



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA



**MEJORA DE LA GERMINACIÓN EN CHILE PIQUÍN (*Capsicum annuum* var.
glabriusculum/aviculare) MEDIANTE PRIMING.**

Por:

IA. Oscar Iván Guillen Castillo

**Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de:
Maestro en Producción Agropecuaria.**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA**



**MEJORA DE LA GERMINACIÓN EN CHILE PIQUÍN (*Capsicum annum* var.
glabriusculum/aviculare) MEDIANTE PRIMING.**

Por:

IA. Oscar Iván Guillen Castillo

**Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de:
Maestro en producción agropecuaria.**

Directora. Dra. María Fernanda Quintero Castellanos

Co-director. Dr. Pablo Delgado Sánchez

Asesor. Dr. José Marín Sánchez

Asesor externo. Dr. Miguel Guzmán Palomino

Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.

Enero del 2017

La tesis profesional titulada: “**MEJORA DE LA GERMINACIÓN EN CHILE PIQUÍN (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum/aviculare*) MEDIANTE PRIMING**” fue realizado por: IA. **Oscar Iván Guillén Castillo**. Como requisito parcial para obtener el título de “Maestro en Producción Agropecuaria” el cual fue revisado y aprobado por el suscrito Comité de Tesis.

Dra. María Fernanda Quintero Castellanos
Directora.

Dr. Pablo Delgado Sánchez
Co-director

Dr. José Marín Sánchez
Asesor

Dr. Miguel Guzmán Palomino

Asesor externo: Grupo de investigación RNM-151 PAIDI-UAL, CeIA3, CIEMBITAL, Universidad de Almería–España.

Ejido Palma de la Cruz, municipio de Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí a los 31 días del mes de Enero de 2017.

DEDICATORIAS

A mis padres

Lic. Reynaldo Guillen Bear
Profa. María Santos Castillo Hernández

Por haberme apoyado en todos los momentos más importantes de mi vida, así como en mi formación profesional, sus esfuerzos y sacrificios por sacarme adelante, siempre me sentiré orgulloso de ustedes y espero nunca defraudarlos.

Con respeto y admiración

A mis hermanos:

Hugo Guillen Castillo, Reynaldo Guillen Castillo y Gustavo Guillen Castillo, por el apoyo incondicional que me brindaron en todo momento.

A: Reyna Hipólito. Gracias por apoyarme tanto en todo lo que hago, y por aparecer en mi vida en tan buen momento.

A: Miguel Vázquez. Por ser un gran amigo en todas las circunstancias

A mis compañeros de Maestría.

A todos muchas gracias por su colaboración.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en especial a la Facultad de Agronomía y Veterinaria por permitirme realizar mis estudios de maestría.

Al consejo nacional de ciencia y tecnología (CONACYT) por la beca otorgada con el número: 391216

Al laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP por haberme brindado el espacio, el tiempo y los materiales necesarios para realizar este trabajo.

A mis maestros:

Por su paciencia y apoyo para mi formación profesional.

A mis amigos:

Por el apoyo brindado durante las clases cuando surgía alguna duda.

A mis asesores:

Dra. María Fernanda Quintero Castellanos, Dr. Pablo Delgado Sánchez. Dr. José Marín Sánchez, y al Dr. Miguel Guzmán Palomino por su apoyo en cada momento y por darme la oportunidad de realizar mi tesis y su asesoría.

A mis compañeros de Maestría.

A todos muchas gracias por su colaboración.

INDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIAS	iii
AGRADECIMIENTOS	iiiv
INDICE DE CONTENIDO	v
INDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INDICE DE IMÁGENES	iiix
RESUMEN	x
SUMMARY	xiii
INTRODUCCIÓN	1
Objetivos	2
Objetivo general.....	2
Objetivos específicos	2
Hipótesis	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Generalidades del chile (<i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>)	3
Distribución de chile piquín.....	4
Taxonomía de chile piquín.....	4
Concepto de semilla.....	4
Concepto de germinación	5
Latencia.....	8
Tipos de latencia	8
Métodos para superar la latencia.....	9
Fases de hidratación de la semilla.....	9
Priming.....	10
Tiempo	11
Soluciones osmóticas	11
Potencial osmótico	11
Tipos de priming	11
MATERIALES Y MÉTODOS	14
Descripción del área experimental.....	14
Fases experimentales	14

Material general	14
Material Biológico	14
Materiales específicos	15
Material de Laboratorio	15
Metodología	15
Extracción de la semilla	15
Digestión Previa.....	16
Acondicionamiento osmótico (Priming).....	16
Evaluación de la germinación	18
Priming con ácido giberélico (AG ₃).....	19
Variables evaluadas	19
Análisis estadístico.....	20
RESULTADOS.....	21
Efectos de los tratamientos de pre-germinación en semillas de chile piquín.....	21
Digestión de semillas	21
Priming osmótico	21
Priming osmótico/ ácido giberélico (AG ₃).....	31
DISCUSIÓN	44
CONCLUSIONES	45
RECOMENDACIONES	46
ANEXOS	47
LITERATURA CITADA	51

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Tratamientos aplicados en el priming osmótico.	16
Cuadro 2.- Tratamiento de Priming con la adición de AG ₃	19
Cuadro 3.- Análisis de la varianza y del test LSD al 95 % en el Porcentaje de Germinación (PG), Longitud de la Radícula (LR), Índice de Germinación (IG) en semillas de chile piquín	21
Cuadro 4.- Análisis de varianza (ANOVA) multifactorial para: porcentaje de germinación (PG), semillas latentes (SL), semillas muertas referido al total de semillas (SM), longitud de radícula (LR), porcentaje de plántulas anormales (PPAN) e índice de germinación (ÍG) referido a las semillas germinadas.	22
Cuadro 5.- Concentraciones de nitratos, sulfatos y cloruros de (potasio y amonio) que permitió el acondicionamiento osmótico de semillas de chile piquín.	30
Cuadro 6.- Porcentaje de germinación (PG), porcentaje de semillas muertas (SM), índice de germinación (IG), tiempo en alcanzar 50 % de germinación (GT ₅₀) y longitud de radícula de los valores más que permitieron el mayor porcentaje de germinación.....	30
Cuadro 7.- Comportamiento del porcentaje de germinación (PG) y longitud de radícula (LR) en KNO ₃ + AG ₃	33
Cuadro 8.- Comportamiento del porcentaje de germinación (PG) y longitud de radícula (LR) en NH ₄ NO ₃ + AG ₃	35
Cuadro 9.- Análisis de Varianza (ANOVA) Multifactorial para: porcentaje de germinación (PG), semillas latentes (SL), semillas muertas (SM) referido al total de semillas, longitud de radícula (LR), porcentaje de plántulas anormales (PPAN) e índice de germinación (IG) durante la fase 2.	38
Cuadro 10.- Análisis de Varianza (ANOVA) Multifactorial para: porcentaje de germinación (PG), semillas latentes (SL), semillas muertas (SM) referido al total de semillas, longitud de radícula (LR), porcentaje de plántulas anormales (PPAN) e índice de germinación (IG) durante la fase 3.	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Patrón trifásico de toma del agua en semillas frescas .	10
Figura 2.- Esquematación del priming .	12
Figura 3.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre el PG durante el priming osmotico.	23
Figura 4.- Interacción de los factores tiempo y catión sobre el PG durante el priming osmotico.	23
Figura 5.- Interacción de los factores tiempo y Ψ sobre el PG durante el priming osmotico.	23
Figura 6.- Interacción de los factores anión y catión sobre el PG durante el priming osmotico.	23
Figura 7.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre SL durante el priming osmotico.	24
Figura 8.- Interacción de los factores tiempo y catión sobre SL durante el priming osmotico.	24
Figura 9.- Interacción de los factores tiempo y Ψ sobre SL durante el priming osmotico.	25
Figura 10.- Interacción de los factores anión y Ψ sobre SL durante el priming osmotico.	25
Figura 11.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre SM durante el priming osmotico.	25
Figura 12.- Interacción de los factores tiempo y catión sobre SM durante el priming osmotico.	25
Figura 13.- Interacción de los factores tiempo y Ψ sobre SM durante el priming osmotico.	26
Figura 14.- Interacción de los factores anión y catión sobre el PG durante el priming osmotico.	26
Figura 15.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre LR durante el priming osmotico.	27
Figura 16.- Interacción de los factores tiempo y catión sobre LR durante el priming osmotico.	27
Figura 17.- Interacción de los factores tiempo y Ψ sobre LR durante el priming osmotico.	27
Figura 18.- Interacción de los factores catión y Ψ sobre LR durante el priming osmotico.	27
Figura 19.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre IG durante el priming osmotico.	28
Figura 20.- Interacción de los factores tiempo y Ψ sobre IG durante el priming osmotico.	28
Figura 21.- Interacción de los factores anión y catión sobre IG durante el priming osmotico.	28
Figura 22.- Interacción de los factores catión y Ψ sobre IG durante el priming osmotico.	28
Figura 23.- Interacción de los factores tiempo y Ψ sobre PPAN durante el priming osmotico.	29
Figura 24.- Interacción de los factores anión y Ψ sobre PPAN durante el priming osmotico.	29
Figura 25.- Interacción de los factores catión y Ψ sobre PPAN durante el priming osmotico.	29
Figura 26.- Porcentaje de germinación durante el tiempo	31
Figura 27.- Crecimiento de radícula durante el tiempo.	32
Figura 28.- Efecto del AG_3 en los días de germinación sobre el PG durante el priming mixto $KNO_3 + AG_3$	33
Figura 29.- Efecto del KNO_3 en los días de germinación sobre el PG durante el priming mixto $KNO_3 + AG_3$	33
Figura 30.- Interacción de los factores AG_3 y KNO_3 sobre el PG durante el priming mixto $KNO_3 + AG_3$	34
Figura 31.- Efecto del AG_3 en los días de germinación sobre LR durante el priming mixto $KNO_3 + AG_3$	34
Figura 32.- Efecto del KNO_3 en los días de germinación sobre LR durante el priming mixto $KNO_3 + AG_3$	34
Figura 33.- Interacción de los factores AG_3 y KNO_3 sobre LR durante el priming mixto $KNO_3 + AG_3$	35
Figura 34.- Efecto del AG_3 en los días de germinación sobre el PG durante el priming mixto $NH_4NO_3 + AG_3$	36
Figura 35.- Efecto del NH_4NO_3 en los días de germinación sobre el PG durante el priming mixto $NH_4NO_3 + AG_3$	36

Figura 36.- Interacción de los factores AG ₃ y NH ₄ NO ₃ sobre el PG durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ + AG ₃	36
Figura 37.- Efecto del AG ₃ en los días de germinación sobre LR durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ + AG ₃	37
Figura 38.- Efecto del NH ₄ NO ₃ en los días de germinación sobre LR durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ + AG ₃	37
Figura 39.- Interacción de los factores AG ₃ y NH ₄ NO ₃ sobre LR durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ + AG ₃	37
Figura 40.- Interacción de los factores AG ₃ y KNO ₃ sobre el PG durante el priming mixto KNO ₃ -AG ₃ a los 28 días	39
Figura 41.- Interacción de los factores AG ₃ y KNO ₃ sobre SL durante el priming mixto KNO ₃ -AG ₃ a los 28 días	39
Figura 42.- Interacción de los factores AG ₃ y KNO ₃ sobre SM durante el priming mixto KNO ₃ -AG ₃ a los 28 días	39
Figura 43.- Interacción de los factores AG ₃ y KNO ₃ sobre PPAN durante el priming mixto KNO ₃ -AG ₃ a los 28 días	39
Figura 44.- Interacción de los factores AG ₃ y KNO ₃ sobre LR durante el priming mixto KNO ₃ -AG ₃ a los 28 días	40
Figura 45.- Interacción de los factores AG ₃ y KNO ₃ sobre IG durante el priming mixto KNO ₃ -AG ₃ a los 28 días	40
Figura 46.- Interacción de los factores AG ₃ y NH ₄ NO ₃ sobre el PG durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ -AG ₃ a los 28 días	42
Figura 47.- Interacción de los factores AG ₃ y NH ₄ NO ₃ sobre SL durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ -AG ₃ a los 28 días	42
Figura 48.- Interacción de los factores AG ₃ y NH ₄ NO ₃ sobre SM durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ -AG ₃ a los 28 días	42
Figura 49.- Interacción de los factores AG ₃ y NH ₄ NO ₃ sobre PPAN durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ -AG ₃ a los 28 días	42
Figura 50.- Interacción de los factores AG ₃ y NH ₄ NO ₃ sobre LR durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ -AG ₃ a los 28 días	43
Figura 51.- Interacción de los factores AG ₃ y NH ₄ NO ₃ sobre IG durante el priming mixto NH ₄ NO ₃ -AG ₃ a los 28 días	43

INDICE DE IMÁGENES

Imagen 1.- Fotografía del chile piquín. Capsicum. Annum, var. glabriusculum (sin.-aviculare).....	3
Imagen 2.- Chile piquín típico en Noroeste de México.	14
Imagen 3.- Obtención de la semilla de chile piquín	15
Imagen 4.- Semillas en H ₂ O ₂	16
Imagen 5.- Semillas en HCl	16
Imagen 6.- Osmocondicionamiento (Priming)	17
Imagen 7.- Prueba de germinación en chile piquín.....	18

RESUMEN

El chile “piquín” es un cultivar no domesticado (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum/aviculare* L.). Su fruto es ampliamente consumido en México y casi la totalidad proviene de recolectas silvestres. Las semillas contienen una cutícula dura con presencia de inhibidores, presentando una germinación menor del 5%. El priming de semillas, es considerado como una técnica que permite mejorar la germinación, especialmente en las hortalizas. La modalidad de priming osmótico permite acondicionar las semillas para incrementar su germinabilidad y homogeneidad. Se utilizó una muestra de semillas de chile piquín recolectadas de poblaciones silvestres en zonas del norte de México. Las semillas se sometieron a tres pruebas pre germinativas: Digestión ácida, acondicionamiento osmótico con un diseño factorial de diferentes soluciones (nitrato, sulfato y cloruro de potasio y amonio) con potenciales osmóticos de 5, 10 y 15 atm, durante 24, 48 y 72 horas de acondicionamiento, y por último la adición de hormona AG₃ al priming osmótico. La evaluación de la germinación se analizó por medio de los protocolos que propone la Asociación Internacional de Análisis de Semillas (ISTA). Los datos fueron analizados para determinar la variabilidad de los factores del diseño mediante un ANOVA multifactorial y un test de secuencia de medias *least significant difference* (LSD). La digestión de las semillas no mostró mejoría en la germinación. En la segunda fase el “osmopriming” con soluciones salinas resultó eficaz al aumentar el porcentaje de germinación (de un 9 hasta un 59 %), respecto al testigo. También se encontró que la combinación entre los diferentes tratamientos mostraron incrementos en la uniformidad de germinación y el índice de germinación (IG). Para el porcentaje de germinación el mejor tratamiento consistió en KNO₃ durante 48 horas, con un potencial osmótico de 15 atmósferas. El priming osmótico en la tercer fase, con KNO₃ a (15 atm, 72 h) más 200 ppm AG₃, aumentaron el porcentaje de germinación desde un 9 hasta 79 % y casi triplica la homogeneidad en la germinación de semillas de chile piquín.

SUMMARY

The piquín chili is a non-domesticated cultivar of *Capsicum annum* var. *Glabriusculum* / *aviculare* L. Its fruit is widely consumed in Mexico and almost all of it comes from wild harvest. The seeds contain a hard cuticle with presence of inhibitors, presenting a germination of less than 5%. The priming of seeds, is considered as a technique that allows to improve the germination, especially in the vegetables. The osmotic priming modality allows to condition the seeds to increase their germinability and homogeneity. This work was carried out in the biotechnology laboratory of the Faculty of Agronomy and Veterinary of the UASLP. Samples of piquín chili seeds harvested from wild populations in northern Mexico were used. The seeds were submitted to three pre-germination tests: digestion, osmotic priming with a factorial design of different solutions (nitrate, sulfate and potassium and ammonium chloride) with osmotic potentials of 5, 10 and 15 atm during 24, 48 and 72 Hours of conditioning, and finally the addition of AG₃ hormone to osmotic priming. The evaluation of germination was analyzed through the protocols proposed by the International Association of Seed Analysis (ISTA). Data were analyzed to determine the variability of the design factors using a multivariate ANOVA and a least significant difference (LSD) mean sequence test. Digestion of the seeds showed no improvement in germination. In the second phase osmopriming with saline solutions was effective in increasing the percentage of germination (from 9 to 59%), compared to the control. It was also found that the combination between the different levels of the factors showed increases in germination uniformity and the Germination Index (GI). For the germination percentage the best treatment consisted of KNO₃ for 48 hours, with a potential of 15 atmospheres. The osmotic priming in the third phase with KNO₃ at (15 atm, 72 h) plus 200 ppm AG₃ increases the percentage of germination from 9 to 79% and almost triples the homogeneity in the germination of piquín chilli seeds.

INTRODUCCIÓN

El chile silvestre, denominado piquín (*Capsicum annum* var. *glariusculum*; Heiser & Pickersgill, 1975), ha sido identificado como el progenitor y pariente silvestre de las formas domesticadas y consumidas en el mundo (Medina *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2003). En México las poblaciones naturales de este taxón se encuentran ampliamente distribuidas y son aprovechadas por los habitantes del medio rural, a través de la recolección (Martínez, 2007). En las regiones donde se distribuye *Capsicum annum* var. *glariusculum* forma parte importante de la economía local en la época de recolección. (Rodríguez *et al.*, 2003; Montes *et al.*, 2006). La recolección es la principal actividad económica de las familias rurales que viven en las zonas de acopio (Bañuelos *et al.*, 2008), la cosecha implica internarse y recorrer largas distancias para poder obtenerlo, sin embargo, la obtención del fruto se realiza sin ninguna técnica, pues extraen la planta en su totalidad desde la raíz, lo que ocasiona una menor producción en la siguiente temporada de cosecha y principal razón por la cual este recurso se ha ido agotando en su habitat silvestre (Medina *et al.*, 2002; Araiza *et al.*, 2011). La superficie sembrada en los años 2003-2009 para el chile verde fue de 151,453.9 ha, mientras que para el chile piquín fue de 877.4 ha. El volumen de producción en el mismo periodo para el chile verde fue de 2,005, 854.5 ton, y para el chile piquín fue de 372.1 ton. Cabe aclarar que no se cuenta con suficientes datos estadísticos a nivel nacional y entidades federativas para el chile piquín, solo fue posible encontrar datos en el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIACON), con información sólo de tres estados productores, Veracruz, Michoacán y Tamaulipas (Gutiérrez, 2015). Una de las principales limitantes del chile piquín para su explotación comercial es la latencia de la semilla que ocasiona una baja tasa de germinación, que en condiciones naturales es inferior al 5% durante el primer mes después de la siembra (Cedillo, 2002; Rodríguez *et al.*, 2003). Lo anterior se debe a que la semilla contiene cera epicuticular y una testa externa dura que la hace impermeable, limitando la absorción de humedad; esto favorece la supervivencia de la especie en su habitat natural, ya que aunque exista humedad, no todas las semillas germinan a la vez (Eshbaugh, 1980; Rodríguez *et al.*, 2004).

Una germinación y emergencia rápidas son características deseables a la hora de realizar cualquier cultivo. Existen factores de la propia semilla, como vigor disminuido, dormición, latencia, que impiden lograr dicho objetivo. Diversas técnicas se han estudiado para favorecer la rápida germinación y emergencia de las semillas (Castañares, 2010). Entre ellos el acondicionamiento osmótico de semillas, el cual se ha convertido en una estrategia que aumenta la frecuencia, el porcentaje y la uniformidad de la germinación, especialmente bajo condiciones ambientales desfavorables (Guzmán y Olave, 2004). Estos tratamientos osmóticos regulan la hidratación de la semilla durante la imbibición, lo que favorece algunos procesos metabólicos previos a la emergencia de la radícula y se logra rapidez, sincronización e incremento en la tasa de la germinación (Marín *et al.*, 2007).

El priming es una técnica que se fundamenta en el proceso de absorción de agua, consiste en realizar una hidratación de las semillas en condiciones controladas, exponiéndolas para ello a una solución acuosa capaz de desarrollar un potencial osmótico negativo (fuerza de succión) conocido (Bradford *et al.*, 1990). Para ello se pueden utilizar distintas sustancias orgánicas o inorgánicas o simplemente agua; este proceso debe realizarse de tal forma que permita a las semillas absorber suficiente volumen de agua para activar el metabolismo germinativo (Sampaio *et al.*, 1992).

Por otra parte, el ácido giberélico (AG₃), es una hormona de interés en la investigación agrícola, por su participación como promotor de la germinación de las semillas (Tigabu y Odén, 2001). Diversos estudios realizados por García *et al.* (2010), Zamora *et al.* (2011), y Cano-Vázquez *et al.* (2015), muestran el efecto del ácido giberélico sobre la germinación en chile piquín, sin embargo no existe información del efecto del AG₃ durante el acondicionamiento osmótico de las semillas de chile piquín.

Es por eso que el chile piquín al ser un cultivo silvestre que presenta bajos porcentajes de germinación impidiendo su establecimiento comercial, requiere de técnicas que generen información para solucionar los problemas existentes durante el establecimiento del cultivo. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue incrementar la uniformidad de germinación y el porcentaje de germinación en semillas de chile piquín, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum/aviculare*, mediante la técnica de priming.

Objetivos

Objetivo general

Incrementar la uniformidad de germinación y el porcentaje de germinación en semillas de chile piquín, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum/aviculare*, mediante la técnica de priming.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la digestión ácida sobre la germinación de semillas de chile piquín.
- Determinar las concentraciones de nitratos, sulfatos y cloruros de (potasio y amonio) que permita el acondicionamiento osmótico de semillas de chile piquín.
- Determinar el efecto del priming osmótico con nitratos, sulfatos y cloruros de (potasio y amonio) sobre la germinación y emergencia de semillas de chile piquín.
- Determinar el efecto de la aplicación de ácido giberélico durante el priming sobre la uniformidad y porcentaje de germinación en semillas de chile piquín.

Hipótesis

La utilización de la técnica priming usada en chile piquín aumentara la uniformidad y el porcentaje en la germinación.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*)

México es uno de los principales centros de origen y domesticación del chile, como se llama comúnmente a los frutos del género *Capsicum*, en particular de la especie *annuum* (Laborde y Pozo, 1984; Medina, 2010), que es la más importante en México y el mundo, con el gran número de tipos de chile que posee, lo que representa la mayor diversidad de la misma ya que presenta una amplia distribución mundial (Pickersgill, 1969; Pozo *et al.*, 1991).

El chile piquín *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Heiser y Pickersgill, 1975), conocido también como chile del monte *Capsicum annuum* var. *aviculare* es considerado como el ancestro de todas las variedades y tipos de chiles conocidos (Eshbaugh, 1980, Pozo *et al.*, 1991; Rodríguez *et al.*, 2003). La clasificación científica ha sido causa de múltiples controversias entre los taxónomos, quienes han dado diferentes nombres, como los enlista Long (1988): *glabriusculum* (Heiser y Pickersgill, 1975), *minus*, *baccatum*, *mininum* (Heiser y Pickersgill, 1975); *aviculare* (D'Arcy y Eshbaugh, 1978). En la actualidad se le conoce con el nombre de *C. annuum* var. *glabriusculum* (Heiser y Pickersgill, 1975). Actualmente los términos *glabriusculum* y *aviculare* son usados casi indistintamente como sinónimos, encontrándose en aproximadamente igual proporción en la literatura (Martínez, 2007).



Imagen 1.- Fotografía del chile piquín. *Capsicum. annuum*, var. *glabriusculum* (sin.-*aviculare*) Fuente: Teodoro Medina en: Medina *et al.*, 2010.

El chile piquín se encuentra en altitudes inferiores a 1,300 msnm, distribuido en las zonas costeras de México, por lo que su importancia es más regional, razón que justifica su diversidad de nombres (Laborde y Pozo, 1984). Algunos de ellos son: chiltepín, del monte, quipín, chiltecpín, chiltepiquín, chilpaya, tilchile, de pájaro, pico de pájaro, diente de tlacuache, mosquito, silvestre, pulga, amash, timpinchile, enano, tichusni, chiltepe (Heiser, 1975; Rodríguez *et al.*, 2003 y Bañuelos *et al.*, 2008).

Distribución de chile piquín

Se encuentra ampliamente distribuido en forma silvestre en zonas bajas, desde el sur de los E.U.A. hasta Perú (Pickersgill, 1971; D'Arcy y Esbaugh, 1974). En México tiene una amplia adaptación en el trópico y zonas semiáridas en los estados de: Veracruz, Tabasco, Campeche, Quintana Roo, Yucatán, Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Colima, Sinaloa, Sonora, Coahuila, Nuevo León, San Luis Potosí, Hidalgo y Tamaulipas (Nee, 1986). Normalmente se le encuentra después de las épocas de lluvias bajo el matorral submontano (Medina *et al.*, 2002; Rodríguez *et al.*, 2003).

Taxonomía de chile piquín

Son plantas herbáceas o trepadoras, que pueden alcanzar los 4 m de altura, perennes o de vida corta, glabras o raramente pubescentes; una flor por nudo, raramente 2-3; pedicelos delgados y alargados; cáliz con dientes ausentes o rudimentarios; corola de color blanco, raramente verdosa; anteras de color violeta a azul y filamentos cortos (D'Arcy y Esbaugh, 1974; Hernández-Verdugo *et al.*, 1998).

El fruto es una baya redonda u oblonga de 3 a 6 mm de diámetro que crece en posición erectil. Las plantas alcanzan su madurez reproductiva entre los seis y diez meses de edad. La floración comienza durante los meses de mayo y dura hasta agosto y la fructificación es de junio a octubre (Nabhan *et al.*, 1990). El fruto antes de madurar es de color verde oscuro por su alta concentración de clorofila, pero al madurar es rojo por los carotenoides (pigmentos rojos). El color rojo del fruto atrae a diversas aves, que al comerlos se encargan de dispersar las semillas, el chile piquín crece bajo la protección de los árboles en sitios montañosos cercanos a márgenes de arroyos y cañones (Pozo *et al.*, 2003).

Respecto a la demanda del producto se estima en crecimiento, en cuanto aparece el producto en el mercado desplaza de manera puntual a otras variedades (Montes *et al.*, 2006). Los chiles silvestres son altamente apreciados por lo que en un buen año puede llegar a desplazar 40 veces a los precios de los chiles comunes en el mercado (Rodríguez-Villa, 2012), ya que el consumidor lo prefiere por que no genera acidez estomacal (Montes *et al.*, 2006). El precio registrado de esta especie en el mercado varía de \$ 30.00 a 50.00/kg de chile verde para los acaparadores o intermediarios y ellos los revenden de \$ 100.00 a \$ 120.00/kg (Montes *et al.*, 2006). Del chile que se cosecha al final de la temporada de lluvias, entre noviembre y diciembre se selecciona el chile rojo para ser secado a la sombra y venderlo desde el inicio del año hasta junio, cuando ya no hay chile piquín en el campo, vendiéndose entre \$ 500.00 y \$ 600.00/kg de fruto seco (Montes *et al.*, 2006; Villalón *et al.*, 2007).

Concepto de semilla

Las semillas son la unidad de reproducción sexual de las plantas y tienen la función de multiplicar y perpetuar la especie a la que pertenecen. Las semillas son el medio a través del cual, aun de manera pasiva, las plantas encuentran nuevos sitios y microambientes

(Heydecker, 1973; Doria, 2010), están compuestas de unos o varios embriones, reservas nutritivas y una o varias capas protectoras (testa) originadas a partir de los tegumentos del ovulo, del ovario, o de los tejidos de otras partes de la flor (Esau, 1987; Beisner, 1989).

El embrión es la parte de la semilla que da origen al nuevo vegetal, es un tejido de forma alargada con un meristemo en cada punta y según la especie presenta una o dos hojas llamadas cotiledones (Camacho, 1994).

Las reservas nutritivas pueden encontrarse en el endospermo, perispermo o cotiledones, según la especie (Desai *et al.*, 1997). Las reservas del endospermo y perispermo son consumidas por el eje embrionario y trasladadas a los cotiledones, cuando la semilla aún no se separa de la planta madre, de manera que tanto para mantenerse vivo para la germinación, el embrión toma los nutrientes de sus cotiledones (Esau, 1987).

Las capas protectoras envuelven y protegen del medio al embrión, además de realizar funciones de control sobre la germinación (Camacho, 1994), la testa procedente del desarrollo de los tegumentos del ovulo, constituye la protección exterior de las semillas, se compone de dos partes, la parte exterior o epidermis suele estar cubierta por la cutícula, frecuentemente cerosa o grasa, y la capa interior, o hipodermis está en contacto con el endospermo (Beisner, 1989).

Concepto de germinación

La germinación se compone de diversos eventos por lo que puede tener varias definiciones en función del punto de vista que se use (Bernal, 1994). Morfológicamente es la transformación de un embrión en un plántula, que inicia con la protrusión de la radícula; fisiológicamente es la reactivación del crecimiento del embrión, el cual fue suspendido durante la desecación de la semilla (Meyer *et al.*, 1972); bioquímicamente es la diferenciación secuencial de las vías metabólicas tanto oxidativas como sintéticas (Bernal, 1994).

La germinación es el proceso mediante el cual, en condiciones apropiadas, el eje embrionario prosigue su desarrollo que había sido interrumpido durante la madurez fisiológica. La misma concluye en el momento en que se produce la emisión de la radícula (Moreira y Nakagawa, 1988).

La germinación inicia con la imbibición y finaliza con el inicio de la elongación del eje embrionario, principalmente de la radícula (Azcón y Talón, 2003). Se considera que una semilla ha germinado cuando la radícula emerge a través de la cubierta seminal (ISTA, 1996). Por lo tanto, incluye numerosos eventos como hidratación de proteínas, cambios estructurales subcelulares, respiración, síntesis de macromoléculas y alargamiento de células (Bewley y Black, 1994; Doria, 2010). La imbibición es la toma de agua por parte de la semilla seca, y la emergencia es el proceso por el cual el eje embrionario en especies dicotiledóneas o

radícula en monocotiledóneas crece, se extiende y atraviesa las estructuras que lo rodean (Azcón y Talón, 2003).

Fases de la germinación

El proceso de germinación comprende una compleja secuencia de cambios bioquímicos, morfológicos y fisiológicos en los cuales pueden reconocerse ciertas fases (Hartman y Kester, 1987).

La primera fase comienza por la imbibición, la cual consiste en la absorción de agua por la semilla a través de los poros naturales al tejido, causando que las células se vuelvan túrgidas, y haya un mayor crecimiento en volumen y que la cubierta de la semilla se vuelva más permeable al oxígeno y al CO₂ (Copeland y McDonald 1985; Hartman y Kester, 1987). El proceso de absorción es influenciado por varios factores internos y externos: temperatura, humedad aprovechable, presión osmótica, permeabilidad de la cubierta de semilla, composición química de la semilla y duración de exposición de la semilla al agua (Flores, 2004).

La segunda fase empieza con la iniciación de la actividad celular (Hartman y Kester, 1987). La activación resulta en parte de la reactivación de enzimas previamente almacenadas que se formaron durante el desarrollo del embrión y en parte de la síntesis de nuevas enzimas al comenzar la germinación (Bewley y Black, 1978). El agua absorbida en los tejidos de la semilla activa por hidrólisis los sistemas enzimáticos que sirven para: romper el tejido de almacenamiento, intervenir en el transporte de nutrientes de las áreas de almacenamiento en el cotiledón o endospermo a los puntos de crecimiento, e iniciar las reacciones químicas, las cuales descomponen productos complejos para la síntesis del nuevo material (Flores, 2004).

En la tercera fase ocurre la digestión enzimática de los complejos materiales de reserva insolubles (carbohidratos, grasas y proteínas) a formas solubles que son trasladadas a las zonas de crecimiento activo (Hartman y Kester, 1987) En el endospermo, los cotiledones almacenan estas reservas que son digeridos y trasladados a los puntos de crecimiento del eje embrionario (Copeland y McDonald, 1985).

La cuarta fase, la plántula crece por el proceso ordinario de división y crecimiento celular (Hartman y Kester, 1987). El aumento de tamaño del embrión se da por formación de nuevas células y maduración, que básicamente consiste en elongación y diferenciación celular en tejidos especializados y órganos para formar una nueva planta (López, 2005).

Condiciones ambientales que afectan la germinación

El proceso de germinación se ve grandemente influenciado por los factores: especie, variedad, madurez de la semilla y condiciones ambientales en la germinación de la semilla y desarrollo de plántula (Flores, 2004). Dentro de los requerimientos indispensables para que se efectúe la germinación están:

Madurez de la semilla

La mayoría de las semillas requieren de un desarrollo completo y total para que puedan germinar, sin embargo; algunas semillas son capaces de germinar antes de completar su desarrollo y otras, por el contrario, requieren de un periodo adicional de desarrollo para que la germinación pueda efectuarse (Flores, 2004).

Una semilla madura tiene el porcentaje de humedad necesario para mantenerse viva con mínima actividad (Azcón y Talón, 1996). La madurez se consigue cuando las distintas estructuras de la semilla se han completado, ésta suele lograrse en la misma planta madre; sin embargo, existen algunas especies que diseminan sus semillas antes de alcanzar su madurez, aunque la semilla sea morfológicamente madura, muchas de ellas pueden seguir siendo incapaces de germinar (Kameswara *et al.*, 2007).

Agua

El primer requerimiento para que ocurra la germinación de la semilla viable y sin latencia, es la disponibilidad de agua para que los tejidos seminales se rehidraten y reactiven su metabolismo (Bernie, 1984). La entrada de agua en el interior de la semilla se debe exclusivamente a una diferencia de potencial hídrico entre la semilla y el medio que la rodea (Camacho, 1994). Debido a que la respiración depende del nivel de hidratación, es importante que haya suficiente humedad disponible para que se pueda sostener el crecimiento del embrión (Bernie, 1984).

Temperatura

El segundo requisito para la germinación es una temperatura favorable. La cual es un factor decisivo en el proceso de la germinación, ya que influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla después de la rehidratación. La actividad de cada enzima tiene lugar entre un máximo un mínimo y un óptimo de temperatura (Copeland, 1976).

Oxígeno

La respiración se efectúa en la semilla tanto que está viva, en una semilla seca que no está en germinación la tasa de respiración es baja y utiliza poco oxígeno. Durante la germinación, aumenta la tasa de respiración, se incrementa la absorción de oxígeno y se desprende bióxido de carbono en cantidades crecientes, desde luego la respiración es esencialmente un proceso oxidativo y por lo tanto requiere de un adecuado suministro de oxígeno, de modo que al reducir éste el proceso germinativo es retardado o no se efectúa (Flores, 2004).

Luz

Las semillas de las plantas cultivadas germinan generalmente tanto en luz como en la obscuridad. La luz puede inducir o liberar latencias, que es un mecanismo que permite la adaptación de las plantas a diferentes nichos ecológicos. Generalmente actúa en interacción

con la temperatura y su acción puede ser ejercida por la calidad o fotoperiodo (Copeland, 1976).

Latencia

El término latencia tiene una aplicación amplia en fisiología vegetal para referirse a la falta de crecimiento de cualquier parte de la planta debido a factores inducidos externa o internamente (Vegis, 1964). Por otra parte, los especialistas de semillas usaban el término en un sentido más restringido para indicar la falta de germinación en las semillas (Hartman y Kester, 1987).

Las condiciones que existen en la semilla para impedir que germine en la época en que madura la planta se denomina latencia primaria (Crocker, 1916). Los cambios fisiológicos que ocurren dentro de la semilla para que pueda efectuarse la germinación han sido denominados postmaduración. La latencia puede ser transitoria, durando sólo unos cuantos días y desaparece después del almacenamiento en seco (Hartman y Kester, 1987). Por otra parte, la remoción o superación de la latencia puede requerir tratamientos largos y complejos (Camacho, 1994). Una vez que la semilla ha pasado por el periodo de postmaduración, puede volverse de nuevo latente si una vez que ha absorbido agua se le somete a condiciones ambientales desfavorables, esto se le denomina latencia secundaria (Hartman y Kester, 1987).

Tipos de latencia

A las semillas que no germinan porque las condiciones no son las más apropiadas para ello, se les conoce como semillas con latencia impuesta. Por otra parte, las semillas que no germinan aunque se encuentren en un ambiente favorable, se conocen como semillas con latencia innata. Este segundo mecanismo es el que, generalmente, se entiende como latencia de semillas (Doria, 2010).

Latencia exógena: las semillas que presentan este tipo de latencia tienen un retraso en la germinación y se debe a propiedades físicas y químicas de las cubiertas seminales, por lo que se puede denominar latencia impuesta por las cubiertas seminales. En este caso, el embrión aislado puede germinar con normalidad (Figueroa y Jaksic, 2004).

Latencia endógena: viene determinada por características anatómicas, morfológicas y fisiológicas del propio embrión. En este caso, el embrión es durmiente en sí mismo e incapaz de germinar incluso si es aislado de la semilla y colocado en condiciones favorables.

Se pueden distinguir tres tipos de latencia endógena, dependiendo de la característica que provoque tal dormición: morfológica, fisiológica y morfo-fisiológica (Figueroa y Jaksic, 2004).

Latencia combinada: generalmente, en la mayoría de los casos, las semillas presentan una latencia combinada, es decir, una combinación de latencia endógena y exógena.

Métodos para superar la latencia

Existen diferentes métodos, entre los que se pueden señalar (Doria, 2010):

- Escarificación mecánica: consiste en pasar las semillas por superficies abrasivas, con el fin de causar daño en la testa sin tocar el embrión.
- Tratamiento con agua caliente: consiste en sumergir las semillas en agua caliente (80°C durante 1–10 minutos).
- Escarificación ácida: consiste en sumergir las semillas en H₂SO₄, luego lavarlas con agua corriente y dejarlas secar.
- Lavado en agua corriente: algunas sustancias inhibitoras son solubles en agua y pueden ser removidas por el simple lavado de las semillas.
- Secado previo: las semillas recién cosechadas pueden perder la latencia si se secan por algunas semanas en una cámara a 40°C.
- Preenfriamiento: algunas semillas pierden la latencia someténdolas a bajas temperaturas.
- Imbibición en nitrato de potasio: algunas semillas superan la latencia de actividad aparentemente metabólica.
- Exposición a la luz: las semillas pueden requerir un determinado tratamiento de luz para poder germinar.

Fases de hidratación de la semilla

La generalidad de las semillas en contacto con el agua muestran un patrón trifásico de absorción (Figura 1), que se correlaciona con las variaciones en los componentes del potencial hídrico de las células durante los procesos fisiológicos y bioquímicos preparativos de la emergencia del embrión (Welbaum, 1998; Sanchez *et al.*, 2001)

Las semillas con permeabilidad al agua en sus cubiertas exhiben tres fases en el proceso de absorción de agua consistente en: imbibición (I), activación o germinación (II) y fase de crecimiento (III).

Fase I: imbibición rápida inicial debido a factores puramente físicos, en particular el componente matricial del potencial hídrico. Durante esta fase se alcanzan contenidos de humedad del eje embrionario de hasta 60 % (con relación al peso seco de la semilla; como el resto de los porcentajes que se reportan en adelante) y ocurre tanto en semillas muertas como vivas. En estas últimas el incremento paulatino del contenido de humedad permite la activación de la respiración (40-45 %), el inicio de la movilización de los carbohidratos de reserva en el embrión (45 %), el inicio de la movilización de proteínas de reserva en el embrión (45 %), y el inicio de la síntesis de proteínas (55 %) (Sánchez).

Fase II: Conocida como fase lenta, comprende fundamentalmente la puesta en marcha de dos mecanismos fisiológicos sucesivos para el incremento de humedad del embrión y el crecimiento del mismo. El primer mecanismo está dado por la acumulación en las células de

sustancias osmóticamente activas que permiten incrementar el contenido de humedad hasta 65-68 %. El segundo mecanismo se inicia cuando el contenido de humedad alcanza valores de 68-70 %, consiste en la activación de protones que acidifica las paredes celulares e incrementa la plasticidad estructural de las mismas (Sanchez *et al.*, 2001).

Fase III: Está asociada con la protrusión de la radícula o la emergencia embrionaria, se caracteriza como la fase I, aunque con menor velocidad, por el incremento acelerado del contenido de humedad, esta vez debido al contacto directo del embrión con el agua libre del sustrato que absorbe rápidamente sobre la base de las diferencias de potenciales hídricos. Durante esta fase se inicia la movilización de las sustancias de reserva de los cotiledones, que asegura el establecimiento de la nueva plántula (Sanchez *et al.*, 2001)

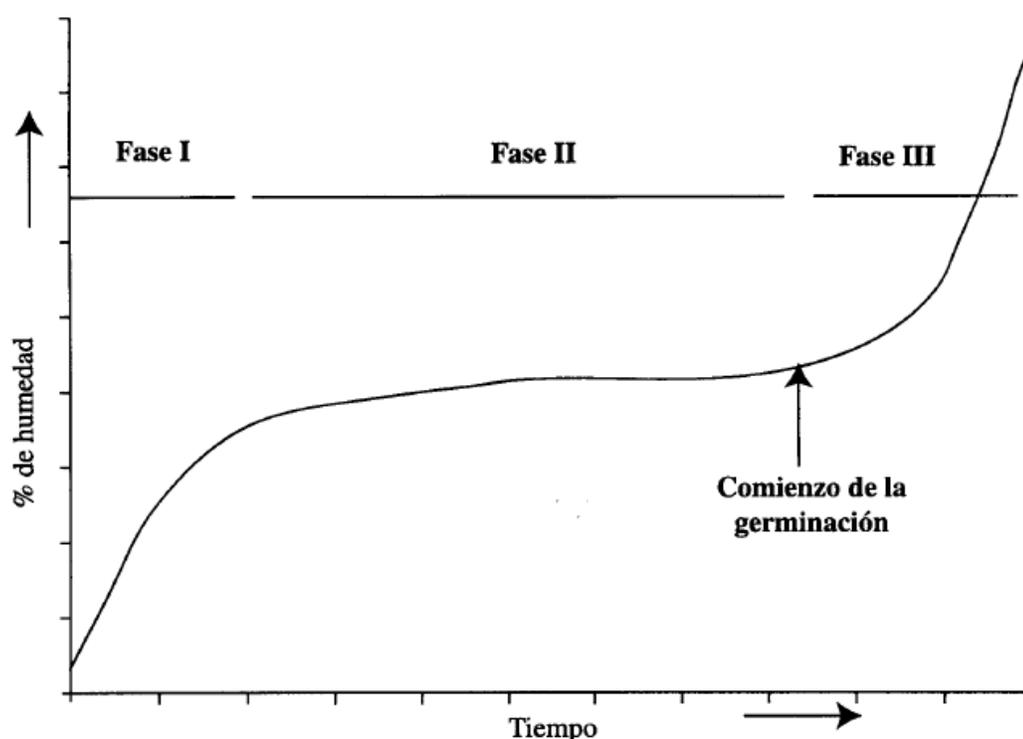


Figura 1.- Patrón trifásico de toma del agua en semillas frescas con capacidad germinativa. Reportado por Bewley y Black, 1994.

Priming

El Priming es una técnica para hidratar las semillas bajo condiciones controladas, pero previniendo completamente la germinación (Lee, 2004). Consiste en humedecer parcialmente las semillas hasta un contenido de agua cercano pero por debajo del que permita el inicio de la división celular, es decir la germinación propiamente dicha (Heydecker y Coolbear, 1977). Si se impide que el contenido de agua aumente a valores que permitan el comienzo de la división celular, se prolonga la fase donde se activan las enzimas y en consecuencia los procesos de rediferenciación y reparación de estructuras celulares tienen la

posibilidad de actuar durante mayor tiempo, lo que determina que las semillas así tratadas aumentan su calidad fisiológica (Heydecker y Coolbear, 1977; Castañares, 2010).

Estos procedimientos consisten en la inmersión de las semillas en soluciones osmóticas o en agua durante cierto tiempo con o sin deshidratación previa a la siembra, y permiten que una proporción de las semillas alcancen rápidamente el nivel de humedad y estado metabólico deseado; como consecuencia de la activación de numerosos procesos bioquímicos-fisiológicos relacionados con la germinación, la tolerancia al estrés ambiental y la auto preparación enzimática de las membranas enzimáticas (Sanchez *et al.*, 2001).

Los efectos de los tratamientos de hidratación parcial de las semillas como el priming osmótico dependen fundamental de: 1) grado de hidratación que alcancen las semillas; 2) temperatura y duración del tratamiento; 3) nivel de aeración del medio, 5) proceso de deshidratación.

Tiempo

El tiempo ideal del proceso varía de acuerdo al agente acondicionante, del potencial osmótico de la solución, de la temperatura durante el tratamiento y de la especie. Si la emergencia de la radícula ocurre durante el acondicionamiento osmótico, el daño al embrión es irreversible y puede suponerse que es durante la deshidratación después del tratamiento (Parera y Cantliffe, 1994).

Soluciones osmóticas

Las soluciones osmóticas pueden dividirse en dos grandes grupos: 1) soluciones compuestas por un alto peso molecular conocido como polietilenglicol (PEG); 2) soluciones salinas; ampliamente utilizadas para osmoacondicionar como K_3PO_4 , KNO_3 , $NaCl$ y KH_2PO_4 , entre otras (Sánchez *et al.*, 2001).

Potencial osmótico

El potencial osmótico es debido a los solutos (sales) disueltos en el agua del suelo. Indica la tendencia del agua a pasar de una solución menos concentrada (con potencial osmótico más alto o menos negativo) a otra más concentrada (potencial más bajo o más negativo) para igualar los potenciales. Por tanto la presencia de solutos osmóticamente activos (por ejemplo sales) en elevada concentración en el suelo dificultará la germinación. Sin embargo, la capacidad de las semillas de absorber agua del suelo varía entre especies y el contenido de agua del suelo (Parera y Cantliffe, 1994).

Tipos de priming

- **Priming Osmótico:** Las semillas son colocadas en soluciones con un potencial (ψ_s) reducido y luego de un determinado tiempo enjuagadas y secadas. El bajo ψ_s se logra con el agregado de agentes osmóticos como el polietilenglicol (PEG), un compuesto orgánico de alto peso molecular, inerte y no tóxico para las semillas; o

algunas sales inorgánicas. El osmoprimering es la principal técnica empleada por su simplicidad y resultados (Sanchez *et al.*, 2001).

- **Primering mátrico:** Las semillas son colocadas en una matriz sólida, insoluble (vermiculita, diatomea, polímeros altamente absorbentes de agua, etc.) con una cantidad limitada de agua (ψ_m). Este método determina una lenta imbibición de las semillas.
- **Primering Hídrico:** Consiste en la adición continua de una cantidad limitada de agua a las semillas (ψ_w). La hidratación también puede ser regulada manteniendo a las semillas en una atmósfera saturada (Sanchez *et al.*, 2001).

El proceso de germinación presenta un modelo trifásico, el cual es continuo en las semillas no primadas con una duración variable de cada fase según la especie. En las semillas primadas este proceso no es continuo y se divide en dos etapas (Figura 3). En la primera etapa, solo se realizan las fases I y II, por el alto potencial osmótico de la solución de germinación entre -1,0 a -2,0 MPa y en la segunda etapa se realiza la fase III, en la cual la solución de germinación debe tener un potencial osmótico entre 0.2 a 0.8 MPa (Bewley y Black, 1994).

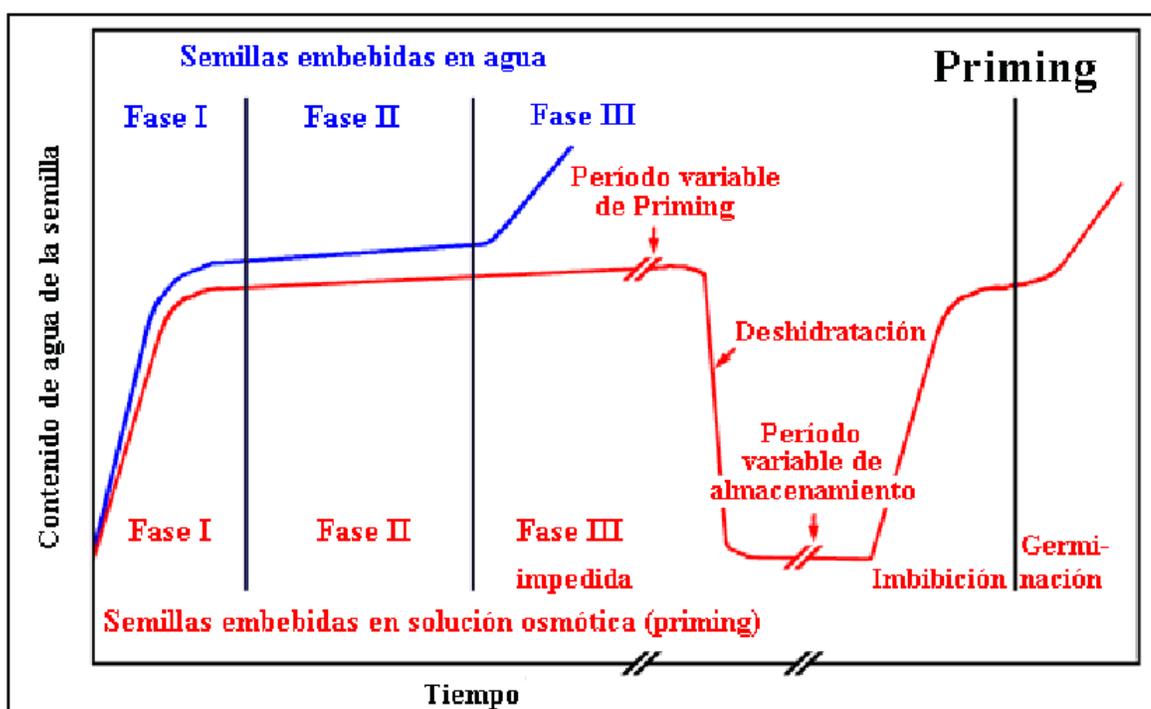


Figura 2.- Esquematación del priming (tomado de Guzmán y Olave, 2004).

La imbibición a altos ψ ocurre relativamente rápido, sin permitir la ocurrencia del priming. Al permitir a las semillas y al medio en que son colocadas las mismas llegar a un equilibrio, la duración de la fase II es prolongada, permitiendo de este modo que tengan lugar los procesos de priming (Figura 2). A bajos ψ (- 1.5 Mpa) el contenido de agua no es suficiente para la ocurrencia de la emergencia radicular (Castañares, 2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área experimental

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, ubicada en el Ejido de la Palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P., en el Km. 14.5 de la carretera San Luis Potosí – Matehuala.

Fases experimentales

Este proyecto se realizó en tres fases:

1. Digestión acida
2. Priming osmótico
3. Adición de hormona de crecimiento ácido giberélico (AG_3) en priming osmótico.

Material general

Material Biológico

En el presente estudio se utilizaron semillas de chile piquín recolectadas en el estado de Tamaulipas (Imagen 2).



Imagen 2.- Chile piquín típico en Noroeste de México.

Materiales específicos

Se describen los materiales utilizados en las tres fases de ensayos sobre la germinación en chile piquín.

Material de Laboratorio

Digestión

Para la digestión previa de las semillas se utilizaron vasos de precipitados de 250 ml, y pipetas de 10 ml, cronometro, cajas Petri.

Priming

Para la ejecución del priming en las semillas de chile piquín se usaron matraces Erlenmeyer de 250 ml con tapones de caucho y mangueras de 8 mm de diámetro para suministrar aire con una bomba de pecera.

Priming mas ácido giberélico (AG₃)

Al igual para la última fase se utilizó el mismo material que se usó para realizar el priming.

Germinación

La germinación de las semillas se evaluó en cajas Petri de 100x15 mm, con papel absorbente y una malla plástica cuadrada de fibra de vidrio para contar el crecimiento de la radícula.

Reactivos

Los reactivos que se utilizaron fueron: nitrato de potasio, nitrato de amonio, sulfato de potasio, sulfato de amonio, cloruro de potasio y cloruro de amonio, que corresponde al primer ensayo de priming, también ácido clorhídrico y peróxido de hidrogeno para simular la digestión del tracto digestivo de las aves; agua destilada para la preparación de las soluciones y pruebas de germinación, cloruro de tetrazolio para la prueba de viabilidad de las semillas y ácido giberélico (AG₃).

Metodología

Extracción de la semilla

La extracción de la semilla fue manual, macerando los frutos, posteriormente se sumergió en agua para separarla de aquellas sin embrión o incompletas y de impurezas. Una vez beneficiada la semilla se le realizaron las siguientes pruebas:



Imagen 3.- Obtención de la semilla de chile piquín.

Digestión Previa

Procedimiento.- para la digestión se sumergieron las semillas en ácido clorhídrico 0.2 N por 5 min (Imagen posteriormente se enjuagaron con agua destilada y se volvieron a sumergir el mismo tiempo pero ahora en peróxido de hidrogeno al 75 % (Imagen se volvieron a enjuagar en agua destilada y se dejaron secar durante 24 h a temperatura ambiente.



Imagen 4.- Semillas en HCl



Imagen 5.- Semillas en H₂O₂

Una vez secadas las semillas se colocaron sobre las cajas Petri, 25 semillas en cada una y se remojaron con agua destilada, cada siete días se realizó un conteo del número de semillas germinadas y se midió la longitud de su radícula.

Acondicionamiento osmótico (Priming)

Se empleó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial; los tratamientos aplicados consistieron en KNO₃, K₂(SO₄), NH₄NO₃, KCl, (NH₄)₂SO₄, NH₄Cl a 5, 10 y 15 atm durante 24, 48 y 72 h. Se realizaron cuatro repeticiones conformando 54 unidades experimentales, además del control. Cada tratamiento consistió de 100 semillas por cada unidad experimental, los tratamientos se resumen en el Cuadro 1.

Cuadro 1.- Tratamientos aplicados en el priming osmótico.

Tratamiento	Potencial osmótico (Ψ_s) (Atm)	Tiempo de acondicionamiento (h)
KNO ₃	5, 10, 15	24, 48, 72
K ₂ SO ₄	5, 10, 15	24, 48, 72
KCl	5,10, 15	24,48, 72
NH ₄ NO ₃	5,10, 15	24,48, 72
(NH ₄) ₂ SO ₄	5, 10, 15	24, 48, 72
NH ₄ Cl	5, 10, 15	24, 48, 72
Control	0	0

Las semillas de chile piquín fueron primadas en soluciones osmóticas a oscuridad a 25 ° C por los diferentes tiempos. Para el cálculo de los potenciales osmóticos se utilizó la ecuación propuesta por Wiggans y Gardner (1995).

$$P = \frac{GRT}{VM}$$

En donde:

G= gramos de soluto a utilizar (gr)

P= presión osmótica deseada (atm)

V= volumen en litros (l)

M= peso molecular del químico utilizado (g/mol)

R= 0.0825 atm L mol⁻¹ K⁻¹

T= temperatura absoluta a la que se prepara la solución (°K)

Procedimiento

Las soluciones se prepararon disolviendo las diferentes sales en los matraces que contenían 50 ml de agua destilada. Una vez preparadas las soluciones, las semillas fueron colocadas al interior de los matraces con un sistema de aireación compuesto por una bomba de pecera, con manguera de 8 mm de diámetro para proporcionar oxigenación a las semillas (Imagen 7).

Después de ser tratadas las semillas, se lavaron en agua corriente por tres minutos y después por un minuto en agua destilada para eliminar los residuos de los materiales utilizados durante el acondicionamiento, por último se dejaron a secar durante 24 h a temperatura ambiente.



Imagen 6.- Osmoacondicionamiento (Priming)

Posteriormente las semillas que ya se encontraban acondicionadas se colocaron sobre cajas petri para evaluar la emergencia y cuantificar el porcentaje de germinación.

Evaluación de la germinación

En las pruebas de germinación se evaluó la incidencia de los factores tiempo, solución osmótica, potencial osmótico y las interacciones entre estos factores sobre la respuesta en la germinación de las semillas con priming y el control.

Para la prueba de germinación se utilizaron cuatro repeticiones de cada tratamiento, colocando 25 semillas por caja Petri (Imagen 7).

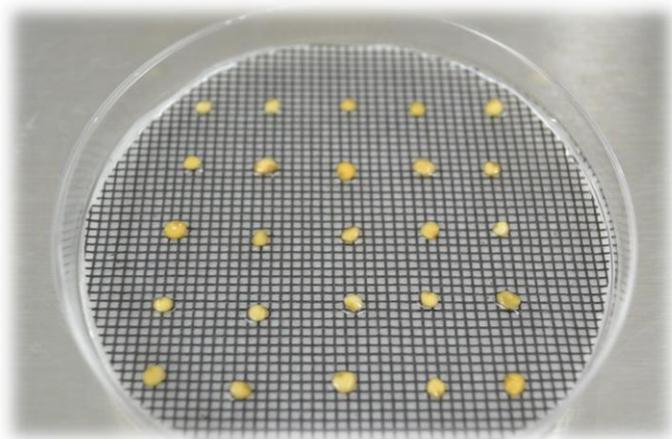


Imagen 7.- Prueba de germinación en chile piquín.

Las mediciones se realizaron de forma semanal y se determinó el número de semillas germinadas y el crecimiento de la radícula, al final de la prueba (28 días), se realizó un conteo de las plántulas anormales, las semillas latentes y las semillas muertas por medio de la prueba de viabilidad de semillas, con cloruro de tetrazolio.

Prueba con cloruro de tetrazolio

Para realizar esta prueba se siguió el procedimiento (ISTA, 2004) como se describe:

- Acondicionamiento de la semilla. Consistió en inhibir la semilla para permitir seccionarlas y hacerlas permeables al paso de la solución de tetrazolio.
- Preparación de la solución de tetrazolio. Se preparó a una concentración del 0.1 % con agua destilada.
- Preparación de la semilla para su tinción. Para lograr una buena tinción del embrión, se realizó bisección de la semilla para exponer los tejidos embrionarios al contacto con la solución de tetrazolio.
- Tinción. Las semillas seccionadas se colocaron en cajas Petri, sobre las cuales fue vertida la solución de tetrazolio y se mantuvieron en obscuridad durante 12 h.
- Interpretación de la prueba. Los embriones completamente coloreados se consideraron como semillas viables; mientras que las semillas con vitalidad declinante (muertas) fueron aquellas que presentaron manchas no coloreadas, o aquellas no teñidas en el ápice de la radícula.

Priming con ácido giberelico (AG₃)

Para esta prueba se seleccionaron dos de los tratamientos que generaron mayores porcentajes de germinación en la prueba anterior de acondicionamiento osmótico; para realizar esta última etapa, se utilizó un factorial de 3x3, los cuales fueron KNO₃ a 15 atmo, NH₄NO₃ a 10 atmo y el control; con la adición de la hormona AG₃ a una concentración de 100 ppm y 200 ppm y sin la presencia de AG₃ (0 ppm).

Cuadro 2.- Tratamiento de Priming con la adición de AG₃

Tratamiento	Potencial osmótico (Ψ_s) (Atm)	Concentración AG ₃ (ppm)
1.- KNO ₃	15	0
2.- NH ₄ NO ₃	10	0
3.- Control absoluto	0	0
4.- KNO ₃	15	100
5.- NH ₄ NO ₃	10	100
6.- Control relativo AG ₁₀₀	0	100
7.- KNO ₃	15	200
8.- NH ₄ NO ₃	10	200
9.- Control relativo AG ₂₀₀	0	200

AG₃: Acido giberelico, ppm: partes por millón.

La metodología fue la misma que se usó en la segunda fase de Priming:

Las semillas de chile piquín fueron osmoacondicionadas en soluciones osmóticas en la oscuridad por un periodo de 72 h. Después del priming, las semillas fueron lavadas en agua corriente por tres minutos y luego con agua destilada. Finalmente se dejaron secar durante 48 h a temperatura ambiente y puestas a germinar.

Variables evaluadas

- Porcentaje de germinación (PG): Esta variable se obtuvo dividiendo el número de semillas germinadas entre el número total de semillas de la prueba multiplicado por 100.
- Porcentaje de plántulas anormales (PPAN): Aquellas plántulas que presentaron malformaciones en sus estructuras esenciales como raíz y plúmula, lo que impide su desarrollo normal fueron consideradas en esta categoría, y se expresaron en porcentaje.
- Porcentaje de las semillas latentes (PSL): Se consideraron aquellas semillas que al final de la prueba de germinación permanecieron sin emitir la radícula, ni algún otra estructura, y que además no fueron consideradas semillas muertas, para lo cual se realizó la prueba de viabilidad con cloruro de tetrazolio al 0.1%. Los resultados se expresaron en porcentaje.
- Porcentaje de semillas muertas (PSM): En esta variable se consideraron aquellas semillas que presentaron ataque por hongos, además de los resultantes de la prueba de viabilidad. Se cuantificaron por la suma de los dos conteos.

- Longitud de la radícula (LR): esta variable se obtuvo sumando el crecimiento de la radícula de las semillas y se dividió entre el número de las semillas germinadas expresado en cm.
- Índice de germinación (ÍG): es la relación que existe entre la longitud de la radícula con el porcentaje de germinación.
- Tiempo en alcanzar el 50 % de germinación (TG50): número de días transcurridos hasta llegar al 50% de germinación final se registraron de acuerdo con (Hsu *et al.*, 1985).

Análisis estadístico

En la primera fase de digestión de semillas se realizó un análisis de varianza con el paquete estadístico Statgraphics centurión.

En las fases dos y tres los datos se analizaron con el paquete estadístico Statgraphics Plus Versión 16.1.18 ©. Se realizó un ANOVA multifactorial para establecer la variabilidad de los factores principales y su interacción. Cuando se encontraron diferencias significativas en los factores principales o en la interacción entre ellos, se realizó un test de secuencia de medias LSD. Las diferencias en la interacción no se analizaron estadísticamente y solo se realizó la interpretación de las gráficas de interacción y al error estándar de los factores interaccionantes.

RESULTADOS

Efectos de los tratamientos de pre-germinación en semillas de chile piquín

Digestión de semillas

En este ensayo las semillas fueron sometidas a una previa digestión que simula el tracto digestivo de las aves, con ácido clorhídrico (HCl) y peróxido de hidrogeno (H₂O₂), para después ponerlas a germinar junto con el control. En el cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos de germinación para el ensayo de la digestión de semillas.

Cuadro 3.- Análisis de varianza y del test LSD al 95 % en el Porcentaje de Germinación (PG), Longitud de la Radícula (LR) e Índice de Germinación (IG) en semillas de chile piquín.

Fuentes de variación	(PG) (%)	(IG) (%)	(LR) (cm)
Semillas Digestadas	5.0 ^a	77.3 ^a	2.8 ^a
Semillas sin Digestar	6.0 ^a	100 ^a	3.0 ^a

Valores medios seguidos por diferentes letras en la misma columna difieren significativamente

La técnica de digestar las semillas no aumento en el porcentaje de germinación, longitud de radícula e índice de germinación respecto al control (semillas sin digestar).

Para el índice de germinación las semillas digestadas presentaron 22.7 % por debajo del índice de las semillas sin digestar (semillas testigo). A pesar de no tener significación estadística, la digestión de semillas generó un efecto depresivo sobre la germinación.

Priming osmótico

En este ensayo las semillas fueron osmoacondicionadas (priming) con seis sales inorgánicas: K₂(S0₄), KCl, KNO₃, NH₄Cl, NH₄NO₃, NH₄SO₄ con cuatro potenciales osmóticos (Ψ_s) 0 atm, 5 atm, 10 atm y 15 atm, y tres tiempos de acondicionamiento, 24, 48 y 72 h, y luego germinadas junto con las semillas control.

De acuerdo a los resultados en el análisis multifactorial, existen diferencias significativas entre factores para las variables evaluadas.

En el Cuadro 4 se muestran los resultados obtenidos para los parámetros evaluados considerando los factores: tiempo de acondicionamiento, solución salina (sal fertilizante) y potencial osmótico; cada uno con su respectivo nivel de acción.

Cuadro 4.- Análisis de varianza (ANOVA) multifactorial para: porcentaje de germinación (PG), semillas latentes (SL), semillas muertas referido al total de semillas (SM), longitud de radícula (LR), porcentaje de plántulas anormales (PPAN) e índice de germinación (ÍG) referido a las semillas germinadas.						
FdV Nivel de acción	PG (%)	SL (%)	SM (%)	LR (cm)	PPAN (%)	IG (%)
Tiempo de acondicionamiento (h)	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
0	9.0 ^a	48.0 ^c	43.0 ^d	1.5 ^a	12.5 ^a	100.0 ^a
24	34.0 ^b	47.8 ^c	18.2 ^a	1.5 ^a	36.9 ^c	432.5 ^b
48	38.6 ^c	36.9 ^b	24.5 ^b	1.6 ^a	30.4 ^{b,c}	523.2 ^c
72	40.1 ^c	30.6 ^a	29.3 ^c	1.9 ^b	27.2 ^b	614.4 ^d
Sal Fertilizante	<0.05	n.s	<0.05	n.s	n.s	<0.05
K ₂ S ₀ ₄	35.7 ^a	38.1 ^a	31.2 ^b	1.8 ^a	30.1 ^a	545.3 ^{b,c,d}
KCl	32.6 ^a	40.3 ^a	31.7 ^b	1.6 ^a	32.6 ^a	437.1 ^{a,b}
KNO ₃	45.9 ^b	39.0 ^a	22.8 ^a	1.8 ^a	29.9 ^a	662.5 ^d
NH ₄ Cl	35.9 ^a	39.3 ^a	30.1 ^b	1.6 ^a	29.9 ^a	482.3 ^{a,b,c}
NH ₄ NO ₃	43.3 ^b	38.6 ^a	25.1 ^a	1.7 ^a	32.3 ^a	599.2 ^{c,d}
NH ₄ SO ₄	32.2 ^a	40.2 ^a	31.4 ^b	1.6 ^a	34.4 ^a	413.9 ^a
(Ψ _s) Osmótico (atm)	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
0	8.7 ^a	48.0 ^b	43.3 ^c	1.5 ^{a,b}	16.7 ^a	100.0 ^a
5	34.7 ^b	44.4 ^b	20.8 ^a	1.5 ^a	37.7 ^c	452.6 ^b
10	38.8 ^c	37.4 ^a	23.8 ^a	1.7 ^{b,c}	27.4 ^b	528.2 ^{b,c}
15	39.2 ^c	33.4 ^a	27.3 ^b	1.8 ^c	29.5 ^b	589.3 ^c
Catión	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
NH ₄ ⁺	29,9 ^a	40.6 ^a	28.6 ^a	1.6 ^a	29.4 ^a	398,8 ^a
K ⁺	30,8 ^a	41.0 ^a	29.0 ^a	1.7 ^a	26.3 ^a	436,2 ^a
Anión	<0.05	n.s	<0.05	n.s	n.s	<0.05
SO ₄ ⁼	27,6 ^a	40.9 ^a	31.5 ^b	1.7 ^a	28.9 ^a	384,7 ^a
Cl ⁻	27,9 ^a	41.2 ^a	30.9 ^b	1,6 ^a	26.5 ^a	369,8 ^a
NO ₃ ⁻	35,6 ^b	40.3 ^a	24.0 ^a	1.7 ^a	28.0 ^a	498,1 ^b
Repetición	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

Valores medios seguidos por diferentes letras en la misma columna difieren significativamente ($P < 0.05$); n.s: $P > 0.05$

Porcentaje de germinación

Los mayores resultados para el porcentaje de germinación se obtuvieron a las 48 y 72 h en el tiempo de acondicionamiento de las semillas, para la sal fertilizante el tratamiento con KNO₃ y NH₄NO₃ fueron superiores a las demás sales usadas. El potencial osmótico con 10 y 15 atm generó un mayor incremento que 5 atm. Todos los tratamientos de priming salino incrementan el porcentaje de germinación entre cuatro y cinco veces respecto de las semillas no iniciadas (Cuadro 4).

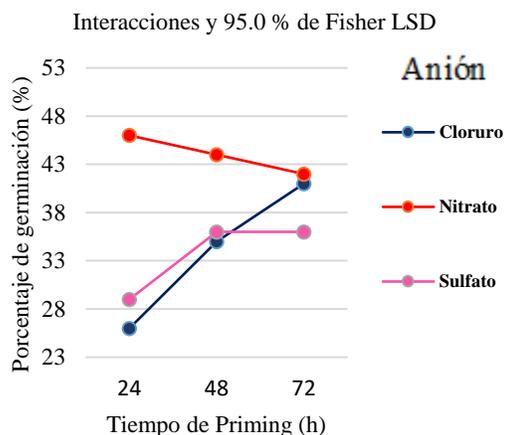


Figura 3.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre el PG durante el priming osmótico.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

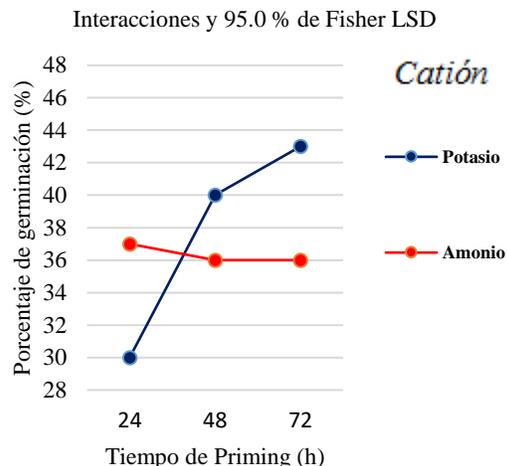


Figura 4.- Interacción de los factores tiempo y catión sobre el PG durante el priming osmótico.

A pesar que los mayores valores del porcentaje de germinación se obtienen con 48 y 72 h de priming salino, el mayor incremento en porcentaje de germinación, se consigue a las 24 h y 48 h con el anión NO_3^- , respecto de las sales que contienen Cl^- o SO_4^- (Figura 3). Para el caso del catión, el K^+ muestra un incremento en el porcentaje de germinación de las 24 h hasta las 72 h, mientras que el NH_4^+ no se observa una diferencia significativa en cualquiera de los tiempos de acondicionamiento (Figura 4).

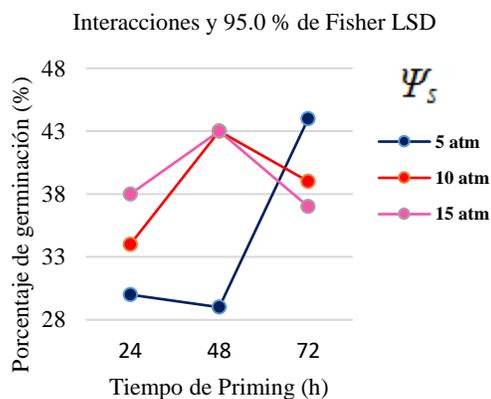


Figura 5.- Interacción de los factores tiempo y Ψ_s sobre el PG durante el priming osmótico.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

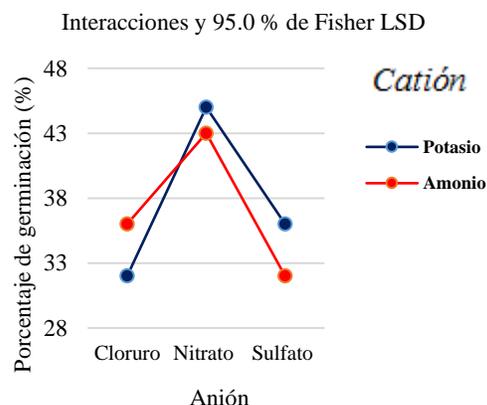


Figura 6.- Interacción de los factores anión y catión sobre el PG durante el priming osmótico.

Para el porcentaje de germinación utilizando un potencial de 5 atm, se observa que hay un incremento a las 72 h, muy similares a lo que ocurren con 10 y 15 atm en un tiempo de 48 h (Figura 5 5). En cuanto a la interacción de aniones con cationes, existe un incremento en el porcentaje de germinación por parte del anión NO_3^- con K^+ Y NH_4^+ , mientras que para los dos cationes no hay un aumento ni con Cl^- ni con SO_4^- (Figura 6).

Semillas latentes

En cuanto a las semillas latentes, el tratamiento que consistió en 72 h de acondicionamiento mostró un menor porcentaje; sin embargo, para la solución salina no existen diferencias significativas en el tipo de sales, si para la concentración del potencial osmótico que fue de 10 y 15 atm generando 38.8 y 39.2 % respectivamente (Cuadro 4).

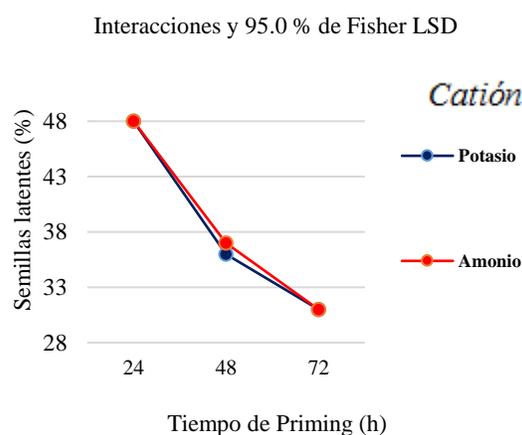
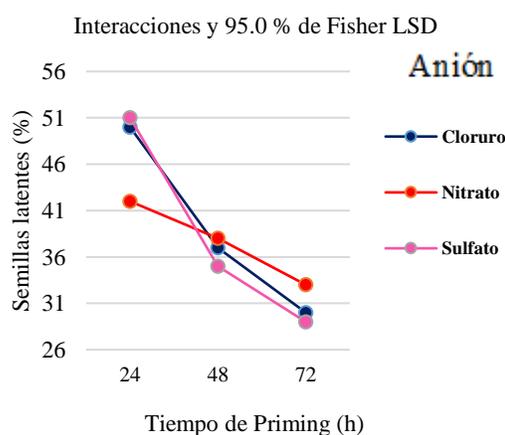


Figura 7.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre SL durante el priming osmótico.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

Figura 8.- Interacción de los factores tiempo y cación sobre SL durante el priming osmótico.

A pesar de que no se presentaron diferencias significativas con respecto a las sales fertilizantes para la variable porcentaje de semillas latentes, si existió una disminución de la latencia con priming durante 72 h, al usar el Cl^- y SO_4^- , aunque ligeramente el NO_3^- presento porcentajes similares en las 72 h (Figura 7). En cuanto a los cationes tanto el K^+ como el NH_4^+ presentan una disminución de la latencia a las 72 h, mientras que a las 24 y 48 h el porcentaje aumenta considerablemente (Figura 8).

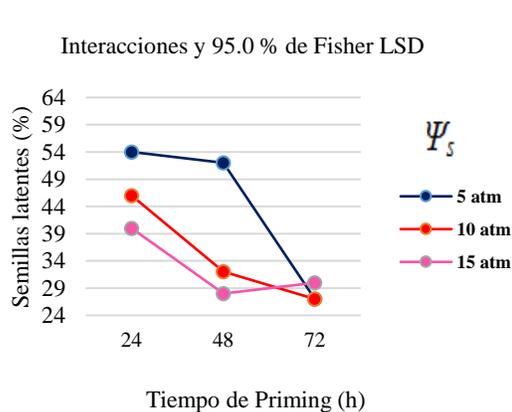


Figura 9.- Interacción de los factores tiempo y Ψ_s sobre SL durante el priming osmótico.

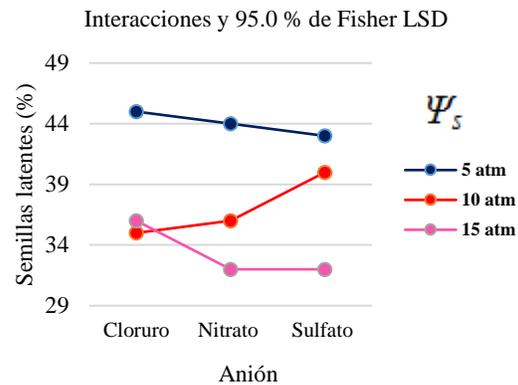


Figura 10.- Interacción de los factores anión y Ψ_s sobre SL durante el priming osmótico.

El porcentaje de semillas latentes disminuyó al emplear un potencial de 15 atm durante 48 h, mientras que para el potencial de 5 atm se generó un porcentaje más alto; a las 72 h los tres potenciales no muestran una diferencia significativa entre sí, pero si significativa para las 24 h (Figura 9). Para los aniones existe una diferencia que logro disminuir las semillas latentes con el NO_3^- y $\text{SO}_4^{=}$ a las 15 atm, pero no para el Cl^- , y con un potencial de 5 atm se originó un alto porcentaje de semillas muertas (Figura 10).

Semillas Muertas

El menor porcentaje de semillas muertas se obtuvo al acondicionarlas durante 24 h. Dentro de las sales fertilizantes el KNO_3 y NH_4NO_3 disminuyeron más el porcentaje respecto a K_2SO_4 , KCl , NH_4Cl y NH_4SO_4 , y para el potencial osmótico se observó un menor porcentaje al usar 5 y 10 atm (Cuadro 4).

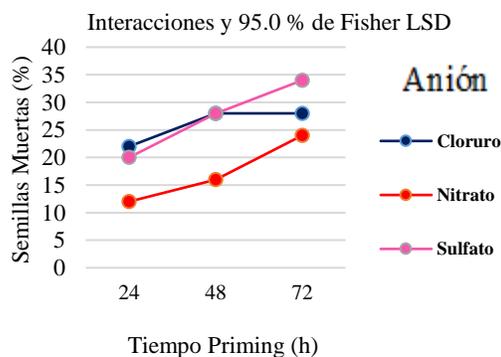


Figura 11.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre SM durante el priming osmótico.

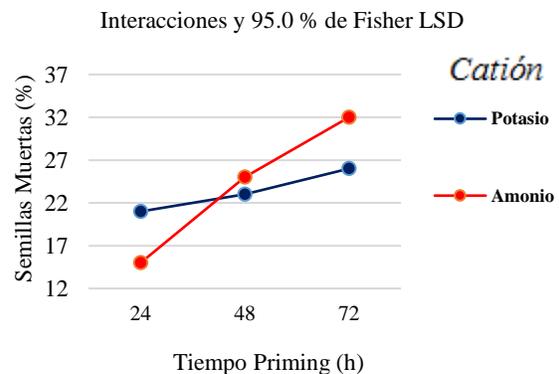


Figura 12.- Interacción de los factores tiempo y catión sobre SM durante el priming osmótico.

A pesar de que a las 24 h se presentó el menor porcentaje de semillas muertas, se observa que al igual que para las 24 h a las 48 y 72 h se consiguen el valor con menor porcentaje con el anión NO_3^- , mientras que para los demás aniones aumenta el porcentaje de semillas (Figura 11). Para el caso de los cationes el menor porcentaje de semillas muertas se presenta a las 24 h con NH_4^+ , mientras que a las 48 y 72 h aumenta el porcentaje, para el K^+ hay una mínima diferencia entre los tiempos, pero todos por encima que los porcentajes que muestra el NH_4^+ (Figura 12).

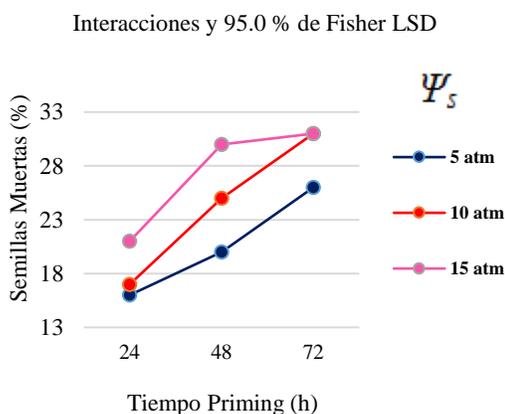


Figura 13.- Interacción de los factores tiempo y Ψ_s sobre SM durante el priming osmótico.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

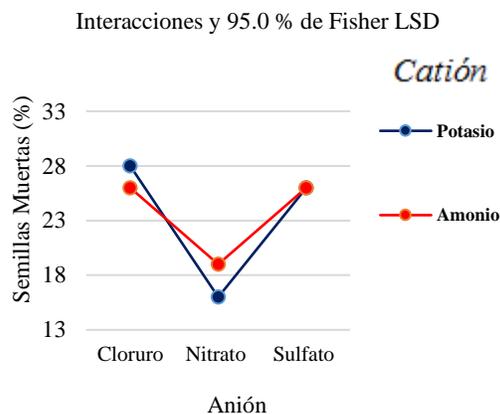


Figura 14.- Interacción de los factores anión y cation sobre el PG durante el priming osmótico.

A las 24 h se observa que hay una disminución en el porcentaje de semillas muertas, con los potenciales 5 y 10 atm, mientras que para las 48 h y 72 h se incrementa el porcentaje de semillas muertas (Figura 13). En cuanto a los aniones existe una diferencia significativa con el anión NO_3^- al disminuir el porcentaje cuando se utiliza el K^+ , aunque ligeramente el NH_4^+ también disminuye, por otro lado el Cl^- y el SO_4^- presentan los valores más altos de semillas muertas (Figura 14).

Longitud de Radícula

Para la variable longitud de radícula no se presentó diferencia significativa en cuanto al tipo de sal utilizada durante el acondicionamiento de semillas, pero si para la duración del tratamiento, que fue mayor a las 72 h, y para el potencial osmótico los valores más altos de crecimiento radicular se consiguió con 10 y 15 atm (Cuadro 4).

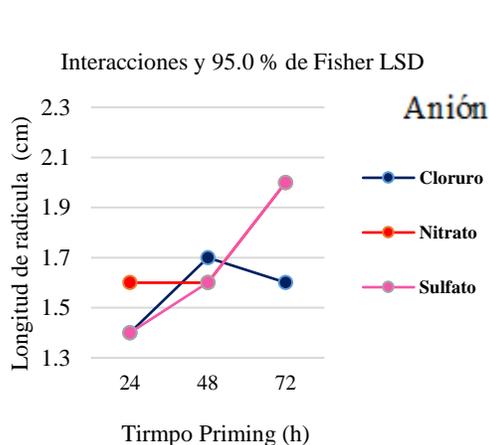


Figura 15.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre LR durante el priming osmótico.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

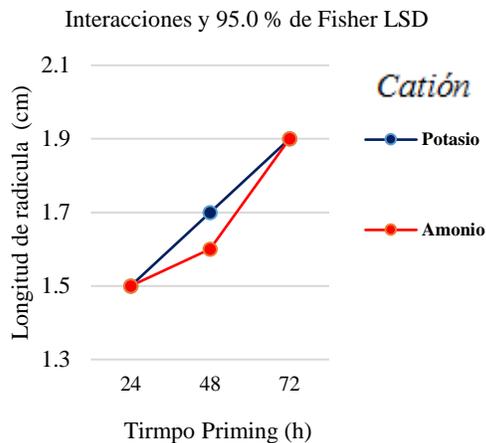


Figura 16.- Interacción de los factores tiempo y catión sobre LR durante el priming osmótico.

Para el crecimiento de la radícula se muestra una diferencia significativa, incrementando la longitud a las 72 h con NO_3^- y con SO_4^{2-} , mientras que para las 24 y 48 h no hay una diferencia en el crecimiento con los diferentes aniones (Figura 15). En cuanto a los cationes, los valores más altos de la radícula se presentan en ambos cationes con un incremento a las 72 h, no para las 24 y 48 h (Figura 16).

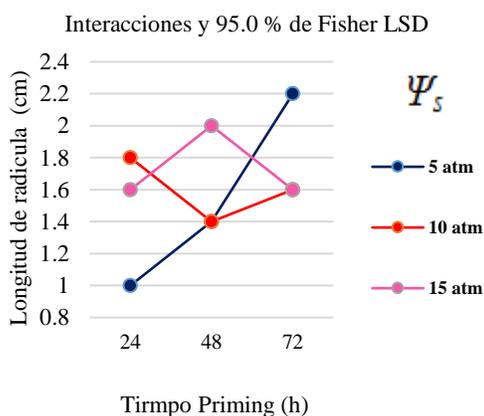


Figura 17.- Interacción de los factores tiempo y Ψ_s sobre LR durante el priming osmótico.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

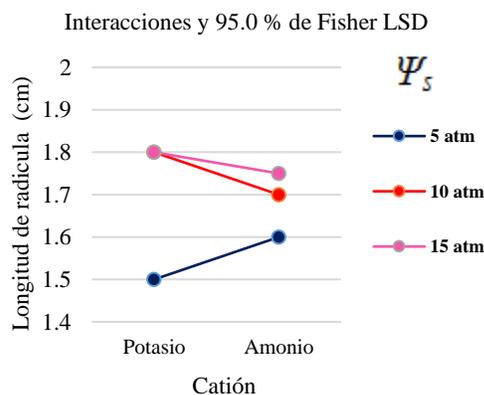


Figura 18.- Interacción de los factores catión y Ψ_s sobre LR durante el priming osmótico.

Al utilizar un potencial osmótico de 5 atm se observó un incremento en la longitud de la radícula a las 24 h así como en el tratamiento de 72 h, mientras que para las 48 h se consigue con un potencial de 15 atm el valor más alto de la longitud (Figura 17). En cuanto el catión K^+ con los potenciales 10 y 15 atm incrementa el crecimiento de la radícula con respecto a las 5 atm, y para el NH_4^+ se logra una diferencia con el potencial de 15 atm (Figura 18).

Índice de germinación

En el índice de germinación nuevamente se presentó el mayor valor a las 72 h de priming, lo mismo ocurrió con las sales fertilizantes generando un valor más alto con KNO_3 , y un potencial osmótico de 15 atm (Cuadro 4).

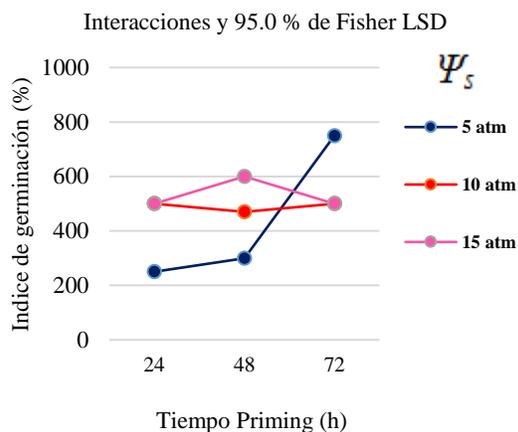
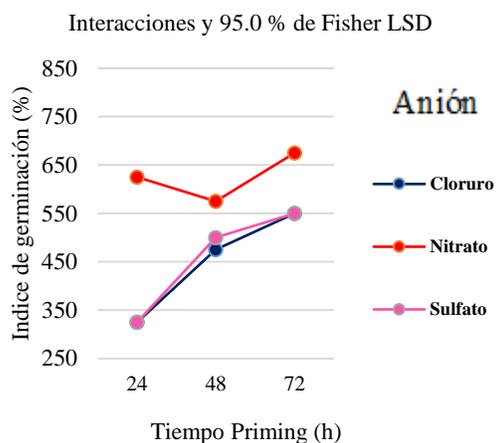


Figura 19.- Interacción de los factores tiempo y anión sobre IG durante el priming osmótico.

Figura 20.- Interacción de los factores tiempo y Ψ_s sobre IG durante el priming osmótico.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

Los valores más altos del índice de germinación, se obtuvieron con NO_3^- durante 72 y 24 h, mientras que para 24, 48 y 72 h con respecto a los aniones Cl^- y SO_4^- fueron menores que en el caso del anión NO_3^- (Figura 19). En cuanto al potencial osmótico existe un incremento a 5 atm con 72 h, muy parecido al valor que origino el potencial de 15 atm a 48 h (Figura 20).

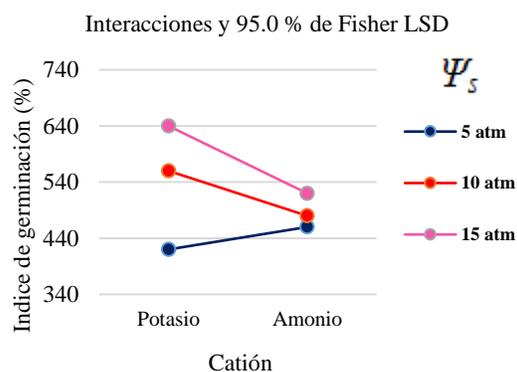
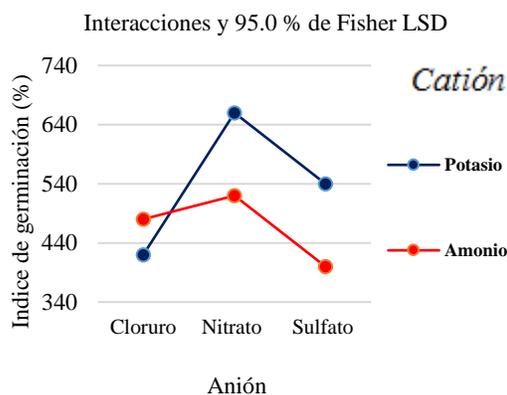


Figura 21.- Interacción de los factores anión y catión sobre IG durante el priming osmótico.

Figura 22.- Interacción de los factores catión y Ψ_s sobre IG durante el priming osmótico.

El K^+ muestra un incremento en el índice de germinación en el anión NO_3^- , pero para Cl^- ni SO_4^- . El NH_4^+ también lo presenta con el anión de NO_3^- , pero ligeramente inferior al K^+

(Figura 21). Por otro lado, existe un incremento en el anión K^+ generando el valor más alto con 15 atm, mientras que para el NH_4^+ no se presentan diferencias (Figura 22).

Plántulas anormales

El menor valor para el porcentaje de plántulas anormales, se presentó a las 72 h de priming, mientras que con ningún tipo de sal se originó diferencia significativa, pero si con Ψ_s de 10 y 15 atm (Cuadro 4).

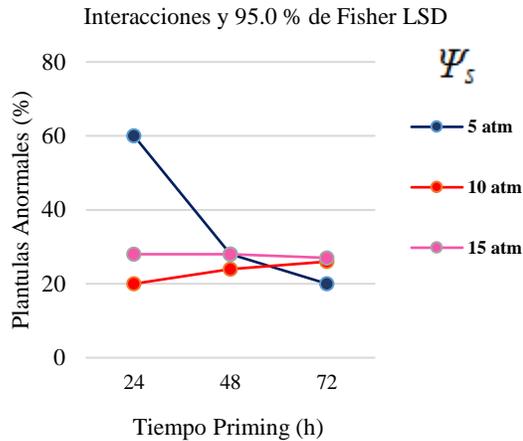


Figura 23.- Interacción de los factores tiempo y Ψ sobre PPAN durante el priming osmótico.

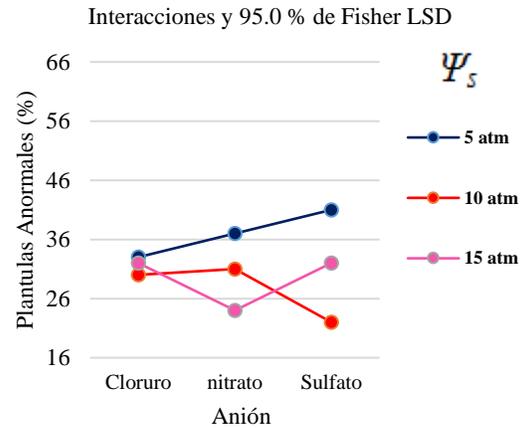


Figura 24.- Interacción de los factores anión y Ψ sobre PPAN durante el priming osmótico.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

Para el porcentaje de plántulas anormales a las 24 h existe una disminución con 10 atm con respecto a las 5 y 15 atm, mientras que para las 48 y 72 h no se presenta una diferencia con los potenciales osmóticos (Figura 23). El anión sulfato generó una mayor disminución a las 10 atm comparado con los tratamientos a 15 y 5 atm, mientras que para el anión NO_3^- se originó un menor valor con 15 atm (Figura 24).

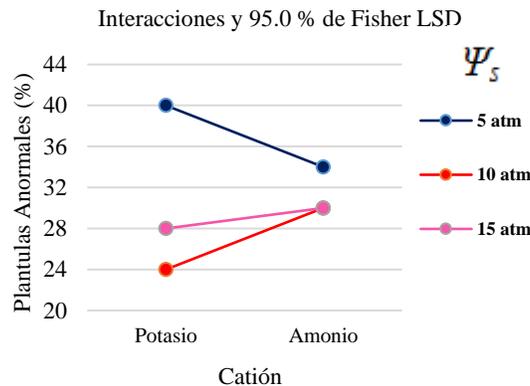


Figura 25.- Interacción de los factores cation y Ψ_s sobre PPAN durante el priming osmótico.

Con el cation K^+ se presentó un menor valor de plántulas anormales, con 10 atm que a 15 y 5 atm, y para el NH_4^+ con 10 y 15 atm se diferencia del potencial de 5 atm (Figura 25).

De acuerdo a uno de los objetivos específicos, en el cuadro 5, se muestran los Ψ_s (atm) de cada sal a la cual se logró un mayor incremento en el porcentaje de germinación, en relación al priming.

Cuadro 5.- Concentraciones de nitratos, sulfatos y cloruros de (potasio y amonio) que permitió el acondicionamiento osmótico de semillas de chile piquín.			
Sal Fertilizante	Tiempo de acondicionamiento (h)	Potencial osmótico Ψ_s (atm)	Porcentaje de germinación (%)
K ₂ SO ₄	48	15	54
NH ₄ SO ₄	48	10	45
KCl	72	5	55
NH ₄ Cl	72	5	42
KNO ₃	48	15	59
NH ₄ NO ₃	24	10	49

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza multifactorial para las variables evaluadas: porcentaje de germinación, semillas latentes, semillas muertas, longitud de radícula, porcentaje de plántulas anormales e índice de germinación, los niveles de acción de cada factor que permitió el acondicionamiento osmótico, se consideran como las concentraciones de nitratos, sulfatos y cloruros de (potasio y amonio).

Para el factor tiempo, en cuanto al porcentaje de germinación el mayor aumento se logró al utilizar tiempos de 48 h y 72 h; para las semillas latentes el menor porcentaje se consiguió con 72 h, con respecto a las semillas muertas se logró a las 24 h, para el crecimiento de la radícula nuevamente se consiguió a las 72 h de acondicionamiento, lo mismo para las plántulas anormales e índice de germinación; es por eso que el nivel de acción para el tiempo de acondicionamiento en las semillas de chile piquín durante el priming osmótico a las 72 h logra un mejor resultado para la todas las variables evaluadas.

Para el factor solución salina (fertilizante) con respecto al porcentaje de germinación, el nitrato de potasio KNO₃ y el nitrato de amonio NH₄NO₃ fueron las soluciones que presentaron el mayor valor, mientras que para el índice de germinación el KNO₃ muestra el mayor valor; para los porcentajes de semillas latentes, longitud de radícula y plántulas anormales no muestra una diferencia significativa entre los niveles de acción de la sal fertilizante, es por eso que las soluciones salinas nitrato de potasio KNO₃ y NH₄NO₃ son las sales fertilizantes que muestran los mejores resultados en las variables evaluadas.

Para el factor de potencial osmótico, en cuanto al porcentaje de germinación los niveles de acción de 10 y 15 atm muestran el mayor valor, mientras que para el crecimiento de la radícula e índice de germinación se presentó con 15 atm, en cuanto a las semillas muertas el menor porcentaje se mostró con 5 y 10 atmósferas, los niveles de acción del potencial osmótico que presentaron los mejores resultados para las variables evaluadas fueron 10 y 15 atm.

Cuadro 6. Análisis de la varianza y del test LSD al 95 % en el Porcentaje de germinación (PG), porcentaje de semillas muertas (SM), índice de germinación (IG), tiempo en alcanzar 50 % de germinación (GT₅₀) y longitud de radícula de los valores más que permitieron el mayor porcentaje de germinación.

Fuentes de variación	(PG) (%)	(SM) (%)	(IG) (%)	(GT ₅₀) (%)	(LR) (cm)
KNO ₃	59 ^a	13 ^a	880 ^b	17.74 ^a	1.86 ^{c,b}
KCl	55 ^a	13 ^a	851 ^b	21.29 ^c	1.96 ^b
K ₂ SO ₄	54 ^{a,b}	25 ^b	1200 ^a	19.05 ^b	2.7 ^a
NH ₄ NO ₃	49 ^{a,b}	6 ^a	718 ^c	21.4 ^c	1.81 ^{d,c,b}
NH ₄ SO ₄	45 ^b	23 ^b	538 ^d	21.7 ^c	1.4d ^c
NH ₄ Cl	42 ^b	30 ^b	548 ^d	16.72 ^a	1.72 ^{d,c,b}
Control	9 ^c	48 ^c	100 ^e	21.63 ^c	1.54 ^d

Valores medios seguidos por diferentes letras en la misma columna difieren significativamente.

Priming osmótico/ ácido giberélico (AG₃)

En este ensayo las semillas de chile piquín fueron osmoacondicionadas con los fertilizantes NH₄NO₃ (10 atm) y KNO₃ (15 atm) y AG₃ (0, 100 y 200 ppm) y luego germinadas junto con el control.

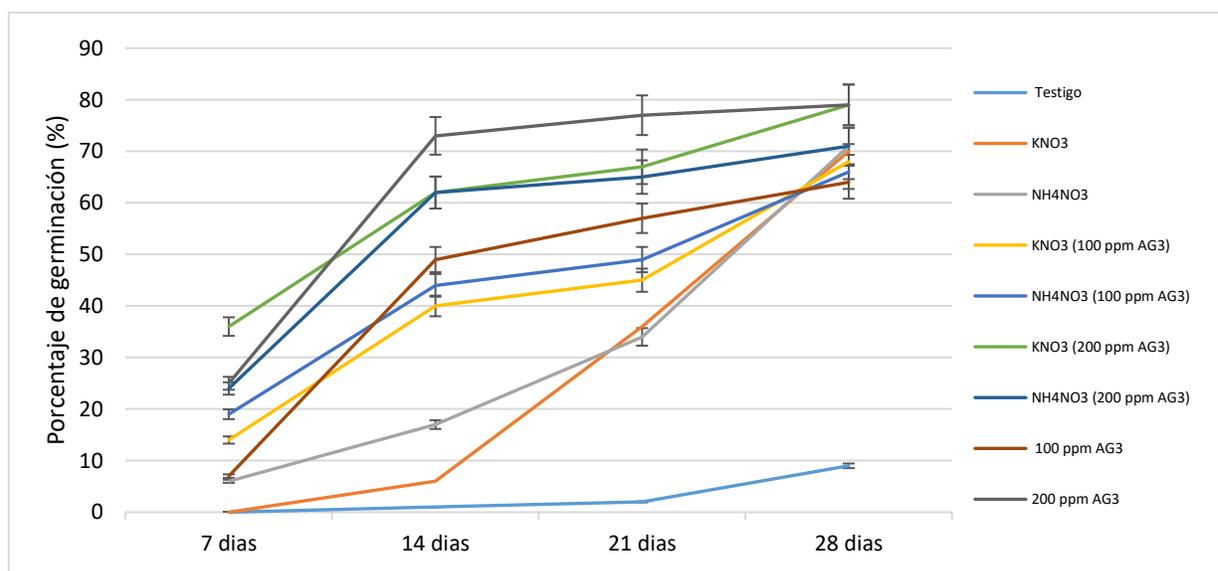


Figura 26.- Porcentaje de germinación durante el tiempo.

Las figuras 26 y 27 muestran la evolución de la germinación y el crecimiento de la radícula entre los 7 a 28 días de los tratamientos de priming y el control.

Los resultados muestran que hay una respuesta diferencial de las semillas acondicionadas comparadas con el control dependiendo del priming aplicado. Todos los tratamientos de priming iniciaron la germinación antes que el control, excepto el tratamiento KNO_3 que presento un 0 % de germinación. El priming con KNO_3 (200 ppm AG_3) fue el que más alto porcentaje presento a los 7 días después de la siembra con un 36 % de germinación. El tratamiento de priming con menor porcentaje de germinación fue el NH_4NO_3 con un 6 % de germinación.

Para los 14 y 21 días el tratamiento con 200 ppm AG_3 presento el mayor porcentaje de germinación con 73 y 77% respectivamente (Figura 26). Para los 28 días los tratamientos con el mayor porcentaje de germinación fueron 200 ppm AG_3 y KNO_3 (200 ppm AG_3) con 79% ambos seguidos del tratamiento KNO_3 con 70%.

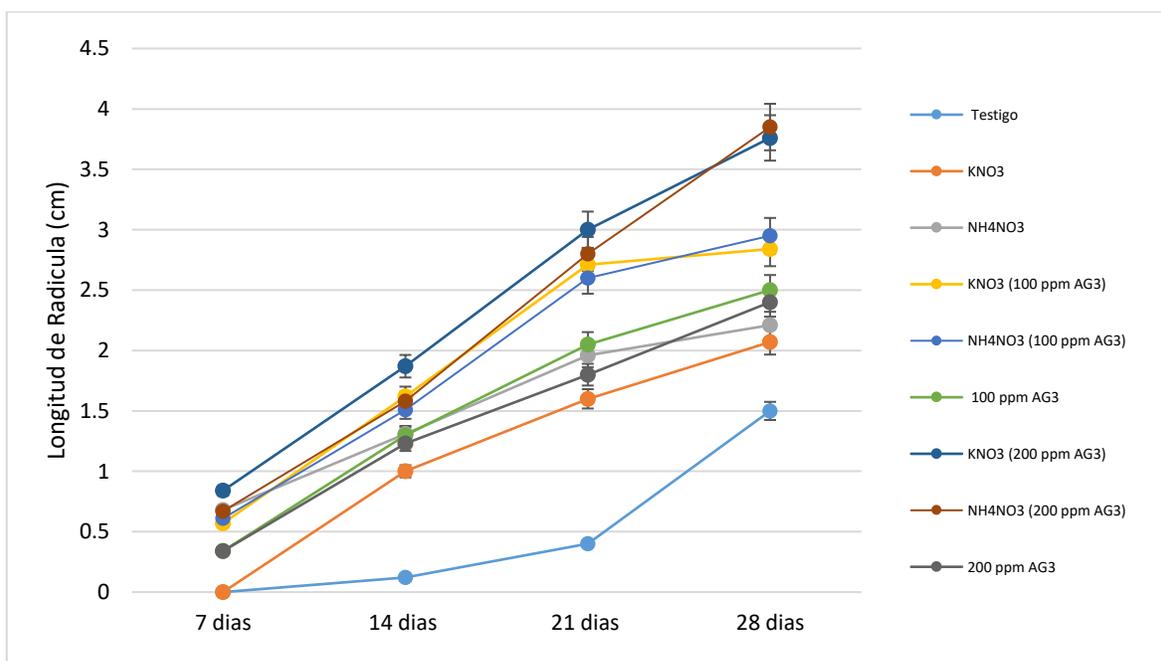


Figura 27.- Crecimiento de radícula durante el tiempo

La evolución en el crecimiento de la radícula se muestra en la (Figura 27), donde los tratamientos NH_4NO_3 (100 ppm AG_3), KNO_3 (100 ppm AG_3) KNO_3 (200 ppm AG_3) y NH_4NO_3 (200 ppm AG_3) presentan los mayores crecimientos de las radículas hasta los 21 días, ya que a los 28 días únicamente NH_4NO_3 (200 ppm AG_3) y KNO_3 (200 ppm AG_3) presentan los valores más altos para la longitud de radícula

Nitrato de potasio más ácido giberélico KNO₃ + AG₃

Cuadro 6.- Comportamiento del porcentaje de germinación (PG) y longitud de radícula (LR) en KNO ₃ + AG ₃		
FdV	PG (%)	LR (cm)
Nivel de acción		
Ddg (días)	<0.05	<0.05
0	0.0 ^a	0.0 ^a
7	15.1 ^b	0.5 ^b
14	38.5 ^c	1.3 ^c
21	48.3 ^d	2.2 ^d
28	66.2 ^e	2.7 ^e
AG ₃ (ppm)	<0.05	<0.05
0	18.2 ^a	0.9 ^a
100	34.4 ^b	1.5 ^b
200	48.2 ^c	1.7 ^c
KNO ₃ (15 atm)	n.s	<0.05
Si	32.4 ^a	1.2 ^a
No	34.9 ^a	1 ^b
Repetición	n.s	n.s

Valores medios seguidos por diferentes letras en la misma columna difieren significativamente ($P<0.05$); n.s: $P>0.05$

Porcentaje de germinación

El inicio de la germinación se presentó en el séptimo día con un 15%, y fue incrementando un 23, 10 y 18 % para los 14, 21 y 28 días, respectivamente, donde el máximo valor fue de 66%. La presencia de KNO₃ no genera una diferencia significativa en el porcentaje de germinación, mientras que el nivel de 200 ppm de AG₃ generó el más alto valor con 48% de germinación, superando a las 100 ppm AG₃ con 34% (Cuadro 6).

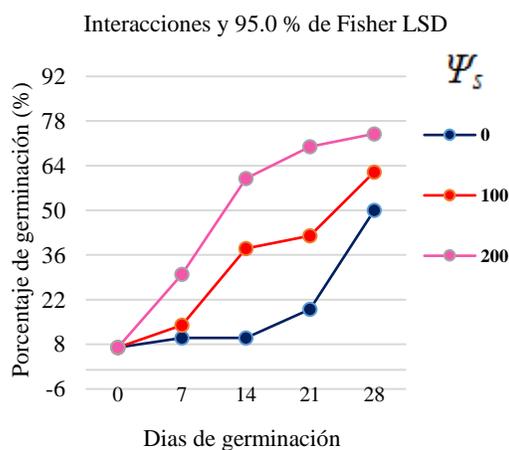


Figura 28.- Efecto del AG₃ en los días de germinación sobre el PG durante el priming mixto KNO₃ + AG₃
Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

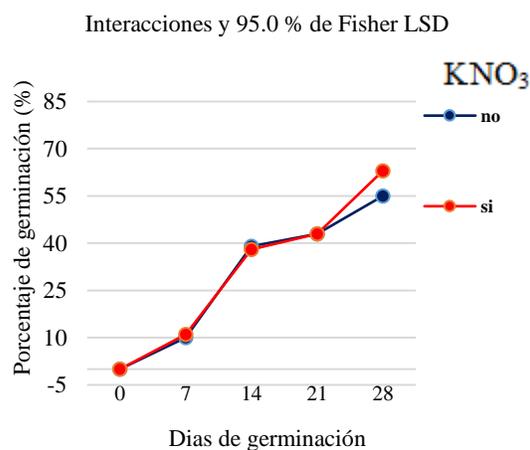


Figura 29.- Efecto del KNO₃ en los días de germinación sobre el PG durante el priming mixto KNO₃ + AG₃

La evolución del porcentaje de germinación con respecto a los niveles de AG_3 , se muestra en la figura 28, donde el nivel de 200 ppm de AG_3 presenta un mejor desarrollo con respecto a 100 y 0 ppm de AG_3 . A diferencia del KNO_3 , en el cual no hay diferencia significativa en el porcentaje de germinación cuando hay o no presencia de KNO_3 (Figura 29).

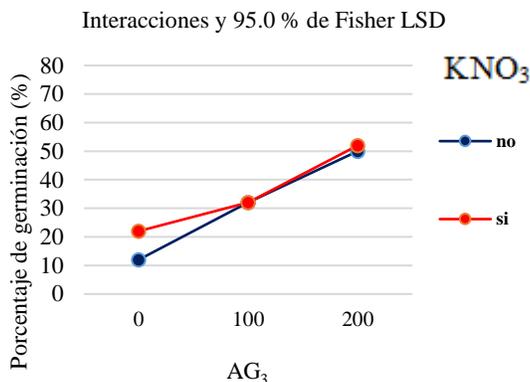


Figura 30.- Interacción de los factores AG_3 y KNO_3 sobre el PG durante el priming mixto $KNO_3 + AG_3$
Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

En la figura 30 se muestra la interacción del AG_3 con el KNO_3 sobre el porcentaje de germinación, el valor más alto se presenta con las 200 ppm de AG_3 sin importar la presencia de KNO_3 , lo mismo pasa con los 100 ppm de AG_3 , pero con un menor porcentaje que a las 200 ppm de AG_3 , y con 0 ppm si hay una diferencia al tener la presencia de KNO_3 .

Longitud de radícula

En cuanto al crecimiento de la radícula, a los 28 días se generó una longitud de 2.7 cm, con 200 ppm de AG_3 superando a las 100 y 0 ppm, y con la presencia de KNO_3 fue de 1.2 cm mientras que sin la presencia de KNO_3 fue de 1.0 cm (Cuadro 6).

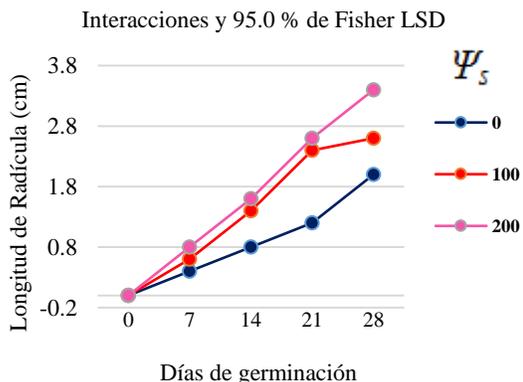


Figura 31.- Efecto del AG_3 en los días de germinación sobre LR durante el priming mixto $KNO_3 + AG_3$

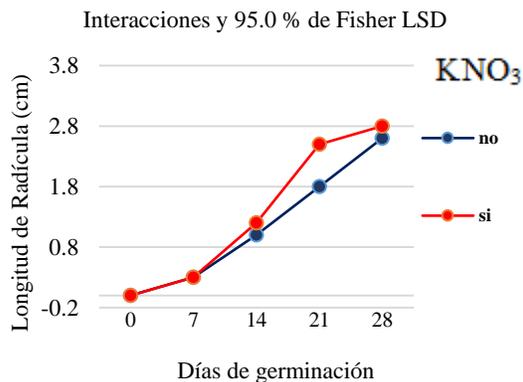


Figura 32.- Efecto del KNO_3 en los días de germinación sobre LR durante el priming mixto $KNO_3 + AG_3$

Los niveles 100 y 200 ppm de AG_3 , muestran un similar comportamiento en el crecimiento de la radícula a diferencia en el último lapso de tiempo, ya que a los 28 días, las 200 ppm de

AG₃ presentan un mayor crecimiento de radícula (Figura 31). En cuanto al KNO₃ la presencia del mismo aumenta el crecimiento solamente a los 21 días, pero a los 28 días no hace diferencia la presencia del KNO₃ (Figura 32).

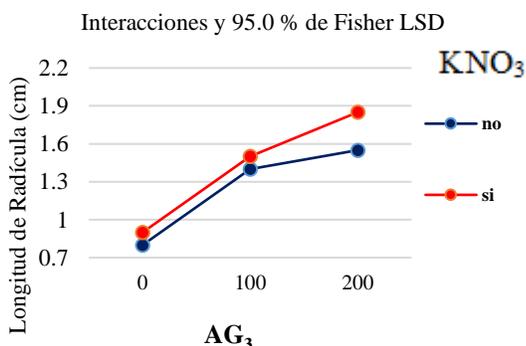


Figura 33.- Interacción de los factores AG₃ y KNO₃ sobre LR durante el priming mixto KNO₃ + AG₃.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

La presencia de KNO₃ cuando interactúa con AG₃ incrementa el crecimiento de la radícula, pero con el nivel de 200 ppm de AG₃ presenta la mayor longitud (Figura 33).

Nitrato de amonio más ácido giberélico NH₄NO₃ + AG₃

FdV	PG (%)	LR (cm)
Nivel de acción		
Ddg (días)	<0.05	<0.05
0	0a	0a
7	15.0b	0.5b
14	39.7c	1.3c
21	48.3d	2.2d
28	65.4e	2.0e
AG ₃ (ppm)	<0.05	<0.05
0	19.0a	0.9a
100	35.0b	1.5b
200	47.1c	1.7c
NH ₄ NO ₃ (10 atm)	n.s	<0.05
Si	35.2a	1.516b
No	32.2a	1.2017a
Repetición	n.s	n.s

Valores medios seguidos por diferentes letras en la misma columna difieren significativamente ($P < 0.05$); n.s: $P > 0.05$

Porcentaje de germinación

El inicio de la germinación se presentó en el séptimo día con un 15 %, y fue incrementando a razón de 25, 8 y 17 % para los 14, 21 y 28 días, respectivamente, donde el máximo valor fue de 65.4 %. La presencia de NH_4NO_3 , no genera una diferencia significativa en el porcentaje de germinación, mientras que el nivel de 200 ppm de AG_3 generó el más alto valor con 47.1 %, superando a las 100 ppm AG_3 con 35 % (Cuadro 7).

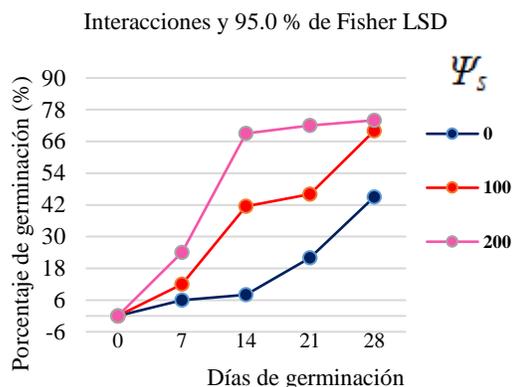


Figura 34.- Efecto del AG_3 en los días de germinación sobre el PG durante el priming mixto $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{AG}_3$.

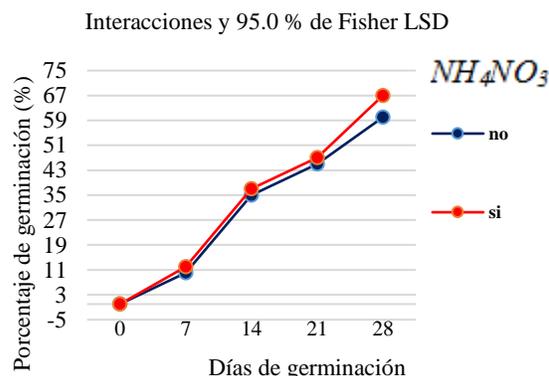


Figura 35.- Efecto del NH_4NO_3 en los días de germinación sobre el PG durante el priming mixto $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{AG}_3$.

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

La evolución del porcentaje de germinación con respecto a los niveles de AG_3 , se muestra en la figura 34, donde el nivel de 200 ppm de AG_3 presenta un mayor desarrollo con respecto a 100 y 0 ppm de AG_3 . A diferencia del NH_4NO_3 en el cual no hay diferencia significativa en el porcentaje de germinación cuando hay o no la presencia de NH_4NO_3 (Figura 35).

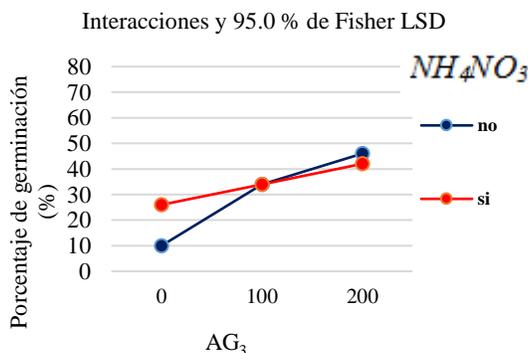


Figura 36.- Interacción de los factores AG_3 y NH_4NO_3 sobre el PG durante el priming mixto $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{AG}_3$

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

En la figura 36, se muestra la interacción del AG_3 con el NH_4NO_3 sobre el porcentaje de germinación, el valor más alto se presenta con las 200 ppm de AG_3 con la presencia de

NH_4NO_3 , lo mismo pasa con los 100 ppm de AG_3 , pero con un menor porcentaje que a las 200 ppm de AG_3 , y con 0 ppm si hay una diferencia al tener la presencia de NH_4NO_3 .

Longitud de radícula

En cuanto al crecimiento de la radícula a los 28 días se generó una longitud de 2.0 cm, con 200 ppm de AG_3 superando a las 100 y 0 ppm, y con la presencia de NH_4NO_3 fue de 1.5 cm mientras que sin la presencia de NH_4NO_3 fue de 1.2 cm (Cuadro 7).

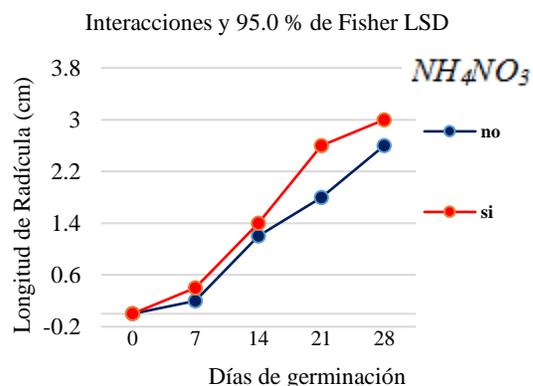
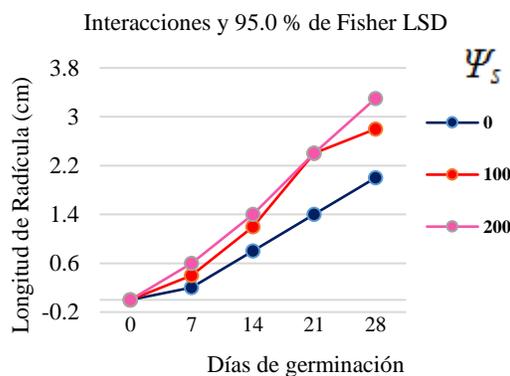


Figura 37.- Efecto del AG_3 en los días de germinación sobre LR durante el priming mixto $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{AG}_3$

Figura 38.- Efecto del NH_4NO_3 en los días de germinación sobre LR durante el priming mixto $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{AG}_3$

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

Los niveles 100 y 200 ppm de AG_3 , muestran un similar comportamiento en el crecimiento de la radícula a diferencia en el último lapso de tiempo, ya que a los 28 días, las 200 ppm AG_3 presentan un mayor crecimiento de radícula (Figura 37). En cuanto al NH_4NO_3 la presencia del mismo aumenta proporcionalmente el crecimiento durante todo el tiempo de crecimiento (Figura 38).

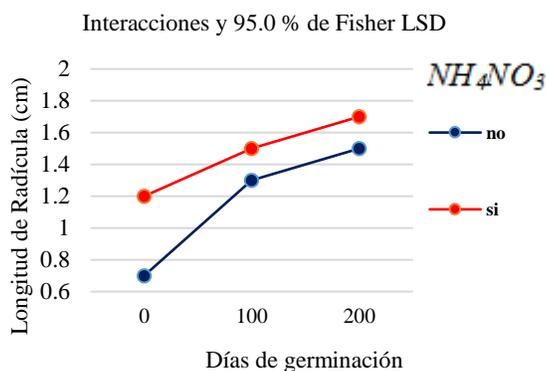


Figura 39.- Interacción de los factores AG_3 y NH_4NO_3 sobre LR durante el priming mixto $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{AG}_3$

La presencia de NH_4NO_3 cuando interactúa con AG_3 incrementa el crecimiento de la radícula, pero con el nivel de 200 ppm de AG_3 presenta la mayor longitud (Figura 39).

Evaluación de parámetros a los 28 días

Nitrato de potasio (KNO₃) más ácido giberélico (AG₃)

Cuadro 8.- Análisis de Varianza (ANOVA) Multifactorial para: porcentaje de germinación (PG), semillas latentes (SL), semillas muertas (SM) referido al total de semillas, longitud de radícula (LR), porcentaje de plántulas anormales (PPAN) e índice de germinación (IG) durante la fase 2.						
FdV Nivel de acción	PG (%)	SL (%)	SM (%)	LR (cm)	PPAN (%)	IG (%)
AG ₃ (ppm)	<0.05	<0.05	n.s	<0.05	n.s	<0.05
0	55,0 ^a	27,2 ^b	17,7 ^a	1,9 ^a	33,8 ^a	100,0 ^a
100	66,5 ^{a,b}	15,7 ^a	17,7 ^a	2,8 ^b	39,3 ^a	125,0 ^b
200	77,0 ^b	11,2 ^a	11,7 ^a	3,4 ^c	30,6 ^a	179,9 ^c
Repetición	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
KNO ₃ (15 atm)	<0.05	n.s	<0.05	<0.05	n.s	n.s
No	60,0 ^a	16,3 ^a	20,1667 ^b	2,5 ^a	33,6 ^a	131,1 ^a
Si	72,3 ^b	19,8 ^a	11,3333 ^a	2,9 ^b	35,6 ^a	138,9 ^a
Repetición	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

Valores medios seguidos por diferentes letras en la misma columna difieren significativamente ($P < 0.05$); n.s: $P > 0.05$

Para el porcentaje de germinación con respecto a las concentraciones de AG₃ aplicadas, existió una diferencia significativa siendo las 200 ppm el valor más alto con 77%, mientras que para 0 y 100 ppm de AG₃ fue de 55 y 66, respectivamente. Por otra parte la presencia de KNO₃ generó 72% de germinación a diferencia de la ausencia de KNO₃ con un 60 % (Cuadro 8).

En las semillas latentes igualmente las 200 ppm de AG₃ mostro el menor porcentaje, ya que presenta un valor de 11%, mientras que para 0 y 100 el valor fue de 27 y 16% respectivamente, en cuanto a la presencia o no de KNO₃ no existió una diferencia significativa (Cuadro 8).

En las semillas muertas no se presenta una diferencia significativa entre los niveles de AG₃, pero si para la presencia de KNO₃, generando un 11% y con ausencia de KNO₃ tiene un valor de 20% (Cuadro 8).

Para la longitud de radícula, el mayor porcentaje se presenta con 200 ppm de AG₃ con un valor de 3.4 cm, y la presencia de KNO₃ generó un crecimiento de 2.9 cm.

Con las plántulas anormales no existió una diferencia significativa ni con los niveles de AG₃ ni con la presencia o ausencia de KNO₃.

Para el índice de germinación, con 200 ppm de AG₃, presentan el mayor valor con 180%, mientras que para la presencia o ausencia no hay diferencia significativa (Cuadro 8).

Interacciones del nitrato de potasio con el ácido giberélico (KNO₃-AG₃)

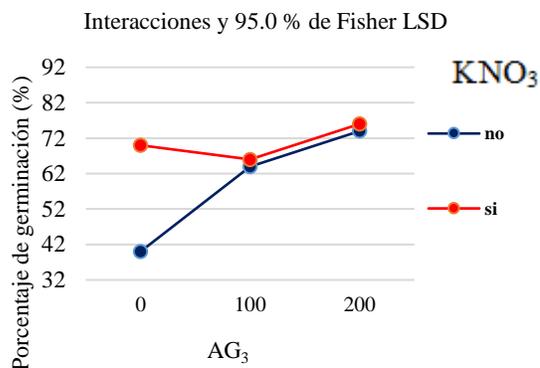


Figura 40.- Interacción de los factores AG₃ y KNO₃ sobre el PG durante el priming mixto KNO₃-AG₃ a los 28 días

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

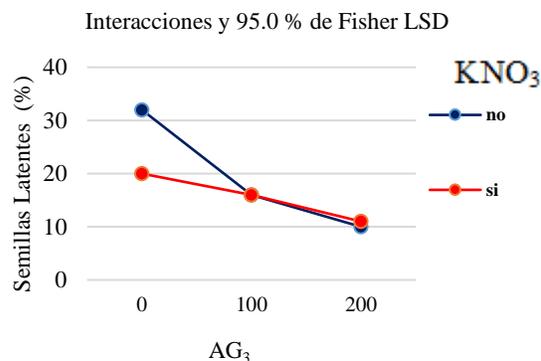


Figura 41.- Interacción de los factores AG₃ y KNO₃ sobre SL durante el priming mixto KNO₃-AG₃ a los 28 días

Los mayores valores del porcentaje de germinación se presentaron con la presencia de KNO₃ en los tres niveles de AG₃, siendo ligeramente más alto con 200 ppm de AG₃, pero cuando hay 0 ppm de AG₃ similar el porcentaje de germinación; cuando no está presente el KNO₃, a las 100 y 200 ppm de AG₃ se presentan valores similares a los valores que se generan cuando si está presente el KNO₃, solamente con las 0 ppm AG₃ existe una gran diferencia (Figura 40).

En cuanto a las semillas latentes, cuando hay 200 ppm de AG₃ sin importar si hay KNO₃ o no, son los menores valores en porcentaje, con 100 ppm ocurre lo mismo pero hay un incremento en el porcentaje de semillas latentes de un 6 %, mientras que con 0 ppm si hay diferencia al tener presente a la solución salina KNO₃ (Figura 41).

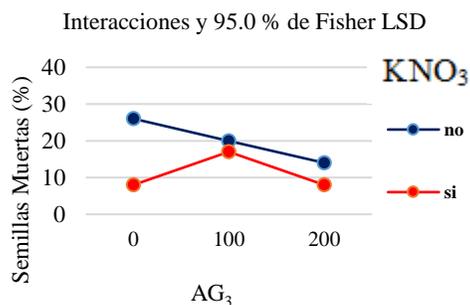


Figura 42.- Interacción de los factores AG₃ y KNO₃ sobre SM durante el priming mixto KNO₃-AG₃ a los 28 días

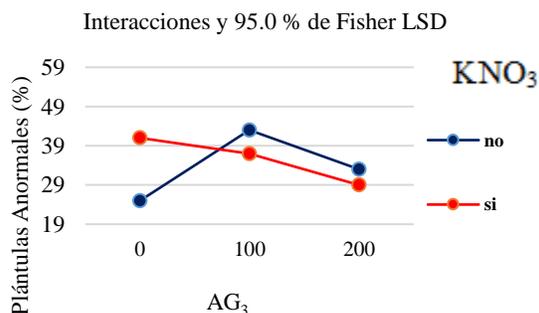


Figura 43.- Interacción de los factores AG₃ y KNO₃ sobre PPAN durante el priming mixto KNO₃-AG₃ a los 28 días

Para las semillas muertas, los menores valores en el porcentaje se muestran con los tres niveles de AG₃ cuando existe la presencia de la solución salina KNO₃, a diferencia de cuando

esta sal no se encuentra los porcentajes de semillas muertas se incrementan hasta un 20 %, aún más cuando no hay AG₃ (Figura 42).

A pesar de que no hay diferencia significativa para las plántulas anormales, en la interacción los valores más bajos en el porcentaje se muestran cuando no está presente la solución salina y AG₃, sin embargo, la presencia de AG₃ se observa que en la concentración de 200 ppm de AG₃ el porcentaje disminuye (Figura 43).

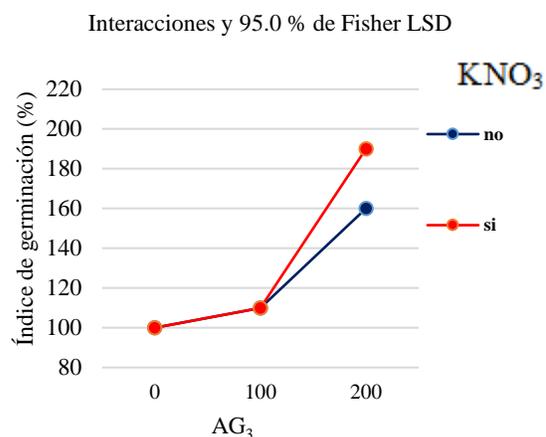
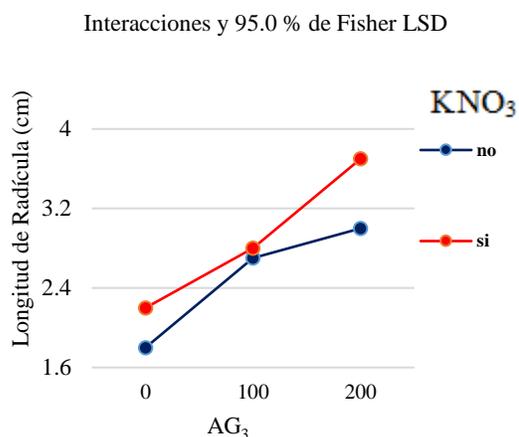


Figura 44.- Interacción de los factores AG₃ y KNO₃ sobre LR durante el priming mixto KNO₃-AG₃ a los 28 días

Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

Figura 45.- Interacción de los factores AG₃ y KNO₃ sobre IG durante el priming mixto KNO₃-AG₃ a los 28 días.

El mayor crecimiento de la raíz se presentó en la concentración de 200 ppm de AG₃ y con la adición de KNO₃, caso contrario, en las concentraciones de 100 y 0 ppm la longitud de la raíz se vio afectada negativamente; lo mismo ocurre cuando la solución KNO₃ no se encuentra presente, ya que al tener 200 ppm es el valor más alto del crecimiento radicular (Figura 44).

En el índice de germinación, el valor más alto se presenta cuando se combinan 200 ppm de AG₃ con KNO₃, superando a las 200 ppm pero sin KNO₃, (Figura 45).

Nitrato de amonio (NH₄NO₃) más ácido giberélico (AG₃)

Cuadro 9.- Análisis de Varianza (ANOVA) Multifactorial para: porcentaje de germinación (PG), semillas latentes (SL), semillas muertas (SM) referido al total de semillas, longitud de radícula (LR), porcentaje de plántulas anormales (PPAN) e índice de germinación (IG) durante la fase 3.						
FdV Nivel de acción	PG (%)	SL (%)	SM (%)	PPAN (%)	ÍG (%)	LR (cm)
AG ₃ (ppm)	<0.05	<0.05	n.s	n.s	<0.05	<0.05
0	55,2 ^a	26,7 ^b	18,0 ^a	33,2 ^a	100,0 ^a	2,0 ^a
100	66,0 ^{a,b}	16,0 ^a	18,0 ^a	41,0 ^a	125,0 ^b	2,8 ^a
200	75,0 ^b	11,0 ^a	14,0 ^a	31,5 ^a	180,0 ^c	3,4 ^a
NH ₄ NO ₃ (10 atm)	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	<0.05
No	61,5 ^a	20,2 ^a	15,0 ^a	32,2 ^a	138,9 ^a	2,5 ^a
Si	69,3 ^a	15,7 ^a	18,3 ^a	38,2 ^a	131,1 ^a	2,9 ^b
Repetición	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

Valores medios seguidos por diferentes letras en la misma columna difieren significativamente ($P < 0.05$); n.s: $P > 0.05$

Para el porcentaje de germinación los valores más altos se obtienen al aplicar 200 ppm de AG₃ con 75%, seguido de 100 ppm de AG₃ con 66%, pero sin ser diferentes significativamente, mientras que con 0 ppm, presenta un valor de 55%. Por otro lado, la presencia de la solución salina NH₄NO₃ no muestra una diferencia estadísticamente cuando no está presente la solución salina NH₄NO₃ (Cuadro 9).

En las semillas latentes ocurre lo mismo con la solución NH₄NO₃, su presencia o ausencia no presenta diferencia estadísticamente, mientras que el nivel de AG₃, 100 y 200 ppm AG₃ muestran valores de 16% y 11% de semillas latentes respectivamente (Cuadro 9).

Para las semillas muertas los tres niveles de AG₃, presentan valores estadísticamente iguales, lo mismo pasa con la presencia y ausencia de la solución NH₄NO₃.

El crecimiento de la radícula no muestra una diferencia estadística significativa dentro de los niveles de AG₃, los valores de la longitud fueron de 2.0, 2.8 y 3.4 cm o ,100 y 200 ppm AG₃ respectivamente, lo mismo pasa con la presencia o ausencia de NH₄NO₃. (Cuadro 9).

Para las plántulas anormales, tampoco existen diferencias estadísticas entre los niveles de AG₃ y para la ausencia y presencia de NH₄NO₃ (Cuadro 9).

En el índice de germinación si hay una diferencia estadística dentro de los niveles de AG₃, con 200 ppm de AG₃ tiene el mayor valor de 180%. Mientras que con la solución NH₄NO₃ no muestra una diferencia estadística.

Interacciones del ácido giberélico con nitrato de amonio AG_3 - NH_4NO_3

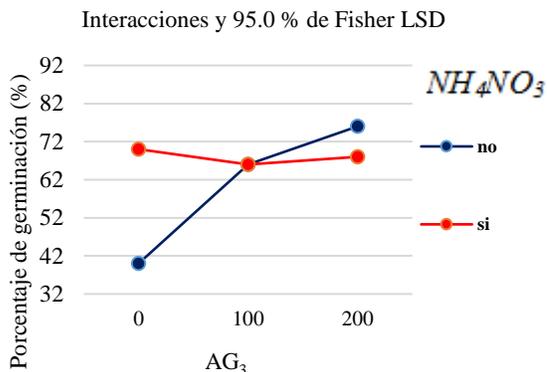


Figura 46.- Interacción de los factores AG_3 y NH_4NO_3 sobre el PG durante el priming mixto NH_4NO_3 - AG_3 a los 28 días
Fisher LSD: test de comparaciones múltiples

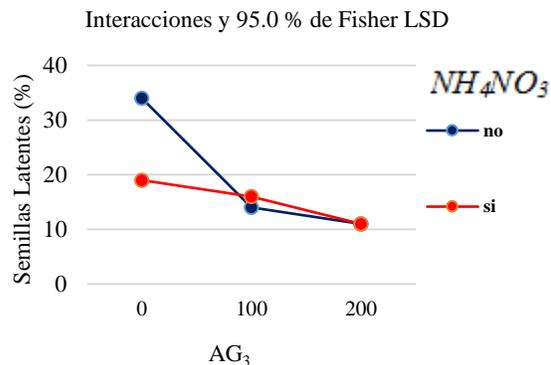


Figura 47.- Interacción de los factores AG_3 y NH_4NO_3 sobre SL durante el priming mixto NH_4NO_3 - AG_3 a los 28 días

Para el porcentaje de germinación, cuando no está presente la solución salina NH_4NO_3 , se muestra un incremento desde 0 ppm de AG_3 pasando por 100 ppm y con 200 ppm de AG_3 , mientras que cuando si está presente la solución NH_4NO_3 , los valores son muy similares, todos por encima del 60 % (Figura 46).

En el caso de las semillas latentes cuando no está presente la solución NH_4NO_3 , en los niveles de AG_3 se muestra una disminución conforme al incremento de las ppm de AG_3 , teniendo el menor valor con 200 ppm AG_3 , cuando si está presente la solución salina NH_4NO_3 el valor de las 200 ppm es similar al de cuando no se presenta la solución NH_4NO_3 y este nuevamente es el nivel que presenta el menor valor de por ciento de semillas latentes (Figura 47).

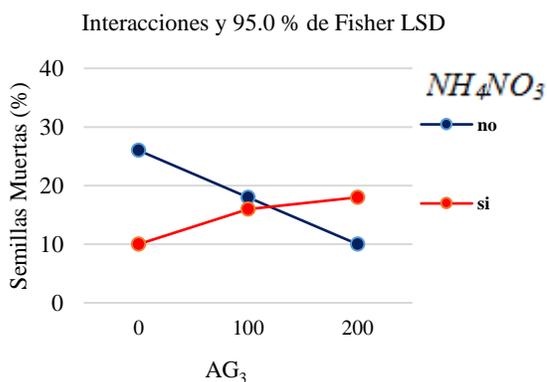


Figura 48.- Interacción de los factores AG_3 y NH_4NO_3 sobre SM durante el priming mixto NH_4NO_3 - AG_3 a los 28 días.

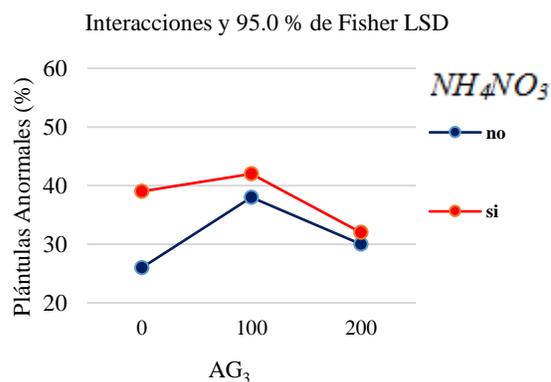


Figura 49.- Interacción de los factores AG_3 y NH_4NO_3 sobre PPAN durante el priming mixto NH_4NO_3 - AG_3 a los 28 días

En el porcentaje de semillas muertas la presencia de la solución salina NH_4NO_3 , muestran valores muy similares al tener 100 y 200 ppm de AG_3 , solamente con 0 ppm de AG_3 nos muestra un bajo valor, por otra parte, cuando no está presente la solución salina, con 200 ppm de AG_3 se muestra el menor porcentaje de semillas muertas con respecto a 100 y 0 ppm (Figura 48). Para el porcentaje de plántulas anormales con 0 ppm de AG_3 existe diferencia de un 10% cuando está presente la solución salina que cuando no lo está, para 100 y 200 ppm no se observa una diferencia la presencia o ausencia de la solución salina (Figura 49).

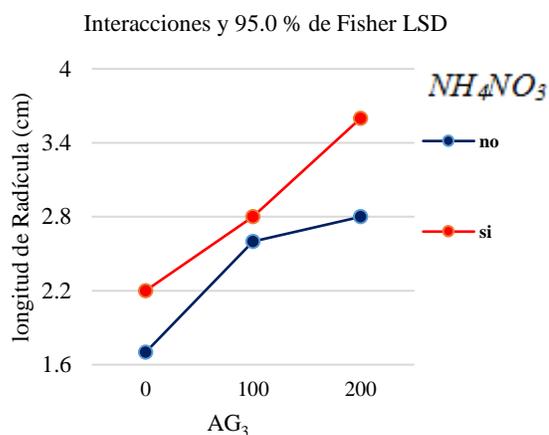


Figura 50.- Interacción de los factores AG_3 y NH_4NO_3 sobre LR durante el priming mixto NH_4NO_3 - AG_3 a los 28 días.

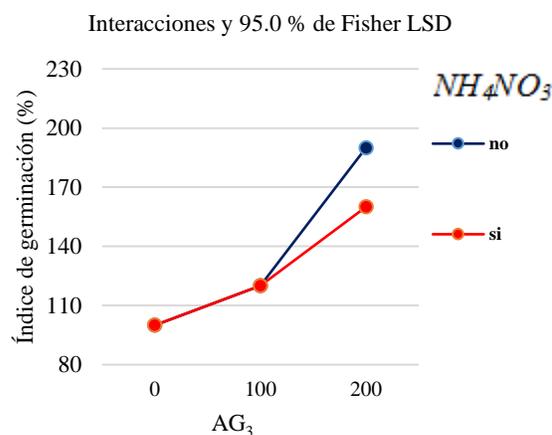


Figura 51.- Interacción de los factores AG_3 y NH_4NO_3 sobre IG durante el priming mixto NH_4NO_3 - AG_3 a los 28 días

El mayor crecimiento de la radícula se presenta cuando si hay la presencia de la solución salina NH_4NO_3 teniendo la mayor longitud con 200 ppm de AG_3 . Ya que con 100 y 0 ppm desciende la longitud, y cuando no está presente la solución salina, los valores de la longitud están por debajo de cuando si está presente NH_4NO_3 (Figura 50).

Para el índice de germinación, se muestran valores muy similares con 0 y 100 ppm de AG_3 , no importando la presencia de la solución NH_4NO_3 . Solamente con 200 ppm de AG_3 se muestra una diferencia al tener un mayor valor en el índice de germinación cuando no hay solución salina (Figura 51).

DISCUSIÓN

En relación a las hipótesis planteadas en esta investigación, se evaluó la factibilidad de diferentes técnicas para mejorar el porcentaje de germinación en chile piquín.

En primera instancia se encontró que el someter las semillas de chile piquín a una digestión ácida (inmersión en HCl + H₂O₂) no mejora el porcentaje de germinación, estos resultados concuerdan con los obtenidos por (Cossa *et al.*, 2009) quienes encontraron porcentajes similares en semillas de *Jacaratia spinosa* (Caricaceae), al realizar escarificación química con ácido clorhídrico y ácido sulfúrico, (Ortega *et al.*, 2001) reportan resultados similares en semillas de *Caesalpinia paraguariensis* (Fabaceae) al escarificar con ácido sulfúrico.

Por otra parte, se encontró que el acondicionamiento osmótico (Priming) en semillas de chile piquín tiene efectos positivos sobre el porcentaje de germinación, lo que coincide con (Marín, 2014) quien usó la técnica para mejorar la calidad en chile ancho. En cambio Mora *et al.* (2006), mencionan que el acondicionamiento osmótico no tuvo un efecto positivo en el porcentaje de germinación en semillas de brócoli, col y coliflor.

Los mejores porcentajes de germinación en semillas de chile piquín se lograron con soluciones salinas en forma nitrogenadas, esto coincide con Guzmán y Olave (2004) al utilizar diferentes soluciones osmóticas en semillas de melón y concluir buenos resultados con el acondicionamiento nitrogenado. El mejor tratamiento para el porcentaje de germinación en semillas de chile piquín fue el priming con KNO₃ con un potencial de 15 atmósferas y 48 horas de acondicionamiento, al aumentar desde un 9 % (tratamiento testigo) hasta un 59 %, este resultado coincide con Cano *et al.* (2015), aunque este resultado se consiguió con la aplicación de 5000 ppm de AG₃, por otro lado Hernández *et al.* (2006) encontraron porcentajes de 46% y 43 % con 250 y 500 ppm de AG₃.

Los resultados al aplicar el priming osmótico a las semillas de chile piquín en este trabajo concuerdan con Welbaum *et al.* (1998) y McDonald (2000) quienes mencionan que los tratamientos preacondicionadores de semilla se pueden utilizar para incrementar la capacidad germinativa. Con respecto al por ciento de semillas muertas, los tratamientos que generaron los valores más bajos fueron los tratamientos con NO₃⁻ de K⁺ y NH₄⁺ con un 13 y 6 % respectivamente. Con relación a la variable longitud de radícula, se observó un incremento al osmoacondicionar la semilla, entre el testigo y los tratamientos KCl y KNO₃. Duplicando la longitud con KCl e incrementando un 50 % para KNO₃. En este sentido, McDonald (2000) reporta que uno de los beneficios del osmoacondicionamiento de semillas es la estimulación en el crecimiento de la raíz, lo cual coincide con los resultados obtenidos en este trabajo.

Los resultados indican que el osmoacondicionamiento tiene un impacto positivo en el comportamiento de la germinación de la semilla, incrementando la capacidad germinativa y estimulando el crecimiento del sistema radicular.

La adición de la hormona AG₃ (ácido giberélico) al priming osmótico aumentó en un 20 % más el porcentaje de germinación que en la segunda fase. El mejor tratamiento fue la mezcla de nitrato de potasio KNO₃ + 200 ppm de AG₃, donde se obtuvo una germinación del 79 %, este resultado es similar al obtenido por García *et al.* (2010), quienes aplicaron

hidrotérmia y ácido giberélico a una concentración de 5000 para obtener un 82 % de germinación, ya que aplicar ácido giberélico ayuda a la activación enzimática de la semilla (Ramírez, 2001).

CONCLUSIONES

- La digestión de las semillas de chile piquín con ácido clorhídrico (HCl) más peróxido de hidrogeno (H_2O_2), no tiene efecto positivo sobre la germinación de chile piquín.
- Las concentraciones que permiten el acondicionamiento osmótico de chile piquín son equivalentes a 5 atmósferas para Cl^- y 15 atmósferas para NO_3^- y SO_4^{2-} .
- El priming osmótico aumenta la homogeneidad de germinación en un 10%. El priming con NO_3^- es el que menor mortalidad de plántulas origina. El priming con sales de K^+ aumenta el índice de germinación un 37 % más que el priming con sales de NH_4^+ .
- El priming mixto $NO_3^- + AG_3$ incrementa:
 - a) El índice de germinación es del orden del 24 % cuando se adicionan 100 ppm AG_3 y un 61 % cuando se utilizan 200 ppm.
 - b) La homogeneidad en la germinación presentó un 73 % al utilizar 100 ppm de AG_3 y un 137 % al suministrar 200 ppm.

Conclusión general

- El priming osmótico con KNO_3 a 15 atm durante 72 horas más 200 ppm de AG_3 , aumenta el porcentaje de germinación desde un 9% hasta 79 % y casi triplica la homogeneidad en la germinación de semillas de chile piquín.

RECOMENDACIONES

Ya que la digestión acida en las semillas de chile piquín no promovió la germinación, se podría evaluar concentraciones más altas de los ácidos con mayores tiempos de inmersión.

Se observó que es factible aumentar la germinación de chile piquín mediante priming con KNO_3 .

Dada la alta variabilidad presente en el chile piquín por tratarse de una especie silvestre, la aplicación del priming osmótico podría generar diferentes resultados en los porcentajes y características de las plántulas según los ecotipos utilizados.

ANEXOS

Anexo 1.- Concentraciones en (gr) para obtener los potenciales osmóticos utilizados durante el priming en chile piquín.

Tiempo de acondicionamiento: 24 horas

Sal fertilizante	Ψ_s : 5 atm	Ψ_s : 10 atm	Ψ_s : 15 atm
NH ₄ NO ₃	0.78 gr	1.57 gr	2.35 gr
NH ₄ SO ₄	1.3 gr	2.59 gr	3.88 gr
NH ₄ Cl	0.52 gr	1.04 gr	1.57 gr
KNO ₃	0.99 gr	1.98 gr	2.97 gr
K ₂ SO ₄	1.70 gr	3.41 gr	5.12 gr
KCl	0.73 gr	1.46 gr	2.19 gr

Tiempo de acondicionamiento: 48 horas

Sal fertilizante	Ψ_s : 5 atm	Ψ_s : 10 atm	Ψ_s : 15 atm
NH ₄ NO ₃	0.78 gr	1.57 gr	2.35 gr
NH ₄ SO ₄	1.3 gr	2.59 gr	3.88 gr
NH ₄ Cl	0.52 gr	1.04 gr	1.57 gr
KNO ₃	0.99 gr	1.98 gr	2.97 gr
K ₂ SO ₄	1.70 gr	3.41 gr	5.12 gr
KCl	0.73 gr	1.46 gr	2.19 gr

Tiempo de acondicionamiento: 72 horas

Sal fertilizante	Ψ_s : 5 atm	Ψ_s : 10 atm	Ψ_s : 15 atm
NH ₄ NO ₃	0.78 gr	1.57 gr	2.35 gr
NH ₄ SO ₄	1.3 gr	2.59 gr	3.88 gr
NH ₄ Cl	0.52 gr	1.04 gr	1.57 gr
KNO ₃	0.99 gr	1.98 gr	2.97 gr
K ₂ SO ₄	1.70 gr	3.41 gr	5.12 gr
KCl	0.73 gr	1.46 gr	2.19 gr

Anexo 2. Estancia

Informe de Movilidad Académica

Estudiante: Óscar Guillén Castillo

Universidad de destino: Universidad de Almería, Departamento de agronomía área de producción vegetal, Almería- España.

Universidad de origen: Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía y veterinaria, San Luis Potosí. México.

Periodo de estancia: 1 de junio – 30 de junio de 2016.

Actividades realizadas en el área de investigación

Durante la estancia de la movilidad mis actividades se realizaron principalmente en el grupo de Investigación RNM 151 del área de producción vegetal. Dirigido por el Dr. José Miguel Guzmán Palomino, quien fue mi asesor durante el tiempo que permanecí de estancia.

Se trabajó en dos ensayos diferentes a campo uno ubicado en los invernaderos de la universidad de Almería y otro en una empresa llamada Semilleros Natural Green ubicado en Loma del Molino, Roquetas De Mar, Almería, España. Dichas instalaciones se encontraban en la Ciudad de roquetas de mar a 40 Km de la Ciudad de Almería. La investigación estaba orientada al mejoramiento de técnicas para mejorar la germinación de semillas silvestres.

Las primeras semanas se viajó a la empresa semilleros Natural Green con el objetivo de conocer a la organización en su totalidad, principalmente el funcionamiento, realizando recorridos por toda la planta con el fin de aprender técnicas de injertos. Además, se tomaron fotografías durante el desarrollo de los ensayos.

En uno de los invernaderos de la Universidad se realizó la siembra de semillas de interés para corroborar el bajo porcentaje de germinación que tiene este tipo de semillas. Tomando fotografías como evidencia durante 2 semanas de evolución

También se realizó el Análisis estadístico de los de datos obtenidos en el proyecto “Mejora de la germinación en chile piquín mediante priming”. Con los cuales se pretende realizar una publicación científica por lo cual los canales de comunicación quedaron abiertos para continuar interactuando a la distancia.


José Miguel Guzmán Palomino
Nombre y Firma del Académico Receptor

María Fernanda Quintero Castellanos
Nombre y Firma del Director de Tesis

Oscar Guillen Castillo
Nombre y Firma del Estudiante

Anexo 3.- Carta de socialización con productores

Noviembre del 2016

Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.

A quien corresponda:

La presente, se extiende con la finalidad de informar que se llevó a cabo una vinculación entre el productor **Sr. Margarito Méndez flores** y el **Ing. Oscar Guillén Castillo** con el objetivo de difundir la investigación: “Mejora de la germinación de chile piquín mediante priming”, en la cual se informó sobre resultados y beneficios que le permitan al productor establecer una plantación comercial de chile piquín, además de un taller para que implemente la técnica priming a sus propios cultivos.

Extiendo la presente para los usos legales que al interesado convengan.

Atentamente

Sr. Margarito Méndez Flores.

Anexo fotográfico.- imágenes de la vinculación con productor.



LITERATURA CITADA

- Araiza, L.N., Araiza L.E., y Martínez J.G.M. 2011. Evaluación de la germinación y crecimiento de plántula de Chiltepín (*Capsicum annuum* L. variedad *glabriusculum*) en invernadero, Revista Colombiana de biotecnología, 13(2), 170-175.
- Azcón, B.J., y Talón M. 2003. Fundamentos de fisiología vegetal. MacGraw-Hill Interamericana, Madrid. 450 p.
- Azcon, B.J., y Talón, M. 1996. Fisiología y bioquímica vegetal. Interamericana McGraw-Hill, España. 581 p.
- Azcón, B.J.T. 1993. Fisiología y bioquímica vegetal. Mac Graw Hill/Interamericana. 581 p.
- Bañuelos, N., Salido P. L., y Gardea A. 2008. Etnobotánica del Chiltepín. Pequeño gran señor de la cultura de los sonorenses. Estudios sociales. Vol. 16, número 32.
- Bernal, L. I., 1984. Aspectos Bioquímicos de la Germinación y el Deterioro. Departamento de Bioquímica vegetal. Facultad de Química. UNAM. México. 108 p.
- Besnier, R. F. 1989. Semillas, Biología y Tecnología. Mundi-Prensa. Madrid, España. 637 p.
- Bewley, J. D., & Black M. 1978. Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination: Development. Springer.
- Bewley, J. D., Black M. 1994. Seeds; Physiology of development and germination. Plenum press. USA. 357 p.
- Bradford, K.J., Bewley J.D. 2002. Seeds: Biology, Technology and Role in Agriculture (pp. 210-239). *in* Chrispeels M. J.; Sadava, D (eds.). Plants, Genes and Crop Biotechnology. Ed. Jones and Barlett. Boston.
- Bradford, K.J., Steiner, J.J., & Trawatha, S. E. 1990. Seed priming influence on germination and emergence of pepper seed lots. Crop Science, 30(3):718-721.
- Camacho, M. F. 1994. Dormición de semillas: causas y tratamientos. Trillas. México, pp. 17-23.
- Cano-Vázquez, A., López-Peralta, M., Zavaleta-Mancera, H. A., Cruz-Huerta, N., Ramírez-Ramírez, I., Gardea-Béjar, A., & González-Hernández, V. A. 2015. Variación en grados de latencia en semillas entre colectas de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *Botanical Sciences*, 93(1): 175-184.
- Castañares, J. L. 2010. El priming de semillas y sus aplicaciones en cultivos hortícolas. Universidad del Litoral Facultad de Ciencias Agrarias hortícolas. 25 p.
- Cedillo, N.E. 2002. Inducción de la germinación de chile piquín (*Capsicum annuum* L., var. *aviculare* Dierb.) Tesis de Licenciatura. Unidad Académica Multidisciplinaria, Universidad Autónoma de Tamaulipas. 47 p.
- Copeland, L. O., & McDonald M. B. 1985. Principles of Seed Science and Technology Burgess Publishing Co. Minneapolis, Minnesota. United States of America. pp. 120 – 144.

- Copeland, L.O., 1976. Principles of seed science and technology. Department of crop and soil sciences. Michigan state university. Burgess pubsh. Comp. Minneapolis, Minnesota. 369 p.
- Cossa, C. A.; Lima, B. C.; Osipi, F. E. A.; Sorace, F. M. A.; Batista, A. N.; Lourenço, C. C. e Polônio, U. V. D. 2009. Remoção da mucilagem e análise da viabilidade de sementes de *Jacaratia spinosa* (Aubl.) A. DC. Rev. Bras. Agroecol. 4:41-44
- Crocker, W.M. 1916. Mechanics of dormancy in seeds. American Journal of Botany, 99-120.
- D'Arcy W. G; and Eshbaugh, W.H. 1978. The taxonomy of the genus *Capsicum*: Solanaceae. Phytologia 47(3):153-166.
- D'Arcy. W. G. y Eshbaugh W.H. 1974. New World peppers (*Capsicum*-Solanaceae) north of Colombia. Baileya 19: 93-105.
- Desai, B. B., Kotecha P.M., and Sanlunkhe D.K. 1979. Chap. 2. Seed morphology and development. In: Seeds handbook. Biology, production, processing and storage. pp. 7-28
- Doria, J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. Cultivos tropicales, 31(1): 74-85.
- Esau, K. 1987. Anatomía de las plantas con semilla. Hemisferio sur. Argentina. 512 p.
- Eshbaugh, W. H., 1980. The taxonomy of the genus *Capsicum* (Solanaceae). Phytologia, 47(3), 153-166.
- Figuerola, J.A., y Jaksic F.M. 2004. Latencia y banco de semillas en plantas de la región mediterránea de Chile central. Revista chilena de historia natural, 77(1), 201-215.
- Flores, H.A. 2004. Introducción a la Tecnología de las Semillas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 160 p.
- García AF; Montes H S; Rangel LJA; García M E; Mendoza EM 2010. Respuesta fisiológica de la semilla de Chile piquín [*Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill] al ácido giberélico e hidrotermia. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 1(2):203-216.
- Gutiérrez, H.J. 2015. Análisis de la problemática de la producción y comercialización del Chile piquín (*Capsicum annuum* var. *aviculare*), caso: comunidad de San Francisco Yovego del municipio Santiago Camotlán, Oaxaca. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México. 91 p.
- Guzmán, M., Olave J. 2004. Effects of N-form and satine priming on germination and vegetative growth of Galia-type melón (*Cucumis melo* L. cv. primal) under salinity. Acta Horticulturae. 659: 253-260.
- Hartman, H. T., y Kester D. E. 1987. Propagación de plantas: principios y prácticas. Compañía editorial Continental, México. 760 p.
- Heiser, C.B., Pickersgill B. 1975. Names for the bird peppers. *Capsicum*; Solanaceae Baileya 19:151-156.

- Hernández-Verdugo S., Guevara-González RG., Rivera-Bustamante RF., Vázquez-Yanes C. y Oyama K 1998. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum* spp.) como recursos genéticos. Boletín de la Sociedad Botánica de México 62: 171-181.
- Hernández-Verdugo, S.; Sánchez-Peña, P. y Villareal Romero, M. 2006. Variación entre poblaciones y años: algunos factores que promueven o regulan la germinación de semillas en chile silvestre. 3^{ra}. Convención Mundial de Chile. Chihuahua y Delicias, Chihuahua, México. pp. 105-111.
- Heydecker, W. 1973. Seed ecology, en W. Heydecker, seed ecology, Butterworths, Londres, pp. 1-4
- Heydecker, W., Coolbear P. 1977. Seed treatments for improved performance survey and attempted prognosis. Seed Science Technology, 5: 353-425.
- Hsu, F. H., Nelson, C. J., & Matches, A. G. 1985. Temperature effects on germination of perennial warm-season forage grasses. Crop science, 25(2): 215-220.
- International Seed Testing Association. 1996. International rules for seed testing: International Seed Testing Association. 13 (2): 322. p.
- Kameswara, R.N., Hanson J., Ehsan M., Ghosh K., Nowell D., Larinde M., & Simarski L.T. 2007. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Biodiversity International, Roma Italia. 56 p.
- Laborde, C.J.A., y Pozo O., 1984. Presente y Pasado del Chile en México. Secretaria de agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). México. 80 p.
- Long, J., 1998. Capsicum y cultura: la historia del chilli. México, D.F., Fondo de Cultura Económica.
- López, R.G.F. 2005. Ecofisiología de árboles. Universidad Autónoma Chapingo. pp. 218-221.
- McDonald, M. B. 2000. Seed priming. In: Seed Technology and its biological basic. Ed. By M. Black and J.D. Bewley Sheffield, Academic Press. 286-325 p.
- Marín, S.J., Mejía C.J.A., Hernández L.A., Peña L.A., y Carballo C.A. 2007. Acondicionamiento osmótico de semillas de tomate de cáscara. Agricultura técnica en México, 33(2):115-123.
- Martínez, T. H. L. 2007. Etnobotánica del chile Quipín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) en la sierra gorda y semidesierto de Querétaro. Tesis de maestría. Colegio de postgraduados, campus Montecillo Botánica. 123 p.
- Medina, M.T., Villalón H.M., Pérez J.M.H., Sánchez G.R., y Salinas S.H. 2010. Avances y perspectivas de investigación del chile piquín en Tamaulipas, México. *Ciencia UAT* 4:16-21.
- Medina, T., Rodríguez del B. L. A., Villalón H; Pozo O., Ramírez M, López R., Lara M., Gaona G., Cardona A., Mora A., 2002. El Chile piquín. (*Capsicum annuum* L. var. *aviculare*) en el noreste de México. Aspectos ecológicos y socioeconómicos. *Biotam* 13: 1-14.

- Meyer, B. S., Anderson D. B., y Bohning R. H. 1972. Introducción a la fisiología vegetal. Universidad de Buenos Aires, Argentina. Pp. 59 – 60, 61 – 70.
- Montes, H.S., Ramírez M.M., Villalón M.H., Medina M.T., Morales C.A., Heredia G.E., Soto R.M., López de L.R., Cardona E.A., y Martínez T.L. 2006. Conservación y aprovechamiento sostenible de chile silvestre (*Capsicum sp*, *Solanaceae*) en México. Avances de Investigación de la red de hortalizas del SINAREFI (libro científico Núm. 1). Instituto Nacional de Investigaciones forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental del Bajío, Celaya, Gto. México. Pp. 66-127.
- Mora-Aguilar, R., Ireta-Hernández, M. F., Rodríguez-Pérez, J. E., & Martínez-Solís, J. 2006. Acondicionamiento osmótico en semilla de *Brassica oleracea* L. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 12(1): 105-112.
- Moreira de C. N., & Nakagawa J. 1988. Semillas: Ciencia, tecnología y producción. Agropecuaria Hemisferio Sur, SRL Montevideo, Uruguay, 406 p.
- Nabhan, G. 1990. New Crops for Small Famrs in Marginal Lands? Wild Chiles as a CaseStudy en Altieri M. y S. Hecht. S. (eds) Agroecologi and Small Farm Development, Eua, pp. 19-34.
- Nee, M. 1986. Flora de Veracruz 49. Solanaceae, Parte I. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Xalapa, Veracruz. pp 23-26.
- Ortega Baes, P., de Viana, M. L., Larenas, G., & Saravia, M. 2001. Germinación de semillas de *Caesalpinia paraguariensis* (Fabaceae): agentes escarificadores y efecto del ganado. Revista de biología tropical, 49(1): 301-304.
- Parera, C. A., & Cantliffe, D. J. 1994. Presowing seed treatments to enhance supersweet sweet corn seed and seedling quality. *HortScience*, 29(4): 277-278.
- Pickersgill, B. 1969. The domesticación of chili peppers. En: P. J. Ucko y G. W. pp 443-450
- Pickersgill, B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*). *Evolution* 25:683-691.
- Pollock, B.M., y Toole V.K. 1962. Postmaduración, periodo de reposo y latencia. En semillas. Ed. Cia. Ed. Cont., S. A. México. pp. 201 – 212.
- Pozo, O. y Ramírez, M. 2003. “Diversidad e importancia de los chiles silvestres”, en Rodríguez del Bosque, L. (ed). Memoria del 1er Simposio Regional sobre Chile Piquín. Avances en Tecnología de Producción y Uso Racional del Recurso Silvestre. México: Inifap-Cirne-Campo Experimental Río Bravo. p. 17.
- Pozo-Campodónico O., S. Montes H. y Redondo J. E. 1991. El chile (*Capsicum* spp.). En: Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. México, pp. 217-238.
- Ramírez M. M., 2001. Inducción de la germinación en semilla de chile piquín. 13º Encuentro de Investigación Científica y Tecnológica del Golfo de México (Memoria). 31 p.
- Rodríguez del B. L. A., Ramírez M, y Pozo C. 2003. El cultivo del chile piquín bajo diferentes sistemas de producción en el noreste de México. *In: Memoria del 1er. Simposio regional sobre chile piquín: Avances de investigación en tecnología de producción y*

- uso racional del recurso silvestre. INIFAP-CIRNE. Campo experimental Río Bravo Tamaulipas. Publicación especial núm. 26. México. pp: 1-16
- Rodríguez Villa, K. 2012. Importancia del chile *Capsicum annuum* L. como un recurso alimentario en México. Tesis de doctorado. Universidad Veracruzana. Xalapa Veracruz. 69 p.
- Rodríguez, del B.L.A., Ramírez M., y Pozo C. 2004. Tecnología de producción de chile piquín en el noreste de México. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Río Bravo. Folleto Técnico Núm. 29. Río Bravo, Tamaulipas, México. 33 p.
- Sampaio, N.V., Sampaio T.G., y Altisent J.M.D. 1992. Germinación de semillas a temperaturas adversas. Agricultura: Revista agropecuaria, (722), 748-750.
- Sanchez, J.A., Orta, R. y Muñoz B.C. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. Agronomía costarricense, 25(1), 67-92.
- Thompson. K., 1992. The functional ecology of seeds bank. Seeds, the ecology of regeneration in plant communities, Oxon, CAB international. Pp. 231-258.
- Tigabu, M., y Odén PC. 2001. Effect of scarification, gibberellic acid and temperature on seed germination of two multipurpose *Albizia* species from Ethiopia. Seed Science and Technology 29:11-20
- Vegis, A. 1964. Dormancy in higher plants, Ann. Rev plant phys. Pp. 15- 185
- Villalón, H., Méndez, E., Ramírez, M., Medina, T., Carrillo, A., & López, R. 2010. Estudio de la preferencia y arraigo cultural de chile silvestre “piquín” en el estado de Nuevo León, México. In VII Simposio Internacional sobre la Flora Silvestre en Zonas Árida.
- Welbaum, G.E., Bradford K.J., Yim, K.O., Booth D.T., and Oluoch M.O. 1998. Biophysical, physiological and biochemical processes regulating seed germination. Seed Science Research, 8(02): 161-172.
- Welbaum, G. E., Z. Shen, M. O. Oluoch and L. W. Jett. 1998. The evolution and effects of priming vegetable seed. Seed Technology 20:209-235.