UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE AGRONOMÍA DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Efecto de la Aplicación de Colchicina en la Calidad Física y Fisiológica de Semillas de Centeno Producidas Bajo Invernadero

Por:

FERNANDO GINES AGUILAR

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México Mayo, 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE AGRONOMÍA DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Efecto de la Aplicación de Colchicina en la Calidad Física y Fisiológica de Semillas de Centeno Producidas Bajo Invernadero

Por:

FERNANDO GINES AGUILAR

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:

M.P. María Alejandra Torres Tapia

Asesor Principal

Dr. Victor Manuel Zamora Villa

Coasesor

M.C. Modesto Colín Rico

Coasesor

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México. Mayo, 2017

DEDICATORIA

A mis padres:

Marcelo Gines Abelino y María del Socorro Aguilar Contreras

Son los mejores padres para mí, de los cuales voy a estar eternamente agradecido por la confianza que me pusieron, por darme la oportunidad de existir y hacer realidad mis sueños, por ser las personas en las que puedo confiar por el resto de mi vida, por apoyarme a culminar mis estudios.

A mi padre: Gracias por su confianza y apoyado durante toda mi vida, por sus consejos que me han ayudado; mis palabras se quedan cortas para expresar todo lo que siento, gracias a usted puedo decir que soy Ingeniero Agrónomo, eres mi orgullo, ¡TE QUIERO PAPI!

A mi madre: Por ser la persona más maravillosa y haberme dado el mejor regalo del mundo la Vida, por estar conmigo en los buenos y malos momentos, eres la persona que siempre ocupará el lugar más importante en mi corazón. ¡TE QUIERO MAMI!

A mis hermanos

Yuliana Gines Aguilar
Javier Nicolás Gines Aguilar
Marcelo Gines Aguilar
Jesús Yorlandi Gines Aguilar

A ustedes por el apoyo que me brindaron, por ser clave importante de mi vida y por la confianza, son mis pequeños hermanos gracias a su fortaleza estoy en este punto tan importante de mi vida ¡LOS QUIERO MUCHO!

A mis abuelos

A ustedes por sus consejos y apoyo, son personas muy importantes en mí vida, y gracias por darles la vida a mis padres ¡GRACIAS ABUES!

A mis tíos, primos y sobrinos

A todos ustedes por su apoyo y consejos, por estar cerca de mi vida, estoy orgulloso de formar parte de esta hermosa familia ¡LOS QUIERO MUCHO!

Mireya Aguilar González

Por ser mi tía que me dio mayor apoyo y confianza en mí, por estar cerca de mí, eres la mejor persona, no cabe duda que tu apoyo no tiene precio, gracias por todo ¡TE QUIERO MUCHO!

AGRADECIMIENTOS

A Dios Nuestro Señor

A ti Dios, por darme lo más importante que tengo la Vida, por estar ahí cerca de mí cuando más te necesito, por haberme permitido cumplir todos mis sueños y mis metas, por sentir tu presencia en los peores momentos y ayudarme a salir de cualquier obstáculo. Mil gracias por haber permitido culminar mis estudios universitarios "GRACIAS PADRE DIOS"

A mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

A mi "ALMA TERRA MATER" por abrirme sus puertas, y por la formación que recibí durante toda mi carrera universitaria, por haberme ayudado a superarme personal y profesionalmente, donde compartí buenos y malos momentos, gracias por dejarme cumplir mi sueño anhelado, culminar mis estudios y sin duda alguna, siempre te llevare en alto y en mi corazón "ORGULLOSAMENTE SOY BUITRE"

A mis asesores

Voy a estar eternamente agradecido por la confianza puesta en mí a la MP. María Alejandra Torres Tapia, y a mis coasesores el Dr. Víctor Manuel Zamora Villa y el MC. Modesto Colín Rico, que fuera pieza importante en la realización y revisión en este trabajo de investigación, gracias por todo el apoyo recibido.

Mis amigos

Blanquis Ramírez, Nancy Salas, Alejandra Ayala M, Alexis Zamudio, Guillermo Galván, Mariano Flores, Ramiro Crisóstomo, Lázaro Padilla, Jesús Guzmán, Jacky Flores, Bofo Mandujano, Max Mata, Chepo Maldonado,

"La agricultura es la profesión propia del sabio, la más adecuada al sencillo y la más digna para todo hombre libre"

Cicerón

ÍNDICE

D	EDICATORIA	. i
Α	GRADECIMIENTOS	iii
ĺ١	NDICE DE CUADROS	viii
ĺ١	NDICE DE FIGURAS	. ix
R	ESUMEN	X
l.	INTRODUCCIÓN	1
	Objetivo general	3
	Objetivos específicos	3
	Hipótesis	3
П	REVISIÓN DE LITERATURA	4
	Origen	4
	La clasificación taxonómica del centeno	5
	Descripción del centeno	. 6
	Características botánicas del centeno	. 6
	Condiciones ambientales del centeno	. 7
	Manejo de producción	. 8
	Importancia del cultivo	9
	Producción nacional y mundial	9
	Mejoramiento Genético en Centeno	11
	La poliploidía en el mejoramiento vegetal	12
	Colchicina	14
	Dosis y efectos de la colchicina	15
	Calidad de semilla	15
Ш	. MATERIALES Y MÉTODOS	18
	Ubicación del experimento	18

	Material genético	. 19
	Tratamientos	. 19
	Metodología	. 19
	Etapa de laboratorio aplicación de tratamientos	. 20
	Etapa de siembra en invernadero	. 20
	Labores en el cultivo	. 21
	Riegos	. 21
	Fertilización	. 21
	Aplicaciones agroquímicas	. 21
	Cuidados	. 21
	Etapa cosecha y evaluación de semilla producida en el laboratorio	. 22
	Variables Evaluadas	. 22
	Calidad Física	. 22
	Peso volumétrico	. 22
	Peso de mil semillas	. 23
	Capacidad de germinación	. 23
	Peso Fresco	. 26
	Tasa de Crecimiento de Plántula	. 26
	Diseño experimental	. 27
	Análisis estadístico	. 28
I۱	/. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	. 30
	Calidad Física	. 30
	Peso volumétrico (PV)	. 30
	Peso de mil semillas (PMS)	. 33
	Calidad Fisiológica	. 35

	Capacidad de Germinación	35
	Comparación de medias (DMS) entre Concentraciones	36
	Comparación de medias (DMS) entre los Tiempos de exposición	37
	Interacción Concentración por Tiempo	39
	Vigor	40
	Comparación de medias (DMS) en Concentraciones de colchicina	42
	Comparación de medias (DMS) entre Tiempos de exposición	43
	Interacción Concentración por Tiempo en las variables de LMP y LMR	45
	Interacción Concentración por Tiempo en Peso Fresco	46
	Interacción Concentración por Tiempo en Peso Seco	47
	Correlación de las variables evaluadas en el estudio	48
V. (CONCLUSIONES	50
R	Recomendación	51
VI	I ITERATURA CITADA	52

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1 Tratamientos aplicados en diferentes concentraciones y tiempo en				
semilla de centeno (Secale cereale)				
Cuadro 4.1 Cuadrados medios de la variable peso de mil semillas en la				
aplicación de tratamientos de colchicina en semilla de centeno				
Cuadro 4.2 Comparación de medias (DMS) en la variable peso de mil semillas				
en la aplicación de tratamientos de colchicina en semilla de centeno 34				
Cuadro 4.3 Cuadrados medios de pruebas fisiológicas de viabilidad y				
germinación en semilla producida al aplicar diferentes concentraciones y				
tiempos de exposición de colchicina36				
Cuadro 4.4 Comparación de medias (DMS) en pruebas fisiológicas de				
viabilidad y germinación37				
Cuadro 4.5 Comparación de medias (DMS) en pruebas fisiológicas de viabilidad				
y germinación38				
Cuadro 4.6 Cuadrados medios de Pruebas de vigor en semilla producida con				
aplicaciones de colchicina bajo diferentes tratamientos, concentraciones y				
tiempo de exposición				
Cuadro 4.7 Comparación de medias (DMS) entre las concentraciones de				
colchicina en las pruebas fisiológicas de vigor de semilla de centeno 42				
Cuadro 4.8 Comparación de medias (DMS) entre tiempos de exposición a la				
colchicina en pruebas fisiológicas de vigor en semillas de centeno44				
Cuadro 4.9 Análisis del Coeficiente de correlación entre las variables evaluadas				
en la aplicación de colchicina en semillas de centeno49				

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2. 1 Producción nacional de centeno (Secale cereale)
Figura 2. 2 Los diez principales países productores de centeno (S. cereale),
FAO, 2014. FAOSTAT11
Figura 2. 3 Estructura Química de la Colchicina
Figura 3. 1 Vista aérea de la ubicación del invernadero número 3 y del
laboratorio del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas
(CCDTS) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro18
Figura 3. 2 Croquis del arreglo de tratamientos en la cama de invernadero 20
Figura 3. 3 Trazado de líneas horizontales en papel Anchor
Figura 4. 1 Respuesta de los pesos volumétricos (PV) de los diferentes
tratamientos de Colchicina en semilla de centeno (Secale cereale)30
Figura 4. 2 Comparación de las respuestas de los pesos volumétricos (PV) de
los diferentes tiempos de exposición de Colchicina en semilla de centeno
(Secale cereale)32
Figura 4. 3 Comparación de la respuesta de los pesos volumétricos (PV) en las
diferentes concentraciones de Colchicina en semilla de centeno (Secale
cereale)32
Figura 4. 4 Respuesta en la Capacidad de germinación en la interacción
concentraciones y tiempos de exposición a Colchicina en semilla de centeno. 40
Figura 4. 5 Longitud Media de Plúmula y Radícula de semilla de centeno en
interacción para diferentes concentraciones y tiempos de exposición a
Colchicina
Figura 4. 6 Peso Fresco de plántula de centeno en interacción para diferentes
concentraciones y tiempos de exposición a Colchicina47
Figura 4. 7 Peso Seco de plántula de centeno en interacción para diferentes
concentraciones y tiempos de exposición a Colchicina

RESUMEN

El centeno es un cereal de gran importancia agronómica, en México no es considerablemente importante. Para los mejoradores es de gran interés ya que tiene características deseables que pueden ser manipuladas para condiciones edáficas, y con ayuda de las técnicas de mejoramiento se ha podido desarrollar cereales de gran interés para el ser humano con respuestas favorables a ambientes extremos.

Se han buscado varias metodologías para lograr un mejoramiento genético en los diferentes cultivos, y un método que ha tenido gran importancia es la poliploidía, que hace grandes cambios fisiológicos en las plantas, esto consiste en el incremento del genoma, y esto depende mucho de la concentración de la colchicina y tiempo de exposición a la misma.

En la actualidad se ha buscado la variabilidad en las especies vegetales, y una de las técnicas ha sido mediante la duplicación cromosómica, el éxito de lograr esto depende de diversos factores. El presente trabajo se llevó acabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, evaluando la aplicación de Colchicina en la Calidad Física y Fisiológica de semillas de centeno producidas bajo invernadero, aplicando a las semillas tres concentraciones de colchicina 0.1, 0.01 y 0.05 %, en tres tiempos de exposición de 2, 4 y 6 horas, así como un Testigo absoluto; la semilla una vez tratada se sembró en invernadero, dando el manejo agronómico adecuado, se cosechó la semilla a los 120 días después de la siembra; se bajó su contenido de humedad de manera natural y luego se llevó a cabo su evaluación de calidad física y fisiológica, teniendo las variables: Peso volumétrico (PV), peso de mil semillas

(PMS), plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG), longitud media de plúmula (LMP), longitud media de radícula (LMR), peso seco (PS) y peso fresco (PF), Por medio de los análisis de varianza se encontraron diferencias altamente significativas, que a través de una prueba de diferencias mínimas significativas (DMS).

La aplicación de colchicina tuvo un efecto positivo en la calidad física y fisiológica en la semilla de centeno producida bajo invernadero, a excepción del efecto negativo detectado por la correlación.

I. INTRODUCCIÓN

El centeno se dice que su centro de origen es confuso se cree que la planta proviene de Anatolia (actualmente Turquía) y que fue introducida a Europa por los romanos, es una planta resistente a condiciones adversas.

De acuerdo a la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2014), en México la producción de centeno es mínima solo se llegaron a producir 14 toneladas de grano, mientras que los países más importantes para la producción de dicho cereal son la Federación de Rusia, Polonia, Alemania, Bielorrusia y Ucrania quienes producen más del 75%.

Este cereal es de gran importancia y tiene mucho interés para los mejoradores, ya que tiene genes resistentes a condiciones edáficas, que lo hace llamativo para ellos. (Geiger y Miedaner, 2009; Masojc y Kosmala, 2012).

El mejoramiento genético nos ha permitido tener un mejor estudio sobre los cereales de interés para el hombre, logrado desarrollar nuevos materiales genéticos con ciertas características físicas y fisiológicas, lo que favorece a la adaptación a condiciones desfavorables para los cereales. Además de que ya existen técnicas de mejoramiento donde se obtienen materiales con características sobresalientes e inducidas hacia estas condiciones, pero no todos los cereales como es el caso de centeno.

Una de las formas de mejorar especies y que pudiera jugar un papel importante en el estudio es la poliploidía, ya que esto provoca cambios

fisiológicos en la planta, de los cuales no siempre pueden ser favorables para la especie.

La poliploidía es el incrementó del tamaño del genoma, esto sucede cuando hay más de tres juegos de cromosomas en las células somáticas, es decir que se encuentre a partir de ser triploide (3n), tetraploide (4n), etc. Se ha observado que en la mayoría de las especies con poliploidía hay cambios favorables en el vigor, estos cambios esperados dependen mucho del tiempo y la concentración de colchicina aplicada, la cual provoca estos cambios y cada vez juega un papel más importante para nuevos estudios.

Es de gran importancia comprender la respuesta de un organismo vivo con su entorno natural, para explotar sus beneficios. (Madlung, 2013; Hegarty y Hiscock, 2008), así como el evaluar su respuesta a los cambios inducidos en el número de cromosomas.

Por ello, el presente trabajo pretendió compilar información sobre el cultivo de centeno que refleje resultados de los beneficios de la utilización de una duplicación cromosómica en la fisiología de semillas producidas a partir de diferentes concentraciones y tiempos de exposición de colchicina en semilla original, por lo que es necesario desarrollar procedimientos eficaces para una tecnología que permita mejorar esta especie bajo diferentes condiciones por lo que se plantearon los siguientes objetivos general y específicos.

Objetivo general

 Efecto de la aplicación de colchicina en la calidad física y fisiológica de semillas de centeno producidas bajo invernadero.

Objetivos específicos

- Evaluar la respuesta de la calidad física de semillas de centeno producidas con la aplicación de diferentes concentraciones y tiempos de exposición de colchicina en la semilla original.
- Evaluar la respuesta de la calidad fisiológica de semillas de centeno producidas con la aplicación de diferentes concentraciones y tiempos de exposición de colchicina de la semilla original.

Hipótesis

- Al menos una de las concentraciones y tiempos de exposición de colchicina estudiados en comparación al testigo, mostrará una respuesta sobresaliente en la calidad física de la semilla de centeno producida bajo invernadero.
- Al menos una de las concentraciones y tiempos de exposición de colchicina estudiados en comparación al testigo, mostrará una respuesta sobresaliente en la calidad fisiológica de la semilla de centeno producida bajo invernadero.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Origen

El centro de origen del centeno no se conoce con exactitud, menciona Deodikar, (1963) (citado por Bushuk, 2001a), que pudo surgir en el suroeste de Asia, esencialmente la misma área de origen que el trigo común, cebada y la avena. Fueron encontrados granos de centeno en los sitios neolíticos de Australia y Polonia se considera de origen salvaje.

El centeno no ha tenido una historia clara de su origen, como se ha mencionado hasta la fecha, como lo pensaban los europeos que lo asociaban automáticamente con el trigo y la cebada, lo cual es una hipótesis que no tiene argumentos de su origen (Hillman, 1978).

También se cree que el centeno surgió de *S. montamum* o de una especie silvestre del el sur de Europa y parte cerca de Asia o de *S. anatolicum*, un centeno salvaje Siria, Armenia, Irán, Turkestán y el Kirghis estepa, se sigue en discusión el origen de este cereal y no se cuenta con la suficiente información de dicho cereal.

La distribución del centeno se cree que fue desde su centro de origen al norte de Europa, desconociendo el tiempo en que sucedió, donde se dice que la ruta posiblemente fue de Asia Menor hacia el norte en Rusia y luego hacia el oeste en Polonia y Alemania Kuckuck, (1937) y Scheibe, (1935) (citado por Bushuk, 2001a).

Hay cinco especies dentro del género *Secale*: *S. silvestre, S. vavilovii, S. montanum, S africanum y S. cereale*, con todas las formas cultivadas que parecen originarse a partir de este último (Jones y Favell, 1982)

La clasificación taxonómica del centeno

Según el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, https://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=SECE) se tiene la clasificación taxonómica del centeno (Secale cereale L.) como sigue:

Reino Plantae – Plantas

Superdivisión Espermatofitas-Fanerógamas

División Magnoliophyta-plantas con flores

Clase Liliopsida – Monocotiledóneas

Subclase Commelinidae

Orden Cyperales

Familia Poaceae / Gramíneas - familia de las gramíneas

Género Secale L. – centeno

Especies Secale cereale L. - el centeno

Descripción del centeno

Según la USDA (https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_sece.pdf) el centeno es una hierba anual erecta, con láminas foliares planas y densas espigas de flores. El grano es relativamente grande, típicamente alrededor de ½ pulgada de largo. Hay 18,000 semillas por libra.

Características botánicas del centeno

La planta del centeno mide entre 60-80 centímetros, pero alguna variedad puede llegar a medir de 1 o hasta más 1.80 metros.

Tallo

Es largo, flexible y hueco, en forma de caña y con nudos estructurales. Se erige de unas raíces fasciculadas, como otros cereales, aunque mucho más desarrollados, pudiendo alcanzar más de 2 metros de altura, lo que lo convierte en un cereal resistente a condiciones climáticas extremas y de sequía.

Hojas

Son estrechadas y lanceoladas o glabras verde azulado.

Inflorescencia

Es una espiga delgada y alargada, que puede medir de 10 a 15 centímetros, compuesta por espiguillas distribuidas a lo largo de un raquis, a la que se une directamente.

Flores

Son hermafroditas y tienen de tres estambres y un ovario velloso en el ápex. El centeno solo cuenta con tres flores, de las cuales solo dos son fértiles.

Fruto

Es una semilla desnuda denominada cariópside que, al retirar las glumas en el proceso de trilla, resulta un grano amarrillo grisáceo, alargado y puntiagudo; de unos 6-8 mm de longitud por 2-3 mm de ancho (Hoseney, 1991)

Condiciones ambientales del centeno

Clima

El centeno se puede producir en un amplio rango de condiciones ambientales a comparación de otro grano, y resiste el invierno generalmente disminuirá su crecimiento durante las bajas temperaturas afínales de otoño, pero reanuda su crecimiento en primavera (Oelke *et al.*, 1990).

Suelo

El centeno de invierno es más productivo que otros cereales en suelos infértiles, arenosos o suelos ácidos, pero tiene sus propias condiciones de crecimiento adecuado con un pH de 5.6 a 5.8 o superior y crece mejor en suelos francos o suelos arcillosos, y es tolerantes a las sequias (Oelke *et al.*, 1990).

Manejo de producción

Fertilidad

El centeno de invierno y trigo de invierno tiene reporte de una fertilización similar. La aplicación de los nutrientes del fósforo y potasio se debe aplicar en otoño, mientras que el fósforo puede ser aplicado durante la siembra. El nitrógeno debe ser aplicado de una manera adecuada y durante la siembra (Oelke *et al.*, 1990).

Densidad se siembra

La recomendación de secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA, sf) es 28-40 kg/ha, esto variación es dependiendo de la zona del país.

Plagas y enfermedades del centeno

El centeno es muy susceptible al ataque por la roya de tallo (*Puccinia graminis*) y la roya de la hoja (*Puccinia recondita*). Mientras que la roya amarilla (*Puccinia striiformis*) es moderadamente patogénica para el centeno.

El cornezuelo (*Claviceps purpurea*) es producido por un ascomiceto que ataca al centeno, pero no es específico de él, pues puede encontrarse en otras gramíneas. En las espigas se desarrollan una especie de cuernecillos de 1 a 6 cm de largo y 2 ó 3 mm de grueso, que son el esclerocio del hongo que sirve para perpetuarlo. Este cornezuelo sustituye uno o varios granos de centeno.

Importancia del cultivo

El centeno es un cultivo agronómico de mucho interés para el mejorador ya que este cultivo tiene genes de interés para las condiciones edáficas, tiene tolerancia a sequía que es de gran importancia, se puede desarrollar en suelos poco fértiles es mencionado (Geiger y Miedaner, 2009). Se debe tener un adecuado manejo del centeno, porque tiene el potencial de convertirse en una maleza si se deja de producir semilla madura (Clark, 2007).

Centeno de invierno (*Secale cereale L.*) es un cereal cuyo grano se utiliza principalmente para consumo humano (Bushuk, 2001b). Aproximadamente menos del 50% del centeno cultivado en EE.UU. se cosecha para grano y resto se utiliza para pastoreo o cultivo de cobertura. También se ha utilizado en baja cantidad para la fabricación de pan.

Por lo tanto, el centeno se cultiva principalmente en suelos marginales de baja fertilidad, en la que otros cereales casi no se pueden cultivar (Miedaner *et al.*, 2012).

Producción nacional y mundial

La información con la que se cuenta sobre la producción de centeno en México, es mínima, por lo tanto, cada vez se hace más interesante la investigación de dicho cultivo.

La producción de centeno en México, no es muy favorable, la cantidad en toneladas que se produce es mínima no se ha visto un incremento en su producción anual. Según la FAO, en el 2014 solo se produjeron 14 toneladas de centeno en México.

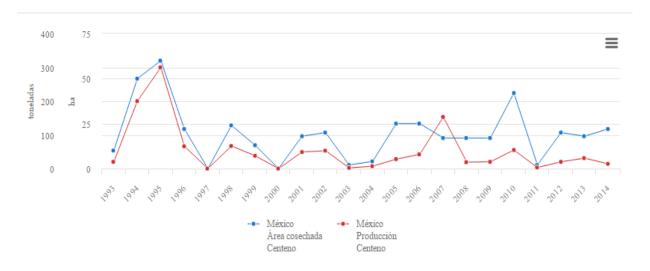


Figura 2. 1 Producción nacional de centeno (Secale cereale)

Los países con mayor producción de centeno son la Federación de Rusia, Polonia, Alemania, Bielorrusia y Ucrania. Estos países producen más del 75% en todo el mundo, como se muestra en la Figura 2.2 (FAO, 2014). Estos lo encabeza Alemania con la mayor producción. El centeno ha tomado gran importancia en su producción a nivel mundial donde se producen 5.6 millones de hectáreas (Schlegel, 2013).

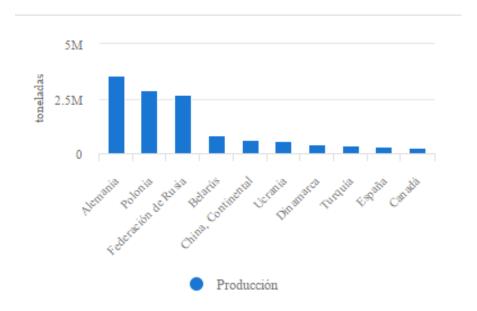


Figura 2. 2 Los diez principales países productores de centeno (*S. cereale*), FAO, 2014. FAOSTAT

Mejoramiento Genético en Centeno

El centeno que se cultiva tiene siete pares de cromosomas (2n = 2x = 14) y su fórmula genómica RR. A partir de él se han logrado producir centenos tetraploides de 28 cromosomas (2n = 4x = 28) siendo superiores a los diploides, en rendimiento, tamaño del grano y firmeza del tallo (Muntzing, 1951).

En Chile se siembra un centeno invernal tetraploide llamado "Centeno Tetra" de 28 cromosomas, y un "Centeno Diploide" llamado "Centeno Común" de 14 cromosomas, de espiga pequeña y un tallo delgado muy propenso al acame (Mellado *et al.*, 2008), ambos tienen una altura superior a 150 cm, y las diferencias más notables son mayor firmeza de tallo y espiga más grande del centeno Tetra.

Los caracteres heredables que el tallo velloso (pubescencia) es dominante sobre la condición glabra (lampiña); el carácter ceroso es dominante, y el hábito primaveral es dominante sobre el invernal, y el color del grano verdoso domina sobre el amarillo. La característica de planta quebradiza es monogénica recesiva, es decir ambos genes alélicos deben estar presentes para que se exprese la característica (Mellado *et al.*, 2008).

Wenzel *et al.* (1997) describe el aumento de la producción de plantas androgenéticas en centeno a través del cultivo de anteras, tratando a las plantas obtenidas con colchicina a diferentes concentraciones dando diploides, triploides y tetraploides. La aplicación de colchicina en diferentes especies de gramíneas ha tenido resultados eficientes logrando la duplicación cromosómica y asido eficiente (Immonen *et al.*, 2004).

Mejoramiento efectuado en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Ministerio de Agricultura (INIA) Quilamapu, Chile, el método elegido para mejorar algunas características agronómicas, como altura de planta y precocidad del centeno, fue el de mutaciones (Mellado *et al.*, 2008). Durante la temporada 1994-1995 se inició un programa de radiaciones con cobalto usando el material conocido como "Centeno Tetra".

La poliploidía en el mejoramiento vegetal

La poliploidia es importante para los programas de mejoramiento de cultivos, ya que puede ayudar a que se exprese el potencial genético, (The Enciclopedia of Seeds Science, Technology and Uses, 2006).

Para hacer la inducción de poliploide se puede realizar de diferentes métodos: golpes de frio o calor, radiación o agentes químicos como el óxido nitroso, el etilmercurio y la sulfanilamida, pero la colchicina es uno de los agentes más eficaces (Elliot, 1964).

La poliploidía consiste en el incremento del tamaño del genoma, de alguna especie esto sucede cuando hay más de tres juegos de cromosomas en las células somáticas, es decir que se encuentre a partir de ser triploide (3n), tetraploide (4n) etc. Es de gran importancia comprender la respuesta de un organismo vivo con su entorno natural, para explotar sus beneficios y poder manipular esta gran herramienta al interés del mejorador citado por (Madlung, 2013; Hegarty y Hiscock, 2008).

En las células somáticas encontramos dos juegos de cromosomas homólogos, de los cuales proviene de sus progenitores masculino y femenino, conocido como diploide, en algunas especies podemos encontrar más de dos juegos de cromosomas que se le conoce como poliploides, que se desarrolla como un proceso (De Wet, 1980).

La inducción de la poliploidia en las plantas es una gran alternativa, ya que se observa que las plantas polipliodes tiene un mejor desarrollo de biomasa, se observa un mayor crecimiento vegetativo a comparación de las plantas diploides, por esta razón a los mejoradores les ha interesado conocer la respuesta de diferentes cultivos comerciales para aprovechar sus beneficios encontrados en cada uno de ellos citado por (Molero y Matos, 2008).

Vrijenhoek (2007) menciona, que, aunque la aparición de poliploides consiste en una forma instantánea de especiación, su papel creativo en la macroevolución de las plantas no es significativamente importante. De igual forma, Mayrose *et al.* (2011), sugieren que la poliploidía tiene un efecto negativo en las tasa de diversificación de las plantas.

La poliploidia es más frecuente en grupos de híbridos, esto se debe a que el híbrido diploide tiene altas tasas de formación de gametos no reducidos, por lo cual es más fácil encontrar individuos con estas características y son aprovechadas de la mejor manera posible para su manipulación (Otto, 2007).

Durante el siglo XX, la colchicina tuvo un auge para la investigación para la duplicación cromosómica en diferentes especies cultivadas, frutales, hortalizas, ornamentales e industriales lo menciona (Hancock, 1997).

Colchicina

La colchicina es una sustancia que impide que se llegue a producir la mitosis normal conocida como (c-mitosis) al momento de anular la formación del acromático, que es básico en la separación de las cromátidas hermanas en anafase, así mismo el tabique celular, que se debería producir dos hijas de la célula inicial del proceso (Cubero, 1999). Escandón *et al.* (2005), señalan que ha sido utilizada durante los últimos treinta años, en muchas especies vegetales, para la realización de mejoramiento genético lo menciona.

La colchicina es utilizada para duplicar el número de cromosomas en las especies vegetal, esto se produce gracias a que impide el desarrollo del huso acromáticos y las paredes celulares sin que se vea afectada la división cromosomas y como resultado obtenemos de diploides a tetraploides, es mencionado por (Poehlman, 1965).

Como agente e inductor de la duplicación cromosómica la colchicina, no depende solo de su efecto antimitostático sobre el tejido meristemático, si no también hay situaciones a considerar como la concentración empleada y el tiempo de penetración en el tejido, al cual se está haciendo las pruebas, y varia de una especie a otra (Imery-Buiza *et al.*, 2001).

La colchicina es un alcaloide (Figura 2.3), extraído de plantas *Colchicum autumnale* (Eigsti y Dustin, 1955) y tiene la ventaja de no reducir su efecto en la poliploidía con el paso de tratamiento en autoclave necesaria para protocolos de replicación in vitro (Zhang *et al.*, 2007).

Figura 2. 3 Estructura Química de la Colchicina

Dosis y efectos de la colchicina

Se aplicó colchicina en brotes de hibridos de Syringa vulgaris x Syringa, realizando tres tratamientos, el primero con tres concentraciones (0.025;1.25;2.5 mM) durante tres días donde no se obtuvo resultados no deseados, se realizó una segunda vez el experimento agitaron los brotes en 0.25 mM de colchicina por uno o dos días, los resultados fueron sólo un tetraploide y por último se utilizaron cuatro concentraciones de 0.05 a 0.20 mM por uno o dos días, dando como resultado 11 tetraploides, de los cuales cinco provienen de la concentración de 0,05 mM por dos días (Rose *et al.*, 2000).

Alocasia macrorrhiza (2n=28) sumergiendo los brotes apicales en distintas concentraciones de colchicina (0,01; 0,05; 0,1 %) y tiempos 24, 48 y 72 horas obtuvieron tetraploide, cuatro de ellas provenientes de la inmersión en 0,01% de colchicina durante 24 horas (Thao *et al.*, 2003).

Calidad de semilla

Las características deseadas en una semilla es la suma de atributos de calidad clasificados o dados en sus componentes de características físicas, fisiológicas, sanitarias y genéticas, de tal manera que los agricultores tienen mayores posibilidades de producir un cultivo saludable y con buenos rendimientos; por lo general de una semilla de buena calidad, es de esperar tener un cultivo con una buena población, además de considerar otros factores que pueden ser perjudiciales como la lluvia, las prácticas agronómicas, la fertilidad del suelo y el control de plagas y enfermedades según la FAO, 2011 (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).

Calidad física

De acuerdo a la FAO (2011), las cualidades físicas de la semilla se caracterizan por tener lo siguiente: un mínimo de semilla dañada, una mínima cantidad de semilla de malezas y material inerte, un mínimo de semillas enfermas y tamaño de semilla casi uniforme.

Calidad fisiológica

De acuerdo a esta misma organización (FAO, 2011), las características fisiológicas son alta germinación y vigor: El porcentaje de germinación es un indicador de la habilidad de la semilla para emerger del suelo para producir una planta en el campo bajo condiciones normales. El vigor de la semilla es su capacidad de emerger del suelo y sobrevivir bajo condiciones de campo potencialmente estresantes y crecer rápidamente bajo condiciones favorables.

Calidad genética

En las características tomadas en cuenta son las siguientes: semillas de la misma variedad, adaptadas a las condiciones locales, características adecuadas para el uso, tolerancia a plagas y enfermedades y alta capacidad de rendimiento.

Calidad sanitaria

La sanidad de las semillas se refiere a la presencia o ausencia de organismos que causan enfermedades, tales como hongos, bacterias y virus, así como plagas animales, incluyendo nematodos e insectos.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Producción de semillas, perteneciente al Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas y en el invernadero No. 3 de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en el municipio de Saltillo, Coahuila; a una altitud de 1742 msnm cuyas coordenadas geográficas son 25° 22` latitud norte y 101° 1` longitud oeste.



Figura 3. 1 Vista aérea de la ubicación del invernadero número 3 y del laboratorio del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Material genético

Se utilizó semilla de la Variedad **Wintermore**: es un cereal de gran importancia para los estados del norte principalmente en Chihuahua, donde se utiliza para el pastoreo, respondiendo a condiciones extremas de frio, aunque su ciclo se ve afectado por las altas temperaturas.

Tratamientos

En el experimento se trabajó con 12 tratamientos, comprendiendo tres diferentes concentraciones de colchicina a 0.05, 0.01 y 0.1% y un testigo absoluto; y tres tiempos de imbibición en la colchicina 2, 4, 6 horas, identificados como se describe el Cuadro 3.1 siguiente:

Cuadro 3.1 Tratamientos aplicados en diferentes concentraciones y tiempo en semilla de centeno (Secale cereale)

Tratamiento	Concentración	Tiempo
	(%)	(horas)
T1	Testigo	2
T2	_	4
Т3		6
T4	0.01	2
T5		4
T6		6
T7	0.05	2
Т8		4
Т9		6
T10	0.1	2
T11		4
T12		6

Metodología

Para la realización de este estudió se llevó a cabo en tres etapas, la aplicación de colchicina en la semilla original de centeno; segunda etapa, la

siembra en invernadero; y como última etapa, la cosecha y evaluación de semilla producida en el laboratorio.

Etapa de laboratorio aplicación de tratamientos

Se colocaron 15 semillas de centeno en tubos de ensayo de 13 x 100 mL, se agregaron en 35 μ L de colchicina de cada concentración por cada tiempo por tubo de ensayo.

Etapa de siembra en invernadero

Transcurrido el tiempo de imbibición, se procedió a la siembra en el invernadero, donde se distribuyeron las unidades experimentales en bloques al azar, mostrando su acomodo como lo señala la Figura 3.2 siguiente:

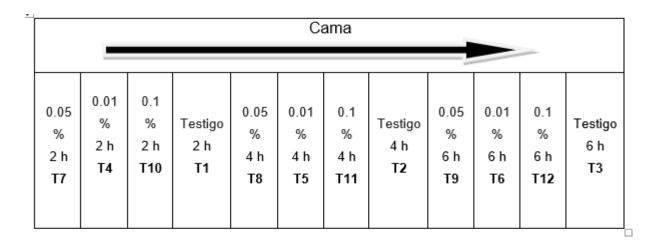


Figura 3. 2 Croquis del arreglo de tratamientos en la cama de invernadero

Labores en el cultivo

Así mismo se llevaron a cabo labores culturales para una óptima reproducción de los materiales vegetales.

Riegos

Los riegos se hicieron en base a las condiciones del suelo, en ocasiones hasta de dos a tres veces por semana, dependiendo del factor ambiental. Siempre cuidando la humedad del suelo.

Fertilización.

La demanda de nutrientes del cultivo partir de los días 20 y 30 posteriores a la emergencia, sus necesidades de fertilización son (100-60-0) nitrógeno, fósforo y potasio en orden de importancia, para satisfacer estas necesidades se aplicó fosfato monoamónico (11-52-00) y sulfato de amonio (21-0-0-24s) en dos aplicaciones, la primera en etapa vegetativa y la segunda en etapa de floración.

Aplicaciones agroquímicas

Se realizaron cuidados para la plaga araña roja (*Tetranychus urticae*), que empezaba a generar madurez en hojas, los síntomas no se agravaron y con dos aplicaciones de Dimetoato con nombre comercial de Danapyr 40 C.E en dosis recomendada de 0.75 L por hectárea se logró controlar.

Cuidados.

Se llevaron a cabo tutoreos para las plantas, debido que algunos tratamientos presentaron tallos débiles, que a su vez ocasionaban acame.

Etapa cosecha y evaluación de semilla producida en el laboratorio

A los 140 días después de la siembra se llevó a cabo la cosecha de los tratamientos retirado las espigas por planta, registrando los datos número de espigas recolectadas por planta por tratamiento, después se procedió a secar las espigas mediante el método tradicional o natural expuestas en el asoleadero del Programa de Cereales de la Universidad, dejando trascurrir 15 días, se trilló y se obtuvo la semilla para las siguientes evaluaciones en el laboratorio.

Una vez obtenida la semilla de cada tratamiento y en el laboratorio, se realizaron las evaluaciones de calidad física: Peso Volumétrico (PV) y Peso de Mil Semillas (PMS); las evaluaciones de calidad fisiológica: mediante la prueba de capacidad de germinación determinando Plántulas Normales (PN), Plántulas Anormales (PA), Semilla Sin Germinar (SSG); así como las pruebas de vigor mediante Longitud Media de Plúmula (LMP), Longitud Media de Radícula (LMR), Peso Fresco (PF) y tasa de crecimiento de plántula, Peso Seco PS.

Variables Evaluadas

Calidad Física

Peso volumétrico

Se determinó mediante un volumen conocido, considerando un recipiente donde se identificó su volumen con agua dentro de una probeta graduada dado en mL; una vez calculado el volumen, se procedió a la determinación del peso de cada tratamiento; donde se dejó caer la semilla a una altura de 5 cm al recipiente, sobrepasando el borde lo cual permitió que el llenado fuera uniforme. El exceso se eliminó mediante el paso de una regla de plástico, así la semilla quedó al ras del recipiente. Una vez realizada la operación del llenado, la

semilla se pesó en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión, y se calculó el peso volumétrico mediante la siguiente expresión y se reportó en Kg/HL.

PV = <u>peso de las semillas (g)</u> x 100 Volumen ocupado por los g (ml)

Peso de mil semillas

La prueba consiste en determinar el peso de mil semillas de una muestra. La prueba se llevó a cabo de la siguiente manera: se realizaron ocho repeticiones de 100 semillas pura de cada una; el conteo se hizo manual y su valor fue tomado en gramos.

Calidad Fisiológica

Capacidad de germinación

La prueba de capacidad de germinación se determinó mediante las reglas internacionales de la International Seed Testing Association (ISTA, 2009); haciendo una modificación en el número y tipo de siembra en el método entre papel, con cuatro repeticiones de 10 semillas de cada tratamiento; se utilizó papel Anchor de 19 x 12 cm, trazando una línea horizontal a la mitad de hoja de papel (Figura 3.2), sembrando 10 semillas encima de una cinta adherente colocada en la línea, con el embrión orientado hacia abajo; llevando la hoja con semilla a una charola con agua, extendiéndola en la mesa y cubriendo con otra hoja de papel húmeda como se muestra en la Figura 3.3; se enrolló de derecha a izquierda a formar un "taco" y se colocaron las cuatro repeticiones de cada tratamiento en una bolsa de polietileno para ser llevadas a una cámara de germinación Marca Biotronette Mark III LAB-LINE a una temperatura de 24 ±1°C con 8 horas luz y 16 oscuridad, haciendo un conteo a los 7 días después de la siembra identificando el número de Plántulas Normales

(PN), Plántulas Anormales (PA), Semillas Sin Germinar (SSG), según el manual de evaluación de la Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1992).



Figura 3. 3 Trazado de líneas horizontales en papel Anchor

Plántulas Normales (PN). Se consideraron aquellas que tuvieron todas las estructuras esenciales, totalmente desarrollada la plúmula y radícula con un tamaño promedio de tres a cuatro veces el tamaño de la semilla, generadas en condiciones favorables de agua, luz y temperatura y registrando el valor en porcentaje (%).

Plántulas anormales (PA). Fueron aquellas plántulas clasificadas con un defecto o por tener alguna deficiencia en el desarrollo de sus estructuras esenciales, teniendo poco desarrollado o una mala formación en la radícula o la plúmula, lo que les impidió su desarrollo normal, cuando se les dieron condiciones favorables de agua, luz y temperatura, donde los datos se registraron en porcentaje (%).

Semillas sin germinar (SSG). Fueron aquellas que no tuvieron caracteres de germinación o se encontraron muertas por enfermedad o deterioro; registrando los datos en porcentaje (%).

Para las pruebas de vigor; se determinaron mediante ISTA (2009), a través de Longitud Media de Plúmula (LMP) y Longitud Media de Radícula (LMR), Peso Fresco (PF) y Tasa de Crecimiento de Plántula.

Longitud Media de Plúmula (LMP) y Radícula (LMR)

Este método es aplicado a las plántulas que presentan una plúmula recta, como los cereales.

Se utilizó papel Anchor 19 x 12 cm; a la mitad de la hoja de papel, se marcó una línea horizontal, igualmente se marcaron cinco líneas paralelas a la línea central con una distancia de 2 cm de línea a línea, las cuales se dibujaron en la parte superior de la hoja, se sembraron 10 semillas sobre una cinta adhesiva colocada en la línea central, los embriones de la semilla quedaron centrados y con la plúmula apuntado hacia arriba. Se prepararon cuatro repeticiones con 10 semillas por cada tratamiento, llevando la hoja con semilla a un charola con agua, extendiéndola en la mesa y cubriendo con otra hoja de papel húmedo; se enrolló de derecha a izquierda a formar un "taco" de aproximadamente 4 cm y quedando no muy apretado para que existiera una buena ventilación de las semillas y se colocaron las cuatro repeticiones de cada tratamiento en una bolsa de polietileno para ser llevadas a una cámara de germinación Marca Biotronette Mark III LAB-LINE a una temperatura de 24 ±1°C con 8 horas luz y 16 oscuridad, haciendo un conteo a los 7 días después de la siembra identificando el número de Plántulas Normales (PN).

Al finalizar la prueba se contaron las plúmulas de plántulas normales que se encontraron entre las líneas. Las plántulas anormales se eliminaron. A cada punto entre las líneas se tomaron su medición; el número de plúmulas que quedaron entre dos líneas paralelas se multiplicó por el valor de dichas paralelas y se sumaron. La longitud total se dividió entre el número de semillas que se utilizaron para cálculo, con la siguiente ecuación:

L =
$$(nx_1 + nx_3 + ... + nx_{11})$$

No. De semillas

En donde: L = longitud media de las plúmulas

n = número de plúmulas entre cada par de paralelas

x = la distancia media desde la línea central

Para la variable longitud media de radícula, se consideraron las plántulas normales, midiendo la longitud con ayuda de una regla métrica, registrando los datos en centímetros.

Peso Fresco

Para obtener el Peso Fresco (PF) se tomaron todas las plántulas normales de las prueba de longitud media de plúmula, quitando los restos de semilla y colocando las plántulas (plúmula y radículas) y se pesó en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión, registrando los datos en miligramos.

Tasa de Crecimiento de Plántula

Para la obtención de la tasa de crecimiento de plántula, Peso Seco (PS) se tomaron las plántulas normales de las prueba de longitud media de plúmula, quitando los restos de semilla y colocando las plántulas (plúmula y radículas) en

una bolsa de papel destraza y se llevaron a secado mediante una estufa Marca SHEL LAB "SL" a una temperatura de $65 \pm 1^{\circ}$ C durante 24 horas.

Una vez terminado el tiempo, se procedió a pesar las bolsas más muestra, se retiraron las muestras y se pesó la bolsa, todo ello en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión, registrando los datos en miligramos, posteriormente se calculó la tasa de crecimiento mediante la siguiente ecuación:

Diseño experimental

El trabajo fue establecido de acuerdo a un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos, tres tiempos y cuatro repeticiones. Se realizó el análisis estadístico con el paquete SAS (Statistical Analysis System).

Siendo el siguiente modelo aditivo lineal:

$$Yij = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ii}$$

i = 1,, t;

t = número de tratamientos

j= 1,...., n;

n= número de repeticiones por tratamiento.

 μ = es el efecto medio.

τi= es el efecto de i-ésimo tratamiento.

εij= error experimental.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza, completamente al azar para las variables de calidad física y peso de mil semillas, en tanto que las variables de calidad fisiológica se analizaron como un bifactorial con arreglo completamente al azar, donde los factores estudiados fueron la concentración de colchicina y el tiempo de imbibición de la semilla de acuerdo al siguiente modelo estadístico.

yij =
$$\mu$$
 + τ i + β j + $(\tau\beta)$ ij + u ij

$$i = 1, 2, \dots, a;$$
 $j = 1, 2, \dots, b,$

yij : Representa la observación correspondiente al nivel (i) del factor A y al nivel (j) del factor B.

μ: Efecto constante denominado media global.

ті: Efecto producido por el nivel i-ésimo del tiempo de exposición (factor A).

βj : Efecto producido por el nivel j-ésimo de la concentración de colchicina (factor B)

(τβ) ij : Efecto producido por la interacción entre A×B .

uij : representa el término de error experimental

La comparación de medias se realizó mediante la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia de P≤ 0.05 %. Calculándose mediante la fórmula según Steel y Torrie (1980).

DMS = ta (
$$\sqrt{2}$$
CMEE /r)

Dónde:

CMEE: Cuadrado medio del error.

r: número de observaciones usadas para calcular un valor medio.

a: nivel de significancia.

t = valor tabular que se usa en la prueba, con los grados de libertad del error y el nivel de significancia apropiada.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calidad Física

Peso volumétrico (PV)

Una vez cosechada y acondicionada la semilla producida, se observó que los tratamientos con mayor peso fueron T1 (Testigo, 2 horas), T5 (0.01 % de colchicina a 4 horas de exposición) y T8 (0.05% de colchicina a 4 horas) con 67 Kg.HL⁻¹, como se muestra en la Figura 4.1; mientras que los tratamientos T3 (Testigo, 6 horas), T4 (0.01% de colchicina a 2 horas) T9 (0.05% de colchicina a 6 horas), T10 (0.1% de colchicina a 2 horas), T11 (0.1% de colchicina a 4 horas) y T12(0.1% de colchicina a 6 horas) se encontraron en un rango de 62 a 66 Kg.HL⁻¹, seguido los tratamientos T2 (Testigo 4 horas) y T6 (0.01% de colchicina a 6 horas) con un valor de 56 Kg.HL⁻¹; y por último T7 (0.05% de colchicina a 2 horas) quien presentó el valor más bajo con 54 Kg.HL⁻¹.

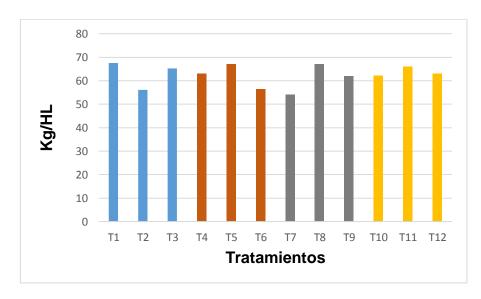


Figura 4. 1 Respuesta de los pesos volumétricos (PV) de los diferentes tratamientos de Colchicina en semilla de centeno (Secale cereale)

En la respuesta general del peso volumétrico en los diferentes tiempos de exposición, se logró observar que a 4 horas, permitió generar en promedio de 64.13 Kg.HL⁻¹ en las semillas producidas, siendo un peso superior al resto de los tiempos como se muestra en la Figura 4.2.

En cuanto a la respuesta entre las concentraciones de colchicina, se encontró que el mayor promedio lo tuvo la concentración de 0.1%, con un peso de 63.81 Kg.HL⁻¹, superando al resto de las concentraciones como se observa en la Figura 4.3.

Todos los valores promedios, al confrontarlos a los pesos volumétricos reportados en la literatura, se encontraron menores valores en los tratamientos de centeno estudiados que en el caso en la producción de las líneas Quicen 2 y Quicen 12, y centeno Tetra que son producidos en Chile, y su valor promedio se ubicó en los 71 kg/hL (Mellado et al., 2008), y donde en trigo se reportan pesos similares entre 82 a 83.1 Kg.HL⁻¹ (Moreno, 1993; Rogelio et al., 2015); así mismo, los resultados tienen un valor casi similar al triticale, al reportarse pesos volumétricos de 70 Kg.HL⁻¹ es el cultivo (Urbano, 1999). Una explicación por la que los pesos volumétricos fueron bajos en el estudio, es que posiblemente la aplicación de colchicina tuvo un efecto por sus reacciones bioquímicas en la generación de esta, ya que en materiales genéticos poliploides, se produce semilla con mayor tamaño y cantidad de masa, que sí se evaluara el peso volumétrico, sería menor cantidad de semilla en el volumen determinado y existirían mayores espacios entre ellas, por consecuencia se tendrían menores pesos volumétricos. (Bretagnolle et al., 1995; Beaulieu et al., 2007; Zhang et al., 2010, citados por Trinidad et al., 2015).

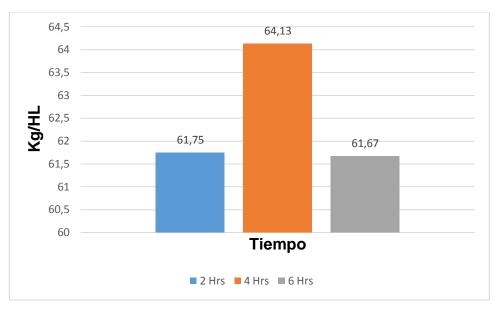


Figura 4. 2 Comparación de las respuestas de los pesos volumétricos (PV) de los diferentes tiempos de exposición de Colchicina en semilla de centeno (Secale cereale)

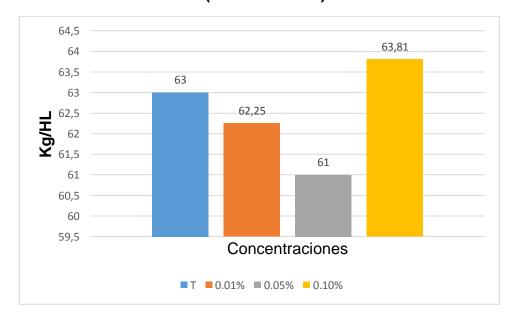


Figura 4. 3 Comparación de la respuesta de los pesos volumétricos (PV) en las diferentes concentraciones de Colchicina en semilla de centeno (Secale cereale)

Peso de mil semillas (PMS)

En el resultado del Análisis de Varianza de esta variable, se obtuvo un Coeficiente de Variación de 8.27 %, mostrando diferencia altamente significativa de P≤0.05 % entre los tratamientos como se muestra en el Cuadro 4.1, indicando que al menos uno de los tratamientos es diferente al resto.

Cuadro 4.1 Cuadrados medios de la variable peso de mil semillas en la aplicación de tratamientos de colchicina en semilla de centeno

Fuente de variación	Grados de Libertad	Peso de mil semillas
Modelo	11	44.31 **
Tratamientos	11	44.31 **
Error Exp.	36	3.3
% CV		8.3

C.V. (%) = Porcentaje de Coeficiente de Variación; ** = Altamente significativo

Una vez dadas estas diferencias, los resultados fueron analizados en una prueba de comparación de medias, generando seis grupos estadísticos, donde el tratamiento T12 (0.1 % de colchicina a 6 horas de exposición), resultó con mayor peso en la semilla producida generando el grupo A con 28.94 g como se muestra en el Cuadro 4.2; seguido de los tratamientos T4, T5, T8, T9, T10 y T11 que se clasificaron en el grupo estadístico B con valores de 22.2 a 23.88 g, así como los tratamientos T1, T5, T8 y T10 quienes formaron el grupo estadístico C con valores de 22.20 a 22.97 g, y un cuarto grupo clasificado con la letra D, integrado por T1, T2, T7, T8 y T10 con pesos entre 19.90 a 22.52 g; seguidos del grupo E formado por T1, T2, T6 y T7 con valores de 18.05 a 22.52; y por último el grupo estadístico F dado por los tratamientos T3 y T6, donde el

Testigo a 6 horas (T3), mostró el valor más bajo del peso de semilla producida con 15.79 g.

Cuadro 4.2 Comparación de medias (DMS) en la variable peso de mil semillas en la aplicación de tratamientos de colchicina en semilla de centeno

Tratamientos	Peso mil semillas (g)
T1	22.52 CDE
T2	20.08 ED
T3	15.79 F
T4	23.28 B
T5	22.97 BC
T6	18.05 EF
T7	19.90 DE
T8	22.31 BCD
Т9	23.86 B
T10	22.20 BCD
T11	23.88 B
T12	28.94 A

Prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia de P≤0.05 %. Medias con diferente literal son grupos estadísticos distintos.

Como se logró observar, los resultados del estudio a los reportados por Mellado *et al.* (2008), en las líneas de centeno Quicen 2 y Quicen 12, y Centeno Tetra se reportaron valores de 55.3, 51.1 y 59.7 g en PMS respectivamente, con valores superiores. Otros autores en cultivos de la misma familia como por ejemplo, cebada (*Hordeum vulgare*) donde se ha encontrado

que su PMS está entre 20-50 g (Tscheuschner, 2001), mientras en el triticale, se ha reportado con pesos de 50 a 54 g (Mellado *et al.*, 2005). Sin embargo, entre los tratamientos se logró observar un efecto positivo en la aplicación de la colchicina en este cultivo, ya que los testigos tuvieron valores inferiores al tratamiento T12; posiblemente debido a reacciones bioquímicas dadas por la colchicina en la generación de semilla, coincidiendo con los casos de materiales genéticos con poliploidia, quienes lograron obtener semilla con mayor tamaño y cantidad de masa, por ende mayor peso de mil semillas (Bretagnolle et al., 1995; Beaulieu *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2010 citados por Trinidad *et al.*, 2015).

Aunque no fue una variable considerada en el estudio, se apreciaron las características anatómicas de las semillas producidas, logrando observar que los tratamientos T11 y T12 presentaron un mayor volumen en las dimensiones de la semilla a diferencia de los testigos, pudiendo considerarse un efecto positivo en tamaño de semilla del centeno como lo mencionan Bretagnolle *et al.*, (1995); Beaulieu *et al.*, (2007); Zhang *et al.*, (2010) citados por Trinidad *et al.*, (2015) en materiales poliploides.

Calidad Fisiológica

Capacidad de Germinación

En los resultados del Análisis de Varianza de la prueba de capacidad de germinación, en la variable de PN, se mostró un Coeficiente de Variación de 4.3 %, y una alta diferencia en todas las fuentes de variación con un nivel de significancia de P≤0.05 %, como se muestra en el Cuadro 4.3, indicando que al menos uno de las concentraciones, tiempos y su interacción fue diferente al resto.

En el caso de la variable de PA, el resultado reflejó un Coeficiente de Variación de 298.1% debido posiblemente a que algún factor no produjo PA, reportando solo diferencias significativas entre los tiempos de exposición, mientras entre las concentraciones y la interacción no se encontró significancia (Cuadro 4.3). En tanto que en la variable SSG, se presentó un CV de 141.0%, reportando una alta significancia entre los tiempos de exposición y solo diferencias significativas entre las concentraciones y la interacción. En las tres variables estudiadas la magnitud de sus cuadrados medios indicó que los tiempos de exposición provocaron una mayor variación de los resultados, según se deduce del cuadro 4.3.

Cuadro 4.3 Cuadrados medios de pruebas fisiológicas de viabilidad y germinación en semilla producida al aplicar diferentes concentraciones y tiempos de exposición de colchicina

Fuente de variación	Grados de Liberta	Plántulas Normales	Plántulas Anormales	Semilla Sin Germinar
Tiempo	2	314.58 **	56.25*	108.33**
Concent x Tiempo	6	56.25 **	6.25NS	25.00*
Error Exp.	36	16. 67	31.25	14.58
% CV		4.3	298.1	141.0

C.V. (%) = Porcentaje de Coeficiente de Variación; ** = Altamente significativo; * = Significativo

Comparación de medias (DMS) entre Concentraciones

Una vez realizado el ANOVA y observadas las diferencias se procedió a realizar una prueba de comparación de medias DMS para cada variable, en la correspondiente a la variable de PN, las concentraciones se clasificaron en dos

grupos, el A formado por la concentración a 0.1% con un valor de 99.2% de germinación; y el B dado por el resto de las concentraciones y el testigo con un mismo valor promedio (Cuadro 4.4).

En las variables PA y SSG, las concentraciones se clasificaron en solo un grupo estadístico; sin embargo, numéricamente la concentración 0.1% no obtuvo valores de anormalidades y presentó el valor promedio de SSG, como lo muestra el Cuadro 4.4, confirmando lo asentado anteriormente en referencia a el efecto que sobre el CV tiene la inclusión de un dato con valor cero, o cercanos a cero como en SSG.

Cuadro 4.4 Comparación de medias (DMS) en pruebas fisiológicas de viabilidad y germinación

Concentraciones	Plántulas	Plántulas	Semilla Sin
(%)	Normales	Anormales	Germinar
Testigo	94.2 B	2.5 A	3.3 A
0.01	94.2 B	2.5 A	3.3 A
0.05	94.2 B	2.5 A	3.3 A
0.1	99.2 A	0.0 A	0.8 A

Prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia de P≤0.05 %. Medias con diferente literal son grupos estadísticos distintos

Comparación de medias (DMS) entre los Tiempos de exposición

Después de haber realizado el ANOVA, se realizó la comparación de medias DMS entre tiempos, donde para la variable PN se formaron tres grupos estadísticos, en el grupo A el tiempo a 2 horas, logrando el mayor valor 99.37%,

mientras que los tiempos 4 y 6 horas dieron las siguientes agrupaciones respectivamente B (96.3 %) y C (90.6 %) como se observa en el Cuadro 4.5; en el caso de PA la comparación DMS mostró que todos los tiempos se clasificaron en un solo grupo, pero con diferentes valores como se logra apreciar en el mismo Cuadro.

Con respecto a la variable SSG, la prueba de comparación entre los tiempos clasificó dos grupos estadísticos, marcando como grupo A, donde el tiempo a 6 horas con valor de 5.6 % fue mayor, y en la misma agrupación B a los tiempos de 2 y 4 horas, con diferentes valores como se aprecia en el Cuadro 4.5 en este cuadro se pueden visualizar algunas tendencias interesantes: así, mientras las plantas normales tienden a disminuir con mayores tiempos de exposición, los valores de plantas anormales y semillas sin germinar tienden a incrementarse.

Cuadro 4.5 Comparación de medias (DMS) en pruebas fisiológicas de viabilidad y germinación

Tiempo	Plántulas	Plántulas	Semilla Sin
Horas	Normales	Anormales	Germinar
2	99.37 A	0.0 A	0.62 B
4	96.25 B	1.87 A	1.87 B
6	90.62 C	3.75 A	5.62 A

Prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia de P≤0.05 %. Medias con diferente literal son grupos estadísticos distintos.

Bremer *et al,* (1952) menciona que en los efectos recurrentes del uso de colchicina se puede observar un comportamiento errático, y presenta menor viabilidad de las semillas y fertilidad de las plantas, en este caso se puede ver

algo similar ya que a mayor tiempo de exposición de las semillas de centeno disminuyo su germinación e incrementó de plántulas anormales y semillas sin germinar. Griesbach *et al,* (1990) mencionan que en los tetraploides que han sido inducidos por la colchicina en Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) se observó baja fertilidad de semilla de un 2%, pero se puede revertir para las características deseables mediante el cruzamiento dirigido y la selección.

Sánchez y Mateo, (2012) menciona que a mayor tiempo de exposición de colchicina hay cambios morfológicos en plantas de sábila (*Aloe vera L.*), donde los tratamientos a 48 horas causaron diferencias a comparación de 24 horas.

Respecto a la semilla sin germinar SSG, Ramírez *et al.*, (2013) mencionan que lograr la reproducción de plantas poliploides por la semilla es limitado por su baja viabilidad y tasa de germinación, por lo cual recomienda hacer su reproducción a través de cultivos in vitro; sin embargo en este estudio una vez aplicado el tratamiento de colchicina a la semilla de centeno, la propagación de manera convencional; encontrando que los resultados obtenidos del centeno dieron una respuesta similar a mayores concentraciones y tiempos de exposición en la colchicina disminuyó la germinación de la semilla como se logra apreciar en los Cuadros 4.4 y 4.5 anteriores.

Interacción Concentración por Tiempo

En la variable Plántulas Normales (PN) se observó que en la interacción concentración por tiempo, el testigo y las concentraciones a 0.01 y 0.05 % en los diferentes tiempos, presentaron una tendencia similar en la respuesta de germinación, a mayor tiempo de exposición decayó el porcentaje de dicha variable y por ende aumentó los porcentajes de las Plántulas Anormales (Figura

4.4); de la misma manera, se logró observar que en la variable SSG, las respuestas fueron con la misma tendencia que la variable anterior; Sin embargo, la concentración a 0.1% obtuvo una respuesta de tipo inverso, donde a mayor tiempo de exposición hubo una mejor respuesta en PN y por consecuencia una disminución del porcentaje de PA y SSG como se muestra en la misma Figura.

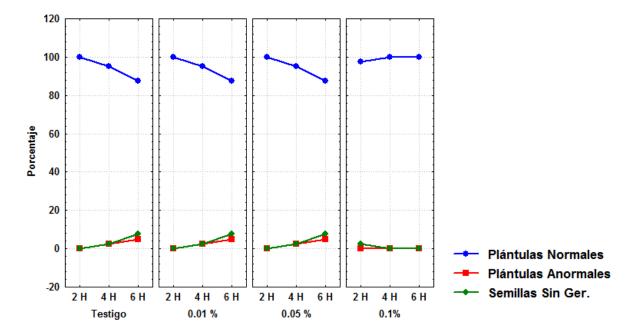


Figura 4. 4 Respuesta en la Capacidad de germinación en la interacción concentraciones y tiempos de exposición a Colchicina en semilla de centeno

Vigor

En los resultados del ANOVA de la prueba de vigor, para la variable LMP se encontró un CV de 12.36% y diferencias con un nivel de significancia de P≤0.05 % en la interacción concentración por tiempo como se observa en el Cuadro 4. 6. En cuanto a la variable LMR, no se encontraron niveles de significancia en

las fuentes de variación, dando un valor en el CV de 7.13% mostrado en el mismo Cuadro.

En la variable PF, se presentó un CV de 10.20%, diferencias altamente significativas entre las concentraciones de colchicina, en tanto que no hubo diferencias entre los tiempos y la interacción, sugiriendo que al menos una de las concentraciones tuvo un efecto diferente en la respuesta de vigor de la semilla producida del resto de las concentraciones.

En el caso del análisis estadístico en la variable PS, se encontró un CV 23.10% y diferencias altamente significativas entre los tiempos de exposición, sugiriendo que al menos algún tiempo provocó diferente respuesta de acumulación de peso en la plántula, como se muestra en el Cuadro 4.3.

Cuadro 4.6 Cuadrados medios de Pruebas de vigor en semilla producida con aplicaciones de colchicina bajo diferentes tratamientos, concentraciones y tiempo de exposición

Fuente de variación	Grados de Libertad	Longitud Media de Plúmula	Longitud Media de Radícula	Peso Fresco	Peso Seco
Concentraciones	3	1.18 NS	2.62 NS	2251.76 **	25.69 NS
Tiempo	2	0.28 NS	1.08 NS	7043.99 NS	14.23 **
Concent x Tiempo	6	3.11*	0.25 NS	1658.22 NS	7.85 NS
Error Exp.	36	1.31	0.99	1090.22	4.99
% CV		12.36	7.13	10.20	23.10

C.V. (%) = Porcentaje de Coeficiente de Variación; ** = Altamente significativo; * = Significativo; NS = No Significativo

Comparación de medias (DMS) en Concentraciones de colchicina

En la prueba de comparación de medias DMS en las variables de vigor entre concentraciones, se encontró que para la variable LMP se clasificaron en un solo grupo estadístico A teniendo respuestas similares, sin embargo en este estudio se reflejó que numéricamente los promedios fueron diferentes, sobresaliendo la concentración 0.1% con 9.67 cm/plántula (Cuadro 4.7).

Además en la variable LMR, las concentraciones comparadas por DMS se clasificaron en dos grupos estadísticos, donde las concentraciones a 0.01, 0.05 y 0.1% formaron el grupo A, con valores entre 13.7 a 14.3 cm/ plántula; además la concentración 0.01% también formo parte del siguiente grupo junto con el testigo se clasifico, siendo menor el testigo con 13.41 cm/ plántula (Cuadro 4.7).

Cuadro 4.7 Comparación de medias (DMS) entre las concentraciones de colchicina en las pruebas fisiológicas de vigor de semilla de centeno

Concentraciones	Longitud	Longitud	Peso	Peso Seco
(%)	Media de	Media de	Fresco	
	Plúmula	Radícula		
Testigo	8.94 A	13.41 B	305.78 B	7.81 B
0.01	9.14 A	13.68 AB	322.91 AB	9.20 AB
0.05	9.35 A	14.34 A	338.98 A	10.81 A
0.1	9.67 A	14.33 A	326.51 AB	10.86 A

Prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia de P≤0.05 %. Medias con diferente literal son grupos estadísticos distintos.

En LMP y LMR se aprecia una tendencia a incrementar su longitud conforme se trató la semilla con mayores concentraciones de colchicina, sugiriendo un efecto positivo de este alcaloide.

Con respecto en la variable PF, la prueba de comparación de medias resultó tener dos grupos estadísticos, siendo las concentraciones a 0.05, 0.01 y 0.1% con mayores valores de 338.98 a 326.51 mg/plántula (grupo A), así mismo el siguiente grupo estuvo formado por las concentraciones de 0.1, 0.01% y testigo con valores de 326.5 a 305.8 mg/plántula, siendo siempre menor el testigo como lo muestra el Cuadro 4.7.

En tanto, la prueba de comparación de medias en la variable PS, generó dos grupos estadísticos entre las concentraciones, donde 0.05 y 0.1% fueron las que mostraron mayor valor formando el grupo A, con valores de 10.8 mg/plántula como se observa en el mismo Cuadro 4.7 anterior, y en el grupo B a la concentración 0.01% y el testigo con valores de 9.2 y 7.8 mg/plántula, siendo este último el que presento menor vigor. Al igual que en las variables de longitud, pareciera existir un aumento de los peso conforme se incrementó la concentración de colchicina como tratamiento a la semilla.

Comparación de medias (DMS) entre Tiempos de exposición

Los resultados de la prueba de comparación de medias mínimas significativas entre los tiempos de exposición a la colchicina, marcaron que en las variables de vigor a través de LMP y LMR, tuvieron respuestas estadísticamente iguales formando solo un grupo estadístico A (Cuadro 4.8).

En el caso de PF se formaron dos grupos, donde el tiempo a 6 horas obtuvo el mayor valor de peso fresco con 346.5 mg/plántula, seguido de los tiempos a 2 y 4 horas, agrupados en B con valores 305.45 y 318.63 mg/plántula respectivamente (Cuadro 4.8). Así mismo, los resultados de la variable PS se clasificaron en dos grupos estadísticos, donde los tiempos a 4 y 6 horas formaron el grupo A, obteniendo valores de 9.58 y 10.6 mg/plántulas respectivamente, siendo este último el de mayor peso acumulado en las plántulas normales generadas en la prueba; y como grupo B los tiempos de 2 y 4 horas, el primero presentó el valor más bajo con 8.7 mg/plántulas como se observa en el siguiente Cuadro.

Cuadro 4.8 Comparación de medias (DMS) entre tiempos de exposición a la colchicina en pruebas fisiológicas de vigor en semillas de centeno

TIEMPO	LMP	LMR	PF	PS
Horas				
2	9.13 A	13.65 A	305.45 B	8.78 B
4	9.30 A	14.15 A	318.63 B	9.58 AB
6	9.39 A	14.02 A	346.54 A	10.66 A

Prueba de diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia de P≤0.05 %. Medias con diferente literal son grupos estadísticos distintos.

Mellado *et al.* (2008) menciona que Centeno Tetra que 8 días de germinación el largo de la parte aérea del centeno fue de 17 cm, en tanto la raíz midió 17,5 cm de largo.

Hancock (1997), menciona que los efectos ocasionados por la colchicina sobre la tasa de desarrollo, originan una disminución en el tiempo de crecimiento en las plantas, esto se produce un aumento en la duración del ciclo

celular; en tanto que Rees (1972), afirma que este aumento no es para todas las especies ya que para otros niveles de ploidia en los tiempos del ciclo no hay cambios.

Matos (2014), en sus tratamientos con colchicina a 0.1% por 48 horas en sábila, encontró un incremento significativo en la altura de la plantas, longitud de las hojas y el volumen foliar de sus hijuelos; de igual manera Fuentes *et al,* (2007) menciona que tuvo la mejor respuesta en sábila fue a 0.1% de colchicina por 48 horas.

Interacción Concentración por Tiempo en las variables de LMP y LMR

Con respecto a la interacción de concentraciones y tiempos de exposición en la variable LMP, el testigo en los diferentes tiempos mostro que a 2 horas obtuvo el mayor valor de 9.5 cm/plántula, pero esto va decayendo al aumento del tiempo como se observa en la Figura 4.5; en la concentración a 0.01% fue el tiempo a 2 horas el que tuvo el valor más bajo de 7.7 cm/plántula, y a mayor tiempo de exposición aumento su valor. De manera diferente a 0.05% a 4 horas tuvo el valor más bajo de 8.6 cm/plántula y los tiempos 2 y 6 horas tuvieron valores superiores. Mientras que la concentración a 0.1% a 4 horas tuvo el valor mayor de 9.97 cm/plántula, seguido por los tiempos de 2 y 6 horas como se observa en el misma Figura.

Así mismo, en la respuesta de la variable de LMR en la interacción concentración y tiempo; el testigo y la concentración 0.01% tuvieron lo mayores valores a 2 horas y mostrado una tendencia similar al resto de los tiempos como se logra apreciar en la Figura 4.5; La concentración a 0.05% se logró apreciar una tendencia similar en los tiempos, en el caso de la concentración a 0.1% a 4

horas obtuvo el mayor valor seguido por los tiempos de 6 y2 horas como se muestra en la Figura 4.5

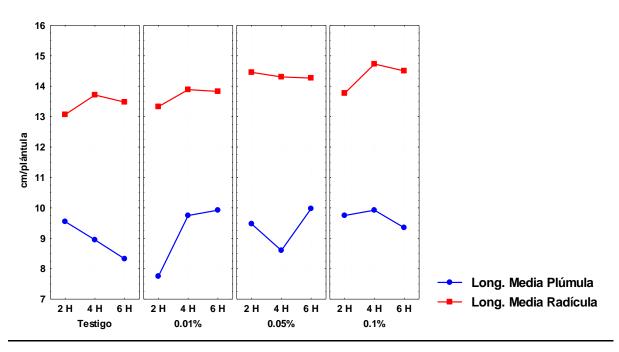


Figura 4. 5 Longitud Media de Plúmula y Radícula de semilla de centeno en interacción para diferentes concentraciones y tiempos de exposición a Colchicina

Interacción Concentración por Tiempo en Peso Fresco

En la interacción de la variable PF se logra observar en la Figura 4.6, de manera general las concentraciones fueron aumentadas su peso a lo largo de los tiempos de exposición, mientras el testigo tuvo una respuesta contraria. El máximo valor de respuesta en la variable fue la concentración a 0.05% a 6 horas con un peso de 380.49 mg/plántula, a diferencia del testigo quien presento valores constantes en los diferentes tiempos; es de resaltar que la

concentración 0.1% obtuvo el más alto valor en el tiempo mínimo de exposición a la colchicina con 318.05 mg/plántula.

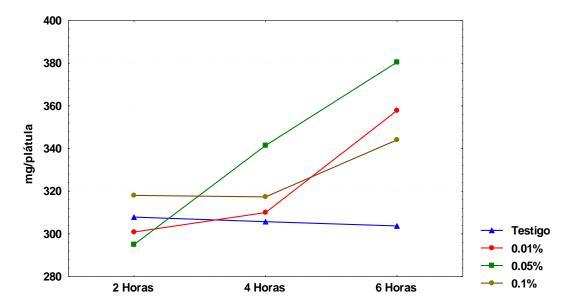


Figura 4. 6 Peso Fresco de plántula de centeno en interacción para diferentes concentraciones y tiempos de exposición a Colchicina

Interacción Concentración por Tiempo en Peso Seco

La respuesta de las interacción en la variable PS, se observó un aumento en el peso en la mayoría de las concentraciones, a través de los tiempos de exposición a diferencia del testigo quien mostró un descenso conforme aumentaban las horas de exposición; es de resaltar que la concentración a 0.1% a un tiempo inicial de 2 horas de exposición, logró obtener el mayor peso de 9.8 mg/plántulas y, al aumentar el tiempo de exposición de 4 horas permaneció siendo el mejor con 10.8 mg/plántula, pero cuando se aplicó a un tiempo de 6 horas llegó a ser la segunda mejor respuesta con 12.3 mg/plántula,

ya que la concentración de 0.05% resultó tener el mayor peso acumulado en la plántulas a este tiempo con 13.5 mg/plántula.

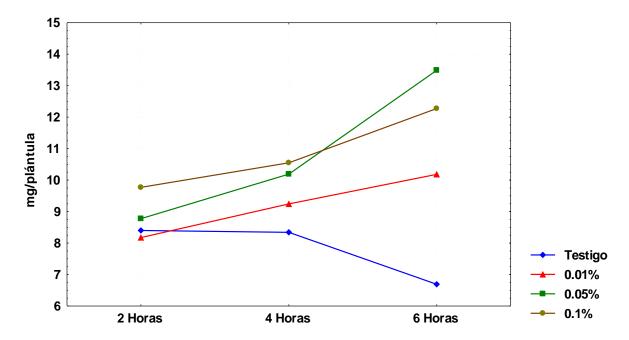


Figura 4. 7 Peso Seco de plántula de centeno en interacción para diferentes concentraciones y tiempos de exposición a Colchicina

Correlación de las variables evaluadas en el estudio

En el análisis de coeficiente de correlación en las variables del estudio (Cuadro 4.9), en la calidad fisiológica a través de la capacidad de germinación y vigor, se reportó una correlación negativa y altamente significativa de PN con PA y SSG. Lo cual es lógico ya que al aumentar el número de PN se reducen las PA y SSG, entre estas últimas se encontró una asociación positiva y altamente significativa.

Otra correlación obvia se presentó entre el PF y PS dado que una es consecuencia de la otra, es interesante notar que las correlaciones indicaron también la asociación negativa entre los tiempos de exposición y las PN (a mayor tiempo de exposición menor PN) y por consecuencia se presentan mayores cantidades de PA (correlación positiva con los tiempos de exposición: más tiempo de exposición más PA) como se observa en mismo Cuadro.

Cuadro 4.9 Análisis del Coeficiente de correlación entre las variables evaluadas en la aplicación de colchicina en semillas de centeno

	Concentración	Tiempo	PN	PA	SSG	LMP	LMR	PF	PS
Concentración	1								
Tiempo	0	1							
PN	0.336581	-0.71693	1						
PA	-0.40452	0.738549	-0.98333	1					
SSG	-0.28249	0.687682	-0.99191	0.952288	1				
LMP	0.390792	0.155535	-0.08369	0.037378	0.114386	1			
LMR	0.775145	0.302723	0.112969	-0.09123	-0.12592	0.411724	1		
PF	0.345409	0.662363	-0.53625	0.513625	0.541473	0.418933	0.373456	1	
PS	0.675785	0.430377	-0.10133	0.081257	0.113356	0.561643	0.646214	0.848343	1

V. CONCLUSIONES

A través del estudio realizado, conforme a los objetivos general y específicos se logró obtener la información relevante, y llegar a las siguientes conclusiones:

- En forma general, la aplicación de colchicina tuvo un efecto positivo en la calidad física y fisiológica en la semilla de centeno producida bajo invernadero, a excepción del efecto negativo detectado por la correlación.
- La aplicación de colchicina en semilla inicial de centeno tiene un efecto positivo en la calidad física, generado a una concentración de 0.1% con un tiempo de 4 horas de exposición un mayor Peso Volumétrico y a 6 horas mayor Peso de Mil Semillas.
- La aplicación de colchicina en semilla inicial de centeno tiene un efecto positivo en la calidad fisiológica, teniendo la mejor respuesta en la capacidad de germinación la concentración a 0.1 % en un tiempo de 2 horas de exposición, produciendo semillas con el mayor porcentaje de Plántulas Normales (PN), por consecuencia menor porcentaje de Plántulas Anormales y Semillas Sin Germinar.
- La aplicación de colchicina en semilla inicial de centeno tiene un efecto positivo en el vigor de la semilla, teniendo la mejor respuesta la concentración a 0.1 % en los tres tiempos de exposición (2,4 y 6 horas) con mayor Longitud Media de Plúmula y, las concentraciones 0.05 y 0.1% en los tres tiempos de exposición mayor Longitud Media de Radícula.

- Así mismo, la aplicación de colchicina en semilla inicial de centeno a una concentración de 0.05% a 6 horas de exposición, se obtienen los mayores Pesos Frescos y Secos de las plántulas; sin embargo, la concentración a 0.1% logra tener respuesta positiva en PF y PS a tiempos más cortos de 2 y 4 horas de exposición.

Recomendación

Para poder comprobar la calidad física y fisiológica en los resultados obtenidos, es necesario hacer pruebas citogenéticas para saber si hubo o no duplicación cromosómica, que nos muestre si alguna de las concentraciones provocó cambios cromosómicos, para así realizar una metodología confiable para la obtención de semilla mejorada con características sobresalientes, obteniendo mayor germinación y vigor en centeno.

VI. LITERATURA CITADA

- AOSA, Association of Official Seed Analysts,1992. Seedling evaluation handbook. Contribution No. 35 The Handbook of oficial Seed. United Status of America.
- **Bremer**, R, D. E. and Bremer, G. 1952. Methods used for producing polyploid agricultural plants. Euphytica 1: 87-94.
- Bushuk W. 2001a. Adaptado de un capítulo del autor en Rye: Production, Chemistry and Technology, 2ª ed., Publicado por AACC, St. Paul, MN. Publicación no. W-2000-1215-01F. © 2001 Asociación Americana de Cereales Químicos, University of Manitoba Winnipeg, Canada.
- **Bushuk** W. 2001b. Rye production and uses worldwide. Cereal Chemistry, Vol, 46(2), 70–73. CHMIELEWSKI F.M., KOHN W. 2000. Impact of weather on yield components of winter rye over 30 years. Agric. For. Meteorol., 102: 253–261.
- Casey, P.A. 2012. Guía de plantas para centeno de cereales (*Secale Cereales*). USDA-Servicio de Conservación de Recursos Naturales, Plant Materials Center, Elsberry, MO. Publicado: Mayo 2012.Editado: 03/May/2012 plsp; 09/May/2012 aym, 23/May/2012 cs, https://plants.usda.gov/plantquide/pdf/pg_sece.pdf
- **Cubero**, J. 1999. Introducción a la mejora genética vegetal. Córdova. Mundi-Prensa. 365p.
- Clark, A. 2007. Managing cover crops profitably. 3rd ed. Sustainable Agriculture Research and Education (SARE) Handbook Series Book 9. Sustainable Agriculture Research and Education (SARE) Program, College Park, MD.

- **De Wet**, J. 1980. Origins of polyploids. In: Polyploidy, Biological Relevance. Levis W. (ed.). New York. Plenam Press. pp 3-16.
- **Deodikar**, G. B. 1963. Secale cereale L. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.
- **Eigstil**, O.; Dustin, P. 1955. Colchicine in agriculture, medicine, biology, chemistry. Ames: Iowa University, 441p. Disponível em: http://www.archive.org/details/colchicineinagri00eigs...
- Escandón, A., I. Miyajima, M. Alderete, J. Hagiwara. Facciuto, D. Mata, and S. Soto. 2005. Wild ornamental germplasm exploration and domestication based on biotechnological approaches. In vitro colchicines treatment to obtain a new cultivar of Scoparia montevidiensis. Electronic Journal of Biotechnology 8(2): 205-212.
- **Elliot**, F. 1964. Citogenética y mejoramiento de plantas. México, Continental. 474p.
- **FAO**, 2014. FAOSTAT. Available at: http://www.faostat.fao.org
- **FAO**, 2011. Roma, Semillas en emergencias. Manual técnico Estudio FAO Producción y Protección Vegetal 202: http://www.fao.org/3/a-i1816s.pdf,
- **Fawcett**, J.A.; Van De Peer, Y. 2010. Angiosperm polyploids and their road to evolutionary success. Trends in Evolutionary Biology 2010 1 (3): 16-21.
- **Fernández** S.R; Carballo C.A; Villaseñor M.H y Hernández L.A, 2015. Calidad de la semilla de trigo de temporal en función del ambiente de

producción Rev. Mex. Cienc. Agríc vol.6 no.6 Texcoco ago./sep. 2015

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci arttext&pid=S2007-09342015000600008

- Fuentes R., J. González, J. Vílchez, C. Colmenares, B. Bracho. (2007). Efecto del ácido indolbutírico y el tipo de sustrato en el enraizamiento ex vitro de zábila (Aloe vera L.). Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Departamento de Estadística. Cátedra de Investigación Agropecuaria. Maracaibo, Venezuela, 36pp.
- Geiger E, H.H. and Miedaner, T.2009. Rye breeding. In: CARENA, M.J. (ed). *Cereals*. Germany, Springer-Science+Business Media; vol. 3, p. 157-181.
- Gordon H. 1978. Estudios de Anatolia, Volumen 28, En los orígenes del Doméstica Rye- Secale cereale: los hallazgos de Aceramic puede Hasan III en Turquía. pp. 157-174 DOI: https://doi.org/10.2307/3642748
- **Griesbach**, R. J.; Bhat, R. N. 1990. Colchicine-induced polyploidy in Eustoma grandiflorum. HortScience 25(10): 1284-1286.
- Hancock, J. F. 1997. The colchicine story. HortScience 32(6): 1011-1012.
- **Hegarty**, M.J. and Hiscock, S.J. 2008. Genomic clues to the evolutionary success of review polyploid plants. Current Biology. Vol. 18. 435-444.
- **Hillman** G. 1978. On the origin of domestic rye Secale cereale: the finds from aceramic Can Hasan III in Turkey. Anatolian Studies 28:157-174

- **Hoseney**, R. 1991. Principios de ciencia y tecnología de los cereales. 321 p. Acribia, Zaragoza, España.
- ISTA, International Seed Testing Association, 2009. Consultado 25 de septiembre 2016, Disponible en: https://www.seedtest.org/upload/cms/user/STI_138_Oct_2009.pdf
- Imery-Buiza, J., y H. Cequea-Ruíz 2001. Evaluación citogenética de la generación M1V2 de tetrapolides experimentales en sábila (Aloe vera L.).UDO Agrícola 1 (1):1-5
- **Immonen,** S, Tenhola-Roininen, T. 2004. Protocol for rye antheres culture. In Double Haploides Production in Crop plants: a Manual (Maluszynski, M *et al.*, eds), pp. 141-14, Kluwer Academic Publishers
- **Kuckuck,** J. 1937. Zur Entstehung und Abstammung des Roggens. Gesamte Getreidewes. 24:131-132,
- **Jones**, JDG, and Flavell RB 1982. The structure, amount and chromosomal localisation of defined repeated DNA sequences in species of the genus Secale. Chromosoma 86:613-641.
- **Madlung**, A. 2013. Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools. Heredity. Vol. 99-104.
- Matos A. 2014. Efecto de diferentes concentraciones y tiempos de exposición de la colchicina en plantas de zábila [Aloe vera (L.) Burm. f.] in vivo Multiciencias, vol. 14, núm. 4, octubre-diciembre, 2014, pp. 382-388 Universidad del Zulia Punto Fijo, Venezuela

- Mayrose, I., Zhan, S.H., Rothfels, C.J., Magnuson-Ford, K., Barker, M.S., Rieseberg, L.H., Otto, S.P. 2011. Recently Formed Polyploid Plants Diversify at Lower Rates. Science. Vol. 333 (6047). 1257
- Masojć P, and Kosmala A. Análisis proteómico de germinación antes de la cosecha en el centeno usando electroforesis bidimensional y espectrometría de masas. Raza Mol. 2012; 30: 1355-1361. doi: 10.1007/s11032-012-9721-z
- **Mellado** Z., Mario; Matus T., Iván; Madariaga B., Ricardo. 2008. Antecedentes sobre el centeno, en Chile y otros países. Chillán, Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA Nº 182, 64 p
- Mellado, Z. M., R. Madariaga B., e I. Matus T. 2005. Aguacero-INIA. Nuevo Cultivar de Triticale de Primavera para Chile. Nota Científica. Agricultura Técnica (Chile) 65 (1): 90-95.
- Miedaner, T., Koch, S., Seggl, A., Schmiedchen, B., and Wilde, P., 2012.

 Quantitative genetic parameters for selection of biomass yield in hybrid rye. Plant Breed 131, 100-103.
- Molero, T., Matos, A. 2008. Efectos de la inducción artificial de la poliploidía en plantas de Aloe vera (L.). Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas 42 (1): 111–133.
- **Moreno**, M. E. 1993. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Instituto de Biología, UNAM. México, 393 pp.
- **Muntzing**, A. 1951. Cytogenetic properties and practical value of tetraploid rye. Hereditas 37:2-84.

- Oelke, E.A., Oplinger E.S; Bahri H; Durgan B.R; Putnam D.H; Doll J.D; and Kelling K.A. 1990. Rye. In: Alternative field crops manual [Online]. www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/ (verified May 2016). Univ. of Wisconsin-Extension and Univ. of Minnesota.
- **Otto**, S.P. 2007. The evolutionary consequences of polyploidy. Cell. Vol. 131(3). 452-462.
- **Poehlmann**, J.M. 1965. Mejoramiento genético de las cosechas. México D. F., Limusa. 453p
- Ramírez-Godina, F.; Robledo-Torres, V.; Foroughbakhch-Pournavab, R.; Benavides-Mendoza, A. y Alvarado-Vázquez, M. A. 2013. Viabilidad de polen, densidad estomática y tamaño de estomas en autotretraploides y diploides en Physalis ixocarpa. Bot. Sci. 91(1):11-18.
- **Rees**, H. 1972. DNA in higher plants. Brookhaven symposia in Biology. 23: 394-418.
- **Rose**, J., J. Kubba, and K. Tobutt. 2000. Chromosome doubling in sterile Syringa vulgaris x S. pinnatifolia hybrids by in vitro culture of nodal explants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 63 (2): 127-132.
- Rogelio, F.S. Aquiles, C.C. Héctor E. V. y Adrián H.L. 2015. Calidad de la semilla de trigo de temporal en función del ambiente de producción. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol.6 Núm.6 14 de agosto 27 de septiembre, p. 1239-1251

- SAGARPA. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca Y
 Alimentación, Subsecretaría de Desarrollo Rural, Dirección General de
 Apoyos para el Desarrollo Rural 2 Cultivos de cobertera
 http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasCOUSS
 A/Cultivos%20de%20cobertera.pdf (Citado el 25 de Noviembre del 2016).
- **Sánchez**, A, and Matos, A. 2012. Efectos del uso de la colchicina como inductor de poliploidía en plantas de zábila (Aloe vera L.) in vivo. Revista de la Universidad del Zulia 3 (6): 119-139.
- **Schlegel**, H.J., 2013. Rye: Genetics, Breeding, and Cultivation. CRC Press, Boca Raton
- **Scheibe**, A,1935. Die Verbreitung von Unkrautroggen und Taumelloloch in Anatolien. (Mit Bemerkungen zum Roggen-Abstrammungsproblem). Angew. Bot. 17:1-22,
- **Steel,** R.G.D. and Torrie, J.H. (1980). Principles and Procedures of Statistics. A biometrical approach. 2nd edition. McGraw-Hill, New York, USA, pp. 20-90.
- **Stebbins**, G.L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. London, ed. Edward Arnold Ltda. 216p
- **Thao,** N., K. Ureshino, I. Miyajima, Y. Ozaki, and H. Okubo. 2003. Induction of tetraploids in ornamental Alocasia through colchicines and oryzalin treatments. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 72(1): 19–25.

- **The Enciclopedia** of Seeds: science, technology and uses. 2006. 828 p. CAB International, Washington, USA
- **Tscheuschner,** H. D. 2001. Fundamentos de tecnología de los alimentos. Editorial Acribia, España.
- **Trinidad** García-Osuna H, Escobedo B.L, Robledo T.V, Benavides M.A y Ramírez G.F. 2015. Germinación y micropropagación de tomate de cáscara (Physalis ixocarpa) tetraploide. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp. Núm. 12. p. 2301-2311.
- **Urbano**, PT. 1999. Tratado de Fitotecnia General. Ed. Mundi-Prensa. Madrid España. 895pp
- USDA S.F. United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. Available at https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_sece.pdf (Citado 18 de Marzo del 2017).
- USDA S.F. United States Department of Agriculture. Available at https://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=SECE (Citado 18 de Marzo del 2017).
- **Vrijenhoek**, R.C. 2007. Polyploidy hybrids: Multiple origins of a treefrog species. Current Biology. Vol. 16(7). 245-247.
- Wenzel, G. Hoffmann, F. Thomas, E. 1977. Projektgruppen Haploide in der Pflanzenz~ichtung, Max-Planck-Institut ffir Pflanzengenetik, Ladenburg- Rosenhof. Theor. Appl. Genet. 51, 81-86

Zhang, J., Zhang, M. & Deng, X. 2007. Obtaining autotetraploids *in vitro* at a high frequency in *Citrus sinensis*. Plant Cell Tissue Organ Culture, v.89, n.2-3, p.211-216