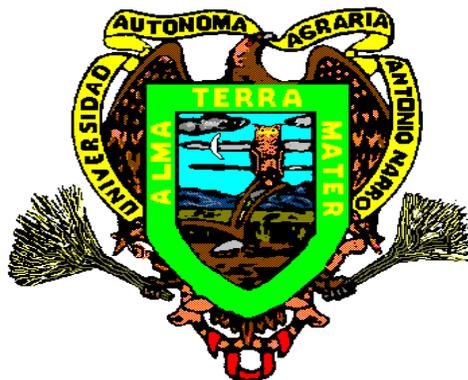


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMIA**



**ESTUDIOS ECOFISIOLÓGICOS EN PLANTAS MEDICINALES:
ROMPIMIENTO DE LATENCIA EN SEMILLAS DE *Calendula officinalis* L.
(Asteraceae Tribu: Calenduleae)**

POR.

JESÚS CAVAZOS CANO

TESIS

**Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:
Ingeniero en Agrobiología**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Febrero del 2003

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMIA**

**ESTUDIOS ECOFISIOLÓGICOS EN PLANTAS MEDICINALES:
ROMPIMIENTO DE LATENCIA EN SEMILLAS DE *Calendula officinalis* L.
(Asteraceae Tribu: Calenduleae)**

POR.

JESÚS CAVAZOS CANO

TESIS

**QUE SE SOMETE A CONSIDERACION EL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISTO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA.**

**M. C. LEOPOLDO ARCE GONZÁLEZ
PRESIDENTE DEL JURADO**

**Dr. JESÚS VALDEZ REYNA
SINODAL**

**BIOL. M. TERESA RUIZ DE LEON
SINODAL**

**BIOL. MARIA EUGENIA DEMESA ECHEVERRIA
SINODAL**

**M.C. LEOPOLDO ARCE GONZÁLEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, FEBRERO DEL 2003

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, por su infinita bondad y por darme la oportunidad de vivir para superarme y cumplir mis objetivos.

A mi Alma Mater que me dio muchas satisfacciones y enseñanzas que siempre tendré presente.

Al M.C. Leopoldo Arce González porque siempre tuvo la disponibilidad de ayudarme, enseñarme y aconsejarme en toda mi carrera.

Al Dr. Jesús Valdez Reyna por sus valiosas aportaciones en este trabajo y por su disponibilidad para el mismo.

A la Biol. Maria Teresa Ruiz De León. Por su participación y apoyo en este trabajo.

A la Bióloga. Maria Eugenia Demesa Echeverría por ser siempre tan amable y por participar en este trabajo.

A mi novia Rocío Villalpando Gutiérrez por su amor, por que siempre me ha apoyado en todos los aspectos y por que ocupa un lugar muy importante en mi vida.

A mis compañeros de la primera generación de Ingenieros en
Agrobiología:

Rocío, Daniela, Jessica, Gabriela, Marla, Emilio, Wilfred, Eduardo,
Tadeo, Fernando, Antonio, Pepe, Carlos, Atilano, Rodolfo, Ángel, Mariano,
Jaime, Francisco, Juan Luis, Gerardo.

A mis amigos Emilio, Eduardo y Wilfred por que siempre hemos estado unidos en las buenas y en las malas.

DEDICATORIAS

A mis Padres:

Maria Alicia Cano Cuevas y Jesús S. Cavazos Jasso a los que quiero con todo mi corazón y que en ningún momento dudaron en ayudarme y aconsejarme para que pudiera salir adelante siempre siendo honesto y respetando a los demás.

Gracias espero poderles pagar un poco de lo mucho que me han dado.

A mis Hermanos:

Rosa Luz: Por su cariño y simpatía que siempre la caracterizado y por desearme siempre lo mejor Gracias nena.

Noe: Por que siempre has salido adelante y por que se que lo que te propones lo logras sigue así hermano y nunca pierdas el buen humor.

A mi Amigo Miguel Castro Hoy.

Por ser una persona muy noble que siempre esta dispuesto a ayudar a los demás sin ningún interés.

A mis Familiares.

Abuelos, Tíos, Primos, Sobrinos a todos por ser una gran Familia.

RESUMEN

La importancia de estudios ecofisiológicos sobre plantas medicinales en México es de gran importancia. Por lo anterior el presente trabajo tiene como objetivo determinar mediante pruebas de germinación el mejor método para romper la latencia en semillas de *Calendula officinalis* L. bajo condiciones de laboratorio.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar de 10 tratamientos con 3 repeticiones cada uno, dichos tratamientos fueron:

1) Testigo (0 días de preenfriamiento, sin nitrato de potasio, sin luz y temperatura ambiente), 2) (0 días de preenfriamiento, con KNO_3 , sin luz y temperatura ambiente), 3) (10 días de preenfriamiento, sin KNO_3 , sin luz y temperatura ambiente), 4) (10 días de preenfriamiento, sin KNO_3 , con luz y temperatura ambiente), 5) (10 días de preenfriamiento, sin KNO_3 , sin luz y temperatura controlada), 6) (10 días de preenfriamiento, con KNO_3 , sin luz, temperatura ambiente), 7) (15 días de preenfriamiento, sin KNO_3 , sin luz y temperatura ambiente), 8) (15 días de preenfriamiento sin KNO_3 , con luz, y temperatura ambiente), 9) (15 días de preenfriamiento, sin KNO_3 , sin luz y temperatura controlada), 10) (15 días de preenfriamiento, con KNO_3 , sin luz y temperatura ambiente).

Se concluye que el mejor tratamiento para romper la latencia fue el de diez días de preenfriamiento, sin nitrato de potasio, con luz y a temperatura ambiente con un porcentaje de germinación de 83%.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Capítulo:	Pag.
AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS.....	iii
RESUMEN.....	iv
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE GRAFICAS.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Concepto de semilla.....	3
2.2. Germinación.....	3
2.3. Desarrollo de plántulas.....	6
2.4. Vigor de la semilla.....	9
2.5. Latencia en semillas.....	10
2.6. Tratamientos básicos para romper latencia.....	13
2.7. Nutrimentos en relación a la calidad de semillas.....	14
2.8. Hongos presentes en semillas.....	19
2.9. Daños causados por hongos en semillas.....	20
2.10. Características de <i>Calendula officinalis</i> L.....	21
2.11. Descripción botánica.....	22
2.12. Composición química.....	22

2.13. Usos y propiedades terapéuticas.....	23
2.14. Recolección.....	24
2.15. Semillas.....	24
2.16. Procesamiento del material recolectado.....	25
2.17. Especificaciones de calidad.....	26
2.18. Preparaciones y dosis.....	28
2.19. Compuestos aislados más comunes.....	29
2.20. Actividad biológica.....	30
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1. Ubicación del experimento.....	31
3.2. Materiales.....	31
3.3. Origen de la semilla.....	32
3.4. Experimentos preeliminares.....	32
3.5. Descripción de los tratamientos.....	32
3.6. Variables evaluadas.....	33
3.7. Índice de velocidad de emergencia.....	33
3.8. Longitud media de plúmula y radícula.....	34
3.9. Porciento total de germinación.....	34
3.10. Análisis estadístico.....	34
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
V. CONCLUSIONES.....	42
VI. LITERATURA CITADA.....	44

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pag.
1. Análisis de varianza para la variable longitud de radícula en plántulas de Caléndula (<i>Calendula officinalis</i> L) bajo condiciones de laboratorio.....	36
2. Comparación de medias por el método tukey al 0.01% en los tratamientos, para la variable longitud de radícula en semillas de Caléndula.....	37
3. Análisis de varianza para la variable longitud de plúmula en plántulas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.....	39
4. Comparación de medias por el método Tukey en los tratamientos, para la para la variable longitud de plúmula en plántulas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.....	39
5. Análisis de varianza para la variable porciento de germinación en plántulas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio	42
6. Comparación de medias por el método Tukey para los tratamientos, en la variable porciento de germinación en semillas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.....	43

INDICE DE GRAFICAS

Grafica	Pag.
1. Comparación de los tratamientos para la variable longitud de radícula en plántulas de caléndula bajo condiciones de laboratorio.....	38
2. Longitud de plúmula en plántulas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.....	40
3. Índice de velocidad de emergencia en semillas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.....	41
4. Porciento de germinación en semillas de caléndula para los tratamientos, bajo condiciones de laboratorio.....	43

ESTUDIOS ECOFISIOLÓGICOS EN PLANTAS MEDICINALES:

ROMPIMIENTO DE LATENCIA EN SEMILLAS DE *Calendula officinalis* L.

(Asteraceae Tribu: Calenduleae)

I. INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas medicinales por el hombre desde su establecimiento y hasta nuestros días, nos hace ver la importancia que éstas han tenido a través del tiempo. A pesar de que en México se tienen una gran cantidad de plantas que se utilizan como medicinales (cerca de 5,000), no en todas las estaciones de año se pueden encontrar éstas. Frecuentemente la situación de escasez o no existencia de las plantas en su área de distribución natural o en sus lugares de venta; por tal razón es importante tener disponible plantas medicinales, en cualquier época del año, en cualquier lugar y al alcance de todas las personas, sobre todo las de bajos recursos económicos, de ahí la importancia de introducir a cultivo las plantas medicinales. Uno de los aspectos más importantes a considerar para introducir una especie al cultivo es la capacidad de germinación, es decir, conocer los factores que intervienen para que una semilla pueda germinar, esto nos indica con qué facilidad puede esa especie establecerse bajo determinadas condiciones ecológicas. (Díaz, 1976). La *Calendula officinalis* L. es una especie de interés en la agronomía por sus propiedades medicinales y por el hecho de que puede ser una planta de ornato por sus flores muy vistosas. (Por lo que el presente trabajo trata de contribuir a el conocimiento ecofisiológico de plantas medicinales, principalmente algunos

aspectos de la germinación y propiedades medicinales de *Calendula officinalis* L.).

OBJETIVO

Determinar mediante diferentes pruebas de germinación, el mejor método para romper la latencia en semillas de *Calendula officinalis* L.

HIPOTESIS

Las semillas de *Calendula officinalis* L. rompen su latencia más rápido para estimular la germinación al utilizar el método con nitrato de potasio al 0.2%.

III. REVISION DE LITERATURA

2.1. Concepto de semilla

En términos económicos y comerciales, se conoce como semilla a toda clase de granos, frutos y estructuras más complejas (unidad semilla) que se emplean en las siembras agrícolas, y desde el punto de vista botánico, una semilla verdadera es un embrión en estado latente, acompañado o no del tejido nutricional y protegido por el epispermo.(Moreno, 1996).

2.2. Germinación

Las pruebas de germinación tienen el objetivo de obtener información con respecto a la capacidad de las semillas para producir plántulas normales. Además, estas permiten hacer comparaciones del poder germinativo entre diferentes lotes de semillas de la misma especie. (Moreno, 1984). El proceso de germinación incluye: imbibición del agua, activación enzimática, iniciación del crecimiento del embrión, ruptura de la cubierta de la semilla y emergencia de la planta. La imbibición de agua, es el primer evento que ocurre durante la germinación y se refiere a la absorción del agua por la semilla. El grado de absorción depende de tres factores: a) composición química de la semilla, ya que el componente principal responsable de la imbibición son las proteínas, que son moléculas complejas que exhiben cargas positivas y negativas que atraen a las moléculas de agua altamente cargadas. b) Otras moléculas que incrementan la imbibición son la celulosa y las pectinas. Asimismo la

permeabilidad de la cubierta que puede actuar como una membrana semipermeable, permitiendo la entrada de otras sustancias. c) Además depende de la disponibilidad de agua en el medio de germinación, dependiente del agua celular. (USDA, 1984).

Hartmann y Kester (1995) consideran que para que se inicie la germinación se necesita que:

- a) La semilla sea viable; es decir, que tenga un embrión vivo capaz de germinar.
- b) No deben existir barreras fisiológicas, físicas y químicas que induzcan al letargo e inhiban la germinación.
- c) Debe estar expuesta a condiciones ambientales adecuadas que favorezcan la germinación.

Conocer el poder germinativo de las semillas es indispensable en toda producción, no solo para conocer su estado, si no también para calcular la cantidad a emplear en la superficie y fijar mejor la época de siembra (Lamonarca, 1978).

Generalmente la viabilidad es afectada por diversos factores tales como otras especies, medio ambiente, forma y medio de almacenamiento. Este factor es variable entre las especies en un rango muy pequeño (Barnes, 1943). En el caso de las semillas de *Calendula officinalis* L. la viabilidad conocida es de cinco a diez años. (Fernández, 1996)

Una semilla se considera de buena calidad cuando tiene la capacidad de germinar bajo condiciones convenientes. Las semillas pierden esta facultad

con la edad y más rápidamente cuando su conservación no es adecuada. Es pertinente asegurarse que las semillas sean de la última cosecha, o al menos que no estén a punto de perder su facultad de germinar como consecuencia de su edad (Cuisance, 1988). Sin embargo, la semilla no tiene el máximo poder germinativo al madurar el fruto, sino algo después, posteriormente lo va perdiendo hasta llegar a cero (Pidi, 1981).

Procesos comunes en la germinación

Camacho (1994) presenta los procesos comunes de germinación e incluye:

- Imbibición de la semilla.
- Desaminación de los aminoácidos del eje embrionario.
- Utilización en la glicólisis de los monómeros obtenidos a partir de los aminoácidos.
- Reducción de los nucleótidos de la piridina mediante la pentosa fosfatada y la glicólisis.
- Oxidación de nucleótidos de la piridina mediante el sistema nitrato reductasa con formación de ATP.
- Asimilación de los monómeros para la elongación celular (este paso es inducido por las auxinas).
- Hidrólisis de los polímeros de los tejidos nutritivos (inducidos por las giberelinas).
- Traslocación de los monómeros de los tejidos nutritivos al eje embrionario; en este punto, el metabolismo de la semilla pasa de una fase predominante anaeróbica a otra aeróbica.

- Aumento de la actividad del ciclo de Krebs.
- Incremento de la transcripción del ADN en el embrión.
- Síntesis de nuevas proteínas en el embrión.
- Replicación del ADN y división celular en el embrión que es inducida por citoquininas.
- Incremento en la respiración y síntesis de nuevas proteínas en el embrión, para que por ultimo se inicie un crecimiento visible con la emisión de la radícula.

2.3. Desarrollo de la plántula

Son plántulas normales aquellas que poseen las estructuras esenciales para producir, en suelo de buena calidad preparado en laboratorio, o bajo condiciones favorables de agua, luz y temperatura. (Moreno, 1996).

Cuando la prueba de germinación se realizó en sustrato artificial, se consideran plántulas normales a aquellas que presentan las siguientes características:

- 1.- Sistema radicular bien desarrollado, incluyendo raíz primaria, excepto para aquellas plantas, por ejemplo gramíneas, que normalmente presentan raíces seminales o primarias, de las cuales deben estar presentes por lo menos dos.
- 2.- En monocotiledóneas el hipocótilo bien desarrollado e intacto y/o un epicótilo sin daño en el tejido conductor y en las dicotiledóneas una plúmula normal.
- 3.- Plúmula intacta en las gramíneas, que deben presentar una hoja verde bien desarrollada dentro, o emergiendo del coleóptilo.
- 4.- Un cotiledón en monocotiledóneas y dos en dicotiledóneas.

También se consideran plántulas normales aquellas que presentan los siguientes defectos ligeros, siempre y cuando el resto de las estructuras vitales de la plántula presente un desarrollo vigoroso y balanceado:

1.- Plántulas de todas las especies la familia del algodón Malvaceae, de la calabaza Cucurbitaceae, del maíz Poaceae, y todas las de la familia del frijol Fabaceae de semilla grande (*Pisum, Vicia, Phaseolus, Lupinus, Arachis*) que presentan una raíz primaria dañada, pero con raíces adventicias y laterales lo suficientemente largas y vigorosas para sostener la plántula en el suelo.

2.- Plántulas con daño superficial o deterioro en el hipocótilo, epicótilo o cotiledones, siempre y cuando el daño no afecte los tejidos conductores.

3.- Plántulas dicotiledóneas que presentan solamente un cotiledón sano.

4.- Se consideran plántulas normales aquellas que estén invadidas por hongos o bacterias, siempre y cuando sea evidente que la fuente de infección no es la misma semilla, y que están presentes las estructuras esenciales (Moreno, 1996)

Las semillas algunas veces se dividen en tres clases, de acuerdo con su viabilidad bajo las mejores condiciones posibles, pueden ser: a) microbióticas

(de 3 años, o menos de vida), b) mesobiótica (de 3 a 15 años) o c) macrobióticas (mas de 15 años). (USDA, 1984).

Oranday (1973), considera que para que una semilla pueda germinar son necesarias diversas condiciones que se agrupan en intrínsecas y extrínsecas.

Las intrínsecas, se refiere a aquellas propias de las semillas, siendo las principales:

- Que la semilla este normalmente constituida, tanto en su embrión como en sus sustancias de reserva.
- La semilla debe estar madura en cuyo caso el embrión a alcanzado su completo desarrollo.
- El embrión debe estar vivo.
- La semilla debe tener ausencia de latencia.

Las extrínsecas son las condiciones del medio ambiente en el cual van a germinar las semillas y son:

- El aire, agente productor de oxígeno, es indispensable durante toda la vida del embrión, en cuyo estado latente tiene una respiración muy baja; pero en el momento que inicia la germinación, dicha función se hace mas intensa requiriéndose gran cantidad de oxígeno, el cual es necesario para las oxidaciones que son la fuente de energía durante la germinación del embrión.

- El agua además de hidratar el protoplasma de las células, permite la disolución de las sustancias de reserva y transporte de las mismas hacia el embrión. Así mismo, se restablecen, hinchan y se rompen las cubiertas de la semilla, lo que permite la salida de las estructuras del embrión durante la germinación. Sin embargo la humedad del suelo no debe ser excesiva; ya que puede ocasionar una putrefacción o falta de oxigenación.
- La temperatura, es uno de los factores indispensables para toda manifestación vital. La temperatura que se requiere para la germinación es muy variable según la clase de especie que se trate, existiendo una temperatura máxima, una mínima y una óptima para cada una de estas.
- La luz, la acción de esta es variable, algunas especies germinan en la luz, otras lo hacen mejor en la oscuridad.

2.4. Vigor de la semilla

De acuerdo a Barrie y Drenan (1971), el vigor de la semilla es la suma total de los atributos de la semilla que favorecen un establecimiento rápido y uniforme en el campo aun en condiciones desfavorables. Sin embargo los atributos como peso seco de la planta, velocidad de emergencia y germinación de la semilla son dañados por factores adversos, presentando como consecuencia un bajo establecimiento de plántulas en el campo debido al bajo vigor de la semilla.

2.5. Latencia de semillas

La latencia en semillas constituye un mecanismo de control en la germinación de gran importancia en la naturaleza ya que contribuye a la supervivencia y la dispersión natural de la plantas sobre todo en aquellas que se desarrollan en regiones desérticas o frías, donde las condiciones ambientales no son adecuadas para la inmediata germinación (Mc. Donough, 1977). Sin embargo, para el viverista y para el silvicultor que a menudo trabajan con especies cuyas semillas manifiestan algún tipo de latencia, requieren una rápida y uniforme germinación y resulta problemático contar con una semilla que se encuentre en estado de latencia. En este caso es indispensable darle a la semilla algún tratamiento que le permita romper el estado en que se encuentra (Maguirre, 1976).

El preenfriamiento tiene como objeto primordial el de proporcionar la exposición a las bajas temperaturas que con frecuencia se requiere para obtener una germinación rápida y uniforme de la semilla. Este tratamiento es necesario para que germinen las semillas de muchas especies ya que permite que se efectúen cambios fisiológicos en el embrión (Hartmann y Kester, 1980)

La latencia se debe en parte, a sustancias inhibitoras que se desarrollan durante la maduración en el campo y la cantidad de inhibidor producido parece estar influido por las condiciones ambientales. En tiempo seco

y calido, se produce relativamente poca cantidad de sustancias inhibidoras y con su desaparición se alcanza pronto la postmaduración (Thomson, 1979)

La latencia y la germinación se encuentran entre las muchas respuestas de crecimiento que quizá son controladas por el balance entre promotores e inhibidores del crecimiento. Tal balance parece inclinarse a favor de las sustancias inhibidoras durante la maduración de de las semillas, lo cual da como resultado condiciones de reposo (Weaver, 1990)

La ISTA (1985) Indica tres pretratamientos para romper la latencia, 1) luz, 2) preenfriamiento y 3) nitrato de potasio en una temperatura de 20 a 30° C en un tiempo máximo de muestreo después de los pretratamientos de 14 días para el caso de la *Calendula officinalis* L.

Amen (1963) considera la latencia como una forma de cese de crecimiento y ha restringido el término a una suspensión temporal del crecimiento acompañada de una reducción de la actividad metabólica relativamente independiente de las condiciones ambientales.

En 1966 Sussman y Halvorson definieron el término latencia como un estado de detención metabólica, entre un metabolismo normal falso y un estado criptobiótico. Ellos definieron la latencia como “algún periodo de descanso o de interrupción reversible del desarrollo fenológico de un organismo.”

Roberts (1972) la define en forma práctica como el estado en el cual una semilla viable no germina aún cuando se encuentra en condiciones favorables, esto es, cuando se encuentra en baja temperatura, humedad y oxígeno adecuadas.

Khan (1977) menciona que la latencia en las semillas, puede ser debido a una obstrucción mecánica o fisiológica, la cual evita la realización completa del potencial del crecimiento del embrión bajo condiciones moderadas.

Vegis (1964) menciona que los términos letargo y latencia se han utilizado indistintamente, para describir ciertas fases de desarrollo en formas de propagación de plantas, ya sea semillas u órganos que exhiben cambios cíclicos, en Fisiología Vegetal el autor menciona que el término letargo se refiere a la falta de crecimiento de cualquier parte de la planta resultante de los factores inducidos internos o externamente. Por otra parte, los especialistas en semillas definen la latencia en un sentido más amplio como resultado de condiciones internas de la semilla (distintas a la no viabilidad) que impide la germinación (Schopmeyer, 1974; Villiers, 1971). En este sentido una semilla con latencia es aquella que no llega a germinar aunque pueda absorber agua y este expuesta a condiciones favorables de temperatura y concentración de oxígeno.

La AOSA (1975) presenta una distinción entre las semillas duras y semillas con latencia. Las semillas duras incluyen aquellas que no absorben humedad debido a que tienen una cubierta impermeable y las semillas con latencia son aquellas que no llegan a germinar aunque el embrión esté vivo y absorban humedad.

2.6. Tratamientos básicos para romper latencia fisiológica en semillas.

De acuerdo con la ISTA, (1985), los tratamientos para promover la germinación en semillas con latencia fisiológica son:

a).- Almacenamiento en seco.- Este es utilizado en especies en donde la latencia es de corta duración, para lo cual solo se requiere que la semilla sea almacenada en un lugar seco por un periodo de corta duración., para que la latencia pueda ser separada en forma natural.

b).- Preenfriamiento.- las semillas que van a someterse a germinación se colocan en contacto con un sustrato húmedo. Para situarse a una temperatura baja por un periodo previo antes de ser cambiadas a una temperatura optima para germinación. Las semillas agrícolas de hortalizas y flores son comúnmente mantenidas a temperaturas de entre 5-10°C por un periodo inicial de 5 a más de 7 días. En algunos casos se requiere aumentar el periodo de preenfriamiento de acuerdo al comportamiento de las semillas.

c).- Luz.- Las semillas en ensayos de germinación a temperaturas alternas, deberán ser iluminadas cuando menos 8 horas en ciclos de de cada 24 horas durante el período de alta temperatura. La intensidad de la luz debe ser de aproximadamente 750-1250 lux de lámparas de luz blanca. Se recomienda especialmente para ciertas gramíneas tropicales y subtropicales.

d).- Nitrato de potasio (KNO_3).-Este es utilizado en lugar del agua para saturar el sustrato germinativo al inicio de la prueba; se aplica una solución de 0.2 % de KNO_3 . El agua se utiliza para humedecer posteriormente el sustrato.

e).- Ácido giberélico (GA_3).- Este es usado para una gran diversidad de especies que presentan latencia fisiológica. El sustrato germinativo es humedecido con una solución de GA_3 al 0.05%. Cuando la latencia es débil, con un 0.02% de concentración es suficiente; al contrario, cuando es muy fuerte, puede utilizarse hasta una concentración de 0.1%.

2.7. Nutrientes en relación a la calidad de la semilla

Fósforo

Según James (1967) menciona que este elemento se encuentra en forma de iones ortofosfatos, y tiene actividad de primer orden como catalizador metabólico. Los iones fósforo en el líquido citoplasmático de la plantas deben estar en concentraciones suficientes para tener importancia osmótica.

Delvin (1975) indica que este elemento se encuentra en las plantas formando parte de los fosfolípidos y en la formación de ATP, a través del cual se lleva a cabo la actividad de aminoácidos en la síntesis de proteínas.

Bosso y Sarafine (1989), mencionan que el fósforo favorece el crecimiento de la raíz con el consecuente mejoramiento de las condiciones nutritivas de la planta y desarrollo de los frutos y semillas. El fósforo es uno de los macro elementos más importantes para la nutrición de las plantas, debido a la diversidad de funciones y procesos en que interviene, incluyendo actividades metabólicas de la respiración y de carbohidratos, en la síntesis de ácidos ribonucleicos y en la síntesis de proteínas.

Mengel y Kirkby (1982) mencionan que la formación de frutos y semillas es menor en las plantas que sufren una deficiencia de fósforo, además no solo hay bajos rendimientos sino también pobre calidad de frutos y semillas.

Tisdale y Nelson (1982) indican que el efecto del fósforo en la planta se debe a un adecuado suministro en las primeras etapas de la vida de la planta ya que la escasez de este elemento retrasa el crecimiento de las partes productivas. El fósforo también se ha asociado con la pronta madurez de los cultivos, particularmente en cereales, y su carencia es acompañada por una marcada reducción del crecimiento de la planta. Se le considera un elemento esencial en la formación de las semillas y se encuentra en grandes cantidades en frutos y semillas.

Cabido (1970) citado por Moroto (1989), menciona que el ácido fosfórico ocupa una posición central en el metabolismo vegetal, es decir los procesos anabólicos y catabólicos de los hidratos de carbono podrán darse normalmente si los compuestos inorgánicos han sufrido una previa esterilización con ácido fosfórico, el cual desempeña además un importante papel en los procesos de transformación de energía; participa en un importante constituyente de múltiples y significativos compuestos vitales, como la fitina y la lecitina entre otros.

Bolland et al. (1991) mencionan que el efecto del fósforo en la semilla es sobre la planta al final de la producción, por lo tanto se espera hasta un mínimo. Se considera únicamente que el efecto del fósforo en la semilla tiene mayor importancia para el incremento de producción de cosecha de granos.

Potasio.

Goodwin y Mercer (1972) afirman que el potasio, fósforo y calcio de la semilla, son almacenados en forma de fitina y que durante la germinación, existe un marcado incremento en la actividad de varias fosfatasa incluyendo fitasa, cuya actividad en cereales es más en el escutelo y capa de aleurona, resultando en una liberación de cantidades considerables de potasio, calcio y fósforo inorgánico; lo que es importante, porque la liberación de iones inorgánicos puede activar un buen número de enzimas esenciales.

Bosso y Serafíne (1989), indican que el potasio aumenta la posibilidad de conservar los frutos y las semillas, cualidades que son muy apreciadas para fines comerciales.

Rodríguez (1991) menciona que los vegetales ante la deficiencia de potasio pueden desarrollar tallos y consistencia de la planta con menos resistencia física y presentar menor vigor de crecimiento, así como frutos y semillas con menor tamaño y calidad por una deficiencia de síntesis.

Calcio

De acuerdo al National Plant Food Institute. (1990) el calcio influye de la siguiente manera:

- Formación del crecimiento de las raíces primarias.
- Mejora el vigor general de la planta.
- Neutraliza los tóxicos producidos por la planta.
- Estimula la producción de semillas y granos, y cuando existe una deficiencia, las hojas jóvenes de los brotes terminales se encorvan de las puntas y asimismo de los bordes, pareciéndose marchitarse.

Boro

Según el National Plant Food Institute (1990), proporciona las siguientes características en la planta.

- Manifiesta la necesidad de este elemento el tallo roto de apio, la podredumbre del corazón del nabo, así mismo la escasez de boro da por resultado la falta de grano en el maíz.

Sanders y Sevey (1993) indican que la respuesta de los cereales al boro por lo general es baja, al menos que se encuentren en condiciones de altos rendimientos. Así mismo el boro esta involucrado en forma directa o indirecta con muchas funciones de la planta, como lo es el crecimiento de las células en las raíces nuevas y en las puntas de los brotes. Otras incluyen desarrollo de la flor y la semilla y el movimiento de azúcares en la planta.

Bidwell (1983) demostró que la falta de este elemento repercute el transporte y la absorción de los azúcares se reduce mucho la muerte de meristemas y aborto de las flores; resultado del transporte reducido de los azúcares hacia áreas de elevado metabolismo, que es donde más se necesita, las hojas tienden a engrosar y a oscurecerse y los meristemas de vástagos y raíces mueren.

2.8. Hongos presentes en las semillas.

Los hongos son los patógenos más importantes de las plantas, y también los transportados en las semillas. Las bacterias, nemátodos, virus y viroides, así mismo, son acarreadas en las semillas, pero no los micoplasmas ni en las rickettsias. Son organismos heterótrofos, que no pueden sintetizar sus

alimentos como lo hacen las plantas, y tienen que vivir como saprófitos en materia orgánica muerta, o bien como parásitos de otros organismos, entre ellos las plantas de lo que derivan sus nutrimentos.

El éxito de los hongos como fitopatógenos radica en que producen gran cantidad de esporas lo que significa gran cantidad de inóculo que es fácilmente transportado por el viento, algunas veces, por el agua de riego, otras por las gotas de agua que salpican de planta a planta, otras más por los implementos agrícolas y por el hombre a través de las transacciones comerciales con semillas. Otras características de los hongos que los hacen ser los principales causantes de enfermedades de las plantas, a diferencia de los virus y bacterias, es que son capaces de penetrar en diversas maneras, a través de las aberturas naturales, como los hidátodos, los estomas, lenticelas, los micropilos así como heridas de diferente origen. Igualmente, pueden penetrar directamente a través de la cutícula y de la epidermis ya sea mediante fuerza física o de la secreción de enzimas. (Moreno, 1996)

2.9. Daños causados por los hongos en las semillas

Los hongos que se alojan en las semillas causan diferentes daños; si la infección es muy severa, el daño puede ocasionar la muerte del embrión, como es el caso de las especies de *Fusarium* que causan pudriciones de mazorcas de maíz: *Colletotrichum lindemuthianum*, Hensse. en frijol. Con infecciones leves, las semillas no pierden su poder germinativo; sin embargo, si puede verse afectado su vigor. Por lo tanto si llegan a germinar son portadoras

de de los patógenos, lo cual tendrá un efecto determinante en el desarrollo de las enfermedades que son capaces de causar, en condiciones propicias para el patógeno.

Otro efecto importante de la invasión de estos hongos sobre las semillas, es la reducción de su vigor, y por lo tanto el aumento en su predisposición para ser afectadas por otros patógenos que se encuentran entre las semillas y en el suelo. Los hongos que invaden las semillas en el campo reinician su actividad en cuando éstas van a germinar, debido a la humedad presente en el suelo.

Algunos de estos causan pudrición en las semillas y la marchites de las plántulas; tal es el caso de *Diplodia maydis* (Berk) Sacc. y *Drechslera maydis* (Nisiki) Subram. Jain; en maíz, lo mismo puede suceder con los hongos que están en el suelo, y que son atraídos por exudados de semillas, como *Pythium debaryanum* Hensse. y otros hongos involucrados en lo que se conoce como ahogamiento de de las plántulas. (Moreno, 1996).

2.10. Características de *Calendula officinalis* L.

Es un planta originaria de Egipto y su nombre proviene del latín *Calandae* primer día del mes, aludiendo a que florece durante todos los meses, *officinalis* indica el carácter medicinal de esta especie y es conocida también como flor de muerto, mercadela, maravilla y flamenquilla.

Se trata de una planta de flor amarilla o anaranjada que florece de invierno a primavera y es muy agradable por su vivo color. Es anual y de la familia de las Asteraceas y pertenece a la tribu Calenduleae, con tallo erecto, verde y recubierto de pubescencia. Hojas largas y lanceoladas ásperas como el tallo y

flores de color anaranjado, agrupados en capítulos; los pétalos centrales son tubulosos, los periféricos numerosos y de color mas intenso, el fruto es un aquenio curvado espinoso; raíz de forma fusiforme.

Crece en altitudes de 0 a 1000 metros y es una planta cultivada, prefiere un clima templado, resistente a sequías y heladas (tolera hasta -15° C) en verano requiere de humedad, en cuanto al suelo crece desde los calizos o arenosos ricos en materia orgánica y con buen drenaje.

Las semillas contenidas en un gramo son de aproximadamente 115 y el tiempo de germinación es de 2 a 4 semanas. La temperatura óptima de germinación es de 20 a 30° C y en la oscuridad es de 24 a 25° C teniendo un porcentaje de germinación del 85 -87 %.(Fernández 1996).

Por ser una planta cultivada desde la antigüedad existen numerosas variedades, las que se diferencian fundamentalmente por el tamaño, coloración y por la complejidad de la corola; desarrollando un ciclo de aproximadamente 4 a 5 meses. (Fuentes y Acosta 1986).

2.11. Descripción botánica

Planta herbácea, anual, robusta, de tallos erectos o trepadores, angulosos, ramificados en la parte inferior, vellosos, de 20 a 25 centímetros de altura; hojas alternas, enteras o ligeramente dentadas, oblongas, lanceoladas y vellosas; flores amarillas o anaranjadas, olorosas, en capítulos solitarios

erectos, de 2 a 5 centímetros de diámetro, fruto es un aquenio curvado espinoso; raíz de forma fusiforme. (Fernández, 1996).

2.12. Composición química

El contenido químico en las inflorescencias de la caléndula existe en numerosas referencias, entre otros componentes que, se han detectado son; la presencia de aceites esenciales en 0,2 a 0,3 %, ácido salicílico, ácido fenólico, esteroides, carotenoides muy abundantes (caroteno = carotina $C_{26} H_{38}$), glucósidos, flavonoides, taninos, un principio amargo llamado calendulina (substancia mucilaginoso), una saponina triterpénica, pigmentos, xantofilas, mucílagos, umbeliferona, esculetina y escopoletina, etcétera. (Claus y Tyler 1970)

2.13. Usos y propiedades terapéuticas.

Las cabezuelas o las flores liguladas de caléndula son ampliamente utilizadas por sus propiedades antiinflamatorias, espasmódicas, emenagogas, colagogas, sedativas, sudoríficas, vulnerarias y bactericidas contra las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus fecalis*; los extractos de las flores se recomiendan en el tratamiento de leucorrea. En aplicación interna se usa también para estimular la actividad hepática y por tanto la secreción biliar, en tratamiento de úlceras gástricas; y externamente la decocción, tintura o pomada se emplea en escoriaciones, úlceras varicosas, erupciones cutáneas. Se usa en forma de infusión como componente de té compuesto, en forma tópica, en tintura, y para la preparación de medicamentos tales como gel antiulceroso,

supositorios vaginales y emulsión acuosa para el tratamiento de afecciones de la piel. En Francia se reporta la actividad antitumoral y citotóxica de los extractos de caléndula, además de su uso medicinal se refiere su empleo en cosméticos, en la preparación de champuces, cremas y como colorante y en la industria alimentaría en la confección, fabricación de galletas, caramelos, licores, colorante natural de la mantequilla o como sucedáneo azafrán. (Boueaud et al, 1988)

2.14. Recolección

Inflorescencias: Cuando un 10 % de la plantación presenta estado de floración, se inicia la recolección, esto ocurre alrededor de los 70 días de la siembra o entre 40 y 50 días después del trasplante.

Para un mejor aprovechamiento, se recogen las cabezuelas con pedúnculo corto (2 a 3 cm.), en forma escalonada, es decir, a medida que las flores abren por completo, cada 5 a 7 días, en tiempo soleado y después de eliminado el rocío. Durante la etapa productiva se efectúan 10 recolecciones, siendo más frecuente al principio, mientras que al final del período las flores son de menor diámetro. En el momento de máxima producción, se necesitan unos 7 obreros para la cosecha de 1 hectárea en una jornada.

2.15. Semillas

Para la cosecha de semillas, la colecta se inicia a los 90 días de la siembra o a los 100 días del trasplante, también se recolectan con frecuencias de 5 a 7 días, se recogen solo aquellas donde las flores liguladas han decaído. Con lo que se obtienen alrededor de 400 Kg. de semillas por hectárea. Para mayor explotación de las plantaciones de *Caléndula*, se pueden aprovechar los campos dedicados a la producción de capítulos florales después de 10 recolecciones, además se pueden coleccionar aún por 5 veces sucesivas las semillas; con esto se lograría aproximadamente 160 Kg. de semillas por hectárea. El tiempo que demora la cosecha de 1,3 Kg. de semillas es de 7 horas, por tanto para una producción media de 32 Kg. de semillas en una hectárea se necesitarían más de 20 obreros/jornada. (Svanidze et al, 1975)

En 10 recolecciones de capítulos frescos se obtiene un rendimiento promedio de 1,3 - 2,0 t/ha, los que se reducen aproximadamente a 200-300 Kg. secos. La relación peso fresco: peso seco es de 6,5:1.

2.16. Procesado del material verde recolectado

SECADO: La desecación de los capítulos de *Caléndula* se debe hacer lo más rápido posible para evitar el enmohecimiento y cambio del color natural de las flores por composición química. El mismo se puede realizar en un local bien aireado, a la sombra, extendiéndose de esta forma el período de secado de 7 a 10 días; al sol, lo que demora 4 ó 5 días y con calor artificial, en estufas de aire recirculado, a temperatura de 40 °C, donde se seca en sólo 2 ó 3 días. Se ha

demostrado desde el punto de vista farmacognóstico que la forma de secado no produce cambios significativos en la droga, ni tampoco incide sobre la presencia de los metabolitos secundarios reportados para esta especie.

ENVASE Y CONSERVACIÓN: Se recomienda que cuando se vayan a almacenar grandes volúmenes de la droga, se utilicen cartuchos multicapas protegidos con bolsas de polietileno lineal de baja densidad en almacenes con humedad controlada y temperatura inferior a 20 °C, puesto que en locales a temperatura ambiente se ha observado un rápido deterioro de la droga por presencia del insecto *Lansioderma serricorne* (Berk) Sacc. a los 4 meses de almacenada. Para su distribución, la droga se conserva de manera satisfactoria a temperatura ambiente por 6 a 8 meses en frascos de cristal incoloro con tapa de rosca de metal y en lata compuesta de aluminio al interior y tapa con fondo de metal. Como existen estas dificultades se puede recomendar se comercialice en forma de tintura y extracto los cuales poseen mayor estabilidad.

2.17. Especificaciones de calidad

Como toda droga vegetal, la Caléndula debe ser valorada para su segura identificación y determinación de su calidad y pureza. En el primer caso mediante la macro morfología se determinan caracteres macroscópicos como son la forma, tamaño, color, olor, sabor.

Con relación a la calidad de esta droga, se han establecido los índices numéricos y sus límites, que permiten su comercialización y se ha propuesto que comprende lo siguiente: (García, 1996)

- Capítulos florales sueltos no más de 20 %
- Flores oscurecidas no más de 3 %
- Pedúnculos mayores de 3 cm. de longitud y partes de tallo no más de 6 %
- Mezclas orgánicas (partes de otras plantas no tóxicas) no más de 0,5 %
- Mezcla mineral (tierra, arena, piedrecillas) no más de 0,5 %
- Humedad no más de 13 %
- Contenido de sustancias solubles en alcohol al 70 % no menos de 35 %
- Contenido de sustancias solubles en agua no menos de 35 %
- Cenizas totales no más de 11 %

Propiedades terapéuticas.

Gripe, acné, activador de las funciones sanguíneas, biliar, afecciones oculares, antibiótico, antianémico sedativas, sudoríferas y cicatrizantes. Las partes de la planta que se utilizan son las flores y las hojas en su estado natural. La planta al secarse pierde sus cualidades curativas.

Preparaciones

Gripe

Infusión: éste es un excelente remedio para la gripe y todas las enfermedades por enfriamiento, por provocar una copiosa sudoración. Sumergir durante diez minutos 25 grs. de hojas en medio de un litro de agua hirviendo, filtrarla y beberla dos veces, bien caliente y edulcorarla con miel.

Intestino:

Decocción: cocer 2 grs. de hojas y flores en un cuarto de litro de agua. Filtrar, endulzar y tomar a vasos durante el día. Tintura: macerar durante ocho días 15 grs. de flores frescas en 50 ml. de alcohol de 70°. Filtrar el líquido y conservarlo en una botella, la dosis es de 10 gotas en un poco de agua. (Cecchini 1977).

2.18. Preparación y dosis de remedios a base de *Calendula officinalis* L.

Enfermedad

Eczemas

Se preparan compresas de la siguiente manera, se vierte en un medio litro de agua hirviendo sobre dos cucharadas de flores secas o frescas de o flores mezcladas con hojas, dejar reposar 20 minutos preparar compresas con el líquido.

Otra preparación es: verter medio litro de alcohol de 70° C sobre un puñado de flores frescas, dejar reposar al menos dos semanas al sol o en un lugar calido. Filtrar, diluir para preparar las compresas (1-2 cucharadas de líquido en medio litro de agua). Hacer compresas húmedas aplicar alrededor de 1 hora, 2 a 3 veces al día.

Heridas de cicatrización lenta

Se prepara un ungüento exprimiendo de 4 a 6 grs. de jugo de hojas frescas (o flores) mezclar el jugo con 30 grs. de vaselina, homogenizarlo bien y aplicarlo a la herida varias veces al día.

Otro tipo de ungüento de Caléndula se prepara con un puñado de flores frescas y 200 grs. de vaselina o cualquier otro petrolato. Fundir la vaselina en un recipiente a fuego lento, agregar las flores, dejarlo hasta que la mezcla empieza a hervir, agitar bien. Colocar con cadazo haciendo presión sobre el residuo, dejar que se enfríe. El ungüento de Caléndula campestre es recomendable para afecciones de la piel, llagas y heridas mal cicatrizadas.

Compresas frías de Caléndula

Verter medio litro de agua hirviendo sobre una o dos cucharadas de Caléndula (hojas, tallos y flores) dejar reposar 15 minutos preparar compresas frías empleando una gasa o tela de lino, exprimiendo suavemente el líquido.

Se puede aplicar una o varias veces al día, debe impregnarse de nuevo cuando empiece a secarse. Eficaces para contusiones, magulladuras o heridas de lenta cicatrización. (Thomson, 1981).

2.19. Compuestos aislados mas comunes de *Calendula officinalis* L. según Lara y Márquez (1996).

<u>Nombre</u>	<u>Tipo de compuesto</u>	<u>Parte de la planta</u>
Ácido ascórbico	Vitaminas	Flores
Polisacárido	Polisacárido	Inflorescencia
Calendulósido A B,C,D,F,G,H	Triterpeno	Raíz
B-caroteno	Carotenoide	Semillas
Colesterol	Esterol	Flores
Flavoxantina	Carotenoide	Pétalos
Ácido gálico	Aromático	Flores
Ácido oleico	Ác. Graso	Flores
Ácido palmítico	Ác. Graso	Flores
Clerosterol	Esterol	Hoja

2.20. Actividad biológica de la planta de *Caléndula officinalis* L.

<u>Parte estudiada</u>	<u>Disolvente</u>	<u>Actividad</u>	<u>Organismo de prueba</u>	<u>Resultado</u>
Toda la planta	Agua	Espermaticida	Esperma de hombre	Activa
Toda la planta	Etanol-agua 1:1	Aumento de fagocitosis	Leucocitos de hombre adulto	Inactiva
Toda la planta	Etanol 95%	Antibacteriana	<i>Bacillus mycooides</i>	Inactiva
Toda la planta	Etanol 95%	Antibacteriana	<i>Escherichia coli</i> (Resistente a estreptomycin)	Inactiva
Toda la planta	Etanol 95%	Antifúngica	<i>Fusarium culmorum</i>	Inactiva
Toda la planta	Etanol 95%	Antifungica	<i>Fusarium solani</i>	Inactiva
Flores	Etanol 80 %	Antibacteriana	<i>Bacillus subtilis</i>	Activa

En México, la agricultura tradicional cuenta con remanentes viables a la perspectiva agroecológica los cuales se deben investigar y evaluar para su difusión. Ejemplo de esto, los campesinos de la región andina de Perú han utilizado por mucho tiempo las plantas aromáticas como bebida a nivel medicinal y como control biológico en sus cultivos tradicionales: la caléndula (*Calendula officinalis* L.) se siembra comúnmente intercalada para combatir la mosca blanca o palomilla, en los cultivos de tomate, habichuela y alverja (Nuñez, 1975)

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Ubicación del Experimento

El trabajo se realizó en el laboratorio de Ecología del Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, (U.A.A.A.N). ubicada en Buenavista Saltillo Coahuila, México. Entre las coordenadas geográficas 25° 22” latitud norte y 101° 00” de longitud oeste, con una altura de 1743 m. Su clima predominante de acuerdo a la clasificación de Köppen modificado por García (1972) es del tipo B S h. Que equivale a un clima seco con invierno seco; extremoso y verano calido; la temperatura media anual es de 16.6° C con un régimen de lluvias intermedio entre verano e invierno con precipitación medio anual de 443 mm.

3.2. Materiales.

Reactivos

- Semillas (*Calendula officinalis* L)
 - Cajas Petri
 - Papel filtro
 - Germinadora
 - Pipeta
 - Charola (200 cavidades)
 - Refrigerador a 5° C
- KNO₃ al 0.2 %

3.3. Origen de la semilla.

Las semillas fueron colectadas en el jardín de plantas medicinales ubicado en la U.A.A.A.N en Saltillo Coahuila. Mismas que se proporcionaron para este trabajo.

3.4. Experimentos preeliminares.

Se hicieron pruebas de germinación para determinar la calidad inicial de las semillas en condiciones de luz, humedad y temperatura de 20 a 30°C donde se colocaron 20 semillas en una caja petri con papel filtro y se humedecieron con agua, de donde germinaron 16 semillas lo que representa un 80% de germinación.

3.5. Descripción de los Tratamientos

Tratamiento	Días preenfriamiento	KNO ₃	Luz	Temperatura
		0.2%		20 a 30° C
1	0	No	No	No
2	0	Si	No	No
3	10	No	No	No
4	10	No	Si	No
5	10	No	No	Si
6	10	Si	No	No
7	15	No	No	No
8	15	No	Si	No
9	15	No	No	Si
10	15	Si	No	No

3.6. Variables Evaluadas

Las semillas se colocaron en toallas de papel, 30 semillas por repetición y se enrollaron a manera de taco (“top paper”) y se marcaron indicando correctamente hacia donde saldrá la plúmula para obtener plántulas normales, posteriormente se colocaron en la germinadora o a temperatura ambiente según sea el caso de acuerdo con la ISTA, (1985). En este experimento se realizó un diseño experimental completamente al azar con diez tratamientos y tres repeticiones. Tomando en cuenta factores como luz, temperatura, días de preenfriamiento, tratamiento con KNO_3 de los cuales se hicieron combinaciones para tener los tratamientos.

3.7. Índice de Velocidad de Emergencia

Se tomaron datos cada dos días del número de plantas emergidas para cada repetición durante 14 días y se realizaron los cálculos utilizando la siguiente fórmula.

$$\text{IVE} = \frac{\text{N P}}{2} + \frac{\text{N P}}{4} + \frac{\text{N P}}{6} + \frac{\text{N P}}{14}$$

DONDE:

IVE = Índice de Velocidad de Emergencia
N P = Número de Plantas Emergidas
2, 4, 6...14 = Días Después de la Siembra

3.8. Longitud Media de Plúmula (L.P.) y Longitud Media de Radícula (L.R.)

Se tomaron 5 plántulas al azar para determinar longitudes media de plúmula y radícula, sus mediciones fueron tomadas en centímetros. Las longitudes de plúmula y radícula se tomaron de la media de plántulas para cada repetición.

3.9. Porciento Total de Germinación

Se tomo el último conteo a los 14 días tomando en consideración todas las plantas emergidas para cada repetición de los 10 tratamientos.

3.10. Análisis Estadístico

Para la evaluación de los parámetros se realizó un análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar. Posteriormente se realizó una prueba de comparación de medias para aquellas variables que presentaron diferencias significativas, utilizando la prueba de Tukey al 0.01% (Paquete de diseños experimentales propuesto por Olivares de la FAUANL, 1994).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo se presentan a continuación, para cada una de las cuatro variables, así como la discusión para cada una de ellas.

LONGITUD DE RADÍCULA (L.R.):

El análisis de varianza para la variable longitud de radícula expresada en centímetros, mostró diferencia significativa (cuadro 1.) entre los efectos de los tratamientos en las semillas de Caléndula. También se puede observar que el T1 (testigo) fué el que obtuvo mejor resultado, seguido por el tratamiento cuatro, tratamiento cinco, tratamiento dos, tratamiento seis, tratamiento nueve, tratamiento diez, tratamiento siete, tratamiento ocho, y tratamiento tres. Las condiciones de oscuridad favorecieron el fototropismo negativo y por lo tanto un incremento en la radícula de las plántulas con respecto a los demás tratamientos que tuvieron días de preenfriamiento, luz o KNO_3 . Contrario a lo que encontraron Bussell y Graye (1976) donde mencionan que los pretratamientos con soluciones de sales a concentraciones relativamente altas podrían responder de una manera similar para tratamientos de mojado y secado en que una cantidad limitada de agua se hace disponible para la semilla permitiendo que algunos de los procesos de la germinación sean puestos en movimiento aunque sin permitir subsecuente emergencia de la radícula. (Uhvits 1946) A temperaturas fuera del rango de germinación de las semillas tratadas la emergencia de la radícula es obstruida por la imbibición del agua (En lugar de solucione de sal).

CUADRO 1: Análisis de varianza para la variable longitud de radícula en plántulas de Caléndula (*Calendula officinalis* L.) bajo condiciones de laboratorio.

FV	GL	SC	CM	Fc	FO.05	F0.01
TRATAMIENTOS	9	4.251099	0.472344	5.5473 *	5.01	6.09
ERROR	20	1.702980	0.085149			
TOTAL	29	5.954079				

* = Significativo

C.V. =16.81%

En la prueba de comparación de medias (cuadro 2) para la variable longitud de radícula (L.R.) se obtuvieron tres grupos estadísticos donde el tratamiento 1 ocupa el primer lugar del los grupos, además (grafica 1) se encontró que el tratamiento T1 (testigo) con 2.6 centímetros fue la mejor variable.

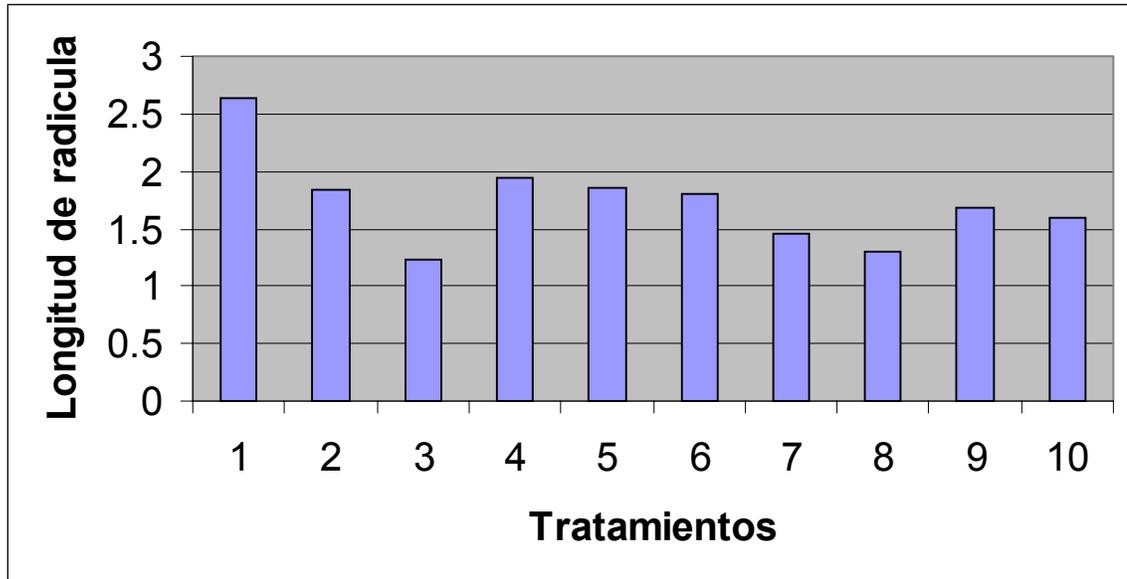
CUADRO 2: Comparación de medias por el método Tukey al 0.01% en los tratamientos, para la variable longitud de radícula en semillas de Caléndula

TRATAMIENTO	MEDIA
1	2.6333 A
4	1.9467 AB
5	1.8500 AB
2	1.8367 AB
6	1.8100 AB
9	1.6967 AB
10	1.6000 B
7	1.4500 B
8	1.3067 B
3	1.2333 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

TUKEY = 1.0126

GRAFICA 1: Comparación de los tratamientos para la variable longitud de radícula en plántulas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.



LONGITUD DE PLÚMULA (L.P):

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza en la variable longitud de plúmula expresada en centímetros en la evaluación de los tratamientos no hubo diferencia significativa (cuadro 3). Al igual que en la comparación de medias (cuadro 4). Note en la grafica 2 que la longitud de plúmula (cm) es muy similar por lo tanto no presenta diferencias significativas.

CUADRO 3: Análisis de varianza para la variable longitud de plúmula en plántulas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.

FV	GL	SC	CM	Fc	F0.05	F0.01
TRATAMIENTOS	9	1.519394	0.168822	2.1549 ^{NS}	5.01	6.09
ERROR	20	1.566872	0.078344			
TOTAL	29	3.086266				

NS = NO SIGNIFICATIVO

C.V. = 16.07%

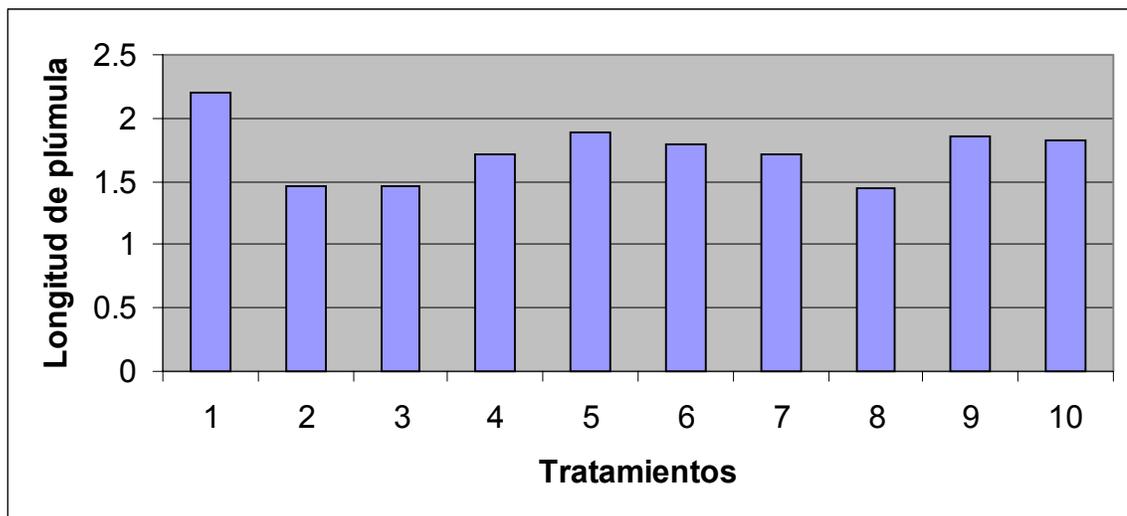
CUADRO 4: Comparación de medias por el método Tukey en los tratamientos, para la variable longitud de plúmula en plántulas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	2.2067 A
5	1.8967 A
9	1.8533 A
10	1.8333 A
6	1.8067 A
7	1.7267 A
4	1.7167 A
2	1.4667 A
3	1.4667 A
8	1.4433 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA =0.01

TUKEY = 1.0260

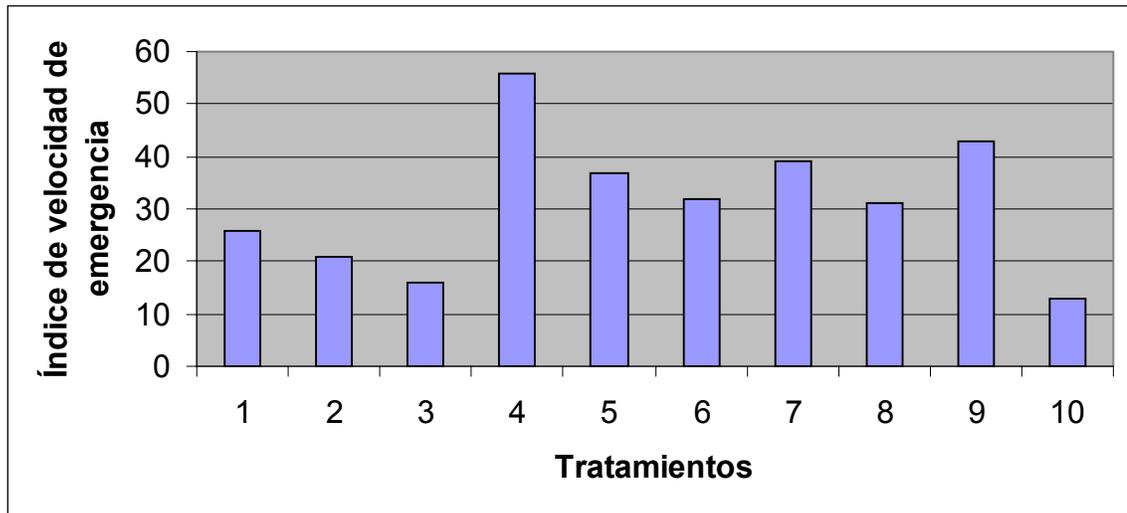
GRAFICA 2: Longitud de plúmula en plántulas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.



INDICE DE VELOCIDAD DE EMERGENCIA.

En la grafica 3 se aprecia que el I.V.E fue mayor en el tratamiento 4 el cual consiste en 10 días de preenfriamiento, luz y a temperatura ambiente. De manera similar Sullivan y Rouw en 1984 demostraron que el secado de la superficie de las semillas por un día a temperatura ambiente previo a la siembra resulto solamente una ligera reducción en el adelanto de la velocidad de emergencia.

GRAFICA 3: Índice de velocidad de emergencia en semillas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.



PORCIENTO DE GERMINACION:

El análisis para esta variable resulto ser altamente significativo (cuadro 5). En la comparación de medias se obtuvieron cinco grupos de los cuales el T4 (10 días de preenfriamiento + luz) mostró la mayor capacidad de germinación, seguido por el T9 (15 días de preenfriamiento + temperatura), T5 (10 días de preenfriamiento + temperatura), T7 (15 días de preenfriamiento), T8 (15 días de preenfriamiento + luz), T6 (10 días de preenfriamiento + nitrato de potasio

0.2%), T1 (testigo), T2 (nitrato de potasio 0.2%), T10 (15 días de preenfriamiento + nitrato de potasio 0.2%), T3 (10 días de preenfriamiento) respectivamente como podemos observar en el cuadro 6. En los tratamientos en los cuales no se utilizó el KNO_3 y estuvieron en presencia de luz fueron los que presentaron los más altos porcentajes de germinación.

De acuerdo con Palevitch *et al.* (1981) quienes afirman que, las especies medicinales no domesticadas presentan una germinación errática de sus semillas, o sea un proceso muy irregular. Los tratamientos empleados para romper latencia, no son los adecuados, pues algunos factores que determinan la latencia pueden estar presentes en las semillas aún después de tratada, originando varias irregularidades, las cuales no pueden ser tales si consideramos que especies de climas secos con latencia, germinan lentamente en su medio natural. Perry (1981) señalaba que el porcentaje y uniformidad de germinación y emergencia son características del vigor, el cual, se ve influenciado por el estado de madurez a la cosecha, ambiente de desarrollo de la planta madre, deterioro y envejecimiento entre otros factores.

CUADRO 5: Análisis de varianza para la variable por ciento de germinación en plántulas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.

FV	GL	SC	CM	Fc	F0.05	F0.01
TRATAMIENTOS	9	120.699951	13.411106	6.0959 *	5.01	6.09
ERROR	20	44.000061	2.200003			
TOTAL	29	164.700012				

* = SIGNIFICATIVO;

C.V. 30.27.

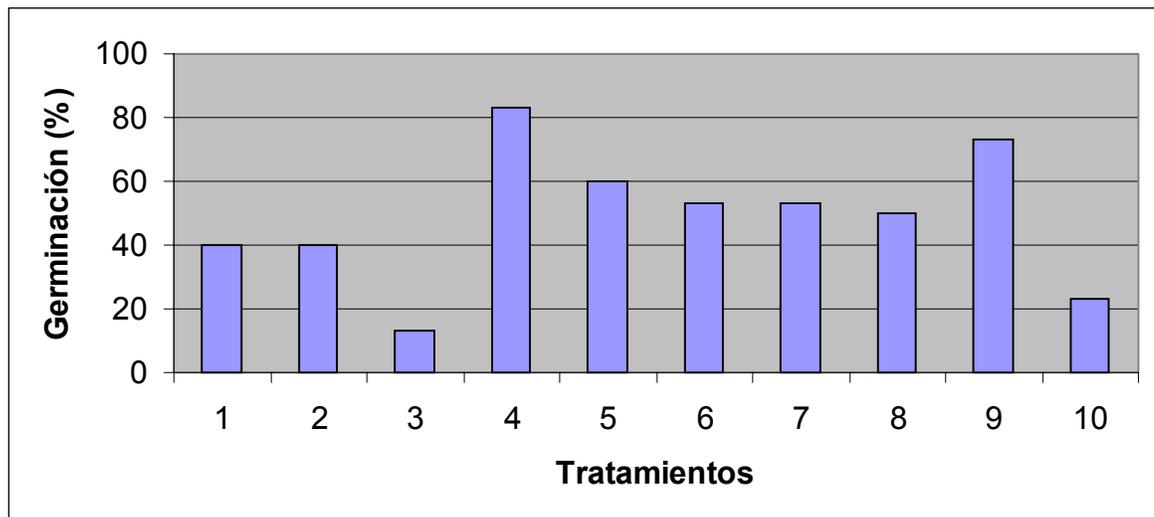
CUADRO 6: Comparación de medias por el método Tukey para los tratamientos, en la variable porciento de germinación en semillas de Caléndula bajo condiciones de laboratorio.

TRATAMIENTO	MEDIA
4	8.0000 A
9	7.0000 AB
5	6.0000 ABC
7	5.0000 ABC
8	5.0000 ABC
6	5.0000 ABC
1	4.0000 ABC
2	4.0000 ABC
10	2.0000 BC
3	1.0000 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

TUKEY = 5.2152

GRAFICA 4: Porciento de germinación en semillas de Caléndula para los tratamientos, bajo condiciones de laboratorio.



V. CONCLUSIONES

1.- Los nueve tratamientos en las diferentes condiciones utilizadas para semillas de Caléndula (*Calendula officinalis* L.) no superaron al testigo en la variable longitud de radícula.

2.- Al evaluar los distintos tratamientos se pudo concluir que para la variable longitud de plúmula el T1 (testigo) fue la que tuvo mejores resultados.

3.- El índice de velocidad de emergencia demostró que el tratamiento 4 fue mayor por lo tanto bajo estas condiciones tendremos mayor velocidad de emergencia sin embargo esto no quiere decir que tendremos mayor longitud de radícula y plúmula.

4.- El T4 (10 días de preenfriamiento + luz) fue el que tuvo mejor porcentaje de germinación con un 83%, quedando en segundo lugar el T9 (15 días de preenfriamiento + temperatura) con un 73% seguidos por el T5 (10 días de preenfriamiento + temperatura) con un 60% de germinación.

El mejor tratamiento para obtener plántulas normales fue el tratamiento cuatro, es decir que las condiciones de 10 días de preenfriamiento más luz en temperatura de el laboratorio fueron favorables para las semillas de Caléndula (*Calendula officinalis* L.) la cual obtuvo el mayor porcentaje de germinación.

Este trabajo contribuye con datos acerca de la capacidad de germinación de Caléndula, así como el proponer un tratamiento que reduzca tiempo y costo para aquellas personas que sea de su interés cultivar esta planta con propiedades medicinal , además se mencionan características generales de esta planta y de las propiedades medicinales que podrán ser útiles, además nos darán una idea de lo importante que es conocer las plantas medicinales y sus propiedades. Es muy importante continuar con trabajos sobre plantas medicinales que proporcionen datos que en un momento puedan servir, por ejemplo para una reforestación, establecimiento de huertos familiares, elaboración de extractos medicinales y de control biológico.

VI. LITERATURA CITADA

- Amen, R.D. 1963 The concept of seed dormancy. *American Scientist* 51: 408- 424.
- Association Official of Seed Analysis (AOSA).1975. Rules for testing seed.*Journal of Seed Technology*. 3(3): 12-26.
- Barnes, H. 1943. Custard apple. *Queensland Agric. J.* 57 : 147-149
- Barrie, A, M.M y D.S.H Drenan. 1971. Effect of hydration on seed germination. *New Pathologist*, 70: 135-140.
- Bidwell, R.G.S. 1983. *Fisiología Vegetal*. Traducción de la 2a. Ed. México. EGT ed. 785 pp.
- Bolland, M. M. R, B Thomson, M. Painter, and M. Baker. 1991. Phosphorus its effect on plant production. *Western Australia J. Agri.* 31: 20-22.
- Bosso, B. Y C. Serafine. 1989. *El experto horticultor*. (Agricultura). Editores S.A México D.F. 123 pp.
- Bouead M. O. Algernon, y J. Raynaud.1988 Cytotoxic and antitumoral activity of *Calendula officinalis* extracts. *Rev Pharm.*;43(3):220-1.
- Bussel W. T. y Gray, D. (1976) Effects of pre-sowing seed treatments and temperatures on seed germination and seed-ling emergente. *Scientia Hort* 101 pp.
- Camacho, M. F. 1994. Dormición de semillas. Ed. Trillas. México. pp.13-20
- Cecchini T. 1977. *Enciclopedia de las hierbas y plantas medicinales* Ed. De Vecchi S.A. Barcelona España, pp 126.
- Claus EP. y VR. Tyler.1970 *Farmacognosia*. Ed. Ciencia y Técnica. La Habana Cuba pp. 533.
- Cuisance, P.1988. *La multiplicación de las plantas y el vivero* Ed. Mundi-Prensa Madrid España, pp.25
- Delvin, R. M. 1975 *Fisiología Vegetal* 2Ed. OMEGA S.A España pp.280-291
- Díaz, J. L. 1976. *Usos de la plantas medicinales de México*. Monografías Científicas II. Instituto mexicano de plantas medicinales (IMEPLAM). México. D.F. pp 156.
- Fernández P. J. 1996. *Cultivo de las Plantas Medicinales y Aromáticas* Ed. Omega Barcelona

- Fuentes V, L. Acosta 1986. El cultivo de una especie medicinal: *Caléndula officinalis* L. Rev Plant Med. pp 6:28-33. 3
- García, D.1996 Estudio farmacognóstico de *Caléndula officinalis* L. (*Caléndula*). Rev Cubana Plant Med. pp 1(3):21-5.
- Goodwin, T W y E. I. Mercer. 1972. Introduction to Plant Biochemistry. Pergamon Press pp. 26.
- Hartmann, H.T y D.E. Kester. 1980. Propagación de Plantas. Principios y Prácticas. 2 ed. Ed. CECSA, México. 814 p.
- Hartmann, H.T y D.E. Kester. 1995. Propagación de plantas . Ed. Continental. México. pp. 51-58
- International Seed Testing Association (ISTA) 1985. Rules for Seed testing Technology; Seed Sci & Tech. pp 13.299.355
- James, W O, 1967 Introducción a la fisiología vegetal Ed. OMEGA S.A España 233-240.
- Khan, A. A, 1977 Seed dormancy: charging concepts and theories. Khan A.A. (ed) In "The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination". North Holland Publishing Co. The Netherlands pp 29-50
- Lamonarca, F. 1978. Los árboles frutales. Ed. De Vecchi, S. A. Barcelona. España. pp 231.
- Lara O. F. y C Márquez.1996. Plantas Medicinales de México. UNAM. México D.F. pp 69.
- Maguirre, J.D. 1976. Seed Dormancy Advances in Research and Technology of Seed. Dept. Agronomy and Soils Washington State University. U.S.A. pp 56.
- Mc. Donough, W.T. 1977. Seed Physiology Intermountain Forest and Range. USDA. (United State Departament Agriculture). Forest Service. Pp 34.
- Mengel, K. and E.A. Kirkby.1982 Principles of plant nutrition. 3a. edition International Potash Institute Bern, Switzerland. pp 655.
- Moreno M. E. 1984 El análisis físico y biológico de la semillas agrícolas. Instituto de Biología. UNAM. México D.F. pp 103.
- Moreno M. E. 1996 El análisis físico y biológico de las semillas agrícolas. Instituto de Biología. UNAM. México D.F. pp 106.

- Moroto, J.V. 1989. Horticultura herbácea. 3ª edición Mundi-Prensa, impreso en España. pp 567.
- National Plant Food Institute (NPMI), 1990. Manual de fertilizantes. Ed. Limusa 9ª. Reimpresión, México D.F. pp 130.
- Núñez E. 1975 Plantas medicinales de Costa Rica y su folklore. San José: Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio" pp 279.
- Olivares S. E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5 Facultad de Agronomía UANL. Marín, N.L.
- Oranday P. J. 1973. Influencias de Algunas Presiones Osmóticas en la Germinación de Algunas Especies, Tesis. UAAAN Saltillo Coahuila México.
- O. Sullivan John y W. J. Bouw. 1984. Pepper (*Capsicum Nahum*) seed treatment of low-temperature germination. Plant Sci. 387 pp.
- Palevitch, D. A. Levy, y M. Perl. 1981. Invigoration of Seeds of the medicinal plants *Solanum laciniatum* Ait. *Solanum khasianum* Clarke. Journal. Pp 13.
- Perry, D.A. 1981. Handbook of vigour test methods. The Internacional Seed Testing Association. Zurich, Switzerland. Pp 82.
- Pidi, N. 1981. La multiplicación de las plantas. Ed. De Vincchi S.A. Barcelona España pp 221.
- Roberts, H 1972. Dormancy: a factor affecting seed survival in the soil. In Viability of Seed. Ed H. Roberts. Chapman y Hall, London pp. 321-359
- Rodríguez, S.F. 1991. Fertilizantes, Nutrición Vegetal. 2a Impresión. (Agricultura) editores S.A México. D.F. pp 79-86
- Sanders L. y M Sevey. 1993 Potash and Phosphate Institute, Stanley Borax & Chemical, Crop Rosemant, Illinois. pp 13.
- Schopmeyer, C.S. 1974. Seed of Woody Plants in the United State. USDA (United States Departament Agricultura) Handbook No.450 Washington, D.C. pp 55.
- Sussman, A.S. and H.O. Halvoron. 1966. "Spores: Their Dormancy and Germination" Horper, New York. U.S.A.
- Svanidze N, V. Lanovenki, A Sánchez, P Rodríguez, B Soler, E Fornet. 1975 Perspectivas de cultivo de *Calendula officinalis*. Rev Cubana Farm ; 9(2):97-101.

- The United States Department of Agricultura (USDA) 1984. Semillas. Anuario de Agricultura. Ed. Continental. S.A de C.V. México D.F pp 366.
- Thomson, J.R. 1979. Introducción a la Tecnología de Semillas Ed. ACRIBA. Zaragoza, España pp 301.
- Thomson W.R.1981 Guía ilustrada de plantas medicinales. Ed. Blume, Barcelona, España. pp 220.
- Tisdale, S. L, y W.L Nelson, 1982 Fertilidad de los Suelos y Fertilizantes. Ed. UTHEA. México, pp 171-238.
- Uhvits, R. 1946. Effect of osmotic pressure on water absorption and germination of alfalfa seed. Scientia Hort. 278 pp.
- Vegis A. 1964 Dormancy in higher plants. Ann. Rev. Plant Physiol.15: 185-224 pp.
- Villiers, T. A. 1971. Citologycal studies in dormancy. embryo maturation deuring dormancy. New Phytol. pp 70: 751-760.
- Weaver, J.R. 1990. Reguladores de Crecimiento de las Plantas en la Agricultura. Ed, Trillas México D.F. 622 p.