba de laboratorio, es la aparición y el desarrollo del embrión de la semilla de las estructuras esenciales que, de ser probado el tipo de semilla, indican la capacidad de convertirse en una planta normal bajo condiciones favorables en el suelo. (Ratan, 1996).

La ISTA (1996) divide las plántulas en dos grupos: plántulas normales y anormales

Plántulas normales muestran el potencial de desarrollo continuo en las plantas cuando se cultiva en suelos de buena calidad y en condiciones favorables de humedad, temperatura y luz.

Para ser clasificado como una planta normal, deben cumplir con una de las siguientes categorías:

- Plántulas intactas: plantas con todas sus estructuras esenciales desarrolladas, en proporción completa y saludable.
- Plántulas con defectos leves: las plántulas que muestran ciertos defectos leves de sus estructuras esenciales, siempre que muestran un desarrollo satisfactorio y equilibrado de otro modo comparable a la de plantas intactas de la misma prueba.
- Plantas con infección secundaria: las plántulas que es evidente que se han conformado en la primera o segunda clasificación, pero que han sido afectadas por hongos o bacterias a partir de otras fuentes de la semilla madre.

Plántulas anormales no muestran el potencial de convertirse en una planta normal cuando se cultiva en suelos de buena calidad y en condiciones favorables de humedad, temperatura y luz.

Las plantas de semillero siguientes se clasifican como anormales:

- Plántulas dañadas: las plántulas con alguna de las estructuras esenciales faltante o con daño irreparable.
- Plántulas deformes o desequilibradas: plantas con escaso desarrollo o trastornos fisiológicos o en el que las estructuras esenciales se deforman o están fuera de proporción.
- Plántulas decaídas: las plántulas con sus estructuras esenciales propensas a cualquier enfermedad o transmitida de los padres.

4.7.1. Tratamientos para las pruebas de germinación

De acuerdo a la U.S.D.A. (1980), los tratamientos usados comúnmente para superar la latencia son el enfriamiento previo, el uso alternativo de temperaturas altas y bajas durante el periodo de la prueba, el humedecimiento del sustrato con una solución diluida de nitrato de potasio y el secado previo.

4.7.2. Preenfriamiento

Camacho (1994), para ciertas semillas en latencia se recomiendan temperaturas de 5 a 10°C por periodo de 5 a 30 días, generalmente 3 a 5 días son suficientes para romper la latencia de esas semillas. Este periodo de enfriamiento no se encuentra dentro del periodo de germinación señalado. Las semillas son colocadas en el sustrato húmedo que se utiliza para la prueba de germinación y bajo esas condiciones se somete al periodo de enfriamiento. En algunos casos es necesario prolongar el periodo de enfriamiento o repetirlo.

El pre-enfriamiento al desnudo tiene la ventaja de que es más fácil verificar la condición de las semillas durante la operación de pre-enfriamiento y no hay necesidad de separar las semillas del medio al final del tratamiento. El periodo de almacenamiento en frío es generalmente de varias semanas de acuerdo a la especie en estudio. (CATIE, 2000).

4.7.3. Nitrato de potasio.

Camacho (1994), uso de nitrato de potasio: el uso de una solución al 0.2% de KNO_3 , para el humedecimiento inicial del sustrato en las pruebas de germinación, es recomendado para superar la latencia de semillas, especialmente en las gramíneas. La solución se prepara disolviendo 2 gr de KNO_3 en 1000 ml de agua.

4.7.4. Luz

La exposición a la luz estimula la germinación de muchas semillas, especialmente semillas de especies silvestres y de plantas agrícolas, como la lechuga, el tabaco y el tomate

El grado de sensibilidad a la luz varía mucho entre los lotes de siembra y está muy relacionada con la temperatura de germinación. Con frecuencia, esta sensibilidad a la luz sólo aparece en las semillas germinadas a temperaturas más altas.

Sugerido que muchos de los efectos de la luz sobre morfogénesis de las plantas podría ser interpretado en términos de cambios en el pigmento fotorreceptor que fue llamado fitocromo. (Roberts, 1972.)

De acuerdo a Moreno (1976), cuando se prescribe la luz para la germinación de una determinada semilla, esta podrá ser natural o artificial. Se deberá tener cuidado de que su intensidad sea uniforme y de no elevar la temperatura de la prueba, con la aplicación de la luz. Se recomienda usar lámparas fluorescentes de luz blanca fría, ya que tiene poca emisión de luz roja lejana y una alta emisión de luz que promueve la germinación. .

Para Camacho (1994), mucha gramíneas responden al tratamiento con luz, se recomiendan lámparas fluorescentes de luz blanca. En algunas plantas el efecto estimulante originado por la aplicación de luz a las semillas embebidas, no se pierde cuando estas últimas se secan y se manifiesta cuando se les pone a germinar. Se ha clasificado a las semillas de acuerdo con su reacción a la luz en fotoblastica positivas, que son las que requieren luz para germinar, y fotoblasticas negativas que requieren oscuridad.

4.7.5. Lombricomposta y abonos orgánicos.

García (1999), Con respecto a las sustancias húmicas producidas por las lombrices de tierra, se ha demostrado que son en gran parte las responsables de los efectos favorables en los suelos, al mejorar la germinación de las semillas y el crecimiento de las plantas y al aumentar la capacidad de las plantas para adsorber nutrientes.

En estudios que documentan estos efectos favorables se tienen investigaciones de la actividad de las sustancias húmicas derivadas de la lombricomposta en el metabolismo de las plantas, al aumentar el intercambio iónico y catiónico, la síntesis de proteínas y la acción de las enzimas en el metabolismo de los nitratos. Se considera que gran parte de estos estímulos se producen debido a la actividad de las sustancias húmicas de la vermicomposta como hormonas, en especial a sus contenidos de auxinas

Sustancias húmicas

Los humus son el resultado de la dependencia de la materia orgánica y son importantes debido a que proporcionan las características físicas, químicas y microbiológicas a los suelos de los cuales las plantas obtienen beneficios. Los componentes orgánicos del humus forman sustancias húmicas (ácidos húmicos y fulvicos). Las sustancias húmicas representan solo una tercera parte del humus; el resto, que son las húmicas están formadas por restos de materia orgánica no transformada. (Moreno, 1976).

El lombricompuesto posee una amplia gama de ventajas frente a otros abonos, pudiendo destacarse no solo un aporte de microelementos (nitrógeno, hierro, cobre, magnesio, boro, etc) sino que estos se hallan balanceados adecuadamente. (Schldt, 2006)

Componentes del humus de lombriz

Componentes	Valores Medios	Componentes	Valores Medios
Nitrógeno	1.95-2.2%	Carbono organico	22.53%
Fosforo	0.23-1.8%	C/N	11.55%
Potasio	1.07-1.5%	Acidos húmicos	2.57 g Eq/100g
Calcio	2.70-4.8%	Hongos	1500c/g
Magnesio	0.3-0.81%	Levaduras	10 c/g
Hierro	75mg/l	Actinomicetos totales	170.000.000 c/g
Cobre	89mg/kg	Act. Quitinasa	100 c/g
Zinc	125mg/kg	Bacterias aerobicas	460.000.000 c/g
Magnesio	455mg/kg	Bacterias anaeróbicas	450.000 c/g
Boro	57.8mg/kg	Relación aer/anaerob	1:1000

Fuente: www.lombricultura.cl

4.8. Problemáticas de la germinación en *Echinacea purpua L.*

La *Echinacea purpurea L.* es capaz de crecer sin problemas con un poco de atención y puede desarrollarse en una gran variedad de condiciones. El principal problema en su cultivo es la germinación, la cual requiere de estratificación adecuada sin la cual la germinación de la semilla es muy leve (del 10 al 40 %). Entre los principales problemas presentados en la producción de *Echinacea purpure L.* en forma comercial se encuentran los ataques de *Fusarium oxysporum* e infecciones fitoplasmáticas. (Montero, 2001).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Ubicación del experimento

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio del Centro y Desarrollo de Tecnología de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro que se encuentra ubicada a los 25° 22' de latitud Norte y 100° 00' de longitud Oeste, con una altitud de 1742 msnm, sobre la carretera 54 (Saltillo-Zacatecas) Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

5.2. Materiales y métodos

Las pruebas de germinación se realizaron de acuerdo a las normas de la ISTA (1996). Antes de iniciar la prueba de germinación se realizó un conteo y se tomó el peso de 100 semillas para estimar el peso de las semillas utilizadas en la prueba de germinación, debido al tamaño de la semilla los lotes fueron únicamente de 25 semillas para cada repetición, se realizaron siete repeticiones por tratamiento más el testigo, por lo que se utilizaron un total de 875 semillas de *Echinacea purpurea* L. Cada lote de semillas se dejó reposar en las soluciones (tratamientos) por un tiempo de una hora después del cual se procedió a colocar en el sustrato.

Toda la semilla fue sometida a un periodo de frío por un lapso de 3 meses a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 1$.

Los tratamientos consistieron en:

- T1.- Preenfrimiento. La semilla fue colocada durante un periodo de 3 meses a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 1$ y fue sumergida en agua corriente por periodo de una hora.
- T2.- Frío + Nitrato de potasio (KNO_3 al 0.2%). La solución se preparó disolviendo 2 gr de KNO_3 en 1000 ml de agua destilada.
- T3.- Frío + Humus de lombricomposta. Se disolvió 10 ml de concentrado de lombricomposta en 100 ml de agua.

T4.- Frio + Luz. Se colocaron las semillas en una cámara germinadora que le proporcione luz las 24 horas del día (luz blanca fluorescente)

T0.- Testigo.

Se sumergieron 175 semillas en la solución de KNO_3 al 0.2%; 175 en la solución de lombricomposta y 525 semillas de *Echinacea purpurea* en agua corriente esto para que la semilla pase por el proceso de imbibición todas por el periodo de una hora.

Posteriormente se colocó la semilla entre papel filtro previamente humedecido, 25 semillas por repetición, el papel será enrollado en forma de taco, se colocaron ligas en los extremos, se identificaron los tacos colocando la fecha de la prueba, tratamiento, repetición y una flecha indicativa donde se encuentra el embrión, estos fueron colocados en bolsas de polietileno de 2 Kg, se colocan de forma vertical dentro de una cámara germinadora la cual se mantuvo a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Se utilizaron dos cámaras germinadoras una donde se colocó el tratamiento que requerirá de luz y los demás tratamientos en una cámara germinadora con control de luz. La humedad de los tratamientos se mantuvo durante el tiempo de la prueba, por lo que se humedecía cada semana con agua corriente.

5.3. Variables

Se utilizaron las siguientes variables de acuerdo a lo estipulado para las pruebas en laboratorio.

La capacidad de germinación (C.G), (%) se obtuvo con el conteo de las plantas germinadas (germinación fisiológica). Se realizaron el conteo al 4, 7, 14 y 21 días, se considera una semilla germinada cuando se presente una longitud de plúmula o radícula de 4-5 mm., se consideraron las plántulas normales obtenidas en esos días, anotándose en ese momento también las plántulas anormales y semillas sin germinar. (ISTA, 1996)

Índice de velocidad de germinación: Se determinó con los conteos diarios de germinación durante 10 días. Una semilla fue considerada como germinada cuando presento una longitud de plúmula o radícula de 4-5 mm. (ISTA, 1996)

Se utilizó la ecuación propuesta por Pill (1981).

$$I.V.G. = \frac{\sum(D_i - D_j)}{i}$$

Dónde:

I.V.G.: Índice de velocidad de germinación.

D_i: Número de semillas germinadas en el día i.

i: No. de días al momento del conteo desde la siembra

D_j: Número de semillas germinadas en el conteo anterior al día i

Asimismo al cuarto día se midió la longitud de radícula y longitud de plúmula de 20 plántulas obtenidas al azar en las siete repeticiones de cada tratamiento.

Longitud de plúmula: Se realizó con la medición en centímetros de veinte plántulas seleccionadas al azar en cada tratamiento a los 21 días de la siembra.

Longitud de radícula: Se realizó con la medición en centímetros de veinte plántulas seleccionadas al azar en cada tratamiento a los 21 días de la siembra.

5.4. Modelo Estadístico

Los resultados de los tratamientos seleccionados se analizaron bajo el siguiente diseño experimental: completamente al azar. (Steel y Torrie, 1980), analizados con el paquete de diseños experimentales FAUANL Versión 2.5. (Olivares, 1994)

$$Y_{ij} = M + T_i + E_{ij}$$

Dónde:

i= No de tratamientos.

j= No de repeticiones.

Y_{ij}= variable observada.

M= media general.

T_i= efecto de tratamiento.

E_{ij}= error experimental.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Germinación

Los resultados obtenidos del último conteo realizado fueron expresados en porcentaje para evaluar la variable de capacidad de germinación. De acuerdo a el ANVA (Cuadro 1) los resultados mostraron tener diferencia significativa al 0.5, lo que significa que al menos uno de los tratamientos tuvo un efecto positivo, siendo el tratamiento No. 3 (frio+lombricomposta) el que presenta un mejor resultado con un porcentaje de germinación con 55%, respecto a los demás tratamientos presentaron un porcentaje de germinación igual o menor al 50%, al realizar la evaluación de medias (Cuadro 2) los tratamientos presentan diferencia estadística, dividiendo a los tratamientos en tres grupos A (T3), AB(T1, T2 y T4) y B(T5), siendo el testigo el que presento un menor porcentaje de germinación de tan solo 35%.

Se obtuvo una diferencia altamente significativa entre los tratamientos a 0.01 en el ANVA (Cuadro 1), esto nos indica que más de uno de los tratamientos tuvo efecto positivo, para la variable IVG (Índice de velocidad de germinación). Al realizar la comparación de datos se encontró que el tratamiento con mejor vigor fue el tratamiento No. 3 (frio+lombricomposta) con un IVG de 3.91, presentando la mayor germinación dentro del cuarto al séptimo día de la evaluación. En cuanto a la comparación de medias (Cuadro 2) se encuentra que existe una diferencia estadística entre los tratamientos, agrupando a los tratamintos en *a* (T3), *ab* (T4), *b* (T1 y T2) y *c* (T5), siendo el testigo el que presenta un menor vigor con apenas 1.18 en su IVG.

De acuerdo a Juárez (2011), al realizar las pruebas de germinación en semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) con tratamientos de frio y de lombricomposta estos presentan un mayor porcentaje en su germinación incrementando de 6 a 11%, mientras que si se utiliza solo tratamiento con frio el incremento en su germinación será solo del 5% por lo que sugiere realizar la combinación de los tratamientos para un mejor resultado.

Baskin, Baskin y Hoffman (1992) hace referencia a un enfriamiento previo en algunos de las especies de equinácea (*Echinacea purpurea* L., *E. angustifolia* DC. y *E. pallida* Nutt) para superar la latencia de las semillas por lo que el preenfriamiento formo parte en todos los tratamientos para mejorar la germinación en semillas de *Echinacea purpurea* L. Weaver (1976), señala que el preenfriamiento ocasiona una disminución de los inhibidores de la germinación, a la vez que un aumento en los promotores de crecimiento. Atweter (1980), considera que el preenfriamiento disminuye la demanda de oxígeno para la respiración y hace que esté disponible para otros usos. Atiyeh *et al.* (2002) En cuanto a la utilización de la lombricomposta para la ruptura de la latencia en semillas se ha demostrado en diversos trabajos que es responsable de los efectos favorables en la mejora de la germinación de las semillas, el crecimiento de las plantas y el aumento de la capacidad de las plantas para absorber nutrientes, esto debido a que se ha demostrado la presencia de los reguladores de crecimiento de las plantas en la lombricomposta, encontrando hormonas como las auxinas, giberelinas y citoquininas, generadas por microorganismos, debido a la actividad microbiana presente en la materia orgánica y procesada por las lombrices produciendo cantidades significativas de estos reguladores de crecimiento.

Algunas de las funciones de los reguladores de crecimiento que influyen en la mejora de la germinación se pueden deber a que intervienen en los procesos de la germinación, como es el caso de la citoquinina estimulan la división celular (Lira, 1994.), por otro lado Hurtado y Merino (2000) mencionan que las giberelinas tiene muchas facetas regulatorias en el desarrollo vegetal debido a que son las responsables de la hidrolisis de las reservas de almidón en el endospermo durante la germinación de la semilla. Numerosos estudios han determinado que la influencia inhibidora sobre el crecimiento vegetal de los retardantes en general pueden ser contrarrestados con la aplicación de ácido giberelico.

Por lo que la lombricomposta tiene un mayor efecto para la germinación de las semillas de *Echinacea purpurea* L. ya que se encuentran presentes una combinación de reguladores de crecimiento y nutrientes, los cuales son por referencia de diferentes trabajos, compuestos que por sus propiedades actúan en los procesos de germinación.

Cuadro 1. Cuadrados medios de las variables de germinación: Índice de velocidad de germinación (IVG) y Capacidad de germinación (C.G).

Fuente de variación	Germinación	
	C.G.(%)	IVG
Tratamientos	8.45*	7.63**
Error	2.73	0.53
C.V.	24.28%	25.27%

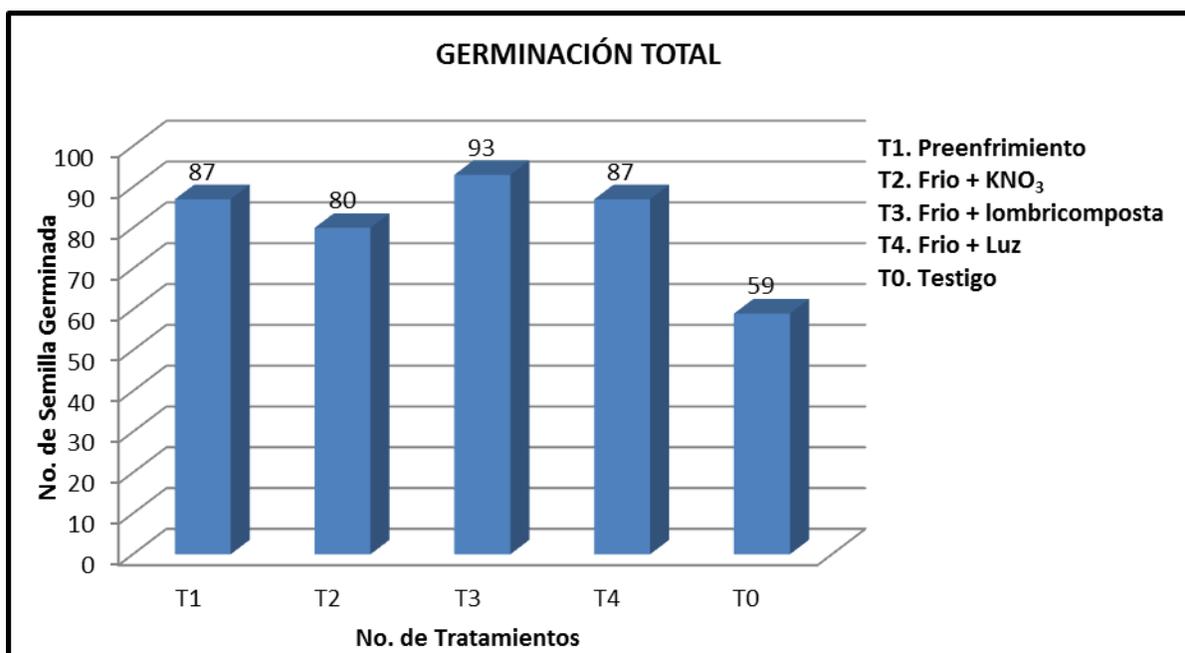
ns: no significativo; *significativo (P<0.5) y ** altamente significativo (P<0.01)

Cuadro 2. Comparación de medias de las variables de germinación: Índice de velocidad de germinación (IVG) y Capacidad de germinación (C.G).

	Germinación	
	C.G. (%)	IVG
T1 (Preenfriamiento)	7.2629 AB	2.93 b
T2 (Frio + KNO ₃)	6.6943 AB	2.97 b
T3 (Frio + lombricomposta)	7.8371 A	3.91 a
T4 (Frio + luz)	7.2657 AB	3.52 ab
T5 (Testigo)	4.9800 B	1.18 c

A, B, C: Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (DMS<0.01)
a, b, c: Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (DMS<0.05)

Grafica No. 1. Germinación Total



6.2. Longitud de plúmula y radícula

Realizando la evaluación de la variable longitud de radícula se encontró que existe diferencia altamente significativa de los tratamiento al 0.01, esto nos indica que más de uno de los tratamientos tuvo efecto positivo, (Cuadro 3), encontrándose como mejor tratamiento a el No.3 (Frio + lombricomposta). Al realizar la comparación de medias, no existe una diferencia estadística entre los tratamientos, sin embargo el tratamiento No.3 (Frio + lombricomposta) fue el que presento una mayor longitud de 3.27 cm, siendo el testigo el de menor longitud con 1.42 cm (Cuadro 4).

Respecto a la variable longitud de plúmula (Cuadro 3) se encontró que existe una diferencia altamente significativa entre los tratamientos al 0.01 y el tratamiento que presento los mejores resultados fue el tratamiento No. 3 (Frio + lombricomposta) con una longitud de 3.50 cm. en tanto que el testigo fue el que presento una longitud de 1.60 cm (Cuadro 4).

Ya se ha mencionado la existencia de reguladores del crecimiento dentro de los componentes de la lombricomposta, por lo que los aportes no se limitan únicamente a superar la latencia, ya que tienen influencia en el desarrollo de la planta.

Estrada (2010), recomienda trabajar con lombricomposta para obtener un mejor sistema radicular y mayor longitud de plúmula.

Lira (1994), menciona que las auxinas son muy efectivas para iniciar la formación de raíces en varias especies vegetales, ya que los efectos auxínicos en las plantas afectan el alargamiento y la división celular, la formación de brotes, de raíces y tejidos callosos, la respiración, abscisión, partenocarpia, dominancia apical y embriogénesis. Se ha comprobado que las auxinas actúan de modo diverso en el crecimiento por alargamiento celular y la permeabilidad al agua, reduciendo la presión de la pared o aumentando la síntesis de ARN, proteínas específicas (enzimas) y aun la misma pared, lo que provoca un aumento en la plasticidad de la pared celular, que trae como consecuencia su extensión y con ello un crecimiento por alargamiento. Se sabe que las auxinas son un factor esencial en la promoción de raíces, debido a que en general el AIA puede incrementar significativamente la erogación de segmentos aislados de raíces. (Hurtado y Merino 2000)

Basnier (1999), nos menciona que las citocininas promueven la síntesis de proteínas y afectan a los fenómenos de permeabilidad de las membranas celulares, estimulan el alargamiento de la radícula y la expansión de los cotiledones e intervienen en la regulación de los niveles de las giberelinas y en la actividad de enzimas hidrolíticas existentes en los cotiledones.

Cuadro 3. Cuadrados medios de la variable de longitud (cm) de radícula y plúmula.

Fuente de variación	Longitud cm.	
	Radícula	Plúmula
Tratamientos	12.01**	10.06**
Error	0.58	0.28
C.V.	27.21%	19.20%

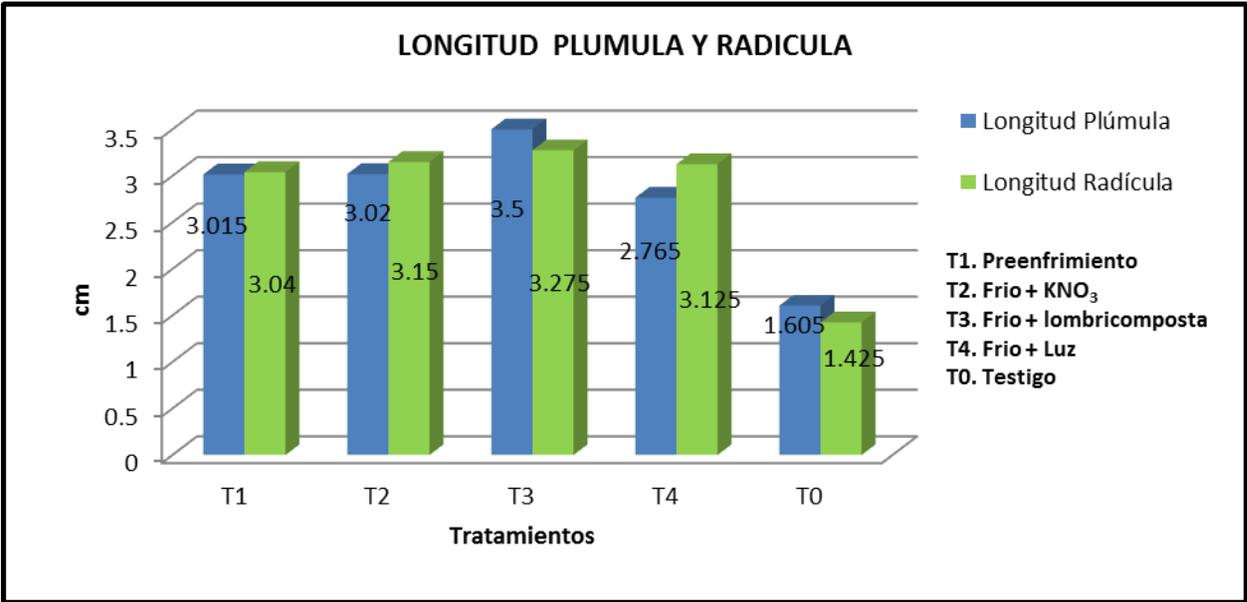
ns: no significativo; *significativo (P<0.5) y ** altamente significativo (P<0.01)

Cuadro 4. Comparación de medias de la variable longitud (cm) de radícula y plúmula.

	Longitud cm.	
	Radícula	Plúmula
T1 (Preenfriamiento)	3.04 A	3.01 B
T2 (Frio + KNO₃)	3.15 A	3.02 B
T3 (Frio + lombricomposta)	3.27 A	3.50 A
T4 (Frio + luz)	3.12 A	2.76 B
T5 (Testigo)	1.42 B	1.60 C

A, B, C: Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (DMS<0.01)
a, b, c: Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales (DMS<0.05)

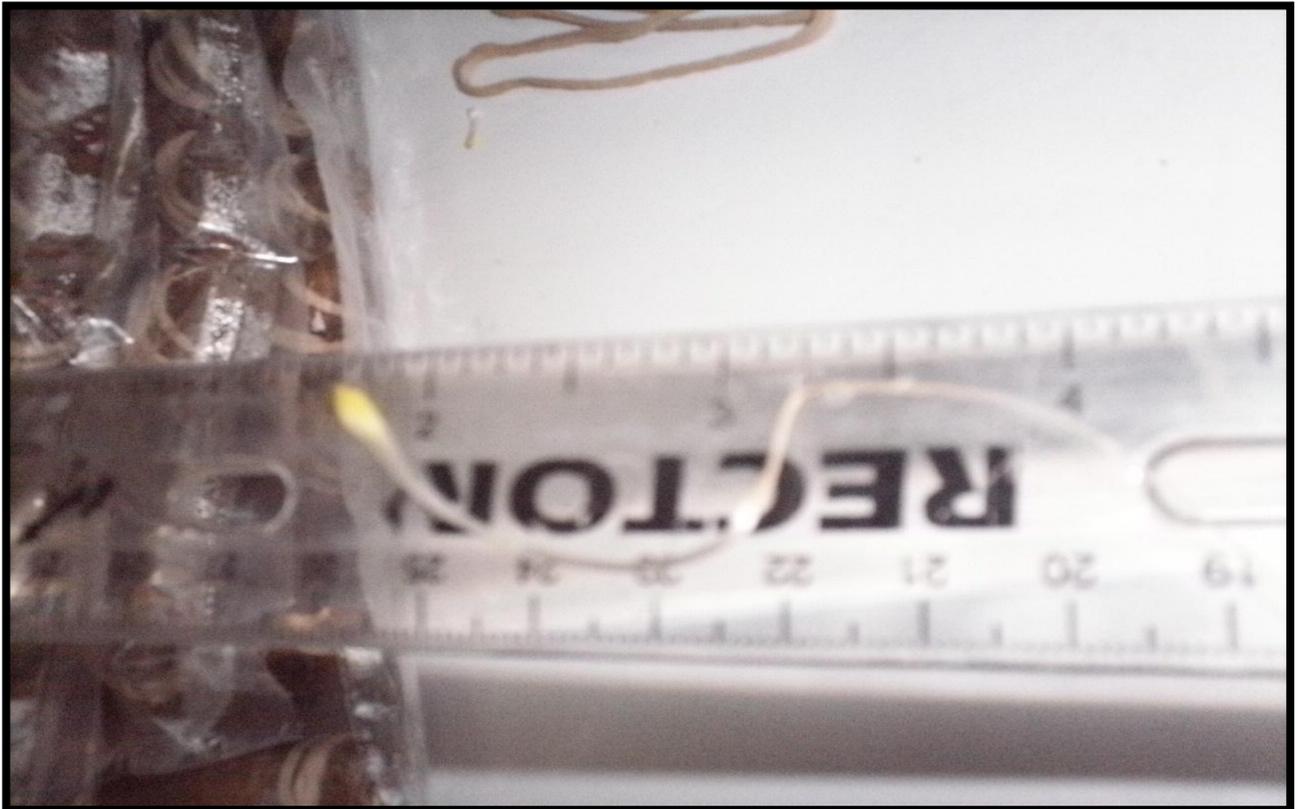
Grafica No.2. Longitud de plúmula y radícula



Fotografía No. 1.



Fotografía No. 2



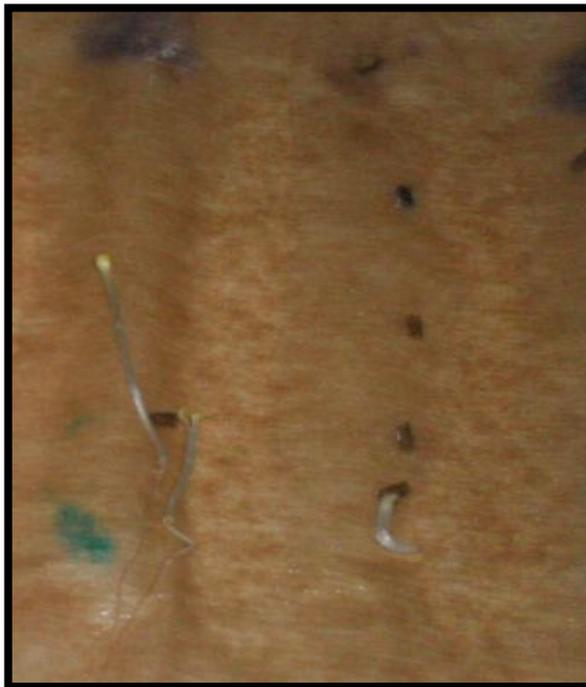
Fotografía No. 3



Fotografía No. 4



Fotografía No. 5



Fotografía No.6

VII. CONCLUSIÓN

En base a los resultados obtenidos podemos concluir que, los cuatro tratamientos mostraron tener un mejor resultado en cuanto a germinación con respecto a el testigo, por lo que la combinación de un periodo de preenfriamiento y un tratamiento adicional, mejoran notablemente la germinación en las semillas de *Echinacea purpurea*.

Dentro de los tratamientos utilizados la aplicación de productos orgánicos, en este caso, la lombricomposta mostro resultados favorables en cuanto a la germinación en las semillas de *Echinacea purpurea L.* obteniendo un mayor número de semilla germinada y un mejor índice de velocidad de germinación en comparación a los demás tratamientos, además de mostrar un mejor desarrollo de la plántula, al obtener mejores resultados en el crecimiento de la plúmula y radícula.

La lombricomposta es un compuesto accesible a los agricultores y de fácil utilización por lo que se sugiere realizar más ensayos con tratamientos de lombricomposta a diferentes concentraciones y tiempo de exposición al tratamiento.

VIII. LITERATURA CITADA

Amarjit S., Basra.1995.Seed Quality. Basic Mechanisms and Agricultural Implications.Food Products Press. An Imprint of the Haworth Press, Inc. New York.

Atiyeh R. M., Lee S., Edwards C. A., Arancon N. Q. and Metzger J. D. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. Biores. Technol. 84: 7-14.

Atwater. B. R. 1980. Germination, Dormancy and Morphology of the Seed of Herbaceous Ornamental Plants Seed. Science and Technology. 8(4):523-573.

Basnier R.F. 1999. Semillas, Biología y Tecnología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.

Baskin C.C., Baskin J.M. and Hoffman G.R.1992. Seed dormancy in the prairie for *Echinacea angustifolia* var. *angustifolia* (Asteraceae): After ripening pattern during cold stratification. Intl. J. Plant Sci. 153(2):239-243.

Camacho M. F. 1994. Dormancia de semillas Causas y Tratamientos. Editorial Trillas. México D.F.

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza . 2000. Técnicas para la germinación de semillas Forestales. Serie Técnica No.39. Turrialba, Costa Rica.

Copeland L. O. y M. B. McDonald 2001. Principles of seed science and Technology. 4 editions. Kluwer Academic Publishers Norwell. Massachusetts USA.

Desai B.B., P.M., Kotecha; D.K.Salunkhe y M.Dekker 1997.Processing and storage. Seeds handbook. New York.

Diehl R, J.M. Mateo B. y T.P. Urbano 1973. Fitotecnia General. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España.

Diffus C. & Slaughter C. 1985. Las semillas y sus usos. Editorial AGT, S.A. México D.F.

Estrada A. V. 2010. Germinación de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*) Var. Rio grande con dos niveles de lombricomposta bajo condiciones de laboratorio. UAAAN. Coahuila, México.

Food and Agriculture Organization. 1985. Producción y protección vegetal. Procesamiento de semillas de cereales y leguminosas de grano. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Roma Italia.

Flores H.A. 2004. Introducción a la Tecnología de Semillas. Universidad Autónoma de Chapingo. Edo. de México.

García C. N. 1999. Cambios en las características de las sustancias húmicas por la actividad de las lombrices de tierra. Simposium Internacional y Reunión Nacional. "Lombricultura y Abonos Orgánicos". UIPM. Chapingo, Mexico. Pg 67-73.

Hurtado M.D. y Merino M.M. 2000. Cultivo de tejidos vegetales. Editorial Trillas. México D.F.

International Sees Testing Association. 1996. International Rules for Seed Testing. CH-Switzerland. The International Seed Testing Association.

Juárez C.E. 2011. Evaluación del humus de lombriz para romper la latencia en semillas de trigo (*Triticum aestivum L*) variedad pelon colorado. UAAAN, Coahuila, México.

Lira S.R.H. 1994. Fisiología vegetal. Editorial Trillas. México D.F.

Montero C.W. 2001. Estudio morfogénico e histológico de *Equinacea purpurea L.* Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Biología informe de práctica de especialidad. Cartago. Costa Rica.

Moreno M. 1976. Manual para el Análisis de Semillas. Editorial Pronase. México D.F.

Olivares S.E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL versión 2.5. Facultad de agronomía. UANL. Nuevo León.

Pill W.G. 1981. Fluid sowing of tomato seed influence of phosphorus additions to five gel. Vol 6(1):38-49.USA.

Ratan L.A. 1996. Seed Technology. 2nd Ed. Oxford & Ibh publishing Co. Pvt. Ltd. New Deley.

Roberts, E.H. 1972. Viability of Seeds. Chapman and Hall Ltd Published in the U.S.A. by Syracuse University Press. Great Britain.

Schuldt , M. 2006. Lombricultura teoría y práctica. Ediciones Mundi-Prensa. México, D.F.

Steel R.G. y Torrie J.H. 1980. Principles and Procedures of Statistic: A Biometrical Approach.2nd Ed. McGraw-Hill Book Co. New York.

The United States Department of Agriculture. 1980. Semillas Anuario de Agricultura. 7^a Edición. Editorial Continental S.A. México D.F.

Urbano T. P. 2002. Fitotecnia. Ingeniería de la Producción Vegetal. Ediciones Mundi-Prensa. Mexico D.F.

Villar del Fresno A. M. y De las Heras B. 2005. Equinacea Farmacología y Farmacoterapia. Fitofarmacia. Vol.19 (9): 68-71.

Weaver. R. J. 1976. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Trillias. México, D. F.

<http://www.lombricultura.cl/lombricultura.cl/userfiles/file/biblioteca/humus/HUMUS%20venezuela.pdf>

http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas/tema_17.htm#Tipos de Germinación

http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/sec_5.htm