



CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS

**NIVELES DE DORMANCIA EN SEMILLAS DE CHILE SILVESTRE DE
DIFERENTES ECORREGIONES Y DESARROLLO DE PROTOCOLOS PARA LA
GERMINACIÓN Y REGENERACIÓN DE ACCESIONES**

PRESENTA

Rubén Guerrero Velázquez

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS AGRONÓMICAS

TUTOR

Dr. José de Jesús Luna Ruíz

COMITÉ TUTORAL

M.C. Otilio Vázquez Martínez

Dr. Horacio Villalón Mendoza

Aguascalientes, Ags. Junio del 2015



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

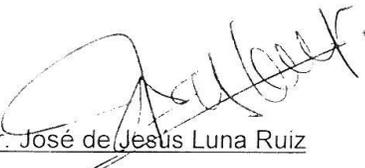
M.C. GABRIEL ERNESTO PÁLLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PRESENTE.

Por este medio, y en mi calidad de tutor del alumno de Maestría en Ciencias Agronómicas Rubén Guerrero Velázquez quien realizó la tesis titulada "NIVELES DE DORMANCIA EN SEMILLAS DE CHILE SILVESTRE DE DIFERENTES ECOREGIONES Y DESARROLLO DE PROTOCOLOS PARA LA GERMINACIÓN Y REGENERACIÓN DE ACCESIONES" me permito emitir mi VOTO APROBATORIO para que pueda proceder a imprimirla y poder así continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Jesús María, Aguascalientes., 17 de Junio de 2015



Dr. José de Jesús Luna Ruiz
Tutor



M.C. GABRIEL ERNESTO PÁLLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PRESENTE.

Por este medio, y en mi calidad de tutor del alumno de Maestría en Ciencias Agronómicas Rubén Guerrero Velázquez quien realizó la tesis titulada "NIVELES DE DORMANCIA EN SEMILLAS DE CHILE SILVESTRE DE DIFERENTES ECOREGIONES Y DESARROLLO DE PROTOCOLOS PARA LA GERMINACIÓN Y REGENERACIÓN DE ACCESIONES" me permito emitir mi VOTO APROBATORIO para que pueda proceder a imprimirla y poder así continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Por su atención me despido, no sin antes enviarle un cordial saludo

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Jesús María, Aguascalientes., 17 de Junio de 2015

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Otilio Vázquez Martínez'.

M.C. Otilio Vázquez Martínez

Miembro del Comité tutorial



M C. GABRIEL ERNESTO PÁLLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PRESENTE.

Por este medio, y en mi calidad de tutor del alumno de Maestría en Ciencias Agronómicas Rubén Guerrero Velázquez quien realizó la tesis titulada "NIVELES DE DORMANCIA EN SEMILLAS DE CHILE SILVESTRE DE DIFERENTES ECOREGIONES Y DESARROLLO DE PROTOCOLOS PARA LA GERMINACIÓN Y REGENERACIÓN DE ACCESIONES" me permito emitir mi VOTO APROBATÓRIO para que pueda proceder a imprimirla y poder así continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Jesús María, Aguascalientes., 17 de Junio de 2015

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Horacio Villalón Mendoza', written over a faint circular stamp.

Dr. Horacio Villalón Mendoza

Miembro del Comité tutorial



UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE AGUASCALIENTES

OFICIO NO. CCA-D-111500-180-15

DRA. GUADALUPE RUÍZ CUÉLLAR
DIRECTOR GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
PRESENTE.

Por medio del presente me permito comunicarle a usted que la tesis titulada "NIVELES DE DORMANCIA EN SEMILLAS DE CHILE SILVESTRE DE DIFERENTES ECOREGIONES Y DESARROLLO DE PROTOCOLOS PARA LA GERMINACIÓN Y REGENERACIÓN DE ACCIONES", del alumno **C. RUBÉN GUERRERO VELÁZQUEZ**, egresado de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, respeta las normas y lineamientos establecidos institucionalmente para su elaboración y su autor cuenta con el voto aprobatorio de su tutor y comité tutorial.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
Jesús María, Ags., 19 de Junio del 2015.
"Se Lumen Proferre"

M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

c.c.p. C.P. Ma. Esther Rangel Jiménez.- Jefa del Departamento del Control Escolar
c.c.p. Sección de Certificados y Títulos
c.c.p. Secretario Técnico
c.c.p. Estudiante
c.c.p. Archivo

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma de Aguascalientes** por los apoyos brindados durante la maestría.

A la **Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León** por permitirme llevar a cabo parte de mi proyecto de investigación.

Al **Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca otorgada con el número 515148

Al comité tutorial **Dr. José de Jesús Luna Ruiz, M.C. Otilio Vázquez Martínez y al Dr. Horacio Villalón Mendoza**, por todo el apoyo recibido y el tiempo que se dieron para atenderme cada que lo necesité.

A mi familia, en especial a mis padres **Jaime Guerrero Domínguez y Ma Eugenia Velázquez Ramos**, por toda la confianza, cariño y ánimos que me daban, también a mi novia por su apoyo constante.

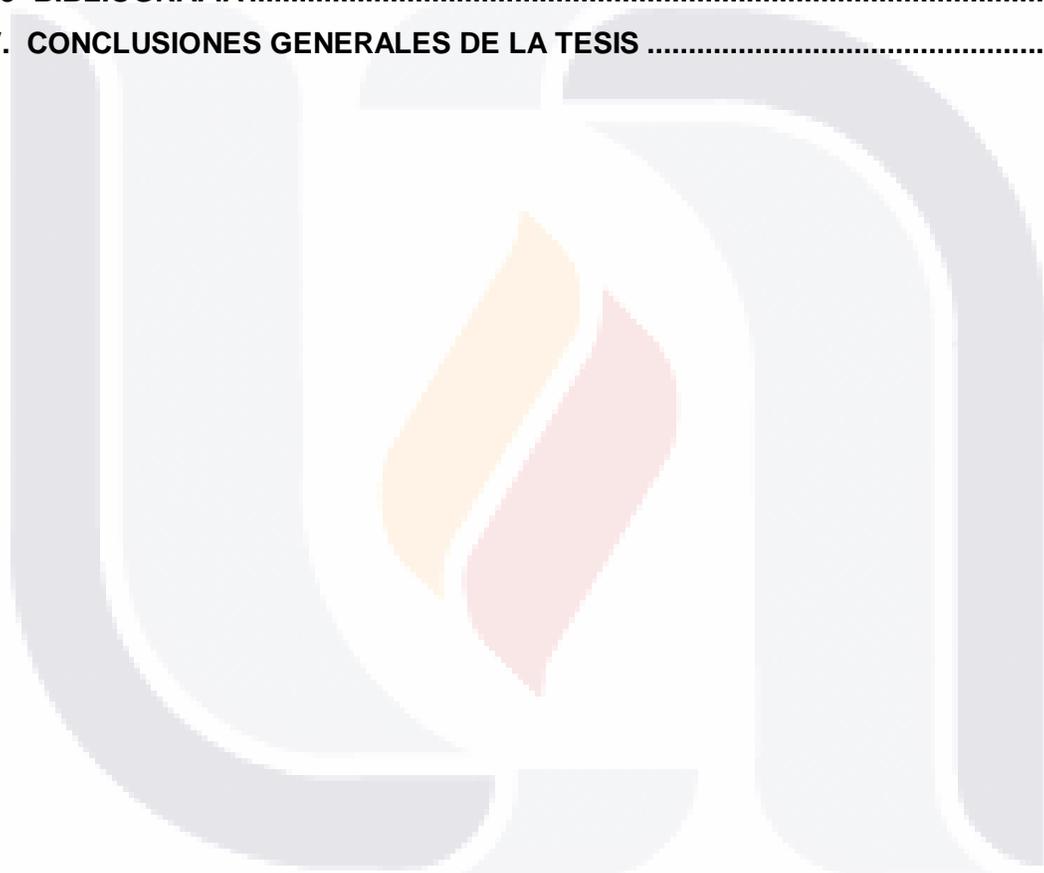
A mis compañeros de maestría por el apoyo brindado

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE CUADROS	4
ÍNDICE DE FIGURAS	5
ACRÓNIMOS	6
RESUMEN GENERAL	7
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN GENERAL	12
I. MARCO TEÓRICO	13
1.1 GENERALIDADES SOBRE LAS ESPECIES DE <i>CAPSICUM</i>	13
OTRAS ESPECIES DOMESTICADAS DE <i>CAPSICUM</i>	15
1.2 ECORREGIONES DE MÉXICO	17
REGIONES ECOLÓGICAS.....	18
1.3 SEMILLAS	20
ORIGEN.....	20
CLASIFICACIÓN DE SEMILLAS EN FUNCIÓN DE SU TOLERANCIA A LA DESECACIÓN.....	20
1.4 GERMINACIÓN	21
FASES DE LA GERMINACIÓN.....	21
Hidratación.....	21
Germinación.....	22
Crecimiento.....	22
FACTORES QUE AFECTAN LA GERMINACIÓN	22
Factores Internos	22
Madurez de la semilla	22
Viabilidad de la semilla.....	23
Factores Externos	23
Temperatura.....	24
1.5 DORMANCIA	26
CLASIFICACIÓN DE LA DORMANCIA	27
Dormancia innata.....	27

Dormancia forzada.....	28
Dormancia inducida o secundaria	28
OTRO SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE DORMANCIA.....	29
Dormancia fisiológica (DF):	30
Dormancia morfológica	31
Dormancia Física	32
Dormancia combinada	32
ROMPIMIENTO DE LA DORMANCIA.....	32
Hormonas relacionadas con la dormancia.....	33
Ácido Abscísico.....	34
Síntesis del ABA	34
Degradación del ABA.....	35
Fases del ABA	38
Fase I: Imbibición	38
Fase II germinación completa	38
Giberelinas.....	39
Biosíntesis y Catabolismo de las GAs	40
MECANISMO DE ANTAGONISMO GAS/ABA	42
1.6 DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD	43
PRUEBAS DE GERMINACIÓN	44
1.7 REGENERACIÓN DEL GERMOPLASMA.....	46
1.8 JUSTIFICACIÓN.....	51
1.9 OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	52
1.10 BIBLIOGRAFÍA	53
II. NIVELES DE DORMANCIA EN SEMILLAS DE CHILE SILVESTRE DE DIFERENTES ECORREGIONES DE MÉXICO Y SUR DE EEUU.....	57
2.1 RESUMEN	57
2.2 INTRODUCCIÓN	58
2.3 OBJETIVO E HIPÓTESIS.....	60
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	70
2.6 CONCLUSIÓN	85
2.7 BIBLIOGRAFÍA	86

III. PROCOLOS DE GERMINACIÓN	89
3.1 RESUMEN	89
3.2 INTRODUCCIÓN	91
3.3 OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	96
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	97
3.5 RESULTADOS.....	103
3.7 CONCLUSIONES	122
3.8 BIBLIOGRAFÍA	123
IV. CONCLUSIONES GENERALES DE LA TESIS	126

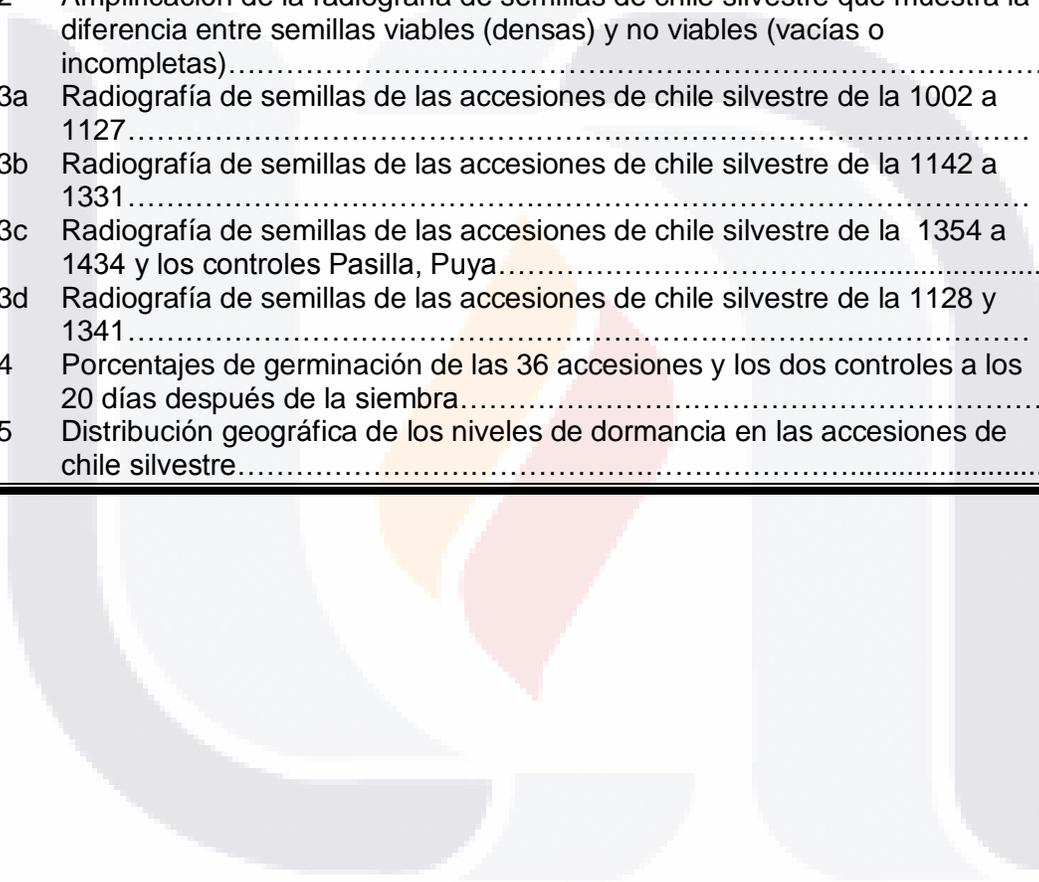


ÍNDICE DE CUADROS

No.	Contenido	Pag.
1.1	Sistema de clasificación de dormancia en semillas.....	30
1.2	Niveles de dormancia morfofisiologica y temperaturas para romperla.....	32
2.1	Accesiones de chile silvestre incluidas en el estudio y regiones de procedencia.	62
2.2	Características medioambientales de las regiones de procedencia de los 36 chiles silvestres incluidos en el estudio.....	64
2.3	Viabilidad de semillas de 36 accesiones de chile silvestre y dos controles.....	71
2.4	Porcentaje de germinación en semillas de 36 accesiones de chile silvestre y dos controles.....	78
2.5	Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de las accesiones a diferentes días después de la siembra.....	80
2.6	Porcentajes de viabilidad, germinación y dormancia de las accesiones silvestres y los controles.....	81
2.7	Clasificación de las accesiones por porcentaje y niveles de dormancia.....	83
3.1	Accesiones, entidades y regiones de procedencia, niveles de dormancia de los chiles silvestres usados en la investigación.....	97
3.2	Análisis de varianza para % de germinación de 16 accesiones y un control en respuesta a cuatro dosis de GA ₃ en 6 fechas (0, 5, 10, 15, 20 y 30 dds).....	103
3.3 ^a	Porcentaje de germinación de 16 accesiones de chile silvestre y un control a los 20 dds bajo diferentes concentraciones de ácido giberélico (GA ₃).....	105
3.3 ^b	Germinación de 16 accesiones de chile silvestre y un control a los 20 dds bajo diferentes concentraciones de ácido giberélico (GA ₃).....	106
3.4	Análisis de varianza para % de germinación de semillas de 16 accesiones silvestres y un control en respuesta a cuatro temperaturas durante 20 fechas (1-20 dds).....	107
3.5	Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 20 dds bajo diferentes temperaturas.....	107
3.6	ANOVA para % de germinación de 16 accesiones de chile silvestre y un control, tratadas con H ₃ PO ₄ y analizadas durante 22 fechas (0-20 y 30 dds).....	108
3.7 ^a	Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 20 dds bajo diferentes tiempos de exposición al H ₃ PO ₄ al 20%.....	110
3.7 ^b	Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 30 dds bajo diferentes tiempos de exposición al H ₃ PO ₄ al 20%.....	111
3.8	Análisis de varianza para % de germinación de semillas de 16 accesiones de chile silvestre más un control en respuesta a tratamientos combinados de H ₃ PO ₄ + GA ₃ durante 22 fechas (0-20 y 30 dds).....	113
3.9 ^a	Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 30 dds con tratamientos combinados al H ₃ PO ₄ al 20% y GA ₃	113
3.9 ^b	Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 30 dds con tratamientos combinados al H ₃ PO ₄ al 30% y GA ₃	114
3.10	Porcentaje de germinación de 16 accesiones de chile silvestre más un control en respuesta a diferentes tratamientos con GA ₃ , temperatura, H ₃ PO ₄ y GA ₃ +H ₃ PO ₄	116

ÍNDICE DE FIGURAS

No.	Contenido	Pag.
1.1	Sitios de colecta de semillas de chile silvestre realizadas en 2006 y 2007....	14
1.2	Mapa de las diferentes ecorregiones de México.....	18
1.3	Tipos de dormancia Fisiológica no profunda en la semilla.....	31
1.4	Pruebas de germinación.....	45
2.1	Origen geográfico de las 36 accesiones de chiles silvestres incluidas en el estudio y ecorregiones de procedencia nivel II.....	63
2.2	Amplificación de la radiografía de semillas de chile silvestre que muestra la diferencia entre semillas viables (densas) y no viables (vacías o incompletas).....	72
2.3a	Radiografía de semillas de las accesiones de chile silvestre de la 1002 a 1127.....	73
2.3b	Radiografía de semillas de las accesiones de chile silvestre de la 1142 a 1331.....	74
2.3c	Radiografía de semillas de las accesiones de chile silvestre de la 1354 a 1434 y los controles Pasilla, Puya.....	75
2.3d	Radiografía de semillas de las accesiones de chile silvestre de la 1128 y 1341.....	76
2.4	Porcentajes de germinación de las 36 accesiones y los dos controles a los 20 días después de la siembra.....	79
2.5	Distribución geográfica de los niveles de dormancia en las accesiones de chile silvestre.....	82



ACRÓNIMOS

ABA	Ácido Abscísico
Az	Arizona
BCS	Baja California Sur
Ca ²⁺	Calcio
dds	Días después de la siembra
DF	Dormancia fisiológica
DFNP	Dormición fisiológica no profunda
DM	Dormancia morfológica
DMF	Dormancia Morfofisiológica
DY	Dormancia física
DY + DF	Dormancia combinada
g	Gramos
GA	Giberelina
GAs	Giberelinas
GA ₃	Ácido giberélico
Germ	Germinación
H ₃ PO ₄	Ácido fosfórico
H ₃ SO ₄	Ácido sulfúrico
mg L ⁻¹	Miligramos por litro
ml	Mililitros
MVA	Ácido mevalónico
NaCl	Cloruro de sodio
NO ₃	Nitrato
Oax	Oaxaca
O ₂	Oxígeno
Qro.	Querétaro
Son	Sonora
Ver	Veracruz
%	Porcentaje

RESUMEN GENERAL

Esta tesis aborda el tema de la dormancia en semillas de chile silvestre colectadas en diferentes regiones geográficas y ecológicas de la República Mexicana y sur de Arizona, EEUU. Los objetivos fueron: (1) Clasificar una muestra conformada por 36 accesiones de la colección con base al nivel de dormancia en sus semillas y determinar si existe alguna relación entre nivel de dormancia y región geográfica y/o ecológica de procedencia de la accesión; y (2) Desarrollar protocolos para germinar las accesiones de chile silvestre que presentan alta y muy alta dormancia en la semilla a partir de tratamientos con Ácido Giberélico (GA_3), Temperatura, y Ácido Fosfórico (H_3PO_4). Para ello, el documento se dividió en tres capítulos. En el Capítulo I se presenta el marco teórico y los antecedentes sobre las especies de *Capsicum* y los chiles silvestres y domesticados de México, su distribución, diversidad, e importancia, y el conocimiento actual sobre dormancia en semillas, con particular atención a los aspectos ecofisiológicos y genéticos involucrados en la viabilidad, germinación y dormancia de las semillas de chile, así como los métodos actuales y estudios relacionados para analizar viabilidad, germinación y dormancia en semillas de *Capsicum* silvestre. En el Capítulo II se aborda el primer objetivo de la tesis, el cual consistió en determinar y clasificar los niveles de dormancia de 36 accesiones de chile silvestre provenientes de 10 Estados mexicanos y sur de Arizona, EEUU. Las 36 accesiones analizadas representan cuatro grandes regiones geográficas de México (Noroeste, Pacífico-centro, Centro-Golfo y Sureste). Como controles se incluyeron dos accesiones domesticadas de chile criollo del Centro-Norte de México, uno tipo Puya y otro tipo Guajillo. Los niveles de dormancia en las semillas se calcularon mediante la diferencia entre los porcentajes de viabilidad y germinación de cada accesión. El % de viabilidad fue determinado por densitometría óptica de semillas tratadas con rayos X. El % de germinación se obtuvo mediante pruebas de germinación en frascos con agar-agua incubadas por 20 días en un cuarto de germinación a $25^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$. La dormancia en semillas de los controles (chile Puya y Guajillo) fue de 0%, pero los niveles de dormancia en semillas de chile silvestre fluctuaron entre 0 y 100%, con un promedio general del 60% para las 36 accesiones. No se detectó una relación entre nivel de dormancia y región de procedencia de las accesiones. Los resultados indican que no todos los chiles silvestres de México presentan dormancia en la semilla. En el Capítulo III se aborda el segundo

objetivo de la tesis, el cual consistió en evaluar tratamientos hormonales, de temperatura y tiempos de exposición a H_3PO_4 para romper la dormancia e inducir la germinación en semillas de 16 accesiones de chile silvestre seleccionadas en el objetivo I por su alto nivel de dormancia. Las 16 accesiones provienen de ocho entidades de México (Sonora, BCS, Nayarit, Jalisco, Querétaro, Veracruz, Chiapas y Oaxaca) y sur de Arizona, EE.UU. Para ello, se efectuaron cuatro experimentos independientes entre marzo y diciembre de 2014. En el primero se evaluaron cuatro concentraciones de GA_3 : 0, 50, 500 y 5000 ppm. En el segundo se evaluaron temperaturas de 25, 28, 31 y 35 °C. En el tercer experimento se evaluaron cuatro tiempos de exposición (0, 5, 10 y 15 minutos) a una solución de H_3PO_4 al 20%, y en el cuarto experimento se evaluaron tratamientos combinados del mejor tiempo de exposición al H_3PO_4 al 20%, seguido de la mejor concentración de GA_3 para cada una de las 16 accesiones de chile silvestre. Como semilla control sin dormancia en los cuatro experimentos se incluyó una variedad regional de chile tipo Puya, la cual mostro más del 50 % de germinación con y sin tratamiento antes de los 20 dds. Por el contrario, la germinación de accesiones silvestres a 20 dds con GA_3 fluctuó entre 0 y 93%, y llegó hasta 100 % a los 30 dds. El tratamiento con temperatura produjo de 0 a 67 % de germinación y la mayor germinación (67%) se alcanzó a 28 °C con la accesión 1331 de Chiapas. La respuesta al tiempo de exposición al H_3PO_4 al 20% fluctuó entre 0 y 93 % de germinación a los 20 dds y llegó hasta 100 % a los 30 dds. La combinación de H_3PO_4 y GA_3 produjo entre 0 y 93% de germinación, dependiendo de la accesión. Las accesiones 1331 de Chiapas, 1078 de Querétaro y 1120 de Sonora alcanzaron 93, 80 y 80 % de germinación a los 30 dds, respectivamente. En general, la mayor germinación se obtuvo con diferentes tiempos de exposición al H_3PO_4 y/o con 5000 ppm de GA_3 . Los resultados del presente trabajo permitieron desarrollar protocolos específicos para inducir la germinación de semillas de chile silvestre de diferentes regiones de México que presentan alta y muy alta dormancia. Los resultados también demuestran que no existe un protocolo único para romper la dormancia de semillas de chile silvestre de diferentes regiones. Los resultados de la tesis permitieron derivar las siguientes conclusiones generales: (1) las semillas de chiles silvestres provenientes de diferentes regiones de México presentan diferentes niveles de dormancia, la cual fluctuó desde muy baja (<10%) hasta dormancia muy alta (>90%); (2) No existe una relación entre el nivel de dormancia y la región de procedencia de las accesiones; (3) El tratamiento de semillas con GA_3 en altas concentraciones (hasta 5000 ppm) durante 24 horas promueve e incrementa la

germinación en la mayoría de las accesiones, pero no en todas; sin embargo, algunas accesiones pueden alcanzar y/o superar el 50% de germinación con este protocolo. (4) El tratamiento de semillas con H_3PO_4 al 20% durante 10 y 15 minutos promueve la germinación en la mayoría de las accesiones con alta y muy alta dormancia, las cuales pueden alcanzar >66% de germinación; (5) Se logró generar una serie de protocolos específicos para germinar semillas de chile silvestre con alta y muy alta dormancia.

Palabras Clave: Chile silvestre, semilla, Dormancia, Protocolos, Germinación.



ABSTRACT

This thesis addresses the issue of dormancy in wild chile seeds collected in different geographical and ecological regions of Mexico and Southern Arizona, USA. The objectives were: (1) Classify a sample of 36 accessions based on the level of dormancy in seeds, and determine whether there is any relationship between level of dormancy and geographic region and/or ecological origin of the accession; and (2) Develop protocols to germinate wild chile accessions presenting high and very high seed dormancy, using treatments with gibberellic acid (GA_3), temperature, and phosphoric acid (H_3PO_4). The document is divided in three chapters. In Chapter I, the theoretical framework and background on *Capsicum* species is documented, including wild and domesticated chiles of Mexico, its distribution, diversity, and importance, as well as current knowledge about seed dormancy. Particular attention is given to the ecophysiological and genetic aspects of viability, germination and seed dormancy of *Capsicum*, including current methods to analyze viability, germination and dormancy in wild *Capsicum* seeds. In Chapter II, the first objective of the thesis is addressed, which was to identify and classify the dormancy levels of 36 accessions of wild chile from 10 Mexican states and southern Arizona, USA. The 36 accessions analyzed represent four major geographic regions of Mexico (Northwest, Pacific-Center, Center-Gulf, and Southeast). Two domesticated *C. annum* chilli accessions from North Central Mexico were included as non-dormant controls: Puya and Guajillo. Dormancy levels in the seeds were calculated by the difference between the percentages of viability and germination of each accession. Percent viability was determined by optical densitometry of seeds treated with X-rays; % germination was obtained by germination tests on Petri plates with water-agar, incubated for 20 days in a bioclimatic chamber at 25°C with no-light. Seed dormancy in the Puya and Guajillo controls was 0%, but levels of dormancy in seeds of wild chili ranged from 0 to 100%, with an overall average of 60% for the 36 accessions. No relationship was detected between level of dormancy and region of origin of the accessions. The results indicated that not all wild chilies of Mexico have seed dormancy. In Chapter III, the second objective of the thesis was addressed to break dormancy and induce germination in seeds of 16 accessions of wild chili selected for their high levels of dormancy. Types of treatments were: hormonal, temperatures, and time of exposure to H_3PO_4 . The 16 accessions come from eight states of Mexico (Sonora, Baja California Sur, Nayarit, Jalisco, Queretaro,

Veracruz, Chiapas and Oaxaca), and southern Arizona, USA. Four independent experiments between March and December 2014 were conducted. In the first experiment, four concentrations of gibberellic acid (GA_3) were evaluated: 0, 50, 500 and 5000 ppm; In the second experiment, four temperatures were evaluated (25, 28, 31 and 35 °C). In the third experiment, four times of exposure to a solution of 20% H_3PO_4 were evaluated (0, 5, 10 and 15 minutes), and in the fourth experiment, combined treatments of the best time of exposure to H_3PO_4 , followed by the best concentration of GA_3 were evaluated for each of the 16 accessions of wild chili. The regional non-dormant seed of Puya was included as a control in the four experiments. The Puya seed showed more than 50% germination regardless of seed treatment and das (days after seeding). On the contrary, the germination of wild accessions at 20 das with GA_3 fluctuated between 0 and 93%, and reached 100% at 30 das. Treatments with temperature produced 0 to 67% of mean germination; the higher germination (67%) was achieved at 28 °C with the accession 1331 from Chiapas. Exposure to 20% H_3PO_4 produced between 0 and 93% germination at 20 das, reaching 100% at 30 das. The combination of H_3PO_4 and GA_3 produced between 0 and 93% germination, depending on the accession. Accession 1331 from Oaxaca, 1078 from Queretaro and 1120 from Sonora reached 93, 80 and 80% germination at 30 das, respectively. In general, most germination was obtained with different exposure times to H_3PO_4 and/or with 5000 ppm GA_3 . The results of this work allowed to develop specific protocols to induce germination of wild chili seeds that have high and very high dormancy from different regions of Mexico. The results also showed that there is no single protocol to break dormancy of wild chili seeds from different regions. The results of the thesis allowed the following general conclusions: (1) seeds of wild chilies from different regions of Mexico have different levels of dormancy, which ranged from very low (<10%) to very high dormancy (> 90 %); (2) There is no relationship between level of dormancy, and region of origin of the the accession; (3) The seed treatment with GA_3 at high concentrations (up to 5000 ppm) for 24 hours promotes and increases % germination in most accessions; however, some accessions can reach and/or exceed 50% germination with this protocol. (4) Seed treatment with 20% H_3PO_4 for 10 to 15 minutes promotes germination in most accessions with high and very high dormancy, which can reach >66% germination; (5) It was possible to generate a series of specific protocols for germinating seeds of wild chiles with high and very high dormancy.

Keywords: wild Chile, seed dormancy, Protocols, Germination.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Capsicum annuum L. es la especie cultivada de *Capsicum* de mayor importancia económica mundial debido a la superficie cultivada y volumen de producción. Las formas y parientes silvestres de *Capsicum* se distribuyen desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Paraguay y norte de Argentina. En México los chiles silvestres se localizan fundamentalmente en selva baja caducifolia, a las orillas de caminos, huertos, potreros y bajo la vegetación remanente en orillas de los campos de cultivo (Hernández y col., 1999) El chile silvestre es un fruto de recolección de alta demanda en algunos estados de la República Mexicana como Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Sinaloa y Sonora (García y col., 2010). Generalmente los frutos cosechados en fresco o en seco se usan como condimento y son altamente demandados durante todo el año tanto en México como en EEUU; los altos precios que alcanzan los chiles silvestres han generado mayor presión en las poblaciones silvestres en algunos estados del norte como Sonora, Sinaloa, Nuevo León y Tamaulipas. Asimismo, los cambios en el uso del suelo junto con otros disturbios antropogénicos han puesto en riesgo el aprovechamiento sustentable del chile silvestre en México. Por otro lado, la dormancia y/o germinación lenta e irregular de las semillas dificulta la incorporación o reclutamiento de plantas en las poblaciones de chile silvestre. En algunas regiones del país. Lo anterior pone en riesgo la permanencia de los chiles silvestres en México su aprovechamiento sostenido.

Esta tesis tiene como objetivo principal determinar y clasificar los niveles de dormancia en semillas de un grupo de accesiones de chile silvestre colectadas en diferentes regiones de México, así como desarrollar protocolos para germinar accesiones con alta dormancia. El documento está dividido en tres capítulos, el capítulo I aborda los fundamentos teóricos y antecedentes relacionados con el estado del conocimiento actual sobre el tema. El Capítulo II se enfoca al análisis de germinación, viabilidad y dormancia de 36 accesiones de chile silvestre seleccionadas para el estudio. El Capítulo III se enfoca al desarrollo de protocolos para germinar semillas de chile silvestre con alta dormancia de diferentes procedencias.

I. MARCO TEÓRICO

1.1 GENERALIDADES SOBRE LAS ESPECIES DE *CAPSICUM*

El género *Capsicum* pertenece a la familia Solanácea y cuenta con más de 30 especies científicamente identificadas, de las cuales sólo cinco han sido domesticadas (*C. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, y *C. baccatum*). El resto se distribuye de manera silvestre desde el suroeste de EEUU hasta el norte de Argentina.

En México, las plantas silvestres de *Capsicum* son perennes, herbáceas o trepadoras que pueden alcanzar 4m de altura y se reproducen sólo por semilla; tienen frutos pequeños, rojos y pungentes que son consumidos y dispersados por las aves (Hernández y col., 2010).

Para algunos investigadores el género *Capsicum* se originó en América del Sur y se dispersó por todo el continente Americano debido a las migraciones precolombinas (Fernández & Russo, 2006). En todo México existe una gran diversidad y dispersión de chiles silvestres y domesticados, por lo cual es considerado uno de los principales centros de origen y domesticación de *Capsicum*, y en particular de *C. annuum* (Bran y col., 2007).

Kraft y col. (2012) encontraron y colectaron semillas de chiles silvestres por todo el país, (Figura 1.1) incluyendo Sonora, Baja California, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Querétaro, Nuevo León, Tamaulipas, Veracruz, península de Yucatán, Chiapas y Oaxaca.

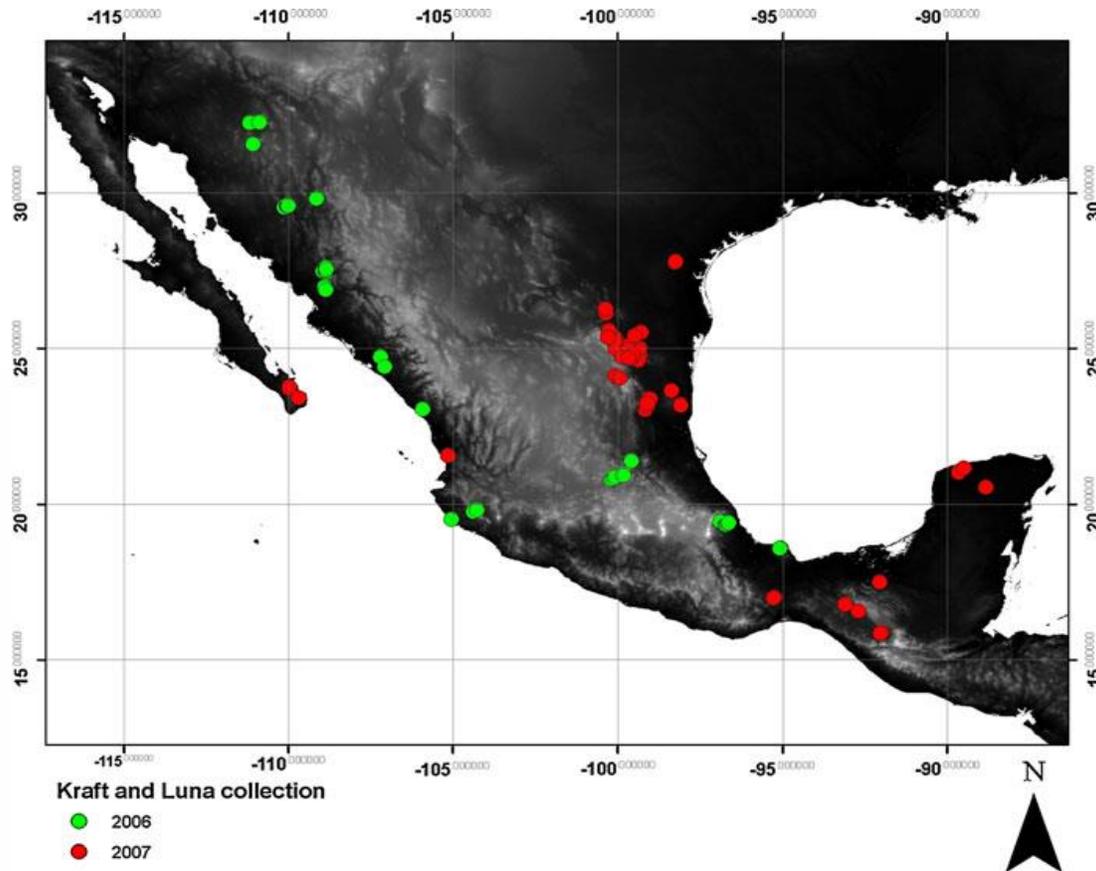


Figura 1.1 Sitios de colecta de semillas de chile silvestre realizadas en 2006 y 2007 por Kraft y col. (2012)

Las especies silvestres con una amplia variabilidad en su hábitat generan poblaciones con patrones de germinación contrastantes (Meyer y col., 1995). Lo anterior puede presentarse en colectas procedentes de distintas ecorregiones de un país.

Las poblaciones de chile silvestre en México pertenecen principalmente a *Capsicum annum* var. *glabriusculum* y son consideradas un recurso genético muy valioso para la agricultura y la alimentación. Sus genes son potencialmente útiles para solucionar problemas agrícolas, como la resistencia a enfermedades (Hernández y col., 1998). Sin embargo, a la fecha es muy poco el conocimiento que tenemos sobre mecanismos de germinación y dormancia de semillas en las poblaciones silvestres de *Capsicum* de México. Lo anterior es muy importante para proponer programas eficientes de manejo, aprovechamiento y conservación (Hernández y col., 2010).

OTRAS ESPECIES DOMESTICADAS DE *Capsicum*

Capsicum frutescens.

Flores solitarias en cada nudo (ocasionalmente fasciculados). Los pedicelos erectos en la antesis, pero las flores oscilantes. La corola es blanca verdosa; sin manchas difusas en los lóbulos; los lóbulos de la corola poco enrollados hacia atrás. El cáliz del fruto maduro sin constricciones anulares en su inserción a los pedicelos, aunque irregularmente arrugados, las nervaduras generalmente no se prolongan en dientes.

El mesocarpio del fruto es suave, las semillas son de color pajizo. El número de cromosomas $2n=24$, con un par de cromosomas acrocéntricos. Ejemplo: chile tabasco.

Capsicum chinense

Presentan 2 o más flores en cada nudo, y ocasionalmente solitarias; pedicelos erectos o declinantes en antesis; la corola es blanca verduzca y ocasionalmente blanca lechosa o morada, con manchas difusas en los lóbulos de la corola, generalmente rectos o derechos. El cáliz del fruto maduro generalmente con constricciones anulares en la unión con los pedicelos; las nervaduras no se prolongan en dientes. El mesocarpio es firme.

La semilla es de color pajiza. El número de cromosomas es $2n=24$, con un par de cromosomas acrocéntricos, Ejemplo: Chile habanero

Capsicum baccatum

Flores solitarias en cada nudo; pedicelos erectos o declinantes en la antesis; la corola blanca o blanca verduzca con manchas amarillas difusas en los lóbulos de la corola en ambos lados de la vena media. Los lóbulos de la corola generalmente poco enrollados hacia atrás; cáliz del fruto maduro sin restricciones anulares); las venas prolongadas en dientes prominentes. El mesocarpio del fruto es firme, las semillas color pajizo; el número de cromosomas $2n=24$ con un par de acrocéntricos. Ejemplo: escabeche

Capsicum pubescens

Flores solitarias en cada nudo. Pedicelos erectos en anthesis, pero las flores oscilantes; la corola es morada (ocasionalmente con márgenes blancos hacia los lóbulos y/o tubos blancos) sin manchas difusas en las manchas de los lóbulos (aunque una gota de néctar amarillo podría acumularse en esta posición y simular una mancha en la corola); los lóbulos de la corola generalmente rectos. El cáliz del fruto maduro con constricciones anulares en la unión de los pedicelos: las venas se prolongan en dientes. El mesocarpio del fruto es firme. Las semillas son oscuras en color. El número de cromosomas $2n=24$ (García, 1983)



1.2 ECORREGIONES DE MÉXICO

Las ecorregiones o biorregiones son unidades geográficas con flora, fauna y ecosistemas característicos. Son una división de las grandes “ecozonas” o regiones biogeográficas. Las ecorregiones nos permiten contar unidades geográficas que comparten una gran mayoría de sus especies y dinámicas ecológicas, y reúnen condiciones ambientales similares donde ocurren interacciones ecológicas de las cuales depende su persistencia a largo plazo. Estas pueden definirse a distintas escalas anidadas, que agrupan unidades similares desde biomas (como desiertos y bosques), hasta unidades definidas por características geomorfológicas, tipos de vegetación y composición de especies. A escala del subcontinente, son 15 las ecorregiones de nivel I escala 1:40-50 millones; 52 las de nivel 2, escala 1:20-30 millones, y 200 las de nivel 3, estas últimas escala 1:2-4 millones. México ha avanzado en definir 4 (N4), identificando 96 ecorregiones a escala 1:1 millón (Cantú y col., 2007).

Las unidades ecorregionales han sido utilizadas en los últimos años para definir las prioridades de conservación a escala global y regional. México sobresale entre los países de América con mayor superficie prioritaria para la conservación. Destacan 5 de las 6 ecorregiones consideradas como prioritarias (Figura 1.2) chaparral y bosques de California, desierto de Sonora y Baja California, bosques de pino y encino de las Sierras Madre Oriental y Occidental, bosques secos mexicanos del sur, y los desiertos chihuahuense y de Tehuacán (Cantú y col., 2007).

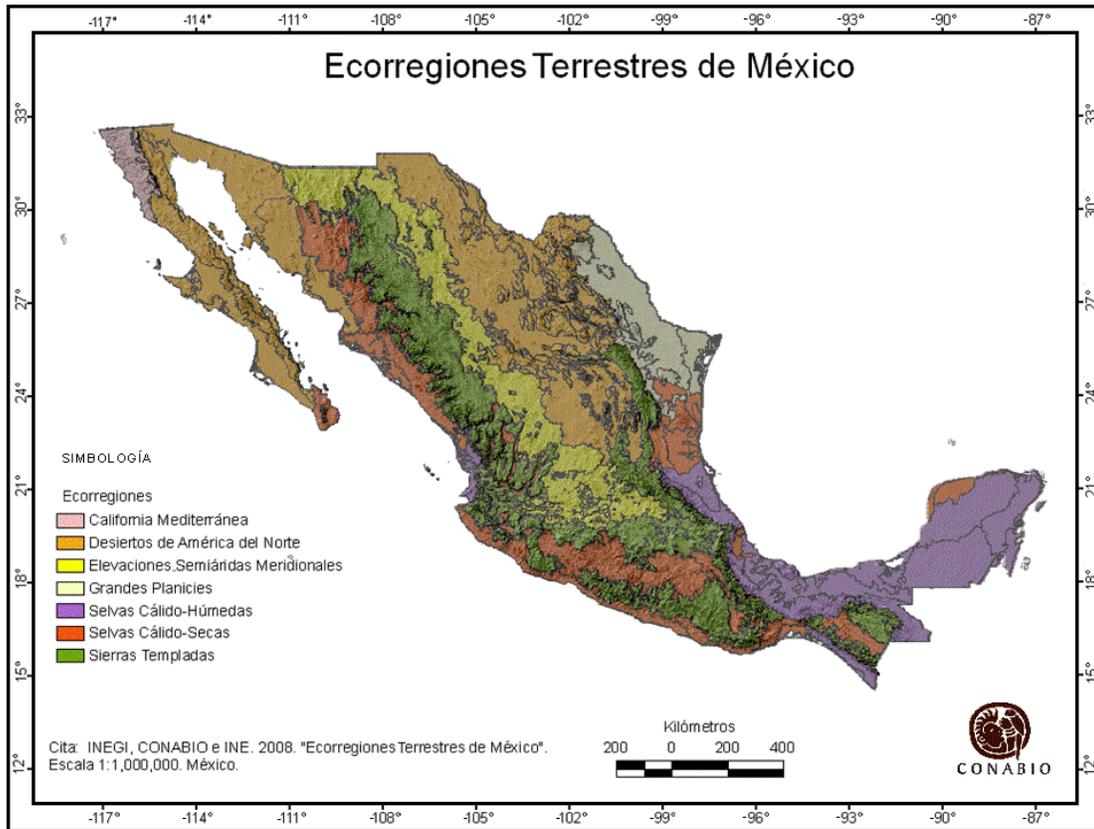


Figura 1.2 Mapa de las diferentes Ecorregiones Terrestres de México

REGIONES ECOLÓGICAS

Nivel I

América del Norte ha sido dividida en 15 amplias regiones ecológicas de nivel I; esta clasificación permite distinguir las principales áreas ecológicas y proporcionar una perspectiva del mosaico ecológico del subcontinente, lo que hace posible observar tendencias y comportamientos en escala global o intercontinental.

Las unidades ecológicas de Nivel 1 son: Cordillera Ártica, Tundra, Taiga, Planicies de Hudson, Bosques Septentrionales, Montañas Noroccidentales de Coníferas, Bosques Costeros Occidentales, Bosques Templados del Este, Grandes planicies, Desiertos de

América del Norte, California Mediterránea, Elevaciones Semiáridas Meridionales, Sierras Templadas, Selvas Cálido-Secas y selvas Cálido-Húmedas.

Nivel II

Se identifican 52 regiones ecológicas que intentan proporcionar mayor detalle en la descripción de áreas ecológicas anidadas en las regiones de Nivel I. Por ejemplo, las Selvas Cálido-Húmedas del Nivel I, que abarcan porciones costeras de Estados Unidos y México, comprenden seis unidades de Nivel II. Las regiones ecológicas de Nivel II son útiles para las revisiones generales, nacionales y subcontinentales, de fauna silvestre, características físicas y uso de suelo.

Nivel III

Los mapas de Nivel III describen áreas ecológicas más pequeñas, anidadas en las regiones de Nivel II. Estas subregiones sirven para fortalecer el monitoreo ambiental regional, la evaluación y la elaboración de informes y la toma de decisiones. Dado su tamaño, estas regiones permiten identificar características locales más específicas, lo mismo que formular estrategias para su manejo (CCA, 1997).

Los chiles silvestres se encuentran distribuidos por el territorio nacional y las colectas que se hicieron en 2006 y 2007 muestran la variedad de ecorregiones en las que se encuentran ya que las accesiones de chile silvestre colectadas en el noroeste pertenecen a los lomeríos de Sonora y Sinaloa y cañones de la Sierra Madre Occidental con Matorral Xerófilo y Bosque bajo de mezquite. En la región del pacífico las accesiones de chile silvestre se encuentran en la ecorregión de Lomeríos y planicies costeras de Nayarit y Jalisco con selva perennifolia, así como los bosques de conífera y encino y mixtos de la Sierra Madre del sur de Jalisco y Michoacán. En el sur hay chiles silvestres pertenecientes a la ecorregión de planicie Occidental Yucateca con selva caducifolia, así como la depresión central de Chiapas con selva caducifolia. En la región centro-golfo las accesiones pertenecen a la ecorregión de Lomeríos y planicies del interior con matorral xerófilo y bosque bajo de mezquite en el golfo las accesiones estaban ubicadas en la ecorregión de la Sierra de los Tuxtla con selva perennifolia.

1.3 SEMILLAS

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, siendo uno de los elementos más eficaces para que ésta se disperse en tiempo y espacio. Las semillas son el medio a través del cual, aún de manera pasiva, las plantas encuentran nuevos sitios y microambientes (Doria, 2010).

ORIGEN

La semilla es una unidad reproductiva compleja, característica de las plantas vasculares superiores, que se forma a partir del óvulo, generalmente después de la fertilización.

Se encuentra tanto en las plantas con flores (angiospermas) y sin flores (gimnospermas).

En las angiospermas los óvulos se desarrollan dentro de un ovario, en tanto que en las gimnospermas la estructura que los contiene es muy diferente, pues no constituye una verdadera flor; sin embargo, la estructura de las semillas de estas plantas es básicamente similar a la de flores.

Las reservas energéticas de la semilla son: grasas, carbohidratos y a veces proteínas, que sostendrán a la futura planta durante sus primeras etapas de vida. Estas reservas, pueden encontrarse en diferentes tejidos o en el mismo embrión.

CLASIFICACIÓN DE SEMILLAS EN FUNCIÓN DE SU TOLERANCIA A LA DESECACIÓN

Semillas ortodoxas: son tolerantes a la desecación, se dispersan y conservan luego de alcanzar un bajo porcentaje de humedad.

Semillas recalcitrantes: son sensibles a la desecación, se dispersan junto con los tejidos del fruto (caroso) con altos contenidos de humedad. Para que la semilla cumpla con su objetivo, es necesario que el embrión se transforme en una plántula, que sea capaz de valerse por sí misma y finalmente convertirse en una planta adulta. Todo ello comprende una serie de procesos metabólicos y morfogenéticos, cuyo resultado final es la germinación de la semilla (Doria, 2010).

1.4 GERMINACIÓN

La germinación es el reinicio del crecimiento del embrión, paralizado durante las fases finales de la maduración. Los procesos fisiológicos de crecimiento exigen actividades metabólicas aceleradas y la fase inicial de la germinación consiste primariamente en la activación de los procesos por aumentos en la humedad y actividad respiratoria de la semilla.

La absorción de agua por la semilla desencadena una secuencia de cambios metabólicos que incluye la respiración, síntesis proteica y movilización de reservas. A su vez la división y el alargamiento celular en el embrión provocan la rotura de las cubiertas seminales, que generalmente se produce por la emergencia de la radícula (Doria, 2010).

FASES DE LA GERMINACIÓN

Comprende tres etapas sucesivas que se superponen parcialmente: Absorción de agua por imbibición, causando su hinchamiento y ruptura final de la testa; Inicio de la actividad enzimática y del metabolismo respiratorio, translocación y asimilación de las reservas alimentarias en las regiones en crecimiento del embrión, crecimiento y división celular que provocan la emergencia de la radícula, y posteriormente de la plúmula. En la mayoría de las semillas, el agua penetra inicialmente por el micrópilo y la primera manifestación de la germinación exitosa es la emergencia de la radícula.

Las fases de la germinación son: hidratación, germinación y crecimiento

Hidratación

La absorción de agua es el primer paso para la germinación, sin el cual el proceso no puede darse. Durante esta fase se produce una intensa absorción de agua por parte de los distintos tejidos que forman la semilla. Dicho incremento va acompañado de un aumento proporcional en la actividad respiratoria y requiere de cierta temperatura para llevarse a cabo.

Germinación

Representa el verdadero proceso en el que se producen las transformaciones metabólicas necesarias para el completo desarrollo de la plántula. En esta fase la absorción de agua se reduce considerablemente, llegando incluso a detenerse.

Crecimiento

Es la última fase de la germinación y se asocia con la emergencia de la radícula (cambio morfológico visible). Esta fase se caracteriza porque la absorción de agua vuelve a aumentar, así como la actividad respiratoria. La duración de cada fase depende de las propiedades de la semilla (contenido de compuestos hidratables y permeabilidad de las cubiertas al agua y oxígeno). Estas fases también están afectadas por las condiciones del medio, tales como el nivel de humedad, las características y composición del sustrato, la temperatura, entre otros. Otro aspecto importante es la relación de estas fases con el metabolismo de la semilla (Doria, 2010).

FACTORES QUE AFECTAN LA GERMINACIÓN

Factores Internos

Madurez de la semilla

Se refiere al completo desarrollo de la semilla, tanto desde el punto de vista morfológico como fisiológico.

La madurez morfológica se consigue cuando las distintas estructuras de las semillas se han completado, dándose por finalizada cuando el embrión ha alcanzado su máximo desarrollo. La madurez de la semilla suele lograrse en la misma planta madre; sin embargo, existen algunas especies que diseminan sus semillas antes de alcanzar su madurez, como ocurre en muchas orquídeas, que presentan embriones muy rudimentarios, apenas diferenciados. Aunque la semilla sea morfológicamente madura, muchas de ellas pueden seguir siendo incapaces de germinar, porque necesitan experimentar aún una serie de transformaciones fisiológicas.

Viabilidad de la semilla

Es el período durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar. Es un período variable y depende del tipo de semilla y las condiciones de almacenamiento. Atendiendo a la longevidad de las semillas, es decir, el tiempo que estas permanecen viables, puede haber semillas que germinan todavía después de decenas o centenas de años, con una cubierta seminal dura, como es el caso de las leguminosas. Una semilla será más longeva conforme menos activo sea su metabolismo. Esto a su vez origina una serie de productos tóxicos, que al acumularse en las semillas producen efectos letales para el embrión.

Las bajas temperaturas dan lugar a un metabolismo mucho más lento, por lo que las semillas conservadas a baja temperatura viven más tiempo que a temperatura ambiente. La deshidratación también alarga la vida de la semilla, más que si se conservan a humedad normal, pero la desecación tiene sus límites, por debajo del 2-5 % en humedad se ve afectada el agua de constitución de la semilla, siendo perjudicial. Para cuestiones prácticas, la viabilidad es la medida de cuantas semillas de un lote están vivas y pueden llegar a convertirse en plantas capaces de reproducirse en condiciones ambientales adecuadas (Kameswara y col., 2007).

Factores Externos

Humedad

La absorción de agua es el primer paso y el más importante que tiene lugar durante la germinación, porque para que la semilla recupere su metabolismo es necesaria la rehidratación de sus tejidos. 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 le rodea. En condiciones normales, este potencial hídrico es menor en las semillas secas que en el medio exterior. Por ello, hasta que emerge la radícula, el agua llega al embrión a través de las paredes celulares de la cubierta seminal, siempre a favor de un gradiente de potencial hídrico.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Aunque es necesaria el agua para la rehidratación de las semillas, un exceso de agua actuaría desfavorablemente para la germinación, pues dificultaría la llegada de oxígeno al embrión.

Temperatura

Es un factor decisivo en el proceso de 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 y un mínimo de temperatura, existiendo un óptimo intermedio. Por ello, las semillas sólo germinan dentro de un cierto margen de temperatura. Si la temperatura es muy alta o muy baja, la germinación no se activa, aunque las demás condiciones sean favorables. La temperatura mínima sería aquella por debajo de la cual la germinación no se produce, y la máxima aquella por encima de la cual se anula igualmente el proceso. La temperatura óptima, intermedia entre ambas, puede definirse como la más adecuada para conseguir el mayor porcentaje de germinación en el menor tiempo posible. Las semillas de especies tropicales suelen germinar mejor a temperaturas superiores a 25 °C. Por otra parte, la alternancia de las temperaturas entre el día y la noche actúan positivamente sobre las etapas de la germinación, por lo que el óptimo térmico de la fase de germinación y crecimiento no tiene por qué coincidir. Así, unas temperaturas estimularían la fase de germinación y otras la de crecimiento.

Gases

La mayor parte de las semillas requieren para su germinación un medio suficientemente aireado, que permita una adecuada disponibilidad de O₂ y CO₂. De esta forma, el embrión obtiene la energía imprescindible para mantener sus actividades metabólicas. La mayoría de las semillas germinan bien en atmósfera normal (21 % de O₂ y 0.03 % de CO₂). Para que la germinación tenga éxito, el O₂ disuelto en el agua de imbibición debe llegar hasta el embrión. A veces, algunos elementos presentes en la cubierta seminal, como los compuestos fenólicos, capas de mucílago, macroesclereidas, etc. pueden obstaculizar la

germinación de la semilla, porque reducen la difusión del O_2 (y agua) desde el exterior hacia el embrión.

La semilla de *C. annuum* muestra un endospermo bien definido, pero la función del endospermo en *Capisucum* durante la germinación aún se desconoce. La resistencia mecánica del endospermo ha mostrado que afecta la tasa de germinación de la semilla de chile, especialmente bajo condiciones de estrés por bajas temperaturas y oxígeno (Cortez, 2011).



1.5 DORMANCIA

La mayoría de las plantas producen semillas incapaces de germinar antes de su dispersión. Se dice que estas semillas están durmientes. Sin embargo, algunas semillas, mantienen esta incapacidad para germinar incluso después de la dispersión. En cambio, otras semillas pueden germinar en la planta madre. Este fenómeno se conoce como viviparismo, en el cual está implicada la inhibición de la síntesis de Ácido Absicico (ABA) a niveles menores (25-50% del normal), o la falta de sensibilidad al ABA durante la fase media-final de la embriogénesis cigótica. La dormición o dormancia puede definirse como el bloqueo en una semilla que impide su germinación en condiciones favorables. Pese a la complejidad de la descripción de la dormición de las semillas, los científicos Carol Baskin y Jerry Baskin (2004) han propuesto una descripción más sofisticada y experimentalmente probada de la dormancia: una semilla durmiente carece de la capacidad para germinar en un periodo de tiempo concreto, aunque se someta a una combinación de factores físicos y medioambientales que en otras circunstancias, favorecen su germinación.

La dormición se divide en primaria o secundaria, si la capacidad germinativa de una semilla está bloqueada antes o después de su dispersión, respectivamente. El ABA está implicado en la aparición de la dormición primaria en semillas ortodoxas y se produce durante la maduración de los órganos de dispersión en la planta madre. Sea cual fuere el tipo de dormición que adquiera una semilla, ésta debe ser eliminada por mecanismos adecuados para que pueda germinar.

En el laboratorio, la dormición primaria se puede eliminar mediante un tratamiento con frío (estratificación), luz, GA₃, etileno, sustancias presentes en el humo del tabaco (p.ej., butenolida) y óxido nítrico, entre otros. Durante el proceso de estratificación de semillas de algunas especies, se produce un descenso en la forma fisiológicamente activa del ABA (ABA-libre), con el consiguiente incremento de la capacidad germinativa. A diferencia de la dormición primaria, la dormición secundaria suele estar relacionada con los ciclos anuales de dormición en los bancos naturales de semillas en el suelo. Su eliminación

suele producirse cuando las condiciones medioambientales en el suelo son las adecuadas para germinar (Agustí, 2008).

La dormancia de las semillas y la germinación son reguladas por claves de desarrollo y factores ambientales (Koorneff y col., 2002). Los diferentes tipos de dormancia existen, sin embargo, el control de la germinación es con frecuencia una consecuencia de la interacción entre el potencial de crecimiento embrionario y la resistencia de sus tejidos circundantes. Varias hormonas vegetales están involucradas en este control (Kucera y col., 2005), entre ellas el ABA y las giberelinas (GA).

Una semilla dormante no tiene la capacidad de germinar bajo factores ambientales óptimos o normales como luz, temperatura, oscuridad, etc. En ausencia de dormancia, la semilla germinaría bajo las condiciones anteriores.

En el caso de la dormancia morfológica, la germinación requiere de un periodo adicional para que se complete el crecimiento del embrión. Una semilla sin dormancia no germinará, a menos que haya una combinación física de ciertos factores ambientales como temperatura, luz/oscuridad, etc., dependiendo del taxón y el genotipo, y tal vez el medio ambiente y la posición sobre la que se desarrolló la inflorescencia. Las semillas sin dormancia que no germinan debido a la ausencia de uno o más de estos factores, se dicen que tienen un estado de quiescencia (dormancia forzada) (Baskín y Baskín, 2004).

CLASIFICACIÓN DE LA DORMANCIA

Dormancia innata

Se conoce también con varios nombres como dormancia primaria, natural, inherente, endógena. La dormancia innata es el tipo de dormancia que presenta el embrión que se encuentra en la semilla cuando acaba de completar su desarrollo, pero aún sigue adherido a la planta. Este tipo de dormancia previene la germinación temprana, principalmente, antes de que se desprenda la semilla de la planta madre.

Esta dormancia también se denomina dormancia de embrión, y se produce cuando la semilla embebe agua, pero no germina, ya sea por tener una envoltura dura, o por presentar estructuras que impiden la entrada de humedad al embrión. Si la envoltura de la semilla se remueve y esta no germina, se dice que la dormancia es provocada por la presencia de sustancias inhibidoras (Garro, 2002).

Dormancia forzada

Esta se conoce también como dormancia ambiental, y se presenta cuando se producen fenómenos o limitantes ambientales que obstaculizan o impiden el desarrollo de la germinación. Este grupo frecuentemente reúne semillas que en forma natural permanecen dormantes mientras están enterradas en el suelo, pero que germinan tan pronto se colocan en condiciones óptimas. Las condiciones responsables de este tipo de dormancia son la falta de luz, poca aireación, baja humedad y ausencia de temperaturas fluctuantes (Garro, 2002).

Dormancia inducida o secundaria

Esta dormancia se produce cuando a las semillas viables se les proporciona únicamente un factor esencial para germinar. Por ejemplo agua, pero falta otro factor indispensable para la germinación, como la luz o la temperatura. La dormancia inducida persiste por algún tiempo, y es esta capacidad de persistir lo que hace la diferencia entre inducida y dormancia forzada. La dormancia inducida puede provocarse durante el almacenamiento con procesos de secado, exceso de humedad y temperaturas altas y bajas (Garro, 2002).

La dormancia inducida está vinculada fundamentalmente a las condiciones medioambientales, y se induce una vez que la semilla ha sido diseminada y la dormición primaria ha disminuido. En condiciones naturales, la dormición secundaria es inherente a muchas semillas integrantes del banco de semillas del suelo. Los cambios periódicos (anual o bianual) en la dormición secundaria pueden explicar la germinación estacional de las especies leñosas, entre otras. La dormición secundaria se induce cuando una semilla no dormante no recibe la señal, o las señales externas para germinar. Cuando se

alcanzan las condiciones ambientales óptimas, entonces se da el proceso germinativo. En términos fisiológicos, las semillas con dormición primaria y secundaria son diferentes, principalmente porque responden de forma distinta a un mismo factor estimulante de la germinación. La temperatura, y posiblemente el potencial hídrico del suelo, son los factores que más determinan el carácter cíclico anual de la dormición secundaria. Paralelamente, otros estimulantes de la germinación, como la luz y el NO_3 , colaboran en la eliminación de la dormición secundaria. Se ha postulado que las membranas biológicas podrían ser las responsables de la percepción de la temperatura. Por consiguiente se supone que las alteraciones en sus propiedades están implicadas en la regulación de esta dormición (Matilla, 2008).

OTRO SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE DORMANCIA

Los científicos de semillas necesitan un sistema jerárquico internacional para clasificar la dormancia de semillas. Basándose en numerosos estudios, es evidente que muchas semillas presentan dormancia en la madurez, y además que presentan varios mecanismos innatos o combinaciones para retrasar la germinación, de ahí que existen diferentes tipos de dormancia (Baskín y Baskín, 2004).

La diversidad en tipos de dormancia requiere de un sistema integral e internacional para su clasificación. Baskin y Baskin (2004) propusieron un nuevo sistema que incluye tres niveles jerárquicos de dormancia: clase, nivel y tipo. Una clase puede contener niveles y tipos, y un nivel sólo puede contener tipos. El sistema incluye 5 clases de Dormancia (Cuadro 1.1): Dormancia fisiológica (DF), Dormancia morfológica (DM), Dormancia Morfofisiológica (DMF), Dormancia física (DY) y Dormancia combinada (DY + DF).

La DF presenta el sistema de clasificación más extenso, y contiene tres niveles y 5 tipos, además, es la dormancia más común y se produce en todas las gimnospermas y en los principales clados de angiospermas. La dormancia no profunda y la DMF contienen ocho niveles, pero no contienen tipos, en tanto que la DY no está subdividida (Baskín y Baskín, 2004).

Cuadro 1.1 Sistema de clasificación de dormancia en semillas.

-
- A. Clase- Dormancia Fisiológica (DF)
 - Nivel- profundo, intermedio, No profundo.
 - Tipos- 1,2,3,4,5 (nivel no profundo)
 - B. Clase- Dormancia morfológica (DM).
 - (no incluye semillas con embriones no diferenciados)
 - C. Clase- Dormancia Morfofisiológica (DMF)
 - Nivel- no profundo simple, intermedio simple, epicotilo profundo simple,
 - Doble profundo simple, complejo no profundo, complejo intermedio y Complejo profundo (no incluye semillas con embrión no-diferenciado)
 - D. Clase- Dormancia física (PF)
 - E. Clase- Dormancia Combinada (DY+ DF)
 - Nivel- no profundo DF (probablemente tanto tipo 1 como tipo 2 están Representados.
-

(Baskín y Baskín, 2004).

Dormancia fisiológica (DF):

Se reconocen tres niveles de DF; profunda, intermedia, y no profunda. La mayoría de las semillas tienen DF no profunda, de la cual se derivan 5 tipos (Figura 1.3), El punto de partida en el eje de las X de la Figura 1.3 los valores van de $<1,0$ a $>0,0$ y representan la continuidad de las etapas hacia la ruptura de dormancia.. Durante la progresión de la dormancia a la no dormancia, el rango de la temperatura a la que las semillas pueden germinar aumenta gradualmente (eje Y): (1) de menor a mayor (dormancia tipo 1), (2) de mayor a menor (dormancia tipo 2), y (3) medio alto y bajo (dormancia tipo 3). Además, en las semillas con dormancia no profunda, los tipos 1, 2 y 3 son sensibles a otros factores, como los reguladores del crecimiento vegetal (Baskín y Baskín, 2004).

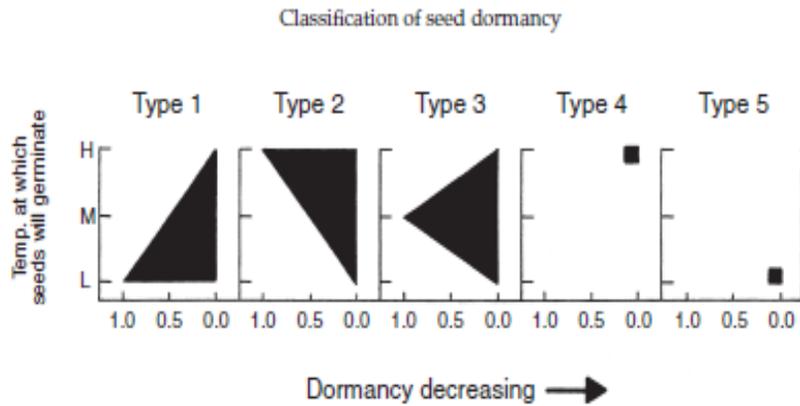


Figura 1.3. Tipos de Dormancia fisiológica no profunda en la semilla (tomado de Baskín y Baskín 2004).

Dormancia morfológica

En las semillas con Dormancia morfológica (DM), el embrión es pequeño o poco desarrollado, pero diferenciado (cotiledón, hipocotilo y radícula pueden ser distinguidos). Los embriones en semillas con DM son fisiológicamente activos, y no requieren un tratamiento previo para romper la dormancia y germinar. Sólo necesitan tiempo para alcanzar su tamaño completo y luego germinar. El período de dormancia es el tiempo transcurrido entre la incubación de las semillas y la emergencia de la radícula. En condiciones apropiadas, los embriones de semillas maduras comienzan a crecer en pocos días hasta 1-2 semanas. Las semillas con embriones completamente desarrollados germinan en aproximadamente 30 días (Baskín y Baskín, 2004).

Dormancia Morfofisiológica

Las semillas con este tipo de dormancia presentan un embrión subdesarrollado con un componente de dormancia fisiológica. Por lo tanto, para germinar requieren un tratamiento previo para romper la dormancia. En las semillas con DMF, el crecimiento del embrión y la emergencia de la radícula requieren un periodo considerablemente más largo que las semillas con DM. Existen ocho niveles conocidos de DMF según el protocolo para rompimiento de dormancia y germinación (Cuadro 1.2) (Baskín y Baskín, 2004).

Cuadro 1.2. Niveles de dormancia Morfofisiológica y temperaturas para romperla (Baskin y Baskin, 1998).

Tipo de MPD	Temperatura requerida		GA ₃ Dormancia Superada
	Rompimiento de dormancia en la semilla	Tiempo de crecimiento del embrión	
No profunda simple	W o C	W	+ ^c
Intermedia simple	W + C	W	+
Profunda simple	W + C	W	+/-
Epicotilo Profundo simple	W + C	W	+/-
Doble profundo simple	C + W + C	W	?
Complejo no Profundo	C	C	+
Complejo intermedio	C	C	+
Complejo profundo	C	C	-

W, estratificación cálida; C estratificación fría.

DMF, Dormancia Morfofisiológica.

+, sí; +/-, si/no; -, no

Dormancia Física

La dormancia física (DY) es causada por una o más capas de células en empalizada impermeables al agua en la cubierta seminal, o fruto. Para romper la DY se necesitan condiciones, tanto naturales, como artificiales (Baskin y col., 2000).

Dormancia combinada

En las semillas con dormancia física y dormancia fisiológica (DFY), la cubierta de la semilla es impermeable al agua y además el embrión es fisiológicamente inactivo (Baskin y Baskin, 2004).

ROMPIMIENTO DE LA DORMANCIA

La dormancia puede romperse mediante factores ambientales, los cuales pueden igualarse en laboratorio a través de estímulos de fotoperiodicidad, ya que la exigencia de luz para la germinación de muchas semillas es presuntamente un mecanismo que impide la germinación de semillas pequeñas. Se sabe que la luz se percibe a través del pigmento fitocromo, siendo la luz roja promotora de la germinación, y la luz rojo-lejano inhibitoria. Por tanto, la exigencia de luz para romper la dormancia es baja: 50-200 bujías-pie durante

1 segundo pueden ser suficientes, pero intensidades más bajas durante periodos más largos cumplen el mismo propósito (Bidwell, 1990).

También la dormancia puede romperse con la presencia de GA₃, el cual está relacionado directamente con el desarrollo y germinación de las semillas, pudiendo así reemplazar la necesidad de estímulos ambientales como luz y temperatura (Araya y col., 2000). El GA₃ además simula las condiciones bajo las que se encuentra la semilla cuando pasa por el tracto digestivo de aves, mamíferos, y otros dispersores, lo cual permite el rompimiento de la dormancia (García y col., 2010).

Hormonas relacionadas con la dormancia.

El ABA producido por el embrión induce dormancia durante el desarrollo de la semilla, y las giberelinas promueven la germinación de semillas no dormantes. Además, la cantidad de giberelinas requeridas para la germinación de semillas maduras se controla por concentraciones de ABA durante el desarrollo de la semilla. Por lo tanto, semillas con un bajo nivel de ABA ("ligeramente dormida") producido durante su desarrollo, requieren una baja cantidad de giberelinas para germinar, mientras que las semillas que presentan una alta concentración de ABA (profundamente dormidas), requieren alta cantidad de giberelinas para germinar (Baskín y Baskín, 2004).

Bewley (1997) menciona que el papel regulador de ABA en la inducción de la dormancia durante el desarrollo de la semilla parece claro, mientras que su papel en el mantenimiento de la dormancia no lo es tanto, en parte debido a la presencia de niveles similares de ABA endógeno en semillas dormantes y no dormantes. Por lo tanto, los diferentes efectos del ABA en semillas no dormantes e inactivas pueden reflejar una diferencia en la sensibilidad de la hormona. Además, la dormancia de las semillas también puede ser poligénica, ya que intervienen muchos genes influenciados por el medio ambiente durante el desarrollo de las semillas, lo cual explica la continua variación fenotípica de la dormancia. De los rasgos con gran variación genética en la naturaleza, la dormancia de la semilla es probablemente una de las más complicadas (Baskín y Baskín, 2004).

Ácido Abscísico

La fitohormona ABA fue identificada en los 60s tras estudios realizados sobre la abscisión de frutos y la dormancia de yemas. El grupo liderado por F. Addicott aisló compuestos que provocaban la abscisión de frutos de algodón, y en 1963 se identificó una de ellas, la abscisina II, denominada ABA. Poco después, otro grupo liderado por P. Wareing aisló una sustancia de hojas de *Hacer pseudoplatanus* que promovía dormancia de yemas llamada dormina, que también fue identificada como ABA. Desde entonces, el ABA ha sido implicada en múltiples procesos fisiológicos como regulación de crecimiento, dormancia de semillas, germinación, senescencia, división celular, control de la apertura de estomas, y respuestas a estrés ambiental como sequía, salinidad, baja temperatura, ataque por patógenos, y radiación ultravioleta (Jordan y Casaretto, 2006).

Síntesis del ABA

El ABA existe naturalmente en plantas superiores e inferiores (algas, musgos e incluso algunos hongos). Es un sesquiterpenoide (15 carbonos), y sus rutas biosintética y catabólica han sido esclarecidas principalmente por la caracterización bioquímica de mutantes *aba* de *Arabidopsis* y *viviparous (vp)* de maíz. Las mutantes *vp* de maíz, por ejemplo, tienen un fenotipo albino (no acumulan antocianinas en la aleurona del grano) con niveles bajos de ABA, las semillas no son dormantes y son plantas sensibles a falta de agua y con apariencia marchita

Las reacciones iniciales que intervienen en la síntesis del ABA son idénticas a las de otros isoprenoides, tales como las giberelinas, los esteroides y los carotenoides. En principio se propusieron dos rutas diferentes de biosíntesis: una ruta directa desde el ácido mevalónico (MVA), que implica la ciclación y la oxidación de un precursor C15, y una ruta indirecta, vía escisión oxidativa de un carotenoide oxigenado. La utilización de mutantes con la ruta de biosíntesis de carotenoides bloqueada en sus primeras etapas y de un inhibidor específico de la biosíntesis de carotenoides (flurodina) ha permitido finalmente dilucidar la ruta operativa del ABA en las plantas. Los resultados de estas experiencias y el hecho de que hojas etioladas tratadas con ese inhibidor y sometidas a estrés hídrico se

obtenga una relación estequiométrica de uno a uno entre los descensos de violaxantina y neoxantina, así como el incremento concomitante del ABA y sus metabolitos, son pruebas concluyentes de que solamente la ruta indirecta funciona en las plantas, y de que los epoxicarotenoides son los precursores del ABA.

Las xantofilas zeaxantina, neoxantina y violaxantina son los precursores de la xantoxina, que se oxida a ABA vía aldehído abscísico. Como consecuencia del desdoblamiento de las xantofilas, se forma la xantoxina *cis* y *trans*, pero únicamente la *cis* se convierte en ABA (Zacarías y la Fuente, 2008).

Degradación del ABA

La degradación del ABA-libre se registra durante el almacenamiento de las semillas secas. Esta desaparición a veces se acelera con las altas temperaturas. Asimismo, las bajas temperaturas aceleran las salidas del ABA al medio circundante en semillas totalmente hidratadas. Recientemente se ha demostrado que irradiaciones con luz roja o tratamientos con GA₃ consiguen eliminar la dormición, probablemente por que inducen la conjugación del ABA. Sea como fuere, la pérdida de la dormición primaria en las semillas parece estar relacionada con un incremento en la sensibilidad de las GAs. Hasta ahora no se ha comprobado que una proteína completa esté relacionada con la inducción de la germinación en semillas dormidas. Tampoco se ha demostrado ninguna relación con la respiración. Algunos datos apuntan a que las membranas pueden estar implicadas, pero no se sabe cuál es su mecanismo de participación.

Muchas semillas maduran almacenadas en seco y a temperatura ambiente durante varios meses (*after-ripening*) pierden la dormición primaria. Algunas de las alteraciones producidas durante el *after-ripening* que pueden inducir esta pérdida son: la ampliación del rango de temperatura para germinar, el descenso de la sensibilidad al ABA y de la concentración endógena de éste, el aumento de la sensibilidad a las GAs, la disminución de requerimientos de luz para germinar en aquellas semillas que no germinan en oscuridad, el incremento de la sensibilidad a la luz en semillas que no germinan con luz, la pérdida de requerimiento de NO₃ y el aumento de la velocidad de germinación. Sin

embargo aunque el mecanismo molecular de after-ripening se desconoce, se han propuesto como mecanismos implicados en la pérdida de la dormición no-enzimáticas que eliminan los inhibidores de la germinación, especies reactivas al O₂, alteración de las membranas o degradación de las proteínas vía proteosoma.

La cubierta seminal y el endospermo desempeñan un papel muy importante en la desaparición de la dormición fisiológica no profunda. La rotura de la cubierta seminal y el ablandamiento del endospermo son procesos separados en el tiempo que se producen durante la germinación de varias especies. La cubierta celular puede provocar la dormición fisiológica no profunda en semillas debido a un impedimento en el crecimiento del embrión. Para que esta semilla deje de ser durmiente, el embrión dejara crear un potencial osmótico endógeno que genere fuerza suficiente como para atravesar la cubierta o, alternativamente, que disminuya la resistencia que opone la cubierta seminal es un tejido materno y por consiguiente, el fenotipo de la DFNP se hereda de la madre.

Por otra parte, el endospermo puede actuar como una barrera mecánica para la germinación de ciertas semillas. Es un requisito imprescindible para la germinación que se venza esta barrera mediante la disminución de la resistencia de la zona micropilar del endospermo. Este ablandamiento lo promueven las GAs y lo inhibe el ABA. Sin embargo, actualmente no está claro si el ablandamiento específico de las semillas con DFNP o si es la pauta general de la germinación. Existen semillas de gimnospermas en las que el ablandamiento está perfectamente separado en semillas con DF de las carentes de ella. Resultados recientes en semillas de *Fraxinus excelsior* parecen demostrar que este ablandamiento micropilar es un proceso exclusivo de las semillas con DFNP y que es bifásico: la primera fase es insensible al ABA y la segunda lo inhibe (Mantilla, 2008).

El control de la germinación por la cubierta seminal y el endospermo se efectúa mediante la intervención de varias enzimas relacionadas con la hidrólisis de componentes estructurales de la pared celular. Las β -1,3-glucanasas regulan el movimiento simplástico de ciertos compuestos (p.ej., GAs) mediante un control de la deposición de la calosa en la luz del plasmodesmo. Así, la dormición se asocia con la acumulación de calosa, mientras que las GAs provocan su degradación vía β -1,3-glucanasas, la pérdida de la dormición y la posterior germinación de la semilla.

La inducción por ABA de la inhibición de la expresión de la β -1,3-glucanasa en la zona micropilar del endospermo es un hecho constatado en las semillas de solanáceas y cucurbitáceas. Experimentos recientes en semillas de tomate hacen suponer que la β -1,3-glucanasa facilita el ablandamiento del endospermo mediante la rotura de la adhesión intercelular y provocando su separación. No obstante el ablandamiento de la estrecha capa celular que constituye el endospermo en las Brasicáceas (semillas sin apenas endospermo y con cotiledones desarrollados) se ha demostrado recientemente, lo que confirma que ese endospermo tan incipiente también participa en el proceso de dormición. Sin embargo, parece que el ABA solamente inhibe el ablandamiento del endospermo y no el de la cubierta seminal (Mantilla, 2008).

El ABA controla el desarrollo embrionario de las semillas

El desarrollo embrionario es dependiente del ABA. Este proceso se puede dividir en tres etapas: 1) mitosis y diferenciación celular; 2) expansión celular y acumulación de reservas (proteínas, grasas, almidón), 3) maduración, proceso en el que las semillas se secan y pasan a un estado de dormición.

Una cuestión interesante es porque los embriones no presentan viviparismo, es decir, por qué no germinan o pueden no germinar precozmente en frutos húmedos en la planta madre. Aunque en las semillas existen varios mecanismos de dormancia, hay diversos datos que indican que el ABA desempeña un papel importante en este proceso: 1) correlación entre las concentraciones bajas de ABA y la germinación precoz en cultivos de embriones; 2) el ABA exógeno impide la germinación de los embriones inmaduros de varias especies cuando se cultivan *in vitro*; 3) cuanto más altos son los niveles de ABA endógenos, mayor es la sensibilidad al ABA, y 4) mutantes deficientes en ABA presentan una fase de dormancia más corta o germinan, incluso, cuando se encuentran en el fruto. Además, la aplicación de un inhibidor de biosíntesis del ABA (fluridona) a semillas en desarrollo previene la dormancia del embrión.

Por tanto, el aumento en los niveles endógenos de ABA al final de la embriogénesis está claramente relacionado con el inicio de la maduración y con la inhibición de la

germinación precoz. El ABA también reprime la expresión de numerosos genes específicos de la germinación y puede originar o acelerar la formación de grupos especiales de proteínas de reserva de la semilla en cultivos de embriones. Este hecho indica que el incremento normal de los niveles de ABA al principio y durante la etapa media del desarrollo de la semilla controla la acumulación de dichas proteínas de reserva. El efecto osmótico es también un factor importante en la dormancia y el depósito de reservas en la semilla, aunque no está directamente mediado por el aumento de ABA.

Otra función que se ha atribuido al ABA en la embriogénesis es la regulación de la síntesis de proteínas implicadas en la tolerancia a la desecación. En los estadios medios y avanzados del desarrollo de la semilla se inducen genes que codifican proteínas LEA. Esas proteínas contienen escasos residuos hidrófobos y reducen los daños que se producen en el citoplasma durante la desecación (Zacarías y la Fuente, 2008).

Fases del ABA

Fase I: Imbibición

El ABA acumulado durante el desarrollo, posteriormente declina luego de la imbibición. Esta reducción se produce tanto en estado dormante y no dormante de *Arabidopsis* y depende en gran medida de la actividad de CYP707A2. El gen CYP707A2 inducido 2 o 3 horas después del inicio de la imbibición resulta en una rápida disminución del ABA. Esta inducción temprana está regulada por varios factores tales como el óxido nítrico (Nambara y col., 2010).

Fase II germinación completa

La dormancia en muchas especies de semillas se libera si la semilla se somete a un periodo de almacenamiento en seco a temperatura ambiente, llamada afterri-peneng. Esta reducción en la dormancia y aumento en el potencial de germinación se caracteriza por un aumento en la sensibilidad de las semillas a señales estimuladoras de la germinación

tales como GAs, LUZ y el nitrato y por una disminución en la sensibilidad a señales inhibitorias de la germinación (Nambara y col., 2010).

Giberelinas

Las giberelinas (GAs) son compuestos naturales que actúan como reguladores endógenos del crecimiento y del desarrollo en los vegetales superiores. Este grupo de hormonas fue descubierto al azar por fitopatólogos japoneses que estudiaban en el arroz una enfermedad conocida como *bakanae* (planta local), causada por el hongo *Gibberella fujikuroi*. El ataque del hongo en arroz produce un crecimiento excesivo de los tallos y los brotes. Posteriormente, en 1955 se aisló el compuesto inductor a partir del filtrado del hongo. El compuesto inductor del crecimiento del tallo fue denominado ácido giberélico (hoy conocido como giberelina A₃ o GA₃). Unos pocos años después, se comprobó que las plantas también poseen compuestos con estructuras muy semejantes al ácido giberélico aislado en 1955. Desde entonces se han aislado y caracterizado hasta 136 GAs, la mayoría a partir de vegetales superiores, y el resto a partir del hongo *Gibberella*.

Los estudios de aplicaciones exógenas a las plantas y las investigaciones con plantas mutantes deficientes en GAs y con plantas transgénicas, indican que las giberelinas son reguladores esenciales del desarrollo. Las GAs son, por tanto, fitohormonas u hormonas nativas que afectan, regulan o modulan múltiples y variadas respuestas del crecimiento del tallo, inducción del desarrollo del fruto y la germinación de las semillas. La elongación del tallo, en general es una respuesta muy acusada, incluso espectacular en las plantas que crecen en roseta y en algunas variedades que muestran enanismo genético. Como se describe posteriormente, otros efectos son más útiles y solamente se dan en determinadas plantas o en estados específicos del desarrollo (Iglesias y Talón, 2008).

Las giberelinas de las plantas juegan un papel importante en la germinación de las semillas. Las semillas deficientes en giberelinas exógenas no pueden germinar, se requiere la biosíntesis de giberelinas durante la imbibición. Los inhibidores de la biosíntesis de giberelinas, como paclobutrazol y tetraclacis evitan la germinación a menos que no haya presencia de ABA (Nambara y col., 2010).

En cuanto a los reguladores de crecimiento, las giberelinas han sido implicadas directamente en el control, remoción y promoción de la germinación de las semillas, mientras que el ABA la inhibe; el Etileno y las Citocininas son hormonas vegetales que también promueven la germinación de las semillas de algunas especies (Araya y col., 2000).

Biosíntesis y Catabolismo de las GAs

La biosíntesis de las GAs y las vías del catabolismo han sido ampliamente estudiadas por análisis de espectrometría de masas y cromatografía de gases. La biosíntesis del ácido giberélico en las plantas superiores se puede dividir en tres etapas:

- I) La biosíntesis de ent-kaurene de geranilo geranilo difosfato en proplastos.
- II) Conversión de ent-kaureno para GA₁₂ a través de monooxigenasa del citocromo P450.
- III) Formación de gas C₂₀ y C₁₉ en el citoplasma.

GGDP es un gas precursor común de carotenoides y clorofilas. Se convierte en ent-kaurene, en una reacción de ciclación de dos pasos de la vía de las Giberelinas, catalizada por ent-copalyl difosfato sintasa y ent-kaurene sintasa. En la segunda fase de la vía se da la oxidación por etapas seguido por la contracción del anillo catalizado por ent-kaurene oxidasa y la oxidasa del ácido entkaurenoico para producir GA₁₂. En la tercera etapa de la biosíntesis de GAs, GA₁₂ se puede convertir además a GA₅₃ un 13-hidroxilación. GA₁₂ y GA₁₃ luego se convierten en diversos productos intermedios de Giberelinas y gas bioactivo, incluyendo GA₁ y GA₄ por dos vías paralelas que incluyen una serie de oxidación, son etapas catalizadas por dioxigenasas 2-oxoglucurato-dependientes, GA₂₀-Oxidasas y 3-oxidasas (Sun, 2008).

Las GAs estimulan la germinación de numerosas especies y en los cereales, coordinan la movilización de reservas que sustentan el crecimiento inicial de las plántulas. Se han presentado numerosas pruebas del papel de las giberelinas en el proceso de germinación. En primer lugar, en algunas especies las GAs suplen los requisitos de luz o

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

frio que precisan muchas semillas para germinar. La inducción de la germinación por estratificación (tratamiento con temperaturas bajas) se asemeja mucho conceptualmente al efecto de la vernalización en la floración, y también esta mediatizada por las GAs. Se han obtenido otras pruebas con los mutantes extremadamente deficientes en GAs de *Arabidopsis* y el tomate, que no germinan sin la aplicación externa de esta hormona.

En la semilla madura de chicharo, la 3-hidroxilación de GA_{20} a GA_1 se produce al inicio de la germinación y activa el crecimiento de los 10 primeros entre nudos de la planta. En las semillas de lechuga y *Arabidopsis*, se ha mostrado que la germinación está regulada por el fitocromo. En general, la luz roja aumenta la expresión de la 3 β -hidroxilasa y la represión de la 2-hidroxilasa, incrementando la síntesis de GA_1 , mientras que la luz roja lejana anula estos efectos.

En los cereales, la movilización de reservas está coordinada por las GAs producidas en el embrión. Está movilización sostiene el movimiento de la plántula recién germinada hasta que ésta es fotosintéticamente activa. El embrión de las semillas de los cereales es un tejido diploide que contiene un órgano especializado de absorción, el escutelo. El endospermo, por otro lado, es un tejido de reserva triploide compuesto por el endospermo almidonoso, formado por células que almacenan granos de almidón; y la capa de aleurona, constituida por unas pocas capas de células que contiene cuerpos proteicos y lipídicos. Inmediatamente después de la germinación, la capa de la aleurona libera en el endospermo enzimas hidrolíticas responsables de la degradación de las reservas. Una vez formados, azúcares, aminoácidos y demás compuestos solubles son absorbidos por el escutelo y transportados a los órganos en crecimiento para su sustento. La liberación enzimática depende de la presencia del embrión, que contiene GAs endógenas que son transportadas al endospermo, y de ahí a la capa de aleurona (Iglesias y Talón, 2008).

El efecto inductivo del embrión puede ser suplido por soluciones tamponadas que contengan GA y Ca^{2+} . A diferencia del Ca^{2+} , que es un factor necesario durante el procesamiento y liberación de las enzimas hidrolíticas, las GAs promueven directamente la síntesis de α -amilasas y proteasas al activar la transcripción génica. El proceso de señalización correspondiente es bastante complejo. Existen redes de señalización en las que diferentes elementos, entre ellos otras hormonas como el ácido abscísico (ABA) que

contra resta la respuesta de las GAs, participan e interactúan con las giberelinas. Otros elementos de naturaleza química variada (p.ej., fosfolípidos) también se ha observado que participan como mediadores del proceso (Iglesias y Talón, 2008).

MECANISMO DE ANTAGONISMO GAs/ABA

Un efecto del ABA bien definido es el antagonismo de la acción de GAs sobre la movilización de reservas durante la germinación, en especial en cereales. Específicamente, ABA reprime la síntesis de α -amilasas inducidas por GAs que degradarán el almidón presente en el endospermo. Al inicio de la maduración de la semilla, el represor VP1, mediador de varias respuestas a ABA en semillas, reduce la expresión de genes inducidos por GAs, lo que resulta en poca sensibilidad a GA. Mutantes *vp1* de Maíz son vivíparos independientemente de su contenido de GA. Lo que sugiere que VP1 actúa después de la señal de ABA o GA en controlar la transición de maduración a germinación. Por otro lado, ABA también es antagonista de la acción de GA al retardar el proceso de muerte celular programada de las células de la capa de la aleurona (Jordan y Casareto, 2006).

1.6 DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD

El empleo de la palabra viabilidad en la propagación vegetal se refiere a la presencia de individuos vivos en una población de semillas. Por tanto se entiende a la viabilidad medida con métodos indirectos, aparentes y reactivos, como la densidad de las unidades de propagación, el aspecto visual de su interior, las propiedades físicas de sus lixiviados y la aplicación de colorantes entre otros. En general, es preferible el uso de técnicas con resultados individuales en cada semilla, para poder clasificarlas en grupos diferenciados, a los que se asocia una capacidad de germinar expresada como proporción. La suma de los productos de ésta por el número de semillas en cada clase proporciona la estimación de la viabilidad.

El ejemplo más simple son las pruebas de densidad que clasifican a las semillas en dos grupos: las que flotan y las que se hunden, a las que flotan se les considera no viables y por lo tanto con nula capacidad germinativa. Las que se hunden son consideradas viables con posibilidades de germinar y producir una planta. Mediante un examen organoléptico o con rayos X, la clasificación de la viabilidad puede ser un poco menos tosca, pues permite determinar, además de las semillas vanas, las que tengan insectos, hongos, estén quebradas, o mucho más finas, que se haga una evaluación embriológica, es decir, la presencia y desarrollo del embrión con la capacidad germinativa asociada. Con respecto a este tipo de determinaciones visuales, se ha dicho que la viabilidad se determina mediante un potencial anatómico, que incluso puede determinarse para conocer la capacidad de una población para producir semillas.

En las pruebas de tinción, las semillas se clasifican en bien teñidas, de tinción dudosa y no teñidas; la asignación de la viabilidad depende de la sustancia empleada. El cloruro de tetrazolio y las sales de selenio actúan sobre los tejidos vivos, mientras que el índigo-carmín lo hace sobre las porciones muertas. De este tipo de prueba se dice que son topográficas, pues en la categoría de dudosas, dependiendo de la tinción de las partes del embrión, especialmente de los meristemos y de que no existan puentes muertos entre ellos, se va a considerar si la semilla es viable.

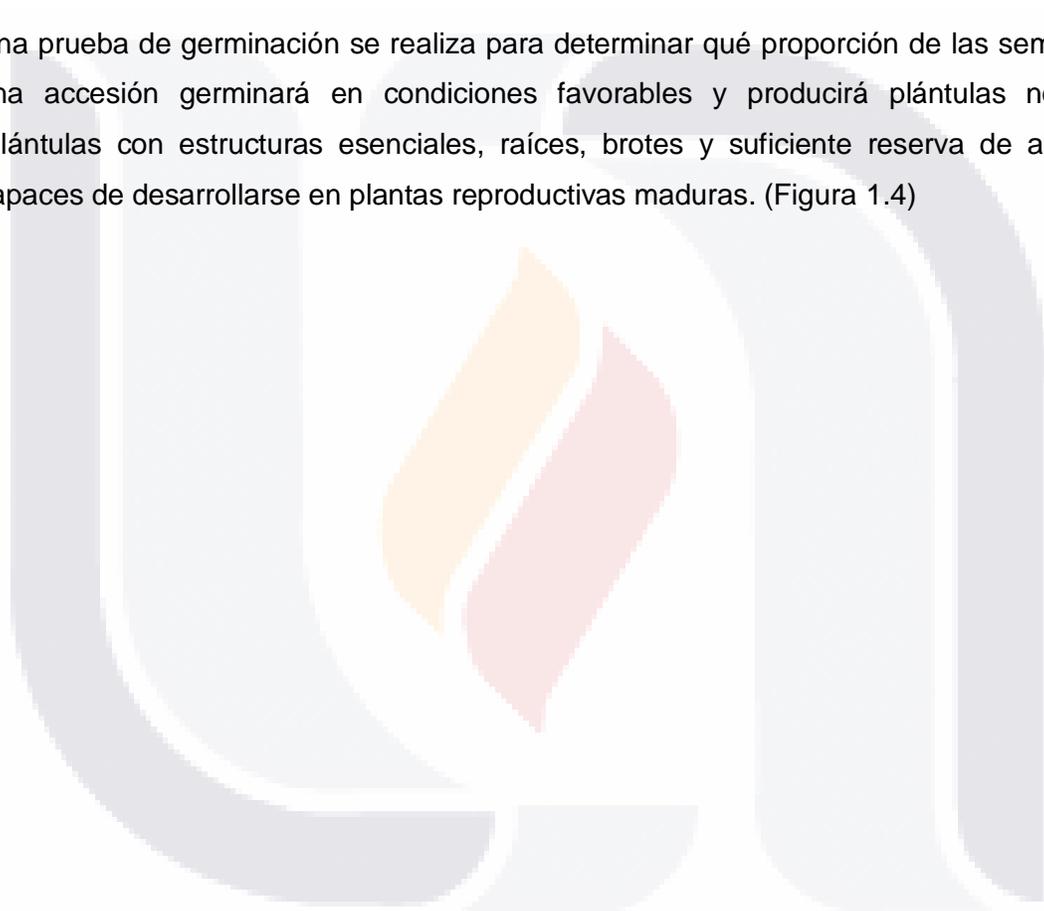
La más exacta y confiable es la prueba de germinación. También existen pruebas bioquímicas, que tienen la ventaja de ser más rápidas, pero que no son tan exactas como

la prueba de germinación, y que requieren habilidades especiales para realizarlas e interpretarlas.

Normalmente, no se recomienda el uso generalizado de estas pruebas para determinar la viabilidad de las semillas en un banco de germoplasma (Camacho, 2011).

PRUEBAS DE GERMINACIÓN

Una prueba de germinación se realiza para determinar qué proporción de las semillas de una accesión germinará en condiciones favorables y producirá plántulas normales (plántulas con estructuras esenciales, raíces, brotes y suficiente reserva de alimento, capaces de desarrollarse en plantas reproductivas maduras. (Figura 1.4)



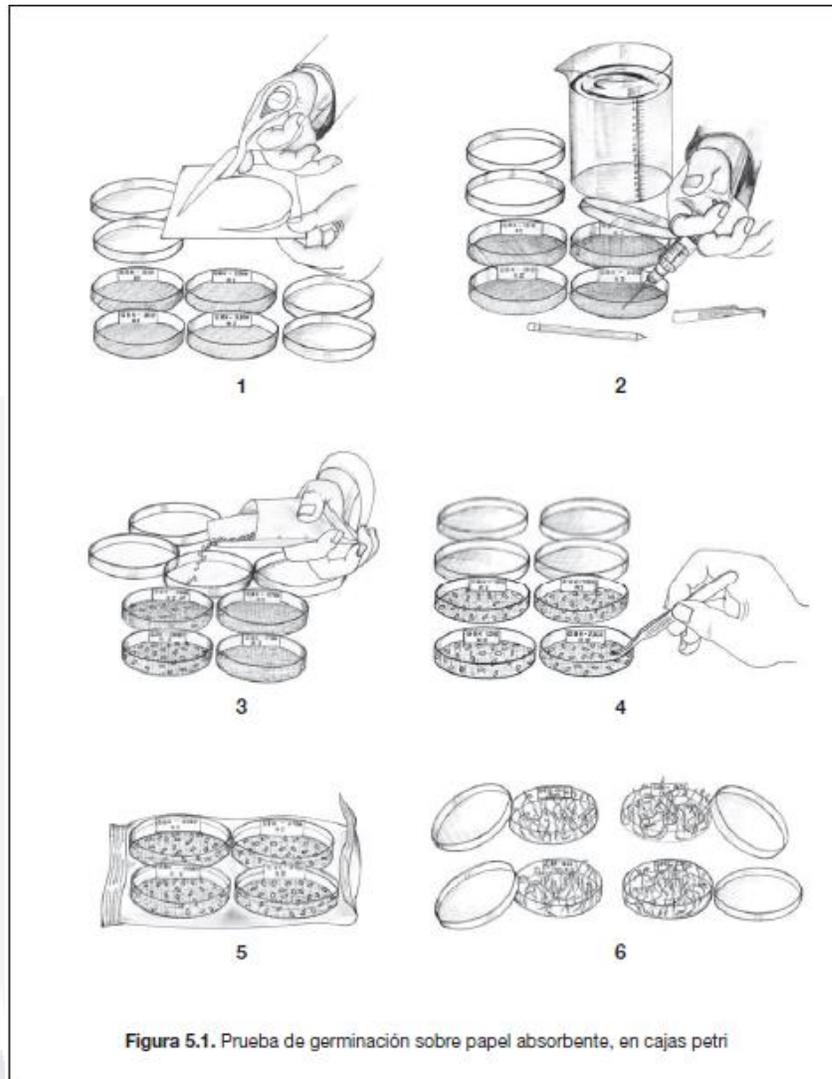


Figura 1.4 Pruebas germinación (Kameswara y col., 2007). Paso 1, corta el papel en círculos para introducirlo a la caja (el papel servirá como sustrato). Paso 2, se humedece el papel; Paso 3, se coloca una cantidad de semillas en la caja. Paso 4, se acomodan las semillas. Paso 5, las cajas se introducen en una bolsa o se sellan para evitar la evaporación. Después de un tiempo se hacen los conteos de germinación.

1.7 REGENERACIÓN DEL GERMOPLASMA

La regeneración es la renovación de las accesiones de germoplasma mediante la siembra y la cosecha de semillas con las mismas características de la muestra original. La regeneración de germoplasma es la operación más crítica en el manejo de un banco de germoplasma. La regeneración de germoplasma implica riesgos para la integridad genética de las accesiones procedentes de presiones de selección, polinización cruzada, mezclas mecánicas y otros factores. Por lo general, el riesgo de pérdida de la integridad genética es alto cuando se generan accesiones genéticamente heterogéneas (Kameswara, 2007).



1.8 ANTECEDENTES

García, (1983) utilizó siete tratamientos para germinar semillas de chile piquín del Noroeste de México: (1 y 2) H_2SO_4 al 5 % y al 10 %, (3) agua destilada, (4) agua de la ciudad de Monterrey, (5 y 6) ácido giberélico a 3000 y 5000 ppm, y (7) testigo. Los mejores tratamientos para inducir germinación fueron con 3000 ppm de GA_3 (80 % de germinación) y GA_3 5000 ppm (86 % de germinación).

Almanza, (1998) sometió semillas de chile piquín a tratamientos con incubación a 40 °C x 3 días; agua caliente a 65 °C + 10 ppm de GA_3 ; GA_3 ; incubación a 40 °C x 3 días + lavado; lavado x 15 minutos; escarificación; lavado + incubación a 4 °C x 7 días; incubación a 4 °C x 7 días; incubación a 4 °C x 7 días + extracto de estiércol de vaca. En todos los casos excepto uno (incubación a 40 °C x 3 días), Las semillas fueron sembradas en cámara bioclimática a 25-27 °C con fotoperiodo de 14 horas después del tratamiento. Los resultados mostraron germinaciones de 0 a 71 % entre tratamientos.

Duarte, (2005) evaluó el efecto del GA_3 en la germinación de la semilla Jaboticaba (*Myciaria couliflora* (Mart.) Berg. Trabajó con dos ensayos usando semilla recién secada de frutos maduros. En un ensayo se usaron semillas peladas que se dejaron orear por 12 horas y en un segundo grupo, las semillas se remojaron por 36 horas para quitarles la pulpa. Las semillas de ambos grupos se remojaron por 24 horas en las mismas dosis de GA_3 que fueron (0, 200, 1000, 5000 ppm), el segundo ensayo lo realizaron con semillas recién sacadas de frutos maduros, que se remojaron 24 o 48 horas en agua, comparado con semillas peladas y remojadas que se dejaron orear por 24 horas entre papel periódico. Este ensayo recibió tratamientos de GA_3 con dosis de 2500 y 5000 ppm por 24 horas. En el primer ensayo observaron germinación a los 2 y 4.5 meses y no se detectaron diferencias significativas entre semillas peladas y sin pelar. En el segundo ensayo encontraron que el GA_3 tuvo un efecto estimulador sobre la germinación con semillas peladas, sin embargo no logro superar estadísticamente a las semillas lavadas por 24 horas en agua, por lo tanto su utilidad práctica para esta especie no es clara.

Hernández y col. (2010) evaluaron la germinación de cuatro poblaciones de chile silvestre del noreste de México, con temperaturas constantes de 25 °C y fluctuantes (25/35 °C). También analizaron el peso de semillas y su relación con la capacidad de germinación.

Las semillas sometidas a temperaturas fluctuantes alcanzaron germinaciones significativamente mayores que con temperatura constante.

García y col. (2010) evaluaron el efecto del ácido giberélico e hidrotérmia sobre la germinación y vigor de las semillas de chile piquín procedentes de Querétaro, México. Utilizaron dos productos comerciales de GA₃ y el tratamiento hidrotérmico consistió en introducir la semilla en agua a 45, 50, 55 y 60 °C, por 3, 6 y 9 minutos. La semilla de Higuierillas, Qro., tratada con agua caliente durante 6 y 9 min, arrojó el mejor vigor de semilla, expresado como plántulas emergidas. Muestras de 50 semillas se embebieron por 24hr en 5000 ppm de Cyto-Gib y Bio-Gibb, las semillas las pusieron entre papel filtro con agua destilada y se observaron respuestas cada 72 hr. Se hicieron 12 tratamientos y los repitieron 4 veces antes de incubarlos en cámara de germinación a 28 °C con fotoperiodicidad de 8 hr. La germinación de semillas se registró a los 21 días. Cyto-Gibb presentó mayor vigor y porcentaje de germinación (82 %) que Bio-gib (68 %)

Zamora y col. (2011) evaluaron cuatro dosis de GA₃ (0, 250, 500, y 1000 ppm) y su efecto sobre germinación, emergencia y desarrollo de plántulas en tres líneas silvestres de chiltepín de Sonora (Ures y Baviacora y Moctezuma). Las semillas se remojaron durante 72 horas antes de sembrar en charolas con turba comercial. Las dosis de 500 y 1000 ppm de GA₃ produjeron mayor emergencia de plántulas en las tres procedencias. La germinación fue de 42.7 % con 500 ppm de GA₃ y 37.2 % con 1000 ppm.

De la Rosa y col. (2012) trabajaron con semillas de chile simojovel tratadas previamente con NaCl a 0,5 M y posteriormente puestas a germinar en una solución de GA₃ usando diferentes concentraciones. En una primera fase se utilizaron tratamientos con y sin exposición previa a NaCl combinados con dosis de 0, 100, 200 y 400 mg L⁻¹ de GA₃ de acuerdo a los resultados de esta primera etapa, se llevó a cabo una segunda etapa para encontrar la concentración óptima de GA₃ utilizando concentraciones de 0, 350, 400, 450, y 500 mg L⁻¹ combinados con tratamientos de exposición al NaCl. El mayor porcentaje de germinación (91.8 %) se obtuvo con exposición a NaCl y tratadas con 350 mg L⁻¹ de GA₃.

Saldívar y col. (2010) trabajaron con la aplicación de GA₃ en semillas de *Jaltomata procumbens* (Cav.) J. L. provenientes de frutos silvestres. Evaluaron 6 concentraciones de GA₃ (0; 50; 100; 150; 200; y 250 mg L⁻¹) y dos periodos de remojo (12 y 24 horas), generando un total de doce tratamientos. La dosis de 250 mg L⁻¹ produjo la mayor

germinación (87 %) y emergencia de planta El tiempo de remojo no mostro efectos significativos sobre el porcentaje, periodo y velocidad de germinación.

López, (2013) trabajó con 6 accesiones de chile silvestre provenientes de diferentes Estados de la república. Evaluó el efecto de un gradiente de altitud y temperatura en la germinación de semillas de chile silvestre así como la aplicación de GA₃, ácido clorhídrico y ácido sulfúrico. El mejor porcentaje de germinación en el gradiente latitudinal fue entre 350 a 550 msnm. Y la combinación de temperatura media con ácido clorhídrico la accesión que mejor porcentaje de germinación obtuvo fue (Mérida). Temperatura media y GA₃ (La reforma). Temperatura media y ácido clorhídrico (los Ángeles), en general la combinación de temperatura y GA₃ obtuvo la mejor germinación para la accesión de (Mérida).

Cano-Vázquez y col. (2015) evaluaron 16 colectas de chile piquín provenientes de 7 Estados del país. Determinaron que no existen impedimentos físicos para el paso apropiado de agua al interior de la semilla. La germinación de las 16 colectas fue muy variable (0 a 66 %) con promedio de 15 % y que el tratamiento con GA₃ (5000 mg L⁻¹) aumento la tasa promedio de germinación a 59 % en 14 de las 16 colectas a diferencia de los tratamientos con peróxido de hidrógeno y nitrato de potasio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México existe una gran diversidad de chiles cultivados y las poblaciones de chile silvestre están distribuidas por casi todo el país. Lo anterior hace de México uno de los principales centros de origen y distribución de *Capsicum annuum* (Bran y col., 2007). Las especies con amplia variedad de hábitat generan poblaciones con patrones de germinación contrastantes (Meyer y col., 1995).

Sin embargo, y a pesar de la importancia económica y cultural de los chiles mexicanos, actualmente no se cuenta con estudios suficientes sobre dormancia y germinación de semillas de chile silvestre de México. Tampoco se dispone de protocolos específicos para

germinar semillas dormantes de chiles silvestres colectadas en diferentes ecorregiones de México. Lo anterior es fundamental para apoyar los trabajos de investigación, conservación genética, caracterización, evaluación y aprovechamiento *ex-situ* de *Capsicum silvestre*.

La germinación de semillas de chile silvestre es generalmente complicada debido al letargo o dormancia que presentan. La dormancia en semillas de chile silvestre puede estar asociada a factores ambientales y propios de la especie o ecotipo, así como a los mecanismos de cronometraje y/o edad de la semilla además del escaso conocimiento sobre dormancia en los chiles silvestres de las diferentes ecorregiones del México.

Debido a la evolución adaptativa y estrategias específicas para su germinación en diferentes tiempos y condiciones ambientales, las poblaciones vegetales silvestres presentan diferentes mecanismos de dormancia (Meyer y col., 1995).

Se propone un estudio sobre dormancia de semillas de chile silvestre colectadas en diferentes regiones de México, así como la evaluación y desarrollo de protocolos para romper dormancia y aumentar los índices de germinación de dichas semillas. Las giberelinas estimulan la elongación celular, inducen la ruptura de la cubierta seminal o la pared del fruto (Raven y col., 1992). Por tanto, el ácido giberélico está relacionado directamente en el desarrollo y germinación de las semillas, pudiendo así remplazar la necesidad de estímulos ambientales como luz y temperatura (Araya y col., 2000); El GA₃ también simula las condiciones del tracto digestivo de las aves y puede inducir el rompimiento de la dormancia en semillas silvestres de *Capsicum* (García y col., 2010).

1.8 JUSTIFICACIÓN

Las poblaciones de chile silvestres presentan variación en la germinación de semillas (Hernández, 2010). Debido a esto y a los constantes disturbios generados por el ser humano, las poblaciones de chile silvestre se han ido perdiendo en diferentes ecorregiones del país (Medina y col., 2006). Recientemente se generó una colección de semillas de chiles silvestres con accesiones de diferentes ecorregiones del país (Kraft y col., 2012). El presente trabajo se justifica ante la falta de información sobre dormancia y protocolos para germinar semillas de chile silvestre de diferentes partes de la República Mexicana. La respuesta a los diferentes tratamientos de ácido giberélico, temperatura y ácido fosfórico, para las accesiones colectadas de ecorregiones más contrastantes. De este modo se generarán protocolos de germinación de semilla de chile silvestre para dichas ecorregiones, ya que las semillas silvestres no obedecen a un solo protocolo de germinación esto debido a las diferencias que se generan en su entorno natural vinculadas con el proceso de germinación. Actualmente no existe suficiente información sobre los niveles y las causas de dormancia en semillas de chile silvestre así como los mecanismos responsables, por tanto se plantea hacer una clasificación del grado de dormancia de las diferentes accesiones a trabajar para tener más información sobre las accesiones en lo referente a la dormancia.

Además el generar protocolos de germinación permitirá la recuperación del material, de no llevarse a cabo esta investigación, se corre el riesgo de perder las accesiones que representan un recurso valioso para la diversidad genética y el mejoramiento genético del chile debido a que los chiles silvestres son reservorios de genes potenciales para mejorar la resistencia a plagas y enfermedades y posiblemente la resistencia a salinidad, calor y sequía, condiciones que forman parte del escenario del cambio climático y a posibles escenarios futuros, aún más complejos que pudieran presentarse. Estos protocolos de germinación permitirán el aprovechamiento de los recursos fitogenéticos de *Capsicum* en las regiones correspondientes a las accesiones por parte de las personas que se dedican a la comercialización de chiles silvestres y de esta manera evitar el impacto en las poblaciones naturales.

1.9 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVO GENERAL

Clasificar las accesiones de chile silvestre de la colección, con base a la ecorregión de procedencia y nivel de dormancia en sus semillas, así como desarrollar protocolos para germinar accesiones de chile silvestre colectadas en diferentes ecorregiones de México, y que presentan dormancia en la semilla.

HIPÓTESIS

1. El porcentaje de dormancia en semillas de chiles silvestres varía según la ecorregión de procedencia.
2. Las accesiones de chile silvestre colectadas en diferentes ecorregiones de México no responden a un mismo protocolo de germinación.

1.10 BIBLIOGRAFÍA

- Agustí, M. Crecimiento y maduración del fruto: Azcón, J., Talón, M. Fundamentos de Fisiología vegetal. 2ª. España. McGraw-Hill. Interamericana. 2008. 519-536.
- Almanza, J. Estudios ecofisiológicos, métodos de propagación y productividad del chile piquín (*Capsicum annuum* L. var. *Aviculare* Dierb.) D. y E. Maestro en Ciencias. Nuevo León. Universidad Autónoma de Nuevo León. 1998. 74pp.
- Araya, E., Gómez, L., Hidalgo, N., Valverde, R. 2000. Efecto de la Luz y del ácido Giberélico sobre la germinación in vitro de (*Alnus Acuminata*). Agronomía Costarricense. 24:75-80.
- Baskín, C., Baskin, J. 1998. Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego. Academic Press. 666 pp.
- Baskín, J., Baskín, C., Xiaojie, Li. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in sedes. Plant Species Biology. (15): 139-152
- Baskín, J., Baskín, C. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research. (14): 1-16
- Bewley, J. 1997. Seed Germination and Dormancy. The Plant Cell. (9):1055-1066.
- Bidwell, R. 1990. Fisiología vegetal. AGT editor, S.A. México, DF. 784pp
- Bran, R., Moya, C., Ponce, P., Álvarez, M., Varela, M. 2007. Diagnostico participativos de las condiciones socioculturales asociadas a la conservación de los chiles silvestres (*Capsicum* spp.) en la depresión central de Chiapas, México. Cultivos Tropicales. 28:69-73
- Camacho, F. 2011. Dormición de semillas causas y tratamientos. 2ª ed. Editorial Trillas. México, D.F. 232pp.
- Cano-Vázquez, A., López-Peralta, C., Zavaleta-Mancera, H., Cruz-Huerta, N., Ramírez-Ramírez, I., Gardea-Bejar, A., González-Hernández, V. 2015. Variación en grados de latencia en semillas entre colectas de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum*). Botanical Sciences 93(1):1-10
- Cantú, C. Koleff, A. Lira. 2007. Las ecorregiones de la frontera norte de México, en A. Córdova y C. de la Parra (coords.), Una barrera a nuestro ambiente compartido. in- Semamat-El Colegio de la Frontera Norte-Consortio de Investigación y Política Ambiental del Suroeste, México 117-129
- CCA. 1997. Regiones Ecológicas para América del Norte. 63 pp.

- Cortez, E., Rivera, J., Andrio, E., Guevara, R., Guevara, L., Cervantes, F., Mendoza, M. 2011. Osmopriming of the seed of the pepper "chile ancho" and its effect on vigor. *Universidad y ciencia*. 27(3):345-349.
- De la Rosa, M., Arce, L., Villarreal, J., Ibarra, L., Lozano, J. 2012. Germinación de semillas de chile simojovel (*Capsicum annum* L.) previamente expuestas a NaCl y ácido giberélico. *revista internacional de botánica experimental*. 81:165-168
- Doria, J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación, y almacenamiento. 31(1):74-85.
- Duarte, O. 2005. Efecto del Ácido Giberélico en la Germinación de la semilla de Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg). *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort*. 48:152-154.
- Fernández MJ, Russo L (2006) Vida picante de amazonas: gran potencial para la micro y mediana empresa. *Revista digital CENIAP*.12
- García, J., Estudio agronómico y auto ecológico del chile piquín (*Capsicum annum* L. var. *Glabriusculum* Heiser y Pickersgill) en el arca central de Nuevo León, México. Ingeniero Agrónomo. Nuevo León. Universidad de Nuevo León. 1983.
- García, A., Montes, S., Rangel, J., García, E., Mendoza, M. 2010. Respuesta fisiológica de la semilla chile piquín [*Capsicum annum* var. *Glabriusculum*] (Dunal) Heiser y Pickersgill] Al Ácido Giberélico e Hidrotermia. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 1:203-216.
- Garro, J. 2002. Plantas competidoras: un componente esencial de los agroecosistemas. Editorial Universidad estatal a distancia. Pp 60-64
- Hernández, S., Guevara, R., Rivera, R., Vázquez, C., Oyama, K. 1998. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum* spp.) como recursos genéticos. *Bol. Soc. Bot. Méx.* (62):171-181
- Hernández, S., Dávila, P., Oyama, K. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico origen y domesticación del género *Capsicum*. *Bol. Soc. Bot. Méx.* (64): 65-84
- Hernández, S., López, R., Porras, F., Parra, S., Villareal, M., Osuna, T. 2010. Variación en la germinación entre poblaciones y plantas de chile silvestre. *Agrociencia* 44 (6).
- Iglesias, D., Talón, M. Giberelinas: Azcón, J., Talón, M. *Fundamentos de Fisiología vegetal*. 2ª. España. McGraw-Hill. Interamericana. 2008. 399-421.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- Jordan, M., Casareto, J. hormonas y Reguladores del crecimiento: Etileno, Ácido Abscísico, Brasinoesteroides, Poliaminas, Ácido Salicílico y Ácido Jasmónico: Squeo, F., Cardemil, L. Fisiología Vegetal. Chile. Ediciones Universidad de la Serena. 2006. 1-23.
 - Kameswara, N., Hanson, J., Ehsan, M., Ghosh, K., Nowell, D., Larinde, M. 2007. Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Biodiversity international. Italia.pg: 56,67,121.
 - Koornneef, M., Bentsink, L. and Hilhorst, H. 2002 Seed dormancy and germination. Current Opinion in Plant Biology (5): 33–36
 - Kucera, B., Cohn, M.A. and Leubner-Metzger, G. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. Seed Science Research 15: 281–307.
 - Kraft, K., Luna, J., Gepts, P. 2012. A new collection of wild populations of Capsicum in Mexico and the southern United states. International Journal.
 - López, A. 2013. Efecto de un gradiente de elevación, procedencia y temperatura en la germinación e semillas de chile piquín (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser y Pickersgill). Tesis de maestría en ciencias forestales. Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León. 39 pp.
 - Matilla, A. Desarrollo y germinación de las semillas: Azcón, J., Talón, M. Fundamentos de Fisiología vegetal. 2ª. España. McGraw-Hill. Interamericana. 2008. 537-558.
 - Medina, T., Rodríguez, L., Villalón, H., Pozo, O., Ramírez, M., López, R., Lara, M., Gaona, G., Cardona, A., Mora, A. 2006. El chile piquín (*Capsicum annuum* L. var. *Aviculare*) en el Noreste de México Aspectos Ecológicos y Socioeconómicos. Tu revista.Digit. Uat. (1).
 - Meyer, S., Kitchen, S., Carlson, S. 1995. Seed Germination timing patterns in intermountain *Penstemon* (Scrophulariaceae). Journal of Botany 82(3):377-389.
 - Nambara, E., Okamoto, M., Tatematsu, K., Yano, R., Seo, M., Kamiya, Y. 2010. Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination. Seed Science Research. (20): 55-67
 - Raven, P., Evert, R., Eichhorn, S. 1992. Biología de las plantas. Ed. Reverte. Barcelona. 402 pp.
 - Saldívar, P., Laguna, A., Gutiérrez, F., Domínguez, M. 2010. Ácido giberélico en la germinación de semillas de *Jaltomata procumbens* (CAV.) J.L. Gentry. Agronomía Mesoamericana. 21(2): 327-331.
 - Sun, T. 2008. Gibberellin Metabolism, Perception and Signaling Pathways in Arabidopsis. American Society of Biologists. 103: 10.1199.

- Zacarías, L., Lafuente, M. Etileno, ácido abscísico y otros reguladores del desarrollo: Azcón, J., Talón, M. Fundamentos de Fisiología vegetal. 2ª. España. McGraw-Hill. Interamericana. 2008. 445-466.
- Zamora, E., Ayala, S., Ávila, J. 2011. Efecto de tres dosis de ácido giberélico (GA3) en la emergencia y desarrollo de plántulas en tres líneas silvestres de chiltepín *Capsicum annum* L. var. *glabriusculum* [Dunal] Heiser y Pickersgill. Octava convención mundial del chile. León, Gto. México. 316-322pp



II. NIVELES DE DORMANCIA EN SEMILLAS DE CHILE SILVESTRE DE DIFERENTES ECORREGIONES DE MÉXICO Y SUR DE EEUU

2.1 RESUMEN

Los chiles silvestres de México (*Capsicum* spp) son altamente valorados como recursos genéticos para la agricultura y la alimentación. Aparte de su valor socioeconómico como condimento alimenticio, las poblaciones silvestres de *Capsicum* son reservorios de genes útiles para mejorar la resistencia de los chiles cultivados a plagas y enfermedades, así como su adaptación a sequía, salinidad, calor, etc. En México existe una gran diversidad de chiles silvestres, con presencia de poblaciones naturales en diferentes ecorregiones del país. En este sentido, la distribución de chiles silvestres en diferentes climas y regiones ecológicas probablemente ha generado patrones contrastantes de germinación, viabilidad y dormancia. Sin embargo, existe la creencia que todos los chiles silvestres presentan dormancia en sus semillas por lo cual son difíciles de germinar. En este sentido, se entiende que una semilla dormante carece de la capacidad para germinar bajo condiciones ambientales óptimas en un tiempo determinado. El presente trabajo tuvo por objetivo determinar los niveles de dormancia de 36 accesiones de chile silvestre provenientes de 10 estados mexicanos y sur de Arizona, EEUU. Las 36 accesiones analizadas representan cuatro grandes regiones geográficas de México (Noroeste, Pacífico-centro, Centro-Golfo y Sureste). Como controles se incluyeron dos accesiones domesticadas de chile criollo del Centro-Norte de México, uno tipo Puya y otro tipo Guajillo. Los niveles de dormancia en las semillas se calcularon mediante la diferencia entre los porcentajes de viabilidad y germinación de cada accesión. El porcentaje de viabilidad fue determinado por densitometría óptica de semillas tratadas con rayos X con intensidad de 30kvd con tiempo de exposición de 40s. El porcentaje de germinación se obtuvo mediante pruebas de germinación en frascos con agar-agua incubadas x 20 días en un cuarto de germinación a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y 16 horas de fotoperiodo por 20 días. La dormancia en semillas de chile Puya fue de 0 %, sin embargo, los niveles de dormancia en semillas de chile silvestre fluctuaron entre 0 y 100 %, con un promedio general del 63 % para las 36 accesiones. No se detectó una relación entre nivel de dormancia y región de procedencia de las accesiones. Los resultados del presente trabajo indican que no todos los chiles silvestres de México presentan dormancia en la semilla.

2.2 INTRODUCCIÓN

El chile silvestre es el ancestro de las actuales variedades de chile que se cultivan en México y el mundo (Pozo y col., 1991). El chile silvestre es un fruto de recolección de alta demanda que genera importantes ingresos (Montes y col., 2006). Se utiliza como condimento y las poblaciones naturales enfrentan un alto riesgo de sobrevivencia debido a los continuos cambios de uso del suelo y disturbios antropogénicos (García y col., 2010). Los chiles silvestres son considerados recursos genéticos muy valiosos para la agricultura y la alimentación, ya que presenta genes potencialmente útiles para enfrentar problemas agrícolas como las enfermedades (Hernández y col., 1998). Su uso en investigación ha sido poco significativo debido a la baja germinación de sus semillas (Ramírez y col., 2003). Sin embargo, la mayoría de reportes sobre dormancia están basados en semillas de chile silvestre del norte de México, principalmente de Sonora, Sinaloa, Nuevo León y Tamaulipas. De ahí que el conocimiento sobre viabilidad, niveles de dormancia y capacidad germinativa de semillas de diferentes regiones geográficas y ecológicas es de gran importancia para la investigación, manejo y conservación de los chiles silvestres de México (Hernández y col., 2010)

En México existe una gran diversidad y distribución de chiles silvestres, por lo cual es considerado centro de origen, diversidad y domesticación de *Capsicum annum*, (Bran y col., 2007). Kraft y col., (2012) encontraron una amplia distribución de chiles silvestres en 22 estados de la República Mexicana, incluyendo Sonora, BC., Sinaloa, Jalisco Querétaro, etc. Meyer y col., (1995) consideran que las especies con amplia distribución de hábitats generan poblaciones con patrones de germinación contrastantes. En este sentido la amplia distribución de chiles silvestres en México probablemente ha generado patrones contrastantes de dormancia, viabilidad y germinación.

De acuerdo con Baskin y Baskín (2004), una semilla con dormancia carece de la capacidad para germinar bajo condiciones ambientales óptimas en un tiempo determinado. Las solanáceas se caracterizan por tener dormancia física debido a la impermeabilidad que presenta la testa (Sampaio y col., 2001). En el caso de los chiles silvestres, hay muy poca información sobre los niveles de dormancia en sus semillas. Odlan (1938) menciona que los chiles cultivados no presentan dormancia en sus semillas, sin embargo, sus observaciones no incluye el análisis de chiles silvestres, Por el

contrario, Baskin y Baskin (2000) mencionan que la semilla de *Capsicum annum* presenta dormancia fisiológica no profunda. La dormancia está directamente relacionada con la germinación. En un estudio reciente, Cano-Vázquez y col. (2015) analizaron una muestra de 16 accesiones de chiles silvestres de diferentes partes de México y demostraron que no existen diferencias ni barreras morfológicas en la semilla que impidan su germinación. Sin embargo, la germinación entre colectas fue muy variable, desde 0 hasta 66 %, con un promedio general de 15 %. Los mismos autores encontraron que el tratamiento de semillas con 5000 mg L⁻¹ de GA₃ incremento la germinación hasta el 59 %.

Otros investigadores han reportado germinaciones más bajas en semillas de chiles silvestres. Por ejemplo, Hernández y col. (2012) evaluaron la germinación de chiles silvestres de 4 poblaciones del noreste de México y encontraron diferencias significativas del 15 % entre poblaciones y del 55 % entre individuos de la misma población. Araiza y col. (2011) trabajaron con semillas de chile silvestre de Sonora y obtuvieron 47 % de germinación en 8 semanas. Por su parte, De la Rosa y col. (2012) reportaron germinaciones del 23 % con semillas de chile silvestre Simojovel. En un estudio con semillas de chile silvestre de dos localidades de Querétaro, García y col. (2010) obtuvieron 33 % de germinación en ambas localidades.

Ante la incipiente e inconsistente información disponible sobre dormancia y germinación en semillas de chiles silvestres de diferentes partes de México, es necesario analizar un mayor número de procedencias y accesiones del país, y clasificarlas según su grado de dormancia. Esta información es fundamental para diseñar protocolos y procedimientos para la germinación, conservación e investigación de semillas de chile silvestre de diferentes procedencias que mantienen los bancos de germoplasma.

2.3 OBJETIVO E HIPÓTESIS

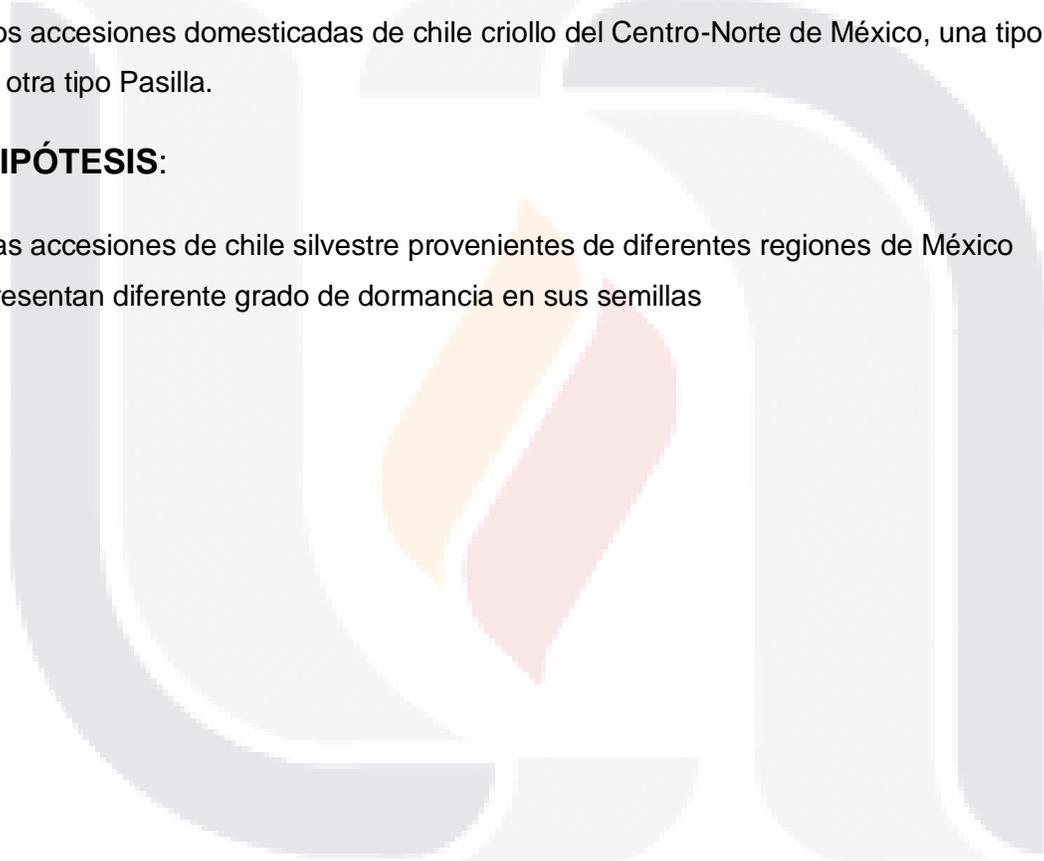
OBJETIVO:

Determinar los niveles de dormancia de 36 accesiones de chile silvestre provenientes de 10 Estados mexicanos y sur de Arizona, EEUU.

Las 36 accesiones analizadas representan cuatro grandes regiones geográficas de México (Noroeste, Pacífico-centro, Centro-Golfo y Sureste). Como testigos se incluyeron dos accesiones domesticadas de chile criollo del Centro-Norte de México, una tipo Puya y la otra tipo Pasilla.

HIPÓTESIS:

Las accesiones de chile silvestre provenientes de diferentes regiones de México presentan diferente grado de dormancia en sus semillas



2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

El nivel o porcentaje de dormancia por accesión fue calculado a partir de los porcentajes de viabilidad y germinación utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de dormancia} = \% \text{ de viabilidad} - \% \text{ de germinación}$$

Origen de semilla

Se incluyeron 36 accesiones de chile silvestre (Cuadro 2.1) que representan diferentes regiones geográficas y ecológicas de México y sur de EEUU incluyendo el Noroeste (Arizona, Baja California Sur, Sonora), Pacífico Centro (Nayarit, Jalisco), Centro-Golfo (Querétaro y Veracruz), y Sureste (Oaxaca y Chiapas). En la Figura 2.1 se muestran las regiones geográficas y ecológicas de procedencia de las 36 accesiones y en el Cuadro 2.2 se presenta un resumen de las características medioambientales de cada procedencia. Como controles se incluyeron dos tipos de chile criollo domesticado y/o cultivado del Norte-Centro de México (Puya y Pasilla). Las 36 accesiones y los dos controles forman parte de la colección de semillas que se mantienen en el Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

Cuadro 2.1 Accesiones de chile silvestre incluidas en el estudio y regiones de procedencia.

Region-1 Noroeste (Az, BCS, Son)		Region-2 Pacífico Centro (Nayarit, Jalisco)		Region-3 Centro-Golfo (Qro, Ver)		Region-4 Sur (Oax, Chiapas)	
Accesión	Proc	Accesión	Proc.	Accesión	Proc.	Accesión	Proc.
1002	Az	1170	Jalisco	1073	Qro	1331	Chiapas
1003	Az	1173	Jalisco	1077	Qro	1333	Chiapas
1021	Az	1363 ^a	Nayarit	1078	Qro	1341	Yucatán
1037	Sonora	1363 ^b	Nayarit	1079 ^a	Qro	1430	Oaxaca
1043	Sonora	1411	Nayarit	1194	Ver		
1063	Sonora	1431	Nayarit	1196	Ver		
1120	Sonora	1434	Nayarit	1202	Ver		
1126	Sonora			1203	Ver		
1127	Sonora			1211	Ver		
1128	Sonora			1307 ^b	Tam.		
1142	Sonora						
1145	Sonora						
1147	Sonora						
1354	BCS						
1361	BCS						

MAPA DE DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LAS 36 ACCESIONES DE SEMILLAS DE CHILE SILVESTRE POR ECOREGIÓN (NIVEL III)

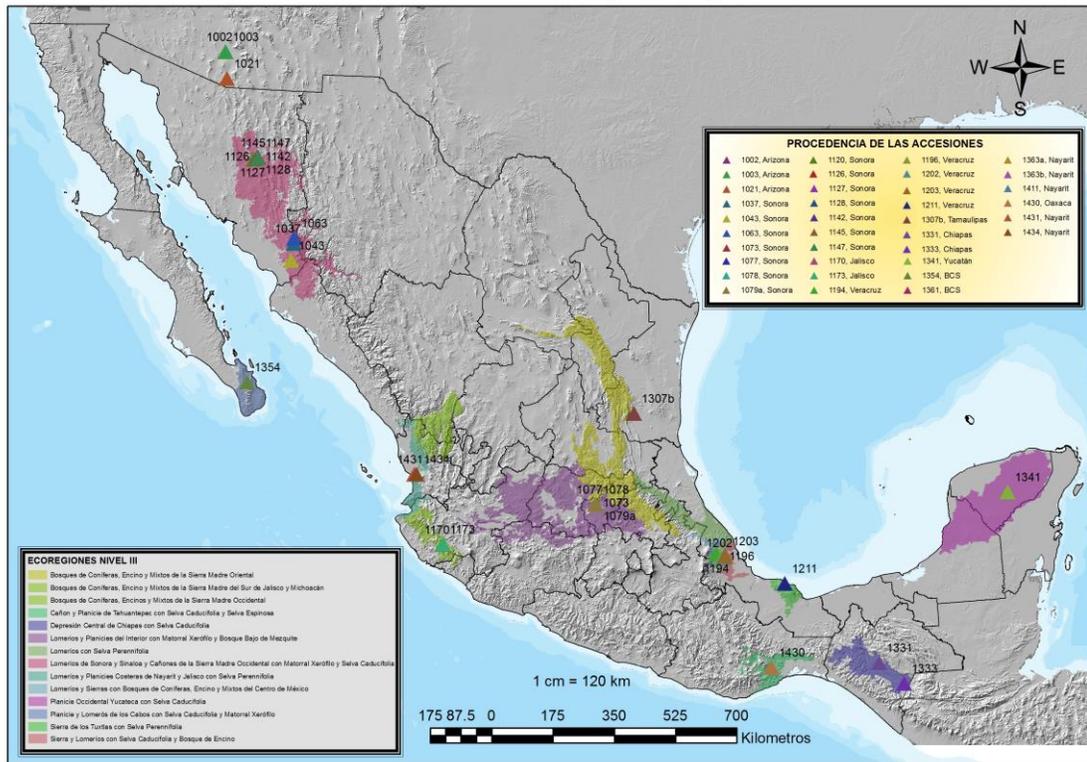


Figura 2.1. Origen geográfico de las 36 accesiones de chiles silvestres incluidas en el estudio y ecoregiones de procedencia de Nivel III

Cuadro 2.2 Características medioambientales de las regiones de procedencia de los 36 chiles silvestres incluidos en el estudio.

Accesión	Procedencia	Clima	Condición de Temperatura	Régimen de lluvia	Temperatura Media anual	Tipo de suelo	Tipo de vegetación
1002	Arizona	Seco	Muy Cálido	de verano	>22 °C	Xerosol	MATORRAL DESÉRTICO MICRÓFILO
1003	Arizona	Seco	Muy Cálido	de verano	>22 °C	Xerosol	MATORRAL DESÉRTICO MICRÓFILO
1021	Arizona	Seco	Muy Cálido	de verano	>22 °C	Xerosol	MATORRAL DESÉRTICO MICRÓFILO
1037	Sonora	Seco	Muy cálido	de verano	>22 °C	Feozem	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE SELVA BAJA CADUCIFOLIA
1043	Sonora	Seco	Muy cálido	de verano	>22 °C	Regosol	PASTIZAL CULTIVADO
1063	Sonora	Seco	Cálido	de verano	>22 °C	Xerosol	MATORRAL DESÉRTICO MICRÓFILO
1073	Sonora	Seco	Templado	de verano	entre 12 y 18 °C	Feozem	MATORRAL CRASICAULE
1077	Sonora	Seco	Templado	de verano	entre 12 y 18 °C	Feozem	MATORRAL CRASICAULE
1078	Sonora	Seco	Templado	de verano	entre 12 y 18 °C	Feozem	MATORRAL CRASICAULE
1079 ^a	Sonora	Seco	Templado	de verano	entre 12 y 18 °C	Feozem	MATORRAL CRASICAULE
1120	Sonora	Seco	Cálido	de verano	>22 °C	Fluvisol	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE MATORRAL SUBTROPICAL
1126	Sonora	Seco	Semicálido	de verano	entre 18 y 22 °C	Regosol	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE MATORRAL SUBTROPICAL
1127	Sonora	Seco	Semicálido	de verano	entre 18 y 22 °C	Regosol	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE MATORRAL SUBTROPICAL
1128	Sonora	Seco	Semicálido	de verano	entre 18 y 22 °C	Litosol	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE MATORRAL SUBTROPICAL
1142	Sonora	Seco	Semicálido	de verano	entre 18 y 22 °C	Litosol	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE MATORRAL SUBTROPICAL
1145	Sonora	Seco	Semicálido	de verano	entre 18 y 22 °C	Litosol	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE MATORRAL SUBTROPICAL

Accesión	Procedencia	Clima	Condición de Temperatura	Régimen de lluvia	Temperatura Media anual	Tipo de suelo	Tipo de vegetación
1147	Sonora	Seco	Semicálido	de verano	entre 18 y 22 °C	Litosol	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE MATORRAL SUBTROPICAL
1170	Jalisco	Subhúmedo	n/a	de verano	18 °C	Litosol	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE SELVA BAJA CADUCIFOLIA
1194	Veracruz	Húmedo	n/a	Abundante de verano	18 °C	Acrisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL PERMANENTE
1196	Veracruz	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Vertisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL PERMANENTE
1173	Jalisco	Subhúmedo	n/a	de verano	18 °C	Litosol	VEGETACIÓN SECUNDARIA ARBUSTIVA DE SELVA BAJA CADUCIFOLIA
1202	Veracruz	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Vertisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL ANUAL Y PERMANENTE
1203	Veracruz	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	N/A	AGRICULTURA DE TEMPORAL ANUAL Y SEMIPERMANENTE
1211	Veracruz	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	N/A	AGRICULTURA DE TEMPORAL ANUAL Y SEMIPERMANENTE
1307b	Tamaulipas	Subhúmedo	n/a	de verano	18 °C	Luvisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL ANUAL Y SEMIPERMANENTE
1331	Chiapas	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Feozem	AGRICULTURA DE TEMPORAL ANUAL
1333	Chiapas	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Feozem	AGRICULTURA DE TEMPORAL ANUAL
1341	Yucatán	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Luvisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL ANUAL
1354	BCS	Seco	Semicálido	de verano	entre 18 y 22 °C	Regosol	SELVA BAJA CADUCIFOLIA
1361	BCS	Seco	Semicalido	de verano	entre 18 y 22 °C	Regosol	SELVA BAJA CADUCIFOLIA
1363 ^a	Nayarit	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Acrisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL SEMIPERMANENTE Y PERMANENTE

Accesión	Procedencia	Clima	Condición de Temperatura	Régimen de lluvia	Temperatura Media anual	Tipo de suelo	Tipo de vegetación
1363b	Nayarit	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Acrisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL SEMIPERMANENTE Y PERMANENTE
1411	Nayarit	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Acrisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL SEMIPERMANENTE Y PERMANENTE
1430	Oaxaca	Seco	Muy cálido	de verano	>22 °C	Vertisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL ANUAL
1431	Nayarit	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Acrisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL SEMIPERMANENTE Y PERMANENTE
1434	Nayarit	Subhúmedo	n/a	de verano	> 22 °C	Acrisol	AGRICULTURA DE TEMPORAL SEMIPERMANENTE Y PERMANENTE

n/a= no hay dato



Determinación de viabilidad en semillas por densitometría con rayos X

Esta prueba se llevó a cabo durante febrero de 2014 en la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en Linares, NL. Para determinar la viabilidad de los 36 lotes de semillas, se tomaron muestras de 80 semillas por accesión, incluyendo semillas de chile Puya y Guajillo (en dos de los 36 lotes se usaron 78 y en uno 50 semillas). Las semillas de cada accesión fueron colocadas en dos líneas de 40, 39 o 25 semillas cada una sobre papel bond. Por cada hoja de papel bond se colocaron 10 accesiones. Cada accesión fue etiquetada y se verificó que todas las semillas quedaran adheridas al papel con cinta adhesiva transparente. Una vez colocadas y fijadas las semillas de las 36 accesiones, estas fueron colocadas sobre hojas de papel fotográfico tipo KenFord de 20.32 x 25.40 cm. Posteriormente se sometieron a un tratamiento de rayos X por 40 segundos y 30kvd de intensidad. La dosis fue recomendada por el Dr. Horacio Villalón y su grupo de trabajo, con base a las experiencias y resultados con semillas forestales. Para irradiar la semilla se utilizó un equipo de rayos X modelo Hewlett 43855a.

Revelado

Después del tratamiento con rayos X, las hojas de papel fotográfico con semillas irradiadas fueron tratadas con solución reveladora a base de Nitrato de Potasio por 10 segundos. Posteriormente se aplicó un enjuague y luego se dejaron secar a temperatura ambiente antes de observar las imágenes reveladas. Todo el proceso de revelado, enjuague y secado se llevó a cabo bajo condiciones de oscuridad en el laboratorio de revelado.

Análisis de imágenes

Una vez reveladas las imágenes, se procedió al conteo de semillas viables (y no viables) con base a la densidad óptica de cada semilla. Se consideraron semillas viables aquellas que mostraron los embriones y el endospermo completos. Las semillas con endospermo incompleto o las semillas vacías fueron consideradas no viables. El porcentaje de

viabilidad de cada accesión fue calculado a partir del número de semillas viables con relación al total de semillas expuestas a rayos X.

Prueba de germinación *in vitro*

La prueba de germinación se llevó a cabo con las semillas tratadas con rayos X para la prueba de viabilidad. La prueba de viabilidad por rayos X tiene la ventaja de analizar las mismas semillas irradiadas para determinar su porcentaje de germinación.

La prueba de germinación se llevó a cabo durante el mes de abril de 2014 en el Laboratorio de Fisiología y Tejidos Vegetales del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. La prueba se realizó en frascos de vidrio con agar-agua, el cual fue preparado con 9 g de agar-agar por litro de agua, más 2.0 g de Nitrato de Potasio ajustado a pH de 5.7. Después de esterilizar, se agregaron 20 ml de medio a cada frasco y se dejó enfriar. Antes de sembrar, las semillas de cada accesión fueron desinfectadas con alcohol al 80 % durante 20 segundos; posteriormente las semillas se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 20 % por 10 minutos, seguido de tres enjuagues con agua destilada estéril; basándose en la metodología de Vázquez y col. (2012).

Para esta prueba se diseñó un experimento con tres repeticiones (o frascos) por accesión y 10 semillas por frasco. Como control solamente se incluyó la variedad tipo Puya. La unidad experimental consistió en un frasco con agar-agua al que se le colocaron 10 semillas. Todos los frascos fueron etiquetados e incubados en un cuarto de germinación con temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} + 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 16 horas de foto periodo por 20 días.

Se realizaron conteos de semillas germinadas por frasco a los 5, 10, 15 y 20 días después de la siembra. El criterio para calificar semillas germinadas se basó en la presencia de la radícula al momento de la observación. En este sentido la prueba de germinación en agar-agua es la recomendada para este tipo de pruebas

El porcentaje de germinación fue calculado a partir de las semillas germinadas y el total de semillas en el frasco.

También se llevó a cabo un análisis para determinar la velocidad de germinación de las accesiones silvestres y el control. Este análisis se realizó bajo un diseño factorial

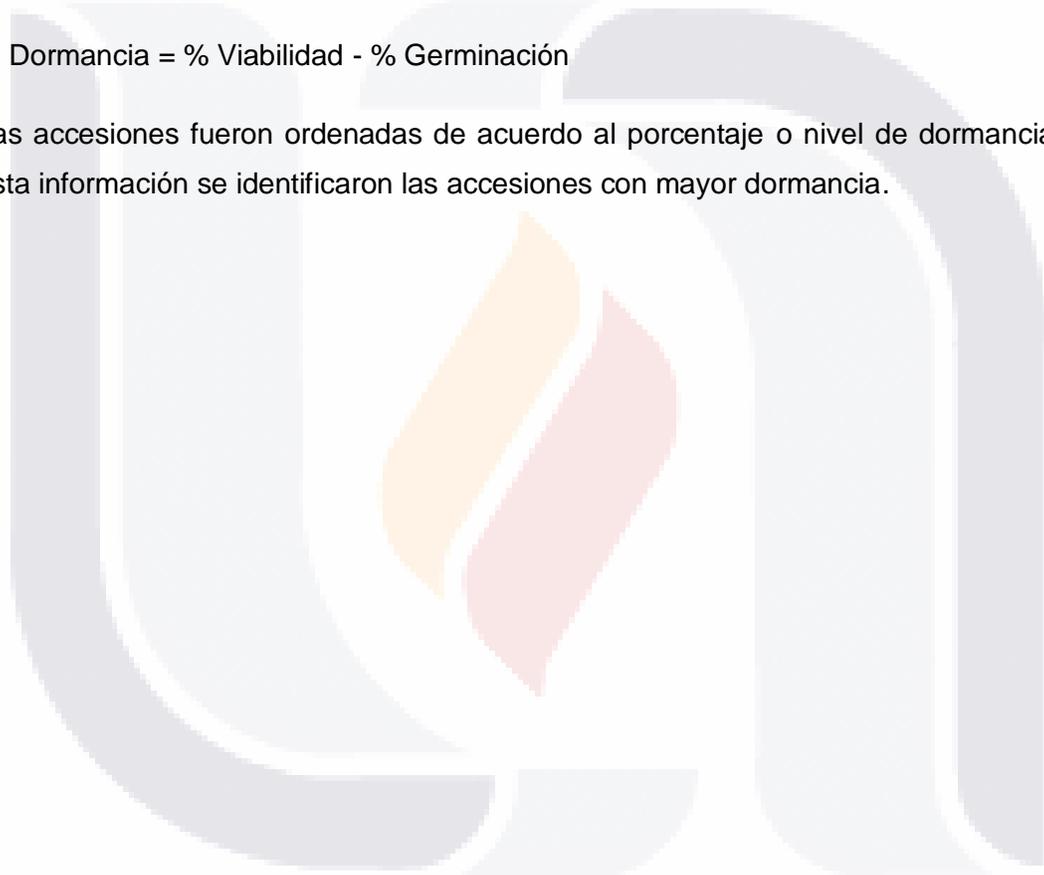
completamente al azar, considerando a las 36 accesiones como factor A y como factor B los días después de la siembra (dds; 0, 5, 10, 15 y 20).

Niveles de Dormancia

Los datos de viabilidad y germinación fueron concentrados en una base de datos para calcular el porcentaje de dormancia de cada accesión usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Dormancia} = \% \text{ Viabilidad} - \% \text{ Germinación}$$

Las accesiones fueron ordenadas de acuerdo al porcentaje o nivel de dormancia, y con esta información se identificaron las accesiones con mayor dormancia.

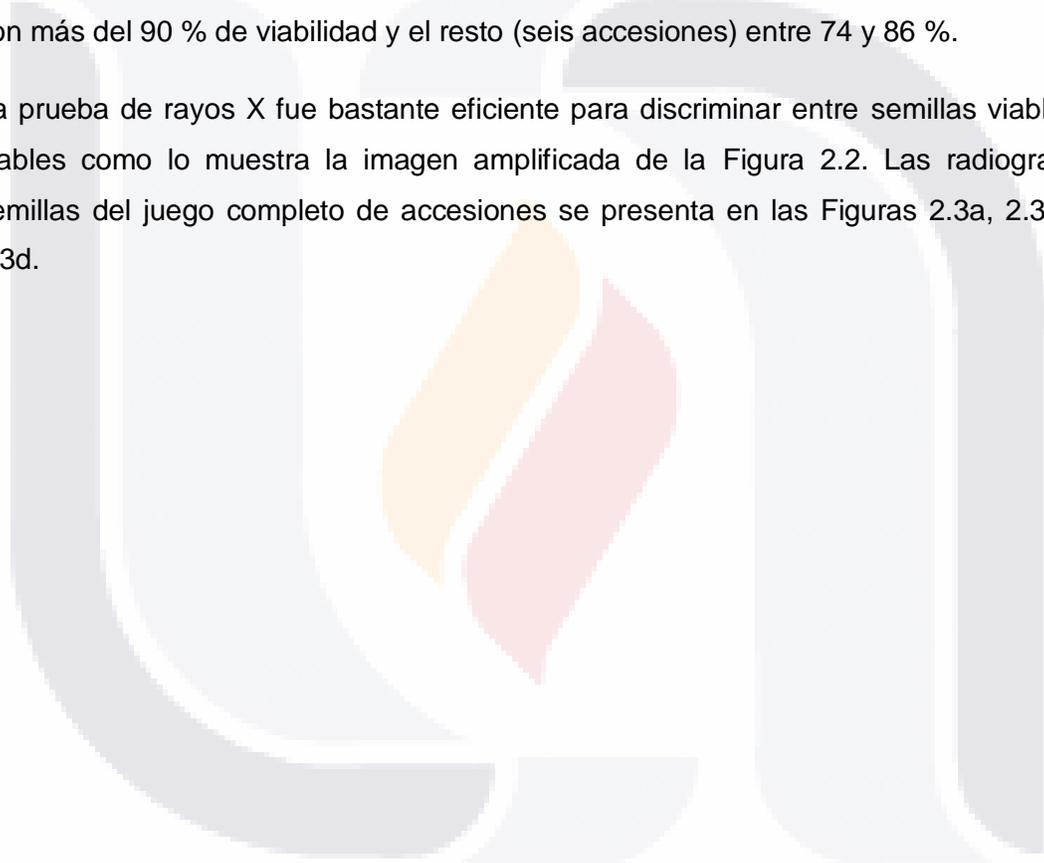


2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Viabilidad

Los resultados de viabilidad por el método de densitometría de rayos X se muestran en el Cuadro 2.3. La viabilidad de las 36 accesiones silvestres fluctuó entre 51 % (dos accesiones) y 100 % (cuatro accesiones). Los controles Puya y Pasilla mostraron viabilidades del 99 y 96 %, respectivamente; 28 de las 36 accesiones silvestres resultaron con más del 90 % de viabilidad y el resto (seis accesiones) entre 74 y 86 %.

La prueba de rayos X fue bastante eficiente para discriminar entre semillas viables y no viables como lo muestra la imagen ampliada de la Figura 2.2. Las radiografías de semillas del juego completo de accesiones se presenta en las Figuras 2.3a, 2.3b, 2.3c, 2.3d.



Cuadro 2.3 Viabilidad de semillas de 36 accesiones de chile silvestre y dos controles.

Accesión	Semillas Viables	Semillas No viables	Total de semillas	% de viabilidad
1002	79	1	80	99
1003	80	0	80	100
1021	74	6	80	93
1037	78	2	80	98
1043	80	0	80	100
1063	41	39	80	51
1073	77	3	80	96
1077	75	5	80	94
1078	77	3	80	96
1079 ^a	68	12	80	85
1120	76	4	80	95
1126	74	6	80	93
1127	60	20	80	75
1128	74	6	80	93
1142	73	5	78	94
1145	69	11	80	86
1147	77	3	80	96
1170	76	4	80	95
1194	41	9	50	82
1196	78	2	80	98
1173	78	2	80	98
1202	59	21	80	74
1203	79	1	80	99
1211	77	3	80	96
1307b	60	20	80	75
1331	80	0	80	100
1333	77	3	80	96
1341	79	1	80	99
1354	73	7	80	91
1361	77	1	78	99
1363 ^a	74	6	80	93
1363b	80	0	80	100
1411	68	12	80	85
1430	78	2	80	98
1431	79	1	80	99
1434	77	3	80	96
Chile Puya	79	1	80	96
Chile Guajillo	77	3	80	99

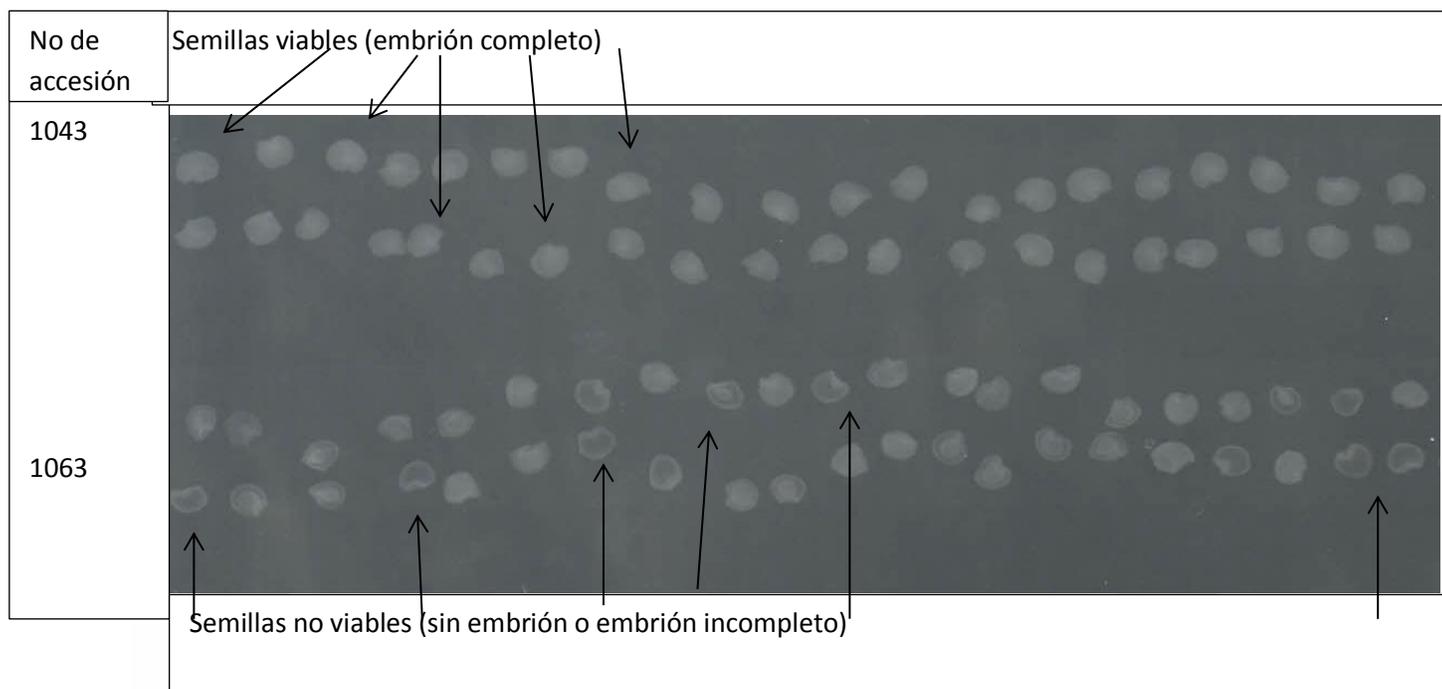
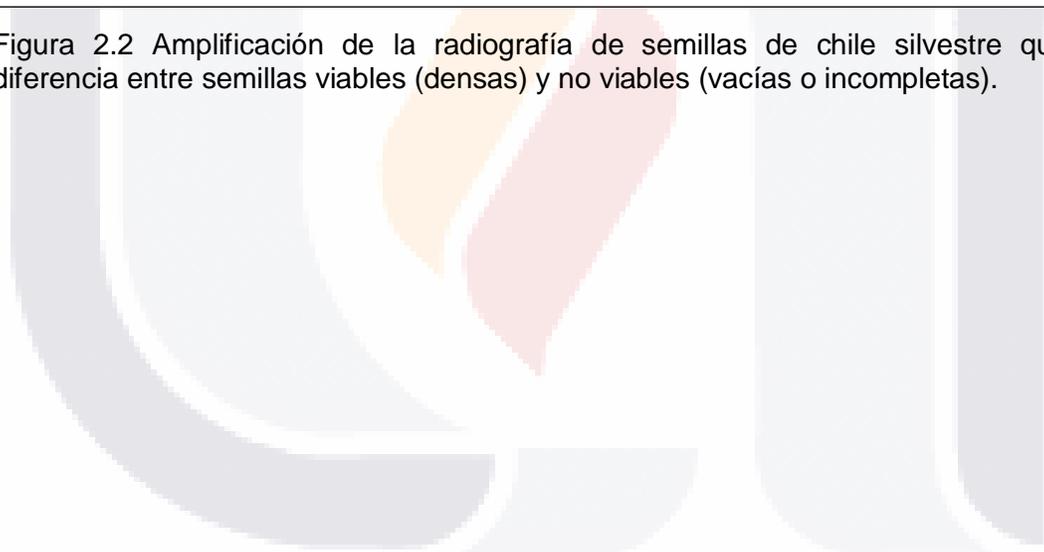


Figura 2.2 Amplificación de la radiografía de semillas de chile silvestre que muestra la diferencia entre semillas viables (densas) y no viables (vacías o incompletas).



No Accesión	Imágenes de semillas procesadas
1002 →	
1003 →	
1021 →	
1037 →	
1043 →	
1063 →	
1073 →	
1077 →	
1078 →	
1079a →	
1120 →	
1126 →	
1127 →	

Figura 2.3a. Radiografía de semillas de las accesiones de chile silvestre de 1002 a 1127.

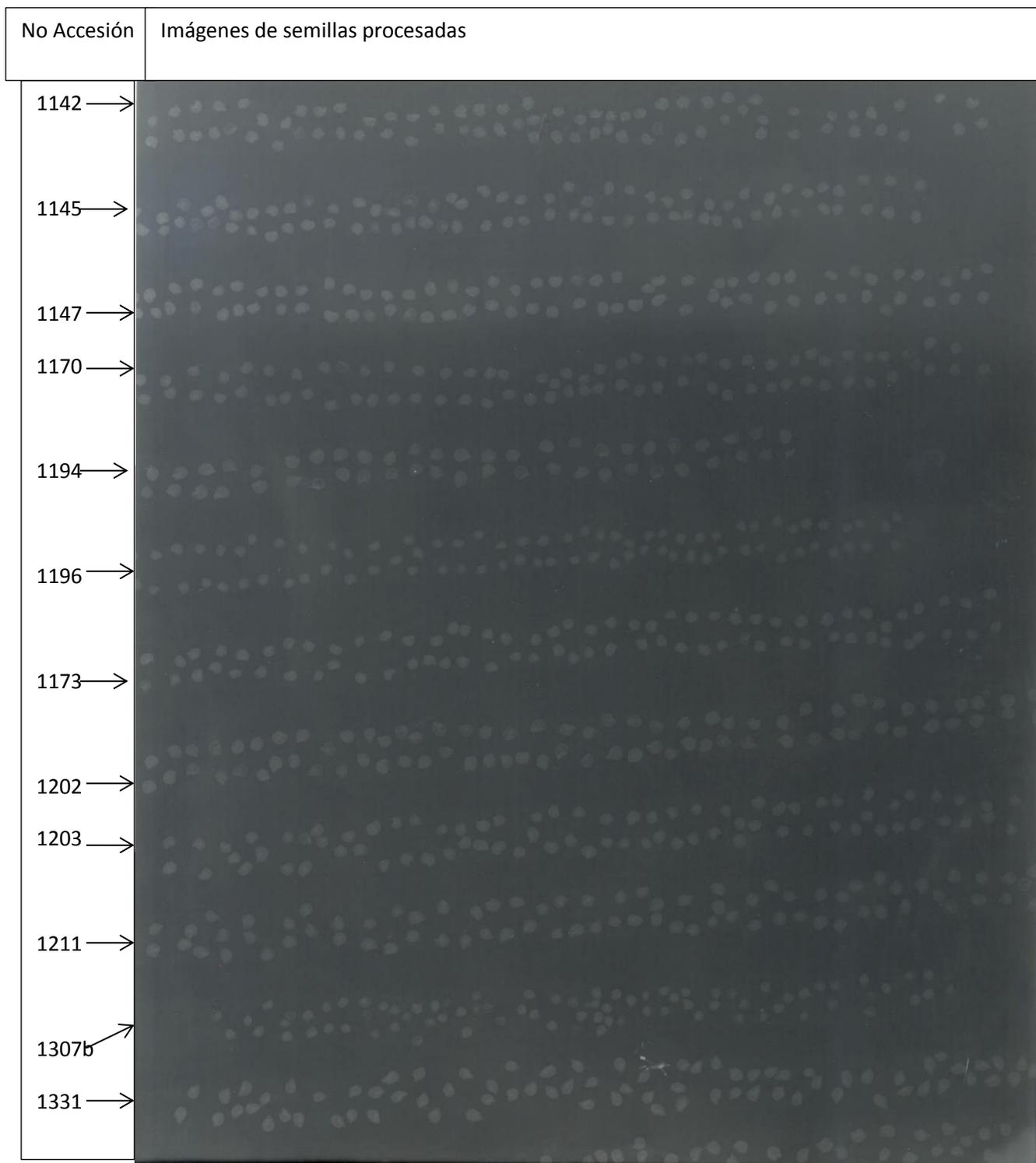


Figura 2.3b Radiografía de semillas de las accesiones de chile silvestre de la 1142 a 1331

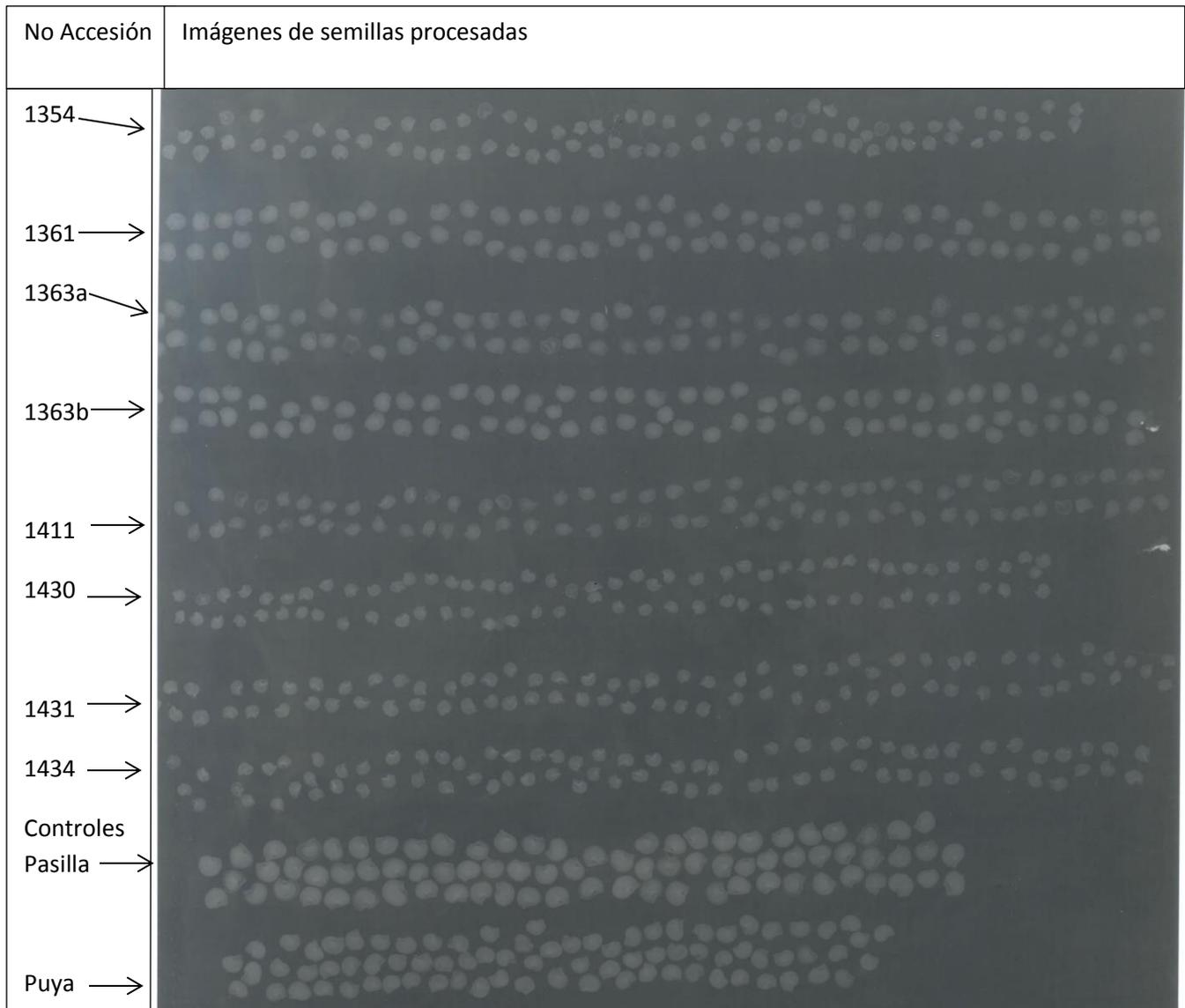


Figura 2.3c. Radiografía de semillas de las accesiones de chile silvestre de la 1354 a 1434 y los controles Pasilla, Puya

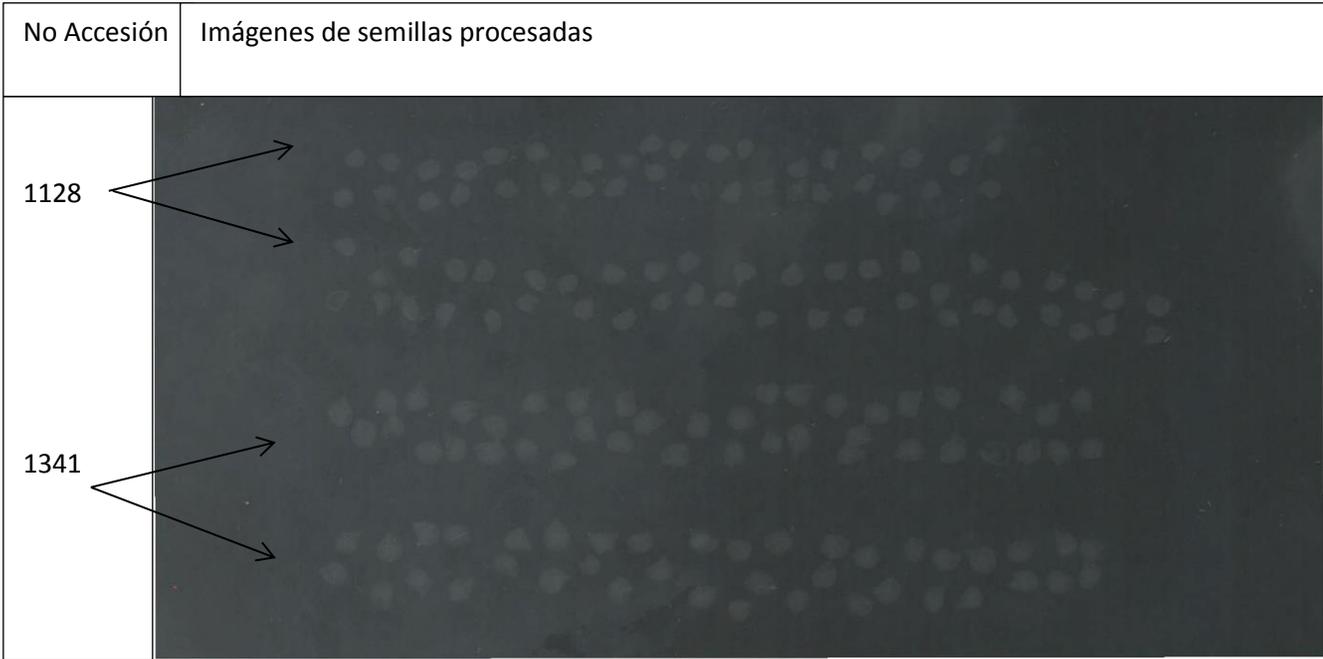


Figura 2.3d. Radiografía de semillas de las accesiones de chile silvestre de la 1128 y 1341

La prueba de densitometría de rayos X es relativamente nueva y poco utilizada para el análisis de semillas, en particular semillas hortícolas. La prueba de rayos X fue de gran utilidad para determinar la viabilidad de las accesiones, y así poder estimar el porcentaje de dormancia en semillas silvestres y los controles. Gagliardi y Marcos, (2011) encontraron que la viabilidad de las semillas de chile puede ser evaluada con la prueba de rayos x observando las características morfológicas de las semillas. Los mismos autores observaron diferentes accesiones y las imágenes permitieron distinguir entre semillas no viables (vacías y sin embrión) de las semillas viables (densas y con embrión). Dell (2007) concluyo que las semillas que presentan menos del 2.7 % de espacio libre entre el embrión y el endospermo deben ser consideradas altamente viables por lo cual en el presente trabajo se optó por calificar como viables a las semillas densas y completas. Las semillas vacías o incompletas fueron consideradas no viables. Los resultados indicaron que el juego de accesiones bajo estudio en general presentó alta viabilidad.

Germinación

Los resultados de la prueba de germinación a 20 dds se muestran en el Cuadro 2.4 y Figura 2.4. La germinación de las 36 accesiones silvestres fluctuó desde 0 hasta 100 %. Los dos controles (Pasilla y Puya) presentaron 100 % de germinación. Siete de las 36 accesiones silvestres mostraron 0 % de germinación; 16 accesiones mostraron entre 1 y 25 % de germinación; 5 accesiones mostraron entre 26 y 50 % de germinación; 4 accesiones mostraron entre 51 y 75 % de germinación, y 4 accesiones mostraron entre 76 y 100 % de germinación. No se observó relación alguna entre el porcentaje de germinación y región de procedencia.

En semillas de chile silvestre se presenta variación en la germinación y más si son accesiones de semillas de diferentes ecorregiones. Las pruebas de germinación para semillas de chile silvestre que se han hecho muestran bastante variación, pero siempre presentan porcentajes bajos de germinación. Hernández y col. (2012) evaluaron los porcentajes de germinación de chiles silvestres de 4 poblaciones del noreste de México y encontraron diferencias significativas en los porcentajes de germinación. Encontraron una variación de 15 % entre poblaciones y un 55 % entre individuos. Araiza y col. (2011) trabajaron con semillas de chile silvestre de Sonora y obtuvieron un porcentaje de germinación del 47 % en 8 semanas. De la Rosa y col. (2012) obtuvieron porcentajes de germinación de semillas de chile Simojovel de 23.25 %, García y col. (2010) semillas de chile silvestre provenientes de dos localidades de Querétaro y observaron 33 % de germinación en ambas procedencias.

El presente experimento se llevó a cabo con semillas viables provenientes de 10 Estados mexicanos y uno de Estados Unidos. Las accesiones mostraron gran variación en el porcentaje de germinación y las que presentaron 0 % de germinación provienen de cinco estados (Arizona, Sonora, BCS, Jalisco y Querétaro). La variación en germinación probablemente se debe a las diferencias eco geográficas de las procedencias (Hernández y col., 2001).

Cuadro 2.4. Resultados del porcentaje de germinación en semillas de 36 accesiones de chile silvestre y dos controles.

Accesión	% Germ 20 dds	Accesión	% de Germ
1173	0.0	1078	16.7
1021	0.0	1307b	20.0
1170	0.0	1411	23.3
1354	0.0	1331	23.3
1120	0.0	1333	33.3
1126	0.0	1142	36.7
1127	0.0	1431	40.0
1079 ^a	3.3	1211	50.0
1037	3.3	1194	50.0
1430	6.7	1434	53.3
1196	6.7	1202	60.0
1043	10.0	1203	70.0
1128	10.0	1361	70.0
1073	13.3	1341	83.3
1002	13.3	1077	96.7
1003	13.3	1363 ^a	100
1063	13.3	1363b	100
1147	16.7	Puya	100
1145	16.7	Pasilla	100

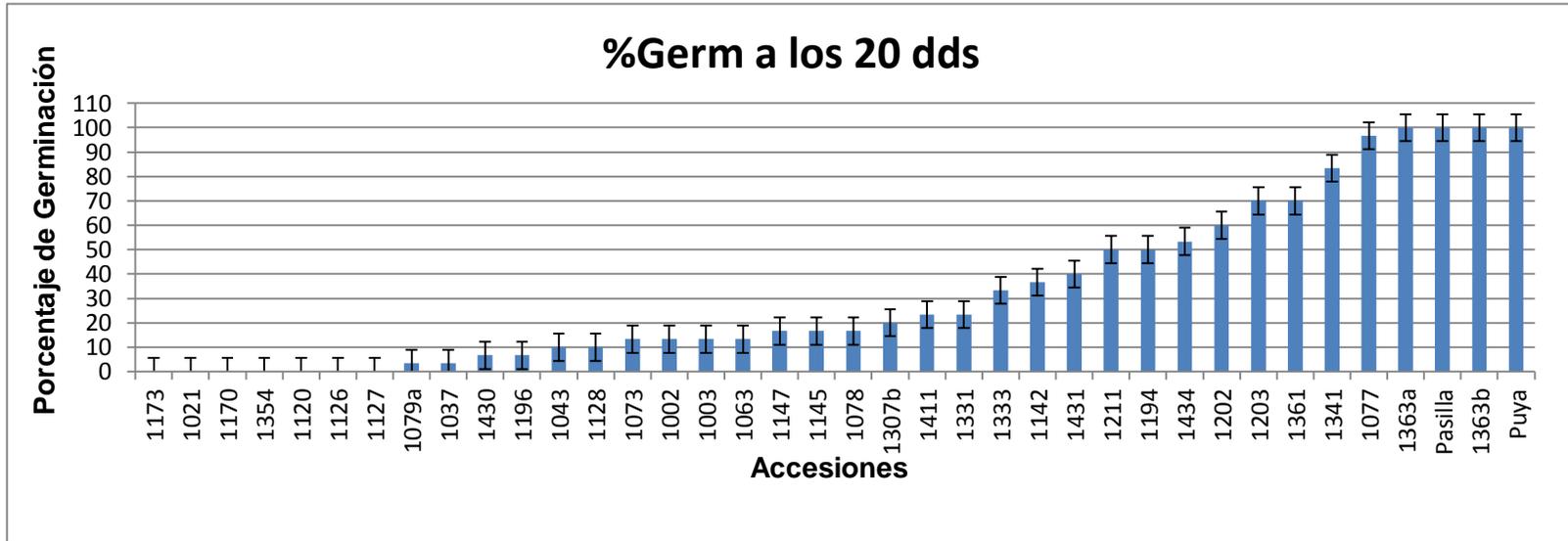


Figura. 2.4 Porcentajes de germinación de las 36 accesiones y los dos controles a los 20 días después de la siembra

Velocidad de germinación

El Análisis de Varianza (ANOVA) mostró una interacción altamente significativa ($P < 0.01$) entre *Accesión* y *dds* (Cuadro 2.5). Lo anterior indica que las accesiones varían en la velocidad de germinación, es decir que algunas accesiones germinaron más rápido que otras. Sin embargo, el porcentaje de germinación a los 20 *dds* (tiempo máximo de incubación) es muy variable, ya que algunas accesiones mostraron 0 % de germinación a los 20 *dds* y otras alcanzan el 100 % en el mismo lapso.

Cuadro 2.5. Análisis de Varianza para el porcentaje de germinación de las *Accesiones* a diferentes días después de la siembra (*dds*)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	P
Accesión	37	159572.1	4312.76	47.274	<0.01 **
dds	4	89602.8	22400.70	245.546	<0.01 **
Accesión*dds	148	127797.2	863.49	9.465	<0.01 **
Error	380	34666.7	91.23		
Total	569	411638.8			

Dormancia

Los resultados de dormancia se presentan en el Cuadro 2.6

Cuadro 2.6. Porcentajes de viabilidad, germinación y dormancia de las accesiones silvestres y los controles.

No	Accesión	Procedencia	% viabilidad	% Germinación a los 20 dds	% dormancia
1	1002	Arizona	99	13	85
2	1003	Arizona	100	13	87
3	1021	Arizona	93	0	93
4	1037	Álamos, Sonora	98	3	94
5	1043	Sonora	100	10	90
6	1063	Álamos, sonora	51	13	38
7	1073	Querétaro	96	13	83
8	1077	Querétaro	94	97	0
9	1078	Querétaro	96	17	80
10	1079 ^a	Querétaro	85	3	82
11	1120	Maz.Son	95	0	95
12	1126	Maz.Son	93	0	93
13	1127	Sonora	75	0	75
14	1128	Maz.Son	93	10	83
15	1142	Maz.Son	94	37	57
16	1145	Maz.Son	86	17	70
17	1147	Maz.Son	96	17	80
18	1170	Aut. Jal	95	0	95
19	1173	Aut. Jal	98	0	98
20	1194	Veracruz	82	50	32
21	1196	Veracruz	98	7	91
22	1202	Veracruz	74	60	14
23	1203	Veracruz	99	70	29
24	1211	Veracruz	96	50	46
25	1307 ^b	Tamaulipas	75	20	55
26	1331	Chiapas	100	23	77
27	1333	Chiapas	96	33	63
28	1341	Yucatán	99	83	15
29	1354	BCS	91	0	91
30	1361	BCS	99	70	29
31	1363 ^a	Nayarit	92	100	0
32	1363 ^b	Nayarit	100	100	0
33	1411	Nayarit	85	23	62
34	1430	Oaxaca	98	7	91
35	1431	Nayarit	99	40	59
36	1434	Nayarit	96	53	43
37	Puya	Aguascalientes	99	100	0
38	Pasilla	Aguascalientes	96	100	0

La dormancia entre accesiones silvestres fluctuó entre 0 y 98 % con un promedio de 63 % para el grupo de accesiones silvestres. Los controles Puya y Pasilla mostraron 0 % de dormancia, tal y como se esperaba. Los resultados mostraron que no todas las accesiones de Chile silvestre colectadas en México presentan dormancia en la semilla, además, no se detectó una relación entre nivel de dormancia en la semilla y región de procedencia, como se puede ver en la Figura 2.5. El grupo de accesiones silvestres fueron clasificadas con base al porcentaje de dormancia, y se asignaron diferentes categorías o niveles de dormancia como se muestra en el Cuadro 7.



Figura 2.5 Distribución geográfica de los niveles de dormancia en las accesiones de Chile silvestre.

Cuadro 2.7. Clasificación de las accesiones por porcentaje y niveles de dormancia.

No. De Accesoión	Procedencia	% de Dormancia	Nivel de Dormancia
1173	Jalisco	98	Muy alta
1170	Jalisco	95	Muy alta
1120	Sonora	95	Muy alta
1037	Sonora	94	Muy alta
1021	Arizona	93	Muy alta
1126	Sonora	93	Muy alta
1196	Veracruz	91	Muy alta
1354	Baja California Sur	91	Muy alta
1430	Oaxaca	91	Muy alta
1043	Sonora	90	Alta
1003	Arizona	87	Alta
1002	Arizona	85	Alta
1128	Sonora	83	Alta
1079 ^a	Querétaro	82	Alta
1078	Querétaro	80	Alta
1147	Sonora	80	Alta
1331	Chiapas	77	Alta
1073	Querétaro	76	Alta
1127	Sonora	75	Alta
1145	Sonora	70	Media
1333	Chiapas	63	Media
1411	Nayarit	62	Media
1431	Nayarit	59	Media
1077	Querétaro	57	Media
1142	Sonora	57	Media
1307 ^b	Tamaulipas	55	Media
1211	Veracruz	46	Baja
1434	Nayarit	43	Baja
1063	Sonora	34	Baja
1194	Veracruz	32	Baja
1203	Veracruz	29	Baja
1361	Baja California Sur	29	Baja
1341	Yucatán	15	Baja
1202	Veracruz	14	Baja
1363 ^a	Nayarit	0	Nula
1363 ^b	Nayarit	0	Nula
Puya	Aguascalientes	0	Nula
Pasilla	Aguascalientes	0	Nula

Se identificaron 19 accesiones con más del 70 % de dormancia, las cuales recibieron la categoría de accesiones con alta y muy alta dormancia. De este grupo de accesiones se seleccionaron las que tenían suficientes semillas para la siguiente etapa del estudio

enfocada a la evaluación de protocolos para la germinación de semilla de chile silvestre con altos niveles de dormancia.

El porcentaje de dormancia está fuertemente correlacionada de manera negativa o indirecta con el porcentaje de germinación. Lo anterior significa que las semillas viables con bajo porcentaje de germinación presentan alta dormancia y viceversa, semillas con alta dormancia presentan bajo porcentaje de germinación.

La mayoría de trabajos realizados con semillas de chile silvestre sólo muestran datos de germinación, y generalmente falta información asociada a los porcentajes de dormancia. Odlan (1938) menciona que el chile es un cultivo no dormante, pero en contraste Baskin y Baskin (2000) indican que *Capsicum annum* presenta dormancia fisiológica no profunda. Wiliam (1981) trabajo con 19 cultivares de chile representando cuatro especies de *Capsicum* y encontró diferencias en dormancia entre los cultivares; la dormancia fue atribuida al estado de cosecha del fruto y al almacenamiento de la semilla. Sin embargo, el estudio no incluyo chiles silvestres. Los resultados encontrados en el presente trabajo demuestran gran variabilidad en los niveles de dormancia en semillas de chile silvestre proveniente de diferentes ecorregiones de México.

Hernández y col. (2001) mencionan que la variabilidad en germinación de semillas de chile silvestre es debido al origen ecológico y geográfico de las procedencias, es decir, a las condiciones medioambientales. Se creía que las accesiones que presentarían mayor dormancia serían aquellas con procedencias de climas desfavorables como el desierto de Sonora-Arizona y las regiones semiáridas del centro-norte de México. Sin embargo, los resultados del estudio muestran accesiones de la misma región (ej. Sonora) con altos y bajos porcentajes de dormancia, pero también se puede observar la misma variación entre accesiones de Veracruz, Chiapas y Baja California Sur. Lo anterior, sugiere que el estrés medio ambiental influye poco en el nivel de dormancia de la semilla, aunque existen condiciones morfológicas y fisiológicas, como lo menciona Baskin y Baskin (2000). Por su parte, Cano-Vázquez y col., (2015) trabajaron con 16 accesiones de chile silvestre y observaron variaciones en latencia de semillas, las cuales fueron determinadas con base a los porcentajes de germinación. Los mismos autores clasificaron los niveles de dormancia de 16 accesiones de chile silvestre provenientes de diferentes regiones geográficas de México y Estados Unidos y señalaron que la baja germinación en semillas de chile silvestre se debe a procesos fisiológicos.

2.6 CONCLUSIÓN

Con base a los resultados del presente estudio en las condiciones propias en que se realizó, se generan las siguientes conclusiones:

1. Se determinó la dormancia en semillas de 36 accesiones de chile silvestres de diferentes regiones de México.
2. La dormancia en las semillas de chile silvestre de diferentes accesiones fluctuó desde 0 a 100 %, y no se detectó una relación entre el nivel de dormancia y la región de procedencia.
3. Los chiles domesticados usados como control (chile Pasilla y chile Puya) mostraron 0 % de dormancia
4. No todas las semillas de chile silvestre utilizadas en la presente investigación y colectadas en la República Mexicana presentaron dormancia.
5. A partir del porcentaje de dormancia se presentó una clasificación de accesiones por nivel de dormancia, con lo cual se identifican 19 accesiones con alta dormancia (>70 %). Las accesiones con alta dormancia son retomadas en la siguiente etapa o capítulo de la tesis.

2.7 BIBLIOGRAFÍA

1. Araiza, N., Araiza, E., Martínez, J. 2011. Evaluación de la germinación y crecimiento de Plántula de Chiltepín (*Capsicum annuum* L. variedad *glabriusculum*) en invernadero. Revista Colombiana de Biotecnología. (13):2
2. Baskín, J., Baskín, C., Xiaojie, Li. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in sedes. Plant Species Biology. (15): 139-152
3. Baskín, J., Baskín, C. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research. (14): 1-16
4. Bran, R., Moya, C., Ponce, P., Álvarez, M., Varela, M. 2007. Diagnostico participativos de las condiciones socioculturales asociadas a la conservación de los chiles silvestres (*Capsicum spp.*) en la depresión central de Chiapas, México. Cultivos Tropicales. 28:69-73
5. Cano-Vázquez, A., López-Peralta, C., Zavaleta-Mancera, H., Cruz-Huerta, N., Ramírez-Ramírez, I., Gardea-Bejar, A., González-Hernández, V. 2015. Variación en grados de latencia en semillas entre colectas de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum*). Botanical Sciences 93(1):1-10
6. De la Rosa, M., Arce, L., Villarreal, J., Ibarra, L., Lozano, J. 2012. Germinación de semillas de chile simojovel (*Capsicum annuum* L.) previamente expuestas a NaCl y ácido giberélico. revista internacional de botánica experimental. 81:165-168
7. Dell, A. 2007. Pepper seed germination assessed by combined X-radiography and computer-aided imaging analysis. Biología Plantarúm. (4):777-781.
8. Gagliardi, B. Marcos, J. 2011. Relationship between germination and bell pepper seed structure assessed by the X-ray test. Sci Agric. (68):411-416
9. García, A., Montes, S., Rangel, J., García, E., Mendoza, M. 2010. Respuesta fisiológica de la semilla chile piquín [*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum*] (Dunal) Heiser y Pickersgill] Al Ácido Giberélico e Hidrotermia. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 1:203-216.
10. Hernández, S., Guevara, R., Rivera, R., Vázquez, C., Oyama, K. 1998. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum spp.*) como recursos genéticos. Bol. Soc. Bot. Méx. (64):65-84

11. Hernández, S., Oyama, K., Vázquez, C. 2001. Differentiation in seed germination among populations of *Capsicum annuum* along a latitudinal gradient in Mexico. *Plant Ecology*. 155:245-257
12. Hernández, S., López, R., Porras, F., Parra, S., Villareal, M., Osuna, T. 2010. Variación en la germinación entre poblaciones y plantas de chile silvestre. *Agrociencia* 44 (6).
13. Hernández, S., Porras, F., Pacheco, A., López, R., Villareal, M., Parra, S., Osuna, T. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum*) Silvestre del Noreste de México. *Polibotánica*. 33:175-191.
14. Kraft, K., Luna, J., Gepts, P. 2012. A new collection of wild populations of *Capsicum* in Mexico and the southern United states. *International Journal*.
15. Meyer, S., Kitchen, S., Carlson, S. 1995. Seed Germination timing patterns in intermountain *Penstemon* (Scrophulariaceae). *Journal of Botany* 82(3):377-389.
16. Montes, S., Ramírez, M., Villalón, H., Medina, T., Morales, A., Heredia, E., Soto, M., López, R., Cardona, A., Martínez, L. 2006. Conservación y aprovechamiento sostenible de chile silvestre (*Capsicum* spp. Solanaceae) en México. *In: López, L. P. y Montes, H. S. (eds). Avances de investigación de la red de hortalizas del SINAREFI. INIFAP-CIR-CENTRO. Celaya, Guanajuato, México. Libro científico. Núm. 1. 71-134 pp.*
17. Odian, L. 1938. Observations on dormancy in vegetable seed. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.* 35:562-565
18. Pozo, O., Monte, S., Redondo, E. 1991. Chile (*Capsicum* spp.). *Avances en estudio de los recursos fitogenéticos de México. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. Chapingo, México. 217-238pp.*
19. Ramírez, M., Pozo, O., Rodríguez, A., 2003. Tecnología para inducir la germinación en Chile piquín. Memoria del primer simposium regional de chile piquín: avances de investigación en tecnología de producción y uso racional de recursos silvestres. *INIFAP-CIRNE. 26:35-36pp.*
20. Sampaio, L., Peixoto, C., Pinto, M., Costa, J., Garrido, M., Mendes, E. 2001. ÁCIDO SULFÚRICO NA SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA DE SEMENTES DE SUCUPIRA-PRETA (*Bowdichia virgilioides* H.B.K. – FABACEAE). *Revista Brasileira de Sementes. 23:184-190*
21. William, R., Shigemi, H. 1981. Dormancy in peppers. *Scientia Horticulturae*, 14:19-25.
22. Vázquez, M.O., Pérez-Molphe, B., Castañeda, M.O.E., Ochoa, F. Y., Ramos, G.F., Urrestarazu, G. M. 2012 Micropropagation of Heirloom and Commercial Tomato

Varieties by nodal buds sprouting. In Vitro Cellular and Developmental Biology.
48:72-74

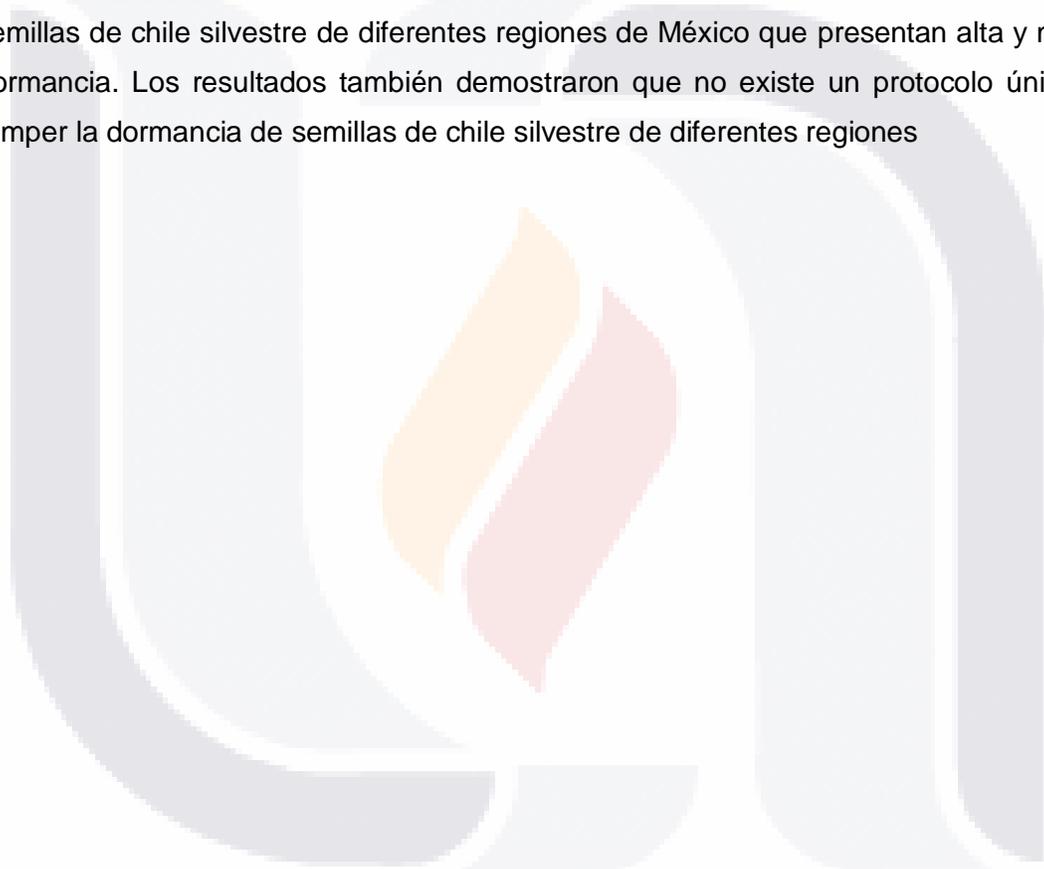


III. PROTOCOLOS DE GERMINACIÓN

3.1 RESUMEN

México tiene una gran riqueza de chiles silvestres, con poblaciones naturales distribuidas en diferentes regiones geográficas y ecológicas de la República Mexicana. En general, se reconoce que los chiles silvestres tienen bajos porcentajes de germinación debido a que presentan dormancia en la semilla, sin embargo, los niveles de dormancia en semillas de chile silvestre parecen variar entre y dentro de algunas procedencias. La dormancia en semillas de chile silvestre al parecer es inducida por diferentes factores internos y externos a la planta durante el desarrollo de la semilla, como fitohormonas, humedad, temperatura, y fotoperiodo. De igual forma, el rompimiento de la dormancia generalmente se logra con tratamientos diversos (hormonales, físicos, químicos, etc.) a la semilla. El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar tratamientos hormonales, de temperatura y tiempos de exposición a H_3PO_4 para romper la dormancia e inducir la germinación en semillas de 16 accesiones de chile silvestre previamente seleccionadas por su alto nivel de dormancia. Las 16 accesiones provienen de ocho entidades de México (Sonora, BCS, Nayarit, Jalisco, Querétaro, Veracruz, Chiapas y Oaxaca) y sur de Arizona, EEUU. Se efectuaron cuatro experimentos independientes entre marzo y diciembre de 2014. En el primero se evaluaron cuatro concentraciones de GA_3 : 0, 50, 500 y 5000 $mg L^{-1}$. En el segundo se evaluaron temperaturas de 25, 28, 31 y 35 $^{\circ}C$. En el tercer experimento se evaluaron cuatro tiempos de exposición (0, 5, 10 y 15 minutos) a una solución de H_3PO_4 al 20 %, y en el cuarto experimento se evaluaron tratamientos combinados del mejor tiempo de exposición al H_3PO_4 al 20 %, seguido de la mejor concentración de GA_3 para cada una de las 16 accesiones de chile silvestre. Como semilla control sin dormancia en los cuatro experimentos se incluyó una variedad regional de chile tipo Puya. La germinación a 20 dds con tratamientos de GA_3 fluctuó entre 0 y 93 % y hasta 100 % a los 30 dds. La accesión 1078 de Querétaro alcanzó el 93 % de germinación a los 20 dds con 5000 $mg L^{-1}$ de GA_3 , en tanto que la accesión 1127 de Sonora alcanzó el 100 % de germinación con 5000 $mg L^{-1}$. El tratamiento con temperatura produjo de 0 a 67 % de germinación. La mayor germinación (67 %) se alcanzó a los 28 $^{\circ}C$ con la accesión 1331 de Chiapas. La respuesta al tiempo de exposición al H_3PO_4 al 20 % fluctuó entre 0 y 93 % de germinación a los 20 dds y hasta 100 % a los 30 dds. Las accesiones 1021 de Arizona,

1043 de Sonora, así como la 1078 y 1079 de Querétaro alcanzaron el 100 % de germinación a los 30 dds con diferentes tiempos de exposición. La combinación de H_3PO_4 y GA_3 produjeron entre 0 y 93 % de germinación. Las accesiones 1331 de Chiapas y 1078 de Querétaro alcanzaron 93 y 80 % de germinación a los 30 dds, respectivamente, La accesión 1120 de Sonora alcanzo 80 % de germinación a los 30 dds también con el tratamiento combinado. En general, la mayor germinación se obtuvo con diferentes tiempos de exposición al H_3PO_4 y/o con 5000 mg L^{-1} de GA_3 . Los resultados del presente trabajo permitieron desarrollar protocolos específicos para inducir la germinación de semillas de chile silvestre de diferentes regiones de México que presentan alta y muy alta dormancia. Los resultados también demostraron que no existe un protocolo único para romper la dormancia de semillas de chile silvestre de diferentes regiones



3.2 INTRODUCCIÓN

El chile silvestre (*Capsicum annum var. glabriusculum*) es un fruto de recolección y de alta demanda como condimento en los estados del Noreste y Noroeste de México. Su alta demanda impacta directamente a sus poblaciones naturales en los estados de mayor demanda como Sonora, Coahuila, Tamaulipas y Nuevo León, debido a los disturbios antropogénicos como sobre explotación y cambio de uso del suelo. La reproducción natural y reclutamiento de nuevas plantas también son afectados por los disturbios antropogénicos y naturales, y probablemente también por la reducida y/o irregular germinación de la semilla a causa de la dormancia. Por lo anterior, el aprovechamiento sostenido del chile silvestre está en riesgo.

Los chiles silvestres son plantas perennes, herbáceas o trepadoras que pueden alcanzar 4m de altura y sólo se reproducen por semilla; producen frutos pequeños, rojos y pungentes, que son consumidos y dispersados por las aves (Hernández y col. 2010).

Para algunos investigadores el género *Capsicum* se originó en América del Sur y se dispersó por todo el continente Americano junto con las migraciones humanas precolombinas (Fernández & Russo, 2006). En México existe una gran dispersión y diversidad de chiles silvestres (y cultivados) por tanto nuestro país es considerado el principal centro de origen y diversidad de *Capsicum annum*. En México también se encuentra de manera natural otras especies silvestres de *Capsicum* como *C. frutescens*, *C. lanceolatum* y *C. ciliatum* (Bran y col., 2007).

En general, se reconoce y acepta que todos los chiles silvestres tienen bajos porcentajes de germinación debido a que sus semillas presentan dormancia. El rompimiento de la dormancia en semillas de chile silvestre generalmente se logra con tratamientos a base de fitohormonas, temperaturas y fotoperiodos. Dentro de las fitohormonas existen algunas como las giberelinas que son compuestos naturales que actúan como reguladores endógenos del crecimiento y desarrollo en los vegetales superiores (Iglesias y Talón, 2008). Las giberelinas de plantas juegan un papel importante en la germinación de las semillas. Las semillas deficientes en giberelinas no pueden germinar porque requieren de su biosíntesis durante la imbibición. La biosíntesis de giberelinas se inhibe con Paclobutrazol y Tetcyclacis, y con ello también se inhibe la germinación, a menos que falte ABA (Nambara y col., 2010).

Las giberelinas han sido implicadas directamente en el control, remoción y promoción de la germinación en semillas, mientras que el ABA las inhibe; el etileno y las citocininas también promueven la germinación de semillas de algunas especies (Araya y col., 2000). En 1955 se sintetizó el ácido giberélico (GA_3) que simula la acción de las giberelinas, y de esta manera esta fitohormona sintética suple los requisitos de luz, o frío, que necesitan muchas semillas para germinar (Iglesias y Talón 2008). Por lo tanto el GA_3 ha sido utilizado entre otras cosas, para promover la germinación de semillas (Arteca, 1996 y Watkinson y Pill, 1998). Por otra parte, la dormancia en semillas puede romperse con factores ambientales que pueden inducirse en laboratorio a través de estímulos como la fotoperiodicidad. En este sentido, la luz es necesaria para la germinación de muchas semillas, pero también puede impedir la germinación de semillas pequeñas. Se sabe que la luz se percibe a través del pigmento fitocromo; la luz roja promueve la germinación y la luz roja lejana la inhibe (Bidwell, 1990).

Otra manera de romper la dormancia es mediante corrosivos que eliminan la dormancia química al destruir los inhibidores de la cubierta seminal. El uso de soluciones ayuda a lixiviar los inhibidores presentes en la cubierta de la semilla. También se utiliza la inmersión en hipoclorito de sodio y en ácido sulfúrico (Camacho, 2011).

García (1983) utilizó siete tratamientos de germinación: ácido sulfúrico al 5 % y al 10 %, agua destilada, agua de la ciudad de Monterrey, N.L., ácido giberélico a 3000 mg L^{-1} y 5000 mg L^{-1} y un testigo; los mejores tratamientos para inducir la germinación fueron 3000 mg L^{-1} de ácido giberélico (80 % de germinación) y 5000 mg L^{-1} (86 % de germinación).

Almanza, (1998) sometió semillas de chile piquín a tratamientos de incubación a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ x 3 días; agua caliente a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ + 10 mg L^{-1} de GA_3 ; 10 mg L^{-1} de GA_3 ; incubación a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ x 3 días + lavado; lavado x 15 minutos; escarificación; lavado + incubación a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ x 7 días; incubación a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ x 7 días; incubación a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ x 7 días + extracto de estiércol de vaca. En todos los casos excepto uno (incubación a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ x 3 días), las semillas fueron sembradas en cámara bioclimática a $25\text{-}27 \text{ }^\circ\text{C}$ con fotoperiodo de 14 horas después del tratamiento. Los resultados mostraron germinaciones de 0 a 71 % con los tratamientos.

Duarte, (2005) evaluó el efecto del GA_3 en la germinación de la semilla de Jaboticaba (*Myciaria couliflora* (Mart.) Berg), trabajó con dos ensayos usando semilla recién secada de frutos maduros, un ensayo con semillas peladas que se dejaron orear por doce horas,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

y un segundo grupo de semillas que se remojaron en agua por 36 horas para quitarles la pulpa; las semillas de ambos grupos se remojaron por 24 horas en las mismas dosis de GA₃ que fueron (0, 200, 1000, 5000 ppm). El segundo ensayo lo realizaron con semillas recién sacadas de frutos maduros, que se remojaron 24 o 48 horas en agua, comparado con semillas peladas y remojadas que se dejaron secar por 24 horas entre papel periódico. En este ensayo se evaluaron tratamientos de GA₃ con dosis de 2500 y 5000 mg L⁻¹ por 24 horas. En el primer ensayo el porcentaje de germinación a los 2 y 4.5 meses, fue mayor para la semilla pelada que para la semilla sin pelar. En el segundo ensayo el GA₃ estimuló la germinación de semillas peladas, pero no las semillas lavadas por 24 horas. La utilidad práctica para esta especie no es todavía clara.

Hernández y col. (2010) evaluaron el porcentaje y tiempo medio de germinación de cuatro poblaciones de chile silvestre del noreste de México con temperaturas constantes (25 °C) y fluctuantes (25/35 °C). También analizaron la variación del peso de semillas y su relación con la capacidad de germinación. Las semillas en temperaturas fluctuantes alcanzaron germinación significativamente mayor que en temperatura constante.

García y col. (2010) evaluaron el efecto del ácido giberélico e hidrotérmia sobre la germinación y vigor de las semillas de chile piquín procedente de Querétaro, México. Utilizaron dos productos comerciales de GA₃ (Cyto-Gib y Bio-gib) y el tratamiento hidrotérmico consistió en introducir la semilla en agua a 45, 50, 55 y 60 °C, por 3, 6 y 9 minutos. El efecto del calor de agua en la semilla de Higuierillas durante 6 y 9 min arrojó el mejor vigor de semilla expresado como plántulas emergidas. Muestras de 50 semillas se embebieron por 24 hr en 5000 mg L⁻¹ de Cyto-Gib y Bio-Gibb, las semillas las pusieron entre papel filtro con agua destilada y se observaron respuestas cada 72 h. Se hicieron 12 tratamientos y los repitieron 4 veces se introdujeron en una cámara de germinación a 28 °C y fotoperiodicidad de 8 hr. La germinación de las semillas se registró a los 21 días. El tratamiento con Cyto-Gibb presentó 82 % de germinación y con Bio-gib 68 %; el vigor también fue mejor con Cyto-Gibb que con Bio-gib.

Zamora y col. (2011) evaluaron cuatro dosis de GA₃ (0, 250, 500, y 1000 mg L⁻¹) y su efecto sobre germinación, emergencia y desarrollo de plántulas en tres líneas silvestres de chiltepín de Sonora (Ures y Baviacora y Moctezuma). Las semillas se remojaron durante 72 horas antes de sembrar en charolas con turba comercial. Las dosis de 500 y

1000 mg L⁻¹ de GA₃ produjeron mayor emergencia de plántulas en las tres procedencias. La germinación fue de 42.7 % con 500 mg L⁻¹ de GA₃ y 37.2 % con 1000 mg L⁻¹.

De la Rosa y col. (2012) trabajaron con semillas de chile simojovel tratadas previamente con NaCl a 0,5 M y posteriormente puestas a germinar en una solución de GA₃ usando diferentes concentraciones. En la primera fase utilizaron tratamientos con y sin exposición previa a NaCl combinados con dosis de 0, 100, 200, 300 y 400 mg L⁻¹ de GA₃. De acuerdo a los resultados de esta primera etapa, se llevó a cabo una segunda etapa para encontrar la concentración óptima de GA₃ utilizando concentraciones de 0, 350, 400, 450 y 500 mg L⁻¹ combinados con tratamiento de exposición al NaCl. El mayor porcentaje de germinación (91.8%) se obtuvo con exposición a NaCl y tratadas con 350 mg L⁻¹ de GA₃.

Saldivar y col. (2010) trabajaron con la aplicación de GA₃ en semillas de *Jaltomata procumbens* (Cav.) J. L. provenientes de frutos silvestres. Evaluaron 6 concentraciones de GA₃ (0; 50; 100; 150; 200; y 250 mg L⁻¹) y dos periodos de remojo (12 y 24 horas). La dosis de 250 mg L⁻¹ produjo la mayor germinación (87 %) y emergencia de planta. El tiempo de remojo no mostró efectos significativos sobre el porcentaje, periodo y velocidad de germinación.

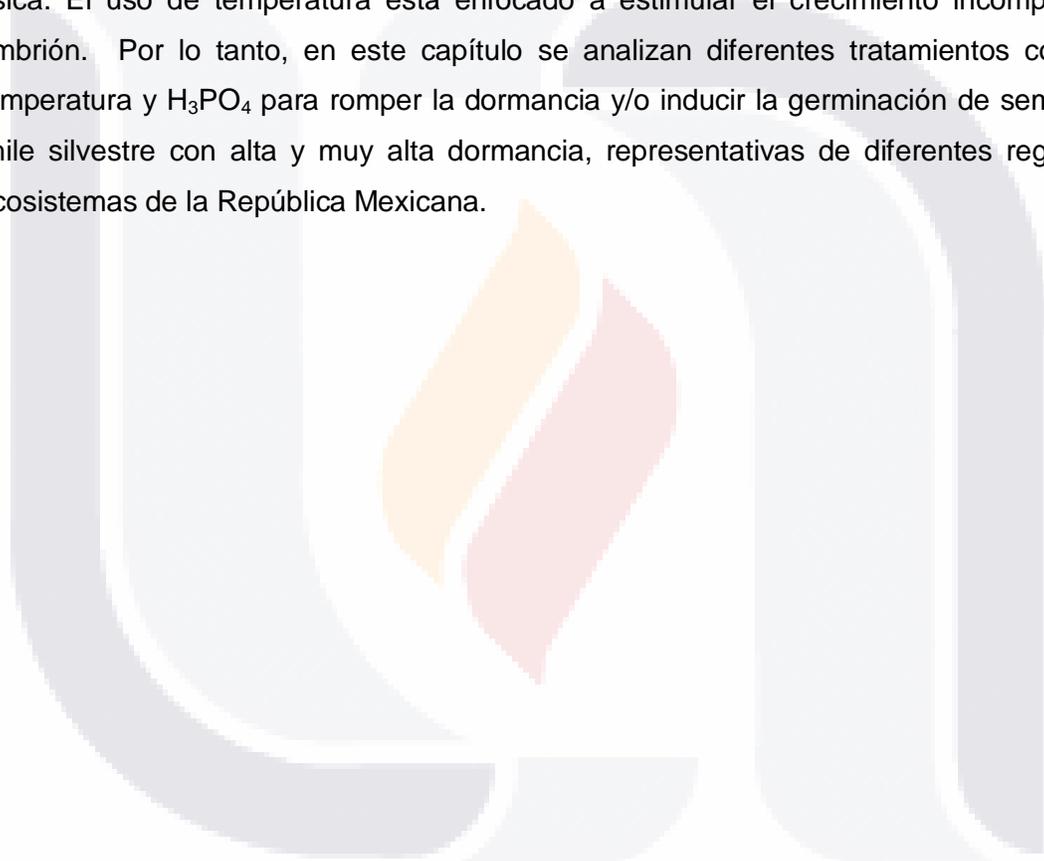
López, (2013) trabajando con 6 accesiones de chile silvestre provenientes de diferentes estados de la república mexicana, evaluó el efecto de un gradiente de altitud y temperatura en la germinación de semillas de chile silvestre, así como los efectos de GA₃, ácido clorhídrico y ácido sulfúrico. El mejor porcentaje de germinación en el gradiente altitudinal fue entre 350 a 550 msnm. Y la combinación de temperatura media con ácido clorhídrico mostro el mejor porcentaje de germinación (Mérida). Temperatura media y GA₃ (La reforma). Temperatura media y ácido clorhídrico (los Ángeles), en general la combinación de temperatura y GA₃ obtuvo la mejor germinación para la accesión de (Mérida).

En general, los trabajos sobre germinación en chiles silvestres de México carecen de un análisis previo de viabilidad en las muestras de semilla y presuponen que estas presentan dormancia sin verificarla.

Cano-Vázquez y col., (2015) evaluaron 16 colectas de chile piquín provenientes de 7 Estados de México. Al analizar la dormancia determinaron que no existen impedimentos

físicos para el paso apropiado de agua al interior de la semilla. La germinación de las 16 colectas fluctuó de 0 a 66 % con promedio de 15 %. El tratamiento con 5000 mg L⁻¹ de GA₃ aumentó la germinación a 59 % en 14 de las 16 colectas, superando los tratamientos con peróxido de hidrógeno y nitrato de potasio.

La dormancia que presentan las semillas de chile silvestre en México parece ser de tipo físico y/o fisiológico. En este trabajo se pretende usar un tratamiento hormonal para romper la dormancia fisiológica, y un tratamiento con ácido para romper la dormancia física. El uso de temperatura está enfocado a estimular el crecimiento incompleto del embrión. Por lo tanto, en este capítulo se analizan diferentes tratamientos con GA₃, temperatura y H₃PO₄ para romper la dormancia y/o inducir la germinación de semillas de chile silvestre con alta y muy alta dormancia, representativas de diferentes regiones y ecosistemas de la República Mexicana.



3.3 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar protocolos de germinación de semillas de chile silvestre que presentan alto porcentaje de dormancia.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Evaluar el porcentaje de germinación de 16 accesiones de chile silvestre con alta y muy alta dormancia bajo cuatro concentraciones de GA₃ (0, 50, 500 y 5000 mg L⁻¹) y seleccionar la mejor concentración para cada accesión
2. Evaluar el porcentaje de germinación de las 16 accesiones bajo cuatro regímenes de temperatura: 25°C, 28°C, 31°C, y 35°C y seleccionar la mejor temperatura para cada accesión
3. Evaluar el porcentaje de germinación de las 16 accesiones bajo cuatro tiempos de exposición al H₃PO₄ al 20%: 0, 5, 10 y 15 minutos, y seleccionar el mejor tiempo para cada accesión.
4. Evaluar el porcentaje de germinación de las 16 accesiones bajo tratamientos combinados selectos y específicos de ácido fosfórico con ácido giberélico para cada accesión

HIPÓTESIS

Las semillas de chile silvestre con alta y muy alta dormancia de diferentes regiones de México y EUA no responden a un mismo protocolo de germinación.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de accesiones y semillas de chile silvestre

Se utilizaron 16 accesiones silvestres seleccionadas por sus altos niveles de viabilidad y dormancia mas un control sin dormancia (Chile Puya de Aguascalientes). Ocho de las 16 accesiones silvestres fueron previamente clasificados (en el Capítulo II de esta tesis) con muy alta dormancia, seis con alta dormancia, y dos con dormancia media. La selección de estas accesiones también consideró la calidad física y viabilidad, así como la suficiente disponibilidad de semilla para todos los experimentos. Las 16 accesiones silvestres provienen de ocho Estados y cuatro regiones de México y sur de Arizona, EEUU. (Cuadro 3.1). El control (chile Puya) es una variedad regional de polinización libre para la producción de chile seco cuya semilla fue producida en 2013 y analizada en 2014 (Capitulo II). Los análisis de dicha semilla mostraron alta viabilidad y dormancia nula.

Cuadro 3.1. Accesiones, entidades y regiones de procedencia, y niveles de dormancia de los chiles silvestres usados en la investigación

No	Accesión	Procedencia	Región	% Dormancia	Nivel de Dormancia
1	1003	Arizona	Noroeste	87	Muy alta
2	1021	Arizona	Noroeste	93	Muy alta
3	1043	Sonora	Noroeste	90	Muy alta
4	1073	Querétaro	Centro-Golfo	83	Alta
5	1078	Querétaro	Centro-Golfo	80	Alta
6	1079	Querétaro	Centro-Golfo	82	Alta
7	1120	Maz.Son	Noroeste	95	Muy alta
8	1127	Sonora	Noroeste	75	Alta
9	1170	Aut. Jal	Pacífico	95	Muy alta
10	1173	Aut. Jal	Pacífico	98	Muy alta
11	1196	Veracruz	Centro-Golfo	91	Muy alta
12	1331	Chiapas	Sur	77	Alta
13	1333	Chiapas	Sur	63	Media
14	1354	BCS	Noroeste	91	Muy alta
15	1411	Nayarit	Pacífico	62	Media
16	1430	Oaxaca	Sur	91	Muy alta
17	Puya (Control)	Aguascalientes	Centro	0	Nula

Experimentos para inducir la germinación

Se realizaron 4 experimentos independientes para inducir y evaluar la germinación de las 16 accesiones silvestres, incluyendo el control. En el primer experimento se evaluó la respuesta a diferentes dosis de GA₃; en el segundo se evaluó la respuesta a diferentes temperaturas; en el tercero se evaluó la respuesta a diferentes tiempos de exposición a una solución del 20 % de H₃PO₄; y finalmente, en el cuarto experimento se evaluó la respuesta a las combinaciones del mejor tiempo de exposición a H₃PO₄ seguido de la mejor concentración de GA₃ para cada accesión. Todos los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Tejidos Vegetales del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes durante los meses de mayo a noviembre de 2014.

En todos los experimentos se desinfectó la semilla y se preparó medio agar-agua estéril con los mismos protocolos basándose en la metodología de Vázquez y col. (2012). La desinfección de semillas se hizo con alcohol al 80% durante 20 segundos, luego con una solución al 20 % de hipoclorito de sodio comercial (Cloralex) durante 10 minutos. Posteriormente se hicieron tres enjuagues con agua destilada estéril y enseguida la siembra en frascos previamente preparados y etiquetados con medio agar-agua.

El medio agar-agua se preparó con 9 g de agar-agar por litro de agua, más 2 g de nitrato de potasio, todo ajustado a un pH de 5.7. Los ingredientes se calentaron y homogeneizaron en un matraz. Una vez preparado, el medio fue vaciado en frascos de vidrio de 125 ml, los cuales recibieron 20 ml de agar-agua cada uno y posteriormente se esterilizaron en autoclave a 125 psi por 15 minutos.

Experimento con GA₃

Una vez desinfectadas, las semillas de cada accesión fueron tratadas con soluciones estériles de 0, 50, 500 y 5000 mg L⁻¹ de GA₃. Todas las soluciones, excepto la solución control (0 mg L⁻¹ GA₃) se hicieron con GA₃ grado reactivo, a partir de una disolución madre de 1.25 g de GA₃ en 5 ml de alcohol más 245 ml de agua destilada estéril. Se contaron 60 semillas de cada accesión, incluyendo el chile Puya; las 60 semillas de cada accesión fueron repartidas en 4 tubos eppendorf de 1.5 ml previamente etiquetados con el número de accesión y 0, 50, 500 o 5000 mg L⁻¹ de GA₃. Se colocaron 15 semillas por tubo, y cada tubo recibió 1 ml de la solución correspondiente de GA₃. Todos los tubos con semillas se incubaron por 24 horas a temperatura ambiente. Antes de sembrarlas en los frascos con agar-agua, se dieron tres enjuagues con agua destilada estéril. La siembra se realizó en una campana de flujo laminar colocando cinco semillas por frasco.

Después de sembrados, todos los frascos fueron incubados por 30 días en la sala de incubación del Laboratorio de Tejidos Vegetales del CCA-UAA a una temperatura de 25 °C ± 1 °C y 16 horas de fotoperiodo. Se realizaron conteos de semillas germinadas a los 5, 10, 15, 20 y 30 días después de la siembra. El criterio para considerar semillas germinadas se basó en la presencia de la radícula al momento del conteo. En este sentido la prueba de germinación en agar-agua es la recomendada para este tipo de análisis. El porcentaje de germinación fue calculado a partir de las semillas germinadas por frasco. Los datos se registraron y digitalmente para su análisis estadístico.

Experimento con temperaturas

Las semillas desinfectadas de cada accesión se sembraron en frascos con agar-agua y se colocaron en una cámara de germinación Imperial III incubator Lab-Line la cual fue programada para mantener una temperatura constante durante 20 días. Las 16 accesiones silvestres más el control se evaluaron bajo cuatro regímenes de temperatura en pruebas independientes usando 3 repeticiones o frascos por accesión. Las cuatro temperaturas analizadas fueron: 25 °C, 28 °C, 31 °C y 35 °C. Todas las pruebas se llevaron a cabo en condiciones de oscuridad y se realizaron conteos diarios de semillas germinadas por frasco (con cinco semillas) durante los 20 días que duró cada prueba.

Cada prueba de temperatura se analizó de manera independiente como un experimento factorial con tres repeticiones y dos factores: accesión y días después de la siembra (dds). Los datos también se analizaron como un experimento factorial con accesiones x temperaturas x dds. El porcentaje de germinación fue calculado a partir del número de semillas germinadas por frasco y se identificó la temperatura con mayor porcentaje de germinación a los 20 dds para cada accesión.

Experimento con H₃PO₄

Una vez desinfectadas las semillas se colocaron en tubos eppendorf de 1.5 ml y se sometieron a cuatro diferentes tiempos de exposición (0, 5, 10, y 15 minutos) a una solución al 20 % de H₃PO₄. La solución fue preparada con 266.6 ml de ácido fosfórico al 75 % la cual se aforó a 1000 ml.

Posteriormente, la semilla tratada recibió tres enjuagues con agua destilada estéril para eliminar los remanes del ácido fosfórico. Luego se procedió a la siembra en frascos con agar-agua bajo una campana de flujo laminar.

Los resultados de esta prueba se analizaron como un experimento factorial con tres repeticiones (frascos con cinco semillas). Como control se usó la variedad Puya. La unidad experimental consistió en un frasco con agar-agua al cual se le colocaron 5 semillas. Todos los frascos fueron incubados por 30 días en el cuarto de germinación del Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CCA de la UAA a una temperatura de 25 °C ± 1 °C y fotoperiodo de 16/8 (luz/obsc) horas. Se realizaron conteos diarios de semillas germinadas por frasco, y un último conteo a los 30 dds.

El porcentaje de germinación se calculó a partir de las semillas germinadas por frasco. Se realizó un ANOVA para el porcentaje de germinación con el fin de explorar la interacción entre factores de estudio Este análisis se realizó bajo un diseño trifactorial completamente al azar considerando las accesiones como factor A y como factor B los tiempos de exposición al H₃PO₄ al 20 %, y como factor C los días después de la siembra.

Experimento con tratamientos combinados de H_3PO_4 y GA_3

En el último experimento se combinó el mejor tiempo de exposición a H_3PO_4 seguido de la mejor concentración de GA_3 . Las semillas desinfectadas de las 16 accesiones más el control se trataron con H_3PO_4 al 20% durante 0 minutos, y durante 5, 10 o 15 minutos, según el mejor tiempo para cada accesión. Luego se dieron tres enjuagues con agua destilada antes de tratarlas con 0 mg L^{-1} de GA_3 , y con 50, 500 o 5000 mg L^{-1} de GA_3 por 24 horas, dependiendo de cada accesión. A las 24 horas y antes de sembrar, se dieron 3 enjuagues con agua destilada estéril. La siembra se realizó en frascos con agar-agua bajo una campana de flujo laminar colocando 5 semillas por frasco. Se realizaron conteos de semillas germinadas por frasco cada 24 horas durante los primeros 20 dds y un último conteo a los 30 dds. El porcentaje de germinación se calculó a partir de las semillas germinadas por frasco. Los datos se analizaron como diseño factorial completamente al azar con tres repeticiones.

Protocolos de Germinación

Los tratamientos de cada experimento que estimularon los mayores porcentajes de germinación en cada accesión fueron concentrados en un cuadro, cuya información fue revisada y presentada como un resumen de protocolos para estimular la germinación de semillas con alta y muy alta dormancia de las 16 accesiones de chile silvestre bajo estudio.

Análisis y pruebas estadísticas

Los cuatro experimentos se analizaron como diseños factoriales con tres repeticiones; los factores de estudio fueron las accesiones (16 silvestres + control), los tratamientos bajo estudio según el experimento, y los días de registro después de la siembra. Cada frasco con 5 semillas fue considerado una unidad experimental.

Se realizó el ANOVA correspondiente a cada experimento y las medias de cada accesión fueron expresadas junto con el error estándar para cada uno de los tratamientos a los 20 y 30 dds.

Para identificar los tratamientos con mayor influencia sobre la germinación se llevó a cabo una prueba estadística de proporciones para calcular la significancia de la diferencia entre el porcentaje de germinación observado en cada accesión y 0 % de germinación. La prueba de hipótesis para la proporción (P) se aplicó para decidir si el porcentaje de germinación de una muestra (P) de 15 semillas (n =15) resulto significativamente mayor de cero. Por lo tanto la hipótesis nula (Ho) y alternativa (Ha) que se plantearon para la proporción de semillas germinadas en una muestra (P) fueron las siguientes:

Ho: $P = 0$ la proporción (porcentaje de semillas germinadas) en la muestra no difieren de cero

Ha: $P > 0$ la proporción (porcentaje de semillas germinadas) en la muestra es mayor a cero

Esta prueba se basa en el estadístico Z cuando $n > 30$. Si $n < 30$ se usa el estadístico t, cuyo valor se calcula con la siguiente ecuación:

$$t = \frac{P-0}{\sqrt{pq/n}}$$

Donde

$$P = \frac{x}{n}$$

x = número de semillas germinadas en la muestra

n = total de semillas en la muestra

$$p = 0$$

$$q = 1$$

Ho fue rechazada cuando el valor probabilístico (p) fue menor del 0.05 ($p < 0.05$).

3.5 RESULTADOS

Respuesta al tratamiento con Ácido Giberélico

Los resultados del experimento con GA₃ a los 20 y 30 dds se presentan en los cuadros 3.3a y 3.3b, respectivamente. El ANOVA que se presenta en el cuadro 3.2 mostro una interacción altamente significativa (P<0.01) entre accesiones, tratamientos y dds. Lo anterior indica que el GA₃ estimulo la germinación solo en algunas accesiones y de manera diferente según la concentración, y por lo tanto el porcentaje de germinación en respuesta a los dds sólo aumentó en las accesiones que germinaron.

Cuadro 3.2 Análisis de varianza para % de germinación de 16 accesiones y un control en respuesta a cuatro dosis de GA₃ en 6 fechas (0, 5, 10, 15, 20 y 30 dds)

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	P
Dosis	3	77894.1	25964.7	165.5250	<0.01 **
Accesión	16	78171.9	4885.7	31.1466	<0.01 **
dds	5	121639.2	24327.8	155.0900	<0.01 **
Dosis*Accesión	48	58494.8	1218.6	7.7688	<0.01 **
Dosis*dds	15	62698.0	4179.9	26.6467	<0.01 **
Accesión*dds	80	57016.3	712.7	4.5435	<0.01 **
Dosis*Accesión*dds	240	78379.7	326.6	2.0820	<0.01 **
Error	816	128000.0	156.9		
Total	1223	662294.1			

El control Puya mostró germinaciones de 47 % a los 20 dds sin GA₃ y hasta 80 % a los 20 y 30 dds con 5000 mg L⁻¹ de GA₃. La germinación de las 16 accesiones silvestres a los 20 dds fluctuó entre 0 y 93 %, y a los 30 dds fluctuó entre 0 y 100 %, en ambos casos con diferentes accesiones. Aun cuando dos de las 16 accesiones no respondieron al tratamiento con GA₃, y otras accesiones respondieron a dosis más bajas de GA₃, en general se observó un incremento en el porcentaje de germinación conforme aumento la dosis de GA₃ y los dds. La prueba de proporciones mostró claramente que a los 20 dds, la mayoría de las accesiones silvestres que recibieron 0 mg L⁻¹ de GA₃ presentaron valores de germinación de 0 % y/o significativamente iguales a 0 %. Sin embargo, a los 20 dds el número de accesiones con porcentaje de germinación significativamente mayor a cero se incrementó a dos accesiones con 50 mg L⁻¹ de GA₃ y a nueve accesiones con 5000 mg L⁻¹ de GA₃. La respuesta al tratamiento con GA₃ fue mucho más claro a los 30 dds, ya que el

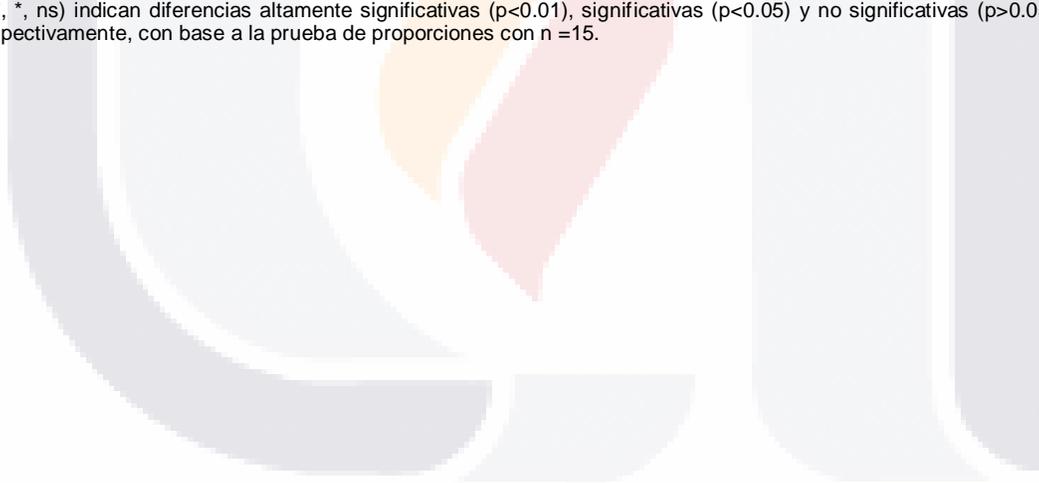
TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

número de accesiones con valores de germinación significativamente superiores a cero aumento de cuatro accesiones con 0 mg L^{-1} de GA_3 , a tres accesiones con 50 mg L^{-1} de GA_3 , a ocho accesiones con 500 mg L^{-1} de GA_3 , y hasta 14 accesiones con 5000 mg L^{-1} de GA_3 . Los resultados con GA_3 mostraron que el tratamiento hormonal puede estimular exitosamente la germinación de semillas con alta y muy alta dormancia. También resulta de gran importancia el tiempo requerido para que la semilla germine, sobre todo considerando que la prueba de germinación estándar para semillas comerciales de Chile establece un máximo de 14 dds para evaluar el porcentaje de germinación. En el caso de semillas de Chile silvestre con alta dormancia y de diferente procedencia o región, el tiempo requerido por la semilla para germinar se incrementa significativamente. Por ello es necesario esperar por lo menos un mes para que todas las semillas germinen. En este sentido, se observó que la tasa de germinación en semillas silvestres es baja y lenta debido a que las semillas van germinando esporádicamente, a diferencia del control domesticado, cuya germinación es mucho más rápida y uniforme. La falta de uniformidad en la respuesta al GA_3 y la gran variación en los tiempos y porcentajes de germinación dentro y entre accesiones probablemente se debe a la amplia variación genética presente en las poblaciones de Chile silvestre distribuidas en la República Mexicana y representadas por las 16 accesiones usadas en este trabajo.

Cuadro 3.3a. Porcentaje de germinación de 16 accesiones de chile silvestre y un control a los 20 dds bajo diferentes concentraciones de ácido giberélico (GA₃).

No	Accesión	Procedencia	Región	Nivel de Dormancia	N	Concentración de GA ₃			
						0 mg L ⁻¹	50 mg L ⁻¹	500 mg L ⁻¹	5000 mg L ⁻¹
						% de germinación media ± EE a los 20 dds			
1	1003	Arizona	Noroeste	Alta	3	0±0	0±0	0±0	0±0
2	1021	Arizona	Noroeste	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	0±0
3	1043	Sonora	Noroeste	Alta	3	7 ± 6.6 ns	20 ± 20 *	13 ± 13.3 ns	33 ± 17.6 **
4	1120	Sonora	Noroeste	Muy alta	3	0±0	0±0	7±6.6 ns	33±17.6 **
5	1127	Sonora	Noroeste	Alta	3	0±0	0±0	0±0	67±6.6 **
6	1354	BCS	Noroeste	Muy alta	3	0±0	0±0	7±6.6 ns	47±26.6**
7	1170	Jalisco	Pacífico	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	47±13.3 **
8	1173	Jalisco	Pacífico	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	20±20 *
9	1411	Nayarit	Pacífico	Media	3	13±6.6 ns	7±6.6 ns	7±6.6 ns	13±6.6 ns
10	1073	Querétaro	Centro	Alta	3	0±0	60±11.5 **	0±0	0±0
11	1078	Querétaro	Centro	Alta	3	0±0	7±6.6 ns	13±6.6 ns	93±6.6 **
12	1079	Querétaro	Centro	Alta	3	0±0	0±0	0±0	67±24 **
13	1196	Veracruz	Golfo	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	0±0
14	1331	Chiapas	Sur	Alta	3	7±6.6 ns	7±6.6 ns	33±13.3 **	67±13.3 **
15	1333	Chiapas	Sur	Media	3	0±0	0±0	0±0	7±6.6 ns
16	1430	Oaxaca	Sur	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	13±11.5 ns
17	Puya (control)	Zacatecas	Centro	Nula	3	47±17.6 **	33±13.3 **	53±26.6 **	80±11.5 **

(**, *, ns) indican diferencias altamente significativas (p<0.01), significativas (p<0.05) y no significativas (p>0.05) de cero, respectivamente, con base a la prueba de proporciones con n =15.



Cuadro 3.3b. Germinación de 16 accesiones de chile silvestre y un control a los 20 dds bajo diferentes concentraciones de ácido giberélico (GA₃).

No	Accesión	Procedencia	Región	Nivel de Dormancia	n	Concentración de GA ₃			
						0 mg L ⁻¹	50 mg L ⁻¹	500 mg L ⁻¹	5000 mg L ⁻¹
						% de germinación media ± EE a los 30 dds			
1	1003	Arizona	Noroeste	Alta	3	0±0	0±0	0±0	33±17.6 **
2	1021	Arizona	Noroeste	Muy alta	3	0±0	0±0	20±20 *	20±11.5 *
3	1043	Sonora	Noroeste	Alta	3	47±29 **	40±30.5 **	40±23 **	53±29 **
4	1120	Sonora	Noroeste	Muy alta	3	7±6.6 ns	13±6.6 ns	40±20 **	53±11.5 **
5	1127	Sonora	Noroeste	Alta	3	0±0	0±0	0±0	100±0 **
6	1354	BCS	Noroeste	Muy alta	3	0±0	0±0	33±6.6 **	93±6.6 **
7	1170	Jalisco	Pacífico	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	87±13.3 **
8	1173	Jalisco	Pacífico	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	60±11.5 **
9	1411	Nayarit	Pacífico	Media	3	47±24 **	13±6.6 ns	7±6.6 ns	53±13.3 **
10	1073	Querétaro	Centro	Alta	3	0±0	73±6.6 **	27±26.6 *	7±6.6 ns
11	1078	Querétaro	Centro	Alta	3	47±6.6 **	27±6.6 **	47±6.6 **	93±6.6 **
12	1079	Querétaro	Centro	Alta	3	7±6.6 ns	7±6.6 ns	33±6.6 **	93±6.6 **
13	1196	Veracruz	Golfo	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	7±6.6 ns
14	1331	Chiapas	Sur	Alta	3	47±29 **	7±6.6 ns	67±24 **	73±13.3 **
15	1333	Chiapas	Sur	Media	3	0±0	0±0	0±0	47±6.6 **
16	1430	Oaxaca	Sur	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	40±13.3 **
17	Puya (control)	Zacatecas	Centro	Nula	3	53±17.6 **	73±6.6 **	73±17.6 **	80±11.5 **

(**, *, ns) indican diferencias altamente significativas (p<0.01), significativas (p<0.05) y no significativas (p>0.05) de cero, respectivamente, con base a la prueba de proporciones con n =15.

Evaluación con diferentes temperaturas

Los resultados del experimento con diferentes temperaturas se muestran en el cuadro 3.4 y 3.5. El ANOVA (Cuadro 3.4) mostro una interacción altamente significativa (P<0.01) entre accesiones, tratamientos y dds. Lo anterior indica que la temperatura estimula de manera diferente la germinación en las 16 accesiones bajo estudio, y por ello la velocidad de germinación varía dependiendo de cada accesión y de la temperatura de incubación.

El porcentaje de germinación a los 20 dds en chile Puya fue de 63 % con 25 °C y de 93 % con 28 °C, 31 °C y 35 °C. Por su parte, la germinación en las accesiones silvestres a los 20 dds fluctuó entre 0 % en 14 accesiones, independientemente de la temperatura, hasta 67 % de germinación con 28 °C, 31 °C y 35 °C en la accesión 1331 procedente de Chiapas. El tratamiento con temperatura a 25 °C sólo estimuló la germinación en dos accesiones, al igual que los tratamientos con 28 °C y 31 °C, mientras que el tratamiento

con 35 °C sólo estimuló la germinación de una accesión. La temperatura solamente estimuló, de manera significativa, la germinación de cuatro accesiones (1120 y 1127 de Sonora, 1078 de Querétaro y 1331 de Chiapas). Tres accesiones más (1411 de Nayarit, 1430 de Oaxaca, y 1333 de Chiapas) mostraron germinaciones incipientes y no-significativamente diferentes de cero (7 % de germinación, equivalente a 1 semilla germinada de 15).

Cuadro 3.4. Análisis de varianza para % de germinación de semillas de 16 accesiones silvestres y un control en respuesta a cuatro temperaturas durante 20 fechas (1-20 dds)

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	F	P
Accesión	16	412267	25766.67	409.377	<0.01 **
Tratamiento	3	15752	5250.56	83.420	<0.01 **
Dds	19	40652	2139.58	33.993	<0.01 **
Accesión*Tratamiento	48	102587	2137.22	33.956	<0.01 **
Accesión*dds	304	202553	666.29	10.586	<0.01 **
Tratamiento *dds	57	8435	147.98	2.351	<0.01 **
Accesión*Tratamiento*dds	912	96460	105.77	1.680	<0.01 **
Error	2720	171200	62.94		
Total	4079	1049905			

Cuadro 3.5. Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 20 dds bajo diferentes temperaturas.

No	Accesión	Procedencia	Región	Nivel de Dormancia	TEMPERATURA			
					25 °C	28 °C	31 °C	35 °C
					% de germinación media ± EE a los 20 dds			
1	1003	Arizona	Noroeste	Alta	0±0	0±0	0±0	0±0
2	1021	Arizona	Noroeste	Muy alta	0±0	0±0	0±0	0±0
3	1043	Sonora	Noroeste	Alta	0±0	0±0	0±0	0±0
4	1120	Sonora	Noroeste	Muy alta	33±6.6 **	7±6.6 ns	20±20 *	0±0
5	1127	Sonora	Noroeste	Alta	20±20 *	0±0	0±0	0±0
6	1354	BCS	Noroeste	Muy alta	0±0	0±0	0±0	0±0
7	1170	Jalisco	Pacifico	Muy alta	0±0	0±0	0±0	0±0
8	1173	Jalisco	Pacifico	Muy alta	0±0	0±0	0±0	0±0
9	1411	Nayarit	Pacifico	Media	0±0	7±6.6 ns	7±6.6 ns	0±0
10	1073	Querétaro	Centro	Alta	0±0	0±0	0±0	0±0
11	1078	Querétaro	Centro	Alta	0±0	40±13.3 **	0±0	7±6.6 ns
12	1079	Querétaro	Centro	Alta	0±0	0±0	0±0	0±0
13	1196	Veracruz	Golfo	Muy alta	0±0	0±0	0±0	0±0
14	1331	Chiapas	Sur	Alta	7±6.6 ns	67±13.3 **	67±13.3 **	67±13.3 **
15	1333	Chiapas	Sur	Media	0±0	7±6.6 ns	7±6.6 ns	0±0
16	1430	Oaxaca	Sur	Muy alta	0±0	7±6.6 ns	0±0	0±0
17	Puya (Control)	Ags	Centro	Alta	73±17.6 **	93±6.6 **	93±6.6 **	93±6.6 **

(**, *, ns) indican diferencias altamente significativas (p<0.01), significativas (p<0.05) y no significativas (p>0.05) de cero, respectivamente, con base a la prueba de proporciones con n =15

Evaluación con ácido fosfórico

Los resultados del experimento con ácido fosfórico al 20 % se presentan en el Cuadro 3.6, 3.7a, y 3.7b. El ANOVA (Cuadro 3.6) mostró una interacción altamente significativa ($P < 0.01$) entre los tres factores de estudio (Accesiones x H_3PO_4 x dds) lo cual indica que el porcentaje de germinación de las accesiones fue estimulado de manera diferente por los tiempos de exposición al H_3PO_4 , por lo cual la velocidad y porcentaje de germinación fue diferente entre las accesiones.

Cuadro 3.6. ANOVA para porcentaje de germinación de 16 accesiones de chile silvestre y un control, tratadas con H_3PO_4 y analizadas durante 22 fechas (0-20 y 30 dds)

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Accesión	16	1258977	78686	332.362	<0.01 **
H_3PO_4	3	74169	24723	104.428	<0.01 **
dds	21	1662290	79157	334.350	<0.01 **
Accesión* H_3PO_4	48	155035	3230	13.643	<0.01 **
Accesión*dds	336	752893	2241	9.465	<0.01 **
H_3PO_4 *dds	63	53954	856	3.617	<0.01 **
Accesión* H_3PO_4 *dds	1008	177223	176	0.743	1.0 ns
Error	2992	708350	237		
Total	4487	4842892			

La semilla de chile Puya mostró 100 % de germinación desde los 20 dds, independientemente del tiempo de exposición al H_3PO_4 (Cuadros 3.7 a y 3.7 b). Por su parte, el porcentaje de germinación en las 16 accesiones silvestres a los 20 dds fluctuó desde 0 % hasta 93 % en los diferentes tratamientos con H_3PO_4 , en tanto que a los 30 dds la germinación fluctuó entre 0 y 100 %. A diferencia de los experimentos con ácido giberélico y temperatura, el porcentaje de germinación de las accesiones sin tratar en el experimento con H_3PO_4 fue alto, ya que ocho de las 16 accesiones silvestres mostraron porcentajes de germinación significativamente mayores de cero, y tres de ellas superaron el 50 % de germinación a los 20 dds sin recibir tratamiento.

Trece de las 16 accesiones tratadas por 5 minutos con H_3PO_4 mostraron porcentajes de germinación superiores a cero, y ocho de ellas rebasaron el 50 % de germinación a los 20 dds. La exposición de semillas por 10 minutos a la solución de H_3PO_4 también mostró porcentajes de germinación significativamente mayores de cero en las mismas 13

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

accesiones, sin embargo, con el tratamiento de 10 minutos se logró superar el 50 % de germinación en 11 accesiones, y dos de ellas alcanzaron el 93 % de germinación con 10 minutos de exposición, aunque cuatro de esas accesiones también mostraron altas germinaciones sin tratamiento con H_3PO_4 a los 20 dds (Cuadro 3.7 a).

Las accesiones con mayor porcentaje de germinación a 20 dds fueron la 1021 de Arizona con muy alta dormancia, que con 15 minutos de exposición al H_3PO_4 presentó 93 % de germinación; y la 1043 de Sonora, con alta dormancia que presentó 93% de germinación independientemente del tiempo de exposición a H_3PO_4 .

Los porcentajes de germinación de chile Puya a los 30 dds fueron del 100 %, independientemente del tratamiento o tiempo de exposición con H_3PO_4 . Por su parte, 14 de las 16 accesiones silvestres sin tratamiento con H_3PO_4 mostraron porcentajes de germinación significativamente mayores de cero a los 30 dds y los porcentajes de germinación también fueron superiores que a los 20 dds. Dos de las accesiones alcanzaron el 100 % de germinación sin H_3PO_4 y una el 93 %.

El tratamiento con 5 y 10 minutos de H_3PO_4 produjo 13 accesiones que germinaron y dos de ellas alcanzaron el 100 % de germinación, y otras dos el 93 %. El tratamiento con 15 minutos de exposición a H_3PO_4 estimuló significativamente la germinación en 14 de las 16 accesiones silvestres, y cuatro de ellas alcanzaron el 100 % de germinación a los 30 dds.

Los porcentajes de germinación más bajos se observaron en las accesiones 1170 y 1173 de Jalisco, ambas clasificadas con muy alta dormancia. La respuesta de estas accesiones al tratamiento con H_3PO_4 fue nula o incipiente y no significativa. Las accesiones de Chiapas y Nayarit, con dormancia media, alcanzaron el 40 % de germinación con 5 y 10 min de exposición. Similarmente, la accesión 1333 de Chiapas con dormancia media alcanzó más del 70 % de germinación en 30 dds con 5 y 10 minutos de exposición al H_3PO_4 .

Cuadro 3.7a. Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 20 dds bajo diferentes tiempos de exposición al H₃PO₄ al 20 por ciento.

No	Accesión	Procedencia	Región	Nivel de Dormancia	N	Tiempo de exposición a H ₃ PO ₄			
						0 min	5 min	10 min	15 min
						% de germinación media ± EE a los 20 dds			
1	1003	Arizona	Noroeste	Alta	3	27±26.6 *	60±20 **	72±17.4 **	67±6.6 **
2	1021	Arizona	Noroeste	Muy alta	3	73±17.6 **	73±13.3 **	73±17.6 **	93±6.6 **
3	1043	Sonora	Noroeste	Alta	3	93±6.6 **	93±6.6 **	93±6.6 **	93±6.6 **
4	1120	Sonora	Noroeste	Muy alta	3	27±6.6 *	53±17.6 **	67±17.6 **	53±24 **
5	1127	Sonora	Noroeste	Alta	3	40±0 **	20±11.5 *	87±6.6 **	60±11.5 **
6	1354	BCS	Noroeste	Muy alta	3	13±6.6 ns	47±17.6 **	47±13.3 **	20±20 *
7	1170	Jalisco	Pacifico	Muy alta	3	0±0	0±0	0±0	0±0
8	1173	Jalisco	Pacifico	Muy alta	3	13±6.6 ns	0±0	0±0	0±0
9	1411	Nayarit	Pacifico	Media	3	27±17.6 *	40±20 **	40±11.5 **	47±17.6**
10	1073	Querétaro	Centro	Alta	3	13±6.6 ns	53±6.6 **	70±10 **	53±13.3 **
11	1078	Querétaro	Centro	Alta	3	60±30.5 **	93±6.6 **	93±6.6 **	93±6.6 **
12	1079	Querétaro	Centro	Alta	3	20±20 *	47±17.6 **	87±6.6 **	80±11,5 **
13	1196	Veracruz	Golfo	Muy alta	3	0±0	7±6.6 ns	7±6.6 ns	27±13.3 *
14	1331	Chiapas	Sur	Alta	3	93±6.6 **	60±11.5 **	87±13.3 **	87±6.6 **
15	1333	Chiapas	Sur	Media	3	20±0 *	60±11.5 **	60±11.5 **	33±6.6 **
16	1430	Oaxaca	Sur	Muy alta	3	40±20 **	40±23 **	53±6.6 **	60±11.5 **
17	Puya (control)	Zacatecas	Centro	Nula	3	100±0 **	93±6.6 **	100±0 **	100±0 **

(**, *, ns) indican diferencias altamente significativas (p<0.01), significativas (p<0.05) y no significativas (p>0.05) de cero, respectivamente, con base a la prueba de proporciones con n =15.

En este experimento se pudo observar que las regiones con mayor porcentaje de germinación fueron el Noroeste y Centro-Golfo. Además se observó que la exposición durante 5, 10 o 15 minutos estimula y/o mejora significativamente la germinación en la mayoría de las accesiones. A diferencia de las accesiones silvestres, la semilla de chile Puya alcanzó el 100 % de germinación desde los 11 y 13 dds, independientemente del tratamiento con H₃PO₄. De los tres factores evaluados de manera individual para estimular la germinación de semillas de chile silvestre con alta y muy alta dormancia (GA₃, Temperatura y H₃PO₄), podemos señalar que el tratamiento con H₃PO₄ por 5 a 15 minutos indujo y mejoró el porcentaje de germinación en la mayoría de las procedencias, aunque algunas de ellas no respondieron a este tipo de estímulo.

Cuadro 3.7b. Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 30 dds bajo diferentes tiempos de exposición al H₃PO₄ al 20 por ciento.

No	Accesión	Procedencia	Región	Nivel de Dormancia	n	Tiempo de exposición a H ₃ PO ₄			
						0 min	5 min	10 min	15 min
						% de germinación media ± EE a los 30 dds			
1	1003	Arizona	Noroeste	Alta	3	33±24 **	80±20 **	78±11.6 **	80±0 **
2	1021	Arizona	Noroeste	Muy alta	3	93±6.6 **	93±6.6 **	80±20 **	100±0 **
3	1043	Sonora	Noroeste	Alta	3	100±0 **	93±6.6 **	93±6.6 **	100±0 **
4	1120	Sonora	Noroeste	Muy alta	3	40±11.5 **	67±24 **	73±13.3 **	53±24 **
5	1127	Sonora	Noroeste	Alta	3	47±6.6 **	27±6.6 **	87±6.6 **	73±6.6 **
6	1354	BCS	Noroeste	Muy alta	3	20±11.5 *	67±24 **	67±17 **	33±24 **
7	1170	Jalisco	Pacifico	Muy alta	3	0±0	7±6.6 ns	0±0	7±6.6 ns
8	1173	Jalisco	Pacifico	Muy alta	3	27±6.6 *	7±6.6 ns	0±0	0±0
9	1411	Nayarit	Pacifico	Media	3	67±13.3 **	47±24 **	47±13.3 **	67±13.3 **
10	1073	Querétaro	Centro	Alta	3	47±24 **	87±6.6 **	93±6.6 **	87±13.3 **
11	1078	Querétaro	Centro	Alta	3	100±0 **	93±6.6 **	93±6.6 **	100±0 **
12	1079	Querétaro	Centro	Alta	3	65±12.5 **	93±6.6 **	100±0 **	100±0 **
13	1196	Veracruz	Golfo	Muy alta	3	0±0	7±6.6 ns	33±6.6 **	40±20 **
14	1331	Chiapas	Sur	Alta	3	100±0 **	73±17.6 **	100±0 **	80±0 **
15	1333	Chiapas	Sur	Media	3	27±6.6 *	73±13.3 **	80±11.5 **	40±11.5 **
16	1430	Oaxaca	Sur	Muy alta	3	47±26.6 **	73±17.6 **	60±11.5 **	67±17.6 **
17	Puya (control)	Zacatecas	Centro	Nula	3	100±0 **	100±0 **	100±0 **	100±0 **

(**, *, ns) indican diferencias altamente significativas (p<0.01), significativas (p<0.05) y no significativas (p>0.05) de cero, respectivamente, con base a la prueba de proporciones con n =15.

Evaluación de tratamientos combinados de H₃PO₄ + GA₃

Los resultados de este experimento se presentan en los Cuadros 3.8, 3.9a y 3.9b. El ANOVA (Cuadro 3.8) mostró una interacción altamente significativa (P<0.01) entre accesiones, tratamientos y dds. Lo anterior indica que no todos los tratamientos combinados a base de H₃PO₄ + GA₃ estimularon la germinación de las accesiones, y cuando estos estimularon la germinación, ésta no fue igual en todas las accesiones por lo cual la velocidad y el porcentaje de germinación fue diferente entre las 16 accesiones.

La germinación en chile Puya sin tratamiento fue de 87 % a los 20 dds y de 100 % a los 30 dds (Cuadro 3.9). Sin embargo, todas las accesiones silvestres sin tratar mostraron incipiente o nula germinación, excepto tres accesiones cuya germinación fue de 20 y 40 %, tanto a los 20 como a los 30 dds.

Las semillas tratadas de chile Puya mostraron 93 y 87 % de germinación a los 20 y 30 dds, respectivamente. Sin embargo 10 de las 16 accesiones de chile silvestre tratadas con $H_3PO_4+GA_3$ incrementaron de manera significativa su % de germinación, el cual a los 20 dds rebasó el 50 % en siete accesiones y el 80% en tres accesiones (Cuadro 3.9a). El efecto del tratamiento combinado fue ligeramente mayor a los 30 dds, observándose 11 de las 16 accesiones silvestres con germinación significativamente mayor de cero, de las cuales y al igual que a los 20 dds, siete rebasaron el 50 % de germinación y tres el 80 % (Cuadro 3.9b).



Cuadro 3.8. Análisis de varianza para porcentajes de germinación de semillas de 16 accesiones de chile silvestre más un control en respuesta a tratamientos combinados de H₃PO₄+ GA₃ durante 22 fechas (0-20 y 30 dds).

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	F	P
Accesión	16	386297	24143.5	143.177	<0.01 **
Tratamiento	1	96559	96559.0	572.617	<0.01 **
Dds	21	233433	11115.9	65.920	<0.01 **
Accesión* Tratamiento	16	121914	7619.6	45.186	<0.01 **
Accesión*dds	336	227343	676.6	4.012	<0.01 **
Tratamiento*dds	21	65802	3133.4	18.582	<0.01 **
Accesión*Tratamiento*dds	336	88792	264.3	1.567	<0.01 **
Error	1496	252267	168.6		
Total	2243	1472406			

Cuadro 3.9a. Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 20 dds con tratamientos combinados al H₃PO₄ al 20 % y GA₃.

No	Accesión	Procedencia	Región	Nivel de Dormancia	N	Combinación de H ₃ PO ₄ + GA ₃		% de germinación media ± EE a los 20 dds	
						H ₃ PO ₄	GA ₃	Trat. combinado	Trat. Control (sin H ₃ PO ₄ ni GA ₃)
1	1003	Arizona	Noroeste	Alta	3	5	5000	0±0	0±0
2	1021	Arizona	Noroeste	Muy alta	3	15	5000	0±0	0±0
3	1043	Sonora	Noroeste	Alta	3	15	5000	13±6.6 ns	20±20 *
4	1120	Sonora	Noroeste	Muy alta	3	10	5000	67±17.6 **	7±6.6 ns
5	1127	Sonora	Noroeste	Alta	3	10	5000	53±6.6 **	7±6.6 ns
6	1354	BCS	Noroeste	Muy alta	3	5	5000	53±17.6 **	0±0
7	1170	Jalisco	Pacífico	Muy alta	3	5	5000	33±6.6 **	0±0
8	1173	Jalisco	Pacífico	Muy alta	3	10	5000	27±17.6 *	0±0
9	1411	Nayarit	Pacífico	Media	3	15	5000	0±0	13±13.3 ns
10	1073	Querétaro	Centro	Alta	3	10	50	7±6.6 ns	0±0
11	1078	Querétaro	Centro	Alta	3	15	500	80±11.5 **	0±0
12	1079	Querétaro	Centro	Alta	3	10	5000	60±11.5 **	20±20 *
13	1196	Veracruz	Golfo	Muy alta	3	15	5000	0±0	0±0
14	1331	Chiapas	Sur	Alta	3	10	5000	93±6.6 **	0±0
15	1333	Chiapas	Sur	Media	3	10	5000	40±0 **	7±6.6 ns
16	1430	Oaxaca	Sur	Muy alta	3	5	5000	67±13.3 **	40±20 **
17	Puya (control)	Zacatecas	Centro	Nula	3	5	5000	93±6.6 **	87±13.33 **

(**, *, ns) indican diferencias altamente significativas (p<0.01), significativas (p<0.05) y no significativas (p>0.05) de cero, respectivamente, con base a la prueba de proporciones con n =15.

Cuadro 3.9b. Germinación de 16 accesiones de chile silvestre a los 30 dds con tratamientos combinados al H₃PO₄ al 20% y GA₃.

No	Accesión	Procedencia	Región	Nivel de Dormancia	n	Combinación de H ₃ PO ₄ + GA ₃		% de germinación media ± EE a los 30 dds	
						H ₃ PO ₄	GA ₃	Trat combinado	Trat control (sin H ₃ PO ₄ ni GA ₃)
2	1021	Arizona	Noroeste	Muy alta	3	15	5000	0±0	0±0
3	1043	Sonora	Noroeste	Alta	3	15	5000	13±6.6 ns	33±33.3 **
4	1120	Sonora	Noroeste	Muy alta	3	10	5000	80±11.5 **	7±6.6 ns
5	1127	Sonora	Noroeste	Alta	3	10	5000	57±6.6 **	7±6.6 ns
6	1354	BCS	Noroeste	Muy alta	3	5	5000	67± 6.6**	0±0
7	1170	Jalisco	Pacífico	Muy alta	3	5	5000	40±11.5 **	0±0
8	1173	Jalisco	Pacífico	Muy alta	3	10	5000	33±24 **	0±0
9	1411	Nayarit	Pacífico	Media	3	15	5000	40± 23.1**	13±6.6 ns
10	1073	Querétaro	Centro	Alta	3	10	50	13±6.6 ns	0±0
11	1078	Querétaro	Centro	Alta	3	15	500	80±11.5 **	20±20 *
12	1079	Querétaro	Centro	Alta	3	10	5000	60±11.5 **	40±23 **
13	1196	Veracruz	Golfo	Muy alta	3	15	5000	0±0	0±0
14	1331	Chiapas	Sur	Alta	3	10	5000	93±6.6 **	7±6.6 ns
15	1333	Chiapas	Sur	Media	3	10	5000	47±6.6 **	13±6.6 ns
16	1430	Oaxaca	Sur	Muy alta	3	5	5000	67±13.3 **	40±20 **
17	Puya (control)	Zacatecas	Centro	Nula	3	5	5000	87±13.3 **	100±0 **

(**, *, ns) indican diferencias altamente significativas (p<0.01), significativas (p<0.05) y no significativas (p>0.05) de cero, respectivamente, con base a la prueba de proporciones con n =15.

Protocolos de germinación

La respuesta de las 16 accesiones más el control a los mejores tratamientos con GA₃, Temperatura, H₃PO₄ y H₃PO₄+ GA₃ se presentan de manera resumida en el Cuadro 3.10. La información corresponde a resultados obtenidos a los 30 dds, excepto para temperatura, cuyos resultados corresponden a 20 dds. El Cuadro 3.10 también incluye la significancia de las diferencias entre el porcentaje de germinación observado en cada accesión y 0% de germinación. Por lo tanto, la información que se presenta en el Cuadro 3.10 concentra las mejores respuestas y los mejores tratamientos para estimular la germinación de semillas de chile silvestre con alta y muy alta dormancia, procedentes de diferentes regiones ecogeográficas de México y sur de Arizona, EEUU.

Los mejores tratamientos para estimular la germinación de diferentes accesiones se describen en la sección de Materiales y Métodos, junto con los procedimientos específicos para aplicar cada tratamiento a semillas de chile con alta y muy alta dormancia.

De esta manera y con base a los resultados de este trabajo, podemos concluir que no hay un tratamiento o protocolo único que estimule eficientemente la germinación de semillas de diferentes accesiones de chile silvestre, con alta y muy alta dormancia.



Cuadro 3.10. Porcentaje de Germinación de 16 accesiones de chile silvestre más un control en respuesta a diferentes tratamientos con GA₃, Temperatura, H₃PO₄ y H₃PO₄ +GA₃.

No	Accesión	Procedencia	Región	Nivel de Dormancia	n	GA ₃		Temperatura		H ₃ PO ₄		H ₃ PO ₄ +GA ₃	
						Mejor dosis de GA ₃	% Germ	Mejor Temp °C	% Germ	Mejor tiempo de exposición a H ₃ PO ₄ (min)	% Germ	Mejor combinación H ₃ PO ₄ +GA ₃ (min. + mg L ⁻¹)	% Germ
1	1003	Arizona	Noroeste	Alta	3	5000	33±17.6 **	Sin efecto	0±0	5, 15	80±20 **	5 + 5000	7±6.6 ns
2	1021	Arizona	Noroeste	Muy alta	3	5000	20±11.5 *	Sin efecto	0±0	15	100±0 **	15 + 5000	0±0
3	1043	Sonora	Noroeste	Alta	3	5000	53±29 **	Sin efecto	0±0	0, 15	100±0 **	15 + 5000	13±6.6 ns
4	1120	Sonora	Noroeste	Muy alta	3	5000	53±11.5 **	25	33±6.6 **	10	73±13.3 **	10 + 5000	80±11.5 **
5	1127	Sonora	Noroeste	Alta	3	5000	100±0 **	25	20±20 *	10	87±6.6 **	10 + 5000	57±6.6 **
6	1354	BCS	Noroeste	Muy alta	3	5000	93±6.6 **	Sin efecto	0±0	5, 10	67±24, 17 **	5 + 5000	67±6.6 **
7	1170	Jalisco	Pacifico	Muy alta	3	5000	87±13.3 **	Sin efecto	0±0	5, 15	7±6.6 ns	5 + 5000	40±11.5 **
8	1173	Jalisco	Pacifico	Muy alta	3	5000	60±11.5 **	Sin efecto	0±0	0	27±6.6 *	10 + 5000	33±24 **
9	1411	Nayarit	Pacifico	Media	3	5000	53±13.3 **	28 y 31	7±6.6 ns	0, 15	67±13.3 **	15 + 5000	40±23.1 **
10	1073	Querétaro	Centro	Alta	3	50	73±6.6 **	Sin efecto	0±0	10	93±6.6 **	10 + 50	13±6.6 ns
11	1078	Querétaro	Centro	Alta	3	5000	93±6.6 **	28	40±13.3 **	0, 15	100±0 **	15 + 500	80±11.5 **
12	1079	Querétaro	Centro	Alta	3	5000	93±6.6 **	Sin efecto	0±0	10, 15	100±0 **	10 + 5000	60±11.5 **
13	1196	Veracruz	Golfo	Muy alta	3	5000	7±6.6 ns	Sin efecto	0±0	15	40±20 **	15 + 5000	0±0
14	1331	Chiapas	Sur	Alta	3	5000	73±13.3 **	28, 31, y 35	67±13.3 **	0, 10	100±0 **	10 + 5000	93±6.6 **
15	1333	Chiapas	Sur	Media	3	5000	47±6.6 **	28 y 31	7±6.6 ns	10	80±11.5 **	10 + 5000	47±6.6 **
16	1430	Oaxaca	Sur	Muy alta	3	5000	40±13.3 **	28	7±6.6 ns	5	73±17.6 **	5 + 5000	67±13.3 **
17	Puya (control)	Zacatecas	Centro	Nula	3	5000	80±11.5 **	28, 31, y 35	93±6.6 **	0, 5, 10, 15	100±0 **	5 + 5000	87±13.3 **

(**, *, ns) indican diferencias altamente significativas (p<0.01), significativas (p<0.05) y no significativas (p>0.05) de cero, respectivamente, con base a la prueba de proporciones con n =15

3.6 DISCUSIÓN

Al observar las respuestas independiente de cada accesión a los diferentes tratamientos con Ácido Giberélico, Temperatura y Ácido Fosfórico se determinó que los mejores tratamientos para inducir la germinación en semillas de chile silvestre con alta y muy alta dormancia son los tratamientos con GA_3 a una concentración de 5000 o 50 $mg L^{-1}$, así como el tratamiento de H_3PO_4 al 20 % con un tiempo de exposición por 10 o 15 minutos. Asimismo, la combinación de un tratamiento por 10 a 15 minutos con H_3PO_4 al 20 % seguido del tratamiento por 24 horas con 5000 o 50 $mg L^{-1}$ de GA_3 también resulto eficiente para inducir la germinación de varias accesiones con alta y muy alta dormancia.

La respuesta del chile Puya a los diferentes tratamientos hormonales y físicos evaluados en este trabajo mostro claramente que las formas y variedades domesticadas de chile no requieren ser tratadas para que germinen. Asimismo, se observó que a diferencia del chile Puya, el cual alcanzo su máximo porcentaje de germinación ente 10 y 15 dds, las accesiones silvestres una vez tratadas con ácido fosfórico o ácido giberélico, son más lentas en germinar que los chiles domesticados, y por ello los tiempos de incubación para evaluar el porcentaje de germinación final deben ser por lo menos de 30 días. En este sentido, la prueba estándar para determinar el porcentaje de germinación en semillas comerciales de *Capsicum annum* solo dura 14 días. Sin embargo, muchas semillas de chiles silvestres pueden germinar muchos días después de los 14 días que establece la prueba estándar. Por ejemplo, en una trabajo reciente se observó germinación, emergencia y establecimiento de chiles silvestres de diferentes regiones del país y sur de Arizona aun después de 80 dds. Estas observaciones se realizaron en un invernadero de la UAA con semillas de chiles silvestres previamente tratadas por 24 horas con 2000 $mg L^{-1}$ de GA_3 y sembrados en charolas con sustrato para semilleros (datos no publicados).

Respuesta al Acido Giberélico

La respuesta al tratamiento con ácido giberélico se debe a que algunas semillas son deficientes en giberelinas exógenas y por ello requieren la presencia de esta fitohormona durante el proceso de imbibición (Nambara y col., 2010). Los resultados encontrados en esta investigación con diferentes concentraciones de GA_3 en accesiones de chile silvestre de diferentes regiones del país, fueron muy variables, y en algunos casos resultaron contrastantes. En este sentido, algunos autores ya han reportado una gran variedad de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

respuestas a las diferentes concentraciones de GA₃, las cuales incluyen desde 250 hasta 5000 mg L⁻¹. Por ejemplo, García (1983) utilizó 3000 y 5000 mg L⁻¹ de GA₃ para germinar semillas de chiles silvestres y encontró germinaciones de 80 y 86 %, respectivamente. Por su parte, Ramírez y col. (2003) obtuvieron 66 % de germinación en chiles silvestres con 5000 mg L⁻¹ de GA₃. Por otra parte, Hernández y col. (2006) lograron germinaciones de 46 y 43 % utilizando 250 y 500 mg L⁻¹ de GA₃, respectivamente. Trabajando con accesiones de Querétaro y México, García y col. (2010) evaluaron dos productos comerciales que contienen GA₃ (Cyto-gib y Bio-gib) y encontraron que con Cyto-gib la germinación fue de 82 % y con Bio-gib de 68 %.

En el presente trabajo se evaluaron tres accesiones de Querétaro y dos de ellas alcanzaron 93 % de germinación a los 30 dds con 5000 mg L⁻¹ de GA₃, pero la otra accesión no germinó con esta concentración, ni con 0 mg L⁻¹ de GA₃, pero si alcanzó el 73 % de germinación con 50 mg L⁻¹ de GA₃. Estos resultados coinciden con los reportados por Zamora y col. (2011) quienes lograron el mejor porcentaje de germinación (42 %) en accesiones de chile silvestre usando 500 mg L⁻¹ de GA₃, sin embargo estos mismos autores reportaron que con 1000 mg L⁻¹ de GA₃ la germinación bajo a 37 %.

En el presente trabajo la mayor germinación de semilla dormante se obtuvo con 5000 mg L⁻¹ de GA₃, lo cual coincide con la mayoría de trabajos reportados en la literatura sobre el tratamiento de semillas de chile silvestre con GA₃ para inducir la germinación.

Sin embargo, es claro que no todas las procedencias de chile silvestre responden igual al tratamiento con ácido giberélico. También es importante señalar que no todos los chiles silvestres presentes en México y sur de Arizona, EEUU presentan dormancia en sus semillas. De hecho, y como se demuestra en el Capítulo II de esta tesis, los niveles de dormancia en semillas de chile silvestre son muy variables entre y dentro de las procedencias, y no existe un patrón claro de distribución geográfica de la dormancia, ni asociación con la región de procedencia. A pesar de la variación en dormancia, muy pocos estudios han verificado y reportado los niveles de dormancia en semillas de chile silvestre sometidas a prueba para inducir su germinación. Es posible que la variación en niveles de dormancia de las procedencias podría ayudar a explicar la variabilidad e

inconsistencia de las respuestas al tratamiento con ácido giberélico (y a otros factores como temperatura y ácido fosfórico) reportados en la literatura y en este trabajo de tesis.

Respuesta a la temperatura

En este trabajo, el tratamiento de semillas dormantes de chile silvestre con temperaturas mostró bajos porcentajes de germinación. La falta de respuesta a la temperatura probablemente se debió a que las temperaturas se mantuvieron sin cambio durante todo el experimento. En este sentido, Hernández y col. (2010) observaron más porcentaje de germinación con temperaturas fluctuantes (25/35 °C) que con una temperatura constante de 25°C.

Respuesta al H₃PO₄

Al igual que con el ácido giberélico, el tratamiento con ácido fosfórico funcionó muy bien en algunas accesiones, pero no en otras, lo cual coincide con la literatura sobre el tema. Por ejemplo, López (2013) logró 34 % de germinación con exposición al H₃PO₄ y 85 % de germinación con exposición al GA₃. Por su parte, Cano y col. (2015) sólo obtuvieron 70 % de germinación con 5000 mg L⁻¹ de GA₃, pero el tratamiento con H₃PO₄ al 20 % elevó la germinación al 100 %. La respuesta observada por estos autores es hasta cierto punto contradictoria. El efecto del H₃PO₄ sobre la germinación probablemente resulta del reblandecimiento de la testa o cubierta de la semilla que entra en contacto con el ácido. El reblandecimiento de la testa agiliza el proceso de imbibición y reduce el tiempo de activación del embrión y con ello se espera mejorar el porcentaje de germinación de la semilla. Sin embargo, no es claro si el ácido fosfórico estimula o daña el embrión, de ahí la importancia de regular tanto la concentración como el tiempo de exposición a este ácido. Igualmente importante resulta la regulación del tiempo de exposición y sobre todo, la concentración del GA₃, ya que las concentraciones elevadas de GA₃ también pueden afectar o dañar el embrión y de esta forma reducir el porcentaje de germinación.

Respuesta al tratamiento combinado de $H_3PO_4+GA_3$

El tratamiento combinado de H_3PO_4 al 20 % con GA_3 presentó altos porcentajes de germinación en la mayoría de las accesiones, alcanzando el 93 y 100 % en algunas de ellas. Los resultados de la presente investigación coinciden con otros trabajos realizados con tratamientos combinados. Por ejemplo, De la Rosa y col. (2012) encontraron que la exposición de la semilla a NaCl previo al tratamiento con 350 mg L^{-1} de GA_3 , produjo 92 % de germinación.

Koornneff y col. (2002) señalan que la dormancia de las semillas y la germinación son reguladas por claves de desarrollo y factores ambientales. Lo anterior explica en cierta forma la existencia de diferentes tipos de dormancia natural en semillas silvestres (Baskin y Baskin (1998). Sin embargo, en ausencia de dormancia, el control de la germinación es con frecuencia una consecuencia de la interacción entre el potencial de crecimiento embrionario y la resistencia a sus tejidos circundantes. Varias hormonas vegetales están involucradas en el mecanismo y control de la dormancia (Kucera y col., 2005), entre ellas el ABA y GA. En este sentido las semillas de chile silvestre de forma natural necesitan de un factor que detone la germinación, el cual lo proporcionan las aves, que al consumir los frutos rojos pasan las semillas por su tracto digestivo y rompen la dormancia (Hernández y col. 2010).

En el presente trabajo se retomaron las experiencias previas y los resultados experimentales generados en los primeros experimentos, además se consultó la literatura sobre causas y mecanismos de dormancia en semillas; con ello se estableció la premisa de reblandecer primero la testa con H_3PO_4 al 20 % por 5 a 15 minutos, y posteriormente hacer un tratamiento con GA_3 durante 24 horas para estimular y activar las células del embrión y de esta forma incrementar el porcentaje de germinación y reducir el tiempo de emisión de la radícula e hipocotíleo. Se asume que el tratamiento combinado activaría el embrión, con lo cual se potencializaría el porcentaje de germinación. Sin embargo, los resultados mostraron que no todas las accesiones respondieron al tratamiento combinado de $H_3PO_4+ GA_3$.

Por lo tanto, y con base a los resultados de los cuatro experimentos, se puede concluir que no existe un tratamiento único para inducir la germinación de semillas con alta y muy

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

alta dormancia de chile silvestre de diferente procedencia. Sin embargo, los resultados sugieren que la exposición por 10 a 15 minutos en H_3PO_4 al 20 por ciento, seguido de 5000 mg L^{-1} de GA_3 puede inducir eficientemente el porcentaje de germinación en la mayoría de las accesiones. Esta recomendación se debe a que la mayoría de las accesiones presentó altos porcentajes de germinación con el tratamiento combinado.

En resumen, el presente trabajo buscó romper la dormancia de semillas silvestres de manera artificial utilizando GA_3 , H_3PO_4 y temperaturas. Para sustituir la falta de giberelinas naturales en la semilla se usó ácido giberélico, y los ácidos gástricos de las aves fueron reemplazados por un agente corrosivo, el H_3PO_4 . Además, los cambios de temperatura que se dan de forma natural como factores medioambientales y que también influyen en el proceso de germinación fueron sustituidos por temperaturas artificiales manipuladas y reguladas en el laboratorio. Aun cuando las respuestas de las 16 accesiones analizadas fueron muy variables e inconsistentes, se puede concluir que se cumplió satisfactoriamente con el objetivo de la investigación, el cual consistió en romper o superar la dormancia de las 16 accesiones bajo estudio, y usar las experiencias e información generada como base para el desarrollo de protocolos específicos para germinar diferentes procedencias de chile silvestre de México y sur de Arizona, EEUU con presencia de dormancia en sus semillas.

3.7 CONCLUSIONES

Con base a los resultados del estudio, se generan las siguientes conclusiones:

1. Se generaron protocolos específicos para cada accesión de semillas de chile silvestres.
2. Los porcentajes de germinación alcanzados en las 16 accesiones independientemente de los tratamientos fluctuó entre 7 y 100 % de germinación.
3. De las 16 accesiones silvestres se logró elevar el porcentaje de germinación al 100 % de 6 accesiones lo cual representa un 37.5 % del total de las accesiones. Dos accesiones germinaron al 90 % lo que representa el 12.5 %. Además 3 de las accesiones germinaron 80 % lo que representa el 18.75 %. Así mismo 2 de las accesiones germinaron 70 % lo que representa 12.5 %. También 2 accesiones más alcanzaron 60 % de germinación lo que representa el 12.5 % y una accesión germinó en un 40 % lo que representa 6.25 %
4. Las regiones con mayor porcentaje de germinación fueron la Noroeste, centro-golfo, y sur de México.
5. El experimento que generó mayor porcentajes de germinación de las accesiones silvestres fue el de diferentes tiempos de exposición al H_3PO_4 al 20 % seguido del experimento con diferentes dosis de GA_3 , posteriormente le siguió el experimento combinado de H_3PO_4 al 20 % y GA_3 y por último el de diferentes regímenes de temperatura.
6. Se demostró que no todas las accesiones responden a un mismo protocolo de germinación.

3.8 BIBLIOGRAFÍA

- Almanza, J. Estudios ecofisiológicos, métodos de propagación y productividad del chile piquín (*Capsicum annum* L. var. *Aviculare* Dierb.) D. y E. Maestro en Ciencias. Nuevo León. Universidad Autónoma de Nuevo León. 1998. 74pp.
- Araya, E., Gómez, L., Hidalgo, N., Valverde, R. 2000. Efecto de la Luz y del ácido Giberélico sobre la germinación in vitro de (*Alnus Acuminata*). *Agronomía Costarricense*. 24:75-80.
- Arteca, R. 1996. Plant growth substances. Principles and Applications. Chapman and Hall. New York, USA. 331p.
- Baskin, C., Baskin, J. 1998. Seeds. Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. San Diego. Academic Press. 666 pp.
- Bidwell, R. 1990. Fisiología vegetal. AGT editor, S.A. México, DF. 784pp
- Bran, R., Moya, C., Ponce, P., Álvarez, M., Varela, M. 2007. Diagnostico participativos de las condiciones socioculturales asociadas a la conservación de los chiles silvestres (*Capsicum spp.*) en la depresión central de Chiapas, México. *Cultivos Tropicales*. 28:69-73
- Cano-Vázquez, A., López-Peralta, C., Zavaleta-Mancera, H., Cruz-Huerta, N., Ramírez-Ramírez, I., Gardea-Bejar, A., González-Hernández, V. 2015. Variación en grados de latencia en semillas entre colectas de chile piquín (*Capsicum annum* var. *Glabriusculum*). *Botanical Sciences* 93(1):1-10.
- De la Rosa, M., Arce, L., Villarreal, J., Ibarra, L., Lozano, J. 2012. Germinación de semillas de chile simojovel (*Capsicum annum* L.) previamente expuestas a NaCl y ácido giberélico. *Revista internacional de botánica experimental*. 81:165-168
- Duarte, O. 2005. Efecto del Ácido Giberélico en la Germinación de la semilla de Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg). *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.* 48:152-154.
- Fernández MJ, Russo L (2006) Vida picante de amazonas: gran potencial para la micro y mediana empresa. *Revista digital CENIAP*.12
- García, J. 1983. Estudio agronómico y auto ecológico del chile piquín (*Capsicum annum* L. var. *Glabriusculum* Heiser y Pickersgill) en el arca central de Nuevo León, México. Ingeniero Agrónomo. Nuevo León. Universidad de Nuevo León.

- García, A., Montes, S., Rangel, J., García, E., Mendoza, M. 2010. Respuesta fisiológica de la semilla chile piquín [*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum*] (Dunal) Heiser y Pickersgill] Al Ácido Giberélico e Hidrotermia. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 1:203-216.
- Hernández, S. Sánchez, P. y Villarea, 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. 105-111 pp.
- Hernández, S., López, R., Porras, F., Parra, S., Villareal, M., Osuna, T. 2010. Variación en la germinación entre poblaciones y plantas de chile silvestre. *Agrociencia* 44 (6).
- Iglesias, D., Talón, M. Giberelinas: Azcón, J., Talón, M. *Fundamentos de Fisiología vegetal*. 2^a. España. McGraw-Hill. Interamericana. 2008. 399-421.
- Koornneef, M., Bentsink, L. and Hilhorst, H. 2002 Seed dormancy and germination. *Current Opinion in Plant Biology* (5): 33–36
- Kucera, B., Cohn, M.A. and Leubner-Metzger, G. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research* 15: 281–307.
- López, A. 2013. Efecto de un gradiente de elevación, procedencia y temperatura en la germinación e semillas de chile piquín (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser y Pickersgill). Tesis de maestría en ciencias forestales. Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León. 39 pp.
- Ramírez, M., Pozo, O., Rodríguez, A., 2003. Tecnología para inducir la germinación en Chile piquín. Memoria del primer simposium regional de chile piquín: avances de investigación en tecnología de producción y uso racional de recursos silvestres. INIFAP-CIRNE. 26:35-36pp
- Nambara, E., Okamoto, M., Tatematsu, K., Yano, R., Seo, M., Kamiya, Y. 2010. Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination. *Seed Science Research*. (20): 55-67
- Saldivar, P., Laguna, A., Gutiérrez, F., Domínguez, M. 2010. Ácido giberélico en la germinación de semillas de *Jaltomata procumbens* (CAV.) J.L. Gentry. *Agronomía Mesoamericana*. 21(2): 327-331.
- Vázquez, M.O., Pérez-Molphe, B., Castañeda, M.O.E., Ochoa, F. Y., Ramos, G.F., Urrestarazu, G. M. 2012 Micropropagation of Heirloom and Commercial Tomato Varieties by nodal buds sprouting. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*. 48:72-7

- Watkinson, L., Pill, G.1998. Giberellic acid and presowing chilling increase seed germination of indiagrass (*Sorghastrum nutans* (L.) Nash). Hort Science 33:849-8



IV. CONCLUSIONES GENERALES DE LA TESIS

1. Se determinó la dormancia en semillas de 36 accesiones de chile silvestres de diferentes regiones de México.
2. La dormancia en las semillas de chile silvestre de diferentes accesiones fluctuó desde 0 a 100 %, y no se detectó una relación entre el nivel de dormancia y la región de procedencia.
3. Los chiles domesticados usados como control (chile Pasilla y chile Puya) mostraron 0 % de dormancia.
4. No todas las semillas de chile silvestre utilizadas en la presente investigación y colectadas en la República Mexicana presentaron dormancia.
5. A partir del porcentaje de dormancia se presenta una clasificación de accesiones por nivel de dormancia, con lo cual se identifican 19 accesiones con alta dormancia (>70 %).
7. Se generaron protocolos específicos para cada accesión de semillas de chile silvestres
8. Los porcentajes de germinación alcanzados en las 16 accesiones independientemente de los tratamientos fluctuó entre 7 y 100 % de germinación.
9. De las 16 accesiones silvestres se logró elevar el porcentaje de germinación al 100 % de 6 accesiones lo cual representa un 37.5 % del total de las accesiones. Dos accesiones germinaron al 90 % lo que representa el 12.5 %. Además 3 de las accesiones germinaron 80 % lo que representa el 18.75 %. Así mismo 2 de las accesiones germinaron 70 % lo que representa 12.5 %. También 2 más alcanzaron 60 % de germinación lo que representa el 12.5 % y una accesión germinó el 40% lo que representa 6.25 %
10. Las regiones con mayor porcentaje de germinación fueron la Noroeste, centro-golfo y la sur.
11. El experimento que generó mayor porcentajes de germinación de las accesiones silvestres fue el de diferentes tiempos de exposición al H_3PO_4 al 20 % seguido del experimento con diferentes dosis de GA_3 , posteriormente le siguió el experimento combinado de H_3PO_4 al 20 % y GA_3 y por último el de diferentes regímenes de temperatura.
12. De esta manera se demuestra que no todas las accesiones responden a un mismo protocolo de germinación.

