

Universidad de Granada  
Facultad de Ciencias



Departamento de Fisiología Vegetal

Papel del Etileno en la regulación Hormonal de  
la Germinación de Semillas de *Phaseolus vulgaris* L.

ISABEL M. SANCHEZ CALLE

TESIS DOCTORAL

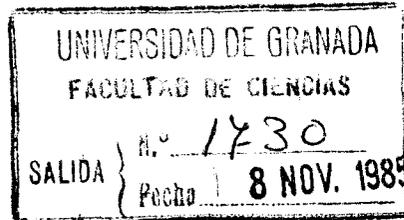
1985

t5 /  
106

~~Nov. 25~~

S/106

FACULTAD DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA VEGETAL



PAPEL DEL ETILENO EN LA REGULACION HORMONAL DE LA  
GERMINACION DE SEMILLAS DE Phaseolus vulgaris L.

ISABEL M. SANCHEZ CALLE

TESIS DOCTORAL



UNIVERSIDAD DE GRANADA

Tesis doctoral dirigida por el Dr. D. Luis Recalde Manrique, Catedrático de la Universidad de Granada. Fué leída el 31 de Octubre de 1985 ante el tribunal formado por los profesores: Recalde Martínez (Granada); Matilla Carro (Granada); Aguilar Villalvilla (C.S.I.C. Málaga); Sánchez Raya (C.S.I.C. Granada); Valle Tendero (Granada). Obtuvo la calificación de Apto "cum laude".

PAPEL DEL ETILENO EN LA REGULACION HORMONAL DE LA  
GERMINACION DE SEMILLAS DE Phaseolus vulgaris L.

por

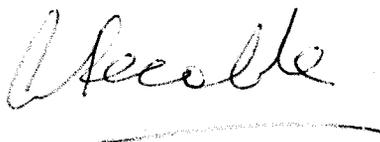
Isabel María Sánchez Calle

Trabajo presentado para aspirar  
al Grado de DOCTOR en CIENCIAS,  
Sección de Biológicas.

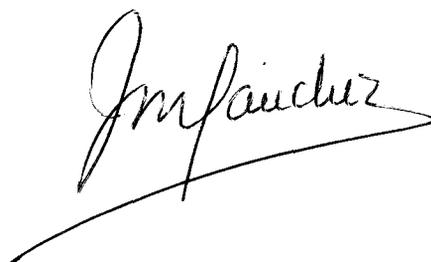
Granada a 31 de Octubre  
de 1985.

Vº Bº

EL DIRECTOR



Luis Recalde Manrique  
Doctor en Farmacia  
Catedrático del Departamento  
Interfacultativo de Fisiología  
Vegetal.



Isabel María Sánchez Calle  
Licenciada en Ciencias  
Sección Biológicas.

Quisiera expresar mi más sincera gratitud a todas aquellas personas que han hecho posible la realización de este trabajo.

Al Dr. D. Luis Recalde Martinez, Catedrático Jubilado del Departamento de Fisiología Vegetal, que tan directamente ha colaborado en la dirección de esta Tesis Doctoral, con sus ideas, consejos e inapreciable ayuda.

Al Pfsor.Dr. D. Luis Recalde Manrique, - Catedrático de Fisiología Vegetal, Director de esta Tesis.

A todos mis compañeros del Departamento - por su apoyo y ayuda durante todos estos años, especialmente a Angel Matilla Carro y José María Ramos Clavero.

Por último, quiero agradecer al Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias, así como a sus componentes, que me permitieron hacer uso de sus instalaciones cuando fué necesario.

A mis padres.  
A mi marido y mi hijo.

## INDICE

	<u>Pag.</u>
I. <u>OBJETO DEL TRABAJO</u> .....	10
II. <u>INTRODUCCION</u> ,	
1. La semilla.....	14
1.1. Estructura de la semilla.....	14
1.2. Reservas de la semilla.....	18
1.3. Embriogénesis de la semilla.....	20
2. La germinación de las semillas.....	22
2.1. Concepto de germinación.....	22
2.2. Etapas de la germinación.....	23
3. Control de la germinación.....	26
3.1. Giberelinas y germinación.....	30
3.1.1. Función de las giberelinas en el desarrollo de la semilla.....	30
3.1.2. Giberelinas libres y conjugadas en la semilla madura.....	31
3.1.3. Mecanismo de acción de las gibe- relinas.....	33
3.2. Citoquininas y germinación.....	35
3.2.1. Función de las citoquininas en - el desarrollo de la semilla.....	36
3.2.2. Citoquininas libres y conjugadas en la semilla.....	36
3.2.3. Citoquininas naturales y sintéti- cas.....	37
3.2.4. Mecanismo de acción de las cito- quininas.....	38
3.3. Auxinas y germinación.....	40
3.3.1. Función de las auxinas en el de- sarrollo de la semilla.....	40

	<u>Pág.</u>
3.3.2. Auxinas libres y conjugadas.....	41
3.3.3. Función de las auxinas en germinación.....	42
3.4. Acido abscísico y germinación.....	43
3.4.1. Función del ácido abscísico en el desarrollo de la semilla.....	44
3.4.2. Mecanismo de acción del ácido abscísico.....	45
4. Etileno y germinación.....	46
4.1. Biosíntesis y metabolismo del etileno...	48
4.2. Localización de la biosíntesis del etileno.....	51
4.3. Control de la biosíntesis del etileno...	53
4.3.1. Factores no hormonales.....	53
4.3.2. Factores hormonales.	
4.3.2.1. Auxinas.....	53
4.3.2.2. Giberelinas.....	56
4.3.2.3. Citoquininas.....	57
4.3.2.4. Acido abscísico.....	59
4.4. Mecanismo de acción del etileno.....	60
4.5. Modelos de producción de etileno durante la germinación de las semillas.....	63

### III. MATERIAL Y METODOS.

1. Material vegetal.....	70
2. Preparación del material.....	70
2.1. Esterilización del material fungible...	70
2.2. Esterilización del material vegetal....	71
2.3. Imbibición de las semillas.....	71
2.4. Obtención de las semillas sin testas, ejes embrionarios y cotiledones.....	71

3. Técnicas analíticas.....	72
3.1. Determinación de etileno.....	72
3.1.1. Metodología.....	72
3.1.2. Medida del etileno liberado.....	73
3.1.3. Medida del etileno ligado.....	74
3.1.4. Preparación de los patrones.....	74
3.1.5. Instrumental.....	75
3.1.6. Expresión de los resultados.....	75
4. Medida del crecimiento de la plántula.....	76
5. Método de evaluación del porcentaje de emer- gencia radicular.....	76
6. Experiencias realizadas.....	77
6.1. Experiencia A.....	77
6.1.1. Objetivos.....	77
6.1.2. Parámetros medidos.....	77
6.1.3. Diseño estadístico.....	77
6.2. Experiencia B.....	77
6.2.1. Objetivos.....	77
6.2.2. Parámetros medidos.....	78
6.2.3. Diseño estadístico.....	78
6.3. Experiencia C.....	79
6.3.1. Objetivos.....	79
6.3.2. Parámetros medidos.....	79
6.3.3. Diseño estadístico.....	79
6.4. Experiencia D.....	80
6.4.1. Objetivos.....	80
6.4.2. Parámetros medidos.....	80
6.4.3. Diseño estadístico.....	80

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

Experiencia A. Evolución del desprendimiento de etileno durante la germinación..... 83

Experiencia B. Optimización de las aplicaciones exógenas de fitohormonas y precursores..... 91

    Ensayo B-1. Optimización del AIA..... 91

    Ensayo B-2. Optimización quinolina..... 100

    Ensayo B-3. Optimización de GA<sub>3</sub>..... 109

    Ensayo B-4. Optimización de ABA..... 117

    Ensayo B-5. Optimización de metionina..... 127

    Ensayo B-6. Optimización de triptófano..... 136

Experiencia C. Efecto de algunos precursores - hormonales, inhibidores y promotores del crecimiento vegetal..... 146

Experiencia D. Efecto de las sustancias reguladoras del crecimiento vegetal..... 199

V. CONCLUSIONES..... 259

VI. BIBLIOGRAFIA..... 263

## ABREVIATURAS

- A = Acido indol acético.  
ACC = Acido aminociclopropano carboxílico.  
AG = Acido indol acético en combinación con GA<sub>3</sub>.  
AOA = Acido aminooxi acético.  
AQ = Acido indol acético en combinación con quinetina.  
AQG = Acido indol acético combinado con quinetina y GA<sub>3</sub>.  
AVG = Aminoetoxi-vinil-glicina.  
BA = Bencil-adenina.  
BAP = Bencil-amino-purina.  
Conc. = Concentración.  
Fc = F calculada.  
FV = Fuentes de variación.  
G = Acido giberélico.  
% G = Porcentaje de germinación.  
GL = Grados de libertad.  
IPA = isopentenil adenina.  
MC = Media de cuadrados.  
MET = Metionina.  
MTA = Metil-tio-adenosina.  
MTR = Metil-tio-ribosa.  
N = Número de datos.  
NP = Nivel de probabilidad.  
NS = No significativo estadísticamente.  
Q = Quinetina.  
QG = Quinetina en combinación con ácido giberélico.  
R = Repeticiones.  
SAM = S- adenosil-metionina.  
SC = Suma de cuadrados.  
T = Testigo.  
%-T = % de incremento con respecto al testigo.  
T<sub>a</sub> = Temperatura.  
TRI = Triptófano.  
V = Variables.

I. OBJETO DEL TRABAJO

## I. OBJETO DEL TRABAJO

Desde hace varios años es bien sabido que el desarrollo de las plantas está íntimamente relacionado con las sustancias reguladoras del crecimiento ó fitohormonas, y que la alteración de sus concentraciones endógenas, así como la relación existente entre ellas, provocan las diferentes etapas en el crecimiento de la planta en general y de sus órganos en particular. Es, por tanto, obvio concluir que una especie vegetal determinada poseerá, en un momento determinado de su desarrollo, unas concentraciones determinadas de fitohormonas promotoras o inhibitoras.

Las fitohormonas son pues sustancias producidas por la propia planta en cantidades relativamen-

te bajas que, mediante unos mecanismos de acción de terminados y todavía no esclarecidos, para cada una de ellas, así como mediante un transporte concreto y específico, normalmente "vía floema", son capaces de coordinar y dar origen a causa de un proceso de integración adecuado, a un órgano concreto o una planta con un estado de desarrollo concreto, y sin embargo ejercer como inhibidora en otras condiciones fisiológicas.

Debido a estos antecedentes expuestos, es evidente que el fisiólogo vegetal debe de escoger las "herramientas" de trabajo que más le simplifiquen la investigación en este campo citado. La semilla es quizás una de ellas, ya que son órganos que en la actualidad se usan muy frecuentemente debido a que el proceso germinativo es unidireccional y más simple que lo pueden ser otros procesos de desarrollo en una planta adulta. Las Leguminosas, por la facilidad de su germinación y sobretodo, por su gran importancia agrícola, son las más representativas en este campo de la Fisiología Vegetal moderna.

Con esta Memoria que presentamos, se ha querido iniciar una Línea de Investigación tendente a aclarar una serie de características relacionadas con el control de la producción de etileno durante las primeras fases de la germinación de la leguminosa Phaseolus vulgaris.

El etileno es la única hormona gaseosa conocida y, al igual que sucede con las giberelinas y citoquininas, promueve la germinación de una gran variedad de semillas cuando es aplicado exógenamente o se promueve su síntesis. Sin embargo, una serie de investigadores coinciden en señalar que la producción de etileno durante la germinación es un

efecto de la propia germinación y no una causa.

Para abordar este estudio se han planteado una serie de experiencias cuya finalidad fué la siguiente:

(1) Conocer el efecto inductor o inhibidor - que tiene cada una de las sustancias reguladoras - del crecimiento conocidas sobre la protusión de la radícula.

(2) Estudiar la producción de etileno por la semilla objeto de estudio, así como por ciertas partes de ella (cotiledón, eje, etc.).

(3) Investigar el efecto que tienen las fitohormonas aplicadas exógenamente y de manera individual, sobre la producción de gas.

(4) Cuantificar el desarrollo del eje embrinario en términos de longitud, como consecuencia de las anteriores aplicaciones.

(5) Una vez encontrada la concentración óptima para los parámetros estudiados, de las fitohormonas y precursores de éstas, se estudia el efecto - que tiene sobre la producción de etileno la aplicación conjunta de más de una sustancia reguladora - del crecimiento.

II. INTRODUCCION

## II. INTRODUCCION

### 1. LA SEMILLA.

#### 1.1. Estructura de la semilla.

La semilla es el órgano que, en las plantas superiores, permite la dispersión y propagación de la especie. Con ella empieza la independencia de la nueva generación, está equipada con mecanismos estructurales y fisiológicos apropiados para su papel como unidad de dispersión y posee reservas que sustentarán a la plántula hasta que ésta pueda establecerse como un organismo autosuficiente, autótrofo.

La semilla se deriva del óvulo fértil y en ella pueden distinguirse:

- 1) El funículo, que es el lugar por el que -

la semilla se une a la placenta. Una vez maduro el fruto y la semilla, el funículo normalmente se seca y desaparece, liberándose de esta forma la semilla.

2) La testa, que se deriva de los tegumentos del óvulo.

3) El perispermo, derivado de la nucela.

4) El endospermo, que se produce como resultado de la fusión entre el núcleo generador masculino y los dos núcleos polares, para dar el núcleo del endospermo triploide.

5) El embrión, que se forma como resultado de la fecundación de la oosfera por un núcleo masculino.

El grado de desarrollo de estos componentes y si éstos son o no retenidos, durante el proceso de maduración de la semilla, son las diferencias estructurales fundamentales entre los distintos tipos de semillas. En muchas especies, durante la formación de la semilla, puede quedar íntimamente unida a la misma el tejido extraovular, especialmente la pared del ovario (pericarpo).

#### Testa.

Generalmente es una cubierta dura y en algunos casos presenta una cutícula interior y otra exterior, a menudo compuesta por lípidos o ceras y una o más capas de células protectoras, lo cual tiene importancia fisiológica, pues confiere a la cubierta algún grado de impermeabilidad al agua y/o a los gases, incluido el oxígeno, el cual ejerce una influencia reguladora sobre el crecimiento y el metabolismo de los tejidos y de los órganos internos de la semilla. A veces, la testa puede

ser de mucílago, el cual tiene importancia en la -  
retención de agua por la semilla (BEWLEY y BLACK,  
1978).

Al exterior, la testa se presenta como una -  
cubierta continua con las siguientes característi-  
cas:

1) Al secarse y separarse el funículo de la  
semilla, deja una cicatriz ventralmente que recibe  
el nombre de hilo.

2) Junto al hilo aparece un diminuto orifi-  
cio, llamado micropilo, que es el lugar por donde  
penetró el tubo polínico durante la fertilización.

3) La radícula del embrión forma un abulta-  
miento en la cubierta.

4) La chalaza, es una pequeña protuberancia  
de la superficie del tegumento en forma de botón --  
que coincide con el extremo superior de los cotile-  
dones.

5) Entre los dos cotiledones existe un peque-  
ño surco, que recibe el nombre de rafe.

Se ha sugerido que la testa sirve para prote-  
ger a las semillas de la filtración de sustancias  
intracelulares durante la imbibición (SIMON, 1974).  
Varios estudios han demostrado que durante la mis-  
ma, se liberan de la semilla electrolitos, azúca-  
res, aminoácidos, ácidos orgánicos y proteínas -  
(ABDEL-SAMAD y PEARCE, 1978; BRANLAGE et al., 1978)  
y que suprimiendo la testa de la semilla se aumen-  
ta la filtración. DUKE y KAKEFUDA (1981) han suge-  
rido que durante la imbibición de las semillas de  
algunas leguminosas (judía y soja) existen o se -  
producen, grandes discontinuidades en la testa. Si  
quitamos la testa a estas semillas, durante la im-  
bibición pueden romperse las células de los embrio

nes, debido a la desintegración de los tejidos y a la presión ejercida sobre ellos por una hidratación desigual de los mismos, por lo que la testa de las semillas de las leguminosas actuaría para proteger de la ruptura a las células del embrión, durante este período.

#### Perispermo y endospermo.

La mayoría de las semillas carecen de perispermo. En algunas, el endospermo desaparece totalmente durante el desarrollo del embrión, el cual utiliza sus materiales de reserva para su propia formación y desarrolla una o dos hojas embrionales (cotiledones) donde se acumularán las sustancias que utilizará la semilla durante la germinación; cuando existe endospermo, los cotiledones son pequeños o están transformados en órganos haustorios. De acuerdo con esto, las semillas se dividen en endospérmicas o no endospérmicas, según que presenten o no endospermo.

DURE (1977) considera que las semillas no endospérmicas pueden no ser el modelo bioquímico más eficiente, ya que movilizan primero las reservas del endospermo y las depositan en los cotiledones y durante la germinación las hidroliza y exporta al eje embrionario. Mientras que las semillas endospérmicas guardan sus reservas in situ, excepto pequeñas cantidades de azúcares solubles y grasas que conservan en el eje (escutelum). Por otra parte, el almacén de los cotiledones puede ser fisiológicamente más eficiente, a causa de que el transporte desde éstos es más fácil que desde el endospermo, durante los primeros estadíos de la germinación, ya que no existe conexión vascular entre tejidos genéticamente distintos. En las semillas endospérmicas la translocación en gran parte es por

difusión de célula a célula, mientras que en las semillas no endospérmicas la propagación es más rápida.

### Embrión.

Consta de un eje embrionario con uno o más cotiledones unidos a él, dicho eje está compuesto del hipocotilo, que es el segmento por el que se une a los cotiledones; la radícula, originaria de la raíz, que normalmente es difícil de delimitar con el hipocotilo y la plúmula o ápice del tallo con la primera hoja u hojas; raramente, existe un mesocotilo, el cual, cuando está presente, es un entrenudo existente entre los cotiledones.

En las semillas endospérmicas, el embrión ocupa proporcionalmente menos espacio que en las que carecen de endospermo, los cotiledones no almacenan reservas y son a menudo delgados y en forma de hojas; en contraste, los cotiledones de las semillas no endospérmicas son mucho más voluminosos y en muchos casos, como en las semillas de Vicia y Phaseolus ocupan aproximadamente el 90% de la masa total de la semilla.

### 1.2. Reservas de la semilla.

Las semillas contienen cantidades relativamente grandes de reservas alimenticias que mantienen el crecimiento y el desarrollo de la plántula, hasta que ésta puede establecerse por sí misma como una planta fotosintetizadora autotrófica. Estas reservas son guardadas en muchos casos, pero no exclusivamente, en distintos cuerpos intracelulares que incluyen lípidos, proteínas, carbohidratos, fosfatos orgánicos y varios compuestos inorgánicos; cuantitativamente estas sustancias varían de acuerdo con los distintos tipos de semillas, así en el

caso de la judía presentan altos niveles de proteínas, junto con altas cantidades de almidón, pero pocos lípidos.

Los materiales de reserva pueden ser almacenados en el embrión o en los tejidos extraembrionales (endospermo o más raramente perispermo) o en ambos. En el caso de las leguminosas no endospermicas, las proteínas y los hidratos de carbono se localizan en los cotiledones voluminosos, que permanecen bajo tierra durante la germinación y el crecimiento de la plántula, como en el caso de las semillas de guisantes y de habas, o son llevados hacia fuera cuando crece el hipocotilo, como ocurre en las semillas de judía; el primer grupo presenta crecimiento o germinación hipogea y el segundo, epigeo.

En Phaseolus, las reservas proteícas se encuentran normalmente en cuerpos de 1-20  $\mu$  de diámetro, distribuidos por todo el tejido, aunque unas células presentan más que otras. Si los observamos en sección los cuerpos proteícos son ovales o circulares y están rodeados por una membrana de lipoproteínas (BAXTER y DUFFUS, 1973) y a veces incluyen enzimas hidrolítics.

Durante el desarrollo de las semillas de las leguminosas, los nutrientes son transportados a través del floema de la planta madre a los haces vasculares que conducen a la vaina, conectada con los tegumentos (testa incipiente) de la semilla en desarrollo (PATE et al., 1974). No existe conexión directa entre los cotiledones o el eje embrionario y la testa, por lo que el embrión debe absorber los nutrientes liberados desde los tegumentos; de esta última transferencia se sabe relativamente poco, pero la absorción puede ser ayudada en algunas

especies (Vicia, Lathirus y Pisum) por células especializadas con mayor área superficial, llamadas células de transferencia, que se encuentran localizadas en la epidermis del embrión, las cuales tomarán los materiales liberados por unas células similares localizadas en la epidermis interna de los tegumentos (GUNNING y PATE, 1974). Otra vía alternativa es que los materiales liberados por las otras capas deben ser transportados al embrión a través del suspensor, que en algunas especies como Phaseolus está muy desarrollado y también tiene células de transferencia.

### 1.3. Embriogénesis de la semilla.

Se podría definir como una serie de procesos de fertilización y diferenciación encaminados a la formación de una semilla.

En las angiospermas, tiene lugar una fecundación doble; el núcleo masculino inmóvil, liberado del tubo polínico se fusiona con la ovocélula, formándose el cigoto diploide; el otro núcleo masculino se funde con los núcleos polares, dando lugar a un núcleo triploide a partir del cual se formará el endospermo. Tras su formación, el cigoto suele entrar en el estado de reposo y comienza a dividirse después del núcleo endospermico. El cigoto se divide transversalmente, obteniéndose como resultado una célula basal y otra distal. En las dicotiledóneas, la célula basal se transforma en el suspensor y la distal en el embrión. El endospermo se origina por divisiones mitóticas del núcleo endospermico triploide.

Durante el desarrollo del endospermo algunos nutrientes son retirados a los tejidos adyacentes, mientras que los otros son sintetizados "in situ" a

partir de materiales transportados hasta allí. En las semillas de las dicotiledóneas, las reservas - del endospermo son utilizadas completamente durante la maduración del embrión y son sustituidas por los cotiledones, que actúan como órganos de reserva para la germinación de la semilla.

Los tegumentos que rodean al óvulo sufren una serie de cambios durante la maduración de la semilla, transformándose en la testa. Finalmente, comienza la fase de desecación, el óvulo pierde agua hacia el medio ambiente, la envoltura seminal se esclerifica y muere, transformándose en una cubierta protectora.

La germinación de una semilla es quizás el - acontecimiento más complicado en la vida de una - planta, de ahí que se considere la embriogénesis - como la preparación de la semilla para la germinación, por lo que es obvio que exista, en esta etapa, un acopio de nutrientes, que darán a la semilla mayor o menor importancia agrícola.

Un aspecto fascinante en el desarrollo es el cambio metabólico que se produce en un tejido de - reserva, sea endospermo o cotiledón, cuando la semilla germina. Así, mientras que durante la embriogénesis sintetiza grandes cantidades de proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos (predomina el anabolismo), durante la germinación sucede - todo lo contrario, puesto que comienza una gran actividad en los enzimas hidrolíticos para degradar los materiales de reserva y alimentar al embrión - (predomina el catabolismo) alternando en algunas - etapas con la síntesis de nuevas moléculas (MAYER, 1975).

## 2. LA GERMINACION DE LAS SEMILLAS

### 2.1. Concepto de germinación.

En las semillas, la germinación es la reactivación de los procesos metabólicos que habían sido reducidos en la fase de maduración de aquellas. En este aspecto, encontramos conveniente distinguir entre dos formas de reducción de las actividades - del crecimiento. La reducción del crecimiento im- puesta por condiciones desfavorables se conoce co- mo quiescencia, y la reducción del crecimiento por inhibición endógena activa, se conoce como dorman- cia. Una semilla quiescente es realmente germina-- ble con agentes provocadores no específicos, tales como humedad suficiente y temperatura favorable. - Una semilla durmiente, sin embargo, es aquella que no germinará bajo condiciones normalmente favora-- bles para el crecimiento, sino que requiere un es- tímulo ambiental específico, que no es constante, pero que acciona la germinación (agentes que rom-- pan la impermeabilidad de la cubierta, luz, estra- tificación, etc.) (THIMANN, 1977).

Morfológicamente, la germinación es la transformación de un embrión en una plántula. Fisiológi- camente, la germinación es la reanudación del metabolismo y crecimiento que antes se habían deprimi- do y la puesta en marcha de la transcripción del - genoma. Bioquímicamente, la germinación es la dife- renciación secuencial de las rutas oxidativas y - sintéticas (JANN y AMEN, 1977).

Según MAYER y POLJAKOFF-MAYBER (1975), la - germinación es un sistema "semi-cerrado" en el sen- tido de que su iniciación es un tanto imprecisa, - pues no está bien definido el punto en el que ter- mina la semilla y comienza la plántula. HEYDECKER

(1972) opina que la decisión del punto final depende del propósito del trabajo y establece cinco criterios utilizables:

1) Fisiológicamente y en sentido muy restringido, la germinación termina con la primera manifestación del crecimiento, aún antes de que se produzca la ruptura de las cubiertas. Resulta, pues, de difícil determinación.

2) En experimentos sobre germinación, la emergencia de la radícula se toma a menudo como su fin.

3) Los analistas de semillas consideran como punto final, la emergencia del interior de las cubiertas seminales, de una plántula capaz de crecimiento independiente.

4) Los agricultores aguardan a la emergencia de la parte aérea de la planta sobre el suelo para definir el punto final.

5) En Ecología, conviene esperar al "establecimiento" o asentamiento definitivo de la nueva planta.

## 2.2. Etapas de la germinación.

Para que se produzca la germinación son necesarias tres condiciones: cierto grado de humedad, temperatura adecuada y aireación suficiente. EVENARI (1961) distingue cuatro etapas en la germinación:

- 1) Fase de imbibición.
- 2) Fase de activación y formación de sistemas enzimáticos.
- 3) Fase mitótica.
- 4) Crecimiento de la radícula.

Para la reanudación de las actividades del crecimiento por una semilla viable, la imbibición es esencial, ya que las semillas están en general desecadas. Según BEWLEY y BLACK (1978), la toma de agua por las semillas es trifásica:

1) La primera fase es la imbibición, en la que el peso fresco de las semillas aumenta apreciablemente. Esta fase puede durar desde algunos minutos hasta varias horas y depende de factores tales como el tamaño y la composición de la semilla y la permeabilidad tanto de los tejidos como de la cubierta seminal. Se caracteriza por la reactivación de numerosos sistemas metabólicos que dan lugar al comienzo de la síntesis de proteínas y de la actividad respiratoria. La imbibición es un proceso físico dependiente de las propiedades de los coloides, y no está relacionada con la viabilidad de las semillas, ya que se produce tanto en semillas vivas como muertas.

2) En la segunda fase se produce una estabilización en la toma de agua, comenzando la síntesis de numerosas enzimas, formación de nuevos orgánulos, reestructuración de las membranas y degradación de las sustancias de reserva almacenadas en los cotiledones.

3) En la última fase comienza la elongación de la radícula hasta atravesar las estructuras que rodean al embrión. También comienza la división celular, aunque estos dos procesos no siempre son simultáneos.

Las semillas de Phaseolus vulgaris pasan de una fase intolerante a la desecación a un estado tolerante a la misma, después de 24 días de desarrollo (LONG et al., 1981; DASGUPTA et al., 1982). La adquisición de la tolerancia está acompañada -

por el desarrollo de la capacidad para germinar. - Posteriormente, durante la fase de germinación, el eje embrionario pasa del estado tolerante a la desecación (la desecación no provocaba deterioro en el crecimiento ni en el metabolismo) a una fase intolerante que coincide aparentemente con la elongación del eje. El cambio de una fase a otra se produce aproximadamente a la vez que la duplicación del genoma. En efecto, las células que se están elongando parecen ser menos sensibles que las que se están dividiendo (DASGUPTA et al., 1982).

Algunas de las actividades bioquímicas durante la hidratación deben involucrar actividad hidrolítica. Durante la imbibición, la activación de la hidrolisis es realizada por hidrolasas preexistentes. La síntesis "de novo" de estas hidrolasas, necesariamente lleva consigo la activación de la síntesis de proteínas y el metabolismo oxidativo acompañante. Las primeras etapas pueden desarrollarse en anaerobiosis y no ser cruciales para la germina---ción, mientras que las últimas serán las que determinarán si una semilla se encamina hacia los procesos que llevarán a la germinación (THIMANN, 1977).

La reducción del crecimiento y desarrollo - del embrión lleva consigo la represión de muchas - de las porciones previamente activas del genoma y la reanudación del crecimiento lleva consigo su --reactivación y/o activación de otras porciones del genoma previamente inactivas. Durante las primeras horas de imbibición, los ribosomas y RNA<sub>m</sub> preexis---tentes forman polisomas, por lo que la primera síntesis de proteínas es llevada a cabo por traduc---ción de la información genética almacenada; sin embargo, la transcripción comienza en los primeros - estadios de la imbibición (SPIEGEL et al., 1975).

Después de la imbibición hay distintas moléculas - de RNA, nuevos isoenzimas, nuevos ribosomas y nuevas mitocondrias y el eje embrionario fabrica ribonucleasas para destruir la información almacenada. Los procesos genéticos de los cotiledones difieren de los del eje embrionario (DURE, 1975).

### 3. CONTROL DE LA GERMINACION.

La germinación, como la definimos antes, culmina con la emergencia de la radícula, que en muchos casos comprende solo elongación celular y no necesariamente división celular. Un requerimiento obvio es la rápida absorción de agua, por la que las células se expanden, incrementándose las vacuolas, hasta que adquieren la gran vacuola central, característica de las células elongadas. El incremento en la absorción de agua depende de los cambios en el potencial hídrico de las células, posiblemente debido a la disminución (más negativo) - del potencial osmótico. El mecanismo de extensión de la pared celular, para permitir la elongación, no se conoce del todo pero la extrusión de hidrogeniones tiene gran importancia. De acuerdo con esto los protones son secretados en la pared, posiblemente por intercambio con cationes. Esta acidificación rompe los enlaces hidrógeno entre las cadenas de los hidratos de carbono de la pared, facilitando las condiciones para la acción enzimática sobre ella. El control del crecimiento y extrusión de hidrogeniones en coleoptilos y tallos es llevado a cabo por las auxinas. Esto indica que la emergencia de la radícula se estimula por acidificación (presumiblemente de la pared celular) y aumenta la posibilidad de que la extrusión de protones pueda ser esencial antes de la observación de la germinación visible. Para la expansión celular en

tallos o coleoptilos es necesaria una síntesis con tínua de proteínas, así como el proceso de respira ción, por lo que es de gran importancia que el me- tabolismo de ácidos nucleicos, proteínas y respira torio estén regulados (BEWLEY y BLACK, 1978).

Los papeles fisiológicos de las hormonas se dividen en cuatro grupos:

1) Las hormonas pueden acumularse en la semi lla para su posterior participación en el control de la germinación y crecimiento de la plántula. Co mo ejemplos podemos citar la participación del ABA en la dormancia y la transformación de giberelinas y auxinas de formas ligadas a libres, hormonalmente activas durante la germinación y el crecimiento.

2) Pueden controlar el crecimiento y el desa rollo del fruto. Ejemplo: en Pisum sativum, donde la velocidad de crecimiento de la pared de la vai na está íntimamente relacionada con el cambio en - el contenido hormonal de las semillas (WHEELER, - 1972).

3) El contenido endógeno de hormonas puede - regular el movimiento de materia seca en la semi lla (carbohidratos y sustancias nitrogenadas). En trigo, por ejemplo, los niveles más altos de auxinas en el desarrollo del grano están asociados con el tiempo de intensa acumulación de materia seca.

4) Finalmente, el crecimiento y desarrollo - de las semillas, por si mismo, puede estar bajo - control hormonal. La curva de crecimiento del desa rollo de las semillas de Pisum arvense, está acom pañada por cambios en el contenido de las citoqui- ninas extraíbles (BURROWS y CARR, 1970). Los picos de los niveles de citoquininas coinciden con el - tiempo de máximo desarrollo del endospermo y los -

dos períodos de crecimiento rápido del embrión. En Pisum sativum se puede ver la estrecha correlación entre las fases de máximo crecimiento de la semilla y los niveles de auxina y giberelina en el endospermo y en el embrión (EEUWENS y SCHWABE, 1975); mientras que la mínima velocidad de crecimiento de la semilla está relacionada con la síntesis de ABA. En este aspecto, existe la posibilidad de que el ABA deba estar en forma activa para impedir la germinación vivípara o precoz. Estas correlaciones no demuestran que las hormonas estén implicadas en el crecimiento y desarrollo de la semilla pero son pruebas que apoyan esta hipótesis. Aunque no siempre se puede correlacionar el estado de una semilla con su contenido en hormonas (BLACK, 1980/81; WALTON, 1980/81).

Los principales grupos de hormonas asociados con la fisiología de la semilla son las giberelinas, los inhibidores (normalmente el ácido abscísico), las citoquininas, las auxinas (normalmente el ácido indol-acético) y el etileno.

El mecanismo de acción de las sustancias reguladoras del crecimiento es poco conocido en la actualidad, pero los datos apuntan hacia un efecto sobre la expresión génica y permeabilidad celular; sin embargo, estos efectos dependerán del nivel endógeno de la sustancia reguladora del crecimiento, de la actividad metabólica y del tejido que estamos estudiando.

El control hormonal de la germinación ocurre a través del crecimiento del eje embrionario y/o de la destrucción de la cubierta de la semilla. Los tejidos a través de los que la sustancia reguladora del crecimiento afecta de forma primaria, pueden ser distintos para cada fitohormona, por lo

tanto, los efectos aditivos sobre la germinación - resultarían de la activación simultánea de varias etapas, cada una de las cuales podría independientemente conducir a la germinación. La inducción de la germinación por aplicación simultánea de varias fitohormonas es anormal, debido a la destrucción - de la compartimentación normal de las fitohormonas en la semilla. Un inhibidor puede bloquear selectivamente solo alguno de los mecanismos por los que se produce la germinación (DUNLAP y MORGAN, 1977a, b).

Se han propuesto varios modelos para explicar la acción de las hormonas sobre la germinación y la dormancia de las semillas, que incluyen interacciones de citoquininas, giberelinas e inhibidores con mecanismos de control sofisticados (AMEN, 1968; KHAN, 1971). En el modelo propuesto por KHAN (1971), las giberelinas asumen el papel primario en la germinación, mientras que las citoquininas e inhibidores son esencialmente "permissivos" o "preventivos". Así, los procesos germinativos en los que intervienen las giberelinas, no pueden ocurrir en presencia de inhibidores de la germinación, a menos que exista suficiente citoquinina presente para revertir los efectos inhibidores. Una premisa importante en este modelo, es que la interacción citoquinina-inhibidor juega un papel dominante en el control de los efectos de la giberelina; este es el mecanismo de seguridad que impide a las semillas germinar en ambientes desfavorables.

KHAN (1975) postula un modelo según el cual ni un exceso de activadores implica germinación, ni un exceso de inhibidores induce dormancia, sino que es la relación entre ambos la responsable de que se produzca una u otra alternativa. Este mode-

lo explicaría ciertas situaciones anómalas, como - el caso de las semillas que germinan con altos niveles de inhibidores y el de las semillas que permanecen durmientes a pesar de su gran contenido en activadores.

Se ha sugerido que la testa de la semilla - puede actuar como una barrera para la absorción de hormonas, lo cual sería particularmente cierto en el caso de las semillas de cubierta dura (PINFIELD y STOBART, 1972). WEBB y WAREING (1972) mantienen que la testa impide la salida de inhibidores desde el embrión, mientras que DUNGEY y PINFIELD (1980) han indicado que la testa regula el suministro de oxígeno al embrión. Si esto es así, la modifica- ción del balance hormonal en el embrión, no puede llevarse a cabo por un proceso oxidativo (JULIN-TE GELMAN y PINFIELD, 1982).

### 3.1. Giberelinas y germinación.

El desarrollo de la semilla y la germinación son procesos contínuos, iniciados con la fertiliza ción y terminados con la emergencia de la radícula; por lo tanto, para poder comprender los posibles - papeles de las giberelinas en las fases germinati- vas, consideraremos algunos de los hechos que ocu- rren durante la maduración. Además al estudiar la función de estas hormonas en la germinación, debe hacerse una distinción clara entre los efectos de los compuestos aplicados y la influencia de los re- guladores del crecimiento endógenos.

#### 3.1.1. Función de las giberelinas en el desarrollo de la semilla.

El papel de las giberelinas en el desarrollo de la semilla no está claro. Se sabe que en muchas

plantas superiores, la semilla es una fuente rica en estas hormonas, pero existen pocas pruebas de que tengan algún papel importante en la regulación de su desarrollo (MOORE y ECKLUND, 1975). Se ha encontrado una correlación positiva entre los niveles de giberelina endógena y el desarrollo de la semilla de Phaseolus vulgaris (SKENE y CARR, 1961; CORCORAN y PHINNEY, 1962; HASHIMOTO y RAPPAPORT, 1966; SKENE, 1970), observándose que los cambios en los niveles de un compuesto análogo a GA<sub>5</sub> se correspondían con la fase de rápida división celular, mientras que los cambios en un compuesto análogo a GA<sub>1</sub>, se correlacionaban con la fase de rápida expansión celular en esta semilla.

### 3.1.2. Giberelinas libres y conjugadas en la semilla madura.

En la semilla madura de Phaseolus vulgaris apenas se detecta actividad de sustancias análogas a las giberelinas, mientras que aproximadamente en el punto medio de la secuencia de maduración, se obtienen 0.1 µg de giberelina por semilla (CORCORAN y PHINNEY, 1962).

En general, las semillas completamente formadas no contienen giberelinas, y cuando están presentes, son biológicamente inactivas. Las giberelinas se pueden encontrar en formas libres y también conjugadas.

En las semillas de judía se han encontrado las siguientes giberelinas libres: GA<sub>1</sub>, GA<sub>5</sub>, GA<sub>6</sub>, GA<sub>8</sub>, GA<sub>20</sub> (DURLEY et al., 1971), GA<sub>4</sub>, GA<sub>37</sub> y GA<sub>38</sub> (HIRAGA et al., 1972).

Durante la maduración de las semillas de Phaseolus vulgaris se produce un aumento en el contenido de algunos glucósidos. Se han encontrado en

estas semillas giberelinas conjugadas, en forma de ésteres glucosídicos, de las siguientes giberelinas: GA<sub>1</sub>, GA<sub>3</sub>, GA<sub>4</sub>, GA<sub>8</sub>, GA<sub>37</sub> y GA<sub>38</sub>, que son altamente solubles en agua y pueden ser hidrolizadas por esterasas vegetales capaces de producir giberelinas libres tales como GA<sub>1</sub> o GA<sub>4</sub> (SEMBDNER et al., 1968; HIRAGA et al., 1974).

#### Papel de la conjugación.

El hecho de que los conjugados de las giberelinas se acumulen durante los últimos estadios de la maduración y su presencia en la semilla madura, podrían indicar que estos tuviesen algún papel en la germinación. En Phaseolus vulgaris, predomina el glucósido de GA<sub>8</sub>, pero tanto la forma libre como la conjugada, son biológicamente inactivas. En estas circunstancias, es difícil que tengan algún papel biológico en la germinación; aunque deben tenerse en cuenta los conjugados, como fuentes de giberelinas biológicamente activas.

La adición de un residuo azucarado al esqueleto de la giberelina tiene dos efectos:

1) Cambia su polaridad, desde altamente lipofílico a preferir la fase acuosa más que la lipídica en un contexto celular.

2) Reduce drásticamente la actividad biológica de las giberelinas.

Los dos cambios son importantes para el transporte, ya que la alta solubilidad en agua facilita aquel a través de las membranas celulares y por otra parte, la reducción de la actividad biológica, disminuye la posibilidad de provocar falsos efectos de crecimiento en los tejidos a través de los que ocurre el transporte. La utilización de la giberelina transportada estará limitada a los teji

dos que posean los requisitos enzimáticos necesarios para transformarlas en activas y modificar de algún modo el aglucon, para conseguir una forma más activa, pudiendo existir, por otra parte, una conexión preferencial con estos tejidos (JONES y STODDART, 1977).

### 3.1.3. Mecanismo de acción de las giberelinas.

Las giberelinas regulan la síntesis y secreción de las proteínas y los enzimas necesarios para la germinación por intervenir en la elaboración de un sistema de endomembranas y en la síntesis de nuevas clases de RNA<sub>m</sub>. Por otra parte, regulan la importación y exportación de los materiales requeridos para el crecimiento, por cambiar las propiedades del plasmalema, de la pared celular y del retículo endoplasmático (CHRISPEELS y JONES, 1980/81). Las giberelinas estimulan la germinación de las semillas cuya dormancia o quiescencia esté impuesta por varios mecanismos: desarrollo incompleto del embrión, resistencia mecánica de las cubiertas y presencia de inhibidores de la germinación (LANG, 1965; STOKES, 1965; VILLIERS, 1972).

Se ha propuesto que las giberelinas juegan un papel universal en la germinación de las semillas. Hasta ahora no se disponen de pruebas suficientes como para justificar tal propuesta, ya que existen pocas pruebas de que las giberelinas endógenas se produzcan debido a los tratamientos que conducen a la ruptura de la dormancia (JONES y STODDART, 1977).

Los conocimientos de la acción primaria de las giberelinas todavía son casi nulos (KENDE y GARDNER, 1976). Se ha aceptado generalmente que las hormonas necesitarían moléculas receptoras es-

pecíficas, probablemente proteínas que después de unirse a ellas, emigrarían a través de la membrana nuclear y que en el núcleo, el complejo hormona-receptor se asociaría al cromosoma de alguna forma. Esta asociación conduciría a la expresión de nueva información genética. Una de las primeras consecuencias de esta misión, sería la producción de nuevas especies de RNA<sub>m</sub> desde el núcleo y posteriormente la traducción sobre los ribosomas citoplasmáticos. Se han detectado asociaciones de este tipo en extractos de capas de aleurona de cebada (STODDART et al., 1974) y se ha sugerido que este tejido podría poseer al menos alguno de los elementos de este tipo de mecanismo de acción (HIGGINS et al., 1976; JONES y CHEN, 1976).

Un lugar receptor alternativo podría ser la fase lipídica de la célula y se ha visto que el ácido giberélico puede entrar en combinación química con los fosfolípidos (WOOD et al., 1974), aunque no se puede afirmar de forma general que las giberelinas puedan actuar modificando la permeabilidad de la membrana. No existe "a priori" razones por las que ningún regulador del crecimiento vegetal pueda restringirse a un único lugar o modo de acción (JONES y STODDART, 1977).

Las giberelinas, al igual que otros reguladores del crecimiento vegetal, parece que abundan particularmente en zonas de rápido crecimiento o diferenciación, pero en las semillas los lugares de acción pueden dividirse en dos categorías distintas:

1) Los relacionados con la activación y las primeras etapas del crecimiento en extensión del eje embrionario.

2) Los lugares relacionados con la movilizac-

ción de los materiales de reserva.

Parece que existen diferencias básicas en la sensibilidad entre los dos grupos, aunque éstas - son casi enteramente temporales. En lo que se refiere a los lugares relacionados con la movilización, son activados por giberelinas, sintetizadas o liberadas en el eje embrionario.

En semillas de cebada los materiales de reserva están contenidos en el tejido muerto del endospermo y su movilización por las enzimas se lleva a cabo en los tejidos vivos, las células de aleurona, que están controladas por las giberelinas. No se sabe si existen zonas de acción similares, - en las especies que utilizan las reservas de los cotiledones, en los últimos estadios de la germinación.

En el eje embrionario, durante los primeros estadios de la germinación, el crecimiento no es - debido a división celular (no es sensible a actinomicina D) siendo casi exclusivamente debido a elongación celular: por lo tanto, es más probable que los lugares de acción de estas hormonas estén ampliamente distribuidos en las células de todos los órganos que presentan crecimiento en extensión.

### 3.2. Citoquininas y germinación.

Diversas sustancias con actividad citoquinínica promueven la germinación y eliminan la dormancia en semillas, contrarrestando los efectos de algunos inhibidores. En ciertos casos, esta actividad puede ser un prerrequisito para la germinación en alguna especie.

### 3.2.1. Función de las citoquininas en el desarrollo de la semilla.

En general, la actividad citoquinínica es alta en frutos y semillas en desarrollo, mientras que en los tejidos maduros los niveles caen (SANSTELD, 1971) y pueden llegar a ser difíciles de detectar. Esta pérdida de actividad podría ser debida a la conversión de bases nitrogenadas con actividad citoquinínica, en ribonucleótidos biológicamente inactivos, como ocurre en frutos de tomate durante la maduración (VARGA y BRUISMA, 1974; ABDEL-RAHMAN et al., 1975). Es posible que durante el desarrollo de la semilla, las citoquininas activas se conviertan en ribonucleótidos inactivos que se almacenan hasta que la semilla tome el agua necesaria para que se lleven a cabo los primeros estadios de la germinación (VAN STADEN y WAREING, 1972b). No se sabe si las citoquininas son transportadas desde la planta madre a la semilla, durante el desarrollo, o sintetizadas "in situ" en el embrión, como sugirieron LETHAM y WILLIAMS (1969).

En el embrión maduro de Acer pseudoplatanus se desarrollan dos picos de actividad citoquinínica libre, uno durante los tempranos estadios de estratificación y el segundo durante el proceso mismo de la germinación. En el caso de las citoquininas ligadas, sin embargo, no se encontró ningún pico durante la estratificación, aunque en los embriones se observó un pico similar al de las citoquininas libres durante la germinación (JULIN-TEGELMAN y PINFIELD, 1982).

### 3.2.2. Citoquininas libres y conjugadas en la semilla.

Las citoquininas se han detectado en muchas semillas (VAN STADEN, 1973; BROWN y VAN STADEN, -

1975; BORKOWSKA y RUDNICKI, 1975).

Además de producirse en sus formas libres, - las citoquininas se han detectado incorporadas al RNA<sub>t</sub> del germen de trigo. Lo que no se sabe todavía es si las citoquininas libres efectúan su respuesta hormonal por esta incorporación (KAMINEK, - 1974), aunque parece posible que exista alguna relación.

### 3.2.3. Citoquininas naturales y sintéticas.

La respuesta cualitativa y cuantitativa de - las plantas a distintas citoquininas puede variar considerablemente; pero existen pruebas que indican que las citoquininas sintéticas estimulan la germinación en mayor extensión que las citoquininas naturales. Así se ha demostrado que bencil-adenina y quinetina contrarrestan los efectos inhibidores del ABA, sobre la germinación de embriones - aislados de lechuga más eficazmente que zeatina e isopentenil-adenina (BLACK et al., 1974) y lo mismo ocurre en semillas intactas de lechuga y de apio (BIDDINGTON y THOMAS, 1976). Se ha propuesto que las citoquininas sintéticas entran en la semilla y se mueven en el embrión más rápidamente que las citoquininas naturales; aunque el distinto grado de efectividad, también podría deberse a la existencia de conversiones metabólicas en formas activas o a diferencias en el mecanismo de acción - primario (THOMAS, 1977). BIDDINGTON y THOMAS (1976) sugieren que debe existir una enzima tal como la zeatin-oxidasa que degrade a la zeatina y a la isopentenil-adenina, pero no a las citoquininas sintéticas, bencil-adenina o quinetina. Esto ofrecería una explicación del por qué estas últimas citoquininas son más activas en ciertos bioensayos y en -

la ruptura de la dormancia de las semillas de lechuga y de apio; sin embargo, la actividad dependerá de otros numerosos factores, incluyendo la velocidad relativa de descomposición de las citoquininas, la localización de las enzimas que las degradan en relación al lugar de acción y la efectividad de estas hormonas en dicho lugar (THOMAS, 1977).

#### 3.2.4. Mecanismo de acción de las citoquininas.

Las citoquininas pueden actuar a varios niveles. BURROWS (1975) sugiere tres niveles principales de actuación:

- 1) Control a nivel de la expresión génica.
- 2) Control a nivel de traducción.
- 3) Regulación de la función proteica.

Existen pocas pruebas en favor de estos tres niveles, aunque ello no quiere decir que no contribuyan a la acción de las citoquininas sobre la germinación.

Un papel importante de las citoquininas en las semillas, es posiblemente alterar la permeabilidad de la membrana, esta hipótesis está apoyada por los resultados obtenidos por PALEVITCH y THOMAS (1975) y THOMAS et al. (1975) con semillas de apio y de cebada sin embriones. En estos sistemas, los efectos de los compuestos químicos que afectan a la permeabilidad, eran similares a los efectos de las citoquininas en combinación con GA<sub>4/7</sub>, aumentando la germinación o la producción de azúcares reductores.

De la misma forma que existen giberelinas en los etioplastos (COOKE et al., 1975) y su liberación está afectada por las citoquininas, en la semilla puede imaginarse un sistema similar, tal que

algunas de las giberelinas, esenciales para la germinación, pueden estar encerradas en compartimentos con localizaciones específicas en la semilla. Las giberelinas se moverían entre estos compartimentos y serían liberadas a los sitios activos implicados en los procesos de germinación, únicamente por la acción de las citoquininas sobre la permeabilidad de la membrana (THOMAS et al., 1975). Sin embargo, éste no tiene que ser, necesariamente, el único modo de acción de las citoquininas en la liberación de la dormancia de las semillas, sino que sería uno de los pasos en un proceso complicado.

Aún no se conoce completamente la localización de las hormonas en las semillas, aunque existen pruebas de que en semillas endospermicas, las giberelinas están principalmente presentes en el embrión, mientras que las citoquininas y los inhibidores se encuentran fuera del mismo (THOMAS et al., 1975; THOMAS y KHAN, 1976). Si esto es así, parece probable que exista una interacción entre las citoquininas y los inhibidores que determine el que las giberelinas sean o no liberadas, regulando de esta forma los procesos vitales para la germinación, tales como la estimulación de enzimas hidrolíticas y la liberación de las reservas alimenticias. Se ha sugerido que cuando las citoquininas están en exceso sobre los inhibidores, en las capas externas de la semilla, pueden aumentar la permeabilidad de las membranas del embrión. Este incremento podría ser selectivo, de tal forma que favoreciera el movimiento de las giberelinas dentro o fuera del tejido embrionario. Esta hipótesis explica por qué concentraciones muy bajas de giberelinas, que normalmente no estimulan la germinación de la semilla, pueden hacerlo cuando se aplican en combinación con las citoquininas (THOMAS et

al., 1975). Las citoquininas por aumentar la permeabilidad facilita la entrada de las giberelinas a las semillas o a los sitios activos de las mismas; otra posibilidad será que incrementen la liberación de las sustancias necesarias para las reacciones bioquímicas que requieren giberelinas (THOMAS, 1977). Esta hipótesis sobre la liberación de giberelinas, controlada por una interacción entre citoquininas e inhibidores es compatible con el modelo de germinación propuesto por KHAN (1971). Sin embargo, el que las giberelinas puedan incrementar la producción de las citoquininas en las semillas (VAN STADEN, 1973) no es consecuente con otras hipótesis existentes sobre el control hormonal de la dormancia y la germinación, por lo que no ha sido confirmada. Además, no existen pruebas suficientes de que las giberelinas estimulen la producción de citoquininas activas en la semilla (BLACK et al., 1974).

### 3.3. Auxinas y germinación.

El ácido indol-acético no parece estar implicado en la germinación de las semillas, sino que su papel se relaciona con el crecimiento, mediante su acción sobre la extensión de la pared celular.

#### 3.3.1. Función de las auxinas en el desarrollo de la semilla.

La semilla en desarrollo es una fuente particularmente rica en auxinas, teniendo, en general, niveles mucho mayores de hormonas libres que las semillas maduras, por lo que parecen ser importantes para la embriogénesis. Estas auxinas libres disminuyen durante el desarrollo debido a su conversión en ésteres o auxinas conjugadas (RAUSSEN-DORF-BARGEN, 1962; ZENK, 1964).

Durante el desarrollo de las semillas, las auxinas se acumulan en los tejidos nutritivos, tales como endospermo y nucela (EEUWENS y SCHWABE, 1975), presentando fluctuaciones en su nivel a lo largo del desarrollo (LUCKWILL et al., 1969; WHEELER, 1972).

### 3.3.2. Auxinas libres y conjugadas.

En algunas semillas, las auxinas se encuentran combinadas con mioinositol o arabinosa como auxinas ligadas o conjugadas. Estas son las formas de almacén de la hormona y son sintetizadas durante la maduración de la semilla e hidrolizadas durante su germinación (SCHULZE y BANDURSKI, 1976).

COHEN y BANDURSKI (1982) sugieren la siguiente hipótesis para Zea mays: el AIA se sintetiza en las hojas de una planta adulta y se transporta a la semilla durante su maduración. En la semilla, el AIA es conjugado y almacenado de esta forma, hasta que se produce la germinación. Durante este proceso, algunos de los conjugados son hidrolizados para suministrar el AIA que necesita el metabolismo de la semilla. Una parte de los conjugados se mueven por el escutelo al tallo, hacia arriba y en el ápice se produce la hidrólisis. El AIA libre resultante puede difundir hacia el tejido cortical en crecimiento; en la corteza, el exceso de AIA es conjugado de nuevo. De esta forma, la concentración libre de esta hormona presenta una regulación homeostática mediante la formación de conjugación o hidrólisis. El AIA libre resultante, difunde hacia los tejidos en crecimiento, se liga a un lugar de membrana, donde el indol se destruye oxidativamente, de forma que cambia la permeabilidad de las membranas celulares.

### 3.3.3. Función de las auxinas en germinación.

La existencia de AIA en semillas y el hecho de que el contenido aumente en respuesta a cambios en las condiciones que favorecen la germinación, - puede indicar que esta hormona es importante en dicho proceso. Aunque no está claro qué papel juegan las auxinas en la germinación, la liberación de AIA desde las formas ligadas o conjugadas debe, - sin embargo, contribuir al control del crecimiento temprano de la plántula.

Las auxinas parecen ser importantes durante la embriogénesis y en las primeras horas de germinación. En judía, parece posible que las auxinas - presentes en las semillas en germinación, pudieran ser importantes al menos para la división y elongación de las células del embrión en crecimiento - (WALTON, 1966). Durante los últimos estadios de la germinación se produce una disminución en el contenido auxínico, lo que indica que el nivel de auxinas está influenciado no sólo por la liberación o la síntesis de AIA, sino también por su inactivación, destrucción o formación de nuevos complejos (KOPCEWICZ et al., 1974). Se ha observado en todas las semillas estudiadas, que las auxinas libres - disminuyen rápidamente cuando la semilla alcanza su madurez completa por convertirse en ésteres o auxinas conjugadas.

Parece probable que las citoquininas endógenas tengan un papel regulador sobre el AIA endógeno en semillas y plántulas de judía (BANDURSKI y SCHULZE, 1977; JULIN-TEGELMAN, 1979; NOOR-SALEH y HEMBERG, 1980a). Esta regulación puede ser por inactivación de la enzima AIA-oxidasa, o bien por dirigir el transporte de las auxinas.

El incremento de los niveles endógenos de -

AIA en semillas y plántulas jóvenes de judía no pueden explicarse, sin embargo, por un transporte dirigido. La explicación más probable es que la quinolina estimule la síntesis de AIA (EINSET, 1977; NOOR-SALEH y HEMBERG, 1980a,b).

Se ha observado que el AIA es promotor de la germinación de semillas (MAYER y POLJAKOFF-MAYBER, 1963) y que estimula la producción de etileno en ejes embrionarios y cotiledones (ABELES, 1972; ESASHI et al., 1977); por lo que, parece probable que en los casos que el AIA promueva la germinación se deba a la activación de la producción de etileno.

#### 3.4. Acido abscísico y germinación.

Las observaciones de que el ABA es un inhibidor del crecimiento (OHKUMA et al., 1963; CORNFORTH et al., 1965a,b) y que se produce en semillas (MILBORROW, 1967) condujeron a sugerir que el ácido abscísico debía jugar algún papel en la germinación, particularmente en las semillas que presentan un período de dormancia (ADDICOTT y LYON, 1969). Varios trabajos indican que los niveles de ABA descienden en las semillas sometidas a un tratamiento de ruptura de la dormancia, lo que apoya esta hipótesis (SONDHEIMER et al., 1968; JACKSON, 1968). Desde estas primeras observaciones son numerosos los trabajos que describen la existencia de ABA en semillas y la reducción de sus niveles en semillas durmientes durante la estratificación y la inhibición de la germinación por aplicación de ABA exógeno (WAREING y SAUNDERS, 1971; MILBORROW, 1974).

Existen muchas pruebas de que los niveles de ABA disminuyen durante la estratificación, aunque no se sabe si esta reducción es necesaria para rom

per la dormancia (SONDHEIMER et al., 1974; BARTHE y BULARD, 1978).

El ABA presenta un efecto diferencial sobre la germinación de embriones aislados y carióspsides intactas de cebada. Esto sugiere que la presencia de otras partes del grano, tienden a inactivar al inhibidor, o bien a impedir su absorción por el em brión (DUNWELL, 1981).

Si se aplica ABA exógenamente, sus efectos fisiológicos desaparecen al transferir a los tejidos a soluciones libres de ABA. Los efectos del ABA son transitorios antes de que sea retenido en los compartimentos celulares, donde es inactivo, por lo que para observar sus efectos fisiológicos se necesita una síntesis continua de ABA (WALTON et al., 1976; WALTON, 1977).

Los niveles de ABA durante el desarrollo de las semillas y posterior germinación, pueden estar también influenciados por el potencial hídrico (MILBORROW y ROBINSON, 1973; LOVEYS et al., 1975). Es posible que la síntesis de ABA se incremente marcadamente en semillas sometidas a "stress" hídrico; si esto es así, un posible papel del ABA sería frenar el proceso de germinación en las semillas que fuesen sometidas a "stress" hídrico en los primeros estadios de la germinación (WALTON, 1977).

#### 3.4.1. Función del ácido abscísico en el desarrollo de la semilla.

Durante el desarrollo de varias semillas se ha observado un pico en el contenido de ABA. El estímulo necesario para la producción del inhibidor sería el "stress" hídrico, aunque al proseguir la desecación se reducen los niveles de ABA, lo cual se podría explicar si la pérdida continua de agua

inhibiera la síntesis de ABA más que su catabolismo (McWHA, 1975).

DURE (1975) propuso un modelo para la embriogénesis del algodón que explica el papel del ABA - en este proceso. El postuló que el ABA, sintetizado en el óvulo, es transportado al embrión, donde inhibe la síntesis de RNA<sub>m</sub> específicos que codifican la síntesis de "enzimas de la germinación", lo que impide el viviparismo o la germinación precoz.

### 3.4.2. Mecanismo de acción del ácido abscísico.

El modo de acción del ABA, aún no se conoce bien aunque se ha observado que inhibe la extrusión de protones y absorción de iones potasio que se produce durante los primeros estadios de la germinación de las semillas (BALLARIN-DENTI y COCUCCI, 1979; GALLI et al., 1979), inhibiendo la toma de agua y la elongación de la radícula (WALTON, 1980).

El ABA influye en el metabolismo de los ácidos nucleicos y proteínas (WALTON, 1980; DURE et al., 1981) inhibiendo la traducción de RNA<sub>m</sub> que codifican la síntesis de enzimas específicos de la iniciación de la germinación y en algunos casos - disminuyen la síntesis de DNA.

Se ha visto que el ABA inhibe la síntesis de enzimas tales como fosfatasa ácida, peroxidasa, aminoacil-RNA<sub>t</sub>-sintetasa, catalasa, isocitrata, ribonucleasa, fenilalanil-amonio-liasa, PEP-carboxilasa, etc.

Además de los efectos inhibidores del ABA sobre la síntesis de la α-amilasa, JACOBSEN et al. - (1980), HO (1979) y RODRIGUEZ et al. (1984) han observado que el tratamiento de ABA causa la aparición de varios péptidos nuevos "in vivo". Estos pép-

tidos son formados en presencia y en ausencia de giberelinas, tienen una vida media corta y son sensibles a los inhibidores de la transcripción y la traducción.

La interpretación de los efectos del ABA se complica aún más por el hecho de que esta sustancia se metaboliza normalmente en los tejidos de la semilla (WALTON, 1980) y algunos productos de este metabolismo, particularmente el ácido faseico, son activos en ciertos tejidos vegetales.

#### 4. ETILENO Y GERMINACION

El etileno es la única sustancia natural reguladora del crecimiento conocida de carácter gaseoso, en condiciones fisiológicas de temperatura y presión. Aunque el conocimiento de que el etileno es una hormona vegetal es muy reciente, sus efectos sobre el desarrollo de la planta se conocen desde hace tiempo. Es bastante conocida su participación en la maduración de los frutos, abscisión, inhibición o estimulación del crecimiento, iniciación de raíces, iniciación de flores, liberación de la dominancia apical y epinastia de hojas, entre otros.

Puede resultar curioso que una sustancia gaseosa sea una hormona y sobretodo si pensamos en su simplicidad, en comparación con otras conocidas como ácido indol-acético, giberelinas o ácido abscísico. Sin embargo, el hecho de que sea un producto natural de la planta, que actúe en cantidades trazas y no sea ningún sustrato o cofactor en las reacciones del crecimiento y desarrollo, hicieron pensar que es una sustancia reguladora del crecimiento. Por otra parte, el que se produzca en grandes cantidades, no tenga transporte específico y afecte a otras plantas próximas, hizo dudar a cier-

tos investigadores.

Desde bastante antiguo se ha visto que el etileno estimula la germinación de las semillas, -- tanto durmientes como quiescentes (VACHA y HARVEY, 1927; HALE et al., 1943; RUGE, 1947). El primer indicio de que las semillas producían etileno se debe a DENNY y MILLER (1935). Así, estas primeras observaciones indicaban que el etileno, que rompía -- la dormancia de las semillas, era un producto natural de éstas que puede aumentar o conservar su vigor y estimular su metabolismo. El etileno induce respuestas en las plantas a concentraciones de menos de 0.1  $\mu$ l/l.

El etileno estimula la germinación de las semillas con dormancia primaria (cacahuete, trébol, etc.) o secundaria (lechuga, apio, etc.); aunque -- no es la única sustancia, ni el único medio capaz de romper la dormancia de las semillas que responden al etileno exógeno, sin embargo, la aplicación de los tratamientos que rompen la dormancia de algunas semillas sensibles al etileno, normalmente -- conducen a una producción de etileno endógeno por éstas, lo que aparentemente induce a romper su dormancia.

En semillas de cacahuete se ha demostrado -- que el etileno es el factor natural implicado en -- la liberación de la dormancia, ya que las menos -- durmientes (situadas en la parte apical de la vaina) tienen una germinación levemente más alta, con concentraciones medias de etileno mayores y mayor velocidad de síntesis de etileno que las semillas -- más durmientes (situadas basalmente en la vaina) -- (KETRING y MORGAN, 1969; 1970; 1972).

En semillas de lechuga se ha visto que el etileno ejerce su efecto sobre la liberación de la dormancia, en el período de imbibición inmediata--

mente anterior a la emergencia de la radícula; - mientras que el primer período de imbibición, no - requería la presencia de etileno (FU y YANG, 1983).

El etileno promueve el crecimiento longitudi-  
nal de los ejes embrionarios de Phaseolus y Xan---  
thium, aunque el efecto depende de las concentra--  
ciones de etileno, del tiempo de exposición y de -  
las zonas de crecimiento examinadas (GOTO y ESASHI,  
1974a,b; KATOH y ESASHI, 1975a,b).

#### 4.1. Biosíntesis y metabolismo del etile- no.

Muchas investigaciones han confirmado a la -  
metionina como precursor primario del etileno en -  
varios tejidos vegetales (ABELES, 1972; LIEBERMAN,  
1975; ADAMS y YANG, 1977; LIEBERMAN, 1979) y se ha  
descubierto el mecanismo bioquímico de la biosínte-  
sis de etileno. El grupo tio-metano ( $\text{CH}_3\text{-S-}$ ) de la  
metionina es reciclado para mantener la síntesis -  
de etileno, ya que el nivel de metionina en los te-  
jidos es muy bajo, comparado con la velocidad de -  
síntesis de etileno (ADAMS y YANG, 1977). El grupo  
tio-metano de la metionina es liberado desde S-ade-  
nosil-metionina (SAM) como metil-tio-adenosina -  
(MTA), después rápidamente hidrolizado como metil-  
tio-ribosa (MTR) y el grupo  $\text{CH}_3\text{S-}$  es reciclado de -  
nuevo en metionina.

El resultado completo de este ciclo es que -  
el grupo tio-metano se conserva para la síntesis -  
continuada de metionina, mientras que los carbonos  
3-4, de los que deriva la molécula de etileno, se  
regeneran de la ribosa del ATP.

La ruta de la biosíntesis del etileno queda-  
ría: metionina--→ S-adenosil-metionina (SAM) --→  
ácido aminociclopropano carboxílico (ACC) --→ eti

leno (ADAMS y YANG, 1979) (Fig. 1). La conversión de SAM a ACC está catalizada por la enzima ACC-sintasa que requiere piridoxal fosfato para su máxima actividad (BOLLER et al., 1979; YU et al., 1979).

El complejo enzimático que convierte el ACC en etileno todavía no ha sido identificado, aunque se sabe que es muy lábil y se considera que está ligado a la membrana (YU et al., 1979b; YOSHII et al., 1980).

Además de su conversión a etileno, el ACC es también metabolizado a N-malonil-ACC, y se ha visto que la enzima que cataliza esta reacción está presente en muchos tejidos vegetales (AMRHEIN et al., 1981; HOFFMAN et al., 1982). Actualmente se cree que la producción de N-malonil-ACC, catalizada por la N-malonil-ACC-sintasa es una vía de almacenamiento de ACC y que la célula puede emplear y transformar de nuevo en ACC en condiciones poco favorables de producción de etileno.

Además de la regulación de la síntesis de etileno, impidiéndola o estimulándola, está la posibilidad de su ruptura metabólica. BEYER (1975) encontró que el etileno era convertido a  $\text{CO}_2$  y que este inhibe dicha conversión cuando se suministra exógenamente. La máxima conversión de etileno a  $\text{CO}_2$  sigue al tipo natural de producción de etileno, lo que sugiere que el metabolismo y acción del etileno pueden estar íntimamente ligados.

La facilidad de los tejidos vegetales para metabolizar el etileno, cambia marcadamente durante el desarrollo. Se ha observado que durante las primeras horas de imbibición se producen velocidades escasamente detectables del metabolismo de etileno o de su incorporación en el tejido, sin embargo, cuando el eje empieza a elongar, ambas activi-

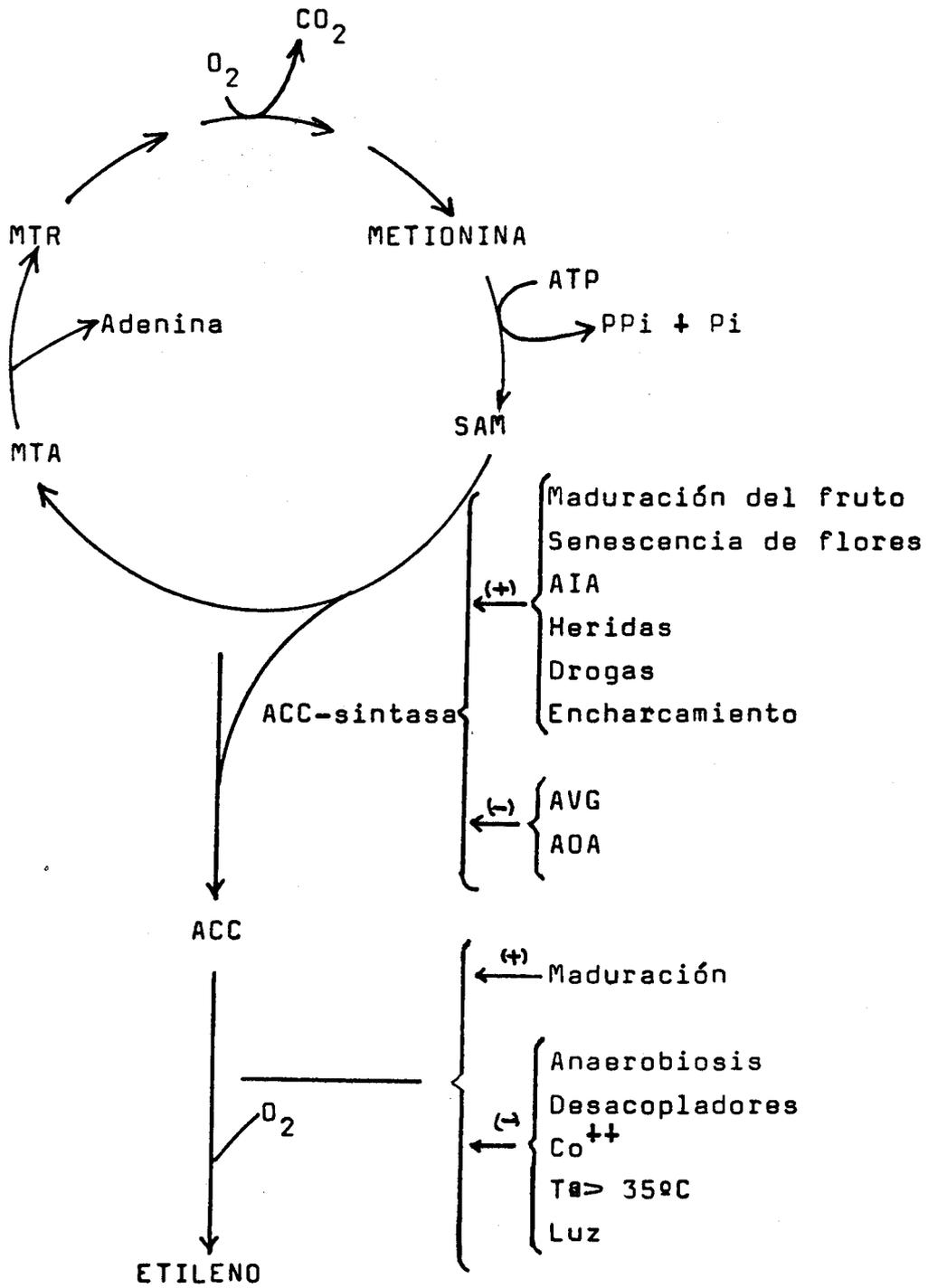


Fig. 1. Ciclo de la biosíntesis de etileno (YANG, 1981; YUNG et al., 1982). MTR= metil-tio-ribose; MTA= metil-tio-adenosina; SAM= S-adenosil-metionina; ACC= ácido aminociclopropano carboxílico; AVG= aminoetoxi-vinil-glicina; AOA= ácido amino-oxi-acético.

dades se incrementan hasta tres días después de la imbibición. Después, disminuyen hasta niveles intermedios. Si los cotiledones se separan del eje, se produce una caída en la oxidación y en menor extensión en la incorporación en los tejidos. Parece ser que el eje debe suministrar algunos factores - para mantener el metabolismo o viceversa. La separación de los cotiledones no afecta a otras actividades metabólicas tales como biosíntesis de etileno o respiración. La aplicación de auxinas retardan la oxidación del etileno, mientras que el ABA tiene efecto opuesto.

El significado exacto del metabolismo del etileno no se sabe, puede ser para retirar etileno por inactivación del mismo, o puede estar relacionado con su modo de acción (BEYER y BLOMSTROM, 1979; BLOMSTROM y BEYER, 1980).

#### 4.2. Localización de la biosíntesis de etileno.

La producción de etileno ocurre en casi todos los órganos vegetales, su velocidad de liberación varía dependiendo del tipo de órgano, así como de su estado de crecimiento y desarrollo. Se sabe poco sobre la localización de la biosíntesis de etileno a nivel tisular o celular. La producción de este gas está localizada en la cubierta de la semilla en melocotón (JERIE y CHALMERS, 1976) y en aguacate (ADATO y GAZIT, 1977a,b). Se han realizado estudios en segmentos de hipocotilo de Phaseolus, con inhibidores proteicos de la producción de etileno, que indican que la síntesis de etileno inducida por auxinas, está localizada en su epidermis (SAKAI e IMASEKI, 1973b).

En la semilla de cacahuete, el embrión es el

principal sitio de producción de etileno (MORGAN - et al., 1970). La mayor velocidad de producción de etileno se desarrolla en el hipocotilo de soja, en la zona inmediatamente debajo del arco formado por el mismo (SEYEDIN et al., 1982), de acuerdo con -- los resultados de SAKAI e IMASEKI (1971) en Phaseolus mungo. La supresión de un 50% de los cotiledones lleva consigo la reducción del desprendimiento de etileno casi un 50% a 25°C, pero no a 30°C, por lo que algún factor desconocido, suministrado por los cotiledones puede regular la producción de etileno en el hipocotilo a 25°C (SEYEDIN et al., 1982).

Por lo que respecta a su localización subcelular, se ha demostrado que la producción de gas -- está relacionada con el plasmalema (ODAWARA et al., 1977). Existen varias razones para asegurarlo:

1) Se requiere su estabilidad para producir etileno, incrementándose con un aporte de iones -- calcio (MATTOO et al., 1977).

2) Es preciso un entorno lipídico apropiado (matriz).

3) La producción de gas no se ve afectada -- por variaciones de presión osmótica.

4) En Phaseolus arvense se ha aislado una -- protefna relacionada con la membrana plasmática, -- cuya presencia en ella está en relación con la bio síntesis de etileno.

5) Los protoplastos aislados no sintetizan e tileno, mientras que si se regeneraban sus paredes celulares, recuperaban esta capacidad, siendo ésta dependiente de la aplicación de metionina (MATTOO y LIEBERMAN, 1977a,b).

#### 4.3. Control de la biosíntesis de etileno.

##### 4.3.1. Factores no hormonales.

Numerosos factores afectan la producción de etileno tales como temperatura, luz, otros gases - (oxígeno y anhídrido carbónico principalmente) y - numerosas situaciones de "stress" tales como déficit hídricos, tratamientos con ciertos agentes químicos, temperaturas bajas, encharcamiento, radiaciones, heridas de insectos, infecciones microbianas y heridas mecánicas, entre otros.

##### 4.3.2. Factores hormonales.

###### 4.3.2.1. Auxinas.

El AIA induce la producción de etileno en - gran número de plantas, atribuyéndose en la actualidad al gas inducido muchos de los efectos que ejerce la auxina sobre el crecimiento.

La auxina debe estar continuamente presente para que se produzca etileno (ABELES, 1973; LAU y YUNG, 1974), además se necesita oxígeno para esta inducción (IMASEKI et al., 1977).

En los segmentos de mesocotilo de sorgo (Sorghum bicolor L. Moench) la velocidad de síntesis - de etileno es mayor en los tratados que en el control, 15 minutos después de añadir concentraciones altas de AIA. Durante este período latente, en este sistema, la auxina debe entrar en el tejido y - tener su acción inicial. Después el etileno debe - ser sintetizado y salir del tejido para poder ser medido. Esto sugiere que las moléculas de auxinas comienzan su acción modificando la producción de - etileno rápidamente, después de entrar en el tejido y su acción continúa con el tiempo, por lo que, este período latente (10-15 minutos) para promover el crecimiento, indica que la acción primaria de -

las auxinas no es la inducción de la síntesis de proteínas con papel enzimático en la elongación de la pared celular, ni tampoco la inducción de la síntesis de enzimas que conviertan un precursor a etileno, pero para mantener la producción de éste, probablemente requiere tal síntesis (FRANKLIN y MORGAN, 1978).

STEEN y CHADWICK (1973) propusieron la existencia de un sistema formador de etileno basal, que producía niveles trazas de etileno en todo tiempo, en los tejidos que crecen activamente, que podía estar sometido a control regulador y a una estimulación por concentraciones bajas de auxinas, sin necesidad de la síntesis de proteínas "de novo". Un segundo sistema con respecto a la inducción por niveles altos de auxina, parece estar asociado con la síntesis de proteínas e induce cantidades considerablemente mayores de etileno, mientras más auxina libre esté presente en el tejido (KANG et al., 1971; LIEBERMAN y KUNISHI, 1975).

La auxina estimula la conversión enzimática de S-adenosil-metionina (SAM) a ácido aminociclopropano carboxílico (ACC) (JONES y KENDE, 1979; YU y YANG, 1979; YU et al., 1979b), único paso no constitutivo de plantas. La formación de etileno, mediada por concentraciones altas de auxinas puede ser bloqueada por inhibidores de la síntesis de proteínas, lo que indica que este proceso es necesario que se realice de forma continua para que se produzca etileno a gran velocidad (ABELES, 1966; KANG et al., 1971; SAKAI e IMASEKI, 1971; SHINGO e IMASEKI, 1971; STEEN y CHADWICK, 1973; IMASEKI et al., 1977). Posteriores estudios usando inhibidores de la síntesis de RNA indican que la acción de las auxinas puede ser a nivel de la RNA-polimerasa nucleoplasmática II (LIEBERMAN y KUNISHI, 1975).

La auxina induce la formación de la enzima - ACC-sintasa (YU y YANG, 1979; JONES y KENDE, 1979), esta inducción está asociada con la síntesis "de novo" de la enzima (YOSHII e IMASEKI, 1981; YU y YANG, 1980; KENDE y BOLLER, 1981). La síntesis y acumulación de ACC depende de la concentración de auxinas y el contenido de ACC en el tejido regula primariamente la velocidad de producción de etileno (YOSHII e IMASEKI, 1981) y el etileno actúa como autoinhibidor de su propia síntesis (YOSHII e IMASEKI, 1982). La auxina aumenta la síntesis y acumulación de RNA (GUILFOYLE et al., 1975; MELANSON e INGLE, 1978) y altera los tipos de proteínas sintetizadas (ZURFLUH y GUILFOYLE, 1980).

La ACC-sintasa es la enzima clave de la biosíntesis de etileno y el control de su concentración parece estar acomplejado por equilibrio dinámico entre la rápida síntesis y la inactivación de esta enzima (YOSHII e IMASEKI, 1982). En hipocotilos de Vigna radiata tratados con auxinas, se indican tres aspectos de ACC-sintasa: síntesis "de novo", labilidad endógena y represión de la formación inductiva por etileno (YOSHII e IMASEKI, 1982).

El sistema productor de etileno, inducido por auxinas, requiere oxígeno como un factor esencial, debido a que la anaerobiosis impide la formación de etileno. IMASEKI et al (1977) sugieren que este sistema contiene múltiples sitios de enlace al oxígeno y que esta unión es esencial para la activación del sistema, sin embargo, no se sabe si el oxígeno sirve como sustrato para dicha conversión o como activador del sistema enzimático.

El AIA interfiere con la biosíntesis de etileno a nivel del metabolismo de los ácidos nucleicos y de la síntesis de proteínas en coleoptilos de trigo (MACHACKOVA et al., 1980) y se ha observa

do que no solo el AIA, sino también otras auxinas tienen efectos similares (MACHACKOVA et al., 1981) por lo que el sitio de unión para las auxinas parece ser de baja especificidad.

#### 4.3.2.2. Giberelinas.

Estas dos sustancias reguladoras del crecimiento (giberelinas y etileno) unas veces actúan sinérgicamente y otras antagónicamente. Se ha visto que donde el etileno actúa como promotor del crecimiento, el CO<sub>2</sub> y las giberelinas realzan su acción, como las auxinas, mientras que en los sistemas en los que el etileno actúa como inhibidor del crecimiento, las giberelinas, el CO<sub>2</sub> y las auxinas son antagónicas del mismo (LIEBERMAN y KUNISHI, 1972).

Se ha sugerido que las interacciones entre giberelinas y etileno pueden determinar el tamaño y la forma final de las células del tallo (LIEBERMAN, 1979).

En semillas, las giberelinas son inactivas o tienen poco efecto sobre la producción de etileno (ABELES, 1973; LIEBERMAN, 1975; MONDAL, 1975). En semillas de cacahuate, el ácido giberélico estimula débilmente la producción de etileno y su germinación (KETRING y MORGAN, 1970), aunque está menos relacionado con las reacciones inmediatas que rompen la dormancia de estas semillas, que con la producción de etileno, ya que ni la magnitud, ni la velocidad de germinación alcanzadas por aplicación del ácido giberélico, se aproximan a las obtenidas con concentraciones bajas de etileno.

La inducción de la germinación por el etileno es parcialmente dependiente de los sistemas biológicos alternativos, regulados por giberelinas -

(DUNLAP y MORGAN, 1977a,b).

#### 4.3.2.3. Citoquininas.

Las citoquininas aumentan la producción de etileno en muchas especies (ABELES, 1973; LIEBERMAN, 1975; ZIMMERMAN et al., 1977). Citoquininas como bencil-adenina, isopentenil-adenina, zeatina, sus correspondientes ribósidos y quinetin-ribósidos, estimulan la producción de etileno tan efectivamente como la quinetina y son tan efectivas, así mismo, en estimular la producción de etileno sinérgicamente con AIA y  $Ca^{++}$ , como la quinetina (LAU et al., 1977).

Las citoquininas rompen la dormancia de muchas semillas, pero su efecto sobre la producción de etileno no ha sido suficientemente estudiado. Cuando las semillas de cacahuete tipo Virginia se imbibieron con quinetina o bencilamino-purina (BAP), se observó que la BAP era más eficaz en las semillas basales, inherentemente más durmientes, que la quinetina y la producción de etileno se estimulaba, alcanzando un máximo a las 24 horas del inicio de la imbibición con BAP (KETRING y MORGAN, 1971).

El  $Ca^{++}$  incrementa tanto la absorción, como el metabolismo de la quinetina y ésta también incrementa grandemente la absorción de  $Ca^{++}$  (LAU y YANG, 1975). La influencia estimuladora del  $Ca^{++}$  sobre la producción de etileno, puede estar relacionada con la estabilización del sistema enzimático productor de etileno, que parece estar localizado en la membrana plasmática (MATTOO y LIEBERMAN, 1977a,b). Otras moléculas de citoquininas también actúan sinérgicamente con el  $Ca^{++}$  y el AIA en la producción de etileno, como la quinetina (LAU et -

al., 1977).

Existen tres mecanismos posibles para explicar la interacción entre los iones  $\text{Ca}^{++}$  y la quinina sobre la producción de etileno:

1) El  $\text{Ca}^{++}$  afecta la absorción y el metabolismo de quinina, que es la responsable de la producción de etileno.

2) La quinina afecta la absorción o el transporte de  $\text{Ca}^{++}$  (o ambos), que es a su vez responsable de la producción de etileno.

3) Quinina y  $\text{Ca}^{++}$  están directamente involucradas en la producción de etileno (LAU y YANG, 1975).

De acuerdo con la hipótesis de LeJOHN y STEVENSON (1973), LAU y YANG (1975) sugieren que en ausencia de quinina, el  $\text{Ca}^{++}$  absorbido por los segmentos de hipocotilo, se liga a un componente de la pared celular, por lo que no es disponible en el sitio de producción de etileno; la aplicación de quinina podría estimular la liberación de los iones calcio desde la pared celular y aumentar su transporte al sitio de la célula en el que se sintetiza etileno, aunque también sus datos están de acuerdo con que tanto la quinina como los iones calcio, actúan directa y cooperativamente en la producción de etileno.

YU et al., (1981) dividen a las citoquininas en cuatro grupos, de acuerdo con su actividad sinérgica con los iones calcio en la producción de etileno:

1) Las citoquininas muy activas, que incluyen todas las bases libres, que causan un incremento de 7-8 veces en la producción de etileno, comparándolo con la suma del gas producido con calcio -

sólo, más el producido en respuesta a la citoquinina sola.

2) Las citoquininas moderadamente activas, - que incluyen las metiltioladas o las ribosiladas.

3) Las citoquininas débilmente activas, incluyen las formas simultáneamente metiltioladas y ribosiladas, que causan poca producción de etileno, pero aún tienen un efecto obviamente sinérgico.

4) Las citoquininas inactivas, que incluyen las formas hidroxiladas en la posición 2, las cuales tienen poco o ningún efecto sinérgico.

La producción de etileno en respuesta a la aplicación exógena de citoquinina depende de la absorción, transporte y metabolismo en el tejido, así como su función en el sitio(s) de acción de la citoquinina. No está claro si las diferencias en función de las distintas estructuras son debidas a distinta absorción y/o metabolismo, o son causadas por diferencias en los requerimientos estructurales para la actividad citoquinínica en distintos tejidos vegetales o en diferentes procesos biológicos (YU et al., 1981).

#### 4.3.2.4. Acido abscísico.

El ABA, como el etileno, inhibe el crecimiento de plántulas de guisante etiolado, pero las plántulas tratadas con ABA no mostraban la característica respuesta triple de las plántulas tratadas con etileno (LIEBERMAN y KUNISHI, 1971). Las plántulas tratadas con ABA, también muestran disminución en la producción de etileno (GERTMAN y FUCHS, 1972; LIEBERMAN y KUNISHI, 1972). Como se ha visto anteriormente, el AIA y la quinolina estimulan la producción de etileno en estas plántulas, mientras que el ABA la inhibe considerablemente. La adición

de ABA y etileno sobre plántulas de guisante etiolado, conduce a incrementar la inhibición del crecimiento del hipocotilo, comparándolo con los resultados obtenidos para cada hormona por separado (LIEBERMAN y KUNISHI, 1972). Estos resultados sugieren que el ABA y el etileno inhiben el crecimiento en estas plántulas, por mecanismos diferentes. GERTMAN y FUCHS (1972) obtuvieron resultados similares en plántulas de guisante etiolado, en las que se observó que el ABA causa una inhibición de la producción de etileno, tanto endógena como inducida por auxinas (KONDO et al., 1975).

#### 4.4. Mecanismo de acción del etileno.

Mientras que en la actualidad se conoce casi en su totalidad la biosíntesis del etileno, no sucede lo mismo con su mecanismo de acción. Aspectos como: receptor del etileno, unión de la hormona al receptor para desencadenar la respuesta primaria y las características de la propia respuesta primaria, son casi desconocidos.

Debido a las características moleculares del etileno, puede unirse a un receptor que contenga un metal, que bien podría ser el cinc.

El etileno es muy soluble en lípidos, por lo que podría unirse al plasmalema en el que se encontraría su centro activo. Sin embargo, estudios del efecto del gas sobre la permeabilidad en membranas artificiales, hacen pensar que no sea esa su acción principal, ya que otros alquenos la afectan de forma parecida y no poseen actividad hormonal.

Se ha observado que el etileno induce un cambio de volumen en las mitocondrias (KU y LEOPOLD, 1970) y se han visto algunas diferencias fundamentales entre las mitocondrias de las semillas y las

de otras fuentes, viéndose que su incremento de volumen no es una acción específica del etileno. Se ha sugerido que si la acción del etileno está mediada por algún cambio en la integridad de la membrana, esto no ocurre por medio de un simple efecto físico (MEHARD y LYONS, 1970). Aunque esto no sea cierto, las diferencias entre las mitocondrias de las semillas y las de otras fuentes, así como sus propiedades cambiantes durante la germinación ofrecen un importante área de investigación, para ver los efectos del etileno durante las primeras horas de germinación (MAYER y SHAIN, 1974).

La producción de etileno por tejidos vegetales es estimulada por un grupo de proteínas y algunos detergentes, lo que sugiere que la modificación de la membrana celular conduce a cambiar la velocidad de producción de etileno, es decir, que la membrana celular parece estar implicada en un mecanismo que regule la producción de etileno, o lo que es lo mismo, que dicha producción está controlada por la actividad de la membrana (IMASEKI y WATANABE, 1978).

Se ha visto que el sitio de unión del etileno, descrito en cotiledones en desarrollo de Phaseolus vulgaris (BENGOCHEA et al., 1980a,b), está localizado primariamente sobre el sistema de endomembranas (MORRE y MOLLENHAUER, 1974) y las membranas de los cuerpos proteícos en las células. Un 85% de esta actividad está asociada con orgánulos de bajo coeficiente de sedimentación, lo que indica su localización sobre las membranas de los mismos. El 15% restante se atribuyó a componentes celulares tales como: paredes celulares, núcleo, cloroplastos, mitocondrias y amiloplastos (EVANS et al., 1982).

Bastante cantidad de etileno se encontraba ligado al retículo endoplasmático rugoso, que constituya también el sitio de unión de alta afinidad para las auxinas en coleoptilos de maiz (RAY, 1977); parte del etileno, también se une a una fracción de la membrana plasmática, pero no a su totalidad (EVANS et al., 1982). El significado fisiológico de esta unión a las endomembranas no se puede relacionar, hasta ahora, con su respuesta fisiológica y en los cotiledones en desarrollo de Phaseolus vulgaris, este fenómeno no puede considerarse que represente un receptor hormonal en sentido estricto (EVANS et al., 1982).

Otro nivel de actuación del etileno sería su efecto sobre el metabolismo de los ácidos nucleicos y de las proteínas, siendo hoy en día el supuesto más atrayente respecto a su mecanismo de acción. Se han hecho numerosos trabajos para ver la influencia del etileno y sus posibles interacciones con otras hormonas sobre la síntesis o liberación de enzimas hidrolíticas (JACOBSEN, 1972; KLUGE y BORRIS, 1974); aunque los datos son algo contradictorios, el sistema  $\alpha$ -amilasa demuestra ser importante en la fisiología del etileno:

1) El etileno aparentemente afecta la síntesis y secreción enzimática.

2) El etileno interacciona con los inhibidores del crecimiento, tales como ABA, a nivel de metabolismo básico.

3) Para alcanzar el máximo de una respuesta fisiológica dada, puede necesitarse una combinación de promotores del crecimiento.

4) Una respuesta fisiológica dada, no es específica para un único promotor del crecimiento.

La hidrólisis de los principales componentes de reserva (lípidos, proteínas y carbohidratos) de la semilla se producen más tarde en los procesos de germinación y la actividad del etileno, en este aspecto, es probablemente una consecuencia de su efecto sobre la ruptura de la dormancia o de acelerar la iniciación de la emergencia de las semillas no durmientes (KETRING, 1977).

#### 4.5. Modelos de producción de etileno durante la germinación de las semillas.

Se ha observado desprendimiento de etileno tanto en las semillas durmientes como en las no durmientes. En avena (MEHERIUK y SPENCER, 1964) existe producción de esa hormona antes de la emergencia de la radícula y aumenta gradualmente, hasta alcanzar un máximo a los 8-10 días, declina y vuelve a aumentar a los 14 días del inicio de la imbibición. También en avena, ADKINS y ROSS (1981) midieron unas pequeñas cantidades de etileno metabólico cuando las semillas estaban aún secas; mientras que después de la imbibición, la producción de etileno se incrementaba cinco veces, antes de volver a descender a niveles más bajos; un segundo pico en la síntesis se detectó después de 24 horas de imbibición, coincidiendo con el comienzo de la protusión visible de la radícula; después de 40 horas posiblemente disminuía debido al aumento de etileno en la cámara, lo que tenía un efecto "feedback" sobre el desprendimiento.

En semillas de ricino se observaron tres picos de producción de etileno, durante la germinación, uno a los tres días, que coincidía con la ruptura de la cubierta y emergencia de la radícula; el segundo pico era a los 8-10 días y el tercero a los 14-15 días del inicio de la imbibición (SPEN--

CER y OLSON, 1965). Los dos últimos picos coincidían con las fases de crecimiento rápido de la plántula.

Las semillas no durmientes de cacahuete también desprenden etileno (KETRING y MORGAN, 1969) y las semillas que no germinaban, producían bajos niveles de etileno. La mayor producción ocurre en los primeros estadios de crecimiento, cuando presentan una longitud de hipocotilo radícula de unos 5 mm. Como en el caso de los cacahuetes durmientes, en los no durmientes, el embrión es el principal sitio de producción de dicho gas. En los cacahuetes no durmientes, la producción de etileno comienza a aumentar antes de observar ningún signo visible de crecimiento, presenta un pico cuando la radícula emerge del hipocotilo-radícula y un segundo pico cuando la radícula emerge desde el hipocotilo (MORGAN et al., 1970).

Durante la germinación de semillas de lechuga se detectaron dos velocidades de producción de etileno distintas, que se correlacionaron con distintos estadios de germinación. Antes de la emergencia de la radícula, dicha producción se realiza a un nivel muy bajo y durante la misma, se lleva a cabo la máxima velocidad de síntesis de etileno; por lo que, esta máxima liberación no puede ser responsable de la iniciación de la germinación, aunque refleja procesos de crecimiento dependientes de ella. Antes de iniciarse la germinación, debe obtenerse una pequeña respuesta umbral por la presencia de etileno, como inducir actividad celular suficiente como para romper la cubierta de la semilla, antes de la germinación (DUNLAP y MORGAN, 1977a,b).

La velocidad máxima de producción de etileno

de semillas de calabaza ocurría a las 48 horas después de la imbibición, luego descendía lentamente, tanto si se guardaban en luz como en oscuridad, - mientras que la radícula emergía a las 24 horas - (SALVEIT y PHARR, 1980). Antes de la emergencia de la radícula se puede esperar el incremento de etileno, ya que se ha demostrado que la limitación física del crecimiento estimula la producción del gas (GOESCHL et al., 1966). Esto indica que un estado específico del desarrollo puede estar asociado con la velocidad de liberación de etileno (SALVEIT y PHARR, 1980).

En Brassica napus L. solo se observó un pico de producción de etileno que coincide con el período de elongación de la radícula, expansión de los cotiledones y ruptura de la cubierta de la semilla durante la germinación (TAKAYANAGI y HARRINGTON, - 1971). De forma similar, las semillas de algodón - también producían un único máximo de producción de etileno, que coincidía con un tamaño de radícula - de 8-10 mm (KETRING et al., 1974).

De todos estos trabajos se deduce que en el desprendimiento de etileno, el aspecto crítico es el estado de crecimiento y no el tiempo de germinación, ya que en un lote de semillas de bajo vigor, en el que la germinación está retrasada, el máximo desprendimiento de etileno ocurre a la vez que la emergencia y por otra parte, en semillas relativamente uniformes de alto vigor, la emergencia y el desprendimiento de etileno coinciden.

La supresión de la cubierta de la semilla de Phaseolus vulgaris cambia drásticamente el modelo del desprendimiento de etileno durante la germinación, el pico se adelanta y se dobla, comparándolo con el de las semillas intactas. Las semillas, desprovistas de cubierta muestran también un creci---

miento más vigoroso (De GREEF y De PROFT, 1978).

Estos modelos de producción de etileno sugieren que el etileno participa en fases particulares del crecimiento de la radícula o del hipocotilo-radícula de las distintas semillas, ya que las semillas de mayor vigor y germinabilidad lo producen en mayor cantidad que las de baja germinabilidad y vigor (KETRING, 1971).

Una semilla que sintetiza etileno puede mantener probablemente una concentración estable en los tejidos, por lo que concentraciones ambientales menores, pueden tener poca influencia sobre la semilla. De acuerdo con esta hipótesis, cualquier factor que influyera sobre la velocidad de la síntesis de etileno, podría alterar la respuesta umbral al etileno exógeno. Tal efecto puede manifestarse en forma de interacciones sinérgicas o antagónicas, en experimentos factoriales, que incluyesen un tratamiento de etileno a un nivel de  $0 \mu\text{l/l}$ ; pero podría ser erróneo, si el tratamiento más bajo es por ejemplo  $1 \mu\text{l/l}$  (SCHONBECK y EGGLEY, 1980).

Se ha supuesto que el modelo cambiante de liberación de etileno de las semillas representa un cambio en la capacidad para sintetizarlo, pero parece ser que existen dudas acerca de esta hipótesis. La concentración de etileno, en el espacio intercelular de los tejidos, se ha supuesto que se mantiene constante en relación con la concentración celular. Se ha sugerido que el etileno endógeno no puede ser compartimentado. HALL et al. (1979) proponen, que los cambios en la liberación del etileno por zonas de la planta pueden reflejar, al menos en parte, cambios en la capacidad del tejido para compartimentar etileno, producido endógenamente y/o la liberación de etileno previamente compartimentado. HALL et al. (1979) consiguieron separar

una fracción libre de células de los cotiledones - de Phaseolus vulgaris, que tienen la habilidad de enlazar etileno con alta afinidad. Estos autores, con microscopio electrónico, observaron que esta fracción consiste casi exclusivamente en vesículas de membranas y experimentos preliminares, con enzimas marcadoras, indican que esta actividad está localizada sobre elementos del retículo endoplasmático. Este sistema muestra varias características: - saturabilidad, alta afinidad y alta especificidad para el etileno. Por lo tanto, este sistema debe tener alguna función:

1) El sistema puede servir como un mecanismo para regular el estado del etileno en la semilla, durante la fase de maduración o durante la temprana fase de germinación, como ya sugerimos.

2) El sistema puede constituir un receptor - en el sentido normal.

En resumen, se considera posible que dicho sistema represente un medio de almacenamiento de etileno, para liberarlo en un determinado estadio de ontogenia. Las dos alternativas no son excluyentes y no hay razón, por la que un receptor no pueda también funcionar, en la planta, controlando el estado del regulador del crecimiento para el que es específico.

Los modelos de producción de etileno endógeno sugieren que esta hormona actúa en los procesos de crecimiento específicos que ocurren durante la emergencia y posterior crecimiento de semillas no durmientes. Varios hechos apoyan esta conclusión:

1) Los modelos de producción de etileno en semillas cambian, pero el máximo coincide con la emergencia u otro estadio de crecimiento específico.

2) El tratamiento de etileno exógeno mejora la velocidad de germinación de las semillas con vigor reducido.

3) La estimulación del crecimiento de órganos de las semillas (cotiledones, ejes, hipocotilo) depende de las cantidades y regulación adecuadas de etileno.

Es evidente que el etileno afecta los procesos bioquímicos que ocurren en la semilla y que hay un lapsus de tiempo bastante amplio, durante el cual puede actuar. Los modelos cambiantes de producción de etileno, pueden reflejar los distintos niveles requeridos para regular los procesos bioquímicos relacionados con el crecimiento que se produce simultáneamente.

### III. MATERIAL Y METODOS

### III. MATERIAL Y METODOS

#### 1. MATERIAL VEGETAL.

Se utilizaron semillas de Phaseolus vulgaris L. variedad eagle. Estas semillas fueron suministradas por Asgrow International Corporation, distribuidas para España por el Complejo Agrícola de Semillas S.A.

#### 2. PREPARACION DEL MATERIAL.

##### 2.1. Esterilización del material fungible.

El material de vidrio una vez limpio, se esterilizó lavándolo con cloroformo, el cual se dejó evaporar en una estufa a 60°C durante 24 horas.

El papel de filtro, así como el agua destilada

da se esterilizaron en autoclave. Las pinzas y agujas enmangadas se esterilizaron flameándolas a la llama.

## 2.2. Esterilización del material vegetal.

Se eligieron semillas cuyo número dependía del estudio a realizar y después de hacer una selección previa, desechando aquellas que presentaban alguna alteración externa, se pusieron estas semillas en un vaso de precipitado y se cubrieron con una solución de cloruro mercúrico al 2.5% durante 15 minutos (BONNIER y BRAKEL, 1970). Una vez pasado este tiempo, se lavaban bien las semillas tres veces con agua destilada esteril.

## 2.3. Imbibición de las semillas.

Una vez esterilizadas las semillas y eliminado el cloruro mercúrico, como se describe en la sección anterior, se cubrieron las semillas con agua destilada esteril. Al vaso de precipitado se le acoplaba una bomba de pecera, para suministrar aireación durante el período de imbibición que fue de  $6 \pm 2$  horas.

Se eligió el tiempo de 4 horas de imbibición antes de comenzar a aislar, porque era el tiempo mínimo necesario para que los ejes embrionarios se imbibieran totalmente, separándose así de los cotiledones a los cuales estaban íntimamente unidos mientras las semillas estaban secas, permitiendo de esta forma aislar los ejes embrionarios con facilidad sin romperlos.

## 2.4. Obtención de semillas sin testa, ejes embrionarios y cotiledones.

A las 4 horas del inicio de la imbibición, -

se procedió a eliminar las testas de las semillas y a separar los ejes embrionarios de los cotiledones con ayuda de unas pinzas y una aguja enmangada previamente esterilizadas.

Las semillas sin testas, así como los ejes embrionarios y los cotiledones, se fueron situando sobre una gasa hidrófila esteril, colocada sobre una placa de Petri en forma de bastidor. Esta placa de Petri se cubrió completamente de agua destilada esteril y se puso sobre otra placa de Petri de mayor diámetro. Esto permitió al material vegetal mantenerse húmedo, pero no encharcado.

El material así obtenido se dejó en las condiciones antes descritas durante 1 hora, para evitar posibles efectos de la manipulación sobre el desprendimiento de etileno. A continuación se procedió a introducir dicho material en los frascos de vidrio, provistos de tapón de rosca, para la medida de etileno, como se describirá en secciones posteriores.

### 3. TECNICAS ANALITICAS.

#### 3.1. Determinación de etileno.

##### 3.1.1. Metodología.

Se utilizaron frascos de vidrio de 50 ml, provistos de tapón de rosca oradado y cubierto el orificio con un septum de silicona, el cual se cubrió con silicona solidificable para asegurar el cierre total. Periódicamente se revisaron los tapones para comprobar que mantenían las condiciones de cierre hermético, desechándose los que se encontraban deteriorados.

Los frascos llevaban en su interior un disco de papel de filtro de 3.5 cm de diámetro, humedeci-

do con 1 ml de la solución correspondiente al tratamiento elegido. Sobre el papel de filtro se colocó el material vegetal, el cual fué siempre un número de diez para semillas intactas, sin testas o ejes embrionarios y un número de veinte en el caso de los cotiledones.

Una vez metido en los frascos el material vegetal, se cerraron éstos, anotándose la hora de cierre y se cubrieron con papel de aluminio, para que la germinación transcurriera en oscuridad. A continuación se llevaron los frascos a una estufa de germinación, termostaticada a 25°C (temperatura óptima para la germinación de estas semillas) donde se conservaron durante toda la duración del experimento, sacándose única y exclusivamente para la medida.

### 3.1.2. Medida del etileno liberado.

Pasadas 24 horas, desde que se cerraron los frascos, se tomó 1 ml de la atmósfera interior mediante una jeringa de gases, determinando su contenido en etileno mediante cromatografía de gases.

Una vez realizada la medida de la liberación de etileno se efectuó el vacío en el interior de los frascos de vidrio, con el fin de favorecer la liberación de etileno del material vegetal, extrayendo por lo tanto, la cantidad de etileno liberada por las semillas, ejes embrionarios o cotiledones en las últimas 24 horas. A continuación se permitió la entrada de aire en el interior de los frascos, se cerraron y se volvieron a guardar en la estufa de germinación. Esta operación se repitió a las 48, 72 y 96 horas del final de la imbibición, para la obtención de la curva de desprendimiento de etileno a lo largo del tiempo.

### 3.1.3. Medida del etileno ligado.

HALL et al. (1979) observaron en cotiledones aislados de Phaseolus vulgaris, que éstos acumulaban etileno marcado, el cual era casi completamente liberado calentando a 60°C. Nosotros hicimos una experiencia para ver cual era la temperatura óptima y el mínimo tiempo necesario para obtener el etileno ligado y se observó que al aumentar la temperatura por encima de 60°C, no se consiguió mayor liberación de etileno y que al mantenerlo a esta temperatura, iba aumentando la liberación de este etileno hasta llegar a 12 horas, por encima de las cuales, no siguió aumentando la cantidad de etileno. Por lo tanto, nosotros elegimos la temperatura de 60°C durante 12 horas, como el óptimo para obtener todo el etileno ligado.

El procedimiento que seguimos para medir el etileno ligado fué el siguiente. Una vez efectuada la medida de etileno desprendido, se tomaron tres de los frascos por tratamiento y una vez aireados, se llevaron a una estufa, termostaticada a 60°C, durante 12 horas. Una vez transcurrido dicho tiempo, se sacaron de la estufa los frascos, se dejaron enfriar durante 4 horas a temperatura ambiente y a continuación se midió la cantidad de etileno en dichos frascos. Las semillas o los ejes embrionarios de estos frascos, una vez medido el etileno, se utilizaron para medir el crecimiento de la plántula.

### 3.1.4. Preparación de los patrones.

Como patrón se utilizó etileno suministrado por la S.E.O. de una pureza de 99.3%, inyectando siempre en el cromatógrafo 1 ml de las concentraciones que expresadas en  $\mu\text{l}/\text{l}$  fueron las siguientes.

tes:

0.01    0.1    1    10    100

Con estos valores se realizó una curva patrón, poniendo en abscisas el área de los picos del gráfico del cromatógrafo y en ordenadas las concentraciones de etileno inyectadas. Los valores de las medidas realizadas se obtuvieron por interpolación en la gráfica.

### 3.1.5. Instrumental.

El cromatógrafo utilizado fué un Carlo-Erba FTV-2350 que posee un detector de ionización de llama de hidrógeno con un flujo de 30 ml/m y un flujo de aire de 300 ml/m. La columna empleada fué de poropak-Q de 60-80 mesh, con un tamaño de 2m de longitud por 4 mm de diámetro.

La temperatura del horno fué de 70°C y la del inyector de 150°C. El gas portador fué nitrógeno, con una velocidad de flujo de 35 ml/m.

### 3.1.6. Expresión de los resultados.

El etileno desprendido se expresó de dos formas distintas: nl/semilla y nl/hora/semilla. Con objeto de ver el etileno desprendido de forma acumulada a lo largo del tiempo, se fueron sumando los valores de etileno desprendido a las 24 horas y a las 48 horas, considerándose este valor como el etileno total desprendido hasta ese momento. Para obtener el total desprendido hasta las 72 horas, se sumaron los valores obtenidos a las 24, 48 y 72 horas. De la misma forma, se sumaron los valores de las 24, 48, 72 y 96 horas para obtener el total desprendido hasta las 96 horas. Estas sumas

se realizaron lógicamente en las unidades nl/semilla ya que este valor fué el que desprendieron en los intervalos de 24 horas.

El etileno ligado se expresó en nl/semilla.

#### 4. MEDIDA DEL CRECIMIENTO DE LA PLANTULA.

Se pusieron a germinar las semillas en las condiciones antes descritas. Una vez medido el etileno ligado a las 24, 48, 72 y 96 horas, se sacaron las semillas intactas, las desprovistas de testa, así como los ejes embrionarios de los frascos y con la ayuda de una regla milimetrada se midió el crecimiento de la radícula más hipocotilo de cada una de las plántulas (REID, 1971).

#### 5. METODO DE EVALUACION DEL PORCENTAJE DE EMERGENCIA RADICULAR.

Para obtener el tanto por ciento de emergencia radicular se procedió de la siguiente manera: transcurridas las primeras 24 horas de germinación se sacaron los frascos de la estufa y se procedió al contaje del número de semillas en las que aparecía la radícula ya emergida y de aquellas en las que la emergencia no había comenzado. A continuación se les volvió a poner en las mismas condiciones que tenían introduciéndolas de nuevo en la estufa para que siguieran germinando. A las 48 horas de germinación se volvió a llevar a cabo un nuevo recuento. La operación se repitió a las 72 y 96 horas de germinación.

## 6. EXPERIENCIAS REALIZADAS.

### 6.1. Experiencia A.

#### 6.1.1. Objetivos.

En esta experiencia se trataba de ver la evolución de etileno a lo largo del tiempo, tanto en las semillas intactas, como en las desprovistas de cubiertas y por otro lado ver que partes de la semilla estaban implicadas en el desprendimiento.

#### 6.1.2. Parámetro medido.

- Etileno liberado.

#### 6.1.3. Diseño estadístico.

Se hicieron una serie de ensayos con los materiales vegetales antes indicados (semillas intactas, semillas sin testas, ejes embrionarios y cotiledones) y en las condiciones descritas anteriormente.

El número de repeticiones en estos ensayos fué de cuatro por cada uno de los materiales vegetales empleados, haciendose medidas de etileno a las 24, 48, 72 y 96 horas de germinación.

El análisis estadístico realizado fué un análisis de varianza de dos direcciones (repeticiones y material vegetal) y cálculo de las mínimas diferencias significativas entre los distintos materiales vegetales.

### 6.2. Experiencia B.

#### 6.2.1. Objetivos.

En este ensayo se pretendió determinar las concentraciones óptimas de los reguladores del crecimiento vegetal (promotores e inhibidores), así -

como de algunos de los precursores de éstos (metio  
nina y triptófano) sobre el desprendimiento de eti  
leno.

#### 6.2.2. Parámetros medidos.

- Etileno liberado
- Porcentaje de germinación.

#### 6.2.3. Diseño estadístico.

Se hicieron una serie de experiencias para -  
cada uno de los materiales vegetales antes indica-  
dos (semillas intactas, semillas sin testas, ejes  
embrionarios y cotiledones) para cada una de las -  
sustancias empleadas y en las condiciones descri--  
tas anteriormente. Se puso un control con agua des  
tilada y como tratamientos: ácido indol-acético -  
(Ensayo B-1), quinetina (Ensayo B-2), ácido giberé  
lico (Ensayo B-3), ácido abscísico (Ensayo B-4), -  
metionina (Ensayo B-5) y triptófano (Ensayo B-6).  
Las concentraciones en cada uno de los casos, ex--  
presadas en molaridad fueron:

$10^{-7}$      $10^{-6}$      $10^{-5}$      $10^{-4}$      $10^{-3}$

El número de repeticiones en estas experien-  
cias fué de cuatro por tratamiento, haciéndose me-  
didas de etileno a las 24, 48, 72 y 96 horas de -  
germinación.

El análisis estadístico realizado fué un aná  
lisis de varianza de dos direcciones (concentracio  
nes del tratamiento y tiempo de germinación) y cál  
culo de las mínimas diferencias significativas en-  
tre las concentraciones.

### 6.3. Experiencia C.

#### 6.3.1. Objetivos.

En este ensayo se trató de ver la influencia de algunos precursores hormonales (triptófano y metionina) así como de inhibidores del crecimiento - (ácido abscísico) y promotores del crecimiento - (quinetina) sobre el desprendimiento de etileno. También se intentó ver si la quinetina lograba revertir el efecto inhibitor del ácido abscísico sobre el desprendimiento de etileno.

Debido a que los ejes embrionarios aislados liberaban más etileno que las semillas sin testas, se trató de ver si esta diferencia era debida a - que los cotiledones retenían este etileno y el efecto de los anteriores tratamientos sobre dicho - etileno.

#### 6.3.2. Parámetros medidos.

- Etileno liberado.
- Etileno ligado.
- Porcentaje de germinación.
- Longitud de la radícula.

#### 6.3.3. Diseño estadístico.

Se hicieron unos ensayos para cada uno de los materiales vegetales ya citados (semillas intactas, semillas sin testas, ejes embrionarios y cotiledones) en las condiciones anteriormente descritas. - Pusimos un control con agua destilada y como tratamientos, en todos los casos a concentraciones de  $10^{-4}$ M, soluciones de metionina, triptófano, quinetina, ácido abscísico y quinetina en combinación - con ácido abscísico.

El diseño experimental fué el siguiente: par

timos de doce repeticiones por tratamiento, a las cuales se les midió el etileno desprendido y % de germinación a las 24 horas, tres de estas repeticiones se utilizaron para medir el etileno ligado y posteriormente la longitud de la radícula, quedándonos nueve repeticiones a las 48 horas, a las que se les midió el etileno desprendido y % de germinación y a tres de ellas, también el etileno ligado y longitud de la radícula. Con las seis repeticiones que continuaban se hizo lo mismo, quedando tres repeticiones a las 96 horas, en las que se midieron todos los parámetros.

El análisis estadístico realizado en esta experiencia, fué un análisis de varianza de dos direcciones (tratamientos y tiempo de germinación) y cálculo de las mínimas diferencias significativas entre tratamientos. Además de este análisis de varianza de cada experiencia en conjunto, se hizo un análisis de varianza de los puntos de la curva más interesantes, de dos direcciones (tratamientos y repeticiones), así como el cálculo de las mínimas diferencias significativas para este punto. La longitud de la radícula se analizó por "t" Student.

#### 6.4. Experiencia D.

##### 6.4.1. Objetivos.

En esta experiencia pretendíamos ver la influencia de diversos reguladores del crecimiento vegetal, así como las posibles interacciones entre los mismos.

##### 6.4.2. Parámetros medidos.

- Etileno liberado.
- Etileno ligado

- Porcentaje de germinación.
- Longitud de la radícula.

#### 6.4.3. Diseño estadístico

Se hicieron unos ensayos para cada uno de los materiales antes descritos (semilla intacta, - semilla sin testa, eje embrionario y cotiledones) en las condiciones anteriormente descritas, poniendo como control agua destilada y como tratamientos, a una concentración de  $10^{-4}$  M en todos los casos, - soluciones de ácido indol-acético, quinetina, ácido giberélico y combinaciones de ácido indol-acético con ácido giberélico, quinetina con ácido giberélico, ácido indol-acético con quinetina y ácido indol-acético con quinetina y con ácido giberélico.

El diseño experimental fué el mismo que en la experiencia C.

El análisis estadístico realizado en esta experiencia fué un factorial  $2 \times 2 \times 2$ , haciéndose un contraste ortogonal entre tratamientos para ver la significación de los efectos principales (tratamientos simples), así como de las interacciones (tratamientos dobles y triple). También se hizo un análisis de las mínimas diferencias significativas entre los tratamientos. Al igual que en la experiencia C, los análisis se hicieron tanto para la experiencia en bloque (tratamientos por tiempo de germinación), como para los puntos más significativos de la curva. La longitud de la radícula se analizó por "t" Student.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

##### EXPERIENCIA A.- Evolución del desprendimiento de etileno durante la germinación.

Puesto que uno de los objetivos primordiales de esta memoria es el estudio de la intervención del etileno durante la germinación, es por lo que se diseñaron una serie de experiencias a fin de estudiar su evolución a lo largo de las primeras 96 horas, tanto en semillas intactas, como en éstas privadas de cubiertas. Así como otra serie de ensayos con objeto de localizar qué partes de la semilla estaban implicadas en dicho desprendimiento.

Tabla A-1

Desprendimiento de Etileno en semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledones, expresado en nl/h/unidad de material vegetal (a las 24, 48, 72 y 96 horas de germinación) y % de germinación.

		Etileno desprendido (nl/h/s)				
Medida	R	Semilla Intacta	Semilla sin testa	Eje	Cotil.	% G.
24h	1	0.220	0.281	1.718	0.337	20
	2	0.242	0.258	1.961	0.245	10
	3	0.236	0.247	1.695	0.276	10
	4	0.230	0.306	1.762	0.318	20
	$\bar{x}$	0.232	0.273	1.784	0.294	15
	$\sigma_n$	0.008	0.023	0.105	0.036	5
48h	1	0.100	0.798	1.094	0.158	50
	2	0.121	0.846	0.977	0.063	40
	3	0.108	0.837	0.978	0.112	30
	4	0.115	0.807	1.035	0.147	30
	$\bar{x}$	0.111	0.822	1.021	0.120	37
	$\sigma_n$	0.008	0.020	0.048	0.037	8
72h	1	0.060	0.203	0.420	0.057	50
	2	0.084	0.249	0.393	0.051	60
	3	0.076	0.212	0.487	0.049	70
	4	0.068	0.216	0.406	0.055	70
	$\bar{x}$	0.072	0.220	0.426	0.053	62
	$\sigma_n$	0.009	0.017	0.036	0.003	8
96h	1	0.054	0.067	0.302	0.036	70
	2	0.066	0.065	0.286	0.028	80
	3	0.062	0.072	0.310	0.034	80
	4	0.058	0.072	0.317	0.029	80
	$\bar{x}$	0.060	0.069	0.303	0.031	77
	$\sigma_n$	0.004	0.003	0.012	0.003	4

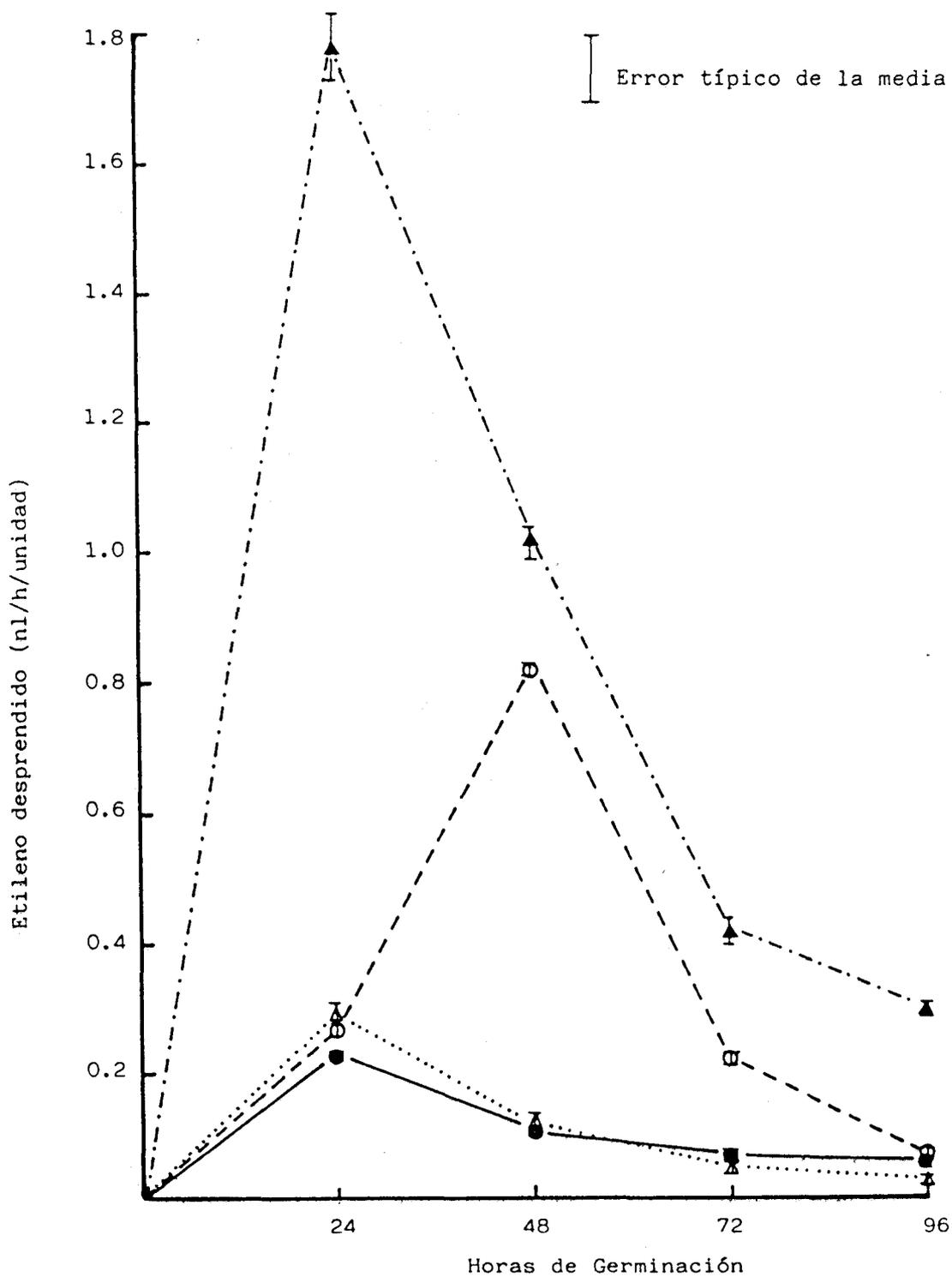


Fig. A-1.-Evolución del desprendimiento de Etileno (nl/h/unidad) durante las primeras 96 horas en semilla intacta - (—●—), sin testa (--○--), eje embrionario (-·-▲-·-), cotiledones (···Δ···).

Tabla A-2

Valores máximos de desprendimiento de Etileno (nl/h/unidad de material vegetal en semilla intacta, eje embrionario y cotiledones durante las primeras 96 horas.

R	Semilla intacta	Semilla sin testa	Eje	Cotiledones
1	0.220	0.798	1.718	0.337
2	0.242	0.846	1.961	0.245
3	0.236	0.837	1.695	0.276
4	0.230	0.807	1.762	0.318
$\bar{x}$	0.232	0.822	1.784	0.294
$\sigma_n$	0.008	0.020	0.105	0.036
%-Semilla Intacta	100	354	769	127

Tabla A-3

Análisis de varianza (valores máximos de desprendimiento de Etileno) y mínimas diferencias significativas.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	3	0.009	0.003	0.6	NS
Mat. Vegetal	3	6.184	2.061	445.1	0.001
Error	9	0.041	0.004		
Total	15				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Material Vegetal	0.108	0.156	0.230

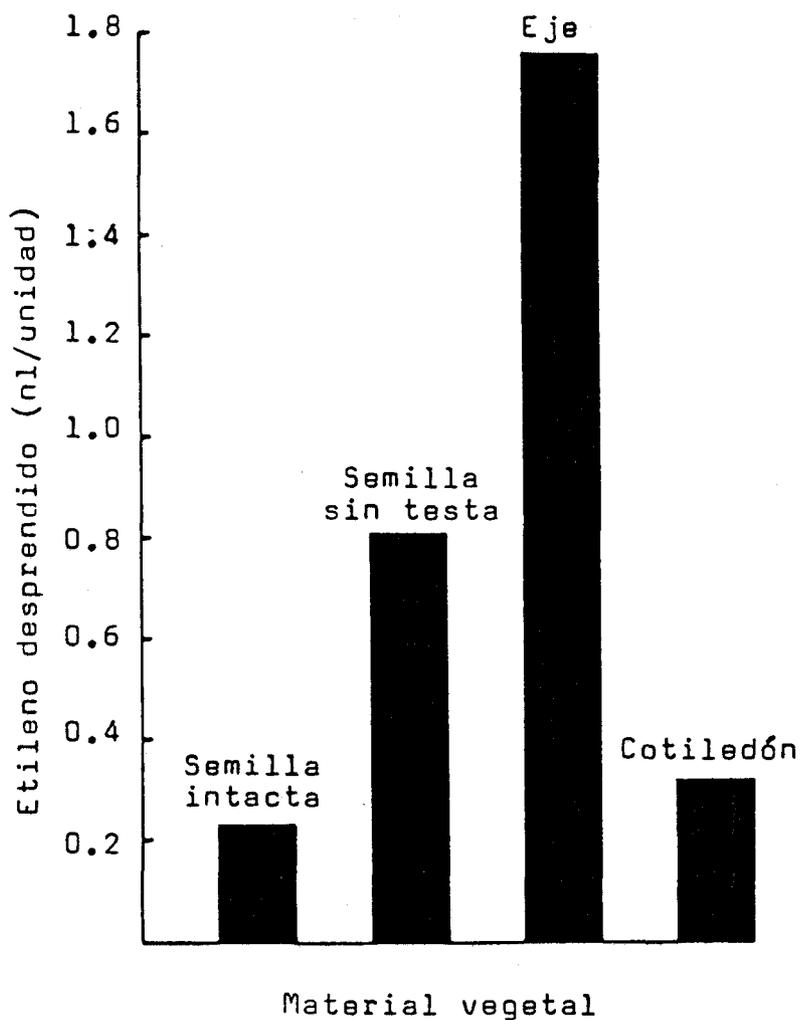


Fig. A-2.- Valores máximos de desprendimiento de Etileno en los materiales vegetales estudiados durante las primeras 96 horas de germinación.

Tabla A-4

Comparación entre los valores máximos del desprendimiento de Etileno de la semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledones (expresado en %) y nivel de probabilidad.

	Semilla intacta	Semilla sin testa	Eje
Cotiledón	26.724 (NS)	-179.591 (0.001)	-506.802 (0.001)
Eje	668.965 (0.001)	117.031 (0.001)	
Semilla sin testa	254.310 (0.001)		

Resumen de los resultados de la Experiencia A

En este ensayo existen dos variables:

a) Evolución del desprendimiento de etileno durante las primeras 96 horas, tras la imbibición.

b) Valoración de dicho desprendimiento en los distintos materiales vegetales empleados: semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledones.

a) El desprendimiento de etileno presenta un máximo breve, que no supera las 48 horas, pero intenso, y posteriormente cae a un nivel basal que oscila (Fig. A-1) entre los 0.031 nl/h/s de los cotiledones y los 0.303 nl/h/s de los ejes embrionarios. El máximo llega a multiplicarse entre 2 y 12 veces el nivel basal, dependiendo del material empleado.

Este máximo aparece (Fig. A-1) en semilla in-

tacta, eje embrionario y cotiledones a las 24 horas de germinación; sin embargo, cuando a la semilla se le elimina la testa, el pico aparece a las 48 horas; es decir, con un retraso de 24 horas, respecto a la semilla intacta.

b) La intensidad del pico en los distintos materiales (Tabla A-2) presenta una clara variabilidad estadística ( $p=0.001$ ), como nos indica el análisis de varianza (Tabla A-3), observándose que al eliminar la testa aumenta la liberación de etileno sintetizado por la semilla, alcanzándose en la semilla sin testa valores medios máximos de 0.822 nl/h/s (Tabla A-2), mientras que los valores medios alcanzados por la semilla intacta no superan los 0.232 nl/h/s, existiendo por lo tanto entre ellos una diferencia del 254%, estadísticamente significativa ( $p=0.001$ ; Tabla A-4).

Cuando se analiza el lugar de la semilla implicado en la liberación, observamos (Fig. A-2) que está localizado fundamentalmente en el eje embrionario, el cual alcanza un valor máximo de 1.784 nl/h/s, lo que representa una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.001$ ; Tabla A-4) del 506% respecto del valor máximo alcanzado por los cotiledones.

Nosotros observamos que el máximo desprendimiento de etileno en la semilla intacta coincide con el comienzo de la protusión visible de la radícula, lo que está de acuerdo con los resultados descritos en otra serie de semillas, tales como avena (MEHERINK y SPENCER, 1964; ADKINS y ROSS, 1981), algodón y cacahuete (KETRING et al., 1974), lechuga (DUNLAP y MORGAN, 1977 a,b). Esto nos indica que el máximo desprendimiento de etileno no es el responsable de la iniciación de la germinación,

aunque refleja procesos de crecimiento dependientes de ella, por lo que un determinado estado específico del desarrollo puede estar asociado con la velocidad de liberación de etileno, como apuntaron SALVEIT y PHARR (1980) en Cucumis sativus, L.

Podría pensarse que el etileno se acumula en el espacio existente entre los cotiledones y la testa, debido a la impermeabilidad de ésta a los gases, y que al producirse la protusión de la radícula a través de la cubierta saliera todo el etileno acumulado en el interior. Al eliminar la cubierta, el máximo de etileno se atrasa y se multiplica (Fig. A-1), lo que nos indica que el pico no es debido a lo anteriormente expuesto. Nuestros resultados no coinciden con los de DE GREEF y DE PROFT (1978), que observaron un adelanto del pico en las semillas de Phaseolus vulgaris desprovistas de testas, con respecto a las semillas intactas.

El eje embrionario presenta un pico a las 24 horas (Fig. A-1), que es muy superior al presentado cuando se encuentra unido a los cotiledones. MORGAN et al. (1970) obtuvieron resultados similares en semillas de cacahuete. Esta diferencia tan acusada en el desprendimiento de etileno puede deberse a que los cotiledones regulen la producción de éste de alguna forma, como sugieren SEYEDIN et al. (1982) o bien, que el gas producido endógenamente por el eje embrionario sea compartimentado por los cotiledones, como indican HALL et al. (1979). Esto podría explicar por qué el etileno desprendido por el eje embrionario aislado sea muy superior al de la semilla, tanto sin testa, como con ella.

EXPERIENCIA B.- Optimización de las aplicaciones exógenas de fitohormonas y precursores.

Se ensayaron 5 concentraciones, tanto de fitohormonas como de precursores de las mismas ( $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ M) que se enfrentaron a un testigo. Puesto que se pretendía elegir aquella concentración que originase la máxima respuesta en la liberación de etileno, se han expresado sus valores en forma de etileno acumulado, desde el comienzo de la germinación, hasta el momento de la medida, durante las primeras 96 horas.

Las medidas se realizaron, tanto en semilla intacta, como desprovista de testa, así como en las distintas partes de la semilla: eje embrionario y cotiledones.

Para no hacer excesivamente extenso su comentario y puesto que la dinámica es análoga en los distintos materiales vegetales empleados (semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledones), se ha seleccionado a la semilla intacta para hacer la discusión de los resultados sobre su análisis estadístico, haciendo un resumen de los obtenidos en el resto de los materiales vegetales.

ENSAYO B-1.- Optimización del AIA.

En este ensayo se trataron los materiales vegetales estudiados con concentraciones crecientes de AIA. Los resultados se muestran en las Tablas B-1 a B-7 y las Fig. B-1 a B-3.

Tabla B-1

Valores de desprendimiento de Etileno (en forma acumulada) a lo largo de las primeras 96 horas, en semilla intacta y sin testa, expresados en -nl/semilla. Cada valor es la media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentraciones de AIA				
			$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Semilla Intacta	24	5.517	6.000	6.840	8.946	9.132	5.211
	48	8.037	8.874	10.101	12.358	12.561	7.591
	72	9.374	10.305	11.739	14.137	14.475	8.615
	96	10.670	11.460	12.889	15.345	15.809	9.536
	$\bar{x}$	8.399	9.159	10.392	12.696	12.994	7.738
	$\sigma_n$	1.906	2.041	2.277	2.411	2.510	1.613
	%-T	100.000	109.051	123.724	151.157	154.702	92.127
Semilla sin testa	24	6.031	7.057	7.554	8.907	10.074	8.645
	48	24.074	26.181	27.318	30.036	33.515	28.458
	72	29.396	34.130	37.760	43.095	49.099	41.228
	96	30.813	35.859	39.843	45.425	51.741	43.486
	$\bar{x}$	22.578	25.806	28.118	31.865	36.107	30.454
	$\sigma_n$	9.878	11.423	12.786	14.494	16.565	13.834
	%-T	100.000	114.297	124.537	141.133	159.918	134.881

Tabla B-2

Valores de desprendimiento de Etileno (en forma acumulada) a lo largo de las primeras 96 horas, en eje embrionario y cotiledones, expresados en nl/unidad de material vegetal. Cada valor es la media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentraciones de AIA				
			$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Eje	24	38.731	66.815	78.359	95.592	101.384	71.371
	48	61.658	93.028	115.025	145.883	211.376	118.753
	72	70.884	106.003	132.391	169.194	241.283	140.897
	96	78.102	116.243	145.127	192.817	267.016	154.905
	$\bar{x}$	62.343	95.522	117.725	150.871	205.264	121.481
	$\sigma_n$	14.826	18.503	25.114	35.971	63.125	31.672
	%-T	100.000	153.218	188.832	241.999	329.246	194.857
Cotiledón	24	6.804	7.076	7.296	7.843	7.914	6.474
	48	9.392	9.569	10.941	11.996	12.264	9.164
	72	10.527	10.769	12.308	13.435	13.727	10.365
	96	10.911	11.081	12.788	14.083	14.656	10.647
	$\bar{x}$	9.408	9.623	10.833	11.839	12.140	9.162
	$\sigma_n$	1.604	1.575	2.151	2.427	2.584	1.649
	%-T	100.000	102.287	115.143	125.835	129.034	97.385

Fig. B-1.- Etileno desprendido (nl/unidad de material vegetal) durante las primeras 96 horas en función de los niveles de AIA exógeno en semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledones. • Testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M; □  $10^{-5}$  M ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M.

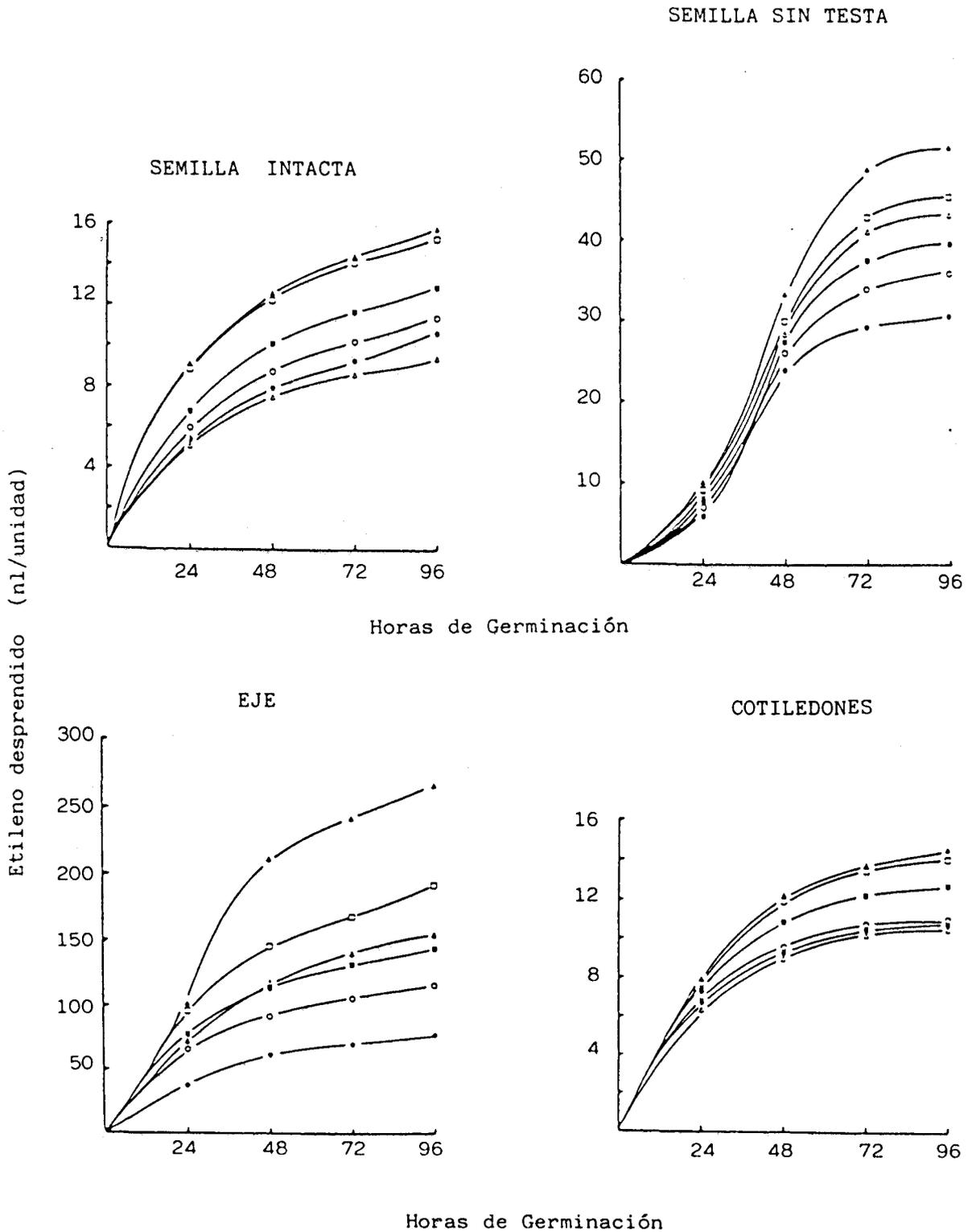


Tabla B-3

Análisis de varianza del desprendimiento de Etileno (en forma acumulada) de la semilla intacta tratada con concentraciones crecientes de AIA.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida	3	108.49	36.16	229.20	0.001
Conc. AIA	5	97.82	19.56	123.99	0.001
Error	15	2.36	0.15		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Concent. AIA	0.598	0.827	1.144

Tabla B-4

Diferencias entre los tratamientos de AIA, expresadas en % y nivel de probabilidad. Etileno desprendido por la semilla intacta.

	T	10 <sup>-7</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-4</sup> M
10 <sup>-3</sup> M	-8.545 (0.05)	-18.369 (0.001)	-34.297 (0.001)	-64.074 (0.001)	-67.922 (0.001)
10 <sup>-4</sup> M	54.702 (0.001)	41.862 (0.001)	25.037 (0.001)	2.345 (NS)	
10 <sup>-5</sup> M	51.157 (0.001)	38.611 (0.001)	22.172 (0.001)		
10 <sup>-6</sup> M	23.724 (0.001)	13.455 (0.001)			
10 <sup>-7</sup> M	9.051 (0.05)				

Fig. B-2.- Etileno total desprendido durante 96 horas en función de los distintos niveles de AIA, en semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledones (A. testigo; B=  $10^{-7}$  M; C=  $10^{-6}$  M; D=  $10^{-5}$  M; E=  $10^{-4}$  M; F=  $10^{-3}$  M).

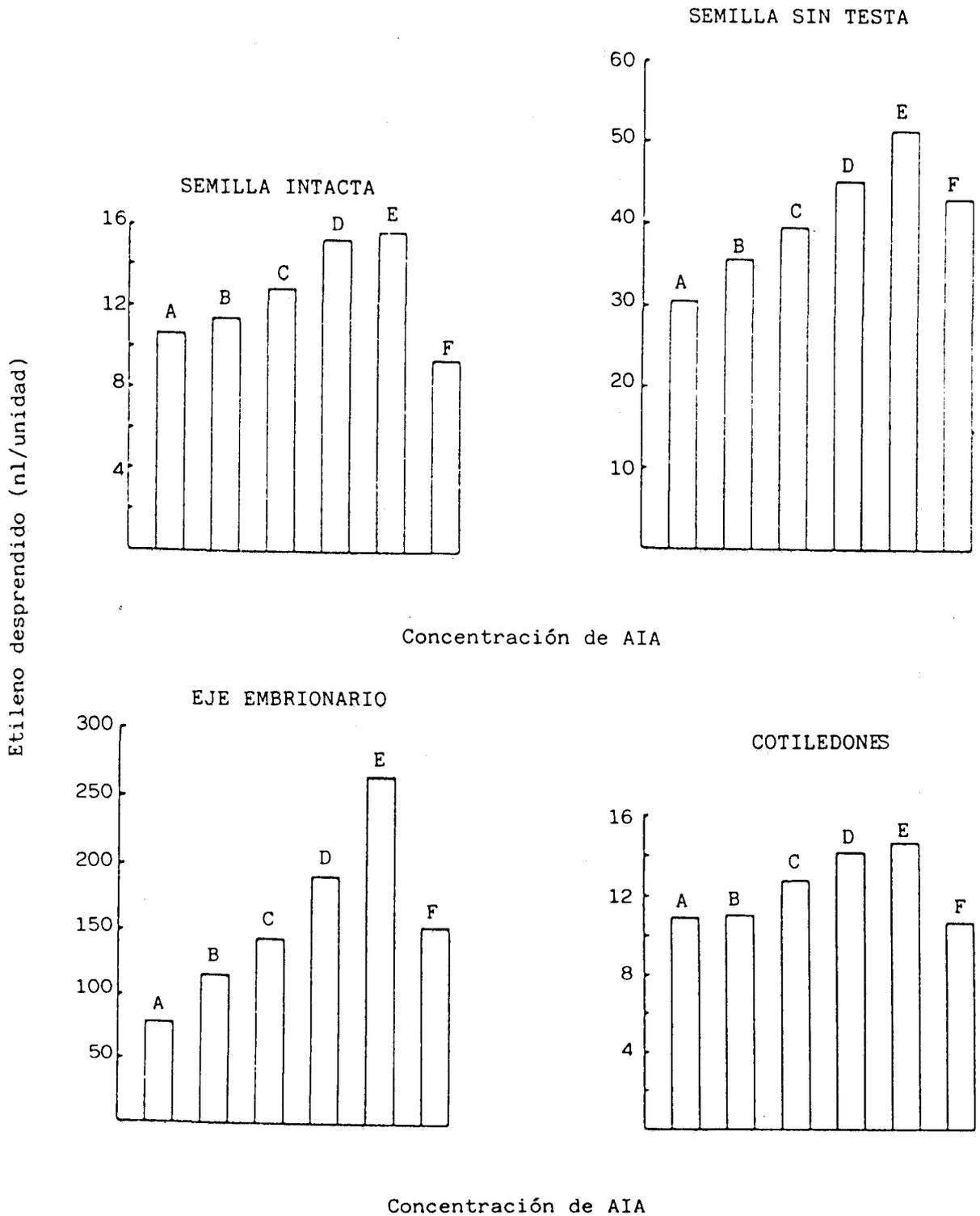


Tabla 8-5

Porcentaje de germinación durante las primeras 96 horas, en función de las distintas concentraciones de AIA. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Medida	T	Concentración de AIA				
		$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
24	12.5	10.0	15.0	17.5	20.0	10.0
48	32.5	35.0	35.0	45.0	60.0	27.5
72	55.0	55.0	57.5	60.0	72.5	42.5
96	72.5	70.0	75.0	80.0	87.5	60.0
$\bar{x}$	43.1	42.5	45.6	50.6	60.0	35.0
$\sigma_n$	22.7	22.5	22.7	22.8	25.0	18.4
%-T	100.0	98.5	105.8	117.4	139.1	81.1

Tabla 8-6

Análisis de varianza. Porcentaje de germinación.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida	3	11857.0	3952.3	255.5	0.001
Concentr. AIA	5	1435.7	287.1	18.6	0.001
Error	15	232.0	15.5		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Concentr. AIA	5.926	8.196	11.327

Tabla B-7

Diferencias entre los distintos niveles de AIA en el porcentaje de germinación, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	-23.214 (0.05)	-21.428 (0.05)	-30.357 (0.01)	-44.642 (0.001)	-71.428 (0.001)
$10^{-4}M$	39.130 (0.001)	41.176 (0.001)	31.506 (0.001)	18.518 (0.01)	
$10^{-5}M$	17.391 (0.05)	19.117 (0.05)	10.958 (NS)		
$10^{-6}M$	5.797 (NS)	7.352 (NS)			
$10^{-7}M$	-1.470 (NS)				

Resumen de los resultados del Ensayo B-1

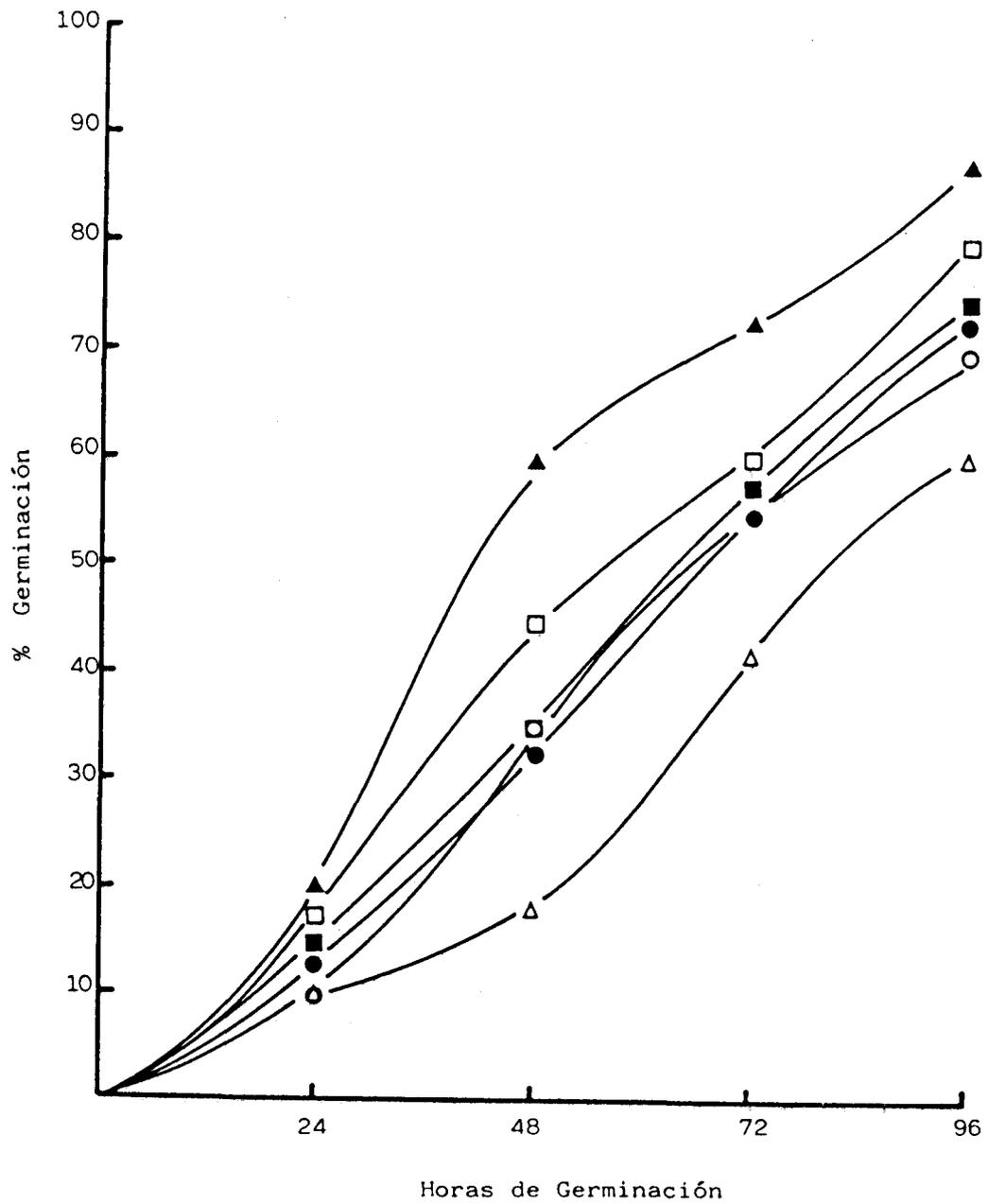
Con objeto de elegir la concentración de AIA más adecuada para emplearla en las sucesivas experiencias, se ha tenido en cuenta la repercusión de sus distintos niveles sobre dos parámetros:

- a) Liberación de etileno.
- b) Porcentaje de germinación.

Con respecto al primero de ellos, liberación de etileno (Tablas B-1 y B-2 y Fig. B-1), existe una clara variabilidad estadística ( $p=0.001$ ) entre las distintas concentraciones, en todos los materiales vegetales empleados.

Con objeto de simplificar su valoración y debido a que todos siguen la misma dinámica, solo hemos puesto en esta memoria el análisis estadístico de las semillas intactas (Tabla B-3).

Fig. B-3.- % de Germinación de semillas tratadas con concentraciones crecientes de AIA (● testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).



Se puede observar (Fig. B-2) como a medida que aumenta la concentración de AIA, aumenta el desprendimiento de etileno, hasta alcanzar un máximo para  $10^{-4}$ M de AIA -en todos los materiales ensayados-, produciéndose una reducción a concentraciones superiores ( $10^{-3}$ M).

En semillas intactas, la concentración de  $10^{-4}$ M, origina un incremento sobre el testigo del 54.7%, estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ; Tabla B-4). La mayor concentración empleada,  $10^{-3}$ M, origina una inhibición con respecto al testigo de 8.5% ( $p=0.05$ ; Tabla B-4). Resultados similares han sido obtenidos por IMASEKI et al. (1975; 1977), KONDO et al. (1975), MALLOCH y OSBORNE (1976).

Cuando se analiza el segundo parámetro teniendo en cuenta, % de germinación (Tabla B-5), se comprueba el mismo efecto observado en la liberación de etileno, existiendo variabilidad estadística ( $p=0.001$ ) entre las distintas concentraciones de AIA, como observamos en el análisis de varianza (Tabla B-6).

El máximo % de germinación se consigue de nuevo a  $10^{-4}$ M, con un incremento respecto al testigo de 39.1% (Tabla B-7; Fig. B-3), diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.001$ ). Como en el desprendimiento de etileno, la concentración  $10^{-3}$ M origina una reducción del 23.2% respecto al testigo sobre el % de germinación ( $p=0.05$ ).

En función de estos resultados se eligió como concentración óptima de AIA, la de  $10^{-4}$ M.

#### ENSAYO B-2.- Optimización de Quinetina.

En este ensayo se trataron las semillas intactas, sin testas, eje embrionario y cotiledones con concentraciones crecientes de quinetina. Los resultados se muestran en las Tablas B-8 a B-14 y las Fig. B-4 a B-6.

Tabla 8-8

Etileno desprendido (en forma acumulada) a lo largo de las primeras 96 horas en semilla intacta y desprovista de testa, expresado en nl/semilla. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentraciones de Quinetina				
			$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Semilla intacta	24	5.517	7.650	8.406	9.624	11.736	6.720
	48	8.037	10.105	10.995	12.711	15.113	9.622
	72	9.374	12.053	13.404	15.527	18.133	12.228
	96	10.670	13.891	15.585	17.949	20.939	13.670
	$\bar{x}$	8.399	10.924	12.097	13.952	16.480	10.560
	$\sigma_n$	1.906	2.316	2.679	3.111	3.427	2.649
	%-T	100.000	130.064	144.026	166.114	196.205	125.721
Semilla sin testa	24	6.031	7.440	7.722	9.215	11.823	8.490
	48	24.074	26.600	27.896	32.846	38.915	28.305
	72	29.396	36.774	40.393	47.837	60.786	42.292
	96	30.813	38.767	42.652	51.514	65.593	45.076
	$\bar{x}$	22.578	27.395	29.665	35.353	44.279	31.040
	$\sigma_n$	9.878	12.410	13.859	16.632	21.265	14.487
	%-T	100.000	121.333	131.389	156.578	196.112	137.479

Tabla B-9

Etileno desprendido durante las primeras 96 horas en ejes embrionarios y - cotiledones aislados tratados con concentraciones crecientes de quinetina, expresado en nl/unidad de material vegetal. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Concentraciones de Quinetina					
		Testigo	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Eje	24	38.731	47.437	50.121	61.953	65.383	56.143
	48	61.658	76.312	87.057	104.210	112.111	92.764
	72	70.884	88.950	107.346	129.992	138.710	112.653
	96	78.102	99.287	120.104	145.488	156.026	125.634
	$\bar{x}$	62.343	77.996	91.157	110.410	118.057	96.798
	$\sigma_n$	14.826	19.429	26.461	31.624	34.198	26.229
	%-T	100.000	125.107	146.216	177.099	189.365	155.265
Cotiledón	24	6.804	6.714	6.878	6.975	7.358	6.975
	48	9.392	9.409	9.838	10.130	10.535	9.620
	72	10.527	10.850	11.543	12.219	12.770	10.903
	96	10.911	11.257	11.975	12.699	13.322	11.191
	$\bar{x}$	9.408	9.557	10.058	10.505	10.996	9.672
	$\sigma_n$	1.604	1.779	2.002	2.255	2.345	1.665
	%-T	100.000	101.583	106.908	111.662	116.875	102.803

Fig. B-4.- Etileno desprendido (en forma acumulada) expresado en nl/unidad de material vegetal en semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledones durante las primeras 96 horas, tratados con concentraciones crecientes de Quinetina (● Testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).

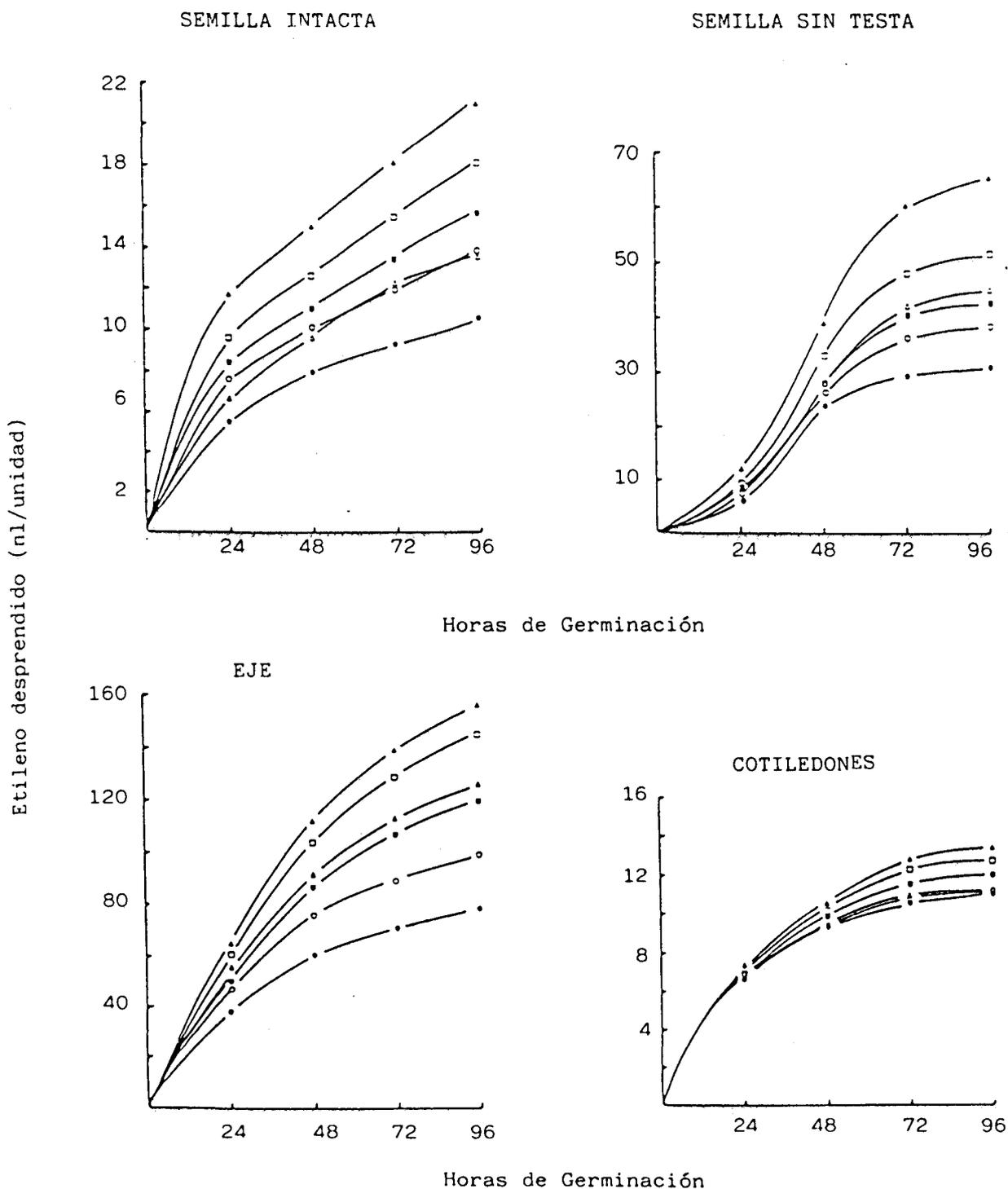


Tabla B-10

Análisis de varianza del desprendimiento de etileno (en forma acumulada) de las semillas intactas, tratadas con concentraciones crecientes de Quinetina.

FV	GL	SC	MC	F <sub>c</sub>	NP
Hora de medida	3	172.12	57.37	134.42	0.001
Conc. Quinetina	5	160.24	32.04	75.08	0.001
Error	15	6.40	0.42		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Conc. Quinetina	0.984	1.361	1.881

Tabla B-11

Diferencias entre las distintas concentraciones de Quinetina, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	10 <sup>-7</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-4</sup> M
10 <sup>-3</sup> M	25.721 (0.001)	-3.454 (NS)	-14.559 (0.01)	-32.128 (0.001)	-56.062 (0.001)
10 <sup>-4</sup> M	96.205 (0.001)	50.852 (0.001)	36.228 (0.001)	18.114 (0.001)	
10 <sup>-5</sup> M	66.114 (0.001)	27.716 (0.001)	15.335 (0.01)		
10 <sup>-6</sup> M	44.026 (0.001)	10.734 (0.05)			
10 <sup>-7</sup> M	30.064 (0.001)				

Fig. B-5.- Etileno total desprendido durante las primeras 96 horas (nl/uni-  
dad de material vegetal) en semilla intacta , sin testa, eje em-  
brionario y cotiledones, tratados con concentraciones crecientes  
de Quinetina (A testigo, B  $10^{-7}$ M, C  $10^{-6}$ M, D  $10^{-5}$ M, E  $10^{-4}$ M, -  
F  $10^{-3}$ M).

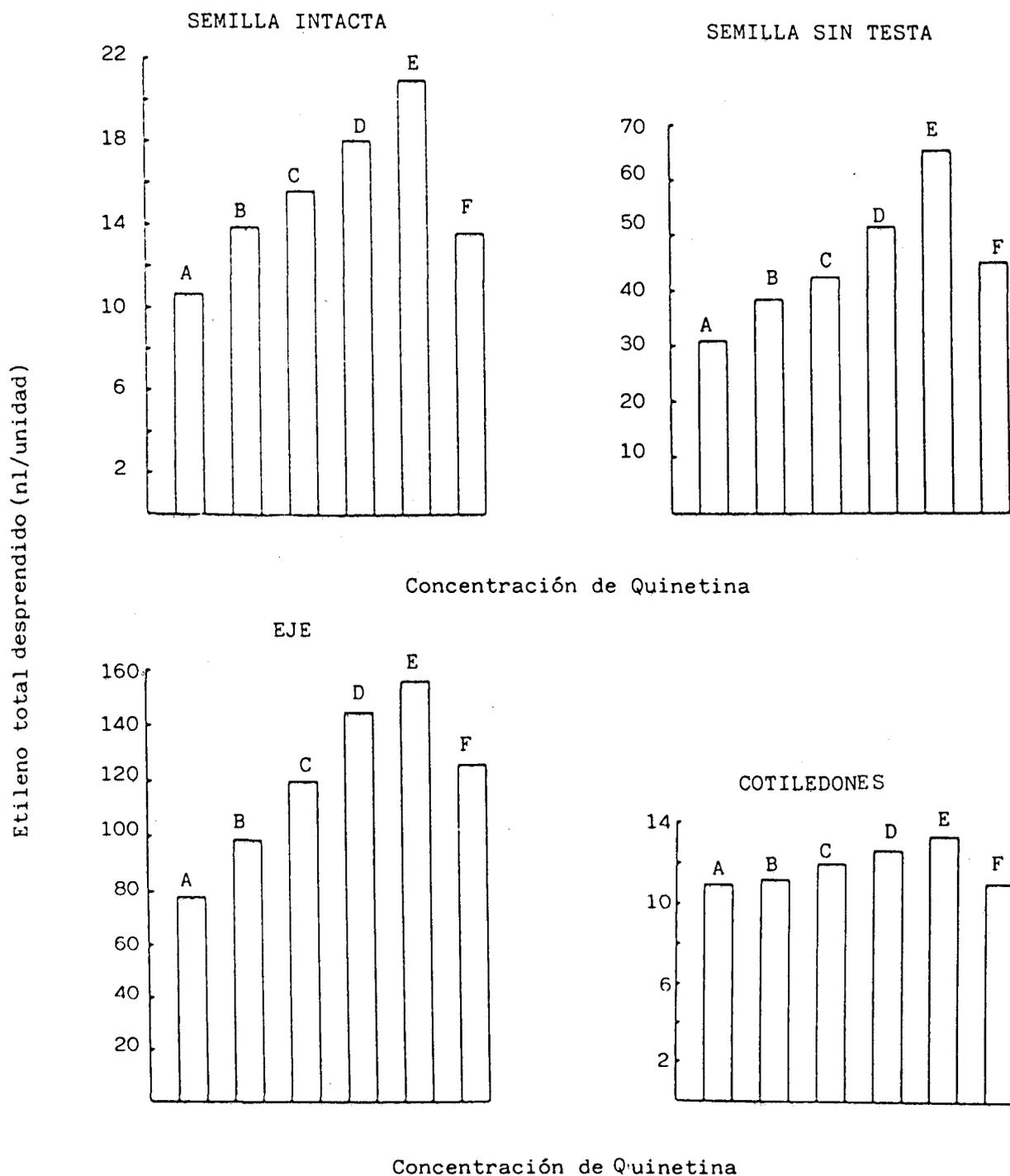


Tabla 8-12

Porcentaje de germinación durante las primeras 96 horas, en función de las distintas concentraciones de Quinetina. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Medida	T	Concentración de Quinetina				
		$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
24	12.5	15.0	15.0	17.5	22.5	12.5
48	32.5	42.5	55.0	60.0	65.0	42.5
72	55.0	62.5	65.0	72.5	82.5	52.5
96	72.5	70.0	75.0	82.5	92.5	65.0
$\bar{x}$	43.1	47.5	52.5	58.1	65.6	43.1
$\sigma_n$	22.7	21.3	22.8	24.8	26.8	19.4
%-T	100.0	110.1	121.7	134.8	152.2	100.0

Tabla 8-13

Análisis de varianza. Porcentaje de germinación en respuesta a las distintas concentraciones de Quinetina.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida	3	12422.9	4140.9	179.6	0.001
Conc. Quinetina	5	1602.1	320.4	13.9	0.001
Error	15	345.8	23.1		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Conc. Quinetina	7.235	10.005	13.828

Tabla B-14

Diferencias en el porcentaje de germinación entre los distintos tratamientos de Quinetina, expresadas en % y nivel de probabilidad.

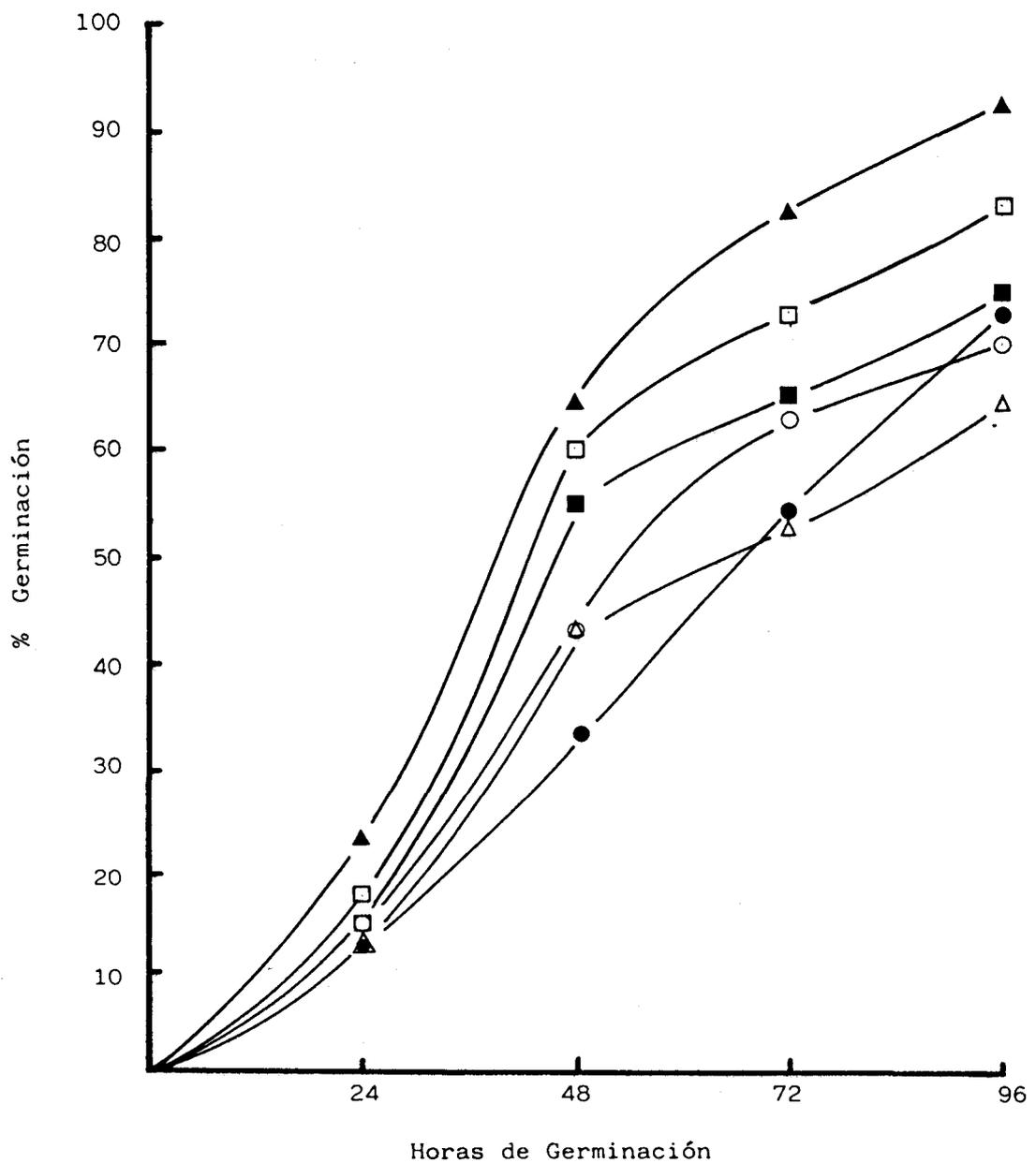
	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	0.000 (NS)	-10.144 (NS)	-21.739 (0.05)	-34.782 (0.001)	-52.173 (0.001)
$10^{-4}M$	52.173 (0.001)	38.157 (0.001)	25.000 (0.01)	12.903 (0.05)	
$10^{-5}M$	34.782 (0.001)	22.368 (0.01)	10.714 (NS)		
$10^{-6}M$	21.739 (0.05)	10.526 (NS)			
$10^{-7}M$	10.144 (NS)				

#### Resumen de los resultados del Ensayo B-2

Este ensayo se hizo con el fin de elegir la concentración óptima de quinetina sobre la liberación de etileno y el % de germinación.

Existe una clara variabilidad estadística - ( $p=0.001$ ), entre las distintas concentraciones empleadas, en todos los materiales vegetales ensayados, tanto en el desprendimiento de etileno (Tablas B-8, B-9 y Fig. B-4), como en el % de germinación (Tabla B-13). Al igual que en el ensayo B-1, solo pondremos en esta memoria el análisis estadístico de las semillas intactas (Tabla B-10), ya que todos los materiales vegetales ensayados siguen un modelo similar.

Fig. B-6.- % Germinación de semillas tratadas con distintas concentraciones de Quinetina, durante las primeras 96 horas (● Testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).



En semillas intactas, se observa como al ir aumentando la concentración de quinetina (Fig. B-4) el desprendimiento de etileno crece hasta alcanzar un máximo con la concentración de  $10^{-4}$ M, que presenta un incremento sobre el testigo de 96.2% (Tabla B-11), estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ). La concentración mayor empleada,  $10^{-3}$ M, presenta un incremento respecto al testigo del 25.7%, estadísticamente significativa ( $p=0.001$ ), inferior a los restantes tratamientos. Resultados similares han sido obtenidos por KETRING y MORGAN (1971) en semillas de Arachis hypogaea L.

El máximo % de germinación se consigue con la concentración de  $10^{-4}$ M (Fig. B-6), con un incremento con respecto al testigo del 52.1% (Tabla B-14), estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ). Presentando además incrementos estadísticos frente al resto de las concentraciones.

De acuerdo con estos resultados se eligió la concentración  $10^{-4}$ M, como la óptima de quinetina, de acuerdo con LAU y YANG (1974; 1976).

### ENSAYO B-3.- Optimización de GA<sub>3</sub>.

En este ensayo se trataron las semillas intactas, semillas sin testas, ejes embrionarios y cotiledones, con concentraciones crecientes de ácido giberélico. Los resultados se encuentran en las Tablas B-15 a B-21 y las Fig. B-7 a B-9.

Tabla 8-15

Etileno desprendido (acumulado), expresado en nl/s durante las primeras - 96 horas, en semilla intacta y desprovista de testa. Los valores son media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentraciones de GA <sub>3</sub>				
			10 <sup>-7</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-3</sup> M
Semilla intacta	24	5.517	6.078	6.972	8.400	8.952	6.480
	48	8.037	8.836	9.814	11.457	12.076	9.484
	72	9.374	10.736	11.827	14.345	15.048	12.312
	96	10.670	11.622	12.899	15.522	16.225	13.225
	$\bar{x}$	8.399	9.318	10.378	12.431	13.075	10.375
	$\sigma_n$	1.906	2.124	2.256	2.757	2.820	2.638
	%-T	100.000	110.935	123.554	147.996	155.667	123.522
Semilla sin testa	24	6.031	7.865	10.360	12.664	15.061	10.335
	48	24.074	25.901	28.806	31.709	34.273	28.660
	72	29.396	31.428	34.534	37.669	40.355	34.380
	96	30.813	32.894	35.976	39.160	41.919	35.799
	$\bar{x}$	22.578	24.522	27.419	30.300	32.902	27.293
	$\sigma_n$	9.878	9.964	10.207	10.557	10.689	10.149
	%-T	100.000	108.607	121.438	134.200	145.722	120.882

Tabla B-16

Etileno desprendido en forma acumulada, expresado en nl/s, durante las primeras 96 horas en eje embrionario y cotiledones. Los valores son media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentraciones de GA <sub>3</sub>				
			10 <sup>-7</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-3</sup> M
Eje	24	38.731	47.341	56.976	70.323	77.984	58.447
	48	61.658	72.230	86.424	104.765	114.858	88.964
	72	70.884	81.553	95.940	114.596	125.348	94.420
	96	78.102	88.732	103.518	122.079	132.896	101.686
	$\bar{x}$	62.343	72.464	85.714	102.940	112.771	85.879
	$\sigma_n$	14.826	15.640	17.663	19.807	21.081	16.468
	%-T	100.000	116.232	137.486	165.117	180.886	137.751
Cotiledón	24	6.804	6.830	6.928	7.022	7.142	6.963
	48	9.392	9.409	9.552	9.668	9.840	9.680
	72	10.527	10.563	10.731	10.896	11.044	10.860
	96	10.911	10.887	11.337	11.616	11.692	11.340
	$\bar{x}$	9.408	9.422	9.637	9.800	9.929	9.710
	$\sigma_n$	1.604	1.594	1.690	1.748	1.741	1.697
	%-T	100.000	100.146	102.428	104.166	105.537	103.212

Fig. B-7.- Etileno desprendido (en forma acumulada) expresado en nl/unidad de material vegetal en semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledones durante las primeras 96 horas tratadas con concentraciones crecientes de  $GA_3$  (● Testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).

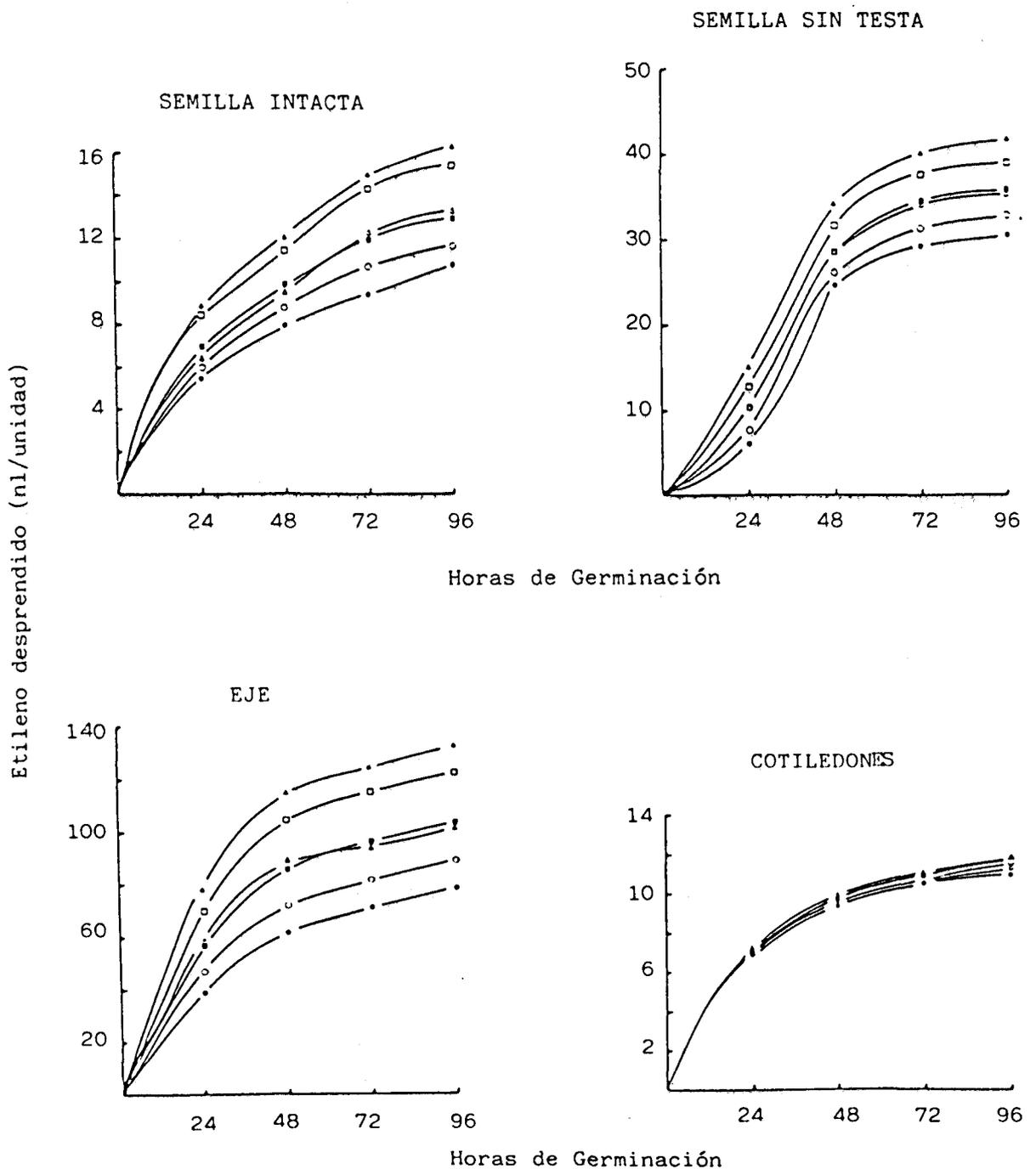


Tabla B-17

Análisis de varianza del desprendimiento de etileno (en forma acumulada) de las semillas intactas - tratadas con concentraciones crecientes de  $GA_3$ .

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida	3	139.87	46.62	221.52	0.001
Conc. $GA_3$	5	64.16	12.83	60.96	0.001
Error	15	3.15	0.21		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Conc. $GA_3$	0.691	0.956	1.321

Tabla B-18

Diferencias entre los distintos niveles de  $GA_3$  en el desprendimiento de etileno de la semilla intacta, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	23.522 (0.001)	11.346 (0.01)	-0.026 (NS)	-19.813 (0.001)	-26.023 (0.001)
$10^{-4}M$	55.667 (0.001)	40.322 (0.001)	25.990 (0.001)	5.182 (NS)	
$10^{-5}M$	47.996 (0.001)	33.408 (0.001)	19.782 (0.001)		
$10^{-6}M$	23.554 (0.05)	11.375 (0.01)			
$10^{-7}M$	10.935 (0.05)				

Fig. B-8.- Etileno total desprendido durante las primeras 96 horas (nl/unidad de material vegetal) en semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledón tratadas con concentraciones crecientes de GA<sub>3</sub> (A-testigo, B 10<sup>-7</sup>M, C 10<sup>-6</sup>M, D 10<sup>-5</sup>M, E 10<sup>-4</sup>M, F 10<sup>-3</sup>M).

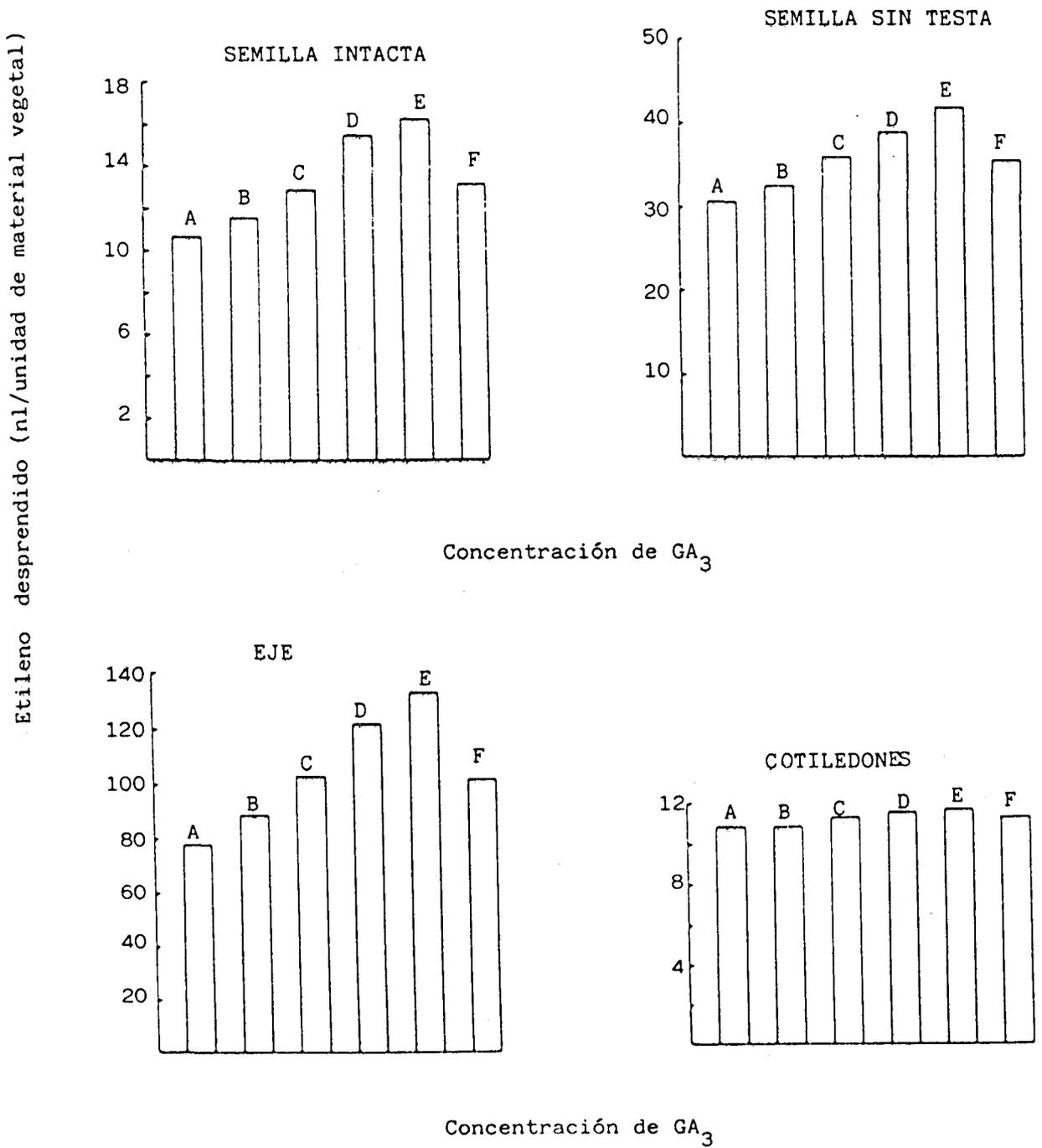


Tabla B-19

Porcentaje de germinación durante las primeras 96 horas, en función de las distintas concentraciones de  $\text{GA}_3$ . Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Medida	T	Concentración de $\text{GA}_3$				
		$10^{-7}\text{M}$	$10^{-6}\text{M}$	$10^{-5}\text{M}$	$10^{-4}\text{M}$	$10^{-3}\text{M}$
24	12.5	12.5	15.0	20.0	22.5	12.5
48	32.5	32.5	35.0	45.0	60.0	27.5
72	55.0	50.0	52.5	65.0	80.0	40.0
96	72.5	72.5	75.0	80.0	92.5	50.0
$\bar{x}$	43.1	47.5	52.5	58.1	65.6	43.1
$\sigma$	22.7	21.3	22.8	24.8	26.8	19.4
%-T	100.0	110.1	121.7	134.8	152.2	100.0

Tabla B-20

Análisis de varianza. Porcentaje de germinación en función de la concentración de  $\text{GA}_3$ .

	FV	GL	SC	MC	F <sub>c</sub>	NP
Hora de medida		3	11129.9	3709.9	122.9	0.001
Conc. $\text{GA}_3$		5	2266.9	453.4	15.0	0.001
Error		15	452.9	30.2		
Total		23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Conc. $\text{GA}_3$	8.279	11.449	15.825

Tabla B-21

Diferencias en el porcentaje de germinación entre los distintos niveles de  $GA_3$ , expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	-32.692 (0.05)	-28.846 (0.05)	-36.538 (0.01)	-61.538 (0.001)	-96.153 (0.001)
$10^{-4}M$	47.826 (0.001)	52.238 (0.001)	43.661 (0.001)	21.428 (0.05)	
$10^{-5}M$	21.739 (0.05)	25.373 (0.05)	18.309 (NS)		
$10^{-6}M$	2.898 (NS)	5.970 (NS)			
$10^{-7}M$	-2.985 (NS)				

Resumen de los resultados del Ensayo B-3

Este ensayo tenía por objeto seleccionar la concentración óptima de  $GA_3$  sobre el desprendimiento de etileno y el porcentaje de germinación.

Podemos observar una clara variabilidad estadística ( $p=0.001$ ), entre las distintas concentraciones de  $GA_3$ , en todos los materiales vegetales ensayados, tanto en el desprendimiento de etileno (Tabla B-15, B-16 y Fig. B-7 y B-8) como en el % de germinación (Tabla B-19 y Fig. B-9). Debido a la similitud en el modelo seguido por los distintos materiales vegetales, solo pondremos en esta memoria el análisis estadístico de las semillas intactas (Tabla B-17).

En semillas intactas, el desprendimiento de etileno va aumentando hasta alcanzar el máximo a la con--

concentración de  $10^{-4}$ M, que presenta un incremento con respecto al testigo de 55.7% (Tabla B-18) estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ). KETRING y MORGAN - (1970) obtuvieron el mayor desprendimiento de etileno con la concentración de  $5 \times 10^{-4}$ M de  $GA_3$  en semillas de Arachis hypogea L.

El máximo % de germinación se consigue a la concentración de  $10^{-4}$ M, con un incremento con respecto al testigo de 47.8% (Tabla B-21), estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ).

De acuerdo con estos resultados se seleccionó la concentración de  $10^{-4}$ M, como la óptima de  $GA_3$ . - GERTMAN y FUCHS (1972) utilizan también esta concentración en Pisum sativum, para estudiar el desprendimiento de etileno.

#### ENSAYO B-4.- Optimización de ABA.

Las semillas intactas, sin testas, ejes embrionarios y cotiledones se trataron con concentraciones crecientes de ABA. Los resultados se encuentran en las Tablas B-22 a B-28 y Fig. B-10 a B-12.

Fig. B-9.- % Germinación de semillas tratadas con diferentes concentraciones de GA<sub>3</sub>, durante las primeras 96 horas (● Testigo, ○ 10<sup>-7</sup>M, ■ 10<sup>-6</sup>M, □ 10<sup>-5</sup>M, ▲ 10<sup>-4</sup>M, △ 10<sup>-3</sup>M).

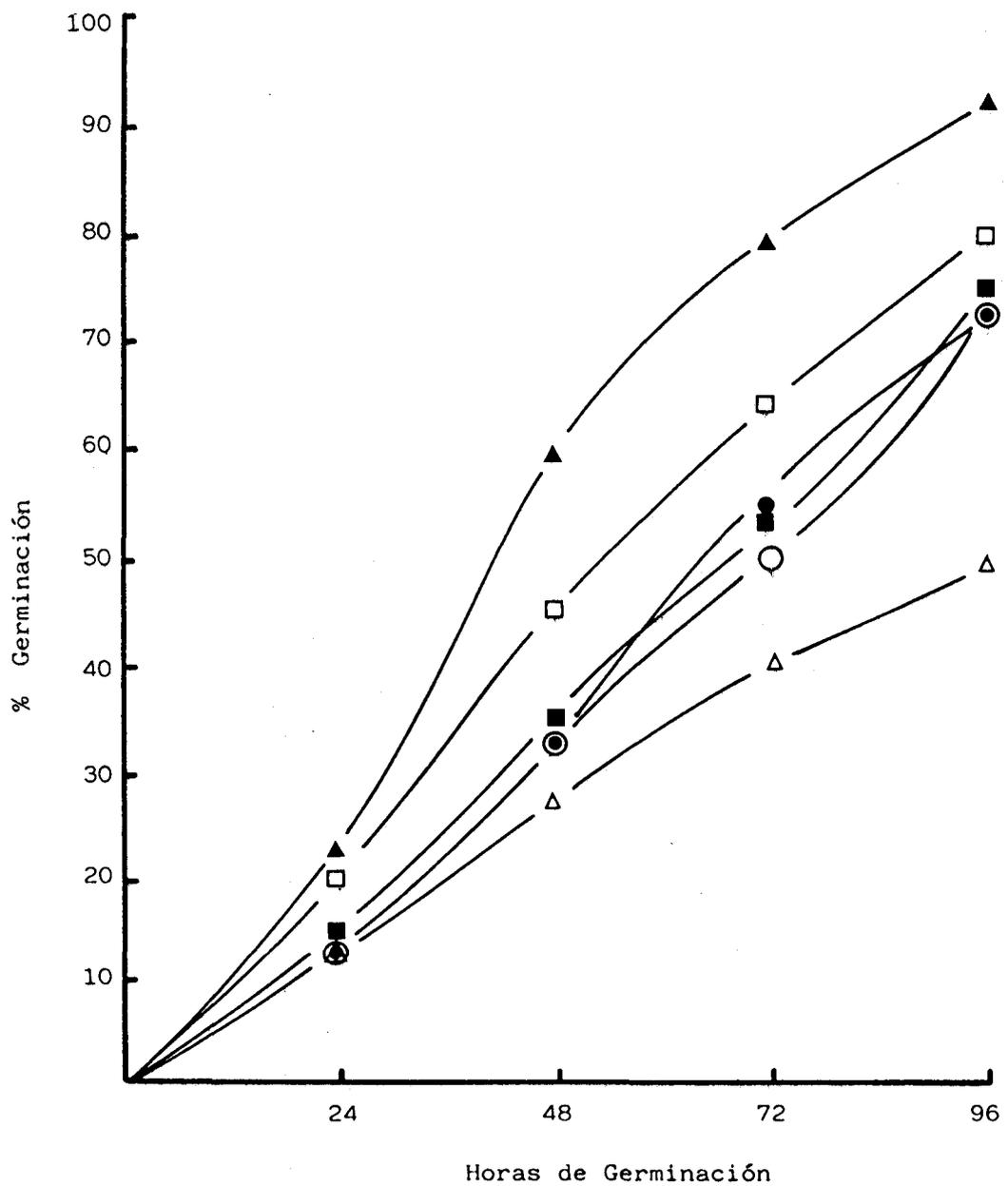


Tabla B-22

Etileno desprendido (acumulado) durante las primeras 96 horas, en semilla intacta y sin testa, expresado en nl/semilla. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentración de ABA				
			$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Semilla intacta	24	5.568	4.109	3.852	3.492	3.126	3.294
	48	8.232	5.154	4.807	4.303	3.654	3.875
	72	9.958	5.376	4.975	4.405	3.696	3.971
	96	11.398	5.376	4.975	4.405	3.696	3.971
	$\bar{x}$	8.789	5.003	4.652	4.151	3.543	3.777
	$\sigma_n$	2.171	0.524	0.467	0.382	0.241	0.282
	%-T	100.000	56.931	52.932	47.232	40.311	42.982
Semilla sin testa	24	6.556	6.076	5.931	5.716	4.875	5.283
	48	26.233	11.437	10.407	8.923	7.556	8.107
	72	31.502	14.071	12.538	10.671	9.089	9.832
	96	33.157	14.071	12.538	10.671	9.089	9.832
	$\bar{x}$	24.362	11.413	10.353	8.995	7.652	8.263
	$\sigma_n$	10.593	3.263	2.697	2.023	1.721	1.859
	%-T	100.000	46.850	42.498	36.923	31.410	33.919

Tabla 8-23

Etileno desprendido (acumulado) durante las primeras 96 horas, en ejes embrionarios y cotiledones, expresado en nl/ unidad de material vegetal. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentración de ABA				
			$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Eje	24	42.847	36.506	30.259	24.480	23.376	27.120
	48	67.318	59.986	48.474	32.629	28.988	36.234
	72	77.547	69.507	57.204	36.970	31.314	38.728
	96	84.847	69.994	57.442	37.099	31.314	38.728
	$\bar{x}$	68.139	58.998	48.344	32.794	28.748	35.202
	$\sigma_n$	15.874	13.585	11.049	5.126	3.243	4.776
	%-T	100.000	86.584	70.949	48.128	42.189	51.662
Cotiledón	24	7.065	6.585	6.181	5.413	5.005	6.902
	48	9.943	9.415	8.939	8.076	7.427	9.734
	72	11.217	10.719	10.165	9.273	8.629	10.935
	96	11.980	11.440	10.807	9.273	8.629	10.935
	$\bar{x}$	10.051	9.539	9.023	8.008	7.422	9.626
	$\sigma_n$	1.871	1.853	1.772	1.576	1.479	1.647
	%-T	100.000	94.911	89.769	79.679	73.846	95.774

Fig. B-10.- Etileno desprendido (acumulado) expresado en nl/unidad de material vegetal, por semillas intactas, sin testa, eje embrionario y cotiledones tratados con concentraciones de ABA (● testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).

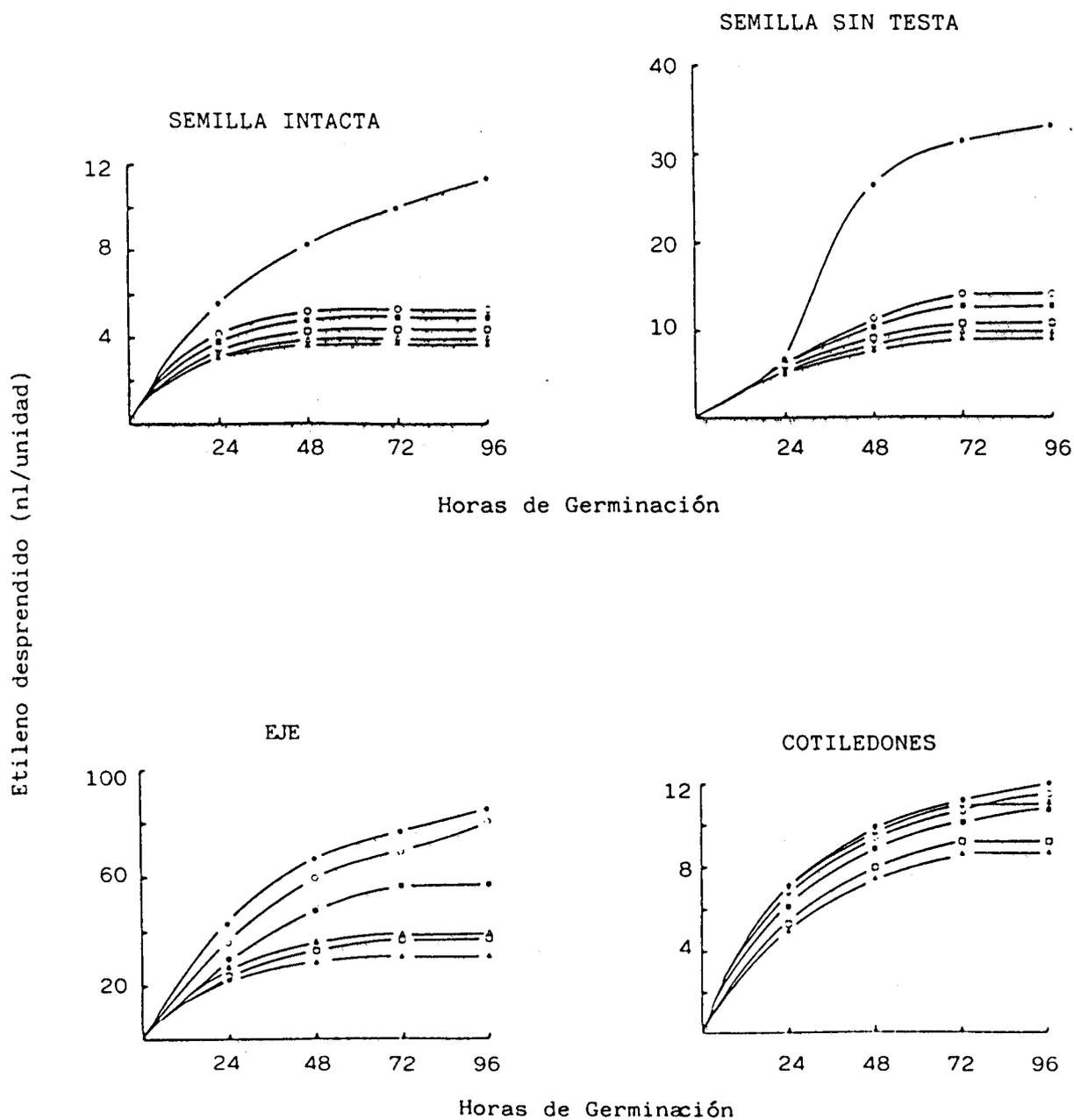


Tabla B-24

Análisis de varianza del desprendimiento de Etileno de las semillas intactas, tratadas con concentraciones crecientes de ABA.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida	3	10.54	3.51	4.61	0.05
Concent. ABA	5	75.25	15.05	19.75	0.001
Error	15	11.42	0.76		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Concent. ABA	1.315	1.818	2.513

Tabla B-25

Diferencias entre las distintas concentraciones de ABA en el desprendimiento de Etileno de las semillas intactas, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	-132.651 (0.001)	-32.453 (NS)	-23.148 (NS)	-9.886 (NS)	6.625 (NS)
$10^{-4}M$	-148.066 (0.001)	-41.229 (0.05)	-31.308 (NS)	-17.167 (NS)	
$10^{-5}M$	-111.719 (0.001)	-20.535 (NS)	-12.068 (NS)		
$10^{-6}M$	-88.919 (0.001)	-7.555 (NS)			
$10^{-7}M$	-75.648 (0.001)				

Fig. B-11.- Etileno total desprendido durante las primeras 96 horas (nl/uni-  
dadde material vegetal) en semilla intacta , sin testa, eje -  
embrionario y cotiledones tratados con concentraciones crecien-  
tes de ABA (A testigo, B  $10^{-7}$ M, C  $10^{-6}$ M, D  $10^{-5}$ M, E  $10^{-4}$ M, F  $10^{-3}$ M).

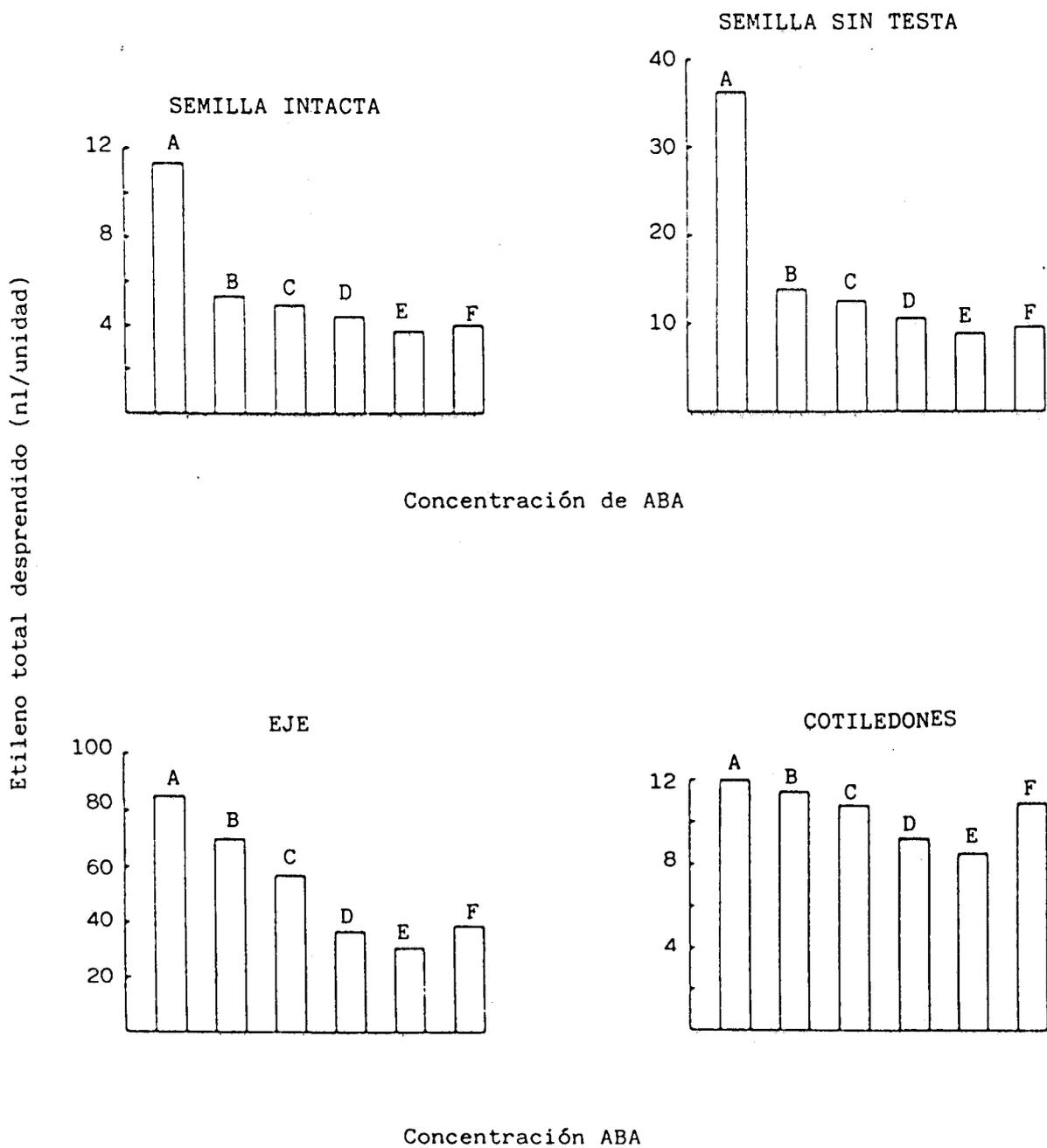


Tabla B-26

Porcentaje de germinación durante las primeras 96 horas, en función de las distintas concentraciones de ABA. Cada valor es la media de cuatro repeticiones.

Medida	Concentración de ABA					
	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
24	15.0	10.0	7.5	5.0	5.0	10.0
48	37.5	17.5	15.0	15.0	12.5	12.5
72	62.5	30.0	22.5	22.5	20.0	20.0
96	77.5	40.0	35.0	35.0	30.0	30.0
$\bar{x}$	48.1	24.4	20.0	19.4	16.9	18.1
$\sigma_n$	23.9	11.5	10.1	10.9	9.2	7.8
%-T	100.0	50.6	41.5	40.2	35.1	37.7

Tabla B-27

Análisis de varianza. Porcentaje de germinación en función de las distintas concentraciones de ABA.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida	3	3554.9	1184.9	24.3	0.001
Concentr. ABA	5	2813.8	562.8	11.5	0.001
Error	15	730.9	48.7		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Concentr. ABA	10.519	14.547	20.105

Tabla B-28

Diferencias en el porcentaje de germinación entre los tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad.

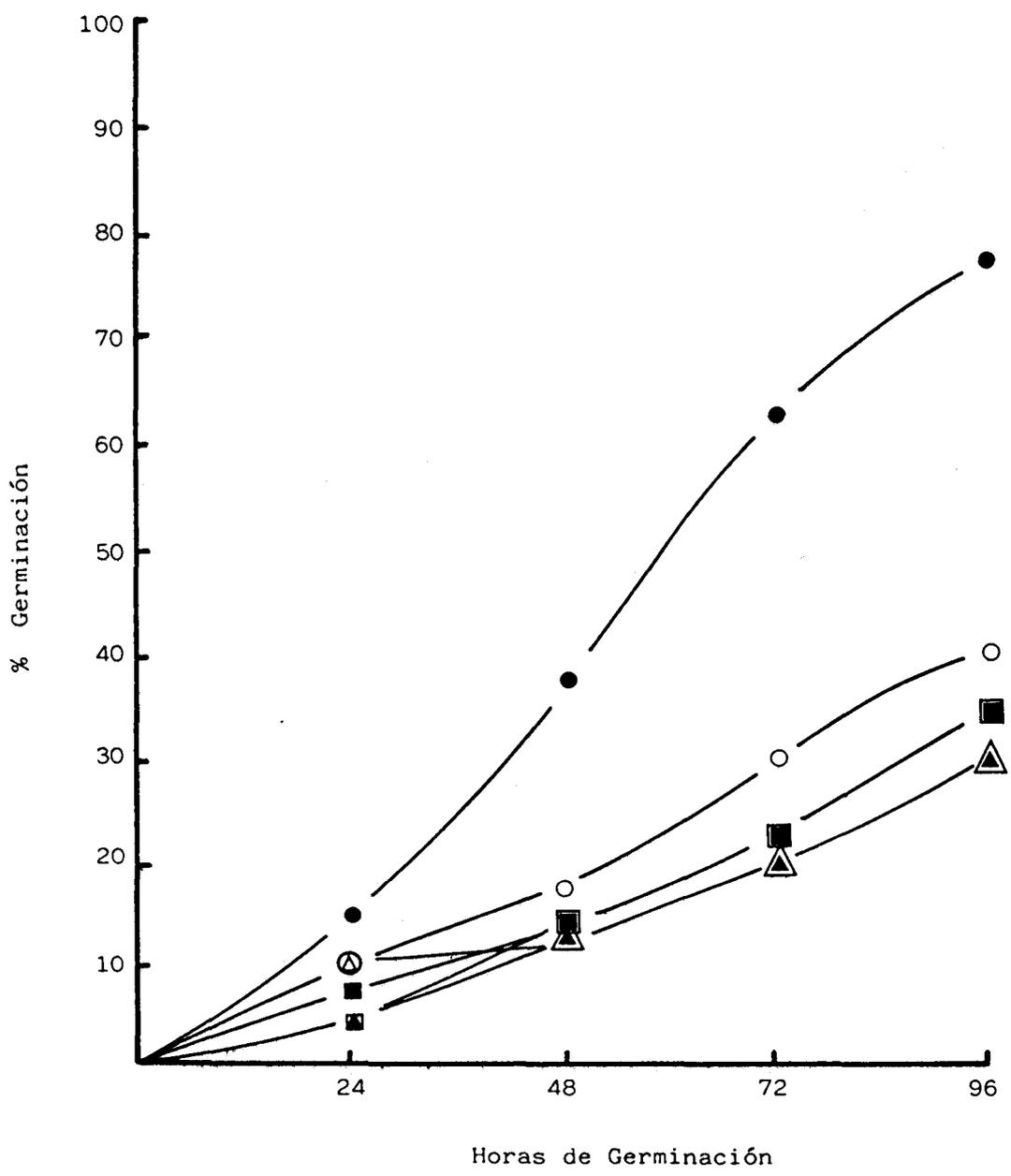
	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	-165.517 (0.001)	-34.482 (NS)	-10.344 (NS)	-6.896 (NS)	7.407 (NS)
$10^{-4}M$	-185.185 (0.001)	-44.444 (NS)	-18.518 (NS)	-14.814 (NS)	
$10^{-5}M$	-148.387 (0.001)	-25.806 (NS)	-3.225 (NS)		
$10^{-6}M$	-140.625 (0.001)	-21.875 (NS)			
$10^{-7}M$	-97.435 (0.001)				

Resumen de los resultados del Ensayo B-4

Al comparar las distintas concentraciones de ABA en los distintos materiales vegetales empleados, observamos una clara variabilidad estadística ( $p=0.001$ ) entre ellas, tanto en el desprendimiento de etileno (Tabla B-22 y B-23 y Fig. B-10 y B-11), como sobre el % de germinación (Tabla B-26 y Fig. B-12). A medida que aumenta la concentración de ABA, disminuye el desprendimiento de etileno, produciéndose el mínimo a la concentración de  $10^{-4}M$ . Por ser similar el modelo seguido en cada uno de los materiales vegetales, solo pondremos en esta memoria el análisis estadístico de la semilla intacta.

En la semilla intacta, el mínimo desprendimiento de etileno se produce a la concentración de  $10^{-4}M$ , con una inhibición respecto al testigo de 148% (Tabla B-25)

Fig. B-12.-%Germinación de semillas tratadas con distintas concentraciones de ABA, durante las primeras 96 horas (● testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).



estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ). Esta concentración causa, así mismo, el mínimo % de germinación, con una inhibición con respecto al testigo de 185% (Tabla B-28), estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ). Aunque en este caso dicha concentración no presentaba diferencias estadísticas respecto a las demás.

De acuerdo con estos resultados se seleccionó la concentración de  $10^{-4}M$ , como la óptima de ABA. Resultados similares han sido obtenidos por KETRING y MORGAN (1972), GERTMAN y FUCHS (1972), YOSHII e IMASEKI (1981;1982).

#### ENSAYO B-5.- Optimización de Metionina.

Se trataron semillas intactas, sin testas, ejes embrionarios y cotiledones con concentraciones crecientes de metionina. Los resultados se encuentran en las Tablas B-29 a B-35 y las Fig. B-13 a B-15.

Tabla 8-29

Etileno desprendido durante las primeras 96 horas (acumulado), en semilla intacta y sin testa, expresado en nl/semilla. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentración de Metionina				
			$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Semilla intacta	24	5.568	6.822	8.640	9.129	10.014	9.319
	48	8.232	9.831	13.410	14.398	15.437	14.517
	72	9.958	11.838	15.687	16.995	18.239	16.762
	96	11.398	13.378	17.306	18.781	20.131	18.589
	$\bar{x}$	8.789	10.467	13.760	14.825	15.955	14.796
	$\sigma_n$	2.171	2.451	3.264	3.639	3.815	3.475
	%-T	100.000	119.094	156.567	168.685	181.536	168.355
Semilla sin testa	24	6.556	7.133	9.222	10.045	10.886	10.383
	48	26.233	24.462	29.108	36.208	40.807	37.242
	72	31.502	30.525	35.435	43.087	50.011	44.288
	96	33.157	32.275	37.256	44.981	52.000	46.276
	$\bar{x}$	24.362	23.598	27.755	33.580	38.426	34.547
	$\sigma_n$	10.593	9.938	11.119	13.974	16.451	14.349
	%-T	100.000	96.867	113.928	137.838	157.729	141.807

Tabla 8-30

Etileno desprendido (acumulado) durante las primeras 96 horas, en eje embrionario y cotiledones, expresado en nl/unidad de material vegetal. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Concentración de Metionina					
		Testigo	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Eje	24	42.847	43.674	46.728	51.066	53.583	48.972
	48	67.318	72.051	79.642	85.339	90.267	81.691
	72	77.547	86.174	95.079	102.780	111.195	99.174
	96	84.847	93.743	104.607	114.092	124.325	108.599
	$\bar{x}$	68.139	73.910	81.514	88.319	94.842	84.609
	$\sigma_n$	15.874	19.114	21.970	23.822	26.739	22.727
	%-T	100.000	108.468	119.627	129.614	139.188	124.169
Cotiledón	24	7.065	7.507	8.441	9.813	10.894	7.455
	48	9.943	11.177	13.745	16.605	18.267	10.842
	72	11.217	12.639	15.983	19.658	22.064	12.356
	96	11.980	13.647	17.929	22.301	25.212	13.341
	$\bar{x}$	10.051	11.242	14.024	17.094	19.109	10.998
	$\sigma_n$	1.871	2.328	3.547	4.662	5.342	2.231
	%-T	100.000	111.851	139.529	170.070	190.118	109.424

Fig. B-13.- Etileno desprendido (acumulado) expresado en nl/unidad de material vegetal, por semilla intacta , sin testa, eje embrionario y cotiledones tratados con concentraciones crecientes de Metionina, durante las primeras 96 horas (● testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).

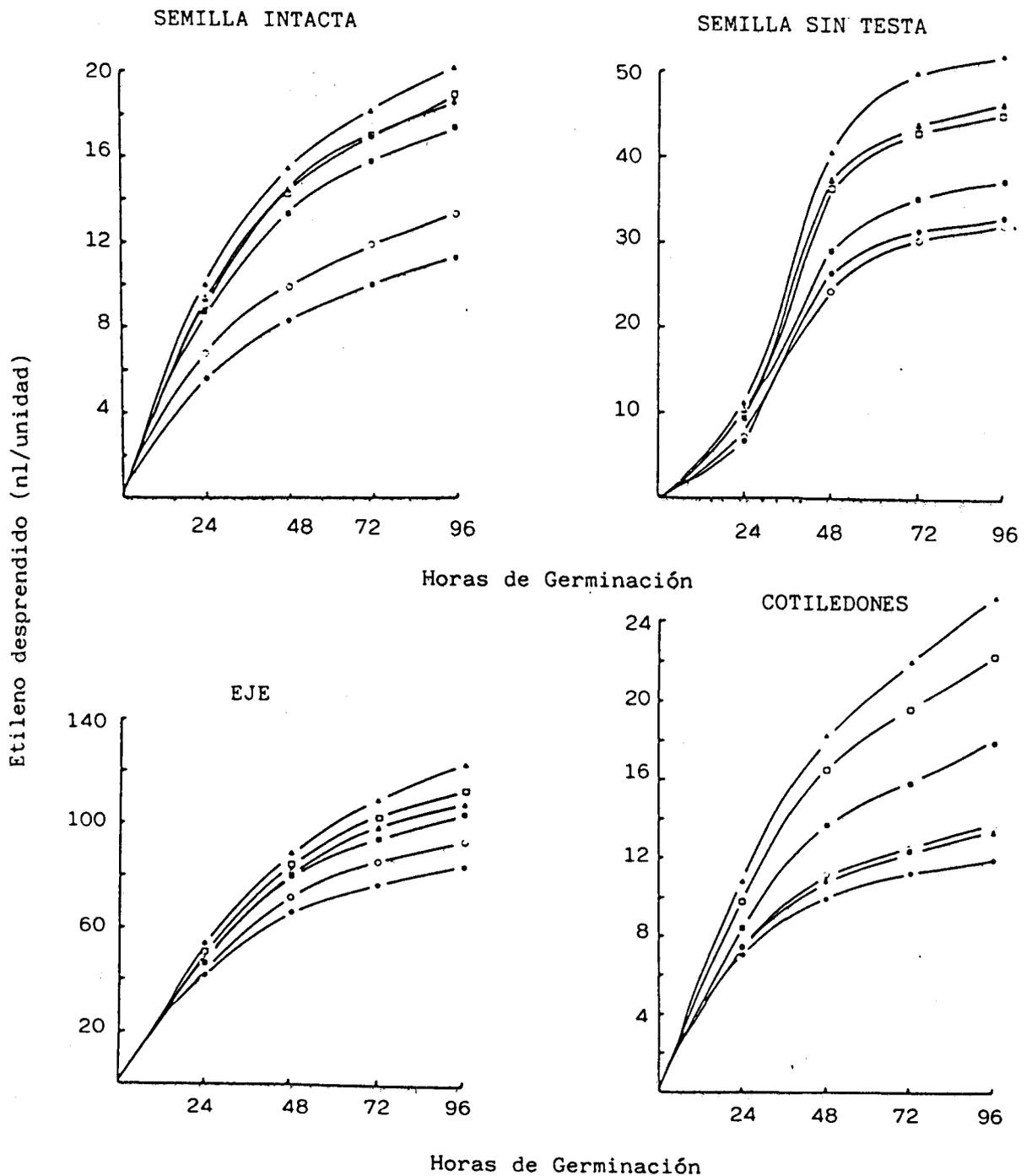


Tabla B-31

Análisis de varianza del desprendimiento de Etileno de las semillas intactas, tratadas con concentraciones crecientes de Metionina.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida	3	235.60	78.53	124.56	0.001
Conc. Metionina	5	159.85	31.96	50.70	0.001
Error	15	9.45	0.63		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Conc. Metionina	1.196	1.654	2.286

Tabla B-32

Diferencias entre los tratamientos de Metionina, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	68.355 (0.001)	41.362 (0.001)	7.528 (NS)	-0.195 (NS)	-7.829 (NS)
$10^{-4}M$	81.536 (0.001)	52.430 (0.001)	15.947 (0.01)	7.618 (NS)	
$10^{-5}M$	68.685 (0.001)	41.639 (0.001)	7.739 (NS)		
$10^{-6}M$	56.567 (0.001)	31.464 (0.001)			
$10^{-7}M$	19.094 (0.01)				

Fig. B-14.- Etileno total desprendido durante las primaras 96 horas (nl/unidad de material vegetal) en semillas intactas, sin testa, eje embrionario y cotiledones tratados con concentraciones crecientes de Metionina (A testigo, B  $10^{-7}$ M, C  $10^{-6}$ M, D  $10^{-5}$ M, E  $10^{-4}$ M, F  $10^{-3}$ M.

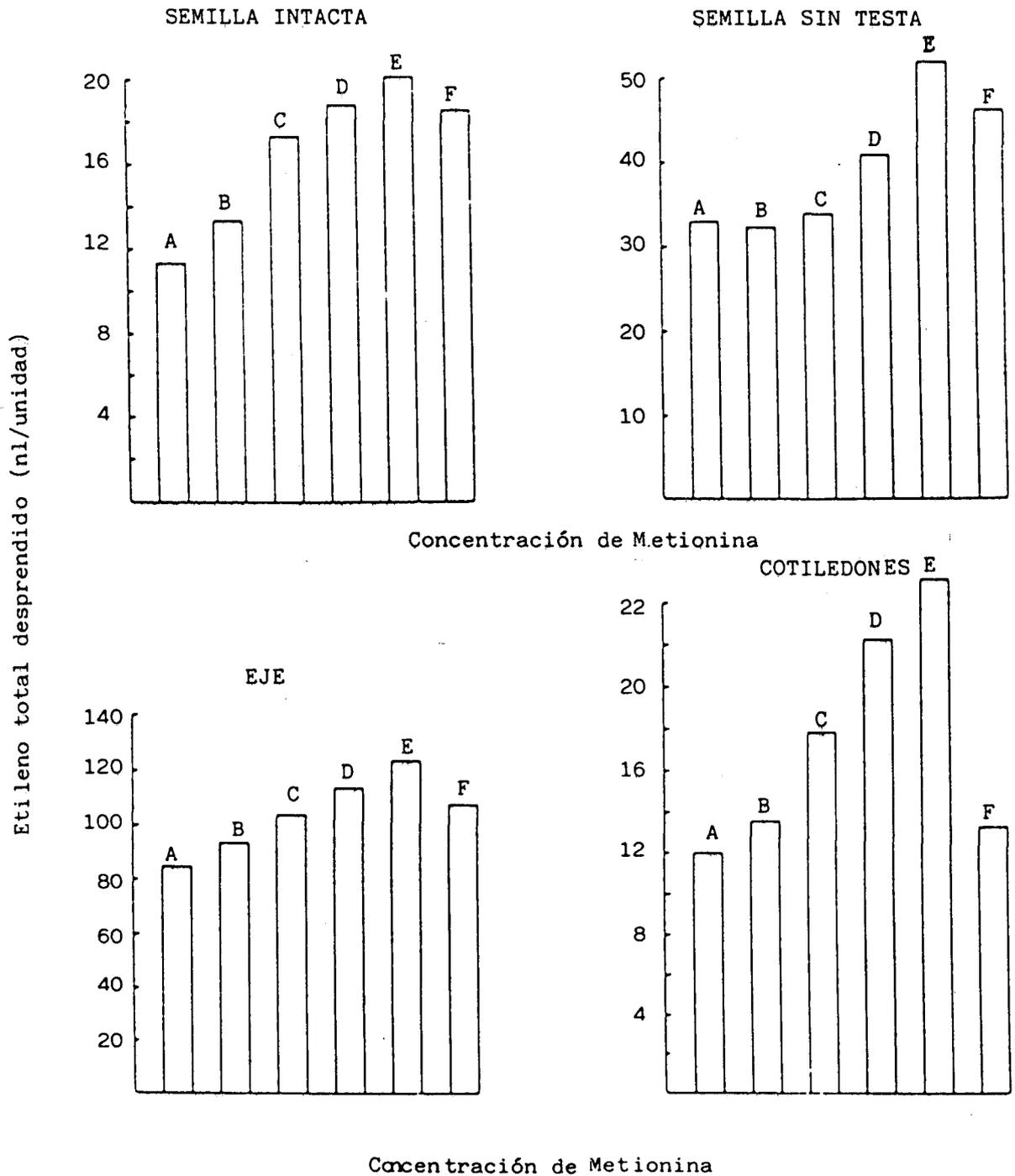


Tabla B-33

Porcentaje de germinación, durante las primeras 96 horas, en función de las distintas concentraciones de Metionina. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Medida	T	Concentración de Metionina				
		$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
24	15.0	12.5	15.0	17.5	20.0	15.0
48	37.5	35.0	35.0	40.0	42.5	37.5
72	62.5	65.0	65.0	67.5	70.0	65.0
96	77.5	80.0	80.0	82.5	85.0	80.0
$\bar{x}$	48.1	48.1	48.7	51.9	54.4	49.4
$\sigma_n$	23.9	26.2	25.3	25.0	25.0	25.0
%-T	100.0	100.0	101.3	107.8	112.9	102.6

Tabla B-34

Análisis de varianza. Porcentaje de germinación en función de las distintas concentraciones de Metionina.

	FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida		3	15088.3	5029.4	4598.3	0.001
Conc. Metionina		5	126.3	25.3	23.1	0.001
Error		15	16.4	1.1		
Total		23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Conc. Metionina	1.575	2.179	3.012

Fig. B-15.- % Germinación de semillas tratadas con distintas concentraciones de Metionina, durante las primeras 96 horas (● Testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).

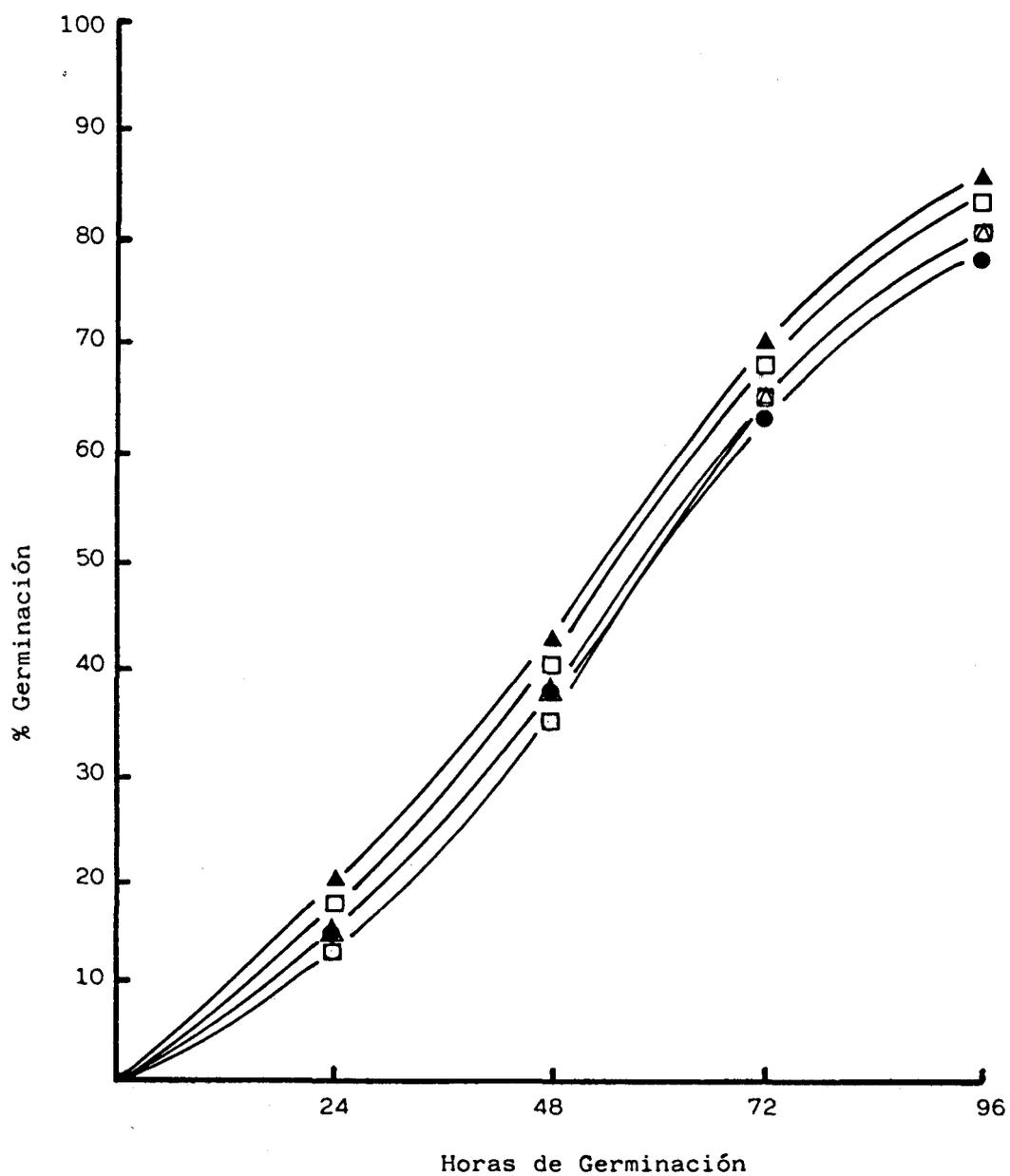


Tabla B-35

Diferencias en el porcentaje de germinación entre los tratamientos de Metionina, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	2.597 (NS)	2.597 (NS)	1.282 (NS)	-5.063 (0.01)	-10.126 (0.001)
$10^{-4}M$	12.987 (0.001)	12.987 (0.001)	11.538 (0.001)	4.819 (0.01)	
$10^{-5}M$	7.792 (0.001)	7.792 (0.001)	6.410 (0.001)		
$10^{-6}M$	1.298 (NS)	1.298 (NS)			
$10^{-7}M$	0.000 (NS)				

Resumen de los resultados del Ensayo B-5

Este ensayo tenía por objeto seleccionar la concentración óptima de metionina sobre el desprendimiento de etileno y el % de germinación.

Podemos observar una clara variabilidad estadística, entre los niveles de metionina, en todos los materiales vegetales ensayados, tanto en el desprendimiento de etileno (Tablas B-29 y B-30 y Fig. B-13 y B-14), como en el porcentaje de germinación (Tabla B-33). Al igual que en los ensayos anteriores, solo pondremos aquí el análisis estadístico de las semillas intactas (Tabla B-31).

En semillas intactas, el desprendimiento va aumentando hasta alcanzar el máximo a la concentración de  $10^{-4}M$ , presentando un incremento con respecto al -

testigo de 81.5% (Tabla B-32) estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ).

El máximo % de germinación se consigue con la concentración de  $10^{-4}M$  (Fig. B-15), presentando un incremento con respecto al testigo de 13% (Tabla B-35), estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ).

De acuerdo con estos resultados, se escogió la concentración  $10^{-4}M$ , como la óptima de metionina, coincidiendo con SATOH y ESAGHI (1982).

#### ENSAYO B-6.- Optimización del Triptófano.

Las semillas intactas, sin testas, ejes embrionarios y cotiledones, se trataron con concentraciones crecientes de triptófano. Los resultados se encuentran en las Tablas B-36 a B-42 y en las Fig. B-16 a B-18.

Tabla 8-36

Etileno desprendido (acumulado) durante las primeras 96 horas, expresado en nl/semilla, en semilla intacta y sin testa tratadas con concentraciones - crecientes de Triptófano. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentración de Triptófano				
			$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Semilla intacta	24	5.568	6.468	7.566	9.313	10.162	8.341
	48	8.232	9.504	10.923	13.059	14.437	12.011
	72	9.958	11.432	13.014	15.144	17.045	14.264
	96	11.398	13.120	14.934	17.047	19.215	16.104
	$\bar{x}$	8.789	10.131	11.609	13.640	15.214	12.680
	$\sigma_n$	2.171	2.471	2.731	2.869	3.372	2.894
	%-T	100.000	115.269	132.088	155.202	173.111	144.271
Semilla sin testa	24	6.556	8.510	9.547	9.764	10.323	10.060
	48	26.233	30.438	31.884	36.743	39.781	32.388
	72	31.502	36.066	37.943	43.890	48.073	38.068
	96	33.157	37.766	39.717	46.119	51.113	39.842
	$\bar{x}$	24.362	28.195	29.772	34.129	37.322	30.089
	$\sigma_n$	10.593	11.684	12.033	14.487	16.130	11.887
	%-T	100.000	115.733	122.209	140.091	153.199	123.509

Tabla 8-37

Etileno desprendido (acumulado) durante 96 horas, expresado en nl/unidad de material vegetal, en eje embrionario y cotiledones, tratados con concentraciones crecientes de Triptófano.

Material vegetal	Medida (horas)	Testigo	Concentraciones de Triptófano				
			$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
Eje	24	42.847	43.834	44.152	46.820	48.954	44.144
	48	67.318	70.300	72.826	76.313	80.869	72.884
	72	77.547	78.148	83.194	90.329	96.911	84.716
	96	84.847	85.584	90.581	97.883	105.350	92.594
	$\bar{x}$	68.139	69.466	72.688	77.688	83.041	73.584
	$\sigma_n$	15.874	15.754	17.641	19.508	21.557	18.388
	%-T	100.000	101.947	106.675	114.230	121.868	107.990
Cotiledón	24	7.065	7.503	7.868	9.266	10.053	7.287
	48	9.943	10.818	12.935	15.298	15.416	10.368
	72	11.217	12.572	15.194	17.918	18.252	11.570
	96	11.980	13.533	16.970	20.438	20.724	12.290
	$\bar{x}$	10.051	11.106	13.241	15.730	16.111	10.378
	$\sigma_n$	1.871	2.296	3.416	4.150	3.970	1.912
	%-T	100.000	110.498	131.742	156.497	160.291	103.258

Fig. B-16.- Etileno desprendido (en forma acumulada) expresado en nl/unidad de material vegetal en semilla intacta, sin testa, eje embriionario y cotiledones durante las primeras 96 horas tratadas con concentraciones crecientes de Triptófano (● testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).

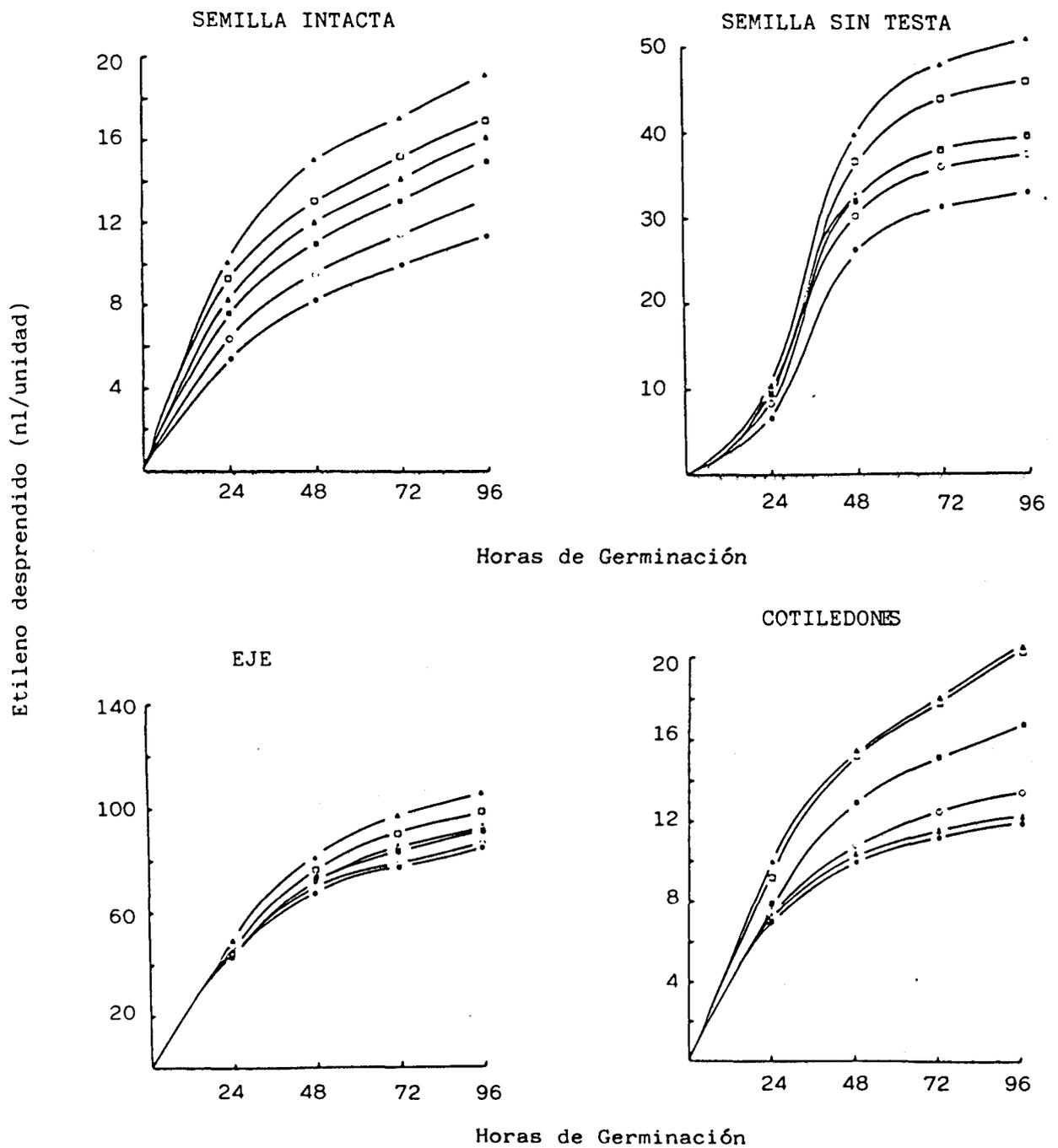


Tabla B-38

Análisis de varianza del Etileno desprendido por las semillas intactas, tratadas con concentraciones crecientes de Triptófano.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida	3	181.69	60.56	269.3	0.001
Conc. Triptófano	5	109.77	21.95	97.6	0.001
Error	15	3.37	0.22		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Conc. Triptófano	0.714	0.988	1.365

Tabla B-39

Diferencias entre los tratamientos de Triptófano, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	44.271 (0.001)	25.160 (0.001)	9.223 (0.01)	-7.576 (0.05)	-19.990 (0.001)
$10^{-4}M$	73.111 (0.001)	50.180 (0.001)	31.057 (0.001)	11.538 (0.001)	
$10^{-5}M$	55.202 (0.001)	34.643 (0.001)	17.498 (0.001)		
$10^{-6}M$	32.088 (0.001)	14.591 (0.001)			
$10^{-7}M$	15.269 (0.01)				

Fig. B-17.- Etileno total desprendido durante las primeras 96 horas (nl/uni-  
dad de material vegetal) en semillas intactas, sin testa, eje -  
embrionario y cotiledones, tratados con concentraciones crecien-  
tes de Triptófano (A testigo, B  $10^{-7}$  M, C  $10^{-6}$  M, D  $10^{-5}$  M, E  $10^{-4}$  M,  
F  $10^{-3}$  M.

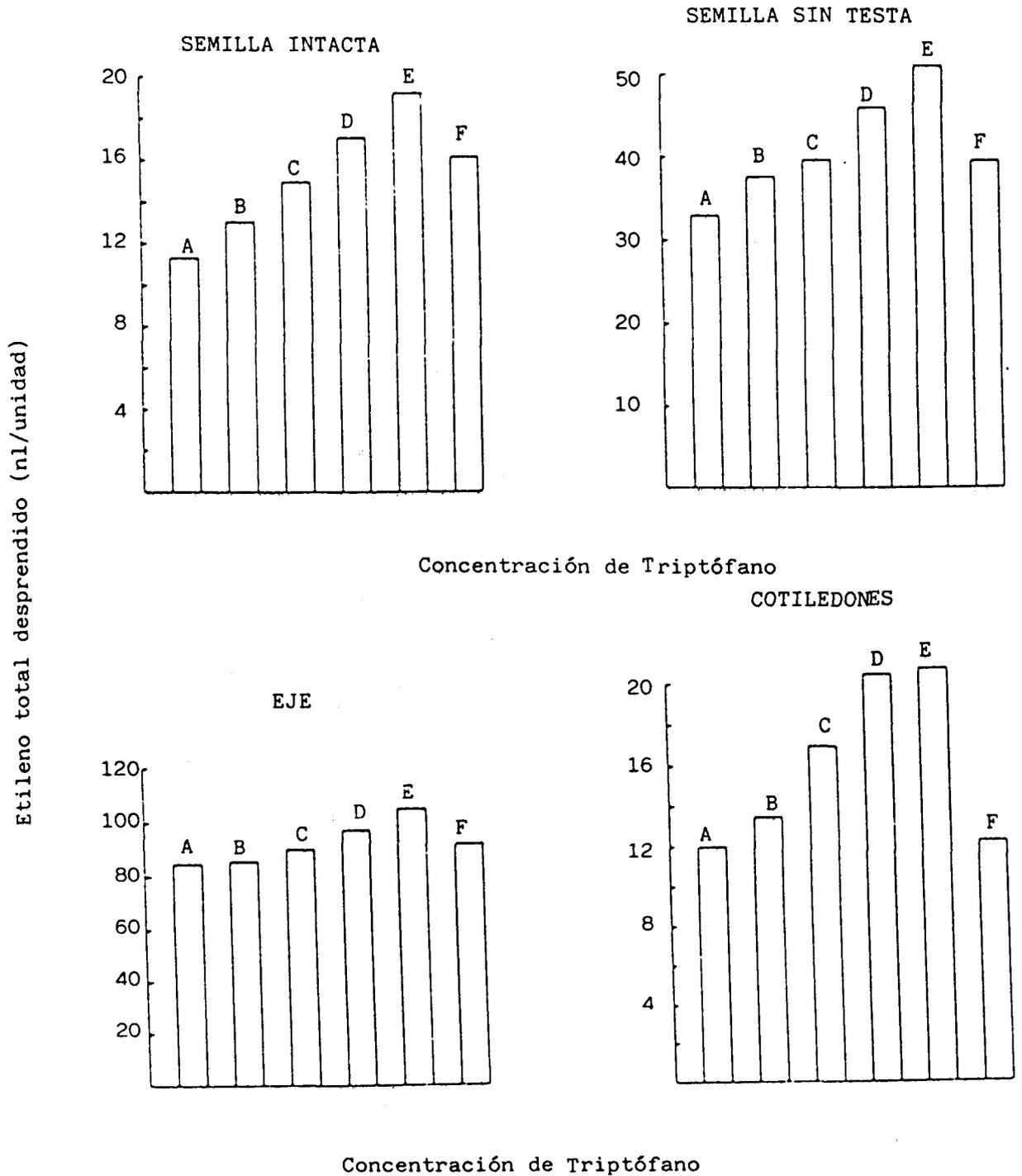


Tabla B-40

Porcentaje de germinación, durante las primeras 96 horas, en función de las distintas concentraciones de - Triptófano. Cada valor es media de cuatro repeticiones.

Medida	T	Concentración de Triptófano				
		$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$	$10^{-3}M$
24	15.0	15.0	15.0	17.5	20.0	15.0
48	37.5	40.0	47.5	50.0	60.0	30.0
72	62.5	65.0	65.0	67.5	70.0	45.0
96	77.5	75.0	77.5	80.0	82.5	60.0
$\bar{x}$	48.1	48.7	51.2	53.7	58.1	37.5
$\sigma_n$	23.9	23.3	23.5	23.5	23.4	16.8
%-T	100.0	101.3	106.5	111.7	120.8	77.9

Tabla B-41

Análisis de varianza. Porcentaje de germinación en función de las distintas concentraciones de Triptófano.

	FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Hora de medida		3	11847.9	3949.3	179.4	0.001
Conc. Triptófano		5	967.7	193.5	8.8	0.001
Error		15	330.2	22.0		
Total		23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Conc. Triptófano	7.069	9.777	13.512

Fig. B-18.- % Germinación de semillas tratadas con distintas concentraciones de Triptófano, durante las primeras 96 horas (● testigo, ○  $10^{-7}$  M, ■  $10^{-6}$  M, □  $10^{-5}$  M, ▲  $10^{-4}$  M, △  $10^{-3}$  M).

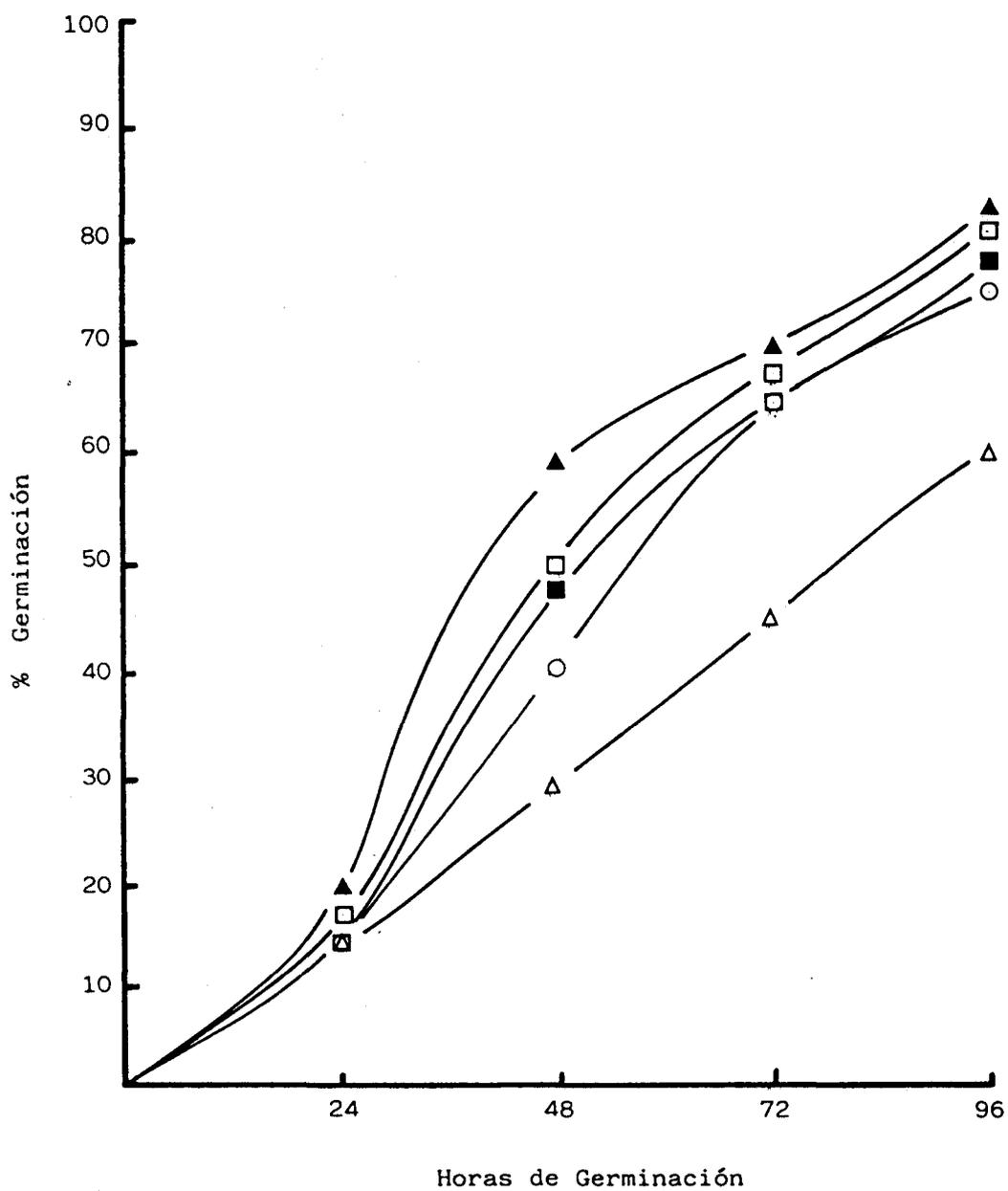


Tabla 8-42

Diferencias en el porcentaje de germinación entre los tratamientos de Triptófano, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$	$10^{-5}M$	$10^{-4}M$
$10^{-3}M$	-28.333 (0.01)	-30.000 (0.01)	-36.666 (0.001)	-43.333 (0.001)	-55.000 (0.001)
$10^{-4}M$	20.779 (0.01)	19.230 (0.05)	13.414 (NS)	8.139 (NS)	
$10^{-5}M$	11.688 (NS)	10.256 (NS)	4.878 (NS)		
$10^{-6}M$	6.493 (NS)	5.128 (NS)			
$10^{-7}M$	1.298 (NS)				

#### Resumen de los resultados del Ensayo 8-6

Se puede observar en todos los materiales vegetales ensayados, una clara variabilidad estadística ( $p=0.001$ ) entre las distintas concentraciones de triptófano, tanto en el desprendimiento de etileno (Tablas 8-36 y 8-37 y Figuras 8-16 y 8-17), como en el % de germinación (Tabla 8-40 y Fig. 8-18). Como en los ensayos anteriores sólo pondremos en esta memoria el análisis estadístico de la semilla intacta.

En semillas intactas, el desprendimiento de etileno va aumentando hasta alcanzar el máximo a la concentración de  $10^{-4}M$ , con un incremento con respecto al testigo de 73.1% (Tabla 8-39), estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ).

El máximo % de germinación se consigue con la misma concentración,  $10^{-4}M$ , que presenta un incremen-

to con respecto al testigo de 20.8% (Tabla B-42), estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ).

De acuerdo con estos resultados se seleccionó la concentración  $10^{-4}M$ , como la óptima de tripófano, coincidiendo con la concentración elegida por SATOH y ESASHI (1982).

EXPERIENCIA C.- Efecto de algunos precursores hormonales, inhibidores y promotores del crecimiento vegetal.

Este ensayo tenía por objeto ver la influencia de algunos precursores hormonales (Triptófano y Metionina), inhibidores (ABA) y promotores del crecimiento vegetal (Quinetina), así como la posible interacción entre estos últimos, durante las primeras 96 horas de germinación, sobre los siguientes parámetros:

1. Etileno desprendido.
2. Etileno ligado.
3. Porcentaje de germinación.
4. Longitud de la radícula.

En todos los casos la concentración usada fue de  $10^{-4}$  M. Las medidas se realizaron en semilla intacta, sin testa, eje embrionario y cotiledones.

En este ensayo partimos de 12 repeticiones a las 24 horas, de las que se fueron retirando tres de ellas después de cada medida de etileno desprendido, quedando por tanto, 9, 6 y 3 repeticiones a las 48, 72 y 96 horas, respectivamente (Ver Material y Métodos, Apdo 6.3.3).

1. Etileno desprendido. Con respecto a este parámetro estudiaremos el punto de máximo desprendimiento de etileno, expresado en nl/hora/semilla, en cada uno de los materiales vegetales empleados y en función de los tratamientos usados: ABA, Quinetina, ABA en combinación con Quinetina, Triptófano y Metionina. Por otra parte, veremos la evolución del etileno desprendido a lo largo del tiempo, en forma acumulada desde el comienzo de la germinación, hasta el momento de la medida, expresado en nl/semilla.

Los resultados se encuentran en las Tablas C-1 a C-28 y en las Fig. C-1 a c-8.

Tabla C-1

Etileno desprendido, expresado en nl/hora/semilla, por la semilla intacta durante las primeras 96 horas. Cada valor es media de las repeticiones existentes en dicho período de tiempo.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	0.247	0.124	0.579	0.141	0.428	0.467
48	0.147	0.067	0.601	0.113	0.238	0.289
72	0.193	0.069	0.195	0.106	0.161	0.260
96	0.047	0.020	0.109	0.029	0.086	0.096
$\bar{x}$	0.158	0.070	0.371	0.097	0.228	0.278
$\sigma_n$	0.073	0.036	0.221	0.041	0.127	0.131
%-T	100.000	44.164	234.069	61.356	144.006	175.394

Tabla C-2

Etileno desprendido, expresado en nl/hora/semilla, a las 24 horas por la semilla intacta (Punto de máximo desprendimiento de Etileno).

R	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
1	0.241	0.162	0.621	0.149	0.424	0.500
2	0.202	0.170	0.614	0.100	0.421	0.509
3	0.224	0.125	0.547	0.155	0.422	0.533
4	0.288	0.119	0.634	0.145	0.432	0.474
5	0.337	0.137	0.612	0.118	0.424	0.454
6	0.278	0.109	0.589	0.192	0.522	0.516
7	0.252	0.093	0.571	0.101	0.402	0.470
8	0.193	0.092	0.622	0.103	0.471	0.403
9	0.245	0.130	0.590	0.166	0.432	0.481
10	0.222	0.163	0.533	0.139	0.361	0.392
11	0.222	0.087	0.501	0.184	0.404	0.459
12	0.254	0.104	0.513	0.134	0.417	0.415
$\bar{x}$	0.247	0.124	0.579	0.141	0.428	0.467
$\sigma_n$	0.038	0.027	0.043	0.029	0.037	0.043
%-T	100.000	50.405	234.854	56.997	173.495	189.519

Fig. C-1.- Etileno desprendido durante las primeras 96 horas (expresado en nl/hora/semilla) por la semilla intacta (● Testigo; ○ ABA; ■ Quinetina; □ ABA con Quinetina; ▲ Triptófano; △ Metionina).

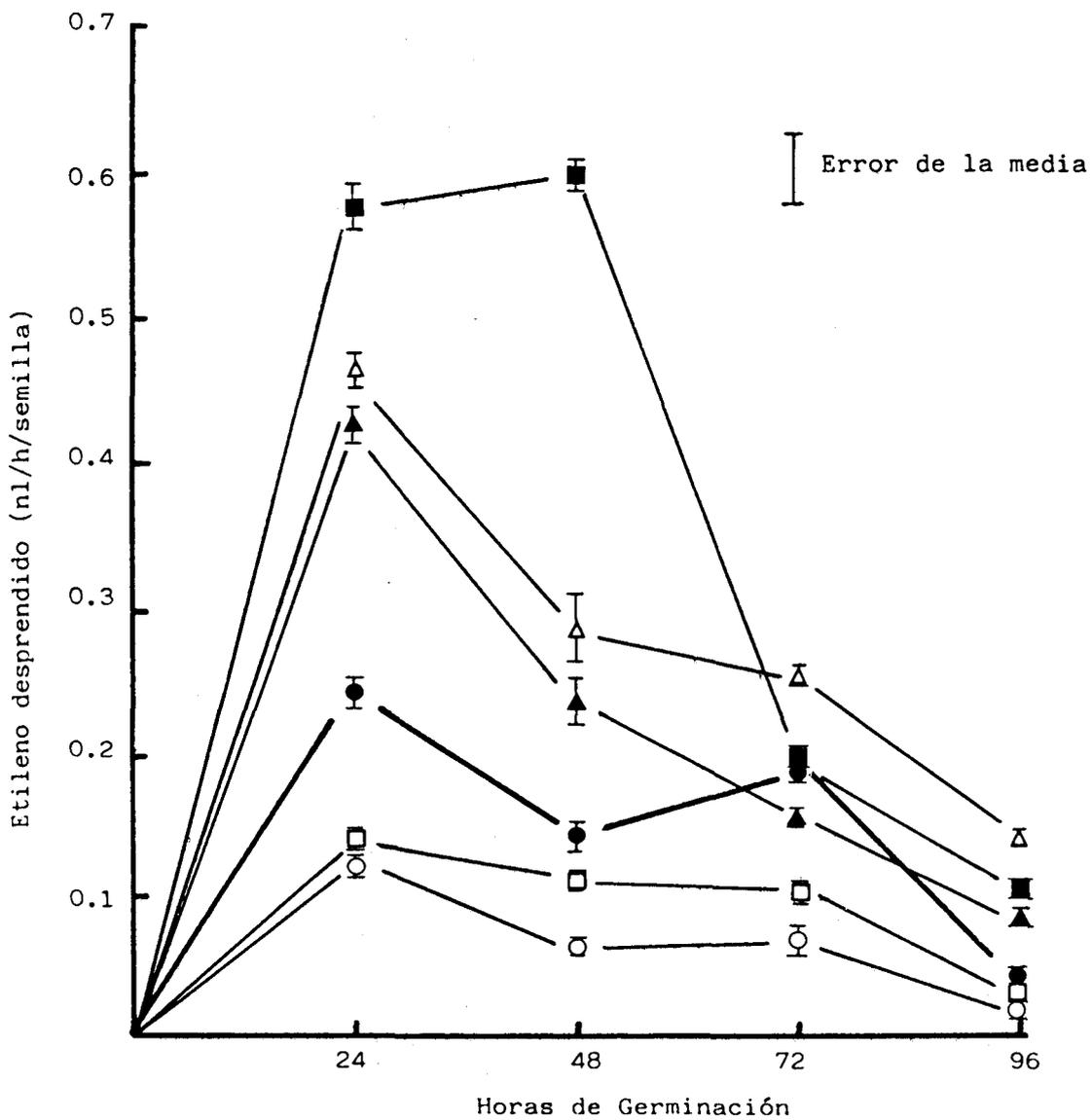


Tabla C-3

Análisis de varianza. Punto máximo de desprendimiento -  
de Etileno. Semilla intacta.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	11	0.029	0.002	2.07	(NS)
Tratamientos	5	2.106	0.421	329.53	0.001
Error	55	0.070	0.001		
Total	71				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.029	0.039	0.051

Tabla C-4

Diferencias entre los tratamientos, expresadas en % y  
nivel de probabilidad. Punto máximo de desprendimiento  
de Etileno. Semilla intacta.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	89.519 (0.001)	275.989 (0.001)	-23.920 (0.001)	232.502 (0.001)	9.236 (0.01)
TRI	73.495 (0.001)	244.198 (0.001)	-35.366 (0.001)	204.389 (0.001)	
ABA+Q	-75.444 (0.001)	13.078 (NS)	-312.040 (0.001)		
Q	134.854 (0.001)	365.928 (0.001)			
ABA	-98.390 (0.001)				

Tabla C-5

Etileno desprendido (acumulado), expresado en nl/semilla intacta. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	5.256	2.680	12.612	3.033	9.257	10.157
48	8.824	4.316	27.620	5.648	15.170	17.377
72	13.748	5.965	31.924	8.220	18.195	23.678
96	14.912	6.884	34.987	9.020	21.459	28.100
$\bar{x}$	10.685	4.961	26.785	6.480	16.020	19.828
$\sigma_n$	3.879	1.606	8.591	2.348	4.493	6.759
%-T	100.000	46.431	250.685	60.648	149.932	185.568

Tabla C-6

Análisis de varianza. Evolución de Etileno desprendido por la semilla intacta.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	500.4	166.8	16.57	0.001
Tratamientos	5	1402.6	280.5	27.87	0.001
Error	15	150.9	10.1		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	4.780	6.610	9.136
Fechas	3.903	5.397	7.460

Fig. C-2.- Etileno desprendido (acumulado), expresado en nl/semilla intacta (● Testigo; ○ ABA; ■ Quinetina; □ ABA con Quinetina; ▲ Triptófano; △ Metionina).

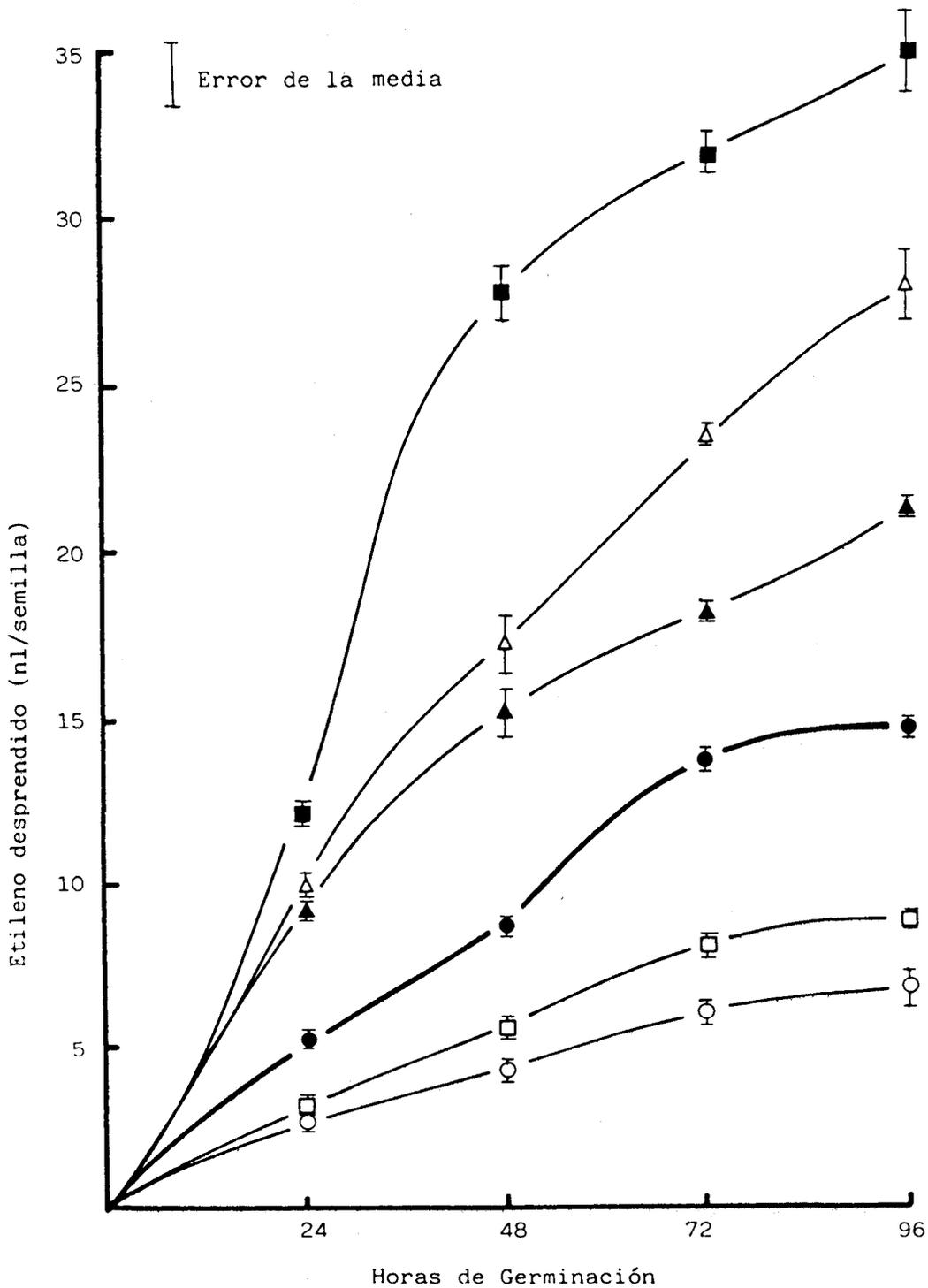


Tabla C-7

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Evolución del Etileno desprendido por la semilla intacta.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	85.568 (0.001)	299.657 (0.001)	-35.090 (0.01)	205.975 (0.001)	23.768 (NS)
TRI	49.932 (0.05)	222.907 (0.001)	-67.199 (0.001)	147.216 (0.001)	
ABA+Q	-64.885 (NS)	30.617 (NS)	-313.344 (0.001)		
Q	150.685 (0.001)	439.899 (0.001)			
ABA	-115.369 (0.05)				

Con respecto al etileno desprendido por la semilla intacta, observamos que en el punto de máximo desprendimiento de etileno (Tabla C-2), no existe variabilidad estadística entre las repeticiones (Tabla C-3), pero sí entre los tratamientos ( $p=0.001$ ). La quinetina es el tratamiento que causa mayor desprendimiento de etileno, 134.8% frente al testigo (Tabla C-4), estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ) y con diferencias estadísticas frente al resto. El ABA inhibe el desprendimiento de etileno un 98.4% frente al testigo ( $p=0.001$ ). Al dar conjuntamente ABA y quinetina, observamos que la inhibición es menor que en el caso de tratar a las semillas con ABA, aunque no existen diferencias significativas entre el tratamiento doble y el ABA, por lo que podemos decir que la quinetina no logra revertir el efecto inhibitor del ABA al dar los dos tratamientos en combinación.

De los precursores hormonales, la metionina parece

provocar un mayor incremento en el desprendimiento de etileno, 89.5% frente al testigo, mientras que el tripófano causa un 73.5%, siendo ambos estadísticamente significativos ( $p=0.001$ ) y con diferencias estadísticas entre ellos ( $p=0.001$ ).

Si observamos la evolución de etileno a lo largo del tiempo (Tabla C-5), vemos que existe una clara variabilidad estadística entre las fechas de medida, así como entre los distintos tratamientos ( $p=0.001$ ; Tabla C-6). La quinetina causa el mayor desprendimiento de etileno, 150.7%, frente al testigo, estadísticamente significativo ( $p=0.001$ ; Tabla C-7) y con diferencias estadísticas frente al resto de los tratamientos. El ABA inhibe el desprendimiento de etileno 115.4% frente al testigo, de manera significativa ( $p=0.05$ ). Al dar en combinación el promotor y el inhibidor, observamos que presenta una inhibición en el desprendimiento de etileno de 64.9%, sin diferencias estadísticas frente al testigo, ni respecto al tratamiento de ABA solo.

Los precursores presentan unos incrementos frente al testigo de 85.6% y 49.9% para la metionina y el tripófano respectivamente, sin diferencias estadísticas entre ellos.

Tabla C-8

Etileno desprendido, expresado en nl/hora/semilla, por la semilla sin testa durante las primeras 96 horas. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período de tiempo.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	0.293	0.194	0.710	0.301	0.374	0.448
48	0.892	0.093	1.836	0.180	1.121	1.100
72	0.218	0.023	0.753	0.177	0.337	0.397
96	0.079	0.000	0.234	0.028	0.043	0.041
$\bar{x}$	0.370	0.077	0.883	0.171	0.468	0.524
$\sigma_n$	0.310	0.075	0.586	0.096	0.397	0.426
%-T	100.000	20.917	238.394	46.288	126.518	141.497

Tabla C-9

Etileno desprendido por la semilla sin testa a las 48 - horas de germinación (Punto de máximo desprendimiento - de Etileno), expresado en nl/hora/semilla.

R	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
1	0.836	0.092	1.727	0.359	1.302	1.179
2	0.858	0.066	1.277	0.084	1.287	1.003
3	0.864	0.069	1.846	0.219	1.280	0.930
4	0.860	0.136	1.386	0.254	1.232	1.027
5	1.005	0.128	2.339	0.227	1.075	1.280
6	0.981	0.120	3.997	0.168	1.082	1.396
7	0.848	0.063	1.257	0.090	1.073	0.938
8	0.961	0.058	1.473	0.147	0.864	1.116
9	0.816	0.101	1.226	0.074	0.893	1.030
$\bar{x}$	0.892	0.093	1.836	0.180	1.121	1.100
$\sigma_n$	0.066	0.028	0.835	0.088	0.157	0.149
%-T	100.000	10.374	205.853	20.201	125.644	123.290

Fig. C-3.- Etileno desprendido por la semilla sin testa (nl/hora/semilla) ( ● Testigo; ○ ABA; ■ Quinetina; □ ABA con Quinetina; ▲ Triptófano; △ Metionina).

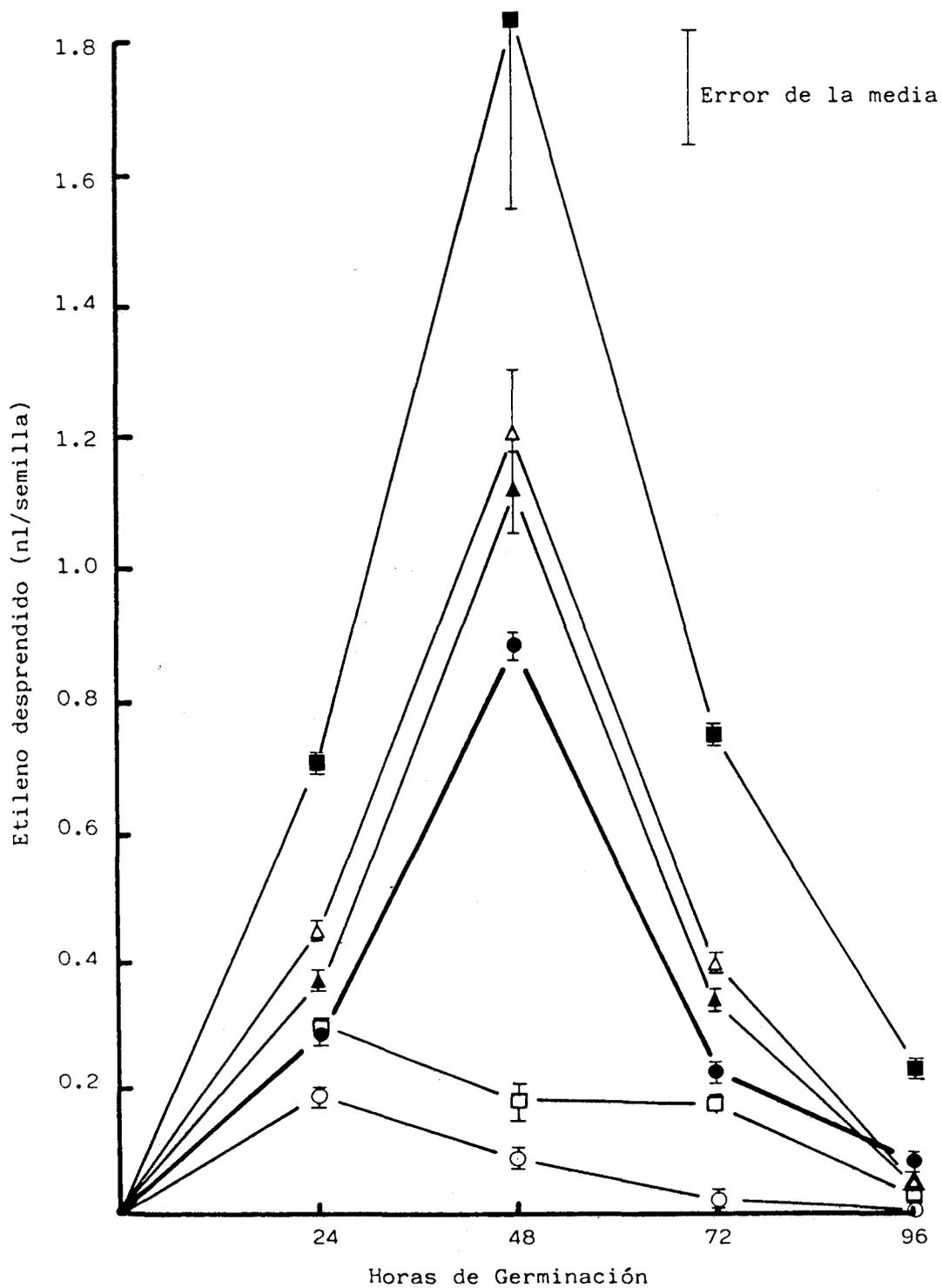


Tabla C-10

Análisis de varianza. Punto máximo de desprendimiento - de Etileno. Semilla sin testa.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	8	1.682	0.210	1.63	(NS)
Tratamientos	5	19.174	3.835	29.80	0.001
Error	40	5.147	0.129		
Total	53				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.341	0.457	0.600

Tabla C-11

Diferencias entre los tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Punto de máximo desprendimiento de Etileno en la semilla sin testa.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	23.290 (NS)	1094.565 (0.001)	-66.966 (0.001)	510.295 (0.001)	1.909 (NS)
TRI	25.644 (NS)	1117.391 (0.001)	-63.838 (0.001)	521.948 (0.001)	
ABA+Q	-395.006 (0.001)	94.717 (NS)	-918.988 (0.001)		
Q	105.853 (0.001)	1895.652 (0.001)			
ABA	-863.865 (0.001)				

Tabla C-12

Etileno desprendido por la semilla sin testa (acumulado) expresado en nl/semilla. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	6.930	4.589	16.980	7.133	8.952	10.727
48	28.439	7.052	54.932	11.408	36.085	37.191
72	33.972	7.738	75.287	15.602	45.937	46.968
96	35.277	8.175	80.142	16.928	49.341	47.132
$\bar{x}$	26.154	6.888	56.835	12.767	35.078	35.504
$\sigma_n$	11.392	1.386	24.878	3.838	15.850	14.860
%-T	100.000	26.337	217.305	48.816	134.121	135.749

Tabla C-13

Análisis de varianza. Evolución de Etileno desprendido durante las primeras 96 horas por la semilla sin testa.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	3451.16	1150.39	11.51	0.001
Tratamientos	5	6457.85	1291.57	12.92	0.001
Error	15	1498.65	99.91		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	15.061	20.829	28.787
Fechas	12.297	17.006	23.504

Fig. C-4.- Etileno desprendido (acumulado) por la semilla desprovista de testa, expresado en nl/semilla. ( ● Testigo; ○ ABA; ■ Quinetina; □ ABA con Quinetina; ▲ Triptófano; △ Metionina).

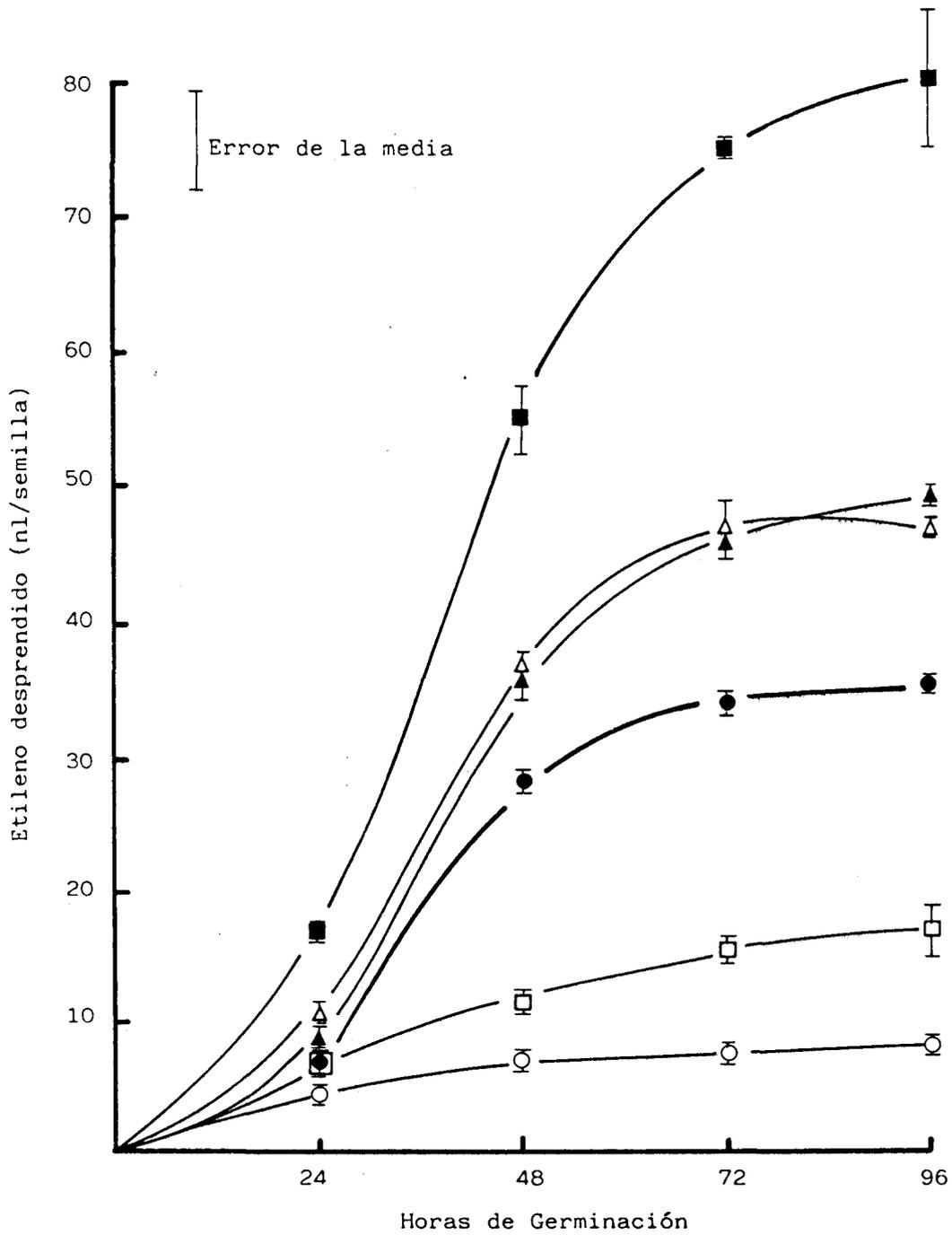


Tabla C-14

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Evolución del Etileno desprendido por la semilla sin testa.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	35.749 (NS)	415.417 (0.01)	-60.079 (0.01)	178.079 (0.01)	1.213 (NS)
TRI	34.121 (NS)	409.236 (0.01)	-62.021 (0.01)	174.744 (0.01)	
ABA+Q	-104.848 (NS)	85.348 (NS)	-345.146 (0.001)		
Q	117.305 (0.001)	725.074 (0.001)			
ABA	-279.683 (0.05)				

El etileno desprendido por la semilla desprovista de testa vemos que presenta un máximo en el testigo, - así como en las tratadas con quinetina, triptófano y metionina a las 48 horas, que no existe en los otros tratamientos (Fig. C-3). Al estudiar este punto máximo (Tabla C-9) observamos que no existe variabilidad entre las repeticiones, pero sí entre los tratamientos ( $p=0.001$ ; Tabla C-10). El tratamiento que causa mayor desprendimiento de etileno es el de quinetina (Tabla C-11) que presenta un incremento frente al testigo de 105.8%, siendo significativo ( $p=0.001$ ) frente a los restantes tratamientos. El ABA causa una inhibición de 863.9% frente al testigo, altamente significativa ( $p=0.001$ ). Al dar - en combinación promotor e inhibidor, vemos que aunque - disminuye la inhibición del desprendimiento de etileno, no es suficiente para revertirla, no existiendo diferencias significativas entre el ABA y el tratamiento doble.

Los precursores hormonales, triptófano y metionina, no presentan diferencias estadísticas ni entre ellos ni frente al testigo.

Al estudiar la evolución del desprendimiento de etileno a lo largo del tiempo (Tabla C-12), observamos - que existe variabilidad estadística ( $p=0.001$ ) tanto entre las fechas de medida, como entre los tratamientos - (Tabla C-13). La quinetina es el tratamiento que origina mayor desprendimiento de etileno (Tabla C-14), 1173% frente al testigo, ( $p=0.001$ ). El ácido abscisico origina una inhibición del 279.7%, significativa ( $p=0.05$ ) y que no es revertida al aplicar la quinetina en combinación con el ABA, no siendo el tratamiento doble significativo ni frente al testigo, ni frente al ABA.

Los precursores hormonales no presentan diferen---cias estadísticamente significativas entre ellos, ni - frente al testigo.

Tabla C-15

Etileno desprendido por el eje embrionario durante las primeras 96 horas, expresado en nl/hora/eje. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	1.452	0.791	2.668	0.970	1.892	1.971
48	0.954	0.181	2.306	0.353	1.548	1.521
72	0.372	0.012	0.932	0.120	0.489	0.503
96	0.304	0.000	0.558	0.000	0.315	0.355
$\bar{x}$	0.770	0.246	1.616	0.360	1.061	1.087
$\sigma_n$	0.467	0.322	0.890	0.373	0.672	0.679
%-T	100.000	31.927	209.733	46.820	137.702	141.142

Tabla C-16

Etileno desprendido por el eje embrionario a las 24 horas, expresado en nl/hora/eje. Punto de máximo desprendimiento de Etileno.

R	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
1	1.488	0.850	2.467	1.130	1.546	2.055
2	1.435	0.627	2.854	0.870	1.729	1.911
3	1.780	1.190	2.737	0.814	1.997	1.956
4	0.913	0.626	2.821	0.826	2.131	1.816
5	1.092	0.971	2.980	0.845	1.579	1.680
6	0.974	0.811	3.041	1.069	2.026	1.987
7	1.499	0.975	1.984	0.874	2.105	2.162
8	1.507	0.498	2.178	0.923	2.073	1.804
9	2.385	0.355	3.169	0.988	1.663	2.146
10	1.643	0.660	2.169	1.109	1.508	1.896
11	1.259	1.040	3.027	1.007	2.504	2.105
12	1.443	1.069	2.594	1.185	1.840	2.128
$\bar{x}$	1.452	0.791	2.668	0.970	1.892	1.971
$\sigma_n$	0.377	0.238	0.374	0.124	0.286	0.148
%-T	100.000	54.495	183.838	66.827	130.330	135.756

Fig. C-5.- Etileno desprendido por el eje embrionario expresado en nl/hora/eje. ( ● Testigo; ○ ABA; ■ Quinetina; □ ABA con Quinetina; ▲ Triptófano; △ Metionina). [Error de la media.

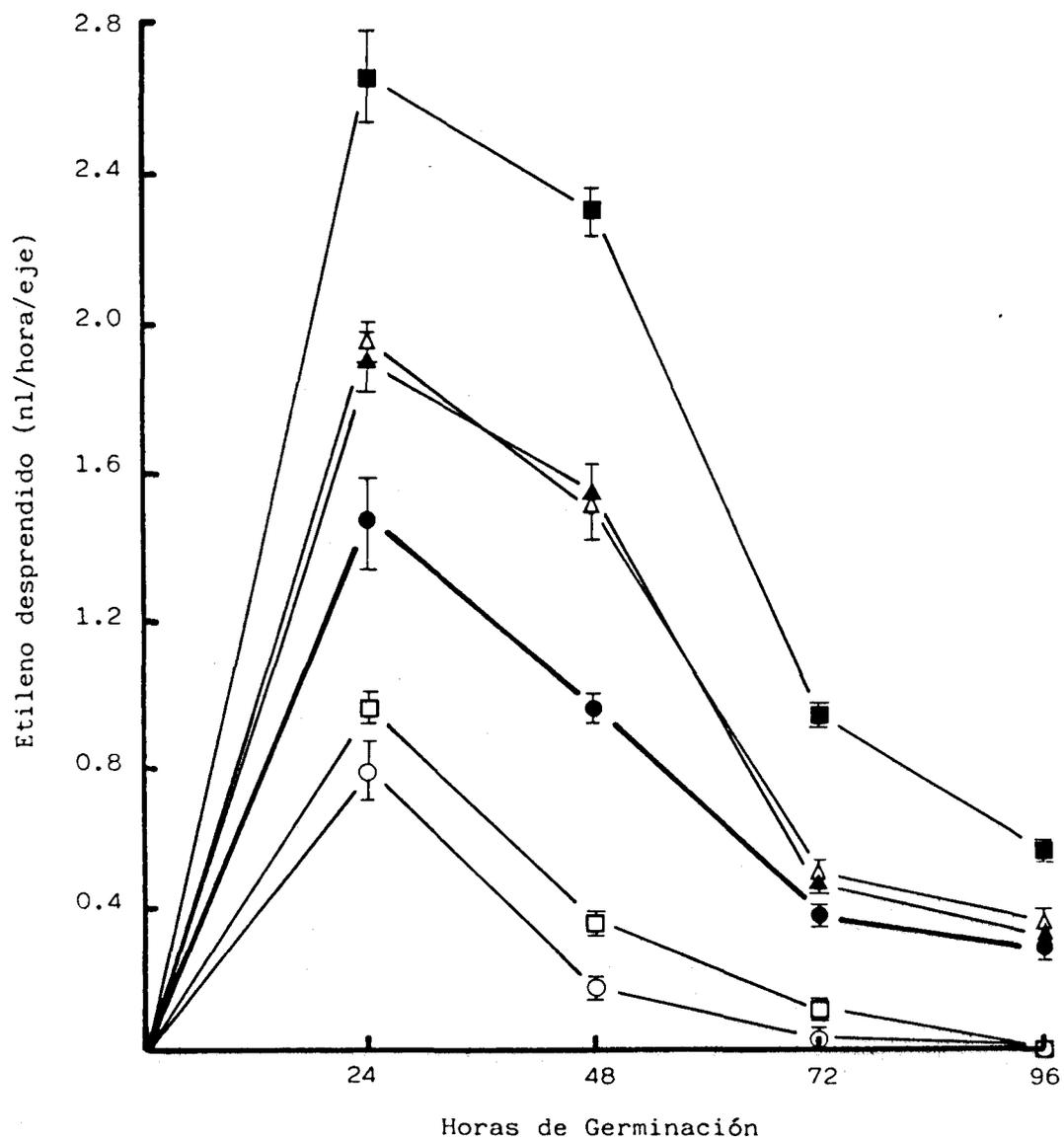


Tabla C-17

Análisis de varianza. Valor máximo de desprendimiento de Etileno. Eje embrionario.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	11	0.887	0.081	0.96	(NS)
Tratamientos	5	29.207	5.841	69.57	0.001
Error	55	4.618	0.084		
Total	71				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.239	0.319	0.420

Tabla C-18

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Punto máximo de desprendimiento de Etileno. Eje embrionario.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	35.756 (0.001)	149.115 (0.001)	-35.418 (0.001)	103.144 (0.001)	4.162 (NS)
TRI	30.330 (0.001)	139.159 (0.001)	-41.055 (0.001)	95.025 (0.001)	
ABA+Q	-49.639 (0.001)	22.629 (NS)	-175.094 (0.001)		
Q	83.838 (0.001)	237.347 (0.001)			
ABA	-83.501 (0.001)				

Tabla C-19

Etileno desprendido (acumulado) por el eje embrionario durante las primeras 96 horas, expresado en nl/eje. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	33.927	18.413	59.299	22.132	42.940	43.955
48	55.837	21.618	112.551	29.184	77.649	78.078
72	62.057	24.661	139.967	32.719	90.661	90.048
96	76.416	26.267	151.435	33.694	95.517	103.736
$\bar{x}$	57.059	22.739	115.813	29.432	76.691	78.954
$\sigma_n$	15.299	3.004	35.555	4.536	20.552	22.152
%-T	100.000	39.852	202.969	51.581	134.407	138.372

Tabla C-20

Análisis de varianza. Evolución del desprendimiento de Etileno por el eje embrionario.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	6747.96	2249.32	11.18	0.001
Tratamientos	5	24051.93	4810.39	23.92	0.001
Error	15	3016.09	201.07		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	21.367	29.548	40.839
Fechas	17.446	24.126	33.344

Fig. C-6.- Etileno desprendido (acumulado) por el eje embrionario, durante las primeras 96 horas, expresado en nl/eje. ( ● Testigo; ○ ABA; ■ Quinetina; □ ABA con Quinetina; ▲ Triptófano; △ Metionina). Error de la media.

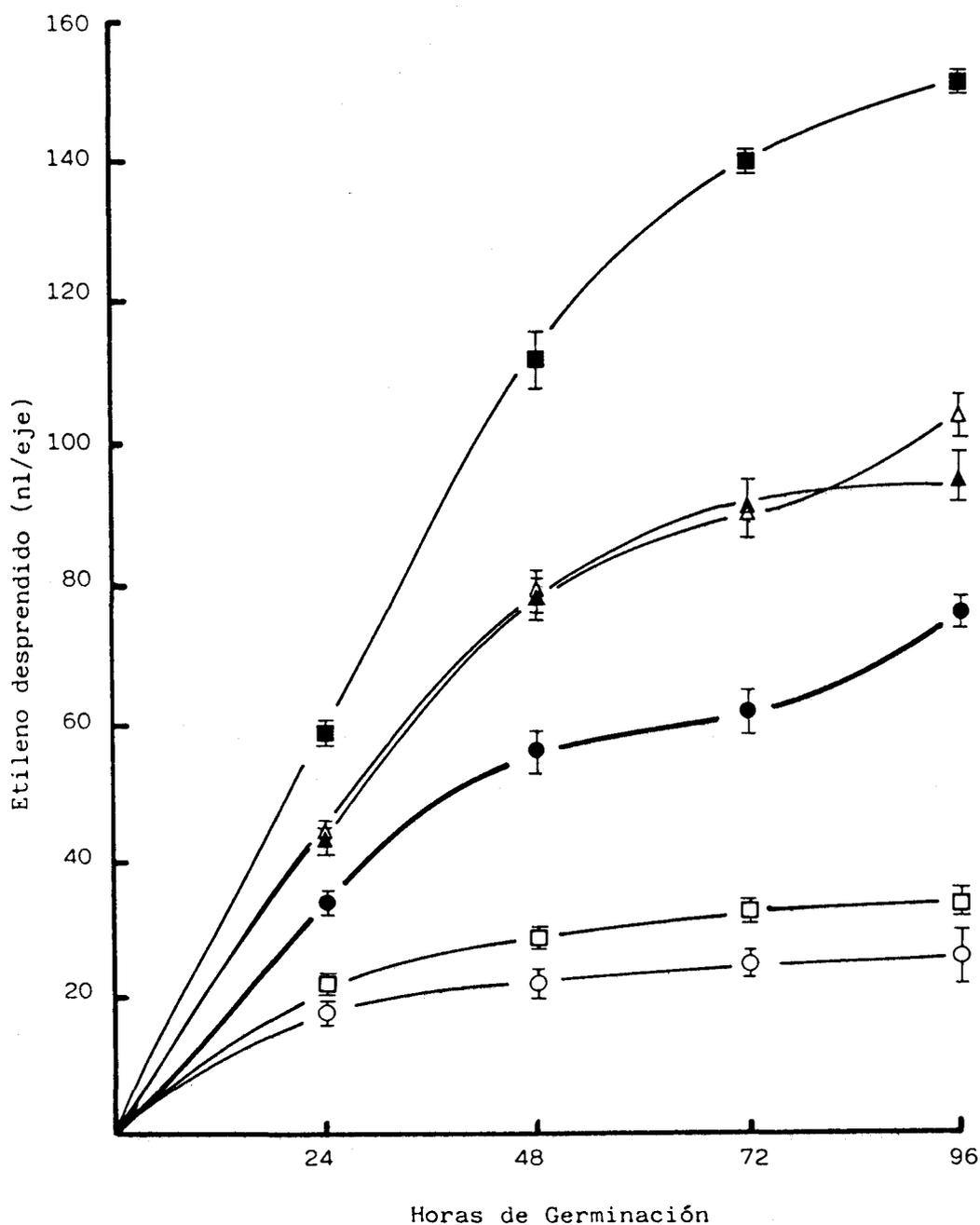


Tabla C-21

Diferencias entre los tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Evolución del desprendimiento de Etileno durante las primeras 96 horas en el eje embrionario.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	38.372 (0.05)	247.208 (0.001)	-46.683 (0.01)	168.257 (0.001)	2.950 (NS)
TRI	34.407 (NS)	237.258 (0.001)	-51.011 (0.01)	160.570 (0.001)	
ABA+Q	-93.866 (0.05)	29.430 (NS)	-293.490 (0.001)		
Q	102.969 (0.01)	409.297 (0.001)			
ABA	-150.922 (0.01)				

El etileno desprendido por los ejes embrionarios - presenta un máximo a las 24 horas de germinación (Tabla C-15; Fig. C-5), en el que se observa (Tabla C-17) que existe variabilidad entre los tratamientos ( $p=0.001$ ), - pero no entre las repeticiones. El máximo desprendimiento de etileno se obtiene con el tratamiento de quinolina (Tabla C-18), significativo frente a los restantes - tratamientos ( $p=0.001$ ) y con 83.8% de incremento con - respecto al testigo. El ABA origina una inhibición frente al testigo de 83.8% ( $p=0.001$ ), pero si damos ambos - tratamientos en combinación se observa que aunque la - inhibición es menor con el tratamiento doble, no existen diferencias estadísticas entre el tratamiento doble y el tratamiento inhibitor. Los precursores hormonales presentan incrementos frente al testigo de 35.7% y 30.3% para la metionina y el triptófano respectivamente, sin diferencias estadísticas entre ellos.

Con respecto a la evolución del etileno a lo largo de las primeras 96 horas (acumulado), vemos (Tabla C-20)

que existe variabilidad tanto entre las fechas de medida como entre los tratamientos. El mayor desprendimiento de etileno es causado por el tratamiento de quinetina (Tabla C-21), que presenta 102.9% de incremento con respecto al testigo y con una significación que varía de 0.01 a 0.001. El ABA origina una inhibición de 150.9% frente al testigo, que es parcialmente revertida por la quinetina, cuando ambas sustancias se dan en combinación, aunque no existen diferencias entre el tratamiento de ABA y el tratamiento doble.

Los precursores hormonales presentan incrementos frente al testigo de 34.4% para el triptófano, no significativo ni con respecto al testigo ni con respecto a la metionina, la cual sí presenta diferencia significativa frente al testigo ( $p=0.05$ ) y un incremento con respecto a éste de 38.4%.

Tabla C-22

Etileno desprendido por los cotiledones, expresado en -  
nl/hora/cotiledón, durante las primeras 96 horas de ger-  
minación. Cada valor es la media de las repeticiones e-  
xistentes en dicho período.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	0.280	0.205	0.489	0.192	0.419	0.464
48	0.115	0.159	0.326	0.083	0.249	0.315
72	0.050	0.089	0.130	0.034	0.154	0.167
96	0.035	0.037	0.060	0.022	0.146	0.134
$\bar{x}$	0.120	0.122	0.251	0.082	0.242	0.270
$\sigma_n$	0.097	0.064	0.168	0.067	0.109	0.131
%-T	100.000	102.083	209.375	68.958	201.666	225.000

Tabla C-23

Etileno desprendido por los cotiledones a las 24 horas  
de germinación. Punto máximo de desprendimiento de Eti-  
leno. Expresado en nl/hora/cotiledón.

R	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
1	0.280	0.185	0.457	0.110	0.378	0.409
2	0.169	0.158	0.490	0.257	0.393	0.452
3	0.296	0.183	0.434	0.181	0.382	0.491
4	0.306	0.295	0.493	0.192	0.403	0.483
5	0.295	0.234	0.500	0.136	0.422	0.494
6	0.301	0.159	0.510	0.197	0.426	0.488
7	0.284	0.284	0.510	0.251	0.418	0.506
8	0.290	0.263	0.467	0.182	0.480	0.468
9	0.305	0.166	0.524	0.176	0.396	0.398
10	0.244	0.184	0.472	0.204	0.398	0.465
11	0.287	0.168	0.511	0.247	0.516	0.421
12	0.302	0.175	0.496	0.172	0.415	0.495
$\bar{x}$	0.280	0.205	0.489	0.192	0.419	0.464
$\sigma_n$	0.037	0.048	0.025	0.042	0.038	0.034
%-T	100.000	73.057	174.575	68.621	149.657	165.823

Fig. C-7.- Etileno desprendido por los cotiledones aislados, expresado en nl/hora/cotiledón ( ● Testigo; ○ ABA; ■ Quinetina; □ ABA con Quinetina; ▲ Triptófano; △ Metionina) [Error de la media.

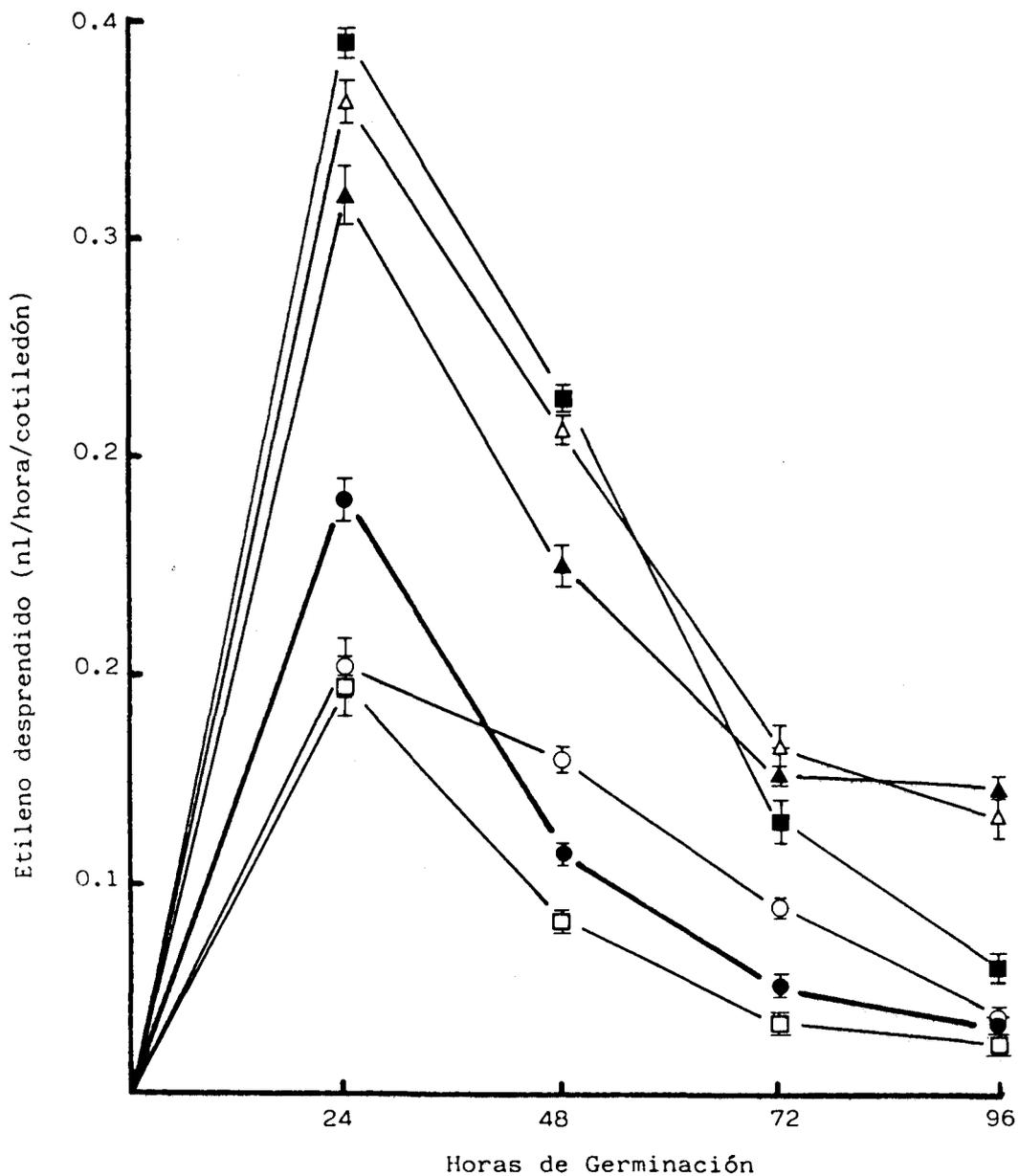


Tabla C-24

Análisis de varianza. Punto de máximo desprendimiento de Etileno. Cotiledones.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	11	0.028	0.002	1.80	(NS)
Tratamientos	5	1.051	0.210	147.66	0.001
Error	55	0.078	0.001		
Total	71				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.031	0.041	0.054

Tabla C-25

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Máximo de Etileno desprendido. - Cotiledones.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	65.823 (0.001)	126.976 (0.001)	-5.278 (NS)	141.648 (0.001)	10.801 (0.01)
TRI	49.657 (0.001)	104.849 (0.001)	-16.650 (0.001)	118.091 (0.001)	
ABA+Q	-45.726 (0.001)	-6.464 (NS)	-154.403 (0.001)		
Q	74.575 (0.001)	138.956 (0.001)			
ABA	-36.878 (0.001)				

Tabla C-26

Etileno desprendido durante las primeras 96 horas, expresado en ml/cotiledón. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período de tiempo.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	7.131	5.182	12.017	4.831	10.443	11.380
48	9.773	9.129	19.623	6.628	15.868	18.707
72	10.670	10.991	22.205	7.228	18.909	22.590
96	10.917	10.963	23.577	8.010	21.842	25.281
$\bar{x}$	9.622	9.066	19.355	6.674	16.765	19.489
$\sigma_n$	1.500	2.366	4.468	1.171	4.217	5.232
%-T	100.000	94.216	201.143	69.359	174.227	202.535

Tabla C-27

Análisis de varianza. Evolución de Etileno desprendido. Cotiledones.

	FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas		3	236.79	78.93	19.52	0.001
Tratamientos		5	648.42	129.68	32.07	0.001
Error		15	60.64	4.04		
Total		23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	3.029	4.189	5.790
Fechas	2.473	3.420	4.728

Fig. C-8.- Etileno desprendido (acumulado) por los cotiledones, expresado en nl/cotiledón ( ● Testigo; ○ ABA; ■ Quinetina; □ ABA con Quinetina; ▲ Triptófano; △ Metionina). I Error de la media.

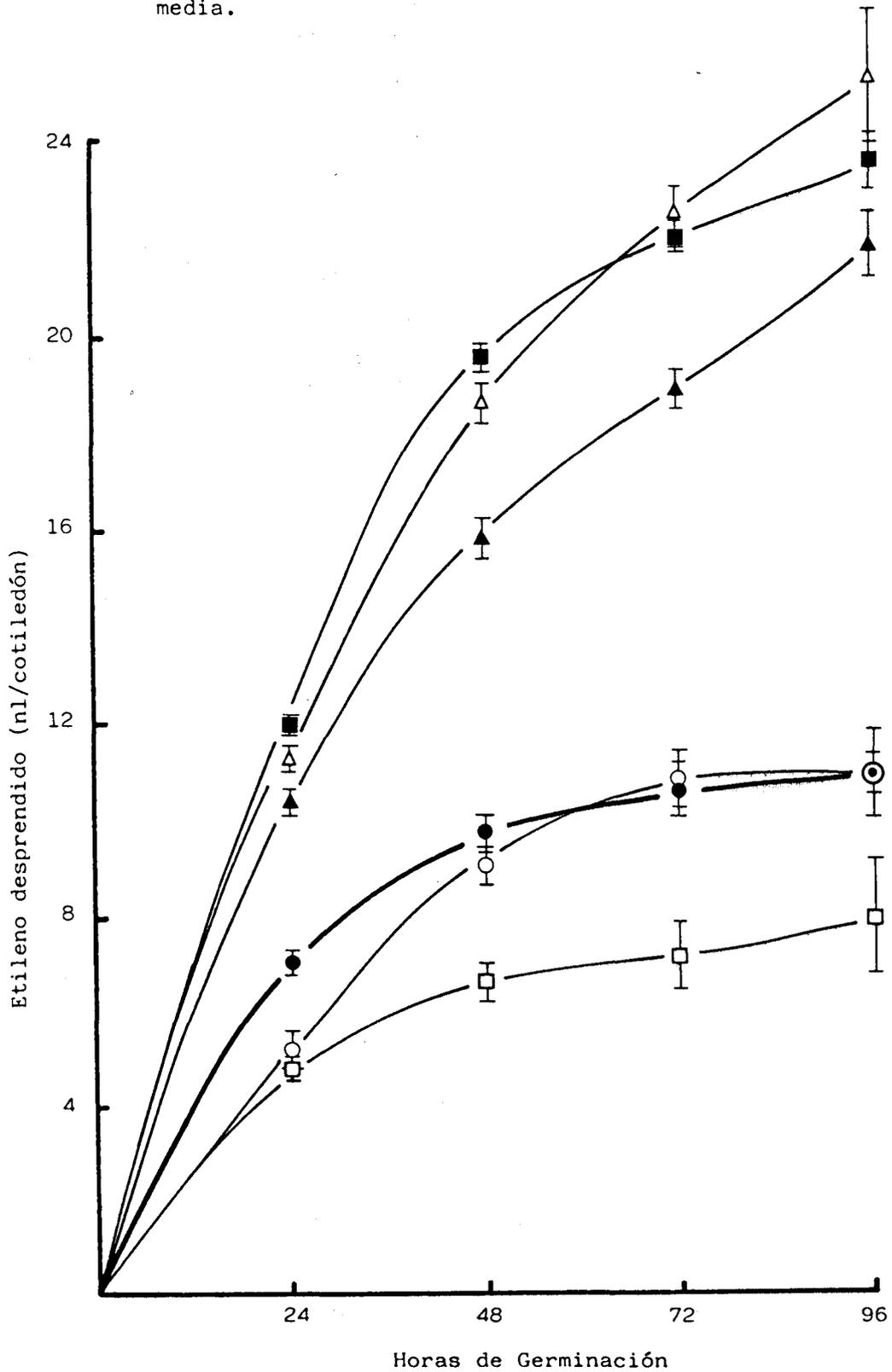


Tabla C-28

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Evolución de Etileno desprendido. Cotiledones.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	102.535 (0.001)	114.967 (0.001)	0.692 (NS)	192.010 (0.001)	16.247 (NS)
TRI	74.227 (0.001)	84.922 (0.001)	-15.448 (NS)	151.196 (0.001)	
ABA+Q	-44.177 (NS)	-35.839 (NS)	-190.002 (0.001)		
Q	101.143 (0.001)	113.489 (0.001)			
ABA	-6.138 (NS)				

Los cotiledones presentan un máximo de desprendimiento de etileno a las 24 horas (Tabla C-22; Fig. C-7) y haciendo el análisis estadístico de dicho punto, se observa que no existe variabilidad entre las repeticiones, pero sí entre los tratamientos (Tabla C-24).

El mayor desprendimiento de etileno se consigue con la quinetina (Tabla C-25), de forma significativa ( $p=0.001$ ) frente a todos los tratamientos, excepto la metionina y con un incremento con respecto al testigo de 74.6%. La quinetina en combinación con el ácido abscísico, no solo no consigue superar el efecto inhibitor de éste, sino que además presenta mayor inhibición, siendo de 45.7% para el tratamiento doble, mientras que en el caso del ABA es de 36.9%, aunque entre ellos no existen diferencias.

Los precursores hormonales presentan diferencias estadísticas entre ellos ( $p=0.01$ ), siendo la metionina la que origina mayor incremento con respecto al testigo,

65.8%, mientras que el triptófano solo causa un 49.6% - (Tabla C-25).

Al estudiar la evolución del desprendimiento de etileno en los cotiledones (Tabla C-26; Fig.C-8), observamos que existe una clara variabilidad estadística ( $p=0.001$ ) tanto entre las fechas de medida, como entre los tratamientos (Tabla C-27).

En los cotiledones el tratamiento que causa mayor desprendimiento de etileno es la metionina, 102.5% de incremento con respecto al testigo, siendo significativo frente a todos los tratamientos, excepto quinetina y triptófano, este último presenta un incremento frente al testigo de 74.2% (Tabla C-28). La quinetina causa un incremento de 101%. El tratamiento de ácido abscísico, así como el doble, ABA-kinetina, no son significativos ni entre ellos, ni con respecto al testigo.

2. Etileno ligado. Este parámetro se midió en todos los materiales vegetales estudiados: semilla intacta, semilla sin testa, eje embrionario y cotiledones. - Los tratamientos empleados fueron los mismos que en el caso del etileno desprendido, pero las repeticiones en todas las fechas de medida fueron tres.

Tabla C-29

Etileno ligado (nl/semilla) por la semilla intacta durante las primeras 96 horas. Cada valor es la media de tres repeticiones.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	4.658	4.804	5.897	6.038	5.906	5.216
48	6.120	3.696	9.858	4.887	5.739	6.466
72	1.998	1.000	2.035	1.190	1.828	1.802
96	1.865	0.666	2.077	1.113	1.952	2.236
$\bar{x}$	3.660	2.541	4.966	3.307	3.856	3.930
$\sigma_n$	1.804	1.756	3.230	2.193	1.967	1.967
%-T	100.000	69.435	135.694	90.349	105.354	107.369

Tabla C-30

Punto máximo de Etileno ligado (48 horas de germinación) por la semilla intacta.

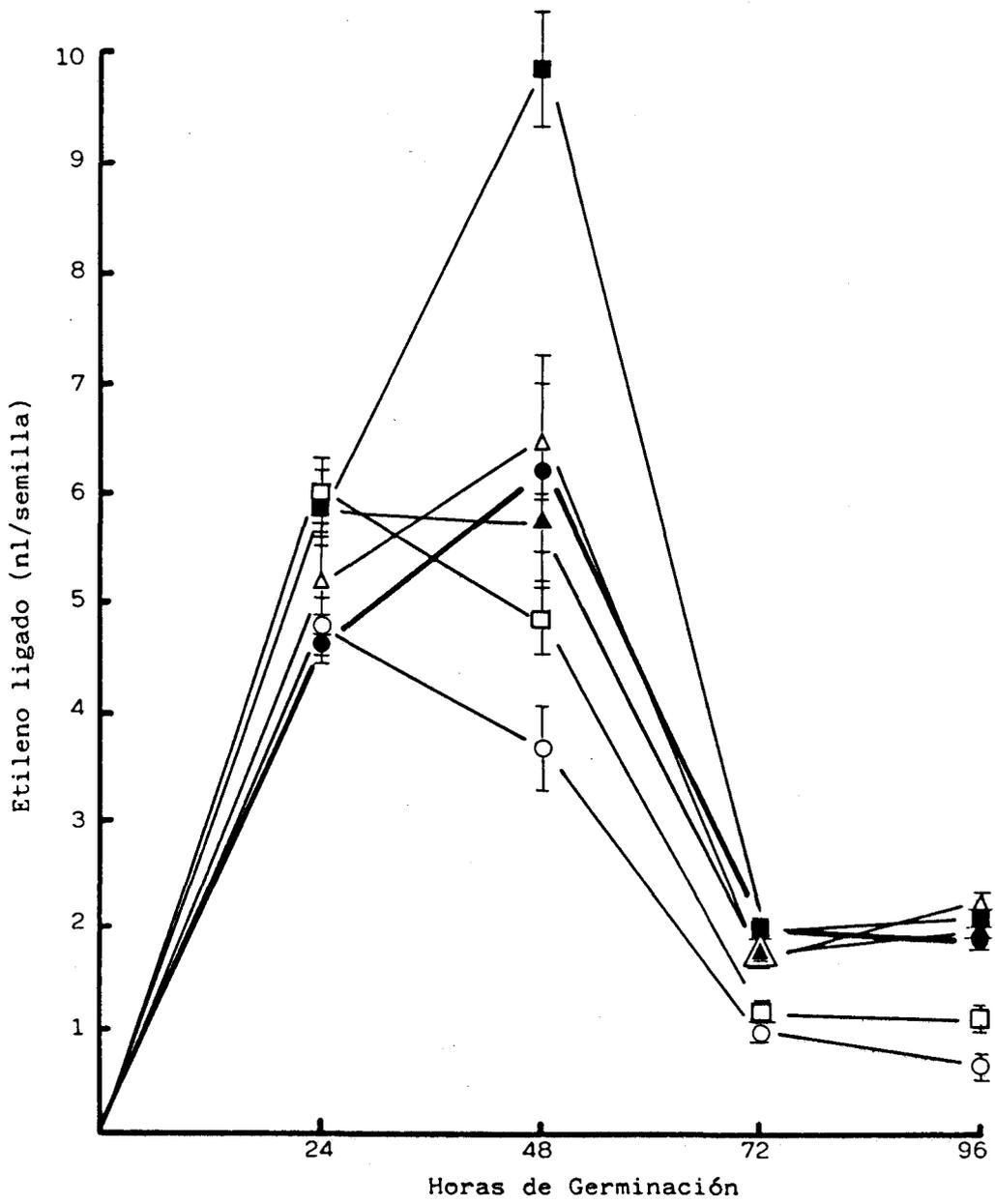
R	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
1	8.169	3.474	8.866	5.352	5.828	7.590
2	5.391	3.184	10.658	4.263	5.286	5.909
3	4.800	4.430	10.049	5.047	6.104	5.900
$\bar{x}$	6.120	3.696	9.858	4.887	5.739	6.466
$\sigma_n$	1.468	0.532	0.743	0.458	0.339	0.794
%-T	100.000	60.392	161.072	79.858	93.779	105.659

Tabla C-31

Análisis de varianza. Punto máximo Etileno ligado. Semilla intacta.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	2	1.80	0.90	0.89	(NS)
Tratamientos	5	64.89	12.98	12.90	0.001
Error	10	10.05	1.01		
Total	17				

Fig. C-9.- Etileno ligado durante las primeras 96 horas de germinación, expresado en nl/semilla, en la semilla intacta. (● Testigo, ○ ABA, ■ Quinetina, □ ABA + Quinetina, ▲ Triptófano, △ Metionina, | Error de la media).



Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	1.823	2.594	3.755

Tabla C-32

Diferencias entre los tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Etileno ligado. Semilla intacta.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	5.659 (NS)	74.954 (0.01)	-52.446 (0.01)	32.308 (NS)	12.666 (NS)
TRI	-6.632 (NS)	55.284 (0.05)	-71.756 (0.001)	17.432 (NS)	
ABA+Q	-25.221 (NS)	32.233 (NS)	-101.698 (0.001)		
Q	61.072 (0.01)	166.711 (0.001)			
ABA	-65.584 (0.05)				

El etileno ligado por la semilla intacta presenta un máximo a las 48 horas del inicio de la germinación - (Tabla C-29; Fig. C-9). Si analizamos estadísticamente dicho punto, observaremos que no existe variabilidad en tres repeticiones (Tabla C-31), pero sí entre tratamientos ( $p=0.001$ ).

El tratamiento que causa mayor cantidad de etileno ligado es la quinolina, que origina un incremento con respecto al testigo de 61%. Los tratamientos de metionina, triptófano y ABA-quinolina no presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo (Tabla C-32). El ácido abscísico causa una inhibición de 65,6% con respecto al testigo, de manera significativa ( $p=0.05$ ).

Tabla C-33

Etileno ligado (nl/semilla) por la semilla sin testa, - durante las primeras 96 horas de germinación. Cada va-  
lor es la media de tres repeticiones.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	4.993	3.733	8.687	4.462	3.803	4.579
48	6.879	4.246	9.900	4.848	6.154	5.418
72	5.701	4.247	4.162	4.529	5.430	4.995
96	1.907	0.651	2.974	1.084	1.909	2.297
$\bar{x}$	4.820	3.219	6.430	3.730	4.324	4.322
$\sigma_n$	1.785	1.497	2.925	1.535	1.633	1.206
%-T	100.000	66.789	133.418	77.401	89.709	89.673

Tabla C-34

Etileno ligado a las 48 horas de germinación (punto má-  
ximo de Etileno) por la semilla sin testa, expresado en  
nl/semilla.

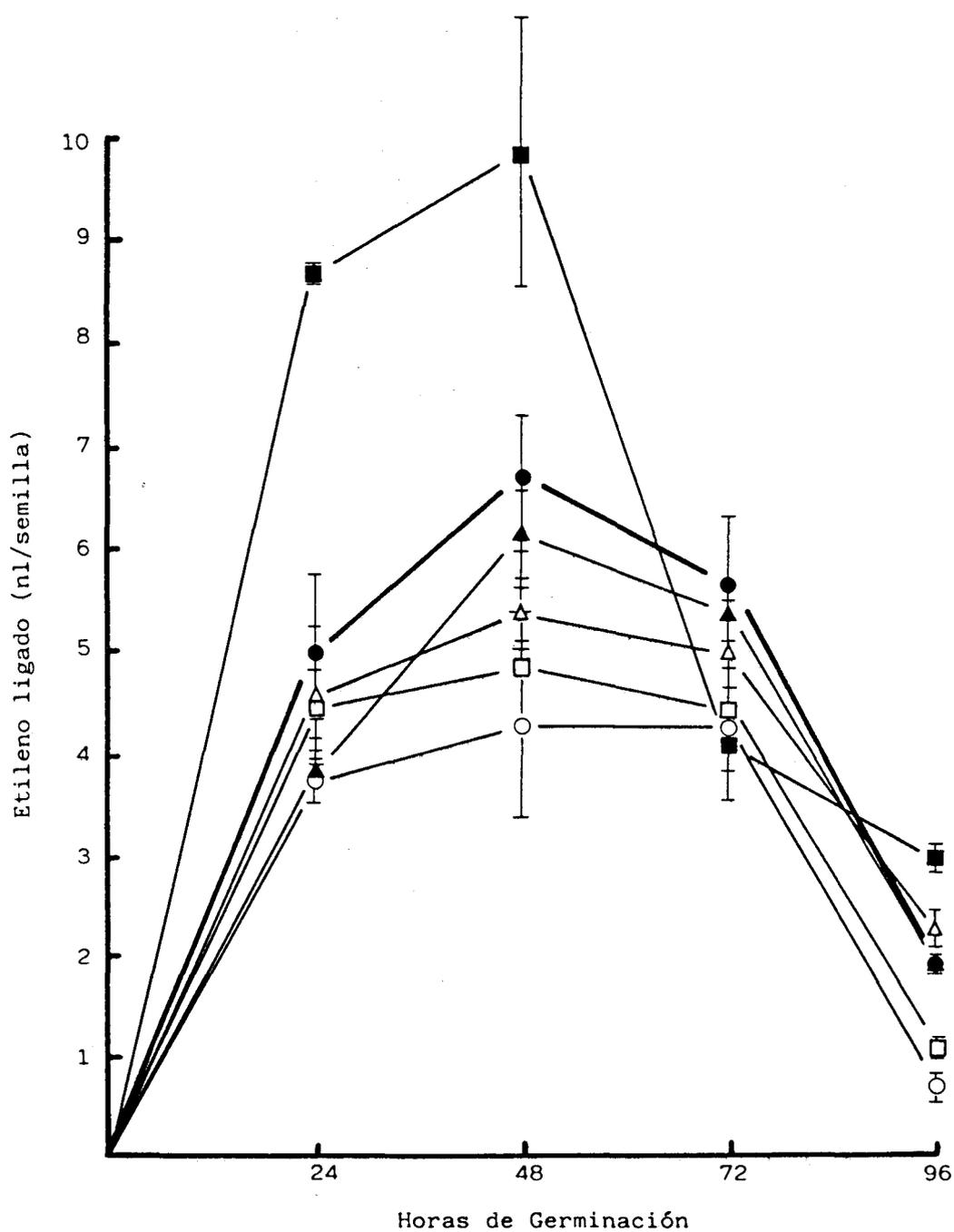
R	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
1	7.453	4.661	10.542	3.837	5.991	4.788
2	7.618	2.574	11.794	4.985	7.022	5.407
3	5.567	5.504	7.365	5.722	5.448	6.059
$\bar{x}$	6.879	4.246	9.900	4.848	6.154	5.418
$\sigma_n$	0.930	1.231	1.864	0.775	0.652	0.518
%-T	100.000	61.725	143.914	70.471	89.451	78.757

Tabla C-35

Análisis de varianza. Punto máximo Etileno ligado. Semi-  
lla sin testa.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	2	1.17	0.59	0.28	(NS)
Tratamientos	5	61.21	12.24	6.03	0.01
Error	10	20.29	2.03		
Total	17				

Fig. C-10.- Etileno ligado durante las primeras 96 horas de germinación, expresado en nl/semilla, en la semilla sin testa. (● Testigo, ○ ABA, ■ Quinetina, □ ABA + Quinetina, ▲ Triptófano, △ Metionina, | Error de la media).



Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	2.591	3.686	5.335

Tabla C-36

Diferencias entre los tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Etileno ligado. Semilla sin testa.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	-26.971 (NS)	27.592 (NS)	-82.730 (0.01)	11.757 (NS)	-13.578 (NS)
TRI	-11.792 (NS)	44.917 (NS)	-60.885 (0.01)	26.932 (NS)	
ABA+Q	-41.900 (NS)	14.169 (NS)	-104.214 (0.01)		
Q	43.914 (0.05)	133.150 (0.001)			
ABA	-62.006 (0.05)				

El etileno ligado por la semilla sin testa presenta un máximo a las 48 horas de germinación (Tabla C-33; Fig. C-10), en dicho punto (Tabla C-34) observamos que no hay variabilidad entre las repeticiones (Tabla C-35) pero sí entre los tratamientos ( $p=0.01$ ).

La quinetina origina un incremento con respecto al testigo de 43.9%, significativo frente a éste ( $p=0.05$ ) y frente al resto de los tratamientos ( $p=0.01$ ). El ABA causa una inhibición de 62% frente al testigo ( $p=0.05$ ). El resto de los tratamientos no presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo (Tabla C-36).

Tabla C-37

Etileno ligado por el eje embrionario durante las primeras 96 horas de germinación, expresado en nl/eje. Cada valor es la media de tres repeticiones.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	1.188	1.468	4.820	1.968	3.758	4.353
48	1.674	0.587	2.058	0.587	1.525	1.439
72	0.851	0.251	1.468	0.542	0.824	0.599
96	1.306	0.958	3.379	0.568	0.642	0.366
$\bar{x}$	1.254	0.816	2.931	0.916	1.687	1.689
$\sigma_n$	0.294	0.451	1.291	0.607	1.240	1.588
%-T	100.000	65.032	233.612	73.022	134.469	134.628

Tabla C-38

Etileno ligado a las 24 horas de germinación (máximo), expresado en nl/eje.

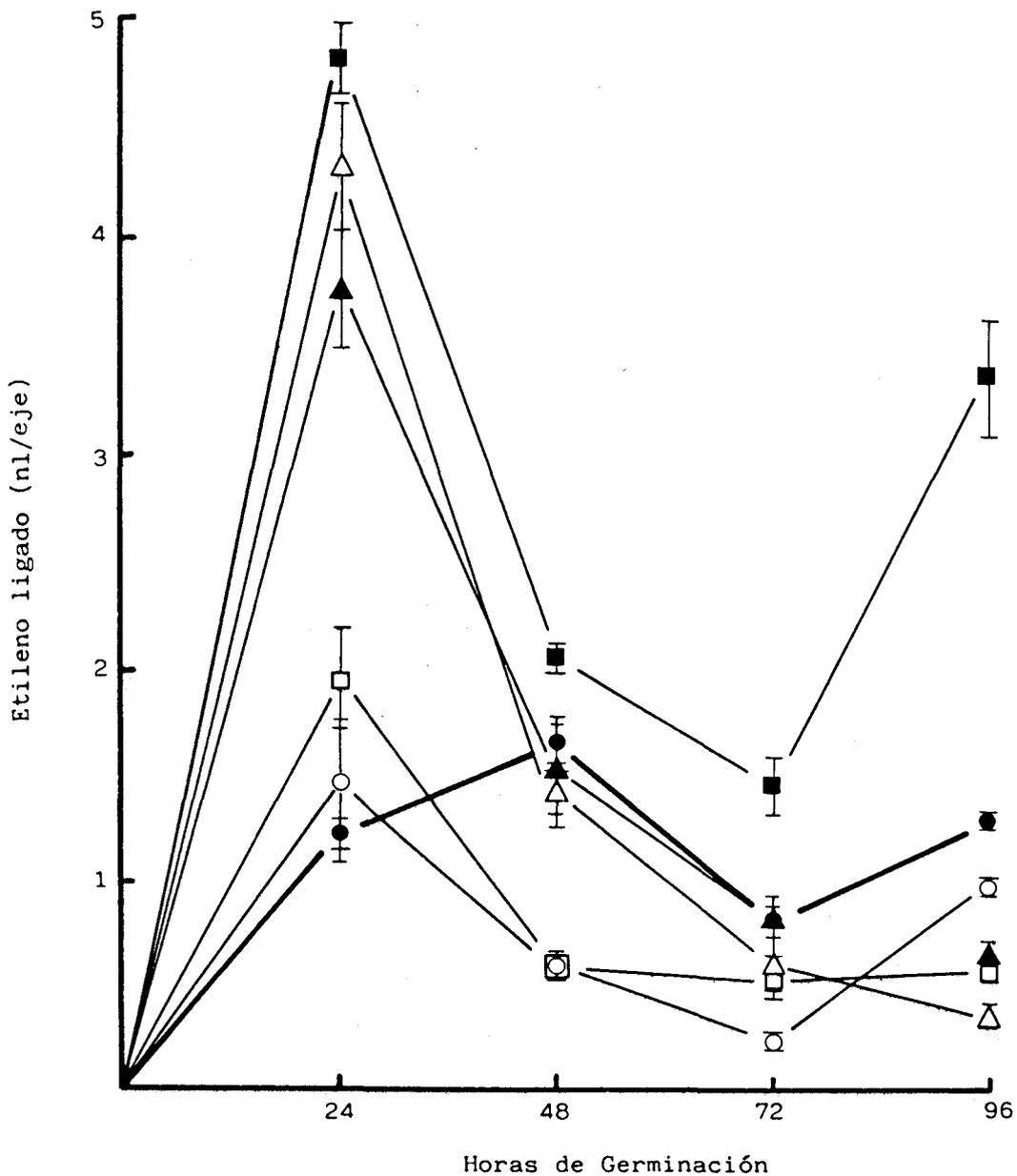
R	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
1	1.091	1.257	4.477	2.179	3.480	4.111
2	1.104	2.047	4.989	2.222	3.617	4.935
3	1.370	1.099	4.995	1.503	4.176	4.014
$\bar{x}$	1.188	1.468	4.820	1.968	3.758	4.353
$\sigma_n$	0.128	0.414	0.242	0.329	0.301	0.413
%-T	100.000	123.506	405.638	165.610	316.213	366.339

Tabla C-39

Análisis de varianza. Máximo Etileno ligado. Eje embrionario.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	2	0.49	0.24	1.78	(NS)
Tratamientos	5	37.14	7.43	54.46	0.001
Error	10	1.36	0.14		
Total	17				

Fig. C-11.- Etileno ligado en el eje embrionario durante las primeras 96 horas de germinación, expresado en nl/eje ( ● Testigo, ○ ABA, ■ Quinetina, □ ABA + Quinetina, ▲ Triptófano, △ Metionina, I Error de la media).



Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.671	0.955	1.383

Tabla C-40

Diferencias entre los tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Máximo Etileno ligado. Eje embrionario.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	266.339 (0.001)	196.615 (0.001)	-10.727 (NS)	121.205 (0.001)	15.852 (NS)
TRI	216.213 (0.001)	156.029 (0.001)	-28.279 (0.01)	90.938 (0.001)	
ABA+Q	65.610 (0.05)	34.090 (NS)	-144.935 (0.001)		
Q	305.638 (0.001)	228.435 (0.001)			
ABA	23.506 (NS)				

El etileno ligado por el eje embrionario presenta un máximo a las 24 horas del inicio de la germinación - (Tabla C-37; Fig. C-11), en el que observamos (Tabla C-38) que no existe variabilidad estadística entre repeticiones pero sí entre tratamientos (Tabla C-39;  $p=0.001$ ).

El tratamiento que causa mayor cantidad de etileno ligado es la quinolina, originando un incremento con respecto al testigo de 305.638%, que es significativo frente a todos los tratamientos ( $p=0.001$ ), excepto frente a la metionina. Los precursores hormonales presentan incrementos de 266.3% y 216.2% para la metionina y el triptófano, respectivamente (Tabla C-40), sin diferencias significativas entre ellos, pero sí frente al testigo. El ABA causa incremento con respecto al testigo de 23.5% y el tratamiento ABA-Quinolina 65.6%, sin diferir entre ellos.

Tabla C-41

Etileno ligado por los cotiledones, expresado en nl/cotiledón. Cada valor es la media de tres repeticiones.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	7.060	9.573	14.826	9.474	11.339	12.874
48	5.995	4.897	7.981	5.606	8.415	6.083
72	4.106	3.485	3.211	2.848	4.402	3.291
96	3.264	2.867	2.335	1.983	3.880	2.209
$\bar{x}$	5.106	5.205	7.088	4.977	7.009	6.114
$\sigma_n$	1.500	2.626	4.957	2.920	3.054	4.150
%-T	100.000	101.943	138.815	97.483	137.263	119.740

Tabla C-42

Etileno ligado a las 24 horas de germinación (máximo), expresado en nl/cotiledón.

R	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
1	5.764	10.677	14.093	7.026	12.622	16.408
2	7.835	8.600	15.896	11.122	9.945	12.840
3	7.581	9.443	14.488	10.275	11.452	9.373
$\bar{x}$	7.060	9.573	14.826	9.474	11.339	12.874
$\sigma_n$	0.922	0.852	0.773	1.765	1.095	2.872
%-T	100.000	135.599	209.995	134.197	160.618	182.346

Tabla C-43

Análisis de varianza. Máximo Etileno ligado. Cotiledones.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	2	1.62	0.81	0.18	(NS)
Tratamientos	5	114.08	22.82	5.35	0.05
Error	10	42.61	4.26		
Total	17				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	3.755	5.341	7.731

Fig. C-12.- Etileno ligado por los cotiledones durante las primeras 96 horas de germinación, expresado en nl/cotiledón. (● Testigo, ○ ABA, ■ Quinetina, □ ABA + Quinetina, ▲ Triptófano, △ Metionina, | Error de la media).

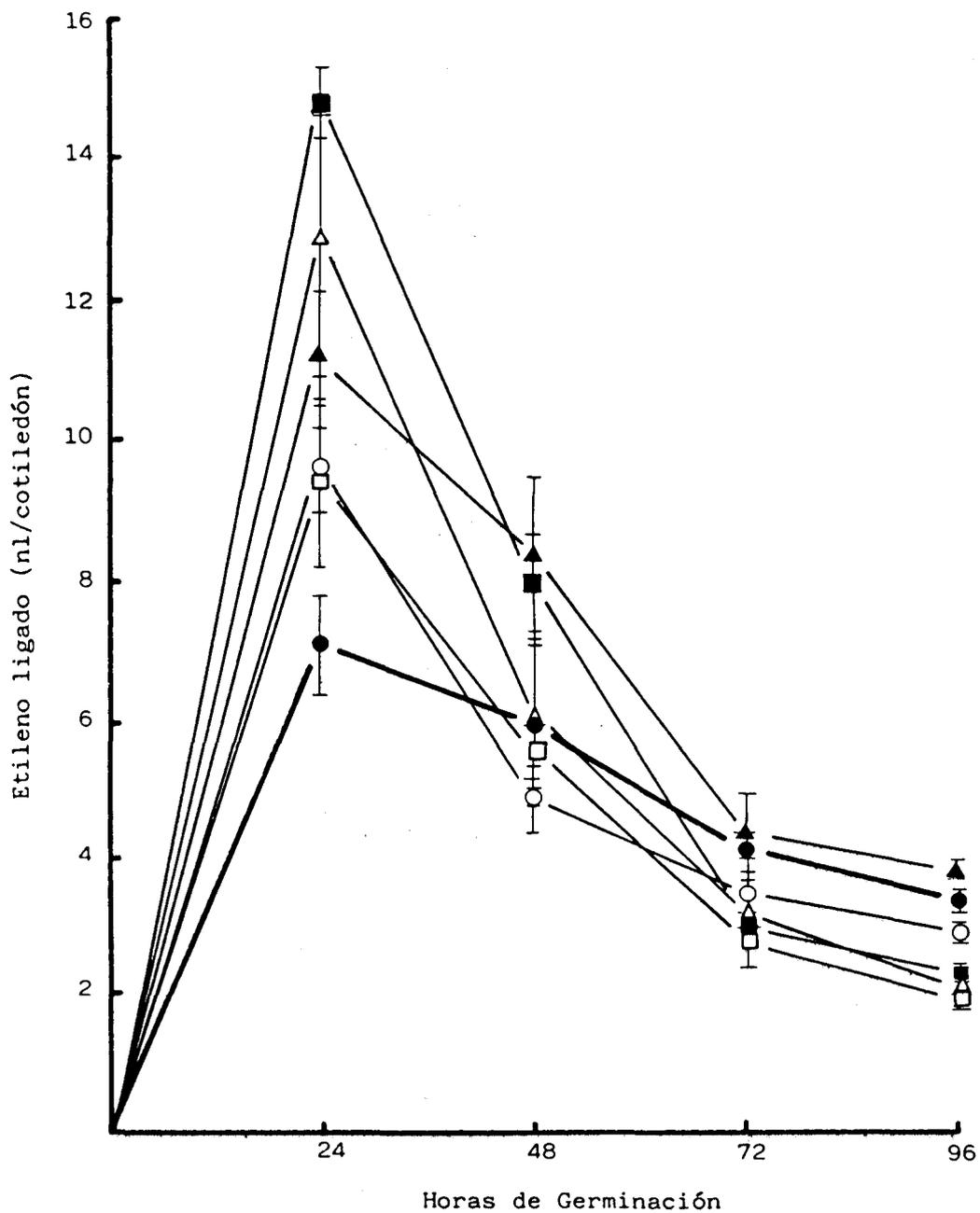


Tabla C-44

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	82.346 (0.01)	34.474 (NS)	15.162 (NS)	35.879 (NS)	13.527 (NS)
TRI	60.618 (0.05)	18.450 (NS)	-30.741 (NS)	19.688 (NS)	
ABA+Q	34.197 (NS)	-1.044 (NS)	-56.482 (0.01)		
Q	109.995 (0.001)	54.864 (0.05)			
ABA	35.599 (NS)				

El etileno ligado por los cotiledones presenta un máximo a las 24 horas del inicio de la germinación (Tabla C-41; Fig. C-12), en el que se puede observar (Tabla C-42) que no existe variabilidad entre las repeticiones (Tabla C-43), pero sí entre los tratamientos ( $p=0.05$ ).

El tratamiento que causa mayor cantidad de etileno ligado es la quinetina, con un incremento con respecto al testigo de 110% ( $p=0.001$ ) y sin diferencias frente a los precursores hormonales, los cuales presentan incrementos con respecto al testigo de 82.3% y 60.6% para la metionina y el triptófano, respectivamente, sin diferencias entre ellos. Los tratamientos ABA y ABA-Quinetina no presentan diferencias significativas frente al testigo (Tabla C-44).

3. Porcentaje de germinación. Se midió el % de germinación en las semillas intactas a las 24, 48, 72 y 96 horas, en las repeticiones que existían en cada uno de los períodos de tiempo (12, 9, 6 y 3, respectivamente). Los resultados se encuentran en las Tablas C-45 a C-47 y Fig. C-13.

Tabla C-45

Porcentaje de germinación durante las primeras 96 horas. Cada valor es la media de las repeticiones existentes - en dicha fecha.

Medida	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
24	15.0	4.2	21.7	5.8	18.3	16.7
48	38.9	12.2	67.8	14.4	60.0	40.0
72	53.3	20.0	78.3	21.7	70.0	60.0
96	70.0	33.3	96.7	40.0	86.7	80.0
$\bar{x}$	44.3	17.4	66.1	20.5	58.7	49.2
$\sigma_n$	20.2	10.7	27.6	12.6	25.2	23.5
%-T	100.0	39.3	149.3	46.2	132.6	111.0

Tabla C-46

Análisis de varianza. Porcentaje de germinación.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	9307.21	3102.40	37.86	0.001
Tratamientos	5	7934.37	1586.87	19.36	0.001
Error	15	1228.90	81.92		
Total	23				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	13.638	18.861	26.068
Fechas	11.136	15.400	21.284

Fig. C-13.- Porcentaje de Germinación (● Testigo, ○ ABA, ■ Quinetina, □ ABA + Quinetina, ▲ Triptófano, △ Metionina, | Error de la media).

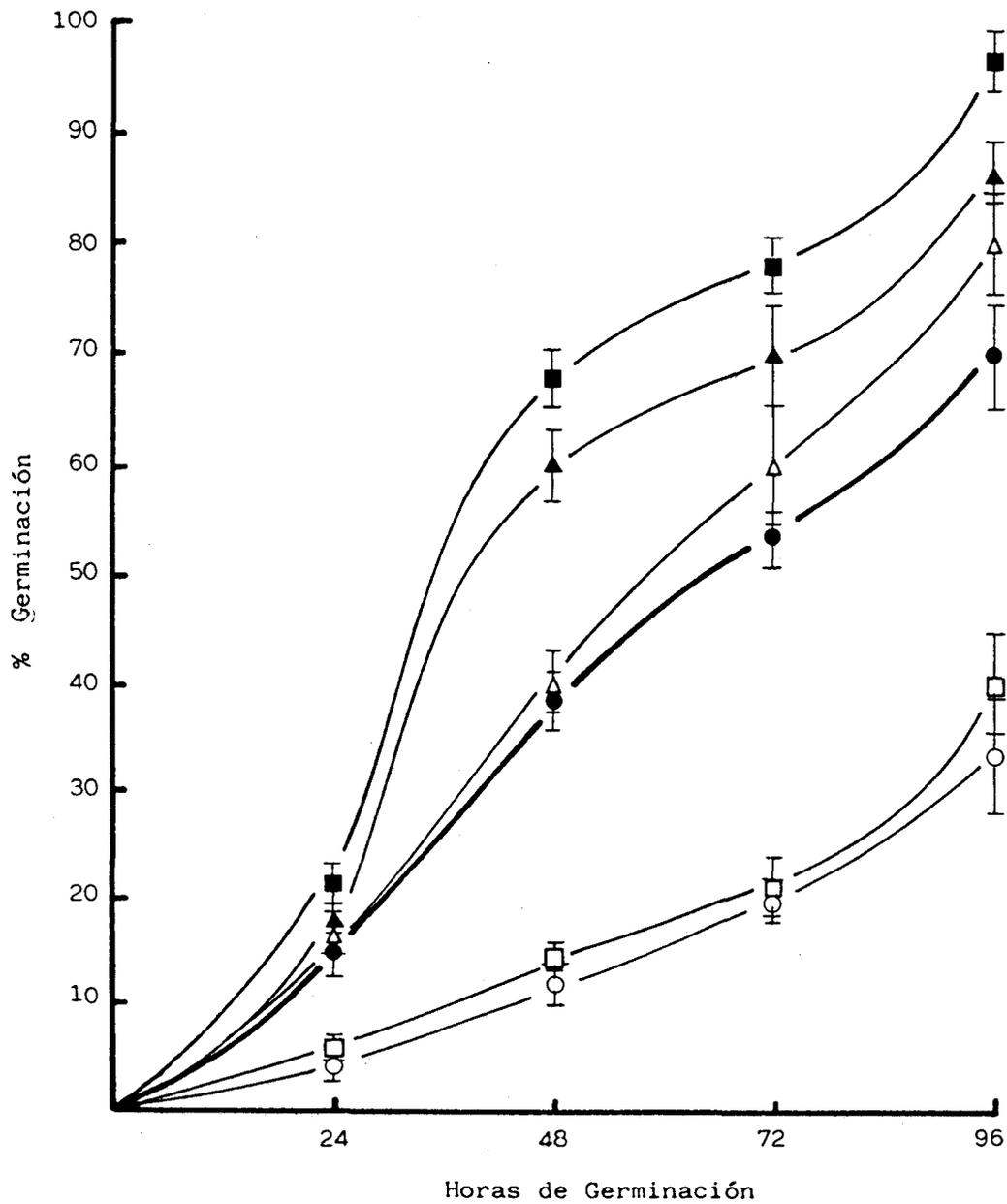


Tabla C-47

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Porcentaje de germinación.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	11.004 (NS)	182.209 (0.001)	-34.468 (0.05)	140.170 (0.001)	-19.471 (NS)
TRI	32.618 (0.05)	237.159 (0.001)	-12.553 (NS)	186.935 (0.001)	
ABA+Q	-116.361 (0.01)	17.503 (NS)	-222.954 (0.001)		
Q	49.266 (0.01)	279.483 (0.001)			
ABA	-154.232 (0.001)				

Al estudiar el porcentaje de germinación a lo largo del tiempo (Fig. C-13) observamos un paralelismo en el comportamiento de los tratamientos de quinetina y -triptófano, que son los que causan mayor porcentaje de germinación. La metionina y el testigo también se comportan de forma similar. El ABA y el tratamiento doble, ABA-quinetina, presentan también curvas similares por debajo del testigo.

Analizando estadísticamente el porcentaje de germinación observamos una clara variabilidad estadística, -tanto entre las fechas de medida, como entre los tratamientos (Tabla C-46;  $p=0.001$ ).

El tratamiento que causa mayor % de germinación es la quinetina (Tabla C-47) que origina un 49% de incremento con respecto al testigo ( $p=0.01$ ); le sigue en efectividad el triptófano con 32.6% de incremento frente al testigo ( $p=0.05$ ). La metionina no presenta diferencias estadísticas frente al triptófano ni frente al testigo. El ABA causa una inhibición de 154% con respecto al testigo ( $p=0.001$ ) que no es revertida al añadirle -quinetina, no existiendo diferencias estadísticas entre los tratamientos de ABA y ABA+quinetina.

4. Longitud de la radícula. Una vez medido el etileno ligado en las tres repeticiones de cada tratamiento, se procedió a medir la longitud de la radícula en aquellas semillas que habían germinado, haciendo la media entre todas ellas para cada tratamiento.

Tabla C-48

Longitud final de la radícula en la semilla intacta después de 96 horas de germinación.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
$\bar{x}$	6.286	4.000	15.171	5.25	10.115	9.708
$\sigma_n$	1.927	2.539	3.992	2.179	2.628	2.196
N	21	10	29	12	26	24

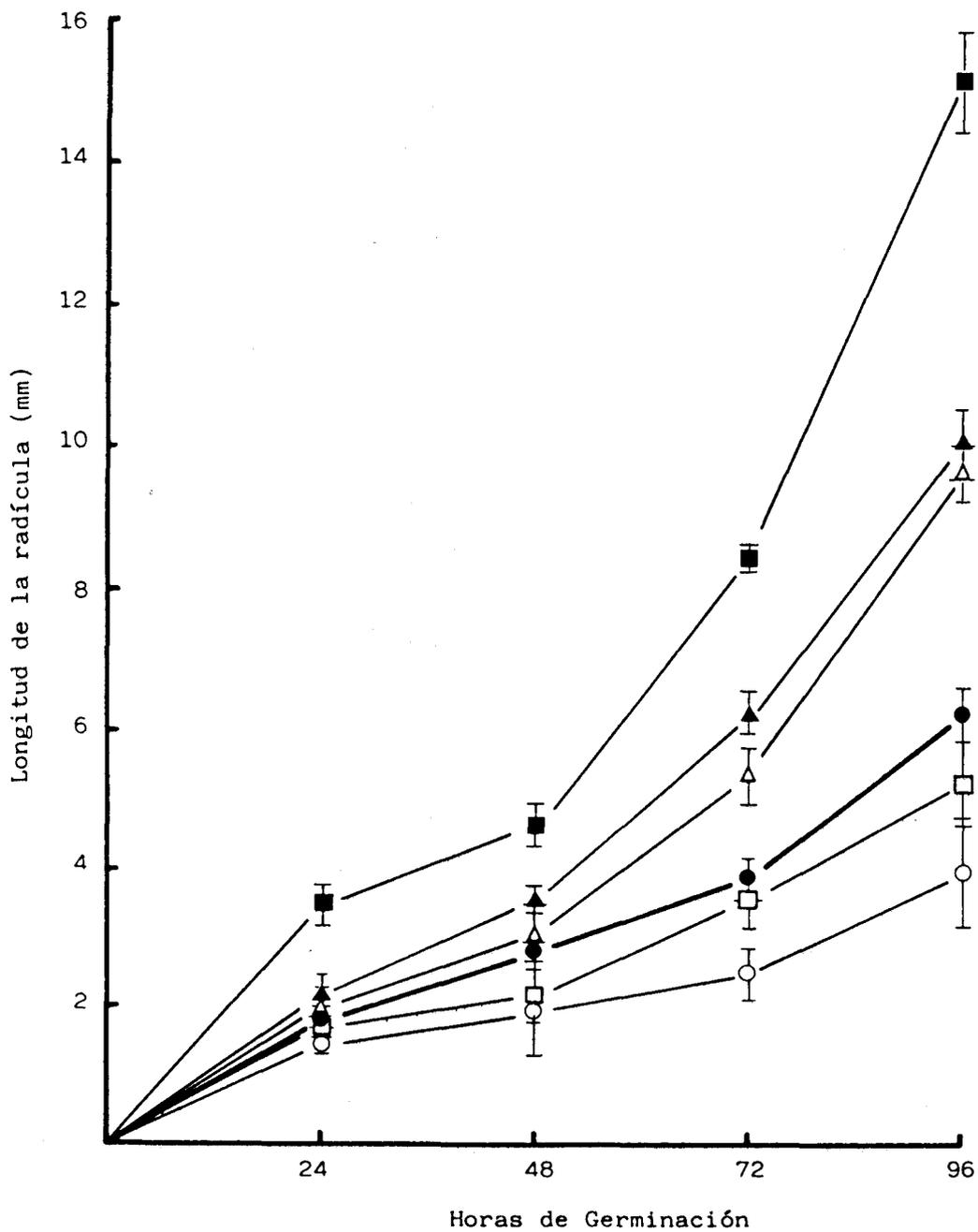
Tabla C-49

Diferencias entre los tratamientos ("t" Student) en la longitud final de la radícula, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	54.438 (0.001)	142.700 (0.001)	-56.273 (0.001)	84.914 (0.001)	-4.192 (NS)
TRI	60.913 (0.001)	152.875 (0.001)	-49.985 (0.001)	92.667 (0.001)	
ABA+Q	-19.733 (NS)	31.250 (NS)	-188.971 (0.001)		
Q	141.346 (0.001)	279.275 (0.001)			
ABA	-57.015 (0.01)				

El tratamiento que causa mayor longitud de la radícula es la quinetina, que presenta un incremento con respecto al testigo de 141% (Tabla C-49), con diferencias significativas ( $p=0.001$ ) frente a todos los trata-

Fig. C-14.- Longitud de la radícula de la semilla intacta. ( ● Testigo, ○ ABA, ■ Quinetina, □ ABA-Quinetina, ▲ Triptófano, △ Metionina, | Error de la media).



mientos. Los precursores hormonales, presentan unos incrementos con respecto al testigo de 60.9% y 54.4% para el triptófano y la metionina, respectivamente, sin diferencias entre ellos. El ABA presenta una inhibición de 57% frente al testigo ( $p=0.01$ ). El tratamiento doble ABA-quinetina no presenta diferencias estadísticas con respecto al testigo.

Tabla C-50

Longitud final de la radícula en la semilla sin testa.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
$\bar{x}$	12.633	6.333	18.200	7.533	16.667	15.333
$\sigma_n$	2.125	0.661	2.929	1.592	3.089	3.448
N	30	30	30	30	30	30

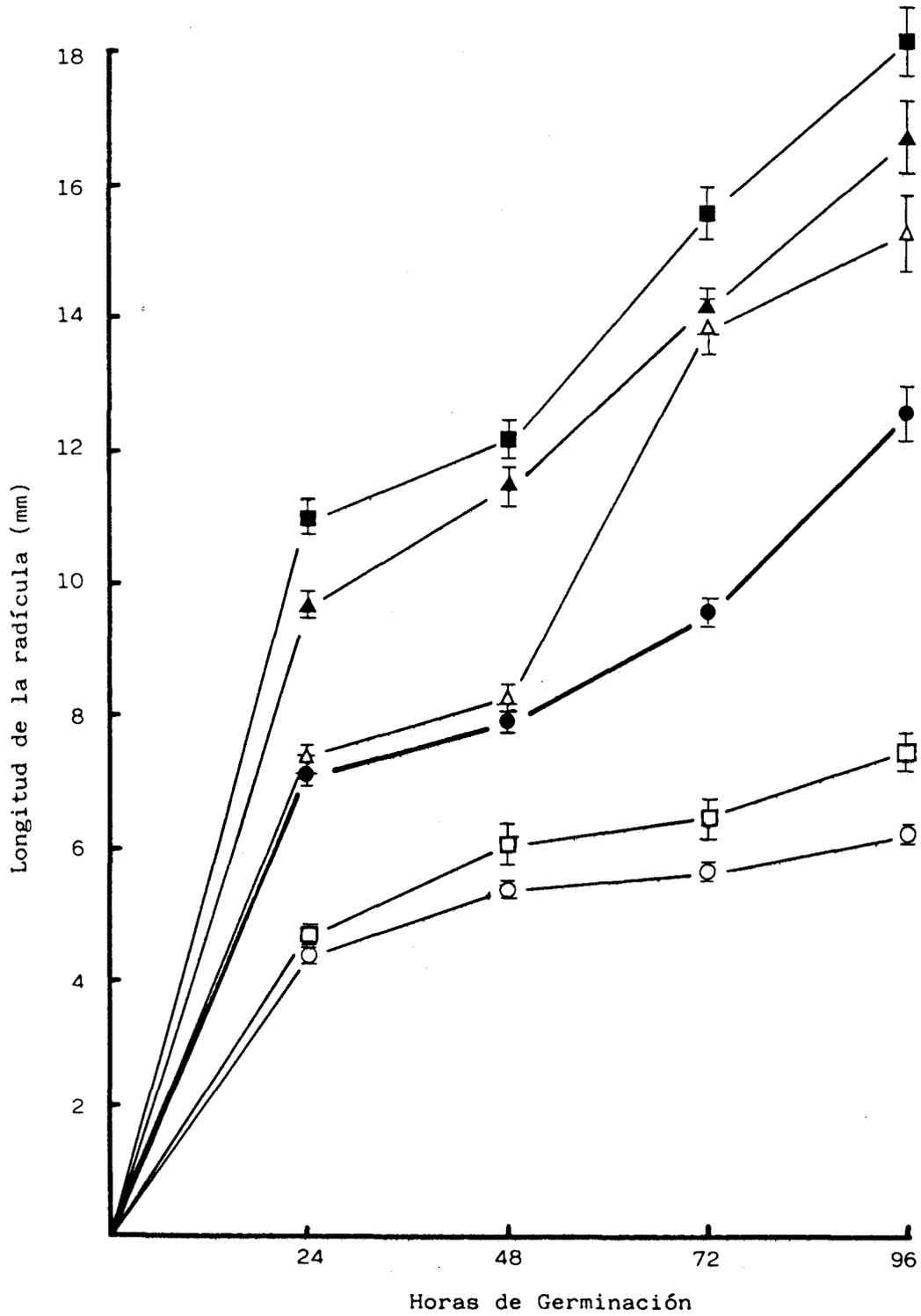
Tabla C-51

Diferencias entre los tratamientos ("t" Student) en la longitud final de la radícula de la semilla sin testa, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	21.372 (0.001)	142.105 (0.001)	-18.695 (0.001)	103.539 (0.001)	-8.695 (NS)
TRI	31.926 (0.001)	163.157 (0.001)	-9.200 (NS)	121.238 (0.001)	
ABA+Q	-67.699 (0.001)	18.947 (0.001)	-141.592 (0.001)		
Q	44.063 (0.001)	187.368 (0.001)			
ABA	-99.473 (0.001)				

En la semilla sin testa el tratamiento que produce mayor longitud de la radícula es la quinetina, sin diferencias frente al triptófano y ambos con una significa-

Fig. C-15.- Longitud de la radícula de la semilla sin testa. (● Testigo, ○ ABA, ■ Quinetina, □ ABA-Quinetina, ▲ Triptófano, △ Metionina, | Error de la media).



ción de  $p=0.001$  con respecto al testigo y sin diferencias con respecto al tratamiento de metionina. El ABA causa una inhibición de 99.4% ( $p=0.001$ ) con respecto al testigo. Al aplicar simultáneamente ABA y quinetina, ésta no logra revertir el efecto inhibitor del ABA totalmente, aunque si un 18.9% (Tabla C-51).

Tabla C-52

Longitud final de la radícula en el eje embrionario(mm).

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI	MET
$\bar{x}$	13.967	7.233	18.400	7.867	16.433	14.433
$\sigma_n$	1.326	0.774	4.190	0.937	2.885	2.012
N	30	30	30	30	30	30

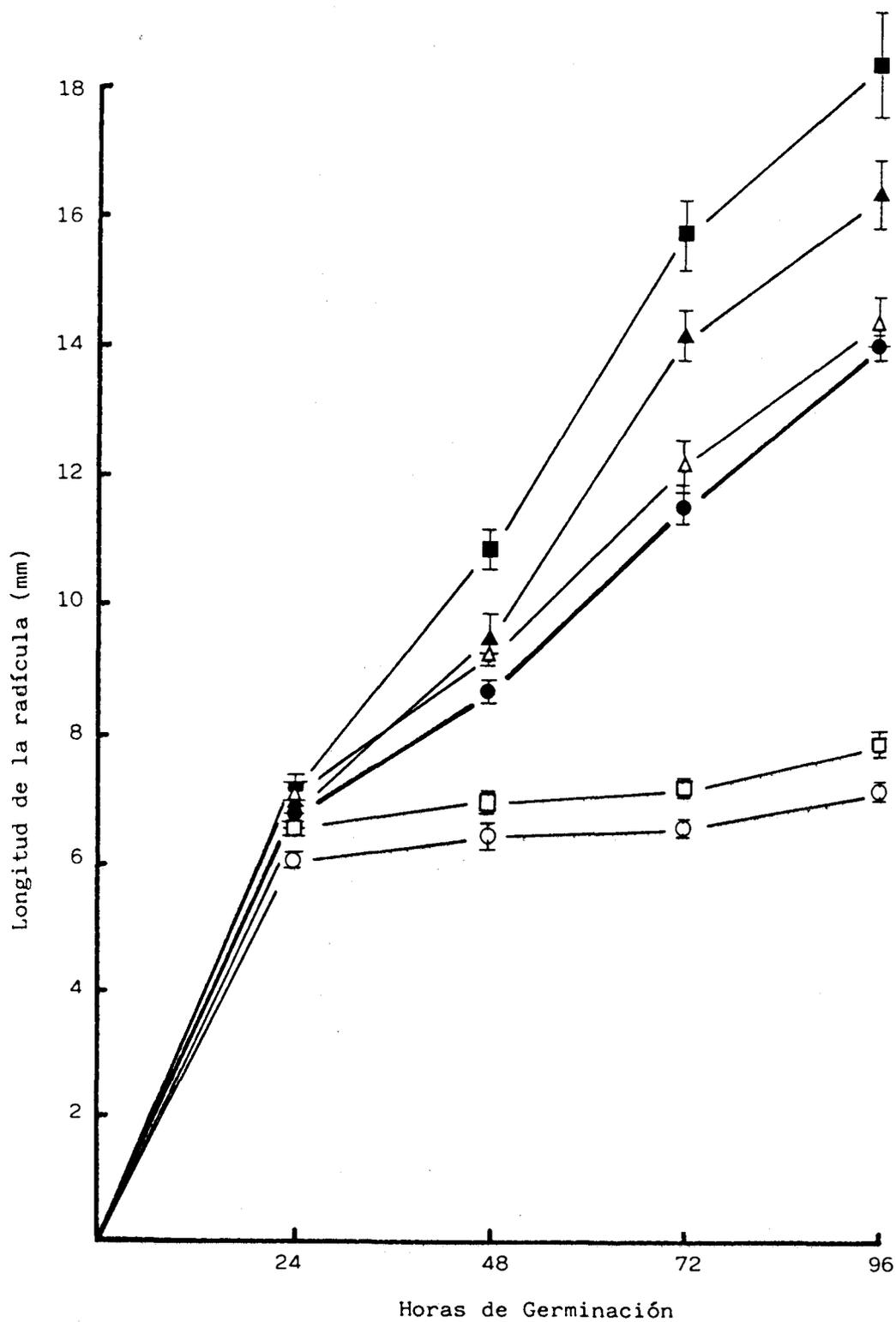
Tabla C-53

Diferencias entre los tratamientos ("t" Student) en la longitud final de la radícula, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	Testigo	ABA	Q	ABA+Q	TRI
MET	3.341 (NS)	99.539 (0.001)	-27.482 (0.001)	83.474 (0.001)	-13.856 (0.01)
TRI	17.661 (0.001)	127.188 (0.001)	-11.967 (0.05)	108.898 (0.001)	
ABA+Q	-77.542 (0.001)	8.755 (0.01)	-133.898 (0.001)		
Q	31.742 (0.001)	154.377 (0.001)			
ABA	-93.087 (0.001)				

La longitud de la radícula del eje embrionario, al igual que en los restantes materiales vegetales se ve incrementada en mayor extensión por el tratamiento de quinetina, con un 31.7% de incremento frente al testigo y un nivel de probabilidad de  $p=0.001$  frente a todos -

Fig. C-16.- Longitud de la radícula del eje embrionario. (● Testigo, ○ ABA, ■ Quinetina, □ ABA-Quinetina, ▲ Triptófano, △ Metionina, | Error de la media).



los tratamientos. Le sigue en efectividad el tratamiento de triptófano con 17.7%. La metionina no presenta diferencias estadísticas con respecto al testigo. El ABA causa una inhibición de 93% y el ABA-quinetina 77% presentando entre ambos tratamientos una significación de  $p=0.01$ .

Las citoquininas estimulan significativamente la germinación y la producción de etileno (FUCHS y LIEBERMAN, 1968; IMASEKI et al., 1975; LAU y YANG, 1973; WRIGHT, 1980). Oponiéndose a la acción de la citoquinina, el ABA inhibe la germinación de muchas semillas y reduce los niveles de producción de etileno, tanto endógena, como inducida por AIA (KETRING y MORGAN, 1972). Mientras que estos autores sugieren que las citoquininas deben actuar sobre la germinación de la semilla parcialmente por aumentar la producción de etileno, DUNLAP y MORGAN (1977) sostienen que ambos actúan en distintos sitios.

Se ha observado que cuando la velocidad de formación de etileno es alta desde ACC, las citoquininas y el ABA tienen poco efecto; por el contrario, en ausencia de AIA, cuando los tejidos producen pequeñas cantidades de etileno, BA promueve significativamente la producción de etileno, mientras que no se afecta mucho el contenido de ACC (YOSHII e IMASEKI, 1981). Esto indicaría que el BA no solo interacciona con AIA para aumentar la formación de ACC, sino que también estimula la biosíntesis de etileno en alguna extensión por otro mecanismo, tal como incrementar la disponibilidad de ACC al sitio de síntesis de etileno.

POLLI-PELLEGRIN y BULARD (1976) observaron que las citoquininas solo revertían el efecto inhibitor del ABA, cuando éste se administraba a concentraciones bajas, mientras que a concentraciones de ABA superiores a  $8 \mu\text{M}$ , las citoquininas solo revertían totalmente el efecto inhibitor del ABA, cuando se administraban en combinación

con giberelinas o en presencia de luz.

El porcentaje de germinación "atípica" en presencia de ABA es muy alto. La germinación normal se caracteriza por la protrusión de la radícula a través de la cubierta de la semilla, seguido por expansión de los cotiledones. En la germinación "atípica" los cotiledones se expanden y rompen la cubierta de la semilla antes de la elongación de la radícula. El desarrollo de la radícula está parcialmente bloqueado en presencia de ABA, mientras que no inhibe la expansión cotiledonar.

Nuestros resultados nos indican que la quinolina a la concentración utilizada no consigue revertir los efectos inhibidores del ABA en ninguno de los materiales vegetales utilizados, sobre ninguno de los parámetros medidos, esto podría deberse, o bien a que las concentraciones de ABA eran muy altas, o bien a una falta de giberelina endógena, como apuntó KARSSSEN (1976b), ya que según el modelo de germinación propuesto por KHAN (1971), las giberelinas asumen un papel primario en la germinación, mientras que las citoquininas e inhibidores son esencialmente "permisivos" o "preventivos". En nuestro caso, las giberelinas podrían permitir, si estuviesen presentes, que las citoquininas revirtiesen el efecto inhibidor del ABA.

Se ha observado que los D-aminoácidos estimulan la producción de etileno y que su efectividad varía de acuerdo con la estructura de la cadena lateral (SATOH y ESASHI, 1981), también se ha observado que solo los D-isómeros son efectivos y que aumentan los niveles de ACC en los segmentos tratados, por lo que el aumento de etileno puede deberse a un incremento en la síntesis de ACC (SATOH y ESASHI, 1982), o bien, que gran parte del proceso productor de etileno puede desarrollarse en un locus donde se induce un cambio conformacional en contacto con los D-aminoácidos (SATOH y ESASHI, 1981). Es bien sabido

que la metionina es el precursor de etileno (LIEBERMAN et al., 1966) por lo que es lógico que al suministrarlo aumente la producción de etileno.

En el caso del triptófano, los dos isómeros D y L muestran un efecto estimulador sobre la producción de etileno, esto puede deberse a que los dos isómeros son convertidos a AIA y por lo tanto estimulan la producción de etileno. Es conocido que el triptófano es un precursor de AIA en varios órganos vegetales, incluyendo semillas (SCHNEIDER y WIGHTMAN, 1978; EPSTEIN et al., 1980).

HALL et al. (1979) observaron que el etileno se compartimentaba en mayor cantidad en los cotiledones aislados de semillas de Phaseolus vulgaris que en el resto de la semilla. BENGOCHEA et al. (1980a,b) demostraron la existencia de un sitio de unión para estos cotiledones que tenía alta especificidad y afinidad. HALL et al. (1979) sugirieron que los cambios en las velocidades de emanación del etileno por zonas de la planta pueden deberse, al menos parcialmente, a cambios en la capacidad del tejido para compartimentar etileno, producido endógenamente y/o la liberación del etileno previamente compartimentado. Nuestros resultados están de acuerdo con los de estos autores ya que observamos que los cotiledones aislados retienen mayor cantidad de etileno que el eje embrionario (aproximadamente 4 veces más) cuando se encuentra separados de aquellos; por otra parte, el etileno desprendido por el eje es aproximadamente seis veces superior que el de los cotiledones. Esto indicaría que los cotiledones, cuando están unidos al eje, regulan de alguna forma la producción de etileno. Los tratamientos actúan de forma similar sobre el etileno desprendido y ligado.

EXPERIENCIA D.- Efecto de las sustancias reguladoras del crecimiento vegetal.

El objeto de este ensayo era ver la influencia de algunos reguladores del crecimiento vegetal (AIA, GA<sub>3</sub> y Quinetina) así como sus posibles interacciones al aplicarlos conjuntamente, durante las primeras 96 horas de germinación, sobre varios parámetros:

1. Etileno desprendido.
2. Etileno ligado.
3. Porcentaje de germinación.
4. Longitud de la radícula.

Todos los tratamientos tenían la concentración de 10<sup>-4</sup>M. En este ensayo, como en la experiencia anterior, se partió de 12 repeticiones a las 24 horas, de las que se iban retirando tres de ellas después de cada medida de etileno desprendido, quedando por lo tanto, 9, 6 y 3 repeticiones a las 48, 72 y 96 horas, respectivamente (Ver Material y Métodos).

Las medidas se realizaron en semilla intacta, semilla sin testa, eje embrionario y cotiledones.

1. Etileno desprendido. En este parámetro estudiaremos el punto de máximo desprendimiento de etileno, expresado en nl/hora/semilla, en cada uno de los materiales vegetales empleados, en función de los distintos tratamientos simples: AIA, GA<sub>3</sub> y Quinetina, dobles: AIA-GA<sub>3</sub>, AIA-Quinetina y GA<sub>3</sub>-Quinetina y triple: AIA-GA<sub>3</sub>-Quinetina. También veremos la evolución del etileno desprendido, en forma acumulada desde el comienzo de la germinación, hasta el momento de la medida.

Los resultados se encuentran en las Tablas D-1 a D-28 y en las Fig. D-1 a D-8.

Tabla D-1

Etileno desprendido (nl/hora/semilla) durante las primeras 96 horas de germinación en la semilla intacta. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período de tiempo.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	0.23	0.37	0.37	0.28	0.48	0.54	0.56	0.71
48	0.10	0.12	0.14	0.09	0.12	0.24	0.47	0.21
72	0.05	0.13	0.07	0.30	0.12	0.16	0.28	0.12
96	0.05	0.04	0.04	0.037	0.11	0.14	0.29	0.04
$\bar{x}$	0.11	0.17	0.15	0.26	0.21	0.27	0.40	0.27
$\sigma_n$	0.07	0.12	0.12	0.10	0.15	0.16	0.11	0.26
%-T	100.00	154.29	144.34	242.08	191.40	249.09	366.96	249.32

Tabla D-2

Etileno desprendido en el punto máximo (24 horas) por la semilla intacta, expresado en nl/hora/semilla.

R	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
1	0.18	0.40	0.40	0.11	0.44	0.53	1.00	0.94
2	0.22	0.35	0.33	0.28	0.45	0.63	0.65	1.87
3	0.26	0.43	0.39	0.36	0.48	0.74	0.46	0.53
4	0.21	0.44	0.35	0.26	0.52	0.77	0.77	0.79
5	0.28	0.37	0.36	0.31	0.47	0.52	0.64	0.59
6	0.26	0.33	0.38	0.12	0.57	0.50	0.74	0.61
7	0.23	0.40	0.43	0.39	0.48	0.66	0.61	0.73
8	0.21	0.34	0.34	0.08	0.52	0.53	0.61	0.62
9	0.24	0.22	0.35	0.34	0.44	0.55	0.53	0.63
10	0.21	0.41	0.36	0.78	0.45	0.56	0.16	0.29
11	0.18	0.35	0.36	0.18	0.46	0.25	0.24	0.42
12	0.23	0.33	0.38	0.21	0.45	0.31	0.31	0.61
$\bar{x}$	0.23	0.37	0.37	0.28	0.48	0.54	0.56	0.71
$\sigma_n$	0.02	0.05	0.02	0.17	0.03	0.14	0.22	0.38
%-T	100.00	160.36	162.21	125.46	209.10	238.07	244.50	313.43

Fig. D-1. Etileno desprendido (nl/hora/semilla) por la semilla intacta durante las primeras 96 horas de germinación. (I Error de la media).

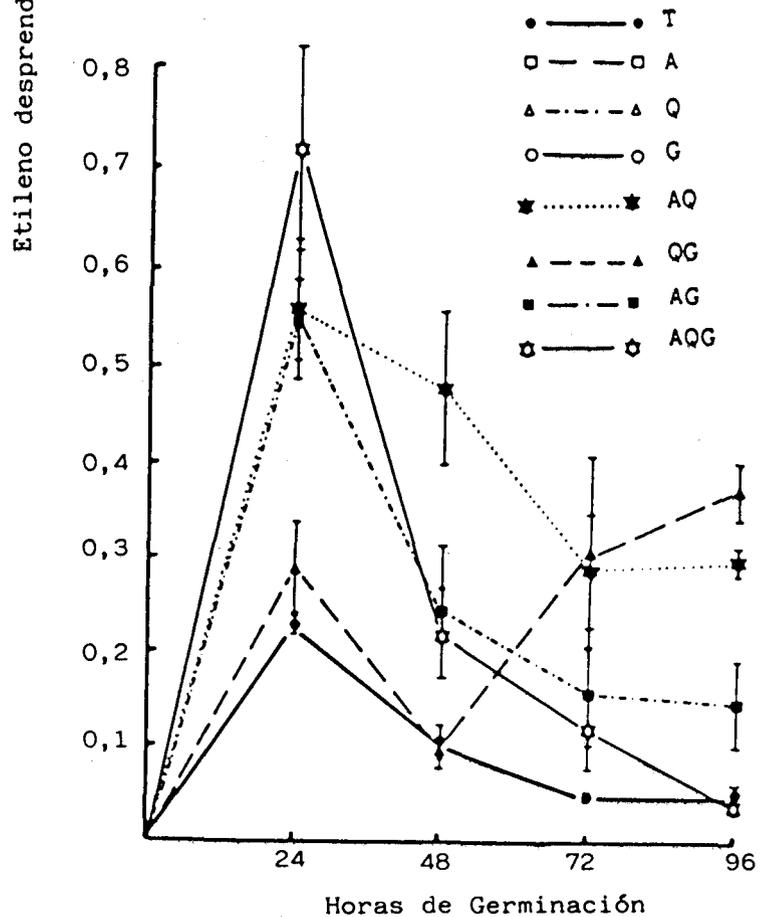
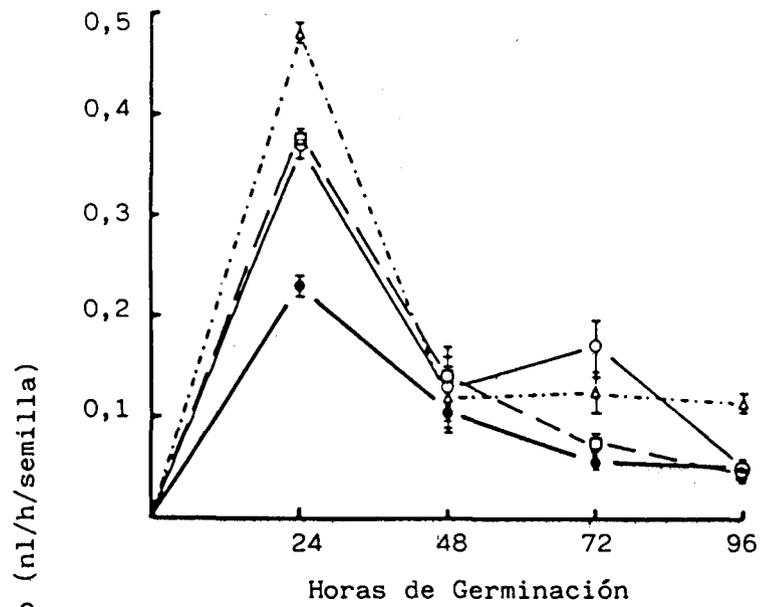


Tabla 0-3

Análisis de varianza. Punto de máximo desprendimiento de etileno en la semilla intacta.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	11	0.529	0.048	1.45	(NS)
Tratamientos	7	2.213	0.316	9.52	0.001
G	1	0.117	0.117	3.55	0.1
A	1	0.152	0.152	4.58	0.05
AG	1	0.026	0.026	0.78	(NS)
Q	1	1.667	1.667	50.24	0.001
QG	1	0.044	0.044	1.32	(NS)
AQ	1	0.055	0.055	1.67	(NS)
AQG	1	0.149	0.149	4.51	0.05
Error	77	2.555	0.033		
Total	95				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.148	0.197	0.257

Tabla 0-4

Diferencias entre tratamientos (%) y nivel de probabilidad. - Punto máximo de etileno desprendido. Semilla intacta.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	213.439 (0.001)	95.449 (0.001)	93.229 (0.001)	149.812 (0.001)	49.896 (0.01)	31.654 (0.05)	28.191 (0.05)
AQ	144.508 (0.001)	52.466 (0.05)	50.734 (0.05)	94.874 (0.001)	16.931 (NS)	2.701 (NS)	
QG	138.078 (0.001)	48.456 (0.05)	46.770 (0.05)	89.749 (0.001)	13.856 (NS)		
Q	109.104 (0.01)	30.389 (NS)	28.908 (NS)	66.657 (0.05)			
AG	25.469 (NS)	-27.814 (NS)	-29.283 (NS)				
A	62.210 (0.1)	1.148 (NS)					
G	60.368 (0.1)						

Fig. D-2.- Etileno desprendido (nl/semilla) por la semilla intacta desde el inicio de la germinación hasta el momento de la medida. (I Error de la media).

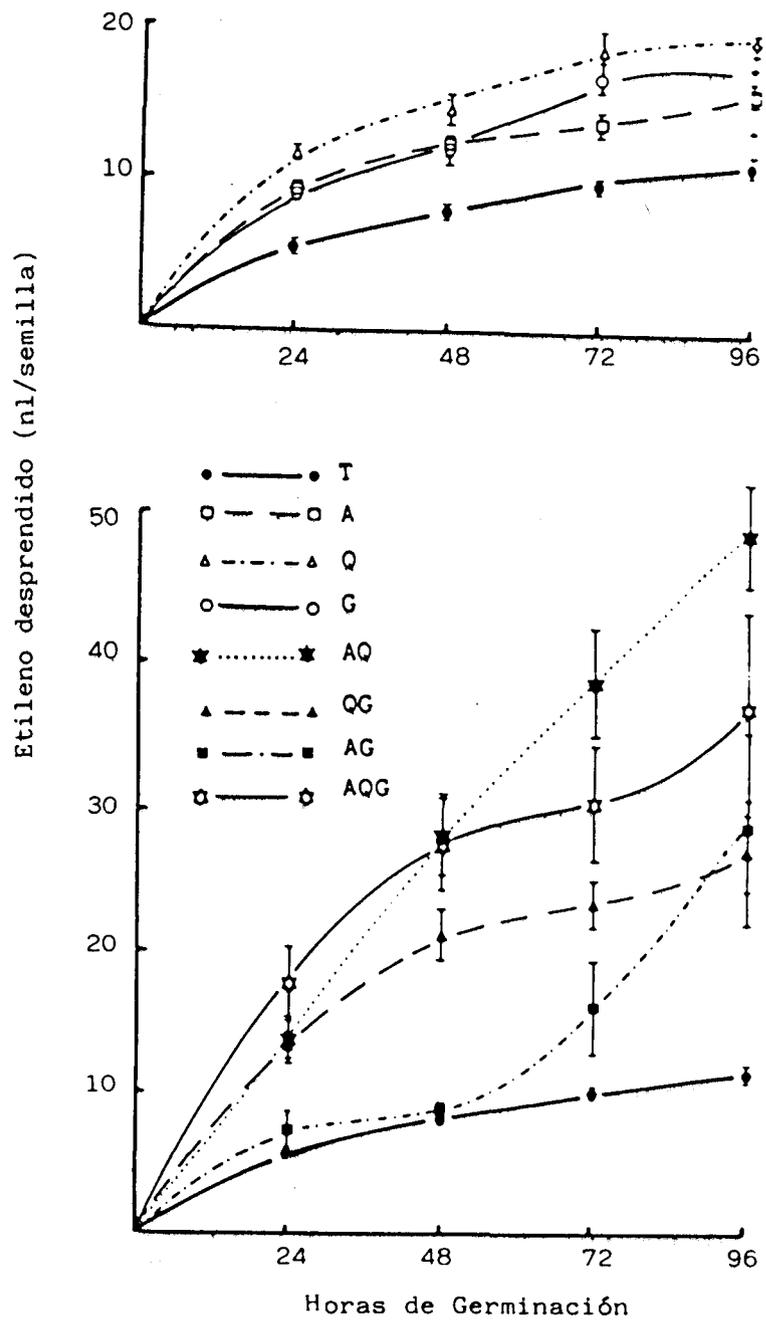


Tabla D-5

Etileno desprendido (acumulado), expresado en nl/semilla por la semilla intacta, durante las primeras 96 horas de germinación. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en ese período.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	5.55	9.08	9.13	7.30	11.81	13.46	13.80	17.75
48	8.12	12.24	12.51	8.59	14.80	20.90	28.00	27.80
72	9.96	16.98	13.57	15.99	18.76	23.22	38.50	30.36
96	11.38	17.30	15.73	28.62	19.29	27.00	48.38	37.05
$\bar{x}$	8.75	13.90	12.73	15.12	16.16	21.14	32.17	28.24
$\sigma_n$	2.18	3.43	2.38	8.46	3.05	4.94	12.82	6.93
$\Sigma T$	100.00	158.76	145.42	172.72	184.59	241.43	367.29	322.47

Tabla D-6

Análisis de varianza. Evolución de Etileno desprendido. Semilla intacta.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	929.379	309.793	15.08	0.001
Tratamientos	7	1819.586	259.940	12.65	0.001
G	1	36.900	36.900	1.79	(NS)
A	1	400.522	400.522	19.50	0.001
AG	1	67.986	67.986	3.31	0.1
Q	1	1114.073	1114.073	54.24	0.001
QG	1	21.022	21.022	1.02	(NS)
AQ	1	160.182	160.182	7.79	0.05
AQG	1	18.897	18.897	0.92	(NS)
Error	21	431.291	20.537		
Total	31				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	6.665	9.068	12.241
Fechas	4.713	6.412	8.655

Tabla D-7

Diferencias entre los tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Etileno desprendido. Semilla intacta.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	222.476 (0.001)	103.120 (0.001)	121.741 (0.001)	86.704 (0.001)	74.690 (0.01)	33.564 (0.05)	-13.897 (NS)
AQ	267.291 (0.001)	131.349 (0.001)	152.557 (0.001)	112.651 (0.001)	98.967 (0.001)	52.126 (0.01)	
QG	141.439 (0.001)	52.077 (0.05)	66.018 (0.05)	39.786 (0.1)	30.790 (NS)		
Q	84.599 (0.05)	16.275 (NS)	26.934 (NS)	6.877 (NS)			
AG	72.720 (0.1)	8.792 (NS)	18.765 (NS)				
A	45.429 (NS)	-9.167 (NS)					
G	58.760 (NS)						

El etileno desprendido por la semilla intacta presenta un máximo a las 24 horas (Fig. D-1; Tablas D-1 y D-2). En dicho punto, se observa una clara variabilidad entre los tratamientos ( $p=0.001$ ; Tabla D-3); del contraste ortogonal se deduce que los efectos principales AIA y quinetina, así como el triple AIA-quinetina- $GA_3$ , actúan significativamente sobre el etileno desprendido ( $p=0.05$  a  $0.001$ ); mientras que los efectos dobles no presentan significación estadística alguna.

El tratamiento que origina mayor desprendimiento de etileno en el punto máximo (Tabla D-4) es el triple AIA-quinetina- $GA_3$ , que presenta un incremento con respecto al testigo de 213% ( $p=0.001$ ). Le siguen los tratamientos dobles AIA-quinetina y quinetina- $GA_3$  y el simple quinetina, con incrementos frente al testigo de 144%, 138% y 109%, respectivamente, sin diferencias estadísticas entre ellos. Los tratamientos menos

efectivos son el doble AIA-GA<sub>3</sub>, que no difiere significativamente del testigo y los simples AIA y GA<sub>3</sub>, sin diferencias estadísticas entre ellos.

Al estudiar la evolución del etileno desprendido por la semilla intacta (Tabla D-5 y Fig. D-2), observamos que existe variabilidad tanto entre las fechas de medida, como entre los tratamientos ( $p=0.001$ ; Tabla D-6). Analizando el efecto de los tratamientos aisladamente, vemos que la quinetina y el AIA actúan significativamente ( $p=0.001$ ), así como la interacción AIA-quinetina ( $p=0.05$ ), mientras que los restantes efectos no presentan significación estadística.

Del estudio de las comparaciones entre tratamientos sobre la evolución del desprendimiento de etileno (Tabla D-7) se deduce que los tratamientos más eficaces son el triple AIA-quinetina-GA<sub>3</sub> y el doble AIA-quinetina con diferencias estadísticas frente al resto ( $p=0.05$  a  $0.001$ ), no diferenciándose estadísticamente entre ellos. Le sigue el tratamiento doble quinetina-GA<sub>3</sub>, que no presenta diferencias frente a la quinetina, la cual presenta un incremento frente al testigo de 84% ( $p=0.05$ ). Los restantes tratamientos no presentan diferencias estadísticas frente al testigo.

Tabla D-8

Etileno desprendido durante las primeras 96 horas (nl/hora/semilla) por la semilla sin testa. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período de tiempo.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	0.24	0.63	0.28	0.66	0.48	0.41	0.95	0.27
48	0.71	0.78	0.72	1.13	1.42	0.87	0.99	1.08
72	0.22	0.21	0.53	0.21	0.83	0.22	0.21	0.14
96	0.06	0.06	0.03	0.04	0.19	0.04	0.05	0.04
$\bar{x}$	0.32	0.42	0.39	0.48	0.73	0.38	0.55	0.38
$\sigma_n$	0.25	0.29	0.26	0.38	0.45	0.30	0.42	0.41
%-T	100.00	131.74	122.93	152.02	229.17	120.98	173.94	121.45

Tabla D-9

Etileno desprendido en el punto máximo (48 horas) por la semilla sin testa, expresado en nl/hora/semilla.

R	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
1	0.69	0.70	0.43	1.26	1.83	1.22	1.18	1.07
2	1.10	0.56	0.78	1.73	1.46	0.66	1.08	1.14
3	0.74	0.58	0.53	1.21	1.36	0.80	0.99	0.96
4	0.67	0.67	0.94	1.03	1.52	0.75	0.92	1.32
5	0.66	0.76	0.98	1.02	1.34	0.97	0.94	0.87
6	0.68	1.12	0.84	0.89	1.58	0.76	0.83	1.12
7	0.56	0.89	0.64	1.23	1.11	0.76	0.99	0.92
8	0.59	0.73	0.78	1.12	1.34	0.90	1.08	1.17
9	0.66	0.98	0.55	0.65	1.24	0.98	0.89	1.08
$\bar{x}$	0.71	0.78	0.72	1.13	1.42	0.87	0.99	1.08
$\sigma_n$	0.14	0.17	0.17	0.27	0.19	0.16	0.11	0.13
%-T	100.00	109.93	101.89	159.36	200.43	122.63	140.49	153.33

Fig. D-3.- Etileno desprendido (nl/hora/semilla) por la semilla sin testa durante las primeras 96 horas de germinación. (I Error de la media).

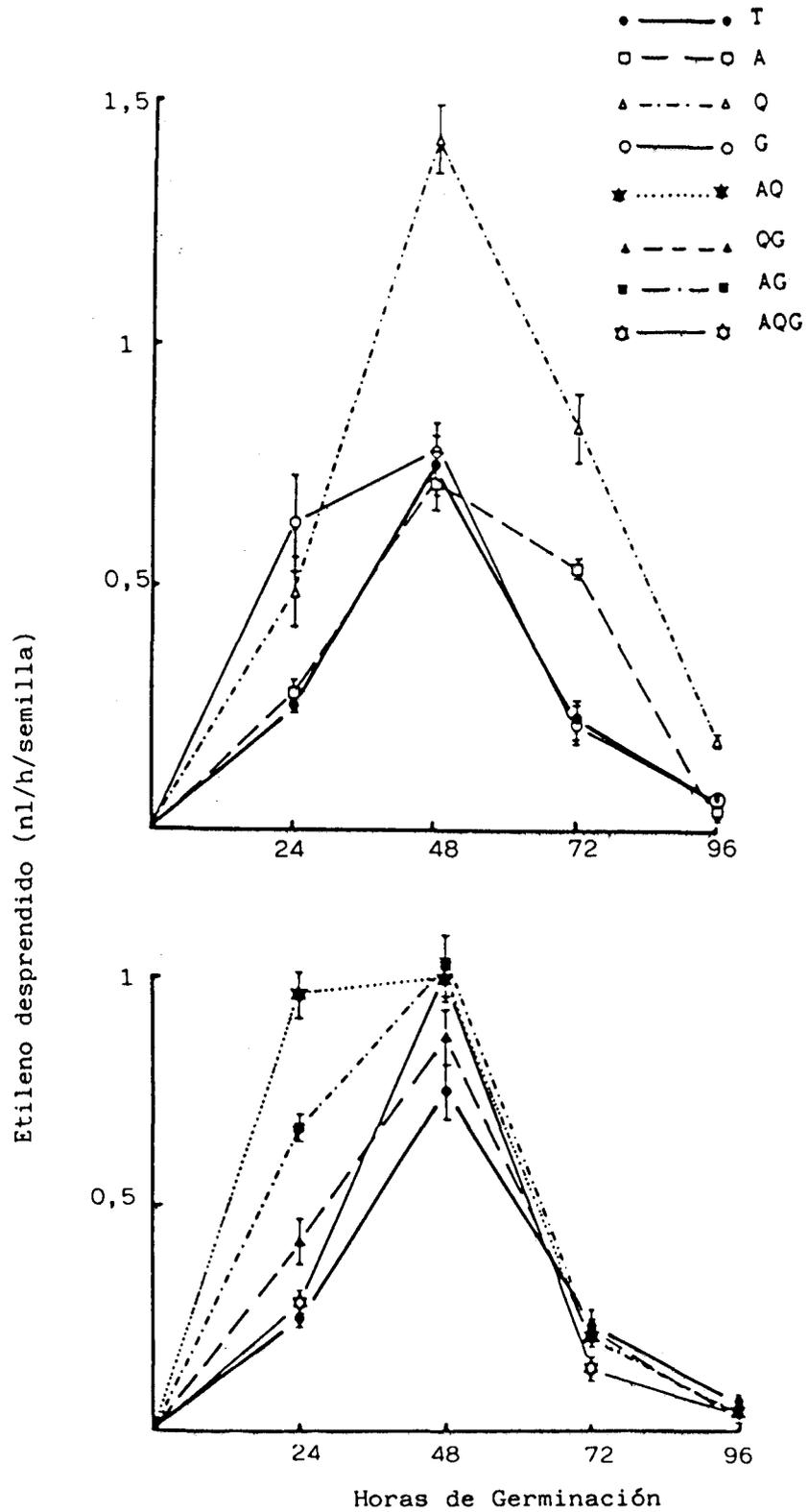


Tabla D-10

Análisis de varianza. Punto de máximo desprendimiento de etileno en la semilla sin testa.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones	8	0.310	0.38	1.06	(NS)
Tratamientos	7	3.786	0.540	14.92	0.001
G	1	0.0001	0.0001	0.003	(NS)
A	1	0.027	0.027	0.76	(NS)
AG	1	1.084	1.084	29.90	0.001
Q	1	1.205	1.205	33.24	0.001
QG	1	0.994	0.994	27.44	0.001
AQ	1	0.368	0.368	10.16	0.01
AQG	1	0.105	0.105	2.90	0.1
Error	56	2.030	0.036		
Total	71				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.181	0.242	0.318

Tabla D-11

Diferencias entre tratamientos (%) y nivel de probabilidad. - Punto máximo de etileno desprendido. Semilla sin testa.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	53.331 (0.001)	39.479 (0.01)	50.483 (0.001)	-3.937 (NS)	-30.722 (0.001)	25.035 (0.05)	9.139 (NS)
AQ	40.491 (0.01)	27.799 (0.05)	37.881 (0.01)	-13.436 (NS)	-42.669 (0.001)	14.564 (NS)	
QG	22.630 (0.1)	11.552 (NS)	20.353 (NS)	-29.957 (0.01)	-63.448 (0.001)		
Q	100.437 (0.001)	82.330 (0.001)	96.715 (0.001)	25.770 (0.01)			
AG	59.368 (0.001)	44.970 (0.001)	56.408 (0.001)				
A	1.892 (NS)	-7.889 (NS)					
G	9.931 (NS)						

Tabla D-12

Etileno desprendido (acumulado), expresado en nl/semilla por la semilla sin testa. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período de tiempo.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	5.95	15.27	6.82	16.31	11.86	10.35	23.40	6.98
48	24.37	34.20	25.52	41.57	47.51	30.53	45.92	34.67
72	30.90	41.02	40.57	45.61	67.91	36.43	50.59	38.47
96	32.64	44.93	44.97	48.23	76.21	38.99	53.57	45.32
$\bar{x}$	23.47	33.86	29.47	37.93	50.87	29.07	43.37	31.36
$\sigma_n$	10.57	11.39	14.93	12.70	24.82	11.23	11.84	14.58
%-T	100.00	144.27	125.59	161.63	216.76	123.89	184.81	133.63

Tabla D-13

Análisis de varianza. Etileno desprendido por la semilla sin testa.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	6204.131	2068.043	63.58	0.001
Tratamientos	7	2175.172	310.738	9.55	0.001
G	1	111.878	111.878	3.43	0.1
A	1	11.856	11.856	0.36	(NS)
AG	1	30.838	30.838	0.94	(NS)
Q	1	448.606	448.606	13.79	0.01
QG	1	1386.406	1386.406	42.62	0.001
AQ	1	116.960	116.960	3.59	0.1
AQG	1	68.626	68.626	2.11	(NS)
Error	21	683.011	32.524		
Total	31				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	8.387	11.412	15.404
Fechas	5.931	8.069	10.892

Fig. D-4.- Etileno desprendido (acumulado), por la semilla sin testa, expresado en nl/semilla. (I Error de la media).

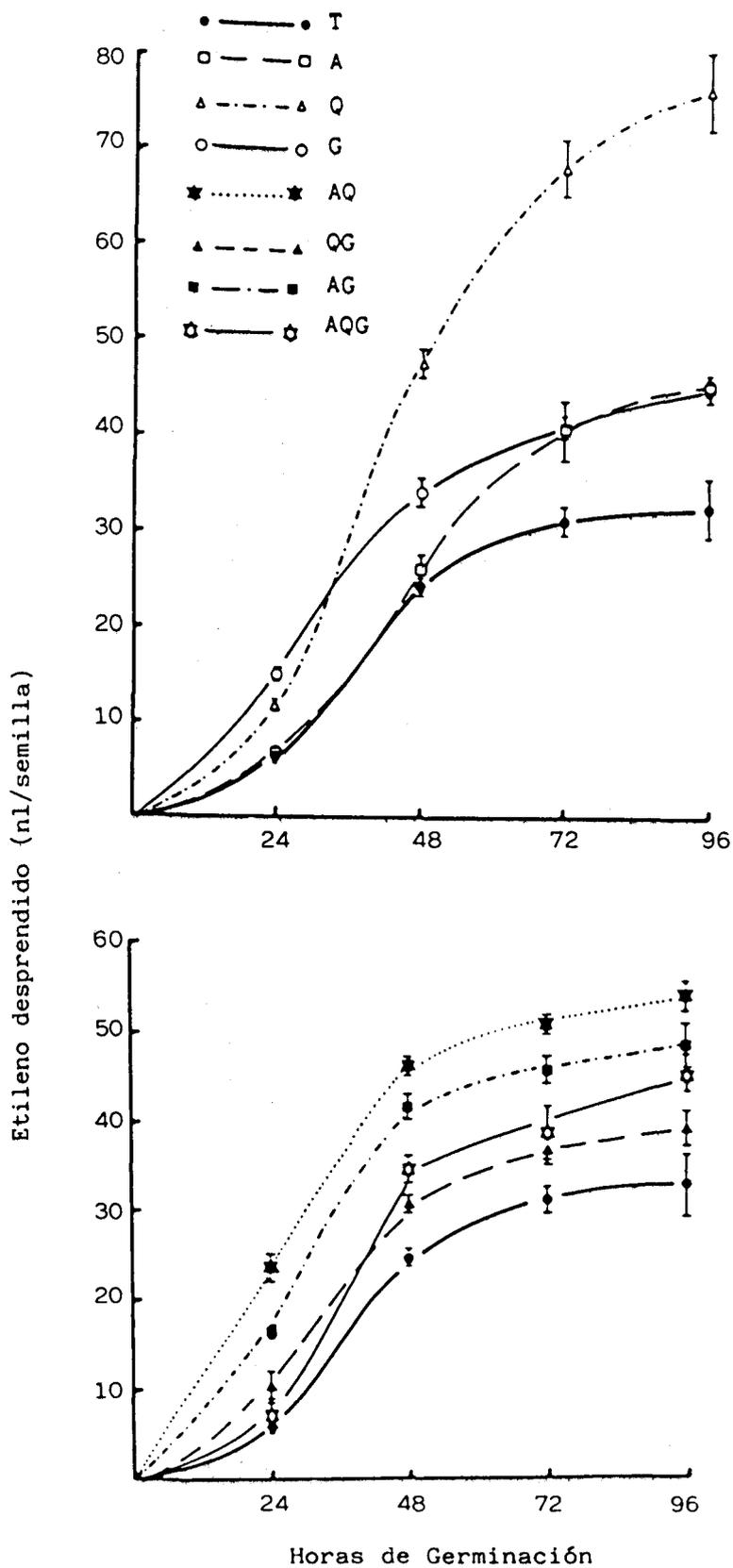


Tabla D-14

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Etileno desprendido. Semilla sin testa.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	33.638 (0.1)	-7.955 (NS)	6.406 (NS)	-20.949 (NS)	-62.203 (0.001)	7.861 (NS)	-38.296 (0.01)
AQ	84.817 (0.001)	28.105 (0.05)	47.157 (0.01)	14.342 (NS)	-17.286 (0.1)	49.168 (0.01)	
QG	23.898 (NS)	-16.442 (NS)	-1.366 (NS)	-30.457 (0.05)	-74.955 (0.001)		
Q	116.767 (0.001)	50.250 (0.001)	72.595 (0.001)	34.108 (0.01)			
AG	61.635 (0.01)	12.036 (NS)	28.698 (0.05)				
A	25.592 (NS)	-14.872 (NS)					
G	44.270 (0.05)						

El etileno desprendido por la semilla sin testa presenta un máximo a las 48 horas (Fig. D-3; Tablas D-8 y D-9). Analizando este punto (Tabla D-10) observamos que no existe variabilidad entre las repeticiones, pero sí entre los tratamientos ( $p=0.001$ ). Al estudiar el efecto de los tratamientos individualmente notamos que el efecto principal quinetina actúa significativamente ( $p=0.001$ ) sobre el desprendimiento de etileno, vemos también que existen interacciones estadísticamente significativas en los tratamientos dobles AIA-GA<sub>3</sub> ( $p=0.001$ ) quinetina-GA<sub>3</sub> ( $p=0.001$ ) y AIA-quinetina ( $p=0.01$ ). Los efectos principales AIA y GA<sub>3</sub> no presentan significación estadística.

El tratamiento que causa mayor desprendimiento de etileno en el punto máximo es la quinetina (Tabla D-11), que presenta un incremento frente al testigo de 100% ( $p=0.001$ ). Le siguen los tratamientos AIA-quinetina-GA<sub>3</sub>, AIA-GA<sub>3</sub> y AIA-quinetina, sin diferir significativamente entre ellos, pero -

con diferencias de diversa índole frente al resto de los tratamientos. Los tratamientos quinetina- $\text{GA}_3$ , AIA y  $\text{GA}_3$  no muestran diferencias estadísticas con respecto al testigo, ni entre ellos.

Estudiando la evolución de etileno desprendido a lo largo del tiempo (Fig. D-4; Tabla D-12), observamos una clara variabilidad estadística, tanto entre las fechas de medida, como entre los tratamientos ( $p=0.001$ ; Tabla D-13). Del contraste ortogonal se deduce que existe una interacción significativa ( $p=0.001$ ) en el caso de quinetina- $\text{GA}_3$  y que el efecto principal quinetina actúa significativamente ( $p=0.01$ ). Los restantes tratamientos no presentan significación.

Comparando los tratamientos, por mínimas diferencias significativas, en la evolución del desprendimiento de etileno, vemos que el tratamiento más efectivo es la quinetina con un incremento de 116.7% frente al testigo, le siguen en efectividad AIA-quinetina y AIA- $\text{GA}_3$ , sin diferir estadísticamente entre ellos y con incrementos con respecto al testigo de 84.8% ( $p=0.001$ ) y 61.6% ( $p=0.01$ ), respectivamente. La giberelina - presenta un incremento frente al testigo de 44% ( $p=0.05$ ). Los tratamientos AIA-quinetina- $\text{GA}_3$  y AIA no presentan diferencias estadísticas frente al testigo (Tabla D-14).

Tabla D-15

Etileno desprendido (nl/hora/eje) durante las primeras 96 horas de germinación por el eje embrionario. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período de tiempo.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	1.93	3.07	4.15	8.84	2.53	11.10	9.17	3.28
48	0.86	1.26	2.30	2.41	2.17	2.52	4.01	4.08
72	0.39	0.44	1.09	0.99	1.01	1.09	1.83	2.35
96	0.30	0.40	0.83	0.82	0.56	0.62	1.15	1.85
$\bar{x}$	0.87	1.29	2.09	3.26	1.57	3.83	4.04	2.89
$\sigma_n$	0.64	1.07	1.31	3.27	0.80	4.25	3.14	0.85
%-T	100.00	148.28	239.60	373.65	179.77	438.54	462.22	330.91

Tabla D-16

Etileno desprendido en el punto máximo (24 horas) por el eje embrionario, expresado en nl/hora/eje.

R	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
1	1.78	2.34	2.99	12.53	2.65	7.79	8.01	4.20
2	1.80	3.81	2.85	8.52	2.69	9.97	7.55	4.99
3	1.81	3.82	4.13	12.49	1.77	9.81	7.63	3.45
4	2.06	3.37	6.56	4.93	2.83	15.72	10.05	3.28
5	1.85	3.25	5.76	19.01	3.42	7.22	9.64	5.13
6	2.95	3.14	5.64	5.94	2.52	11.90	9.78	3.25
7	1.85	2.33	4.24	5.83	2.41	9.25	15.57	2.06
8	1.77	3.16	4.16	9.53	2.13	12.34	11.01	1.99
9	1.69	2.38	3.90	5.21	2.77	9.35	7.91	2.18
10	1.84	2.98	3.23	7.38	2.79	4.30	7.74	3.01
11	1.96	2.78	3.10	7.05	2.38	25.93	7.61	2.59
12	1.88	3.41	3.24	7.69	1.95	9.59	7.59	3.24
$\bar{x}$	1.93	3.07	4.15	8.84	2.53	11.10	9.17	3.28
$\sigma_n$	0.31	0.50	1.17	3.91	0.42	5.22	2.24	1.00
%-T	100.00	158.32	214.30	456.28	130.50	572.53	473.34	169.34

Fid. D-5.- Etileno desprendido (nl/hora/eje) por el eje embrionario.  
(I Error de la media).

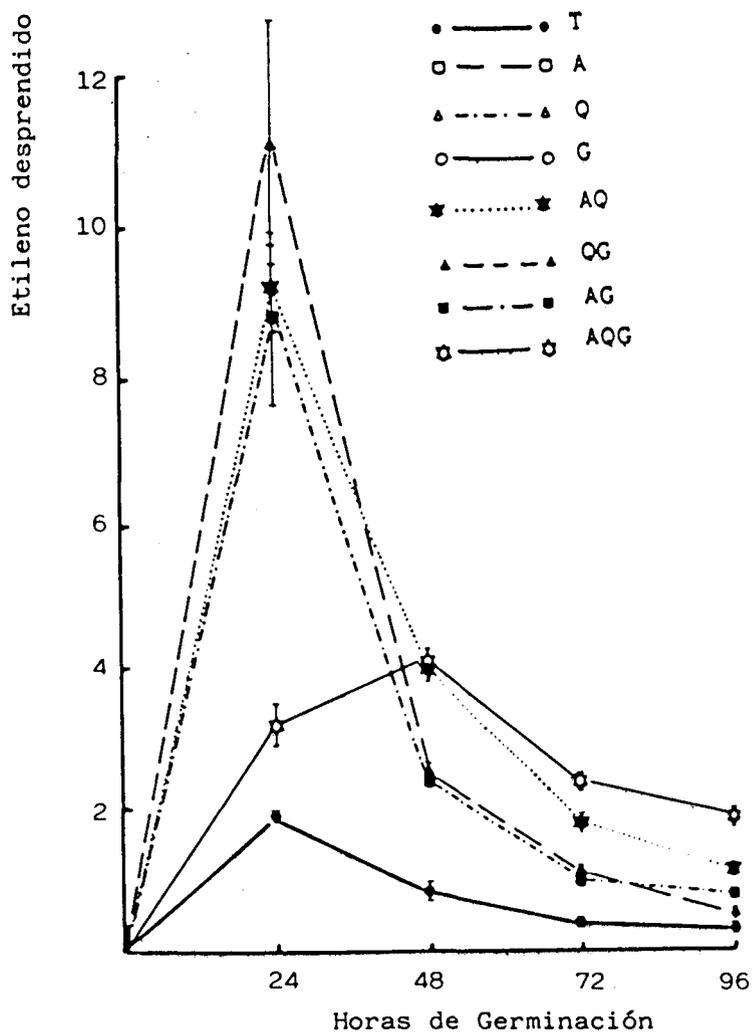
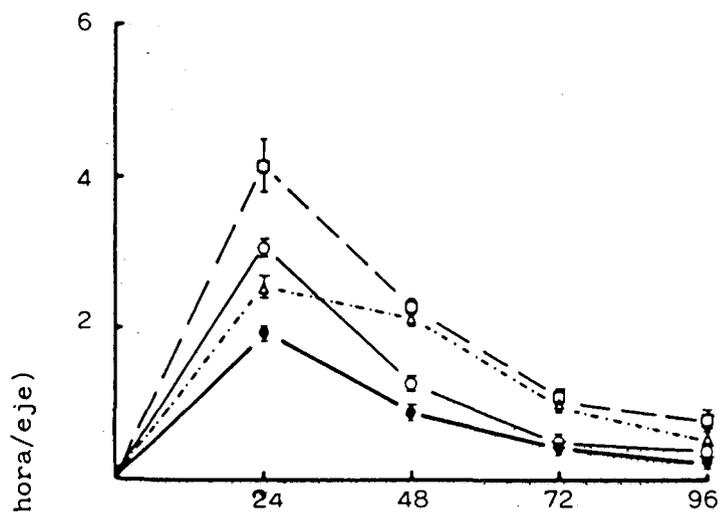


Tabla D-17

Análisis de varianza. Punto de máximo desprendimiento de etileno en el eje embrionario.

	FV	GL	SC	MC	F <sub>c</sub>	NP
Repeticiones	11		58.776	5.343	0.75	(NS)
Tratamientos	7		1082.911	154.701	21.74	0.001
G	1		108.370	108.370	15.23	0.001
A	1		69.847	69.847	9.81	0.01
AG	1		178.373	178.373	25.06	0.001
Q	1		97.986	97.986	13.77	0.001
QG	1		14.852	14.852	2.08	(NS)
AQ	1		125.986	125.986	17.70	0.001
AQG	1		478.495	478.495	68.51	0.001
Error	77		547.860	7.115		
Total	95		1689.548			

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	2.177	2.896	3.767

Tabla D-18

Diferencias entre tratamientos (%) y nivel de probabilidad. Punto máximo de etileno desprendido. Eje embrionario.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	69.341 (NS)	6.959 (NS)	-26.550 (NS)	-169.449 (0.001)	29.759 (NS)	-238.097 (0.001)	-179.519 (0.001)
AQ	373.342 (0.001)	198.973 (0.001)	120.875 (0.001)	3.737 (NS)	262.702 (0.001)	-20.956 (0.1)	
QG	472.538 (0.001)	261.628 (0.001)	167.164 (0.001)	25.477 (0.05)	338.713 (0.001)		
Q	30.504 (NS)	-21.315 (NS)	-64.211 (NS)	-249.636 (0.001)			
AG	356.289 (0.001)	188.203 (0.001)	112.918 (0.001)				
A	114.302 (0.05)	35.358 (NS)					
G	58.322 (NS)						

Tabla D-19

Etileno desprendido (acumulado), expresado en nl/eje embrio--  
nario. Cada valor es la media de las repeticiones existentes  
en dicho período de tiempo.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	36.39	59.67	75.94	164.39	47.97	212.25	173.15	65.46
48	55.96	88.34	134.80	224.45	100.25	265.52	273.60	168.45
72	68.87	104.94	167.62	273.71	127.76	287.02	306.61	235.48
96	80.04	128.80	179.48	300.59	150.53	320.55	357.86	289.52
$\bar{x}$	60.31	95.44	139.46	240.78	106.63	271.33	277.80	189.72
$\sigma_n$	16.22	25.16	40.16	51.87	38.26	39.34	67.46	83.58
$\%T$	100.00	158.22	231.21	399.18	176.77	449.83	460.55	314.54

Tabla D-20

Análisis de varianza. Etileno desprendido por el eje embriona  
rio.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	65125.054	21708.351	32.84	0.001
Tratamientos	7	199083.674	28440.524	43.02	0.001
G	1	22700.850	22700.850	34.34	0.001
A	1	49316.135	49316.135	74.60	0.001
AG	1	17406.934	17406.934	26.33	0.001
Q	1	47892.262	47892.262	72.45	0.001
QG	1	1789.081	1789.081	2.70	(NS)
AQ	1	9102.613	9102.613	13.77	0.01
AQG	1	50875.795	50875.795	76.96	0.001
Error	21	13881.242	661.011		
Total	31				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	37.814	51.448	69.446
Fechas	26.738	36.379	49.106

Fig. D-6.- Etileno desprendido (acumulado) por el eje embrionario, durante las primeras 96 horas de germinación, expresado en nl/semilla. (I Error de la media).

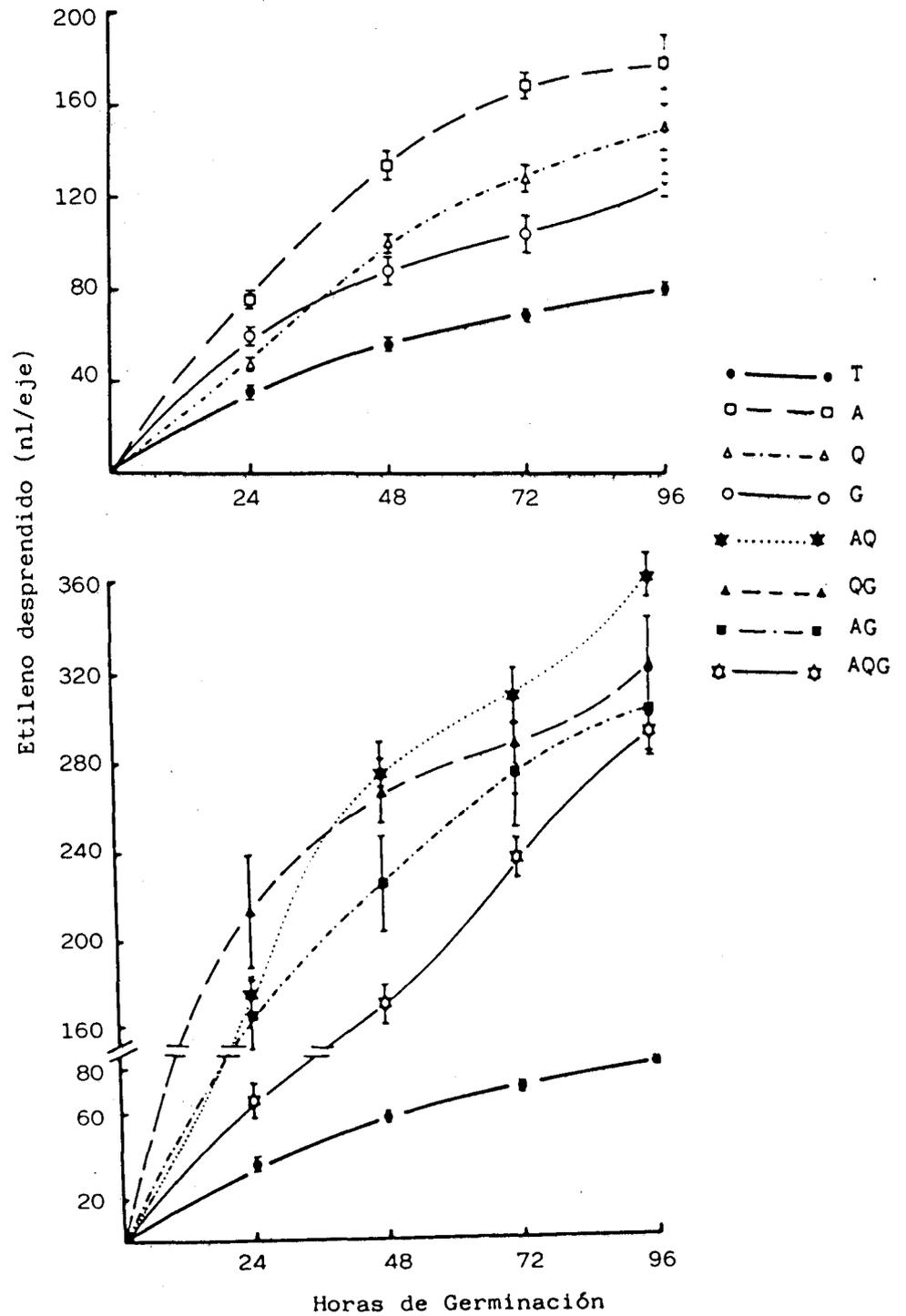


Tabla D-21

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Etileno desprendido. Eje embrionario.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	214.540 (0.001)	98.788 (0.001)	36.040 (0.05)	-26.911 (0.05)	77.929 (0.001)	-43.013 (0.001)	-46.422 (0.001)
AQ	360.558 (0.001)	191.070 (0.001)	99.194 (0.001)	15.373 (0.1)	160.528 (0.001)	2.383 (NS)	
QG	349.835 (0.001)	184.294 (0.001)	94.556 (0.001)	12.687 (NS)	154.462 (0.001)		
Q	76.778 (0.05)	11.723 (NS)	-30.791 (0.1)	-125.813 (0.001)			
AG	299.188 (0.001)	152.285 (0.001)	72.651 (0.001)				
A	131.210 (0.001)	46.124 (0.05)					
G	58.228 (0.1)						

El etileno desprendido por el eje embrionario presenta un máximo a las 24 horas (Fig. D-5; Tabla D-15 y D-16). En dicho período de tiempo se observa (Tabla D-17) que no existe variabilidad entre las repeticiones, pero sí entre los tratamientos ( $p=0.001$ ). Al subdividir los tratamientos observamos que los efectos principales AIA, quinetina y  $GA_3$  actúan significativamente sobre el etileno desprendido ( $p=0.01$  a  $0.001$ ), vemos también la existencia de interacciones estadísticas en los casos de AIA- $GA_3$ , AIA-quinetina y AIA-quinetina- $GA_3$  ( $p=0.001$ ). La interacción quinetina- $GA_3$  no presenta significación estadística.

Los tratamientos que causan el mayor desprendimiento de etileno son quinetina- $GA_3$ , AIA-quinetina y AIA- $GA_3$ , los dos primeros sin diferencias estadísticas entre ellos (Tabla D-18)

y quinetina-GA<sub>3</sub> significativamente diferente (p=0.05) frente a AIA-GA<sub>3</sub>. A niveles muy inferiores le sigue el AIA con 114% de incremento frente al testigo. Los tratamientos menos efectivos son quinetina, GA<sub>3</sub> y AIA-quinetina-GA<sub>3</sub> sin diferencias significativas ni entre ellos, ni frente al testigo.

Si estudiamos la evolución de etileno desprendido a lo largo del tiempo (fig. D-6; Tabla D-19), observamos que existe variabilidad tanto entre las fechas de medida, como entre los tratamientos (Tabla D-20). Al analizar el efecto de los tratamientos simples, dobles y triples, observamos que los efectos principales AIA, quinetina y GA<sub>3</sub> actúan significativamente (p=0.001) sobre el desprendimiento de etileno, además existen interacciones significativas, tanto en el caso de AIA-GA<sub>3</sub>, AIA-quinetina-GA<sub>3</sub> (p=0.001) y AIA-quinetina (p=0.01); mientras que no existe interacción estadística en el caso de quinetina-GA<sub>3</sub>.

Comparando los tratamientos por mínimas diferencias significativas, sobre el desprendimiento de etileno a lo largo del tiempo, observamos que los tratamientos más eficaces (Tabla D-21) son AIA-quinetina, quinetina-GA<sub>3</sub> y AIA-GA<sub>3</sub>, sin diferencias estadísticas entre ellos. Le siguen en eficacia los tratamientos AIA-quinetina-GA<sub>3</sub> y AIA, significativamente diferentes (p=0.05). A un nivel mucho más bajo se encuentran los tratamientos quinetina y giberelinas, este último no difiere estadísticamente del testigo.

Tabla D-22

Etileno desprendido (nl/hora/cotiledón) durante las primeras 96 horas de germinación en los cotiledones aislados. Cada valor es la media de las repeticiones existentes en dicho período de tiempo.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	0.27	0.25	0.17	0.20	0.23	0.24	0.27	0.22
48	0.04	0.05	0.04	0.06	0.05	0.07	0.05	0.05
72	0.03	0.04	0.02	0.03	0.06	0.03	0.04	0.03
96	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
$\bar{x}$	0.09	0.09	0.07	0.07	0.09	0.09	0.09	0.08
$\sigma_n$	0.11	0.10	0.06	0.08	0.09	0.09	0.10	0.08
%-T	100.00	97.52	76.58	82.37	98.90	98.35	103.58	88.15

Tabla D-23

Etileno desprendido en el punto máximo (24 horas) por los cotiledones, expresado en nl/hora/cotiledón.

R	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
1	0.32	0.39	0.39	0.36	0.34	0.45	0.23	0.31
2	0.37	0.42	0.30	0.19	0.33	0.26	0.35	0.13
3	0.32	0.17	0.34	0.20	0.15	0.44	0.39	0.22
4	0.35	0.23	0.11	0.22	0.24	0.32	0.31	0.22
5	0.27	0.15	0.14	0.05	0.25	0.20	0.18	0.17
6	0.15	0.20	0.09	0.07	0.21	0.09	0.31	0.08
7	0.34	0.31	0.09	0.10	0.31	0.16	0.27	0.25
8	0.25	0.33	0.08	0.12	0.32	0.15	0.25	0.31
9	0.38	0.17	0.06	0.16	0.35	0.04	0.23	0.29
10	0.16	0.26	0.17	0.30	0.06	0.35	0.22	0.29
11	0.13	0.05	0.07	0.45	0.05	0.26	0.32	0.28
12	0.20	0.29	0.19	0.18	0.20	0.17	0.19	0.12
$\bar{x}$	0.27	0.25	0.17	0.20	0.23	0.24	0.27	0.22
$\sigma_n$	0.08	0.10	0.10	0.11	0.09	0.12	0.06	0.07
%-T	100.00	91.59	62.76	73.82	86.21	89.33	99.45	82.47

Fig. D-7.- Etileno desprendido (nl/h/cotiledón) por los cotiledones durante las primeras 96 horas de germinación. ( I Error de la media).

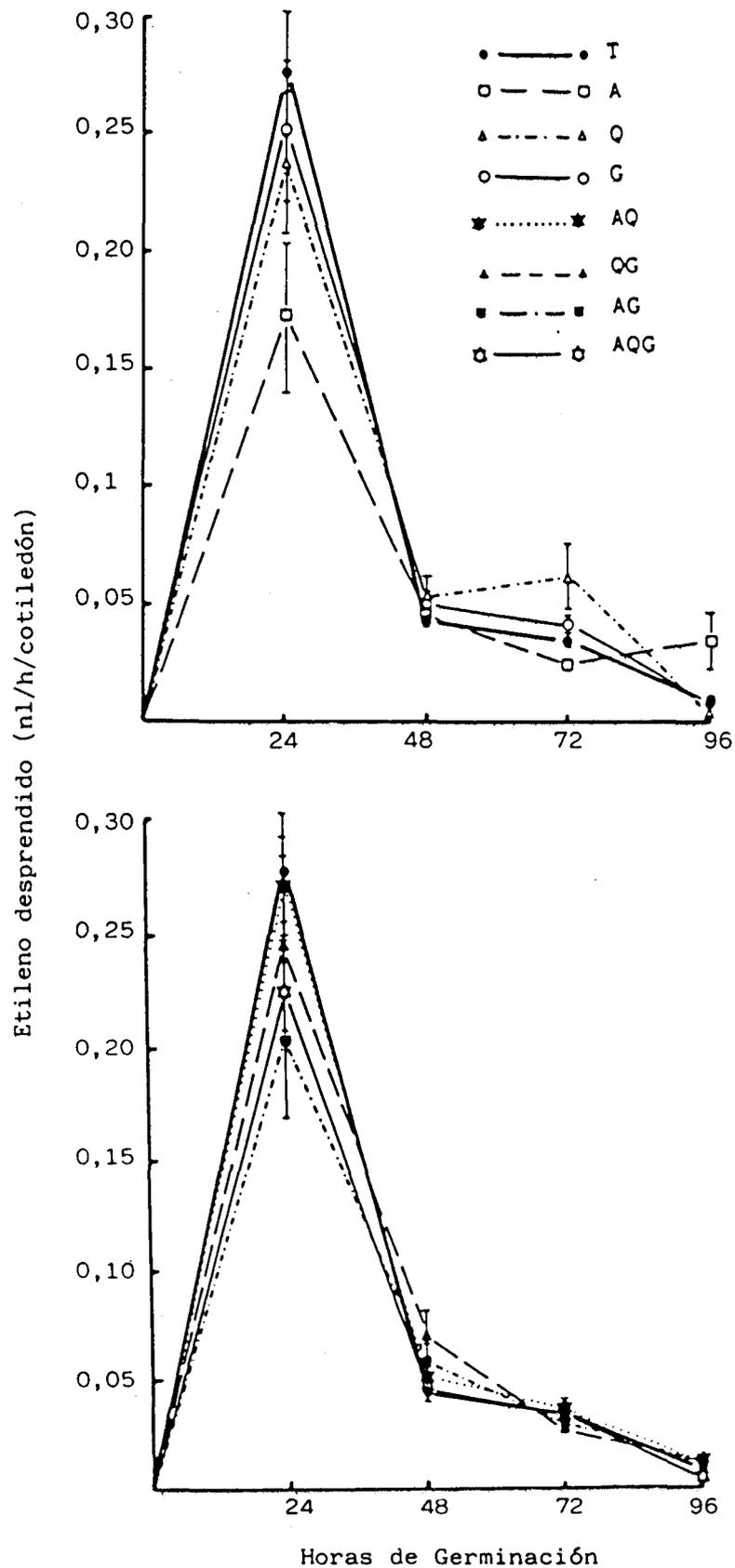


Tabla D-24

Análisis de varianza. Punto de máximo desprendimiento de etileno. Cotiledones.

	FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Repeticiones		11	0.265	0.024	2.76	0.05
Tratamientos		7	0.102	0.014	1.67	(NS)
G		1	0.001	0.001	0.16	(NS)
A		1	0.026	0.026	3.09	0.1
AG		1	0.0001	0.0001	0.001	(NS)
Q		1	0.009	0.009	1.12	(NS)
QG		1	0.003	0.003	0.35	(NS)
AQ		1	0.042	0.042	4.92	0.05
AQG		1	0.017	0.017	2.04	(NS)
Error		77	0.671	0.008		
Total		95				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.076	0.101	0.131

Tabla D-25

Diferencias entre tratamientos (%) y nivel de probabilidad. - Punto máximo de etileno desprendido. Cotiledones.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	-21.253 (NS)	-11.066 (NS)	31.391 (NS)	11.706 (NS)	-4.543 (NS)	-8.318 (NS)	-20.593 (NS)
AQ	-0.546 (NS)	8.578 (NS)	58.449 (0.05)	34.711 (0.1)	15.352 (NS)	11.332 (NS)	
QG	-11.941 (NS)	-2.537 (NS)	42.320 (0.1)	20.998 (NS)	3.610 (NS)		
Q	-15.983 (NS)	-6.239 (NS)	37.361 (0.1)	16.782 (NS)			
AG	-35.448 (0.1)	-24.068 (NS)	17.621 (NS)				
A	-59.316 (0.01)	-45.931 (0.05)					
G	-9.171 (NS)						

Tabla D-26

Etileno desprendido (acumulado), expresado en nl/cotiledón, - durante las primeras 96 horas de germinación por los cotiledones aislados. Cada valor es la media de las repeticiones que existan en dicho período de tiempo.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	6.40	5.91	4.06	4.67	5.56	5.71	6.36	5.24
48	8.32	7.58	5.40	5.37	7.95	7.43	7.98	6.42
72	8.99	8.58	7.21	6.22	8.71	9.03	9.33	6.58
96	10.37	10.74	10.76	8.26	10.00	11.47	10.32	7.84
$\bar{x}$	8.52	8.20	6.86	6.13	8.05	8.41	8.50	6.52
$\sigma_n$	1.42	1.74	2.51	1.34	1.61	2.12	1.48	0.91
%-T	100.00	96.31	80.51	72.00	94.55	98.73	99.79	76.55

Tabla D-27

Análisis de varianza. Evolución de etileno desprendido. Cotiledones.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	84.684	28.228	66.25	0.001
Tratamientos	7	26.926	3.846	9.02	0.001
G	1	3.545	3.545	8.32	0.01
A	1	13.392	13.392	31.43	0.001
AG	1	3.775	3.775	8.86	0.01
Q	1	1.569	1.569	3.68	0.1
QG	1	0.170	0.170	0.40	(NS)
AQ	1	2.617	2.617	6.14	0.05
AQG	1	1.853	1.853	4.35	0.05
Error	21	8.947	0.426		
Total	31				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.960	1.306	1.763
Fechas	0.678	0.923	1.246

Fig. D-8.- Etileno desprendido por los cotiledones expresado en forma acumulada en nl/cotiledón. (I Error de la media).

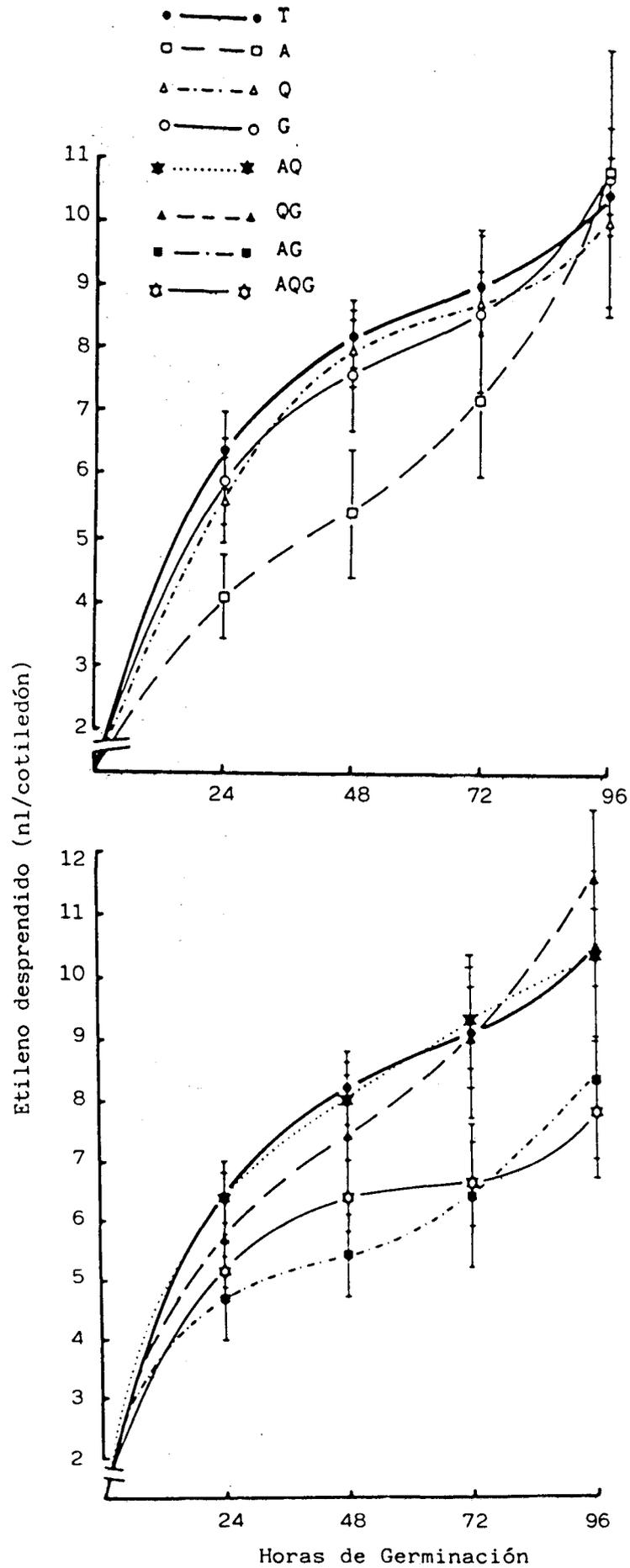


Tabla D-28

Diferencias entre los tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Etileno desprendido. Cotiledones.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	-30.630 (0.001)	-25.816 (0.01)	-5.177 (NS)	6.315 (NS)	-23.512 (0.01)	-28.978 (0.001)	-30.357 (0.001)
AQ	-0.208 (NS)	3.609 (NS)	23.940 (0.01)	38.590 (0.001)	5.541 (NS)	1.069 (NS)	
QG	-1.280 (NS)	2.513 (NS)	22.628 (0.01)	37.124 (0.001)	4.424 (NS)		
Q	-5.762 (NS)	-1.864 (NS)	17.432 (0.05)	31.313 (0.001)			
AG	-38.880 (0.001)	-33.762 (0.001)	-11.820 (NS)				
A	-24.199 (0.01)	-19.622 (0.01)					
G	-3.826 (NS)						

El etileno desprendido por los cotiledones presenta un máximo a las 24 horas (Fig. D-7; Tablas D-22 y D-23). Analizando este máximo (Tabla D-24) observamos que no existe variabilidad estadística entre los tratamientos, pero sí entre las repeticiones. Al estudiar el efecto de los tratamientos individualmente vemos que solo la interacción AIA-quinetina es estadísticamente significativa ( $p=0.05$ ).

Comparando los tratamientos en el punto máximo, por mínimas diferencias significativas (Tabla D-25), vemos que todos los tratamientos son inferiores al testigo y que solo el AIA presenta diferencias estadísticas frente a éste ( $p=0.01$ ), el resto de los tratamientos se comportan estadísticamente igual que el testigo.

Si analizamos la evolución del desprendimiento de etileno a lo largo del tiempo por los cotiledones (Fig. D-8; Tabla

D-26), vemos que existe variabilidad estadística (Tabla D-27) tanto entre las fechas de medida, como entre los tratamientos ( $p=0.001$ ). Al subdividir estos tratamientos comprobamos como los efectos principales  $GA_3$  y AIA actúan significativamente ( $p=0.01$  a  $p=0.001$ ) sobre el desprendimiento de etileno, existiendo además interacciones en los casos de AIA- $GA_3$  ( $p=0.01$ ), AIA-quinetina y AIA-quinetina- $GA_3$  ( $p=0.05$ ). No existe interacción estadística en el caso de quinetina- $GA_3$ .

El desprendimiento de etileno, durante las primeras 96 horas de germinación, es inferior en los cotiledones tratados que en el testigo (Tabla D-28), sin que existan diferencias con respecto a éste en los tratamientos AIA-quinetina, quinetina- $GA_3$ , quinetina y  $GA_3$  y con diferencias en los tratamientos AIA, AIA-quinetina- $GA_3$  y AIA- $GA_3$  de diversa índole ( $p=0.01$  a  $p=0.001$ ).

2. Etileno ligado. Este parámetro se midió en todos los materiales vegetales estudiados: semilla intacta, semilla sin testa, eje embrionario y cotiledones. Los tratamientos fueron los mismos que en el caso del etileno desprendido, pero las repeticiones eran tres en todas las fechas de medida.

Los resultados se encuentran en las Tablas D-29 a D-39 y en las Fig. D-9 a D-12.

Tabla D-29

Etileno ligado (nl/semilla) durante las primeras 96 horas de germinación. Semilla intacta. Cada valor es la media de tres - repeticiones.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	4.49	4.76	3.96	5.10	4.15	5.79	4.14	5.80
48	4.34	4.35	4.26	4.69	4.32	5.12	5.53	4.83
72	5.28	5.45	4.63	4.92	5.07	4.80	4.35	6.76
96	3.96	5.32	3.61	4.43	4.87	4.28	3.24	4.39
$\bar{x}$	4.52	4.97	4.12	4.78	4.60	5.00	4.31	5.44
$\sigma_n$	0.47	0.44	0.37	0.25	0.37	0.54	0.81	0.91
%-T	100.00	109.98	91.12	105.91	101.91	110.61	95.49	120.49

Tabla D-30

Análisis de varianza. Etileno ligado. Semilla intacta.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	3.243	1.081	3.20	0.05
Tratamientos	7	5.006	0.715	2.12	0.1
G	1	3.494	3.494	10.36	0.01
A	1	0.091	0.091	0.27	(NS)
AG	1	0.455	0.455	1.35	(NS)
Q	1	0.472	0.472	1.40	(NS)
QG	1	0.081	0.081	0.24	(NS)
AQ	1	0.275	0.275	0.81	(NS)
AQG	1	0.135	0.135	0.40	(NS)
Error	21	7.081	0.337		
Total	31				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.854	1.162	1.568
Fechas	0.603	0.821	1.109

Fig. D-9.- Etileno ligado por la semilla intacta durante las primeras 96 horas, expresado en nl/semilla. (I Error de la media).

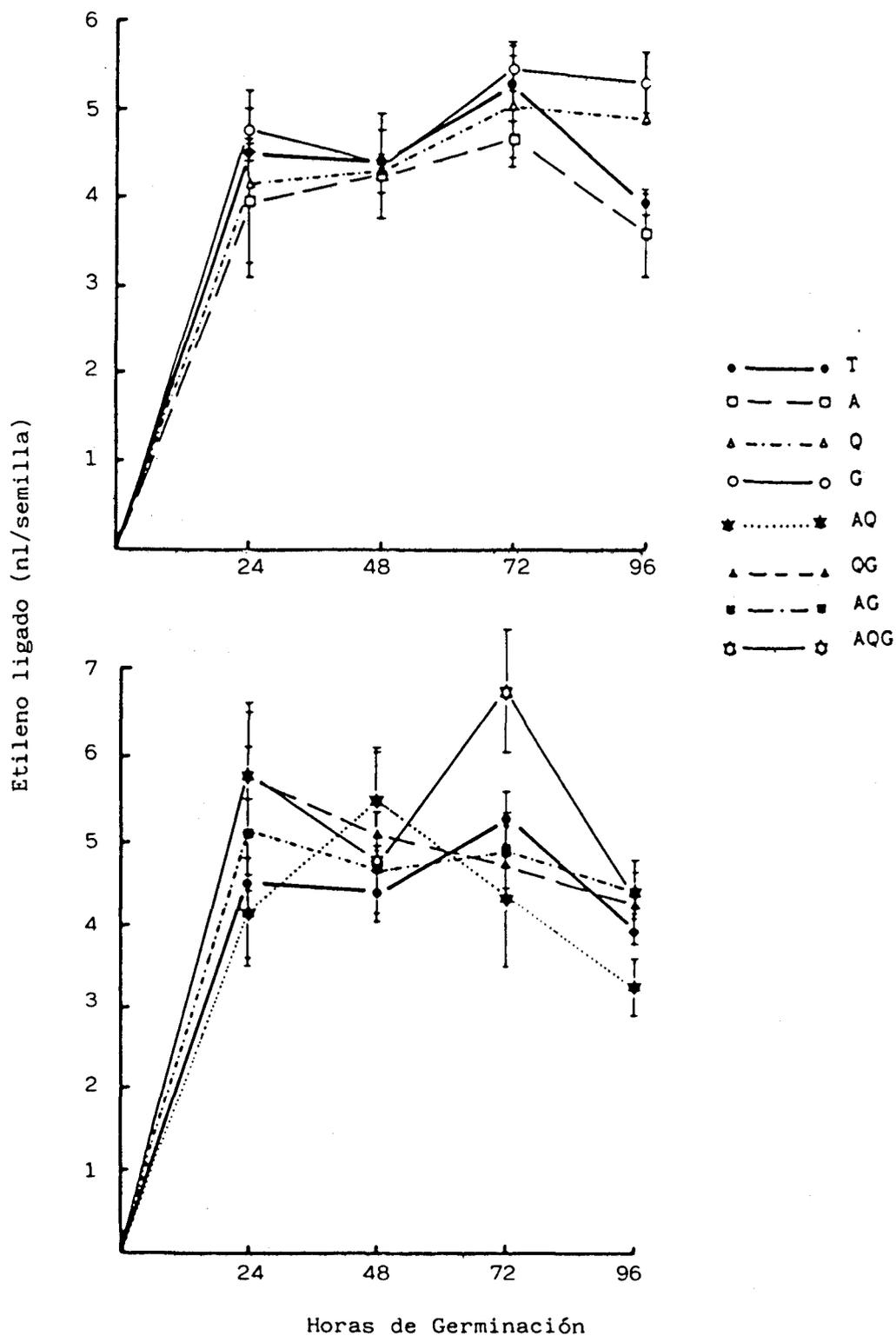


Tabla D-31

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Etileno ligado. Semilla intacta.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	20.496 (0.05)	9.562 (NS)	32.231 (0.01)	13.771 (NS)	18.234 (0.1)	8.932 (NS)	26.182 (0.05)
AQ	-4.718 (NS)	-15.169 (NS)	4.793 (NS)	-10.908 (NS)	-6.722 (NS)	-15.835 (NS)	
QG	10.615 (NS)	0.578 (NS)	21.388 (0.05)	4.442 (NS)	8.539 (NS)		
Q	1.913 (NS)	-7.915 (NS)	11.837 (NS)	-3.922 (NS)			
AG	5.910 (NS)	-3.842 (NS)	16.224 (NS)				
A	-9.738 (NS)	-20.690 (0.1)					
G	9.980 (NS)						

Al estudiar el etileno ligado durante las primeras 96 horas de germinación en la semilla intacta (Tabla D-29; Fig. D-9) observamos que existe variabilidad estadística (Tabla D-30) entre las fechas de medida ( $p=0.05$ ), mientras que entre los tratamientos solo existe una notable variabilidad, que sólo es significativa en el caso de  $GA_3$ .

El tratamiento más eficaz (Tabla D-31) es AIA-quinetina- $-GA_3$  con un 20% de incremento sobre el testigo ( $p=0.05$ ). El resto de los tratamientos no presenta diferencias significativas con respecto al testigo.

Tabla D-32

Etileno ligado durante las primeras 96 horas (nl/semilla) en la semilla sin testa. Cada valor es la media de tres repeticiones.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	6.11	8.54	7.38	7.86	7.13	7.50	9.13	8.06
48	7.21	7.20	8.07	7.91	7.17	6.71	7.83	6.91
72	5.82	5.90	6.13	6.28	6.84	7.00	5.87	7.62
96	7.16	5.73	5.78	6.14	6.80	7.17	6.53	5.91
$\bar{x}$	6.57	6.84	6.84	7.04	6.98	7.09	7.34	7.13
$\sigma_n$	0.61	1.13	0.92	0.83	0.16	0.28	1.25	0.81
%-T	100.00	104.06	104.04	107.17	106.23	107.92	111.67	108.40

Tabla D-33

Análisis de varianza. Etileno ligado. Semilla sin testa.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	10.610	3.536	6.38	0.01
Tratamientos	7	1.495	0.213	0.38	(NS)
G	1	0.067	0.067	0.12	(NS)
A	1	0.369	0.369	0.66	(NS)
AG	1	0.075	0.075	0.13	(NS)
Q	1	0.777	0.777	1.40	(NS)
QG	1	0.166	0.166	0.30	(NS)
AQ	1	0.003	0.003	0.001	(NS)
AQG	1	0.034	0.034	0.06	(NS)
Error	21	11.626	0.553		
Total	31				

Al estudiar el etileno ligado por la semilla sin testa - (Tabla D-32; Fig. D-10) vemos como no existe variabilidad estadística entre los tratamientos (Tabla D-33), pero si entre las fechas de medida ( $p=0.01$ ).

Fig. D-10.- Etileno ligado por la semilla sin testa, expresado en nl/semilla. (I Error de la media).

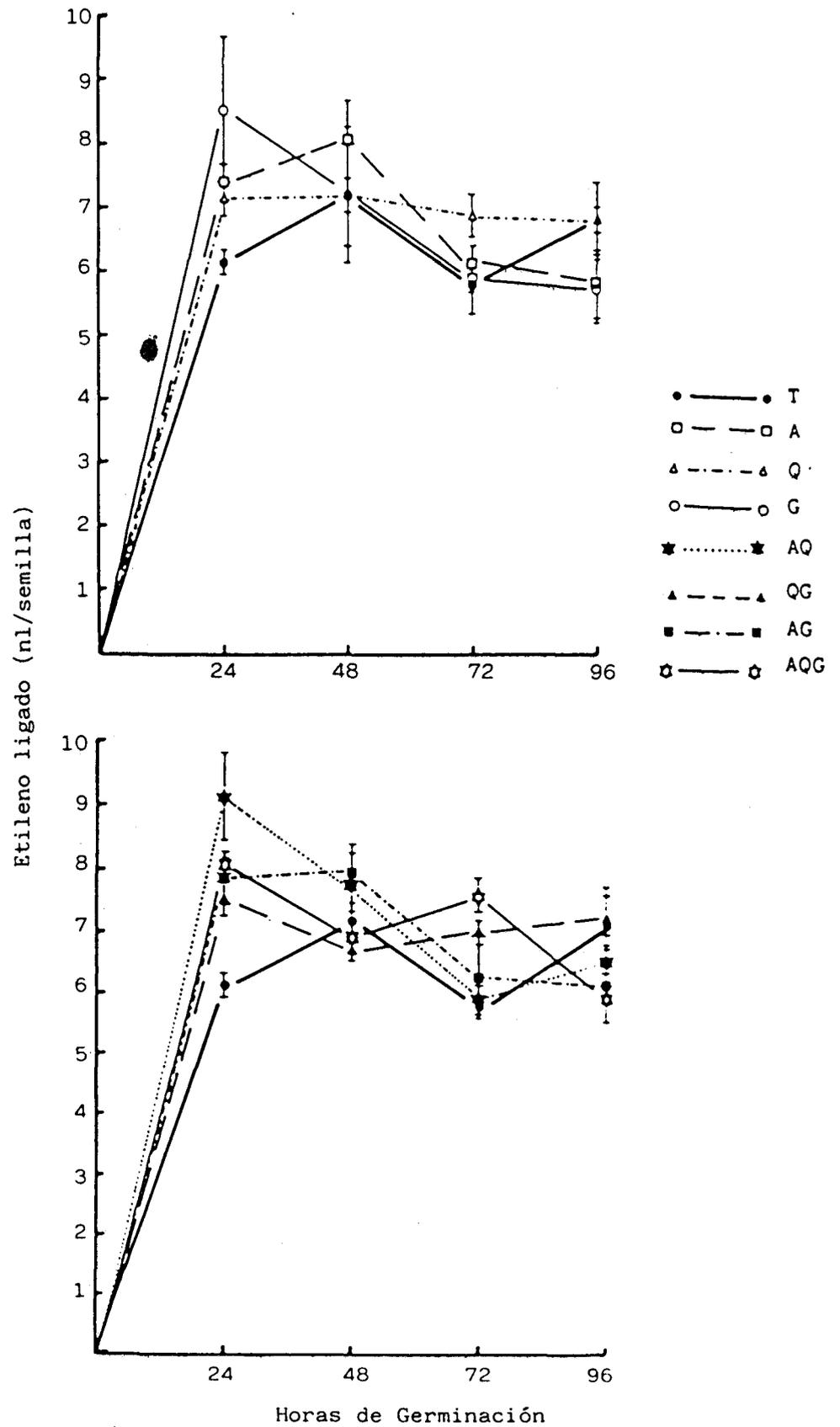


Tabla D-34

Etileno ligado en ejes embrionarios aislados durante las primeras 96 horas de germinación, expresado en nl/eje. Cada valor es la media de tres repeticiones.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	1.60	2.47	5.29	6.70	9.29	4.00	5.49	5.43
48	1.05	1.38	0.70	2.02	2.01	3.10	2.22	6.58
72	0.88	5.92	1.87	7.55	1.82	8.98	6.03	7.05
96	1.15	5.07	1.78	8.74	1.87	7.36	4.99	7.61
$\bar{x}$	1.17	3.71	2.41	6.25	3.75	5.86	4.68	6.66
$\sigma_n$	0.26	1.84	1.72	2.54	3.20	2.40	1.46	0.80
%-T	100.00	317.01	205.97	533.51	320.21	500.08	399.95	568.78

Tabla D-35

Análisis de varianza. Etileno ligado. Eje embrionario.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	39.981	13.327	3.21	0.05
Tratamientos	7	104.007	14.858	3.57	0.05
G	1	54.847	54.847	13.21	0.01
A	1	15.243	15.243	3.67	0.1
AG	1	0.680	0.680	0.16	(NS)
Q	1	27.502	27.502	6.62	0.05
QG	1	2.636	2.636	0.63	(NS)
AQ	1	2.081	2.081	0.50	(NS)
AQG	1	1.016	1.016	0.24	(NS)
Error	21	87.164	4.150		
Total	31				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	2.996	4.076	5.503
Fechas	2.118	2.882	3.891

Fig. D-11.- Etileno ligado por el eje embrionario, expresado en nl/eje. ( [ Error de la media).

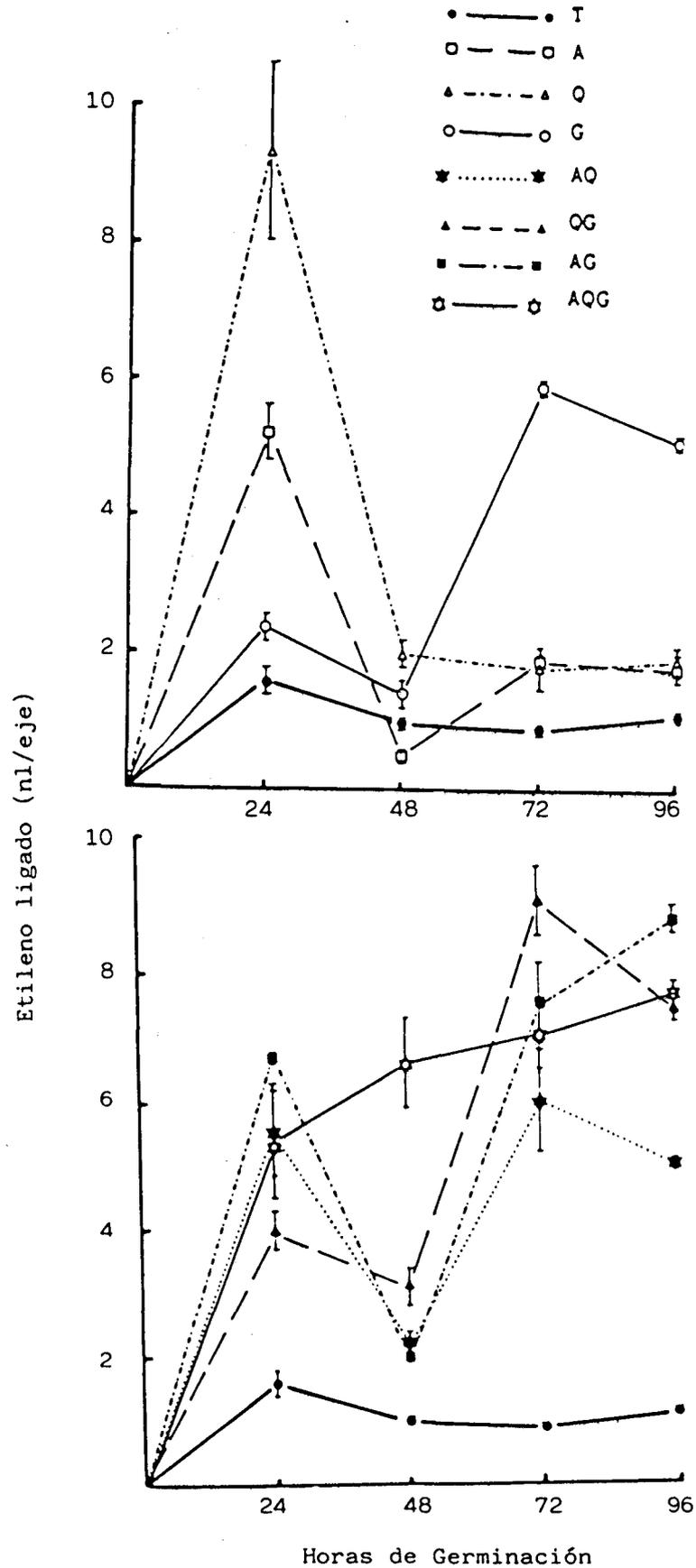


Tabla D-36

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Etileno ligado. Eje embrionario.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	468.784 (0.01)	79.418 (0.1)	176.149 (0.01)	6.610 (NS)	77.626 (0.1)	13.737 (NS)	42.211 (NS)
AQ	299.957 (0.05)	26.163 (NS)	94.182 (NS)	-33.393 (NS)	24.903 (NS)	-25.034 (NS)	
QG	400.085 (0.01)	57.748 (NS)	142.795 (0.05)	-6.685 (NS)	56.172 (NS)		
Q	220.213 (0.1)	1.008 (NS)	55.465 (NS)	-66.613 (0.1)			
AG	433.518 (0.01)	68.294 (0.1)	159.026 (0.05)				
A	105.970 (NS)	-53.913 (NS)					
G	217.014 (0.1)						

El etileno ligado por los ejes embrionarios (Tabla D-34; Fig. D-11) presenta variabilidad estadística (Tabla D-35) tanto entre las fechas de medida, como entre los tratamientos ( $p=0.05$ ). Del contraste ortogonal se deduce que los efectos principales giberelina y quinetina actúan significativamente sobre el etileno ligado ( $p=0.05$  a  $p=0.01$ ) y que no existen interacciones significativas en ninguno de los casos.

Los tratamientos que causan mayor cantidad de etileno ligado en el eje embrionario (Tabla D-36) son AIA-quinetina- $GA_3$ , AIA- $GA_3$ , quinetina- $GA_3$  y AIA-quinetina que presentan un incremento con respecto al testigo de 469 a 300% ( $p=0.01$  a  $p=0.05$ ), sin diferencias estadísticas entre ellos. Le siguen quinetina y  $GA_3$  que presentan notables diferencias con el testigo. El AIA no presenta diferencias estadísticas con respecto al testigo.

Tabla D-37

Etileno ligado por los cotiledones (nl/cotiledón) durante las primeras 96 horas de germinación. Cada valor es la media de tres repeticiones.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	4.17	4.18	4.48	4.73	3.24	4.34	4.42	3.63
48	3.10	3.12	2.99	3.58	3.58	2.98	3.99	2.63
72	2.74	3.22	3.05	3.88	2.33	3.85	6.22	3.14
96	1.87	2.48	2.64	2.62	2.53	2.15	2.54	2.07
$\bar{x}$	2.97	3.25	3.26	3.70	2.92	3.33	4.29	2.87
$\sigma_n$	0.82	0.60	0.71	0.75	0.51	0.84	1.31	0.58
%-T	100.00	109.46	109.92	124.59	98.28	112.05	144.51	96.58

Tabla D-38

Análisis de varianza. Etileno ligado. Cotiledones.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	13.372	4.457	12.83	0.001
Tratamientos	7	6.355	0.907	2.61	0.05
G	1	0.044	0.044	0.12	(NS)
A	1	1.378	1.378	3.96	0.1
AG	1	1.411	1.411	4.06	0.1
Q	1	0.024	0.024	0.07	(NS)
QG	1	1.502	1.502	4.32	0.05
AQ	1	0.014	0.014	0.04	(NS)
AQG	1	1.979	1.979	5.69	0.05
Error	21	7.295	7.295		
Total	31				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	0.866	1.179	1.592
Fechas	0.612	0.834	1.125

Fig. D-12.- Etileno ligado por los cotiledones, expresado en nl/cotiledón. (I Error de la media).

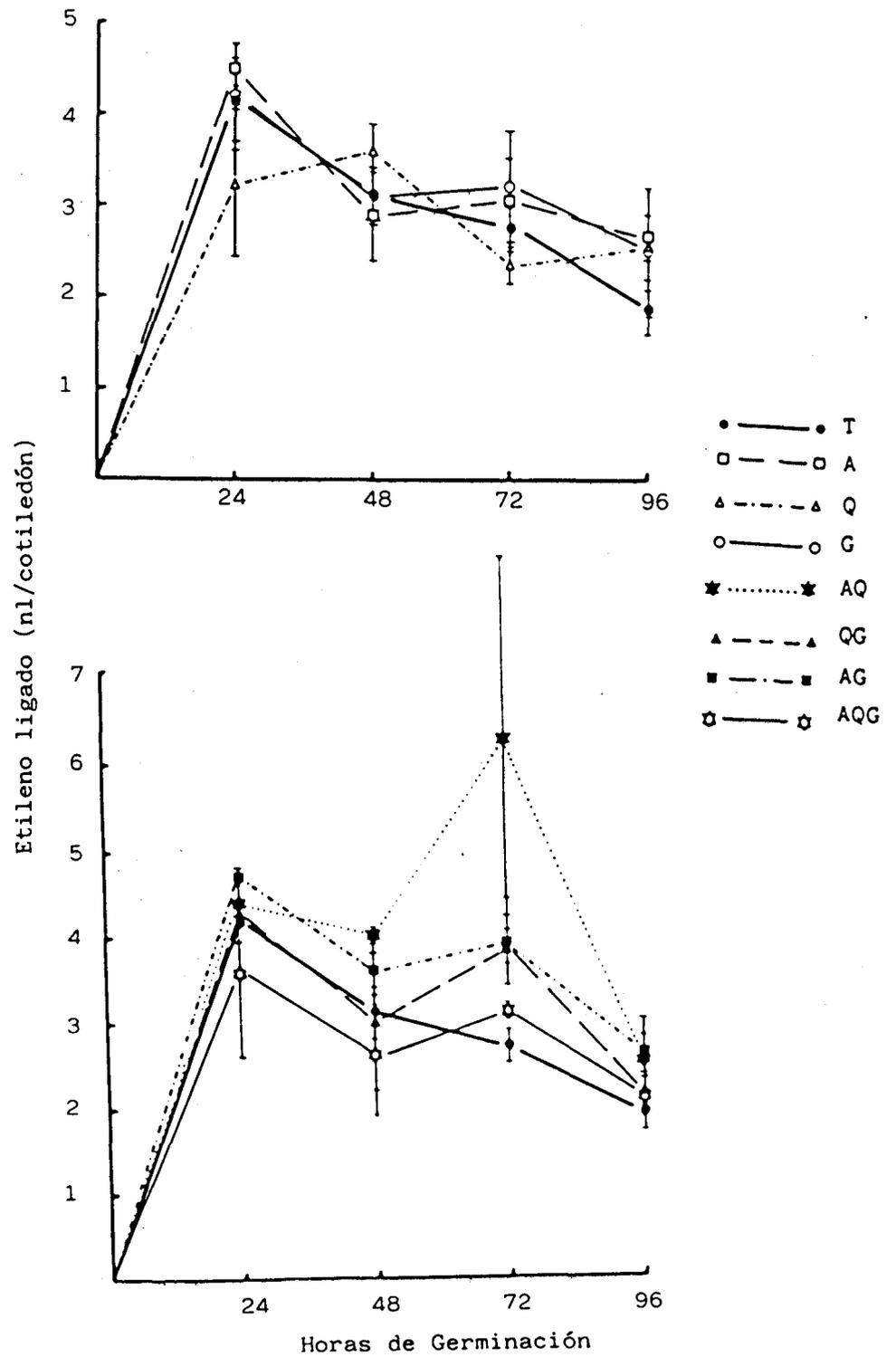


Tabla D-39

Diferencias entre tratamientos, expresadas en % y nivel de -- probabilidad. Etileno ligado. Cotiledones.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	-3.532 (NS)	-13.331 (NS)	-13.809 (NS)	-28.994 (0.1)	-1.757 (NS)	-16.011 (NS)	-49.617 (0.01)
AQ	44.511 (0.01)	32.017 (0.05)	31.462 (0.05)	15.987 (NS)	47.032 (0.01)	28.967 (0.05)	
QG	12.052 (NS)	2.364 (NS)	1.934 (NS)	-11.191 (NS)	14.007 (NS)		
Q	-1.744 (NS)	-11.373 (NS)	-11.843 (NS)	-26.765 (0.1)			
AG	24.592 (0.1)	13.820 (NS)	13.341 (NS)				
A	9.926 (NS)	0.422 (NS)					
G	9.463 (NS)						

El etileno ligado por los cotiledones (Tabla D-37; Fig. D-12) presenta variabilidad estadística (Tabla D-38) tanto entre las fechas de medida ( $p=0.001$ ) como entre los tratamientos ( $p=0.05$ ). Al subdividir los tratamientos observamos que solo tienen significación las interacciones quinetina- $GA_3$  y AIA-quinetina- $GA_3$  ( $p=0.05$ ). Los restantes efectos carecen de significación estadística.

El tratamiento que causa mayor cantidad de etileno ligado es AIA-quinetina con 44.5% de incremento con respecto al testigo ( $p=0.01$ ). AIA- $GA_3$  presenta marcadas diferencias con respecto al testigo, el resto de los tratamientos no difieren de éste significativamente.

3. Porcentaje de germinación. Se midió el % de germinación en las semillas intactas a las 24, 48, 72 y 96 horas, en las repeticiones existentes en cada tiempo (12, 9, 6 y 3, respectivamente). Los resultados se encuentran en las Tablas D-40 a D-42 y Fig. D-13.

Tabla D-40

Porcentaje de germinación durante las primeras 96 horas de --  
Germinación. Cada valor es la media de las repeticiones exist-  
tentes en ese período de tiempo.

Medida	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
24	15.00	18.30	17.50	15.80	20.00	19.20	20.80	21.70
48	38.90	61.10	60.00	55.60	67.80	64.40	71.10	73.30
72	56.70	76.70	76.70	70.00	83.30	80.00	85.00	86.70
96	70.00	83.30	86.70	76.70	93.30	86.70	93.30	96.70
$\bar{x}$	45.15	59.85	60.22	54.52	66.10	62.57	67.55	69.60
$\sigma_n$	20.60	25.30	26.44	23.62	28.12	26.31	28.13	28.87
%-T	100.00	132.55	133.38	120.76	146.40	138.59	149.61	154.15

Tabla D-41

Análisis de varianza. Porcentaje de germinación.

FV	GL	SC	MC	Fc	NP
Fechas	3	21378.288	7126.096	431.10	0.001
Tratamientos	7	1758.757	251.251	15.19	0.001
G	1	28.312	28.312	1.71	(NS)
A	1	166.075	166.075	10.04	0.01
AG	1	109.890	109.890	6.64	0.05
Q	1	1061.452	1061.452	64.21	0.001
QG	1	54.862	54.862	3.31	0.1
AQ	1	0.812	0.812	0.04	(NS)
AQG	1	337.350	337.350	20.40	0.001
Error	21	347.123	16.529		
Total	31				

Mínimas diferencias significativas

V	0.05	0.01	0.001
Tratamientos	5.979	8.135	10.981
Fechas	4.228	5.752	7.765

Fig. D-13.- Porcentaje de germinación durante las primeras 96 horas.  
(I Error de la media).

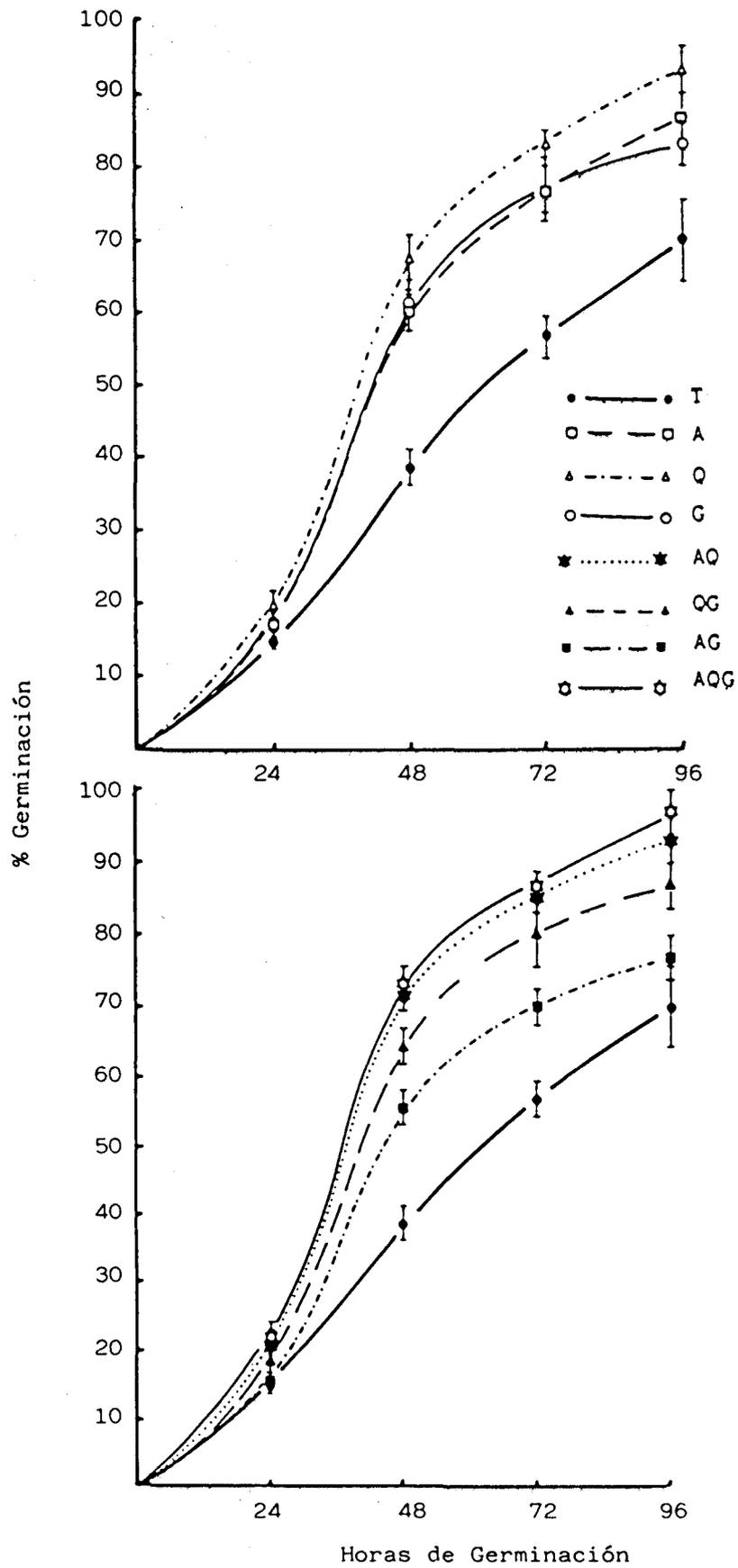


Tabla D-42

Diferencias entre los tratamientos, expresadas en % y nivel de probabilidad. Porcentaje de germinación.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	54.152 (0.001)	16.290 (0.01)	15.566 (0.01)	27.647 (0.001)	5.295 (NS)	11.226 (0.05)	3.034 (NS)
AQ	49.612 (0.001)	12.865 (0.05)	12.162 (0.05)	23.888 (0.001)	2.193 (NS)	7.950 (0.1)	
QG	38.593 (0.001)	4.553 (NS)	3.902 (NS)	14.763 (0.05)	-5.633 (NS)		
Q	46.400 (0.001)	10.442 (0.05)	9.755 (0.1)	21.228 (0.001)			
AG	20.764 (0.01)	-9.766 (0.1)	-10.453 (0.1)				
A	33.388 (0.001)	0.626 (NS)					
G	32.558 (0.001)						

Al estudiar el % de germinación (Tabla D-40; Fig. D-13) observamos que existe variabilidad estadística (Tabla D-41) - tanto entre las fechas de medida, como entre los tratamientos ( $p=0.001$ ). Al estudiar el efecto de los tratamientos individualmente vemos que los efectos principales AIA y quinetina actúan significativamente sobre el % de germinación ( $p=0.01$  a  $p=0.001$ ); también observamos que existen interacciones estadísticas en el caso de AIA- $GA_3$  y AIA-quinetina- $GA_3$  ( $p=0.05$  a  $0.001$ ). Los restantes efectos no son estadísticamente significativos.

El tratamiento que origina el mayor % de germinación es AIA-quinetina- $GA_3$  con 54% de incremento con respecto al testigo ( $p=0.001$ ), seguidos de AIA-quinetina y quinetina con incrementos frente al testigo de 49% y 46%, respectivamente y sin diferencias entre ellos, ni frente al triple. Los tratamientos quinetina- $GA_3$ , AIA y  $GA_3$  presentan porcentajes de germinación superiores al testigo en un 32-38% ( $p=0.001$ ), sin que e-

existan diferencias entre ellos. El tratamiento menos eficaz es AIA-GA<sub>3</sub> que presenta solo un 20% de incremento frente al testigo ( $p=0.01$ ), sin diferencias frente a AIA ni GA<sub>3</sub>, pero sí frente a quinetina-GA<sub>3</sub>.

4. Longitud de la radícula. Una vez medido el etileno ligado en cada uno de los tratamientos, se procedió a medir la longitud de la radícula en aquellas semillas que habían germinado, haciendo la media entre todas ellas, para cada tratamiento. Los resultados se encuentran en las Tablas D-43 a D-48 y Fig. D-14 a D-16.

Tabla D-43

Longitud final de la radícula en la semilla intacta después de 96 horas de germinación.

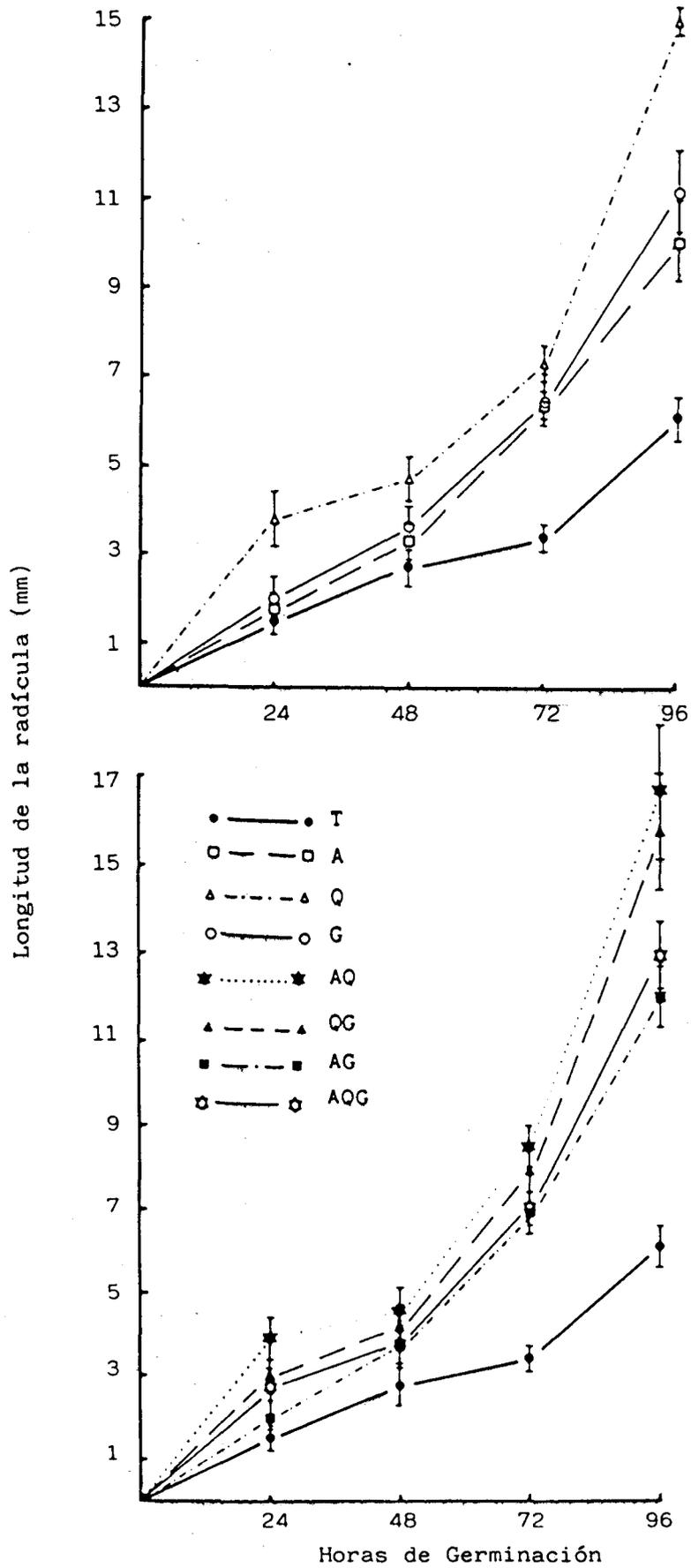
	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
$\bar{x}$	6.1	11.2	10.1	12.0	15.0	15.7	16.6	12.9
$\sigma_n$	2.3	4.5	4.9	3.7	8.4	6.5	8.0	4.6
N	21	25	26	23	28	26	28	29

Tabla D-44

Diferencias entre los tratamientos ("t" Student) en la longitud final de la radícula, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	111.475 (0.001)	15.179 (NS)	27.723 (0.05)	7.500 (NS)	-16.279 (NS)	-21.705 (0.1)	-28.682 (0.05)
AQ	172.148 (0.001)	48.223 (0.01)	64.356 (0.001)	38.342 (0.05)	10.673 (NS)	5.739 (NS)	
QG	157.393 (0.001)	40.179 (0.01)	55.446 (0.001)	38.830 (0.05)	4.670 (NS)		
Q	145.918 (0.001)	33.938 (0.05)	48.515 (0.05)	25.000 (NS)			
AG	96.738 (0.001)	7.152 (NS)	18.812 (NS)				
A	65.590 (0.01)	-10.881 (NS)					
G	83.606 (0.001)						

Fig. D-14.- Longitud de la radícula, durante las primeras 96 horas de germinación de semilla intacta. ( [ Error de la media).



Del estudio de la longitud final de la radícula en la semilla intacta (Tabla D-44) se deduce que los tratamientos que producen mayor tamaño son AIA-quinetina, quinetina-GA<sub>3</sub> y quinetina, 172%, 157% y 145% superiores al testigo, respectivamente ( $p=0.001$ ), sin diferencias entre ellos. Le siguen en efectividad los tratamientos AIA-quinetina-GA<sub>3</sub>, AIA-GA<sub>3</sub> y GA<sub>3</sub>, con incrementos respectivos de 111%, 97% y 84% frente al testigo ( $p=0.001$ ), sin diferir entre ellos. El tratamiento que causa la menor longitud de la radícula es el AIA, solo un 65% superior al testigo ( $p=0.01$ ), sin diferencias frente a GA<sub>3</sub> ni AIA-GA<sub>3</sub>, pero con diferencias frente al resto, de diversa índole.

Tabla D-45

Longitud final de la radícula en la semilla sin testa, después de 96 horas de germinación.

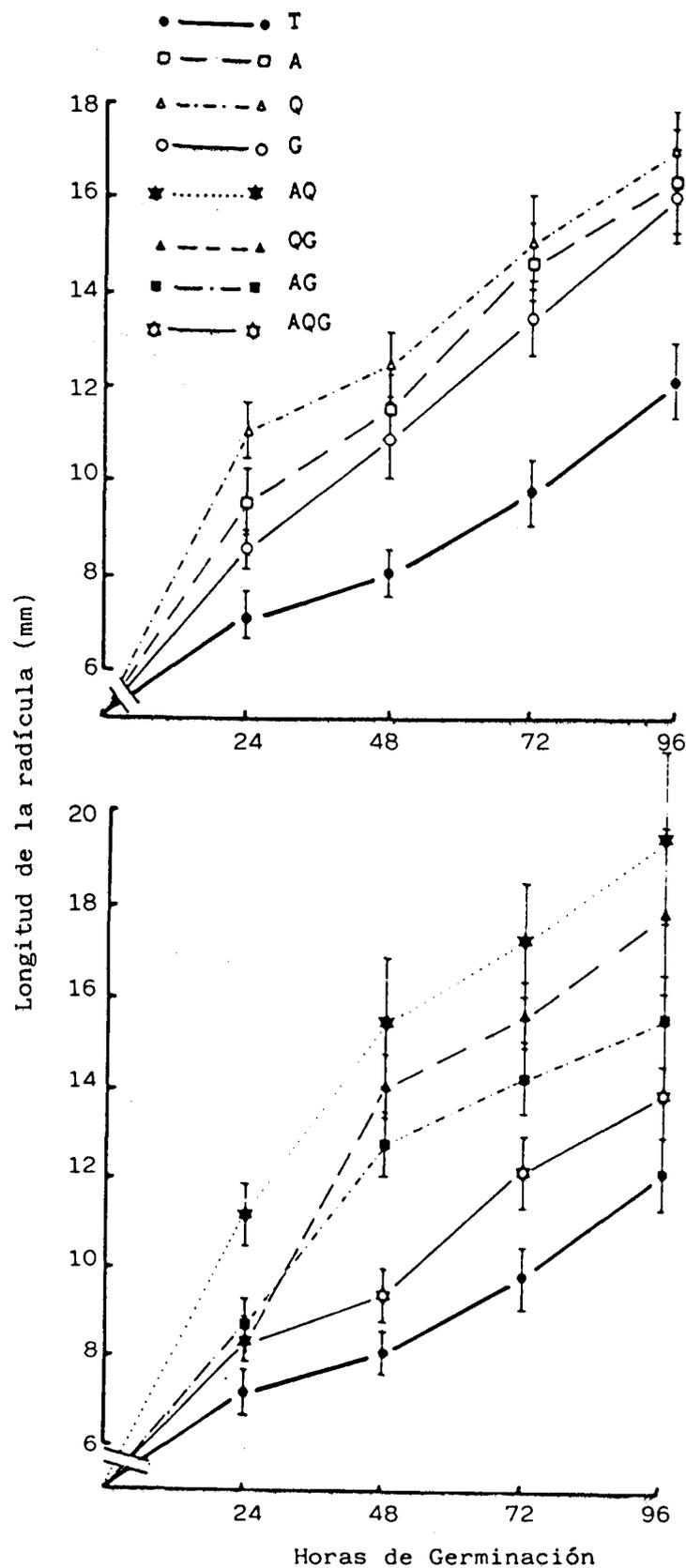
	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
$\bar{x}$	12.2	16.1	16.4	15.6	17.1	17.9	19.5	14.0
$\sigma_n$	4.5	5.3	6.3	5.6	4.3	9.8	10.0	9.2
N	30	30	30	30	30	30	30	30

Tabla D-46

Diferencias entre los tratamientos ("t" Student) en la longitud final de la radícula, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	14.794 (NS)	-15.508 (NS)	-17.634 (NS)	-11.448 (NS)	-22.431 (0.1)	-28.396 (NS)	-39.371 (0.05)
AQ	59.998 (0.001)	20.666 (NS)	18.484 (NS)	25.053 (0.1)	13.842 (NS)	8.554 (NS)	
QG	47.399 (0.01)	11.163 (NS)	9.154 (NS)	15.205 (NS)	4.877 (NS)		
Q	40.552 (0.001)	6.000 (NS)	4.084 (NS)	9.854 (NS)			
AG	27.944 (0.05)	-3.636 (NS)	-5.544 (NS)				
A	35.046 (0.01)	1.841 (NS)					
G	32.605 (0.01)						

Fig. D-15.- Longitud de la radícula de la semilla sin testa, durante las primeras 96 horas de germinación. (I Error de la media).



En la longitud final de la radícula de la semilla sin - testa observamos (Tabla D-46) que los tratamientos AIA-Quinetina, Quinetina-GA<sub>3</sub>, Quinetina, AIA, GA<sub>3</sub> y AIA-GA<sub>3</sub> a pesar de presentar incrementos en la longitud final de la radícula con respecto al testigo, que van de 32% a 60%, significativos ( $p=0.05$  a  $p=0.001$ ), no presentan diferencias estadísticas entre ellos. El tratamiento AIA-quinetina-GA<sub>3</sub> no difiere significativamente del testigo.

Tabla D-47

Longitud final de la radícula del eje embrionario, después de 96 horas de germinación.

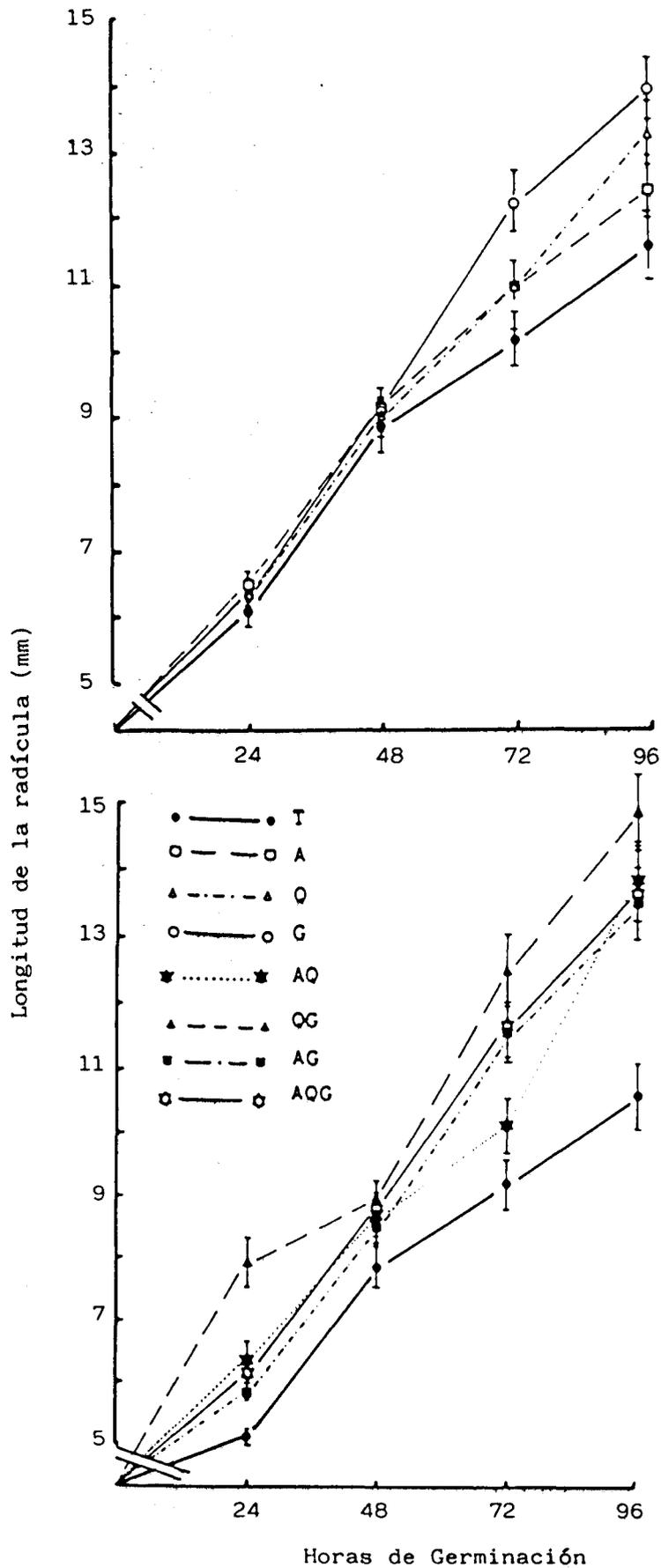
	T	G	A	AG	Q	QG	AQ	AQG
$\bar{x}$	11.6	13.9	12.5	14.6	13.3	15.9	14.9	14.8
$\sigma_n$	2.7	2.5	2.6	3.1	2.5	2.9	3.2	3.2
N	30	30	30	30	30	30	30	30

Tabla D-48

Diferencias entre los tratamientos ("t" Student) en la longitud final de la radícula, expresadas en % y nivel de probabilidad.

	T	G	A	AG	Q	QG	AQ
AQG	27.517 (0.001)	6.459 (NS)	18.986 (0.01)	1.832 (NS)	11.811 (0.05)	-7.416 (NS)	0.444 (NS)
AQ	28.084 (0.001)	6.940 (NS)	19.516 (0.01)	2.293 (NS)	12.316 (0.05)	-6.933 (NS)	
QG	36.972 (0.001)	14.354 (0.01)	27.809 (0.001)	9.384 (0.1)	20.103 (0.001)		
Q	14.046 (0.05)	-5.020 (NS)	6.417 (NS)	-9.791 (0.1)			
AG	25.221 (0.001)	4.550 (NS)	16.844 (0.01)				
A	7.169 (NS)	-11.759 (0.05)					
G	19.771 (0.01)						

Fig. D-16.- Longitud de la radícula del eje embrionario aislado, durante las primeras 96 horas de germinación. ( | Error de la media).



En el eje embrionario observamos una longitud final de la radícula (Tabla D-48) que es mayor con los tratamientos siguientes: quinetina-GA<sub>3</sub>, AIA-quinetina, AIA-quinetina-GA<sub>3</sub> y AIA-GA<sub>3</sub>, presentando un incremento frente al testigo de 25% a 37% (p=0.001), sin diferir significativamente entre ellos. Le siguen los tratamientos GA<sub>3</sub> (p=0.01) y quinetina (p=0.05) sin diferencias entre ellos; el AIA no difiere estadísticamente del testigo, tampoco de GA<sub>3</sub>, ni de quinetina.

Las auxinas estimulan la producción de etileno en numerosos tejidos y el grado de estimulación depende de la concentración administrada exógenamente (KANG et al., 1971; SAKAI e IMASEKI, 1971). Se ha visto que la producción de etileno, inducida por auxinas, se mantiene por una síntesis continua de proteínas y RNA (SAKAI e IMASEKI, 1971; LIEBERMAN y KUNISHI, 1975) y se sabe que la enzima que cataliza la síntesis de etileno desde ACC, no es inducible sino constitutiva, por lo que el único paso de la síntesis de etileno que podría regular el AIA es el catalizado por la ACC-sintasa.

Se ha observado que paralelamente al incremento en la producción de etileno inducida por auxinas, hay un incremento en el contenido endógeno de ACC, precursor inmediato del etileno (JONES y KENDE, 1979; YOSHII et al., 1980; YOSHII e IMASEKI, 1981; YU y YANG, 1979) y un incremento en la actividad ACC-sintasa (JONES y KENDE, 1979; YU y YANG, 1979) lo que conduciría al aumento de ACC. La síntesis y acumulación de ACC depende de la concentración de AIA y el contenido de ACC en el tejido regula primeramente la velocidad de producción de etileno. El control de la concentración de ACC-sintasa parece estar acomplejado por un equilibrio dinámico entre la rápida síntesis y la inactivación del enzima. El sistema de inactivación del enzima es un mecanismo importante para la regulación de la biosíntesis de etileno y los mecanismos que controlen la formación e inactivación de ACC-sintasa regularan la producción de etileno en los tejidos vegetales (KENDE y BOLLER, 1981).

Se ha indicado, por otra parte, que el etileno actúa co

mo un autoinhibidor de su propia producción (ZERONI et al., 1976) mediante un control "feed-back" negativo (SALVEIT y DILLEY, 1978) y estos fenómenos pueden ser causados por la re-  
presión de la síntesis de ACC por el etileno (RIDV y YANG, 1981).

Las auxinas pueden estimular la división y elongación celular de las células del eje embrionario en crecimiento y parece posible que cuando el AIA estimula la germinación, se debe a la activación de la producción de etileno. Nuestros resultados indican que el AIA no estimula de forma significativa el desprendimiento de etileno ni su compartimentación en semillas intactas, ni en semillas sin testas, mientras que aumentaba el crecimiento de su radícula significativamente, así como el % de germinación. En los ejes aislados, no presenta efecto significativo sobre el crecimiento de la radícula, en cambio si estimulaba el desprendimiento de etileno, por lo que el AIA no podía tener su efecto sobre la germinación a través de la síntesis de etileno.

El ABA inhibe moderadamente la producción de etileno inducida por AIA, y esta inhibición podría deberse al aumento de la conversión de AIA en AIA<sub>sp</sub> y disminución del nivel de AIA libre (LAU y YANG, 1973; CHANG y JACOBS, 1973). El etileno interfiere con el ABA para superar su acción inhibidora actuando como un estimulante primario.

Las citoquininas estimulan significativamente la producción de etileno, tanto endógena como inducida por auxinas (FUCHS y LIEBERMAN, 1968; IMASEKI et al., 1975; LAU y YANG, 1973; WRIGHT, 1980). BA regula la síntesis de ACC interactuando con AIA, teniendo solo poco efecto sobre la formación de etileno desde ACC, cuando su velocidad era relativamente alta, en estas condiciones el BA no puede tener un papel principal en la regulación de la síntesis de etileno (YOSHII e IMASEKI, 1981). Sin embargo, en ausencia de AIA, cuando los tejidos producen cantidades menores de etileno, BA promovía significativamente la producción del gas (FUCHS y LIEBERMAN, 1968; IMASEKI et al., 1975), mientras que el contenido en ACC

no se afectaba mucho. Esto puede indicar que BA no solo interacciona con AIA para aumentar la formación de ACC, sino también que estimula la biosíntesis de etileno en alguna extensión por otro mecanismo. BA puede incrementar la disponibilidad de ACC al sitio de síntesis de dicho gas (YOSHII e IMASEKI, 1981).

La acción de las citoquininas aumentando la producción de etileno inducida por auxinas es independiente de la acción auxínica, pero capacitan a los tejidos para responder más sensiblemente a las auxinas (IMASEKI et al., 1975). BA regula la producción de etileno controlando los niveles endógenos de la actividad ACC-sintasa (YOSHII e IMASEKI, 1982).

La quinetina se ha demostrado que actúa sinérgicamente con las auxinas para estimular la producción de etileno (BURG y BURG, 1968; FUCHS y LIEBERMAN, 1968; GERTMAN y FUCHS, 1972; LAU y YANG, 1973; LAU y YUNG, 1974) por suprimir el sistema de conjugación de las auxinas (LAU et al., 1977) y aumentar la absorción de AIA, manteniendo de esta forma un nivel más alto de AIA libre que estimulaba la producción de etileno (LAU et al., 1977). La explicación más probable es que la quinetina estimule la síntesis de AIA (NOOR-SALEH y HEMBERG, 1980a,b).

IMASEKI et al. (1975) sugieren que la influencia de la citoquinina no puede explicarse únicamente por su efecto supresor de la conjugación de AIA, ya que en ausencia de éste, la citoquinina estimulaba la producción de etileno, por lo que parece requerir algún proceso metabólico. Nuestros resultados están de acuerdo con éstos, ya que la quinetina estimulaba mucho más que el AIA la producción de etileno, tanto en semillas intactas como en semillas sin testa, en los ejes embrionarios en cambio, es el AIA el que estimula más etileno. Por otra parte, no afectaba el etileno ligado en las semillas pero sí en el eje. También observamos como aumentan el porcentaje de germinación y la longitud de la radícula, siendo este aumento mayor en el caso de la semilla intacta.

Las giberelinas estimulan la germinación; en cuanto a -

la producción de etileno existen citas contradictorias. Unos autores indican que en las semillas, las giberelinas son inactivas o tienen poco efecto sobre la producción de etileno - (LIEBERMAN, 1975) administradas solas o en combinación con - AIA y quinetina (FUCHS y LIEBERMAN, 1968) e incluso explican la promoción de la elongación por las giberelinas sobre la base de una incapacidad para producir bastante etileno (MONDAL, 1975). Mientras que otros autores han descrito un aumento en la producción de etileno que precedía al incremento en germinación en semillas de Arachis hypogaea e indicaban que cuando la giberelina era efectiva en romper la dormancia de estas semillas, la hormona estimulaba la producción de etileno en estas semillas (KETRING y MORGAN, 1970). Nosotros hemos visto - que las giberelinas presentan poco efecto significativo sobre el desprendimiento de etileno en ninguno de los materiales vegetales estudiados, mientras que estimula la germinación y la longitud de la radícula.

Se han hecho sugerencias conflictivas sobre el sitio de acción de citoquininas y giberelinas, estimulando la germinación de las semillas. IKUMA y THIMAN (1963) indicaron que el principal sitio de acción de las giberelinas puede ser sobre el eje embrionario, aunque puede también promover la expansión de los cotiledones. En contraste BRADBEER y PINFIELD - (1967) y PINFIELD y STOBART (1972) implicaron a la quinetina como un factor principal para la iniciación de la radícula, - mientras que las giberelinas pueden ser significativas aumentando la expansión del cotiledón, aunque actuando también sobre el crecimiento axial. Debido a que las giberelinas y citoquininas podrían estimular el crecimiento en extensión inicial de ejes y cotiledones, para algunas semillas el eje puede ser principalmente responsable de la ruptura de la cubierta de la semilla, y en otras semillas los cotiledones pueden ser principalmente responsables.

Nuestros resultados coinciden básicamente con los de la bibliografía, aunque hemos de destacar que los tratamientos - no tienen la misma efectividad en los distintos materiales ve

getales; mientras que en el cotiledón todos los tratamientos reducen los niveles de producción de etileno, en el eje embrionario es donde ésta alcanza los mayores incrementos con respecto al testigo. Cuando el eje embrionario se encuentra unido a los cotiledones, el tratamiento simple más efectivo es la quinetina, seguido de AIA y después  $GA_3$ ; mientras que en el eje aislado el tratamiento más eficaz es el AIA, después quinetina y por último  $GA_3$ . Los tratamientos solo afectan al etileno ligado en el eje embrionario, no en los restantes materiales vegetales.

En los ejes aislados se observa que al añadir 2-3 hormonas conjuntamente, el etileno desprendido, así como el crecimiento de la radícula, es superior al obtenido cuando se aplican las hormonas individualmente, pero cuando los ejes se encuentran unidos a los cotiledones, los resultados de los tratamientos dobles y triple, son menos claros y a veces contradictorios, lo que nos puede indicar que los cotiledones pudieran tener algún factor que interfiera de alguna forma en las acciones de las otras hormonas.

Los efectos de las sustancias reguladoras del crecimiento vegetal dependerán del nivel endógeno de éstas, de la actividad metabólica y del tejido que estemos estudiando. La inducción de la germinación por aplicación simultánea de varias fitohormonas es anormal, debido a la destrucción de la compartimentación normal de las mismas en la semilla. Un inhibidor puede bloquear selectivamente solo alguno de los mecanismos por los que se produce la germinación (DUNLAP y MORGAN, 1977a, b).

El concepto de que la germinación está controlada por interacciones entre reguladores del crecimiento está basado en la respuesta de las semillas a mezclas de las sustancias aplicadas juntas o dadas secuencialmente. Casi siempre el efecto inhibitor del ABA puede ser revertido por citoquininas pero no por giberelinas. La respuesta fisiológica a sustancias aplicadas simultáneamente puede no reflejar una interacción fisiológica, sino más bien reacciones químicas entre los

agentes, diferentes velocidades de absorción o distintas velocidades de inactivación y metabolismo.

Se ha propuesto que la giberelina es esencial para la germinación, que la citoquinina permitía dicho proceso y que un inhibidor modulaba el sistema, pero era ineficaz en presencia de ambos, giberelinas y citoquininas. Ninguna semilla que no posea bastante giberelina o citoquinina, aunque posea inhibidor podría germinar si tiene estos estimuladores. La respuesta es cualitativa, pero podría ser cuantitativa y depender de una cantidad endógena relativa de los reguladores, dando un amplio rango de interacciones (KEYS et al., 1975; SCHONBECK y EGGLEY, 1980).

Los modelos de interacción son muy complejos, dos sustancias de crecimiento aplicadas simultáneamente presentan respuestas aditivas, multiplicativas, sinérgicas, antagónicas o más complicadas. Las investigaciones de las interacciones de sustancias del crecimiento llevadas a cabo en distintos laboratorios han producido conclusiones diferentes y algunas veces conflictivas, probablemente debidas a los distintos sistemas vegetales y tratamientos usados.

La producción de etileno está grandemente afectada por la aplicación exógena de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal. Como hemos visto la auxina induce un sistema productor de etileno, la citoquinina estimula y el ABA inhibe la producción de este gas.

Parece que la interacción entre la quinina, AIA, etileno y giberelina juega un papel importante en la regulación del crecimiento normal de la plántula (MONDAL, 1975). Los promotores de la germinación pueden influir en la producción de etileno en semillas como un medio para estimular la germinación, pero no se sabe si están implicados sitios de acción comunes o separados, cuando el etileno y los otros promotores de la germinación actúan de manera complementaria para incrementar la germinación o superar los efectos de un inhibidor (KETRING, 1977).

La aplicación de aminoetoxi-vinil-glicina, un potente -inhibidor de la síntesis de etileno, inhibe efectivamente dicha producción, sin afectar el proceso de germinación (DE -- GREEF y DE PROFT, 1981; HOFFMAN et al., 1983) por lo que la -síntesis de etileno parece ser un resultado más que un requisito del proceso de germinación (FU y YANG, 1983).

### 1. UN MODELO DE REGULACION DEL CRECIMIENTO: EL ETILENO COMO EFECTOR Y MODULADOR DE OTRAS FITOHORMONAS.

Uno de los objetivos perseguidos en esta memoria doctoral, era el de profundizar en el conocimiento de las interrelaciones entre el etileno y otras fitohormonas, empleando para ello el marco del proceso de la germinación -dada la mayor facilidad de su estudio, al lado de otros procesos fisiológicos-.

En el estudio de las fitohormonas existe una amplísima información en el nivel molecular y subcelular, que contrasta con la escasa existente sobre los aspectos más específicos de las fitohormonas: a) Su función integradora del crecimiento y desarrollo vegetal; b) Su función reguladora de los distintos procesos fisiológicos; y c) Su función traductora de las señales físicas del ambiente al lenguaje químico del metabolismo.

En la última década, son cada vez más los grupos de investigación que consideran que la función del etileno es la -de un modulador del crecimiento.

Por todo esto, junto con la información procedente de -los ensayos de esta memoria y la procedente de una exhaustiva revisión bibliográfica, exponemos un modelo analógico de regulación del crecimiento basado fundamentalmente en la interacción auxina-etileno.

#### 1.1. Consideraciones semánticas.

Se entiende como sistema un conjunto de partes operativamente interrelacionadas; admitiéndose que el sistema (en su conjunto) posee propiedades que no pueden considerarse como -

la simple suma de las propiedades de sus distintas partes.

De un determinado sistema real, se puede obtener una - colección de observaciones cuantitativas parametrizadas con relación al tiempo; consiguiéndose así un modelo dinámico de una cierta parcela de la realidad, que constituye un resumen abstracto de los datos observados en la misma.

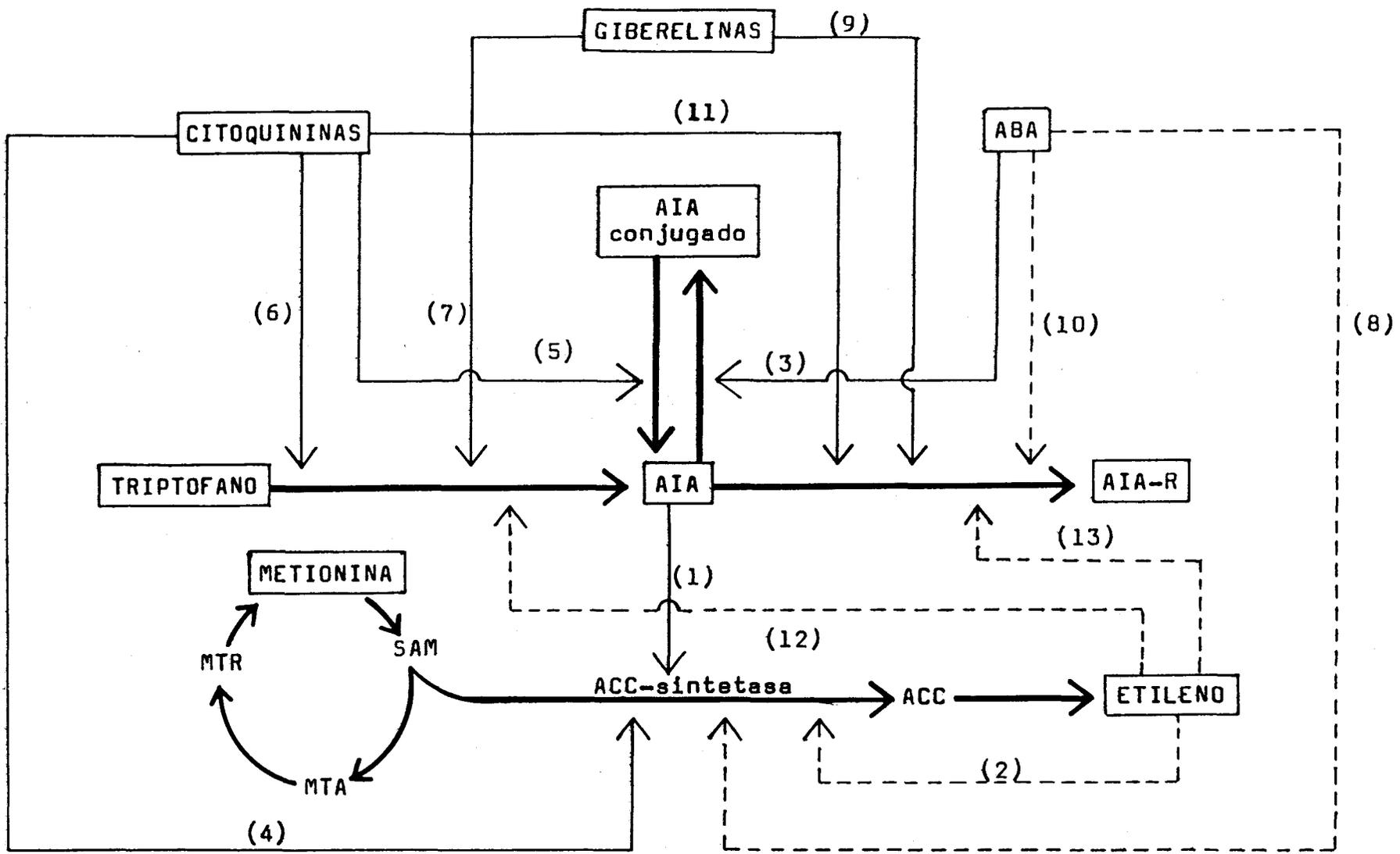
La esencia de un modelo reside en la simplificación, ya que si fuera idéntico a la realidad sería tan difícil de comprender como la realidad misma. Por el contrario, la cuantificación de las variables que intervienen en un modelo debe realizarse con gran precisión, aunque no debe negarse que existen aspectos de la realidad difícilmente cuantificables y que no se puede eliminar un cierto grado de subjetividad.

Disponer de un modelo tiene además la ventaja de poder experimentar sobre el mismo; en lugar de hacerlo sobre la realidad. Observando el comportamiento del modelo, se pueden realizar experimentos, que corresponden a cuestiones específicas de la realidad, representada por el modelo. Este proceso se denomina genéricamente simulación.

A continuación vamos a examinar desde un enfoque sistémico la función del etileno en la modulación del crecimiento, a través de su acción indirecta sobre el metabolismo auxínico. Ofrecemos un diagrama causal elaborado para el estudio dinámico de nuestro sistema (Fig. E).

### 1.2. Interacción auxina-etileno.

Se admite que en cualquier órgano existe una relación - muy estrecha entre su contenido auxínico y su crecimiento. Además, las auxinas, gracias a su transporte estrictamente polar, contribuyen de una manera especialísima a la morfogénesis y al desarrollo de la planta. Igualmente se admite, que - el etileno desprendido por un tejido se encuentra muy íntimamente correlacionado con la cantidad de auxina "libre" existente en el mismo; que -como gas-, se difunde en todas las direcciones (salvo que lo impidan barreras impermeables). Aunque se conocen algunas formas de conjugación del etileno (sobre -



(FIGURA E)

- (1) JONES y KENDE (1979); YOSHII et al. (1980); YOSHII e IMA SEKI (1981); YU y YANG (1979); KENDE y BOLLER (1981)
- (2) ZERONI et al. (1976); SALVEIT y DILLEY (1978); RIOV y - YANG (1981).
- (3) LAU y YANG (1973); YANG y JACOBS (1973)
- (4) YOSHII e IMASEKI (1981)
- (5) LAU et al. (1974); LAU et al. (1977).
- (6) NOOR-SALEH y HEMBERG (1980a,b)
- (7) THOMAS (1977)
- (8) YOSHII e IMASEKI (1981)
- (9) PILET (1965)
- (10) PILET (1971)
- (11) LAGERSTEDT y LANGSTON (1967)
- (12) VALDOVINOS et al. (1967)
- (13) BURG y BURG (1966, 1967); ABELES (1973); MORGAN y GAUS- MAN (1966).

todo en los cotiledones) apenas si es retenido; esto le hace un buen mensajero, de rápida y fugaz acción. Además, junto con el ABA, forma el grupo inhibidor de las fitohormonas, frente al grupo promotor constituido por auxinas, giberelinas y citoquininas. Así durante el crecimiento y desarrollo, los niveles de auxinas, citoquininas y giberelinas interaccionan entre sí y pueden promover el crecimiento con una intensidad por encima de su nivel normal.

Durante tales condiciones -de excesivo crecimiento-, la síntesis de etileno resulta intensamente estimulada. Sin embargo, el etileno a elevada concentración, actúa como una sustancia "anti-crecimiento" o moduladora del crecimiento, llevándolo de nuevo a niveles normales.

Esto se logra por ejemplo al deprimir la síntesis y el transporte del AIA sintetizados a través de los tejidos; y así, se ha observado que tejidos tratados por etileno poseen mucha menor capacidad para transformar el triptófano en AIA. Así mismo, se sabe a través de numerosas investigaciones, que las aplicaciones de etileno disminuyen el transporte auxínico: bien directamente a través de la conjugación o destrucción de la auxina.

En resumen, la pareja formada por el etileno y AIA pueden constituir un sistema regulador del crecimiento en los vegetales, a través de su mutua modulación.

En el diagrama propuesto (Fig. E), podemos distinguir bucles de realimentación positivos y negativos.

a) Realimentación positiva: Un bucle de realimentación es positivo si el aumento de un elemento (A) determina el de otro (B), y éste el de un tercero (C), lo que por último determina un aumento del primero (A); reiniciándose el proceso. También es positivo si tiene un número par de relaciones negativas.

La realimentación positiva sirve para modelar procesos de crecimiento indefinido.

Una característica interesante de este proceso es el -

tiempo en el que el nivel se duplica, y al que se llama tiempo de duplicación (TD). El tiempo de duplicación dividido por 0.7 proporciona la denominada constante de tiempo (T), cuya inversa ( $1/T$ ) recibe el nombre de tasa de crecimiento.

Como bucle de realimentación positivo, tenemos por ejemplo la relación existente entre el crecimiento y el contenido auxínico de un meristemo. En efecto, se puede establecer un "flujo de acción" entre el nivel de triptófano (precursor) y el de auxina (hormona), que se deberá a una reacción o serie de reacciones químicas. La velocidad (V) de la reacción (flujo) es el producto de dos factores: la constante de velocidad (K) y la concentración (C) de los reactantes (triptófano y auxina).

Sin embargo, gracias a un "flujo de información" representado por el crecimiento celular que promueve el contenido auxínico se produce crecimiento del meristemo, y con ello, el aumento del nivel del precursor.

Este ciclo de realimentación continuaría indefinidamente hasta que algún factor ambiental resultara limitante del crecimiento. Resulta necesario distinguir entre limitación, que es consecuencia de la magnitud de las disponibilidades físico-químicas del ambiente, y regulación que tiene siempre un significado adaptativo y que solo es comprensible en relación a su significado funcional.

b) Bucle de realimentación negativo. Un ejemplo en nuestro diagrama causal es el que liga el crecimiento, con la metionina y ésta con el etileno, y por último, el etileno con el crecimiento.

Se encuentra experimentalmente fuera de toda duda que la metionina es (en las plantas superiores) el precursor biosintético del etileno; que este es un inhibidor del crecimiento directamente; y también que lo es a través de la inhibición que provoca en la biosíntesis y en el transporte de la auxina.

Dentro de este diagrama la variable de flujo (F) estará representada por la velocidad de transformación de la metioni-

na en etileno; que es el producto de dos factores: la fracción por unidad de tiempo (FT) o constante de velocidad de reacción (K) y la diferencia entre el nivel objetivo (OB) y el nivel del etileno en el momento considerado.

El objetivo no es otro que las dimensiones que adquiere el sistema (hoja, planta, etc.), dentro del programa genético del mismo. La existencia de un tamaño máximo (genotípicamente determinado) para una hoja de una determinada especie permite el crecimiento gradual de las distintas hojas a lo largo del tallo en condiciones de competencia (por los nutrientes) de una forma secuencial en el transcurrir del tiempo; de igual manera se podría explicar la misma competencia entre los órganos representativos de las tres etapas de la ontogenia de un vegetal: vegetativo, reproductivo y madurativo (crecimiento de frutos y semillas).

El flujo negativo, estará representado por la acción directa o indirecta o ambas a la vez del etileno sobre el crecimiento.

Somos conscientes de las limitaciones que presenta el modelo propuesto, como consecuencia de la simplificación y abstracción de la realidad que supone su empleo.

De todas formas, creemos que puede ser una modesta contribución al mejor conocimiento de las interacciones hormonales en las que se ve implicado el etileno y aportar algunas sugerencias que permitan a futuras investigaciones en este campo, desvelar su complejo papel en los procesos fisiológicos de las plantas superiores.

V. CONCLUSIONES

1. Durante la germinación de las semillas de Phaseolus vulgaris, el desprendimiento de etileno presenta un máximo, que coincide con el inicio de la protrusión visible de la radícula. Este máximo se atrasa y se multiplica al eliminar la testa de la semilla, lo que indica que el etileno formado por la semilla, no se va acumulando en el espacio existente entre los cotiledones y la testa para salir cuando la radícula rompa la cubierta.

2. El eje embrionario aislado presenta un máximo de etileno, que es muy superior al desprendido -- cuando éste se encuentra unido a los cotiledones; por otra parte, los cotiledones aislados retienen aproximadamente cuatro veces más etileno, que los ejes embrionarios separados de aquellos; por lo que los cotiledones deben regular el desprendimiento de etileno del eje, en alguna extensión.

3. La quinetina estimula la producción de etileno, la germinación y la longitud de la radícula. El ABA, por el contrario, inhibe los tres parámetros. -- Cuando se administran ambas hormonas en combinación, la quinetina no consigue superar los efectos inhibidores del ABA, en ninguno de los materiales vegetales -- utilizados, lo que se podría explicar porque las concentraciones de ABA eran muy altas.

4. Los precursores hormonales, metionina y -- triptófano, estimulan la producción de etileno, el % de germinación y la longitud de la radícula, sin presentar diferencias estadísticas entre ellos.

5. El ácido giberélico estimula la germinación y el crecimiento de la radícula, pero no presenta efecto significativo, ni sólo, ni en combinación con las otras hormonas, cuando el eje se encuentra unido a los cotiledones. Lo cual es lógico, pues si indujeran suficiente etileno, éste interferiría con el incremento de la longitud de la radícula causado por el ácido giberélico. En el eje aislado, el ácido giberélico aplicado individualmente carece de efecto sobre la producción de etileno, pero potencia los efectos de las otras hormonas, al administrarlas conjuntamente.

6. El AIA estimula la producción de etileno en menor extensión que la quinolina, cuando el eje embrionario se encuentra unido a los cotiledones; mientras que el etileno desprendido por el eje embrionario aislado, es mayor en presencia de AIA, observándose que este regulador del crecimiento vegetal no presenta efecto significativo sobre la longitud de la radícula en los ejes aislados. Esta diferencia de acción en presencia y ausencia de cotiledones puede deberse a que los cotiledones reduzcan los niveles de AIA, aumentando su conjugación o su inactivación o por tener algún factor que interfiera con la acción de las hormonas, lo que explicaría el por qué en los cotiledones aislados, todos los tratamientos reducen los niveles de producción de etileno.

7. Cuando se administran conjuntamente quinolina y AIA se potencian los efectos de los reguladores administrados individualmente.

8. Se propone un modelo, basado en la modulación auxina-etileno, como sistema regulador del crecimiento en los vegetales.

VI. BIBLIOGRAFIA

- ABDEL-RAHMAN, M., THOMAS, T.H., DOSS, G.J. y HOWELL, L. (1975). Changes in endogenous plant hormones in cherry -- tomato fruit during development and maturation. -- *Physiol. Plant.* 34: 39-43.
- ABDEL-SAMAD, I.M. y PEARCE, R.S. (1978). Leaching of ions -- inorganic molecules and enzymes from seeds of -- peanut (*Arachis hypogaea* L.) imbibing without -- testas or with intact testas. *J. Exp. Bot.* 23: -- 1471-1478.
- ABELES, F.B. (1966). Auxin stimulation of ethylene evolution. *Plant Physiol.* 41: 585-588.
- ABELES, F.B. (1972). Biosynthesis and mechanism of action of ethylene. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 23: 259-292.
- ABELES, F.B. (1973). Ethylene in plant biology. 302 pp. New York, London: Academic Press, 1973.
- ADAMS, D.O. y YANG, S.F. (1977) Methionine metabolism in -- apple tissue. *Plant Physiol.* 60: 892-896.
- ADAMS, D.O. y YANG, S.F. (1979). Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76: -- 170-174.
- ADATO, I. y GAZIT, S. (1977a). Role of ethylene in avocado fruit development and ripening. I. Fruit drop. *J. Exp. Bot.* 28: 636-643.
- ADATO, I. y GAZIT, S. (1977b). Role of ethylene in avocado -- fruit development and ripening. II. Ethylene -- production and respiration by harvested fruits. -- *J. Exp. Bot.* 28: 644-649.
- ADDICOTT, F.T. y LYON, J.L. (1969). Physiology of abscisic -- acid and related substances. *Ann. Rev. Plant -- Physiol.* 20: 139-164.
- ADKINS, S.W. y ROSS, J.D. (1981). Studies in wild oat seed -- dormancy. I. The role of ethylene in dormancy -- breakage and germination of wild oat seeds (*Avena fatua* L.). *Plant Physiol.* 67: 358-362.
- AMEN, R.D. (1968). A model of seed dormancy. *Bot. Rev.* 34: 1-31.

- AMRHEIN, N., SCHNEEBECK, D., SKORUPKA, H., TOPHOF, S. y STOCKIGT, J. (1981). Identification of a major metabolite of the ethylene precursor 1-aminociclopropane-1-carboxylic acid in higher plants. Naturwissenschaften 68: 619-620.
- BALLARIN-DENTI, A., COCCUCI, M. (1979). Effects of abscisic acid, gibberellic acid and fusicoccin on the transmembrane potential during the early phases of germination in radish (Raphanus sativus L.) seeds. Planta. 146: 19-23.
- BANDURSKI, R.S. y SCHULZE, A. (1977). Concentration of indole-3-acetic acid and its derivatives in plants. Plant Physiol. 60: 211-213.
- BARTHE, P. y BULARD, C. (1978). Bound and free abscisic acid levels in dormant and after-ripened embryos of Pyrus malus L. cv. Golden Delicious. Z. Pflanzenphysiol. 90: 201-208.
- BAXTER, E.D. y DUFFUS, C.M. (1973). Phosphorilasa activity in relation to starch synthesis in developing Hordeum distichum grain. Phytochemistry. 12: 2321-2330.
- BENGOCHEA, T., DODDS, J.H., EVANS, D.E., JERIE, P.H., NIEPEL, B., SHAARI, A.R. y HALL, M.A. (1980a). Studies on ethylene binding by cell-free preparations from cotyledons of Phaseolus vulgaris L. I. Separation and characterization. Planta. 148: 397-406.
- BENGOCHEA, T., ACASTER, M.A., DODDS, J.H., EVANS, D.E., JERIE, P.H. y HALL, M.A. (1980b). Studies on ethylene binding by cell-free preparations from cotyledons of Phaseolus vulgaris L. II. Effects of structural analogues of ethylene and of inhibitors. Planta. 148: 407-411.
- BEWLEY, J.D. y BLACK, M. (1982). Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. 1. Development, Germination and Growth. Springer-Verlag. Berlin. New York.
- BEYER, E.M., Jr. (1975). Ethylene-<sup>14</sup>C incorporation and metabolism in pea seedlings. Nature (London). 255: 144-147.
- BEYER, E.M., Jr. y BLOMSTROM, D.C. (1979). Ethylene metabolism and its possible physiological role in plants. En: Plant Growth substances, 1979: 208-220.

- BIDDINGTON, N.L. y THOMAS, T.H. (1976). Influence of different cytokinins on the germination of lettuce (Lactuca sativa) and celery (Apium graveolens) seeds. Physiol. Plant. 37: 12-16.
- BIDDINGTON, N.L., THOMAS, T.H/ y DEARMAN, A.S. (1980). The effect of temperature on the germination-promotion activities of cytokinin and gibberellin applied to celery seeds (Apium graveolens). Physiol. Plant. 49: 68-70.
- BLACK, M. (1980/81). The role of endogenous hormones in germination and dormancy. Israel J. Bot. 29: 246-292.
- BLACK, M., BEWLEY, J.D. y FOUNTAIN, D. (1974). Lettuce seed germination and cytokinins. Their entry and formation. Planta. 117: 145-152.
- BLOMSTROM, D.C. y BEYER, E.M. Jr. (1980). Plants metabolize ethylene to ethylene glycol. Nature. 283: 66-68.
- BOLLER, T., HERNER, R.C. y KENDE, H. (1979). Assay for an enzymatic formation of an ethylene precursor, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Planta. 145: 293-303.
- BONNIER, C. y BRAKEL, J. (1970). Lutte biologique contre la faime: Legumineuses-Rhizobium. Ed. Duculot. Gemploux.
- BORKOWSKA, B. y RUDNICKI, R.M. (1975). Changes in the levels of cytokinins in apple seeds during stratification. Fruit Sci. Rep. 11: 1-16.
- BRADBEER, J.W. y PINFIELD, N.J. (1967). Studies in seed dormancy. III. The effects of gibberellin on dormant seeds of Corylus avellana L. New Phytol. 66: 515-523.
- BRAMLAGE, W.J., LEOPOLD, A.C. y PARRISH, D.J. (1978). Chilling stress to soybeans during imbibition. Plant Physiol. 61: 525-529.
- BROWN, N.A.C. y VAN STADEN, J. (1975). Effect of temperature and various gases on the germination and endogenous hormone levels of seeds of Leucadendron daphnoides. Z. Pflanzenphysiol. 75: 31-37.
- BURG, S.P. y BURG, E.A. (1968). Ethylene formation in pea seedlings its relation to the inhibition of bud growth caused by indole-3-acetic acid. Plant Physiol. 43: 1069-1074.

- BURROWS, W.J. (1975). Mechanism of action of cytokinins. *Curr. Adv. Plant Sci.* 7: 837-847.
- BURROWS, W.J., CARR, D.J. (1970). Cytokinin content of pea -- seeds during their growth and development. *Physiol. Plant.* 23: 1064-1070.
- CHANG, Y.P. y JACOBS, W.P. (1973). The regulation of abscis-- sion and IAA by senescence factor and abscisic - acid. *Amer. J. Bot.* 60: 10-16.
- CHRISPEELS, M.J. y JONES, R.L. (1980/81). The role of the en- doplasmic reticulum in the mobilization of reser- ve macromolecules during seedling growth. *Israel J. Bot.* 29: 225-245.
- COHEN, J.D. y BANDURSKI, R.S. (1982). Chemistry and Physiolo- gy of the bound auxins. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33: 403-430.
- COOKE, R.J., SAUNDERS, P.F. y KENDRICK, R.E. (1975). Red --- light induced production of gibberellin-like sub- stances in homogenates of etiolated wheat leaves and in suspensions of intact etioplast. *Planta.* - 124: 319-328.
- CORCORAN, M.R. y PHINNEY, B.O. (1962). Changes in amounts of gibberellin-like substances in developing seed of Echinocystis, Lupinus and Phaseolus. *Physiol. -- Plant.* 15: 252-262.
- CORNFORTH, J.W., MILBORROW, B.V., RYBACK, G. y WAREING, P.F. (1965a). Chemistry and physiology of dormins in - sycamore-identify of sycamore dormin whith absci- sin II. *Nature.* (London). 205: 1269-1270.
- CORNFORTH, J.W., MILBORROW, B.V. y RYBACK, G. (1965b). Synthe- sis of  $\pm$  abscisin II. *Nature* (London). 206: 715.
- DASGUPTA, J., BEWLEY, J.D. y YEUNG, E.C. (1982). Desiccation- tolerant and desiccation-intolerant stages during the development and germination of Phaseolus vul- garis seeds. *J. Exp. Bot.* 33: 1045-1057.
- DENNY, F.E. y MILLER, L.P. (1935). The role of the surface -- micro-flora in measurements of the respiration ra- te of germinating seeds. *Contrib. Boyce Thomp. - Inst.* 7: 97-102.

- DUKE, S.H. y KAKEFUDA, G. (1981). Role of the testa in preventing cellular rupture during imbibition of legume seeds. *Plant Physiol.* 67: 449-456.
- DUNGEY, N.O. y PINFIELD, N.J. (1980). The effect of temperature on the supply of oxygen to embryos of intact Acer pseudoplatanus L. seeds. *J. Exp. Bot.* 31: 983-992.
- DUNLAP, J.R. y MORGAN, P.W. (1977a) Reversal of induced dormancy in lettuce by ethylene, kinetin, and gibberellic acid. *Plant Physiol.* 60: 222-224.
- DUNLAP, J.R. y MORGAN, P.W. (1977b). Characterization of ethylene/gibberellic acid control of germination in Lactuca sativa L. *Plant Cell Physiol.* 18: 561-568.
- DUNWELL, J.M. (1981). Dormancy and germination in embryos of Hordeum vulgare L. - Effect of dissection, incubation temperature and hormone application. *Ann. Bot.* 48: 203-213.
- DURE, L.S. (1975). Seed formation. *Ann. Rev. Plant Physiol* 26: 259-278.
- DURE, L.S. (1977). Stored messenger ribonucleic acid and seed germination. En: *The Physiology and Biochemistry of seed dormancy and germination*, ed. A.A. Khan, North-Holland Publishing Co., Amsterdam.
- DURE, L. y CARYL, C. (1981). Developmental biochemistry of cotton seed embryogenesis and germination. XII. Purification and properties of principal storage proteins. *Plant Physiol.* 68: 180-186.
- DURLEY, R.C., MACMILLAN, J. y PRYCE, R.C. (1971). Investigation of gibberellins and other growth substances in the seed of Phaseolus multiflorus by gas chromatography and by gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochemistry.* 10: 1891-1908.
- EEUWENS, C.J., SCHWABE, W.W. (1975). Seed and pod wall development in Pisum sativum in relation to extracted and applied hormones. *J. Exp. Bot.* 26: 1-14.
- EINSET, J.W. (1977). Two effects of cytokinin on the auxin requirement of tobacco callus cultures. *Plant Physiol.* 59: 45-47.

- EPSTEIN, C., COHEN, J.D. y BANDURSKI, R.S. (1980). Concentration and metabolic turnover of indoles in germinating kernels of Zea mays L. *Plant Physiol.* 65: 415-421.
- ESASHI, Y., KATOH, H. y LEOPOLD, A. C. (1977). Dormancy and impotency of cocklebur seeds. IV. Effects of gibberellic acid, benzyl-adenine, thiourea and potassium nitrate on the growth of embryonic axis and cotyledon segments. *Plant physiol.* 59: 117-121.
- EVANS, P.E., BENGOCHEA, T., CAIRNS, A.J., DOODS, J.H. y HALL, M.A. (1982). Studies on ethylene binding by cell-free preparations from cotyledons of Phaseolus vulgaris L.: subcellular localization. *Plant Cell Environment.* 5: 101-107.
- EVENARI, M. (1961). Chemical influences of other plants (allelopathy). En: *Encyclopedia of Plant Physiology*. Ruhland, W. (ed) vol. XVI. pp. 691-736. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer.
- FRANKLIN, D. y MORGAN, P.W. (1978). Rapid production of auxin induced ethylene. *Plant Physiol.* 62: 161-162.
- FU, J.R. y YANG, S.F. (1983). Release of heat pretreatment-induced dormancy in lettuce seeds by ethylene or cytokinin in relation to the production of ethylene and the synthesis of l-aminocyclopropane-carboxylic acid during germination. *J. Plant Growth Regulation.* 2: 185-192.
- FUCHS, Y. y LIEBERMAN, M. (1968). Effect of kinetin, IAA, and gibberellic acid on ethylene production and their interactions in growth of seedlings. *Plant Physiol.* 43: 2029-2036.
- GALLI, M.G., MIRACCA, P., SPARVOLI, E. (1979). Interaction between abscisic acid and fusaric acid during germination and post-germinative growth in Haplopappus gracilis. *Plant Sci. Lett.* 12: 105-111.
- GERTMAN, E. y FUCHS, Y. (1972). Effects of abscisic acid and its interaction with other plant hormones on ethylene production in two plant systems. *Planta.* 50: 194-195.

- GOESCHL, J.D., RAPPAPORT, L. y PRATT, H.K. (1966). Ethylene - as a factor regulating the growth of pea epicotyls subjected to physical stress. *Plant Physiol.* 41: 877-884.
- GOTO, N. y ESASHI, Y. (1974a). Stimulation by ethylene of - axis and hypocotyl growth in bean and cocklebur - seedlings. *Physiol. Plant.* 31: 204-210.
- GOTO, N. y ESASHI, Y. (1974b). Differential hormone responses in different growing zones of the bean hypocotyl. *Planta (Berl.)*. 116: 225-241.
- GREEF DE, J.A. y PROFT DE, M. (1978). Kinetic measurements of small ethylene changes in an open system designed for plant physiological studies. *Physiol. Plant.* 42: 79-84.
- GREEF DE, J.A. y PROFT DE, M. (1981). Case studies of ethyl-- ene release in higher and lower plant systems. En: B. Jeffcoat (ed.) *Aspects and prospects of plant growth regulators*. British Plant Growth Regulator Group. Wantage, England, pp. 9-18.
- GUILFOYLE, T.J., LIN, C.Y., CHEN, Y.M., NAGAO, R.T. y KEY, J. L. (1975). Enhancement of soybean RNA polymerase I by auxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 72: 69--72.
- GUNNING, B.E.S. y PATE, J.S. (1974). En: *Dynamic aspects of - plant ultrastructure*. Robards, A.W. (ed.) London. McGraw-Hill. pp. 441-480.
- HALE, W.S., SCHWIMMER, S. y BAYFIELD, E.G. (1943). Treating - wheat with ethylene (I) Effect on high-moisture - wheat. *Cereal Chem.* 20: 224-235.
- HALL, M.A., ACASTER, M.A., BENGOCHEA, T., DODDS, J.H., EVANS, D.E., JONES, J.F., JERIE, P.H., MUTUMBA, G.C., - NIEPEL, B. y SHAARI, A.R. (1979). Ethylene and - seeds. En: *Plant Growth Substances* (Ed. F. Skoog). Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. New York. pp. 199-208.
- HASHIMOTO, T. y RAPPAPORT, L. (1966). Variations in endogenous gibberellins in developing bean seeds. I. Occur-- rence of neutral and acidic substances. *Plant - Physiol.* 41: 623-628.

- HEYDECKER, W. (1972). Seed Ecology. Proc. XIXth Easter School Agri. Sci. Univ. Nottingham. Butterworths, London.
- HIGGINS, T.J.V., ZWAR, J.A. y JACOBSEN, J.V. (1976). Gibberellic acid enhances the level of translatable mRNA for  $\alpha$ -amilase in barley aleurone layers. Nature (London). 260: 166-169.
- HIRAGA, K., YAMANE, H. y TAKAHASHI, N. (1974). Biological activity of some synthetic gibberellin glucosyl esters. Phytochemistry. 13: 2371-2376.
- HIRAGA, K., YOKOTA, T., MUROFUSHI, N. y TAKAHASHI, N. (1972). Isolation and characterization of a free gibberellin and glucosyl esters of gibberellins in mature seeds of Phaseolus vulgaris. Agr. Biol. Chem. 36: 345-347.
- HO, D.T. (1979). On the mode of action of abscisic acid in - barley aleurone cells. Plant Physiol. 64: Suppl. 79.
- HOFFMAN, N.E., YANG, S.F. y McKEON, T. (1982). Identification of 1-(malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid as a major conjugate of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor in higher -- plants. Biochem. Biophys. Res. Commun, 104: 765--770.
- HOFFMAN, N.E., FU, J. y YANG, S.F. (1983). Identification and metabolism of 1-malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid in germinating peanut seeds. Plant - Physiol. 71: 197-199.
- IKUMA, H. y THIMANN, K.V. (1963). Action of kinetin on photosensitive germination of lettuce seed as compared with that of gibberellic acid. Plant Cell Physiol. 4: 113-128.
- IMASEKI, H., KONDO, K. y WATANABE, A. (1975). Mechanism of - cytokinin action on auxin-induced ethylene production. Plant Cell Physiol. 18: 577-586.
- IMASEKI, H. y WATANABE, A. (1978). Inhibition of ethylene production by osmotic shock. Further evidence for - membrane control of ethylene production. Plant - Cell Physiol. 19: 345-348.

- JACKSON, G.A.D. (1968). Hormonal control of fruit development, seed dormancy, and germination with particular - reference to Rosa. Soc. Chem. Ind. London Monogr. 31: 127-156.
- JACOBSEN, J.V. (1972). En: Plant Growth Substances 1970 (D.J. Carr, ed.) pp. 336-343. Springer-Verlag, New York.
- JACOBSEN, J.V., HIGGINS, T.J.V. y ZWA, J.A. (1980). Hormonal control of endosperm function during germination. En: The plant seed: Development, preservation and germination. (I. Rubinstein ed.) New York: Academic.
- JANN, R.C. y AMEN, R.C. (1977). What is germination? En: The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. (Khan A.A. ed.) Elsevier / North--- Holland. Biomedical Press. pp. 5-28.
- JERIE, P.H. y CHALMERS, D.J. (1976) Some characteristics of - ethylene production in peach (Prunus persica L.) seeds. Planta. 132: 13-17.
- JONES, J.F. y KENDE, H. (1979). Auxin-induced ethylene biosynthesis in subapical stem sections of etiolated seedlings of Pisum sativum L. Planta. 146: 649--- 656.
- JONES, R.L. y CHEN, R.F. (1976). Immunohistochemical localization of  $\alpha$ -amilase in barley aleurone cells. J. - Cell Sci. 20: 183-198.
- JONES, R.L. y STODDART, J.L. (1977). Gibberellins and seed - germination. En: The Physiology and Biochemistry of seed dormancy and germination. (Khan A.A. ed.) North-Holland Publishing Company.
- JULIN-TEGELMAN, A. (1979). The changes in endogenous cytokinin like substances in Zea mays seedling during germination. Plant Sci. Lett. 14: 259-262.
- JULIN-TEGELMAN, A. y PINFIELD, N. (1982). Changes in the level of endogenous cytokinin-like substances in - Acer pseudoplatanus embryos during stratifica--- tion and germination. Physiol Plant. 54: 318-322.
- KAMINEK, M. (1974). En: Biochemistry and plant growth regu--- lators. (K. Schreiber, H.R. Schutte y G. Sembdner eds) pp. 315-318. Acad. Sci. DDR.

- KANG, B.G., NEWCOMB, W. y BURG, S.P. (1971). Mechanism of --  
auxin-induced ethylene production. *Plant Physiol.*  
47: 504-509.
- KARSSSEN, C.M. (1976). Two sites of hormone action during ger-  
mination of Chenopodium album seeds. *Physiol. --*  
*Plant.* 36: 264-270.
- KATOH, H. y ESASHI, Y. (1975a). Dormancy and impotency of --  
cocklebur seeds. I. Carbon dioxide, ethylene, --  
oxygen and high temperature. *Plant Cell Physiol.*  
16: 687-696.
- KATOH, H. y ESASHI, Y. (1975b). Dormancy and impotency of --  
cocklebur seeds. II. Phase sequence in germina--  
tion processes. *Plant Cell Physiol.* 16: 697-706.
- KENDE, H. y BOLLER, T. (1981). Wound ethylene and 1-aminocy--  
clopropane-1-carboxilate synthase in ripening to--  
mato. *Planta.* 151: 476-481.
- KENDE, H. y GARDNER, G. (1976). Hormone binding in plants. -  
*Ann. Rev. Plant Physiol.* 27: 267-290.
- KETRING, D.L. (1971). Physiology of oil seeds. III. Response  
of initially high and low germinating Spanish----  
type peanut seeds to three storage environments.  
*Agron. J.* 63: 435-438.
- KETRING, D.L. (1977). Ethylene and seed germination. En: *The*  
*Physiology and Biochemistry of seed dormancy and*  
*germination.* (Khan A.A. ed.). North-Holland --  
Publishing Company.
- KETRING, D.L. y MORGAN, P.W. (1969). Ethylene as a component  
of the emanations from germinating peanut seeds -  
and its effect on dormant Virginia-type peanut -  
seeds. *Plant Physiol.* 44: 326-330.
- KETRING, D.L. y MORGAN, P.W. (1970). Physiology of oil seeds.  
I. Regulation of dormancy in Virginia-type peanut  
seeds. *Plant Physiol.* 45: 268-273.
- KETRING, D.L. y MORGAN, P.W. (1971). Physiology of oil seeds.  
II. Dormancy release in Virginia-type peanut --  
seeds by plant growth regulators. *Plant Physiol.*  
47: 488-492.

- KETRING, D.L. y MORGAN, P.W. (1972). Physiology of oil seeds. IV. Role of endogenous ethylene and inhibitory - regulators during natural and induced after ripening of dormant Virginia-type peanut seeds. *Plant Physiol.* 50: 382-387.
- KETRING, D.L., MORGAN, P.W. y POWELL, R.D. (1974). Relation - of ethylene production to germinability and -- growth of two oil seeds, cotton and peanuts. En: *Plant Growth Substances*. (Y. Sumiki ed.) Hirokawa Publishing Company. Inc. Tokyo.
- KEYS, R.D., SMITH, O.E., KUMAMOTO, J. y LYON, J.L. (1975). - Effect of gibberellic acid, kinetin and ethylene plus carbon dioxide on the termodormancy of lettuce seed (*Lactuca sativa* L. c.v. Mesa, 659). - *Plant Physiol.* 56: 826-829.
- KHAN, A.A. (1971). Cytokinins: permissive role in seed germination. *Science*. 171: 853-859.
- KHAN, A.A. (1975). Primary, preventive and permissive roles - of hormones in plant systems. *Bot. Rev.* 41: 391--420.
- KLUGE, K.H. y BORRISS, H. (1974). Ethylene-enhanced synthesis and release of amylase by dormant embryos of -- *Agrostemma githago*. *Biol. Rundsch.* 12: 200-202.
- KONDO, K., WATANABE, A. e IMASEKI, H. (1975). Relationships - in actions of indoleacetic acid, benzyladenine - and abscisic acid in ethylene production. *Plant Cell Physiol.* 54: 846-851.
- KU, H.S. y LEOPOLD, A.C. (1970). Mitochondrial responses to ethylene and other hydrocarbons, *Plant Physiol.* 46: 842-844.
- LANG, A. (1965). Effects of some internal and external conditions on seed germination. *Encyclop. Plant Physiol.* XV/2: 848-893.
- LAU, D.L., JOHN, W.W. y YANG, S.F. (1977). Effect of different cytokinins on ethylene production by mung bean -- hypocotyls in the presence of indole-3-acetic acid or calcium ion. *Physiol. Plant.* 39: 1-3.
- LAU, D.L. y YANG, S.F. (1974). Synergistic effect of calcium and kinetin on ethylene production by mung bean - hypocotyl. *Planta.* 118: 1-6.

- LAU, O.L. y YANG, S. F. (1975). Interaction of kinetin and -- calcium in relation to their effect on stimula--- tion of ethylene production. *Plant Physiol.* 55: - 738-740.
- LAU, O.L. y YANG, S.F. (1976). Stimulation of ethylene produc tion in the mung bean hypocotyls by cupric ion, - calcium ion and kinetin. *Plant Physiol.* 57: 88-92.
- LAU, O. L. y YUNG, K.H. (1974). Sinergistic effect of kinetin on IAA-induced ethylene production. *Plant Cell -- Physiol.* 15: 29-35.
- LEJOHN, H.B. y STEVENSON, R.M. (1973). Cytokinins and magne--- sium ions may control the flow of metabolites and calcium ions through fungal cell membranes. *Bio--- chem. Biophys. Res. Commun.* 84: 1053-1060.
- LETHAM, D.S. y WILLIAMS, M.W. (1969). Regulators of cell di--- vision in plant tissues. VIII. The cytokinins of the apple fruit. *Physiol. Plant.* 22: 925-936.
- LIEBERMAN, M. (1975). Biosynthesis and regulatory control of ethylene in fruit ripening. A review. *Physiol. - Veg.* 13: 489-499.
- LIEBERMAN, M. (1979). Biosynthesis and action of ethylene. - *Ann. Rev. Plant Physiol.* 30: 533-591.
- LIEBERMAN, M. y KUNISHI, A.T. (1971). Synthesis and biosynthe sis of ethylene. *HortScience.* 6: 355-358.
- LIEBERMAN, M. y KUNISHI, A.T. (1972). Abscisic acid and ethyl ene production. *Plant Physiol.* 47: Supp. 22.
- LIEBERMAN, M. y KUNISHI, A.T. (1975). Ethylene-forming system in etiolated pea seedlings and apple tissue. -- *Plant Physiol.* 55: 1074-1078.
- LIEBERMAN, M., KUNISHI, A.T., MAPSON, L.W. y WARDALE, D.A. - (1966). Stimulation of ethylene production in -- apple tissue. *Plant Physiol.* 41: 376-382.
- LIEBERMAN, M. y WANG, S.Y. (1982). Influence of calcium and - magnesium on ethylene production by apple tissue slices. *Plant Physiol.* 69: 1150-1155.
- LONG, S.R., DALE, R.M.K. y SUSSEX, I.M. (1981). Maturation -- and germination of Phaseolus vulgaris embryonic - axes in culture. *Planta.* 153: 405-415.

- LOVEYS, B.R., BRIEN, C.J. y KRIEDEMANN, P.E. (1975). Biosynthesis of abscisic acid under osmotic stress: - Studies based on a dual labelling technique. *Physiol. Plant.* 33: 166-170.
- LUCKWILL, L.C., WEAVER, P. y McMILLAN, J. (1969). Gibberellins and other growth hormones in apple seeds. *J. Hort. Sci.* 44:413-424.
- MACHACKOVA, I., NASINEC, V. y ZMRHAL, Z. (1980). The effect of indole-3-acetic acid on ethylene formation in wheat seedlings. *Biol. Plant. (Praha)*. 22: 65-72.
- MACHACKOVA, I., CHVOJKA, L., NASINEC, V. y ZMRHAL, Z. (1981). The effect of phenylacetic acid on ethylene formation in wheat seedlings. *Biol. Plant. (Praha)*. 23: 116-119.
- MALLOCH, K.R. y OSBORNE, D.J. (1976). Auxin and ethylene control of growth in seedling of Zea mays L. and Avena sativa L. *J. Exp. Bot.* 27(100): 992-1003.
- MATTOO, A.K., BAVER, J.E., CHALUTZ, E. y LIEBERMAN, M. (1977). Effects of temperature on the ethylene synthesizing systems in apple, tomato and Penicillium digitatum. *Plant Cell Physiol.* 18: 715-719.
- MATTOO, A.K. y LIEBERMAN, M. (1977a) Evidence that the ethylene-synthesizing enzyme in plants is associated with a cell membrane complex. *Fed. Proc.* 36: 703.
- MATTOO, A.K. y LIEBERMAN, M. (1977b). Localization of the ethylene-synthesizing system in apple tissue. -- *Plant Physiol.* 60: 794-799.
- MAYER, A.M. y POLJAKOFF-MAYBER, A. (1963). The germination of seeds. En: International Series of Monographs on Pure and applied Biology. Plant Physiology Division. Pergamon Press. New York.
- MAYER, A.M. y POLJAKOFF-MAYBER, A. (1975). The germination of seeds. 2nd Ed. Elmsford, New York. Pergamon Press.
- MAYER, A.M. y SHAIN, Y. (1974). Control of seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25: 167-193.
- MCWHA, J.A. (1975). Changes in abscisic acid levels in developing grains of wheat (Triticum aestivum L.). *J. Exp. Bot.* 26: 823-827.

- MEHARD, C.W. y LYONS, J.M. (1970). A lack of specificity for ethylene-induced mitochondrial changes. *Plant Physiol.* 46: 36-39.
- MEHERIUK, M. y SPENCER, M. (1964). Ethylene production during germination of oat seeds and Penicillium digitatum. *Can. J. Bot.* 42: 337-340.
- MELANSON, D.L. e INGLE, J. (1978). Regulation of ribosomal RNA accumulation by auxin in artichoke tissue. *Plant Physiol.* 62: 761-765.
- MILBORROW, B.V. (1967). The identification of (+)-abscisin II [(+)-dormin] in plants and measurement of its concentrations. *Planta.* 76: 93-113.
- MILBORROW, B.V. (1974). The chemistry and physiology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25: 259-307.
- MILBORROW, B.V. y ROBINSON, D.R. (1973). Factors affecting the biosynthesis of abscisic acid. *J. Exp. Bot.* 24: 537-548.
- MONDAL, M.H. (1975). Effects of gibberellic acid, calcium, kinetin and ethylene on growth and cell wall composition of pea epicotyls. *Plant Physiol.* 56: 622-625.
- MOORE, T.C. y ECKLUND, P.R. (1975). En: *Gibberellins and Plant Growth* (H. N. Krishnamoorthy ed.) pp. 145-182. Wiley. New York.
- MORGAN, P.W., KETRING, D.L., BEYER, E.M. Jr. y LIPE, J.A. (1970). Functions of naturally produced ethylene in abscission, dehiscence and seed germination. *Plant Growth Substances. 1970.* (D.J. Carr ed.) Proc. 7th Intern. Conf. Plant Growth Substances, pp.502-509. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, New York.
- MORRE, D.J. y MOLLENHAUER, H.H. (1974). The endomembrane concept. En: *Dynamic aspects of plant ultrastructure* (A.W. Robards ed.) pp. 84-137, McGraw-Hill, London.
- NOOR-SALEH, A. y HEMBERG, T. (1980a). The influence of kinetin on the endogenous content of indolacetic acid in swelling seeds of Phaseolus, Zea and Pinus and young plants of Phaseolus. *Physiol. Plant.* 50:99-102.

- NOOR-SALEH, A. y HEMBERG, T. (1980b). The effect of kinetin - on the level of an indoleacetylaspartic acid like substance in germinating seeds and young plants - of Phaseolus vulgaris. *Physiol. Plant.* 50: 103---106.
- ODAWARA, S., WATANABE, A. e IMASEKI, H. (1977). Involvement - of cellular membrane in regulation of ethylene - production. *Plant Cell Physiol.* 18: 569-575.
- OHKUMA, K., LYON, J.L., ADDICOTT, F.T. y SMITH, O.E. (1963). - Abscisin II, an abscission-accelerating substance from young cotton fruit. *Science.* 142: 1592-1593.
- PALEVITCH, D. y THOMAS, T.H. (1975). Enhancement of gibbere--llin activity by ethylenediaminetetraacetic acid in celery seeds and embryoless barley seeds. -- *Physiol. Plant.* 34: 134-137.
- PATE, J.S., SHARKEY, P.J. y LEWIS, O.A.M. (1974). Phloem - bleeding from legume fruits. Technique for study of fruit nutrition. *Planta.* 120: 229-243.
- PINFIELD, N.J. y STOBART, A.K. (1972). Hormonal regulation of germination and early seedling development in Acer pseudoplatanus. *Planta.* 104: 134-145.
- POGGI-PELLEGRIN, M.C. y BULARD, C. (1976). Interactions be--tween abscisic acid, gibberellins and cytokinins in Grand Rapids lettuce seeds germination. *Physiol. Plant.* 36: 40-46.
- RAUSSENDORF-BARGEN, G. von (1962). Indole derivatives in the apple. *Planta.*(Berl.). 58: 471-482.
- RAY, P.M. (1977). Auxin-binding sites of mayze coleoptiles - are localized on membranes on the endoplasmic re--ticulum. *Plant Physiol.* 59: 594-599.
- REID, J.S.G. (1971). Reserve carbohydrate metabolism in ger--minating seeds of Trigonella foenum-graecum L. - (Leguminosae). *Planta.* 100: 131-142.
- RIOV, J. y YANG, S.F. (1981). Autoinhibition of ethylene for--mation in citrus peel discs. Suppression of l-ami--no-cyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) synthesis. *Plant Physiol.* 67(Suppl): 282.

- RODRIGUEZ, D., NICOLAS, G., ALDASORO, J., HERNANDEZ-NISTAL, J., BABIANO, J. y MATILLA, A. (1985). Altered development of polysomal activity in chick-pea embryonic axes. Effect of ABA and temperature. *Planta*. 164: 517-523.
- RUGE, U. (1947). Untersuchungen über keimungsfördernde Wirkstoffe. *Planta*. 35: 297-318.
- SAKAI, S. e IMASEKI, H. (1971). Auxin-induced ethylene production by mung bean hypocotyl segments. *Plant Cell Physiol*. 12: 349-359.
- SAKAI, S. e IMASEKI, H. (1973). Properties of the proteinaceous inhibitor of ethylene synthesis: action on ethylene production and indoleacetylaspertate formation. *Plant Cell Physiol*. 14: 881-892.
- SALVEIT, M.E. y DILLEY, D.R. (1978). Rapidly induced wound ethylene from excised segments etiolated *Pisum sativum* L. cv. Alaska. I. Characterization of the response. *Plant Physiol*. 61: 447-450.
- SALVEIT, M.E. y PHARR, D.M. (1980). Light-stimulated ethylene production by germinating cucumber seeds. *J. Am. Hort. Sci.* 105: 364-367.
- SANDSTEDT, R. (1971). Cytokinin activity during development of cotton fruit. *Physiol. Plant*. 24: 408-410.
- SATOH, S. y ESASHI, Y. (1981). D-Amino-acid-stimulated ethylene production: Molecular requirement for the stimulation and a possible receptor site. *Phytochemistry*. 20: 947-949.
- SATOH, S. y ESASHI, Y. (1982). Effects of  $\alpha$ -aminoisobutyric acid and D- and L-aminoacids on ethylene production and content of L-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in cotyledonary segments of cocklebur seeds. *Physiol. Plant*. 54: 147-152.
- SCHNEIDER, E.A. y WIGHTMAN, F. (1978). Auxins. En: *Phytohormones and related compounds: A comprehensive Treatise*. vol. I. (D.S. Letham, P.B. Goodwin y T.J.V. Higgins, eds.). pp. 29-105. Elsevier/North-Holland Biomedical Press., Amsterdam.
- SCHONBECK, M.W. y EGGLEY, G.H. (1980). Effects of temperature, water potential and light on germination responses of reedroot pigweed seeds to ethylene. *Plant Physiol*. 65: 1149-1154.

- SCHULZE, A. y BANDURSKI, R.S. (1976). Concentrations of indole-3-acetic acid and its derivatives in selected plant species. *Plant Physiol.* 57: Supp. 30.
- SEMBDNER, G., WEILAND, J., AURICH, O. y SCHRIEBER, K. (1968). En: *Plant Growth Regulators, Soc. Chem. Ind. Monograph. No. 31*, pp. 70-86. London.
- SEYEDIN, N., BURRIS, J.S., LaMOTTE, C.E. y ANDERSON, I.C. (1982). Temperature-dependent inhibition of hypocotyl elongation in some soybean cultivars: I. Localization of ethylene evolution and role of cotyledons. *Plant Cell Physiol.* 23: 427-431.
- SHINGO, S. e IMASEKI, H. (1971). Auxin-induced ethylene production by mungbean hypocotyl segments. *Plant Cell Physiol.* 12: 349-359.
- SIMON, E.W. (1974). Phospholipids and plant membrane permeability. *New Phytol.* 73: 377-420.
- SKENE, K.G.M. (1970). The gibberellin of developing bean seeds. *J. Exp. Bot.* 21: 236-246.
- SKENE, K.G.M. y CARR, D.J. (1961). A quantitative study of the gibberellin content of seeds of Phaseolus vulgaris at different stages in their development. *Aust. J. Biol. Sci.* 14: 13-25.
- SONDHEIMER, E., GALSON, E.C., TINELLI, E. y WALTON, D. (1974). The metabolism of hormones during seed germination and dormancy. IV. The metabolism of (S)-2-<sup>14</sup>C abscisic acid in ash seed. *Plant Physiol.* 54: 803-808.
- SONDHEIMER, E., TZOU, D.S. y GALSON, E.C. (1968). Abscisic acid levels and seed dormancy. *Plant Physiol.* 43: 1443-1447.
- SPENCER, M. y OLSON, A.O. (1965). Ethylene production and lipid mobilization during germination of castor beans. *Nature (London)*. 205: 699-700.
- SPIEGEL, S., OBENDORF, R.L. y MARCUS, A. (1975). Transcription of ribosomal and messenger RNAs in early wheat embryo germination. *Plant Physiol.* 56: 502-507.
- STEEN, D.A. y CHADWICK, A.V. (1973). Effects of cycloheximide on indoleacetic acid-induced ethylene production in pea root tips. *Plant Physiol.* 52: 171-173.

- STODDART, J.L., BREIDENBACH, W., NADEAU, R. y RAPPAPORT, L. (1974). Selective binding of tritium-labeled gibberellin A<sub>1</sub> by protein fractions from dwarf pea epicotyls. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71: 3255-3259.
- STOKES, P. (1965). Temperature and sees dormancy. Encyclop. - Plant Physiol. XV/2: 746-803.
- TAKAYANAGI, K. y HARRINGTON, J.F. (1971). Enhancement of germination rate of aged seeds by ethylene. Plant -- Physiol. 47: 521-524.
- THIMANN, K.V. (1977). En: The Physiology and Biochemistry of seed dormancy and germination. (A.A. Khan ed.) - Elsevier/North-Holland Biomedical Press.
- THOMAS, T.H. (1977). Cytokinins and cytokinin-active compounds En: The Physiology and Biochemistry of seed dormancy and germination. (A.A. Khan ed.) Elsevier/North Holland. Biomedical Press.
- THOMAS, T.H. y KHAN, A.A. (1976). Localization of cytokinins and gibberellins in wheat seeds before and during imbibition. Plant Physiol. 57: Supp. 398.
- THOMAS, T.H., PALEVITCH, D., BIDDINGTON, N.L. y AUSTIN, R.B. (1975). Growth regulators and the phytochrome-mediated dormancy of celery seeds. Physiol. Plant. 35: 101-106.
- VACHA, G.A. y HARVEY, R.B. (1927). The use of ethylene, propylene, and similar compounds in breaking the rest - periods of tubers, bulbs, cuttings and seeds. -- Plant Physiol. 2: 187-194.
- VAN STADEN, J. (1973). Changes in endogenous cytokinins of -- lettuce seed during germination. Physiol. Plant. 28: 222-227.
- VAN STADENT, J. y WAREING, P.F. (1972). The effect of photo-- period on levels of endogenous cytokinins in Xanthium strumarium. Physiol. Plant. 27: 331-337.
- VARGA, A. y BRUINSMA, J. (1974). Growth and ripening of tomato fruits of different levels of endogenous cytokinins. J. Hort. Sci. 49: 135-142.

- VILLIERS, T.A. (1972). En: Seeds Biology. (T.T. Kozlowski ed.) vol. II, pp. 220-281. Academic Press, New York - and London.
- WALTON, D.C. (1966). Germination of Phaseolus vulgaris. I. - Resumption of axis growth. *Plant Physiol.* 41:298-302.
- WALTON, D.C. (1977). Abscisic acid and seed germination. En: The Physiology and Biochemistry of seed dormancy and germination. (A.A. Khan ed.) Elsevier/North--Holland Biomedical Press.
- WALTON, D.C. (1980). Biochemistry and Physiology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 31: 453-489.
- WALTON, D.C. (1980/81). Does ABA play a role in seed germination? *Israel J. Bot.* 29: 168-180.
- WALTON, D.C., COTE, P. y HARRISON, M.A. (1976). The effects - of water stress on abscisic acid levels and metabolism in roots of Phaseolus vulgaris L. and -- other plants. *Planta.* 131: 141-144.
- WAREING, P.F. y SAUNDERS, P.F. (1971). Hormones and dormancy. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 22: 261-288.
- WEBB, D. P. y WAREING, P.F. (1972). Seed dormancy in Acer. Endogenous germination inhibitors and dormancy in - Acer pseudoplatanus L. *Planta.* 104: 115-125.
- WHEELER, A.W. (1972). Changes in growth substance contents - during growth of wheat grains. *Ann. Appl. Biol.* - 72: 327-334.
- WOOD, A., PALEG, L.G. y SPOTSWOOD, T.M. (1974). Hormone-phos--pholipid interaction. Possible hormonal mechanism of action in the control of membrane permeability. *Aust. J. Plant Physiol.* 1: 167-169.
- WRIGHT, S.J.C. (1980). The effect of plant growth regulator - treatments on the levels of ethylene emanating -- from excised turgid and wilted wheat leaves. *Plan--ta.* 148: 381-388.
- YANG, S.F. (1981). Biosynthesis of ethylene and its regula---tion. En: Recent Advances in the Biochemistry of fruits and vegetables, (J. Friend and M.J.C. Rhodes eds.). pp. 89-106. Academic Press. London.

- YOSHII, H. e IMASEKI, H. (1981). Biosynthesis of auxin-induced ethylene. Effects of indole-3-acetic acid, benzyladenine and abscisic acid on endogenous levels of l-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) and ACC-synthase. *Plant Cell Physiol.* 22: 369-379.
- YOSHII, H. e IMASEKI, H. (1982). Regulation of auxin-induced ethylene biosynthesis. Repression of inductive formation of l-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase by ethylene. *Plant Cell Physiol.* 23: 639-649.
- YOSHII, H., WATANABE, A. e IMASEKI, H. (1980). Biosynthesis of auxin-induced ethylene in mung bean hypocotyls. *Plant Cell Physiol.* 21: 279-291.
- YU, Y.B., ADAMS, D.O. y YANG, S.F. (1979a). Regulation of auxin-induced ethylene production in mung bean hypocotyls. Role of l-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid. *Plant Physiol.* 63: 589-590.
- YU, Y.B., ADAMS, D.O. y YANG, S.F. (1979b). l-Aminocyclopropane-carboxylate synthase, a key enzyme in ethylene biosynthesis. *Arch. Biochem. Biophys.* 198: 280-286.
- YU, Y.B. y YANG, S.F. (1979). Auxin-induced ethylene production and its inhibition by amino-ethoxyvinylglycine and cobalt ion. *Plant Physiol.* 64: 1074-1077.
- YU, Y.B. y YANG, S.F. (1980). Biosynthesis of wound ethylene. *Plant Physiol.* 66: 281-285.
- YU, Y.B., YANG, S.F., CORSE, J., KUHNLE, J.A. y HUA, S. (1981). Structures of cytokinins influence synergistic production of ethylene. *Phytochemistry.* 20: 1191-1195.
- YUNG, K.H., YANG, S.F. y SCHLENK, F. (1982). Methionine synthesis from S-methylthioribose in apple tissue. *Biochem. Biophys. Res. Comun.* 104: 771-777.
- ZENK, M.H. (1964). En: *Regulateurs naturels de la croissance vegetale.* (Nitech, J.P. ed.) Paris. Coll. Int. CNRS. No. 123, pp. 241-250.
- ZERONI, M., GALIL, J. y BEN-YEHOSHUA, M. (1976). Autoinhibition of ethylene formation in nonripening stages of the fruit of sycomore fig (*Ficus sycomorus* L.) *Plant Physiol.* 57: 647-650.

ZIMMERMAN, R.H., LIEBERMAN, M. y BROOME, O.C. (1977). Inhibitory effect of a rhizobitoxine analog on bud -- growth after release from dormancy. *Plant Physiol.* 59: 158-160.

ZURFLUH, L.L. y GUILFOYLE, T.J. (1980). Auxin-induced changes in the patterns of protein synthesis in soybean - hypocotyl. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77:357-361.

## ADDENDA

- BURG, S.P. y BURG, E.A. (1966). The interaction between auxin and ethylene and its role in plant growth. Proc. math. Acad. Sc. (U.S.A. 55: 262-269.
- BURG, S.P. y BURG, E.A. (1967) Molecular requirements for - the biological activity of ethylene. Plant Physiol. - 42: 144-152.
- LAGERSTEDT, H.B. y LANGSTON, R.G. (1967). The mobilizing force of kinetin. Life Sci. 6: 147-149.
- MORGAN, P.W. y GAUSMAN, H.W. (1966). Effects of ethylene on auxin transport. Plant physiol. 41: 45-52.
- PILET, P.E. (1965). Action of gibberellic acid on auxin transport. Nature (Lond.) 208: 1344-1345.
- PILET, P.E. (1971). Abscisic acid action on basipetal auxin transport. Physiol. Plant. 25: 28-31.
- VALDOVINOS, J.G. ERNEST, L.C. y HENRY, E.W. (1967). Effect of ethylene and gibberellic acid on auxin synthesis in - plant tissues. Plant Physiol. 42: 1803-1806.