

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISION DE CIENCIA ANIMAL**

**DEPARTAMENTO DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**



**EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS EN  
ESPIGUILLAS CLEISTOGAMAS EN *Amelichloa clandestina*  
(Hack.) Arriaga & Barkworth (Poaceae)**

**Por:**

**Edgar Alejandro González Martínez**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA**

**SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO. JUNIO 2022**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

EVALUACION DE TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS EN  
ESPIGUILLAS CLEISTOGAMAS EN *Amelichloa clandestina* (Hack.)  
Arriaga & Barkworth (Poaceae)

Por:

**Edgar Alejandro González Martínez**

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA**



Dr. Juan Antonio Encina Domínguez

Asesor Principal Interno



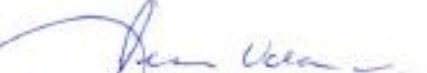
M.C. Sait Juanes Márquez

Asesor Principal Externo



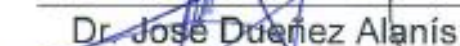
Dra. Aida Isabel Robles Leal

Coasesor



Dr. Jesús Valdés Reyna

Coasesor



Coordinador de Ciencia Animal



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio 2022

## **DEDICATORIA**

**A mi familia, padres y hermana.**

### **Juana Martínez Ruíz**

Quiero agradecerle por educarme, y disciplinarme, por sus enseñanzas, por inculcarme la perseverancia, por todo lo que ha hecho por mí en mi formación como persona este trabajo es dedicado a usted como una muestra de agradecimiento, gracias mamá.

### **Cruz Trinidad González Ruíz**

Le doy las gracias por haberme educado, por la disciplina que me inculco y apoyarme incondicionalmente en mis estudios, por todas sus enseñanzas, solo le puedo dedicar este trabajo como una muestra de agradecimiento por todo lo que me ha dado, gracias papá.

### **Roció Anayeli González Martínez**

Por apoyarme en las decisiones que elijo, por ayudarme en los momentos difíciles, y por la orientación que me has brindado, este trabajo es dedicado a ti y a Alexis Sebastián Díaz González y Axel Santiago Díaz González, gracias hermana.

### **Sacramento Eduardo Martínez Posada (†)**

Solo puedo agradecerle por todo lo que me enseñó, por todos los buenos momentos que vivimos juntos y la dedicación que me inculco, este es uno de los trabajos dedicados a usted, gracias abuelo.

### **Raymundo González Álvarez (†)**

Gracias por cada uno de sus consejos, por todas las historias contadas y por estar orgulloso de lo que hago, este trabajo es dedicado a usted, gracias abuelo.

“A todos los que salieron de su casa en busca de cumplir un sueño y todo quedó en un sueño nada más”.

## AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por ser mi casa de estudios, por todas las experiencias vividas en mi tiempo de universitario, a las historias que me inspiraron a ser un “**Buitre de la Narro**”. Gracias.

**A mi familia, padres y hermana**, por su apoyo incondicional al realizar mis estudios. Gracias.

A mi asesor de tesis el **Dr. Juan Antonio Encina Domínguez**, gracias por su tiempo dedicado durante la elaboración de este trabajo, por sus asesorías y enseñanzas durante mi formación como profesionista. Gracias.

Al **M.C. Sait Juanes Márquez**, gracias por la orientación y enseñanza, por las experiencias compartidas y apoyo durante la elaboración de este trabajo. Gracias.

A la **Dra. Aida Robles Leal**, por su gran apoyo en la elaboración de este trabajo, por el tiempo dedicado, por las aportaciones que ayudaron a concluir con este trabajo. Gracias.

Al **Dr. Jesús Valdés Reyna**, por sus enseñanzas y su tiempo que brindo para la elaboración de este trabajo, por la asesoría y sugerencias. Gracias.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1 Objetivo general .....</b>	<b>5</b>
<b>1.2 Hipótesis .....</b>	<b>5</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1 Descripción de la especie .....</b>	<b>6</b>
<b>2.3 Características reproductivas de las plantas .....</b>	<b>6</b>
<b>2.4 Semilla.....</b>	<b>7</b>
<b>2.4.1 Embrión.....</b>	<b>8</b>
<b>2.4.2 Tejido de almacenamiento. ....</b>	<b>8</b>
<b>2.4.3 Cubierta.....</b>	<b>9</b>
<b>2.5 Germinación de semillas .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5.1 Imbibición: .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5.2 Activación del metabolismo y proceso de respiración: .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5.3 Elongación:.....</b>	<b>11</b>

2.6 Latencia de las semillas .....	12
2.7 Cleistogamia.....	13
2.7.1 Cleistogamia preantesis .....	14
2.7.2 Pseudocleistogamia: .....	14
2.7.3 Cleistogamia completa: .....	14
2.7.4 Cleistogamia verdadera:.....	14
2.8 Especies cleistogamas.....	15
2.9 Tratamientos en semillas cleistogamas.....	15
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
3.1 Área de estudio .....	16
3.2 Caracterización morfológica.....	16
3.3 Prueba de viabilidad de la semilla.....	18
3.4 Pruebas de germinación de las semillas .....	18
3.4.1 Choque térmico:.....	18
3.4.2 Foto-sensibilidad: .....	19
3.4.3 Escarificación química: .....	19
3.4.4 Peróxido de hidrógeno: .....	19
3.4.5 Escarificación mecánica más química:.....	19

3.4.4 Testigo: .....	20
3.5 Análisis estadístico.....	20
<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>21</b>
4.1 Caracterización morfológica .....	21
4.2 Viabilidad .....	21
4.3 Choque térmico .....	21
4.4 Foto-sensibilidad .....	21
4.5 Comparación de los tratamientos utilizados .....	22
4.6 Duración de la germinación de las semillas .....	23
4.7 Escarificación química .....	24
4.8 Escarificación mecánica más química .....	24
<b>V. DISCUSIÓN .....</b>	<b>25</b>
5.1 Caracterización morfológica .....	25
5.2 Viabilidad de la semilla .....	25
5.3 Porcentaje de germinación .....	26
5.4 Días de germinación .....	27

<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	<b>28</b>
<b>VII. LITERATURA CITADA</b> .....	<b>29</b>
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	<b>33</b>



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de la semilla y cariopsis. ....	10
<b>Figura 2.</b> Espiguilla casmogama de <i>Amelichloa clandestina</i> .....	10
<b>Figura 3.</b> Espiguilla cleistogama <i>Amelichloa clandestina</i> . ....	10
<b>Figura 4.</b> Ubicación geográfica del sitio de colecta de muestras.....	17
<b>Figura 5.</b> Porcentaje de germinación de semillas de <i>Amelichloa clandestina</i> .....	22
<b>Figura 6.</b> Días de germinación de las semillas de <i>Amelichloa clandestina</i> . ....	23

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Caracterización morfológica.....	33
<b>Anexo 2.</b> Viabilidad de las cariopsis.....	33
<b>Anexo 3.</b> Foto-sensibilidad.....	34
<b>Anexo 4.</b> Foto-sensibilidad duplicado.....	34
<b>Anexo 5.</b> Choque térmico.....	34
<b>Anexo 6.</b> Escarificación química.....	35
<b>Anexo 7.</b> Escarificación química y mecánica.....	35
<b>Anexo 8.</b> Memoria fotográfica.....	36

## RESUMEN

Las gramíneas pertenecen a la familia Poaceae, la cual tiene una elevada riqueza de especies. El objetivo de esta investigación fue evaluar el porcentaje de germinación y viabilidad de espiguillas cleistogamas de *Amelichloa clandestina* utilizando cuatro tratamientos pregerminativos para romper la latencia. El zacate picoso es una gramínea perenne que tiene espiguillas cleistogamas reducidas en la base de las vainas. Los cariopsis (Con frecuencia utilizadas por los agrónomos como sinónimos “cariopsis” y “semilla”) se tomaron de plantas colectadas en un área agrícola abandonada, invadida por el zacate picoso (*Amelichloa clandestina*), el área es dominada por el estrato herbáceo, se encuentra en un valle en donde los suelos son aluviales, profundos con perfiles y horizontes bien definidos, ubicado en el rancho “Los Ángeles”, a 34 km al sur de Saltillo, con una altitud media de 2,150 m. En la caracterización morfológica se utilizaron espiguillas cleistogamas las cuales fueron tomadas de las vainas basales, se registraron las medidas de altura y longitud. La prueba de viabilidad se realizó utilizando la técnica de sal de tetrazolio. En las pruebas de germinación de cariopsis se aplicaron los tratamientos pregerminativos; choque térmico, foto-sensibilidad, escarificación química, peróxido de hidrógeno, escarificación mecánica más química y se mantuvo una prueba testigo. El mayor porcentaje de germinación se registró al utilizar el pretratamiento del Hidróxido de Sodio sin luz y el porcentaje más bajo fue con ácido giberélico con luz, en algunos de los tratamientos aplicados no se registraron resultados de germinación. La aplicación de tratamientos pregerminativos es una estrategia que permite romper la latencia de las semillas, en particular, para las espiguillas de *Amelichloa clandestina* no fue determinante su uso, ya que el porcentaje de germinación fue muy bajo independiente del tratamiento aplicado.

**Palabras clave:** Zacate, Cespitosa, Espiguillas, Cariopsis, Hidróxido de Sodio, Ácido giberélico.

## ABSTRACT

The grasses or grass belong to the family Poaceae, which has a high richness of species. The objective of this research is to evaluate the percentage of germination and viability of *Amelichloa clandestina* cleistogama spikelets using four pregerminative treatments to break latency. The picoso grass is a perennial grass that has cleistogamas reduced spikelets at the base of the pods. The cariopsis were taken from plants collected from an abandoned agricultural area currently invaded by the spicy grass (*Amelichloa clandestina*), the area is dominated by the herbaceous extract, is located in a valley where the soils are alluvial, deep profiles and well-defined horizons, located in the ranch "Los Angeles", 34 km south of the city of Saltillo, with an average altitude of 2,150 m. In the morphological characterization 200 cleistogam cariopsis were used which were taken from the basal pods of four individuals, height and length measurements were recorded. The viability test was performed using tetrazolium salt, for which four replicates of 50 cariopsis were used. In seed germination tests the following treatments were applied; thermal shock, photo-sensitivity, chemical scarification, hydrogen peroxide, chemical more mechanical scarification and a control test was performed. The results recorded the highest percentage with the treatment of Sodium Hydroxide without light and the lowest percentage was with giberelic acid with light, in some of the treatments applied no germination results were recorded. The application of pregerminative treatments is a strategy that allows to break latency in seeds, in particular for *Amelichloa clandestina* spikelet's its use was not decisive, since the germination percentage record was very low regardless of the treatment applied.

**Key words:** Grass, cespitose, spikelets, cariopsis, sodium hydroxide, gibberellic acid.

## I. INTRODUCCIÓN

Las gramíneas o zacates pertenecen a la familia Poaceae, la cual tiene una distribución cosmopolita y es la cuarta familia con mayor riqueza entre las plantas con flores (Valdés-Reyna, 2015). Están presentes en zonas montañosas como clima templado a cálido-húmedo, además es común en zonas áridas y semiáridas, también se pueden encontrar en ambientes acuáticos. De acuerdo con Rzedowski (1975) forman parte del grupo vegetal más diverso del planeta, es común que estén presentes con otras plantas herbáceas en extensas áreas de pastizales o zacatales.

De acuerdo con Quero-Carrillo (2013) en las áreas donde la precipitación es baja se tendrá una menor producción de forraje en pastoreo. En los pastizales que son más adecuados para el pastoreo el sistema utilizado es el extensivo, es una actividad productiva que debe considerar la efectividad mediante la conservación de los recursos naturales.

De acuerdo con Rzedowski (2006) el pastizal o zacatal es una comunidad vegetal donde las gramíneas son dominantes, los tipos de pastizales que presenta son los determinados por el clima, por las condiciones de los suelos o bien en algunos por el disturbio que ocasiona el hombre. Por su parte Rzedowski (1975) menciona que las gramíneas representa una gran importancia ya que son el principal medio natural más favorable para el uso pecuario.

Pujol (2010) menciona que las gramíneas se cultivan para la producción de forraje en la alimentación de los animales domésticos así como el grano que se cultiva para el consumo humano, además de que tienen la capacidad de acumular materia seca, por lo tanto, puede almacenar parte de ella en la semilla en forma de compuestos químicos, además de la importancia que presenta en la propagación

de semillas en la regeneración de pastizales naturales del norte de México donde el pastoreo extensivo es la principal actividad económica.

Las semillas de las plantas tienen una temporada propia para su germinación. En algunas especies la época en la que esta es posible es muy limitada, lo cual puede ser en primavera, otoño, puede suceder cuando se presenta la mayor cantidad de humedad. En otras especies la temporada de germinación es más prolongada y puede ser durante el periodo de crecimiento e incluso durante todo el año. Por lo cual se busca explicar como ocurre la germinación y si este suceso es debido a los orígenes ecológicos y evolutivos que han ocurrido a través del tiempo (Baskin, 2014).

Las espiguillas cleistogamas son producto de la autopolinización y autofertilización sin apertura del flósculo. La cleistogamia puede presentarse en las especies de manera facultativa u obligada, esto se debe a las condiciones del ambiente a las que se exponen las plantas, puede presentarse en distintas formas. De acuerdo con Brown (1949) y Langer y Wilson (1965) la cleistogamia está asociada con el control ambiental, en algunos casos puede aparecer al presentarse una baja humedad del suelo, además se encuentra relacionada con el fotoperiodo cuando se tienen periodos cortos de horas luz se presenta la cleistogamia (Connor, 1979).

## **1.1 Objetivo general**

Evaluar el porcentaje de germinación y viabilidad de las espiguillas cleistogamas de *Amelichloa clandestina* utilizando cuatro tratamientos pregerminativos para romper la latencia.

## **1.2 Hipótesis**

Ho: Las espiguillas cleistogamas registran mayor porcentaje de germinación al recibir el tratamiento pregerminativo de estratificación.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Descripción de la especie

De acuerdo con Valdés-Reyna (2015) el zacate picoso (*Amelichloa clandestina* (Hack.) Arriaga & Barkworth) es una gramínea nativa de México. Planta perenne, cespitosa con culmos erectos, hojas basales, láminas rectas, involutas, ápices mucronados, la inflorescencia es una panícula y en la base presenta espiguillas cleistogamas reducidas. Sus láminas son mucronadas y se presentan en macollos, por lo cual no son palatables por el ganado, esta gramínea aumenta con el sobreapacentamiento y la presencia de disturbios. Puede ser controlada con agroquímicos selectivos esto es posible debido a que no se afecta de forma significativa el impacto en el ecosistema (Barkworth *et al.* 1989). Es una planta invasora de los pastizales del sureste de Coahuila. Difiere de otras especies de la tribu Stipeae en que las láminas terminan en un ápice mucronado, debido a esto tiene menor gustosidad por el ganado y es indicadora de áreas con sobreapacentamiento.

### 2.3 Características reproductivas de las plantas

La reproducción es la función por la que se puede transferir el material genético, en plantas se presentan dos formas: la sexual y la asexual, aunque dependerá de la especie si se presentan ambas o solo una, por lo tanto, tomando en cuenta esto se dividen en dos grupos distintos los cuales son reproducción de forma sexual y de forma asexual (Troiani *et al.* 2017).



La reproducción sexual está ligada a la meiosis, a partir de esta división se originan células, llamadas gametos que son las portadoras del material genético, existen gametos femeninas y masculinas en cada especie cuando estas se fusionan (singamia), se une el material genético de ambas originando una célula diploide o somática, la cual origina un nuevo individuo, el cual es llamado cigoto, esta es la manera más común de reproducción en las plantas (Torices, 2014).

En la intervención genética puede presentarse una variación genética, por lo tanto, las plantas hija pueden ser distintas a las progenitoras, por otra parte, cuando se presenta la reproducción asexual conocida como reproducción vegetativa o agámica está ligada a la mitosis la cual consiste en la producción de descendientes a partir de tejidos somáticos, por lo cual no realizan los procesos sexuales y la formación de gametos de esta manera los individuos obtenidos de la multiplicación no aumentan la variabilidad genética (García y Rodríguez, 2012).

## **2.4 Semilla**

La semilla es el principal órgano reproductivo de las plantas, tienen un papel importante en la renovación persistencia y dispersión de las plantas, regeneración de bosques y sucesión ecológica (Gárgano, 2014). De igual forma Gutiérrez (2007) menciona que las semillas son la fuente de alimento para varias especies de fauna silvestre, además de ser de gran importancia para el humano debido a que representan su principal fuente de alimento, ya que se obtienen mediante la producción agrícola, además de ser esenciales en la alimentación de los animales domésticos.

La cariopsis es una semilla fusionada al pericarpio envolvente, con frecuencia utilizadas por los agrónomos como sinónimos “cariopsis” y “semilla, es un grano similar a una semilla que consiste en la cariopsis ya sea con o sin estructuras de inflorescencia envolventes como brácteas o rachilla. La semilla está libre de pericarpio solo en unos pocos géneros y es conocida como aquenio o utrículo (Gibson, 2009).

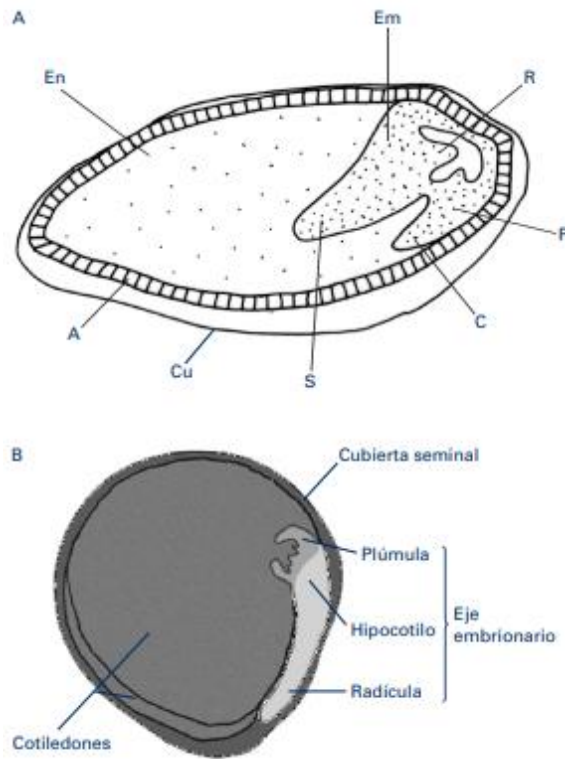
Las semillas pueden ser almacenadas por un largo periodo de tiempo, con lo cual se asegura la preservación de la especie. Doria (1979) menciona que la semilla es una unidad reproductiva compleja y es propia de las plantas vasculares y estas son formadas a partir de un óvulo vegetal, esto ocurre después de la fertilización.

En la composición de las semillas se encuentran las reservas energéticas como son: grasas, carbohidratos y proteínas, estas pueden encontrarse en diferentes tejidos o en el mismo embrión y son las que sostendrán la planta en las primeras etapas de vida. De acuerdo con Troiani *et al.* (2017) las partes básicas de las semillas de la siguiente manera:

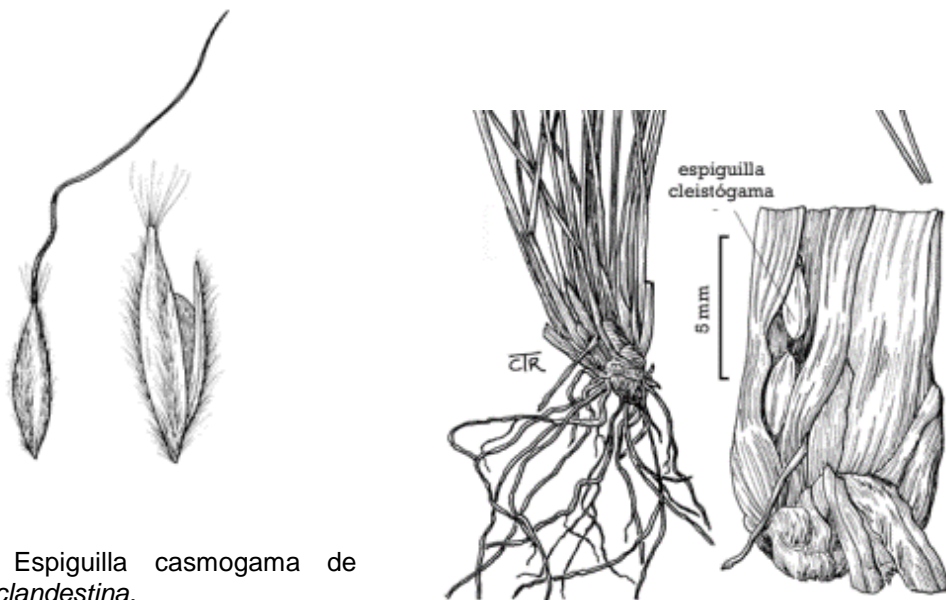
**2.4.1 Embrión.** Es el resultado de la unión de los gametos masculinos y femeninos durante la fecundación. Su estructura básica es un eje embrionario, con un punto de crecimiento en cada extremo, uno destinado para el tallo y otro para la raíz, puede tener una o más hojas seminales conocidas como cotiledones adheridos al eje embrionario.

**2.4.2 Tejido de almacenamiento.** Las semillas endospermicas que contienen el material de reserva se encuentra en el endospermo, perisperma, en el caso de gimnospermas en el gametofito haploide femenino. Las semillas no endospermicas almacenan nutrientes en los cotiledones. El endospermo puede persistir como un tejido rudimentario particularmente en dicotiledóneas, donde los cotiledones sirven como órganos de reserva.

**2.4.3 Cubierta.** Las cubiertas de la semilla son derivados de los tegumentos del ovulo, las propiedades de la semilla pueden ser características de la familia a la cual pertenecen, normalmente la cubierta externa se seca, engrosa, y endurece, en ciertas familias se vuelven impermeables al agua.



**Figura 1.** Estructura de la semilla y cariópsis.



**Figura 2.** Espiguilla casmogama de *Amelichloa clandestina*.

**Figura 3.** Espiguilla cleistogama *Amelichloa clandestina*.

## **2.5 Germinación de semillas**

De acuerdo con Courtis (2013) es el conjunto de fenómenos por los cuales el embrión que se encuentre en estado de vida latente, dentro de la semilla reanuda su crecimiento y se desarrolla para formar una plántula.

En la germinación se consideran las condiciones intrínsecas y extrínsecas, de acuerdo con Taiz y Zeiger (2006) para que ocurra el proceso de germinación se tienen ciertos requerimientos para los cuales deben ocurrir los mecanismos metabólicos y morfogenéticos de germinación.

El proceso de germinación está influenciado por distintas fases de acuerdo con Rubida y Gutormson (1988) se describen de la siguiente manera.

**2.5.1 Imbibición:** Es cuando ocurre la absorción de agua por las semillas; ocasionado por las diferencias de potencial hídrico entre la semilla y la solución de imbibición.

**2.5.2 Activación del metabolismo y proceso de respiración:** Ocurre la síntesis de proteínas y movilización de sustancias de reserva como el almidón y cuerpos proteicos que son convertidos en compuestos básicos como azúcares simples y aminoácidos, estos son transportados y oxidados para suplir el crecimiento y la elongación del embrión.

**2.5.3 Elongación:** Ocurre el crecimiento del embrión y ruptura de la testa por la cual ocurre la salida de la radícula. Posteriormente el embrión tiene los nutrientes para iniciar su crecimiento.

Durante el proceso de germinación la semilla puede ser afectada por factores internos como externos. Los factores internos se relaciona con la viabilidad del embrión, cantidad y calidad de tejidos de reserva, un factor importante es la latencia que presenta la especie, los factores externos están relacionados con el grosor de la testa, disponibilidad de agua y tipo de luz (De Murcia *et al.*, 2017).

En los estudios de tecnología de semillas la viabilidad se refiere a la capacidad de la semilla para germinar y generar plantas. En cuanto a la fisiología se refiere a la cantidad de los nutrientes necesarios para su desarrollo, el tipo de tejido que presenta actividad metabólica, las reservas energéticas y las enzimas se encuentran involucradas en el funcionamiento de la planta (Jones *et al.*, 1988).

## **2.6 Latencia de las semillas**

De acuerdo con Arana (2011) es el estado en que se encuentra una semilla viable sin que germine. Escobar y Cardoso (2015) mencionan que cuando una semilla se encuentra en latencia, aunque se presenten las condiciones adecuadas de temperatura, humedad, oxígeno y cama de siembra, no germinará.

Una semilla viable está en letargo cuando se encuentra en un ambiente adecuado para realizar los procesos metabólicos que llevan a la germinación este es un rasgo adaptativo el cual hace que las semillas germinen en el lugar favorable y el momento adecuado, de esta manera aseguran la supervivencia de la planta (Simpson, 2007).

De acuerdo con Neylor (1983) la latencia en semillas es un rasgo heredado genéticamente y este es un significado natural para la supervivencia de la especie en su ecosistema no perturbado, la latencia de semillas es una de las principales causas de la persistencia de algunas especies como malezas que compiten con las especies cultivables.

La latencia se manifestará de manera distinta dependiendo de la especie, considerando en términos generales que es una interrupción de los acontecimientos internos de una semilla viable para completar la germinación bajo las condiciones adecuadas. Pérez-Martínez *et al.* (2014) tienen como definición de semilla en latencia las que no pueden germinar durante un periodo específico de tiempo bajo la condición de factores físicos y ambientales que en otra situación sería favorable para la germinación.

Cuando se presenta latencia endógena o embrionaria es debido a que el embrión impide la germinación, esto puede ser ocasionado por un mecanismo de inhibición fisiológica presente en el embrión (inhibición metabólica, incremento del ácido abscísico) o relacionada con la inhibición de la germinación durante el periodo de desarrollo y crecimiento, más sin embargo la latencia puede ser interrumpida al utilizar tratamientos pregerminativos (Salas *et al.* 2010).

## **2.7 Cleistogamia**

La cleistogamia está referida a las flores que se autopolinizan debido a un mecanismo de reproducción asexual. Lord (1981) menciona que cuando se tienen flores cleistogamas, en estas no ocurre la antesis, aun así producen semillas que pueden ser viables. Por su parte Percival (1969) indica que el proceso de la cleistogamia puede ocurrir debido a condiciones ambientales adversas como la pérdida o exceso de agua, exceso de humedad atmosférica y sequía con altas temperaturas.

La aparición de este comportamiento floral se presenta como un mecanismo biológico de protección el cual permite la formación de algunas semillas, esto ocurre cuando las condiciones medio ambientales son de grado extremo (exceso o falta de agua), es una condición que se encuentra distribuida entre las angiospermas (Torices, 2014).

La cleistogamia se clasifica en cuatro categorías de acuerdo con Torices (2014):

**2.7.1 Cleistogamia preantesis:** Consiste en casos donde la polinización ocurre en estadio de yema y en seguida por antesis.

**2.7.2 Pseudocleistogamia:** Hace referencia a cuando no ocurren diferencias morfológicas entre las flores cleistogamas y casmogamas.

**2.7.3 Cleistogamia completa:** Ocurre en especies en las cuales solo se producen flores cleistogamas.

**2.7.4 Cleistogamia verdadera:** La flores cleistogamas y casmogamas son morfológicamente diferentes, está referida a casos donde el dimorfismo resulta de cambios divergentes de desarrollo en una sola especie o individuo.

De acuerdo a diversos estudios realizados, el estrés ambiental puede ser la razón por la cual algunas flores no se abren, Uphof (1938) menciona que algunos de los factores ambientales relacionados con la cleistogamia son: inundaciones, sequías, bajas y altas temperaturas, sombra y entierro de las plantas a estos factores se atribuye la formación de flores cerradas. Por lo tanto, tomando en cuenta los acontecimientos mencionados anteriormente, la dispersión de semillas cleistogamas asegura la sobrevivencia y el establecimiento de la especie.



## 2.8 Especies Cleistogamas

En diversas especies de zacates se presenta cleistogamia, algunas de las cuales son: *Amelichloa clandestina*, *Disakisperma dubium*, *Amphicarpum muehlenbergianum*, *Nassella leucotricha*, *Danthonia spicata*, otros géneros con espiguillas cleistogamas incluyen *Caliptochloa* y *Cleistochloa* (Paniceae) y *Danthonia californica* (Connor, 1979). En algunos géneros las espiguillas axilares se extienden hacia arriba del culmo ocupando tantas axilas de hojas como estén presentes (Jones *et al.*, 2022).

## 2.9 Tratamientos en semillas cleistogamas

De acuerdo con Domínguez-Valenzuela *et al* (2000) en un ensayo realizado con *Amelichloa clandestina* con un total de 480 semillas cleistogamas en el que se utilizaron 12 tratamientos pregerminativos. Registraron un 21.78 % de viabilidad y el mayor porcentaje de germinación se registró en escarificación con oscuridad, seguido por el tratamiento de Nitrato de Potasio en oscuridad, por lo tanto, hacen referencia a que la ausencia de luz favorece la germinación de las semillas cleistogamas. En un tratamiento más en el cual aplico Ácido Sulfúrico, la germinación fue nula, por lo tanto, sugieren que las semillas no cuentan con una testa muy dura. Con respecto a la caracterización morfológica registró 3.24 mm de largo y 2.04 mm de ancho. Sugieren que la presencia de las espiguillas cleistogamas está relacionada con la supervivencia de la especie a distintas adversidades a las cuales las semillas aéreas corren un mayor riesgo.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

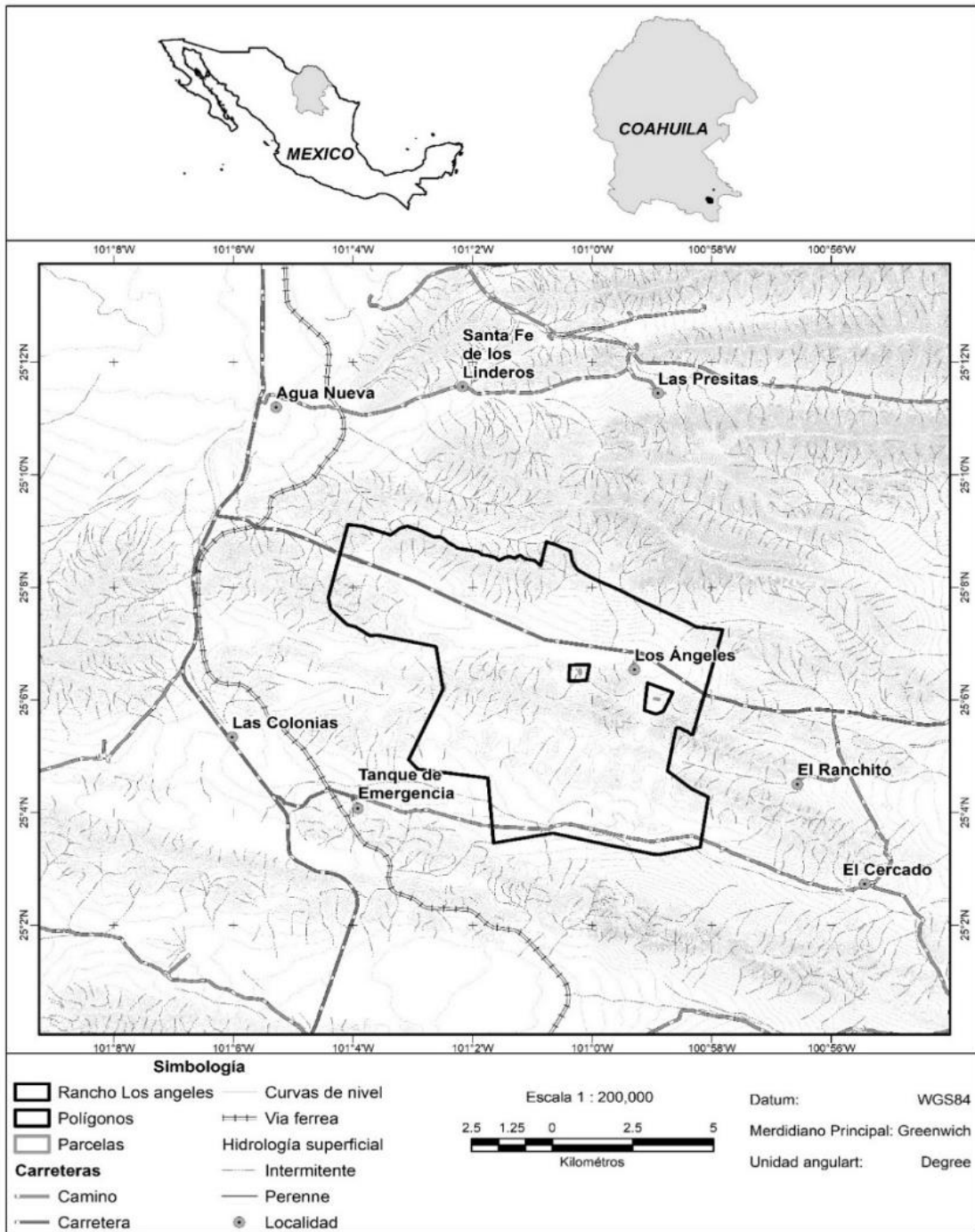
#### 3.1 Área de estudio

La colecta se realizó en el rancho ganadero experimental Los Ángeles de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizado a 34 km al sur de la ciudad de Saltillo, con una altitud de 2,150 m. El pastoreo de ganado de raza Charolais y equino es la principal actividad. El clima dominante según el sistema de clasificación de climas de Köeppen, modificado por García (2004) presenta la fórmula climática [BWhw(x') (e)] semiárido, con invierno fresco, con temperatura media anual que fluctúa entre 18 y 22 °C, con lluvias promedio anual de 350 mm, distribuidas en verano e invierno (López-Santos *et al.*, 2008).

Las muestras de las cuales se extrajeron las semillas cleistogamas fueron colectadas en un área agrícola abandonada invadida por el zacate picoso (*Amelichloa clandestina*), actualmente el área es dominada por el estrato herbáceo. Se encuentra en un valle en el que los suelos son aluviales, profundos con perfiles y horizontes bien definidos.

#### 3.2 Caracterización morfológica

Para realizar la caracterización morfológica se utilizaron semillas cleistogamas de cuatro individuos de *Amelichloa clandestina* las cuales se tomaron de las vainas basales de las hojas, de esta forma se tomaron 50 semillas de cada planta se utilizó un vernier digital para obtener las medidas de altura y longitud.



**Figura 4.** Ubicación geográfica del sitio de colecta de muestras.

### **3.3 Prueba de viabilidad de la semilla**

Se realizó con la tinción para lo cual se utilizó sal de tetrazolio. Se realizaron cuatro réplicas de 50 semillas. Las semillas fueron preacondicionadas en cajas petri con agua destilada, lo cual permitió suavizar la capa externa de las semillas y posteriormente ser cortadas más fácil con la ayuda de pinzas, bisturí, agujas de disección y un estereoscopio. Las mitades de semillas presentaron ejes embrionarios casi intactos, después de la preparación las semillas fueron colocadas en cajas petri, en las cuales se tenía la solución de sal de tetrazolio al 1% y se colocaron en la estufa de germinación a una temperatura de 27° C. Después de una hora de incubación las semillas se limpiaron con agua destilada y papel secante, posteriormente fueron analizadas en el estereoscopio para determinar la tinción propuesta por Salazar *et al.*, (2019). Se tomó la decisión de determinar el número de embriones viables a las mitades que presentaran un patrón de tinción mayor del 75 % (incluido el embrión) y posteriormente determinar el porcentaje de viabilidad.

### **3.4 Pruebas de germinación de las semillas**

**3.4.1 Choque térmico:** En este tratamiento se colocaron 25 semillas en cajas petri y fueron almacenadas en refrigeración (2-8° C) por 62 días para suponer un periodo de clima frío, posterior a la incubación en frío se colocaron las semillas en agua a una temperatura de 80° C durante cinco minutos para simular un choque térmico de temperatura, por último, se colocaron en papel secante y después en una caja petri con papel filtro a una temperatura de 27° C en la estufa de germinación.

**3.4.2 Foto-sensibilidad:** En este tratamiento se utilizaron cuatro muestras en las cuales se realizaron dos repeticiones por muestra cada una con 50 semillas. Una de las repeticiones se dejó expuesta a la luz, mientras que en la otra se cubrió la caja petri con papel aluminio para evitar la exposición a la luz. Las muestras permanecieron por 60 días en la estufa de germinación. Para corroborar los datos se realizó un duplicado de este ensayo.

**3.4.3 Escarificación química:** Se aplicaron dos métodos de escarificación. Para cada uno de los tratamientos se realizó por duplicado con tres repeticiones de 20 semillas, las cuales permanecieron en la estufa de germinación a una temperatura de 27° C por 60 días. En el primer tratamiento se utilizó Hidróxido de Sodio al 30 %, de este se aplicaron 3 ml a la caja petri con 20 semillas durante una hora, se enjuagaron y se colocaron en papel secante y posteriormente colocadas en cajas petri con papel filtro.

**3.4.4 Peróxido de hidrógeno:** En el segundo tratamiento se utilizó peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), del cual se se aplicaron 3 ml a cada caja petri con 20 semillas por un tiempo de una hora, después se enjuagaron y se colocaron en papel secante, enseguida fueron sembradas en cajas petri con papel filtro.

**3.4.5 Escarificación mecánica más química:** Se realizó escarificación mecánica y química. Se utilizaron 120 semillas las cuales fueron divididas en dos lotes de 60 semillas para dos tratamientos. En cada tratamiento se realizaron tres repeticiones de 20 semillas cada repetición las cuales fueron sembradas en cajas petri con papel filtro y colocadas dentro de una estufa de germinación a una temperatura de 27° C durante 60 días.

El primer tratamiento fue de escarificación química la cual consistió en sumergir las semillas en 8 ml de ácido giberélico por 24 h en refrigeración, posteriormente fueron secadas en papel filtro para luego ser sembradas.

En el segundo tratamiento se realizó la escarificación mecánica, la cual consistió en desgastar la cubierta dura e impermeable de la semilla, para esto se utilizó una lija de madera y un pet-cilindro en el cual se introdujeron las semillas y al girar se ocasionó el desgaste de las cortezas. Posteriormente se aplicó ácido giberelico durante 24 h, permanecieron en refrigeración, para luego ser secadas en papel filtro y finalmente sembradas.

**3.4.4 Testigo:** En el tercer tratamiento se realizó una prueba testigo con tres repeticiones de 20 semillas cada una de las repeticiones, después fueron sembradas en cajas petri con papel filtro.

### **3.5 Análisis estadístico**

#### **Análisis de varianza (ANOVA) y Tukey**

Se realizó un análisis estadístico (ANOVA), utilizando el programa estadístico JMP 15, entre tratamientos. Al detectar los efectos de los tratamientos, se realizó la comparación de medias para conocer la significancia ( $\neq < >$ ) entre tratamientos mediante la prueba Tukey (0.05).

## **IV. RESULTADOS**

### **4.1 Caracterización morfológica**

Para las semillas cleistogamas que se midieron, en promedio se registró una altura de 3.36 mm y 1.94 mm de longitud.

### **4.2 Viabilidad**

El resultado de la prueba de viabilidad registró un 24 % de germinación. El tratamiento más eficaz para determinar la viabilidad de las semillas cleistogamas es la sal de tetrazolio. Las semillas que no presentaban tinción en el embrión fueron descartadas.

### **4.3 Choque térmico**

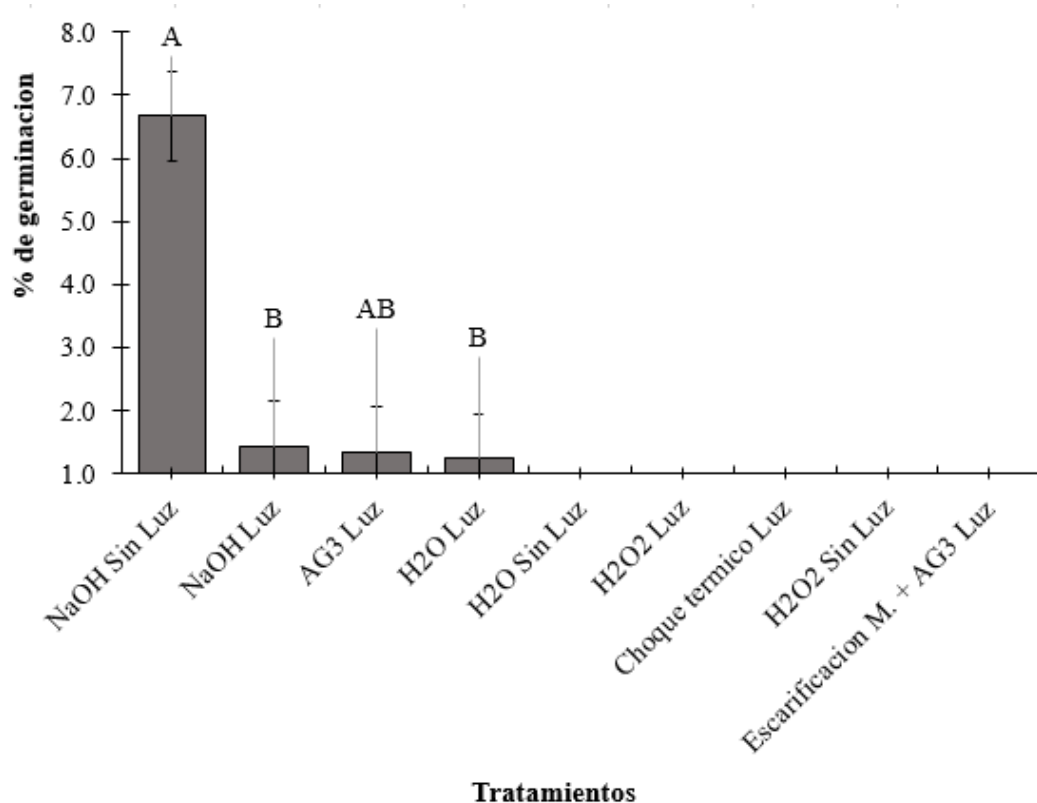
Las semillas que fueron sometidas este tratamiento, después de 62 días de incubación no se observó ninguna respuesta de germinación, por lo tanto, se descartó la posibilidad de que las semillas dieran respuesta al choque térmico.

### **4.4 Foto-sensibilidad**

Se registraron dos semillas germinadas, siendo de las repeticiones expuestas a la luz. La germinación en la primera semilla se registró a los 26 días y la segunda semilla a los 35 días. En las repeticiones que se cubrieron con aluminio no se registró germinación. En los resultados obtenidos del duplicado solo germinó una semilla, siendo de la repetición expuesta a la luz la germinación ocurrió a los 10 días, en las repeticiones en las cuales no se expusieron a la luz no se presentó germinación.

#### 4.5 Comparación de los tratamientos utilizados

Existe diferencia entre los tratamientos con respecto a los días de germinación. El porcentaje de germinación más alto en las pruebas de germinación de las semillas de *Amelichloa clandestina* fue 6.67 % con el tratamiento de Hidróxido de Sodio sin luz (Figura 5), seguido por el tratamiento de Hidróxido de Sodio con luz, en el cual el porcentaje de germinación fue de 1.43 %. En el tratamiento que consiste en la aplicación de ácido giberélico con luz el porcentaje de germinación obtenido fue de 1.33 %, y por último en el tratamiento que solo se aplicó agua con luz se registró un porcentaje de germinación de 1.23 %, en los demás tratamientos aplicados (Agua sin luz, Agua con luz, Peróxido de hidrógeno sin luz, Choque térmico con luz, y Escarificación mecánica más ácido giberélico) no se registraron resultados de germinación.

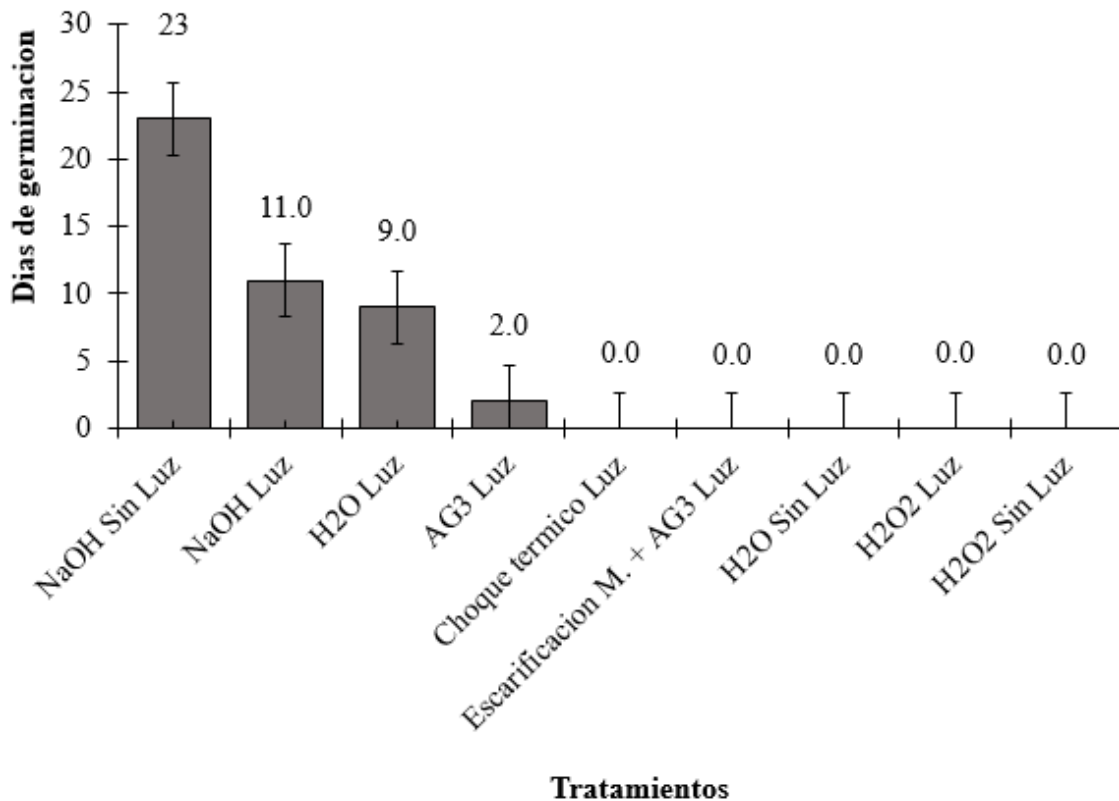


**Figura 5.** Porcentaje de germinación de semillas de *Amelichloa clandestina*.



#### 4.6 Duración de la germinación de las semillas

El tiempo que tarda una semilla en germinar depende de condiciones como temperatura, humedad, cama de siembra y de la especie. La duración promedio de las pruebas de germinación realizadas a las espiguillas cleistogamas con el tratamiento de Hidróxido de Sodio sin exposición a la luz fue de 23 días. El tratamiento de Hidróxido de Sodio con exposición a la luz fue de 11 días. En el tratamiento que solo se aplicó agua con exposición a la luz registró una duración de 9 días, por último, en el tratamiento de ácido giberélico con exposición a la luz registró una duración de 2 días (Figura 6).



**Figura 6.** Días de germinación de las semillas de *Amelichloa clandestina*.

#### **4.7 Escarificación Química**

Se registraron los siguientes resultados: en el primer tratamiento germinaron seis semillas, la secuencia de germinación fue la siguiente 24(1), 28(3), 41(1) y 52(1) días. En el segundo tratamiento germinaron dos semillas, la secuencia de germinación fue 10(1) y 35(1) días. En la prueba testigo no se registró germinación de semillas.

#### **4.8 Escarificación mecánica más química**

En el primer tratamiento (escarificación química) solo germinó una semilla a los cinco días después de realizar la siembra. En el segundo tratamiento (escarificación mecánica más química) no se registró germinación de semillas.

## V. DISCUSIÓN

### 5.1 Caracterización morfológica

El promedio de longitud de las semillas es de 3.36 mm y 1.94 mm de ancho en las semillas cleistogamas. De acuerdo con Valdés-Reyna (2015) describe que las semillas casmogamas tienen una longitud de 1 mm y una altura de 5 mm. De acuerdo con Domínguez-Valenzuela *et al.* (2000) se registró 3.24 mm de largo y 2.04 mm de ancho. Este resultado no representa una diferencia significativa, por lo tanto, lo registrados en ambos experimentos es similar.

### 5.2 Viabilidad de la semilla

El resultado de la prueba de viabilidad con las sales de tetrazolio demostró que las semillas cleistogamas tienen una viabilidad del 24 %. Las semillas que no se tiñeron es debido a una deficiencia de almidón y cuerpos proteicos que son convertidos en compuestos básicos como azúcares simples y aminoácidos necesarios para la germinación. En los resultados obtenidos por Domínguez-Valenzuela *et al.* (2000) la viabilidad fue de 21.78 %, por lo tanto, la respuesta a que las semillas cleistogamas no germinan de manera uniforme, esto debido a que están latentes, sin embargo, son viables.

### 5.3 Porcentaje de germinación

Los tratamientos fueron evaluados en un mismo ambiente, por lo tanto, las diferencias están relacionadas con la calidad de la semilla. En la figura 5 se observan las medias de germinación, el tratamiento con Hidróxido de Sodio sin luz fue el que registró el mayor porcentaje, y el tratamiento de agua con luz fue el que registró el porcentaje más bajo con una diferencia del 5.44 %.

Taiz y Zeiger (2006) mencionan que para que el proceso de germinación se presente deben ocurrir los procesos metabólicos y morfo-genéticos de germinación. Por lo anterior se considera que las semillas utilizadas en los tratamientos no se encontraban en viabilidad, de lo contrario las respuestas al porcentaje de germinación registrado sería más elevado. Algo importante es que la etapa fenológica en la cual se encontraba la semilla no era concisa por lo cual, puede que estas en su mayoría se encuentren en latencia y aun no sea el periodo de tiempo adecuado para la germinación. De acuerdo con De Murcia *et al.* (2017) la semilla es afectada durante el proceso de germinación por factores internos y externos. Neylor (1983) menciona que la latencia en semillas es un rasgo heredado genéticamente y este es un significado natural para la supervivencia de la especie en su ecosistema no perturbado. Aún cuando la cama de siembra, humedad y temperatura son adecuadas, diversos factores pueden afectar el proceso de germinación entre los cuales se encuentra la viabilidad del embrión, cantidad y calidad de los tejidos de reserva, el factor más importante es la latencia presente en la especie lo cual está determinado por aspectos genéticos.

#### **5.4 Días de germinación**

Los resultados registrados de las medias de los días de germinación se observan en la figura 6. El análisis de varianza demuestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos, de acuerdo con los resultados obtenidos el tratamiento del cual germinaron en menor tiempo las semillas a las que se aplicó ácido giberélico con luz se registró una duración de 2 días y el tratamiento que tardo más tiempo en germinar fue el Hidróxido de Sodio sin luz con una duración de 23 días, representa una gran diferencia de 21 días entre los dos distintos tratamientos.

Escobar y Cardoso (2015) mencionan que una semilla viable está en letargo cuando se encuentra en un ambiente adecuado para realizar los procesos metabólicos que llevan a la germinación. Es una fase posterior a la maduración, por lo cual el desarrollo esta detenido por factores fisiológicos o estructurales, las semillas que se establecen en un medio de cultivo en el momento apropiado tendrán favorable respuesta.

De acuerdo con lo anterior, se considera que las semillas que germinaron en menor tiempo no se encontraban en letargo, y de lo contrario las semillas que no germinaron se encuentran en un periodo de letargo, los resultados registrados de la viabilidad indican que el embrión tiene tejidos de reserva suficientes para que ocurra la germinación, por lo tanto, este proceso no ocurre debido a que la semilla se encuentra en latencia.

## VI. CONCLUSIONES

La evaluación de las semillas cleistogamas de *Amelichloa clandestina* registró que presentan un porcentaje de viabilidad bajo.

Existen diferencias entre los tratamientos utilizados para romper la latencia de las semillas.

El tratamiento con más efectividad para promover la germinación fue el Hidróxido de Sodio sin luz y el que se registró en menor tiempo fue el Ácido Giberelico con luz.

Es recomendable el uso de los tratamientos anteriores para el rompimiento de la latencia de semillas cleistogamas de *Amelichloa clandestina*, en especial el Hidróxido de Sodio sin luz.

Es importante continuar con la investigación de las semillas de esta especie debido a la poca información disponible.

## VII. LITERATURA CITADA

- Arana, S.V. 2011. Latencia y Germinación de Semillas. Tratamientos Pregerminativos. Unidad de Genética Ecológica y Mejoramiento Forestal. Volumen (1). 1–10 P.
- Arriaga, M.O. y Barkworth, M.E. 2006. *Amelichloa*: a new genus in the Stipeae (Poaceae). *SIDA, Contributions to Botany*, 145-149.
- Rubida, A.L. y T.J Gutormnson. 1988. Determining viability of green needlegrass (*Stipa viridula* Trin.). *Journal of Seed Technology*. 12(2). Pp 114-119.
- Barkworth, M. E., Valdés-Reyna, J., y Landers Jr, R. Q. 1989. *Stipa clandestina*: New weed threat on southwestern rangelands. *Weed Technology*, Pp 699-702.
- Baskin, C.C. y Baskin J.M. 2014. Seeds ecology, biogeography, and Evolution of Dormncy and Germination. Departament of Biology University of Kentucky. 2 Edicion. Lexington, Kentucky, USA. Pp 1-3.
- Brown, W.V. 1949: A cytological study of cleistogamous *Stipa leucotricha*. *Madroño* 10:97-107.
- Courtis, A.C. 2013. *Cátedra de Fisiología Vegetal*. Pp 1–22.
- Connor H.E. 1979. Breeding systems in the grasses: a survey. *New Zeland Journal of Botany*. V(17) Pp 547-574.
- Gibson, D.J. 2009. Grasses and grasland ecology: The grass seed and sedling development. Pp 52-53.
- De Murcia, R., Gastón, C.E., Melgarejo, I., José, M., y Colomer, V. 2017. Estudio de la germinación de dos especies de *Teucrium* protegidas en la region Murcia.

- Doria, J. 1979. Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1). Pp 27-43.
- Domínguez Valenzuela, Medina Pitalúa, Morales Dionisio, Maldonado Venegas. 2000. Producción y germinación de semillas de *Stipa clandestina* Hack. Congreso Nacional de la Ciencia de la Maleza. Pp 36-44.
- Escobar, D., y Cardoso, V. 2015. Corpoica. ciencia y tecnología agropecuaria. *Biología Tropical*. P 63.
- García-Gutiérrez, C. y Rodríguez-Mesa, G. D. 2012. Mejoramiento vegetal usando genes con funciones conocidas. *Ra Ximhai*. 8(3). Pp 41–49.
- García, E. 2004. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gárgano, C. 2014. Semillas, ciencia y propiedad. una mirada al ciclo de producción de conocimiento en el instituto nacional de tecnología agropecuaria de argentina. *Redes*. 20. Pp 15–36.
- Gutiérrez-Hernández, F.G. 2007. *Agronomía Mesoamericana*. 18(2), Pp 163–170.
- Jones S., Paul Reed, Bitty Roy, Wilian Morris, y Megan de Marche. 2022. Seed type and origin-dependent germination patterns in *Danthonia californica*, a cleistogamous species commonly used in grassland restoration. *St John Plant Science Lab*. 35 P.
- Jones, T.A., R. Hill y D.C. Nielson. 1988. Germination of intact and naked seed of indian ricegrass. *Journal of Seed Technology* 12(2). Pp 1247-132.
- López-Santos, A., Zermeño González, A., Cadena Zapata, M., Gil Marín, J. A., Cornejo Oviedo, E., y Ríos Camey, M. S. 2008. Impacto de la labranza en el flujo energético de un suelo arcilloso. *Terra Latinoamericana*, 26(3), 203-213.



- Langer, R. H. M. Wilson, D. 1965. Environmental control of cleistogamy in grass (*Bromus unioloides* H. B. K.) *New Phytologist* 64: 80-85.
- Lord, E. M. 1981. Cleistogamy: A tool for the study of floral morphogenesis, Function and Evolution on JSTOR. In *The Botanical Review*. Pp 439–441.
- Naylor, R. E. L. y Abdalla, A. F. 1982. Variation in germination behavior. *Seed Science and Technology*, 10, 67-76.
- Percival, M.S. 1969. Floral Biology. In *Floral Biology*. Pp 9-22.
- Pérez-Martínez, L. V., Rodríguez-Castillo, N.A., Ríos, O. V. y Melgarejo, L. M. 2014. Germinación y dormancia de semillas. Pp. 64–113.
- Pujol, M. 2010. Gramíneas aplicaciones agronomicas (Reimpresion).
- Quero-Carrillo, A.R. 2013. Gramíneas Introducidas: Importancia e impacto en ecosistemas ganaderos. Pp 16-22.
- Uphof, J. C. Th. 1938. Cleistogamic flowers. *Bot. Rev.* 4, Pp 21-49.
- Ruiz-Nieto y R. Lario. 1962. Viability of *Panicum coloratum* seed in storage. *Tropical Grasslands*. London. 3 (2). Pp 141-142.
- Rzedowski, J. 1975. An ecological and phytogeographical analysis of the grasslands of Mexico. *Taxon* 24 (1) Pp 75-92.
- Rzedowski, J. 2006. Vegetación de México. *Comisión Nacional Para El Uso y Conocimiento de La Biodiversidad (CONABIO), 1ra Edición*. Pp 225–246.
- Simpson, G. M. 2007. Seed Dormancy in Grasses. Department of Crop Science and Plant Ecology, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada. Versión digital 2007, Pp 6-58.
- Salazar Mercado, Quintero Caleño, Bustos Urbano. 2019. Implementación de la prueba de tetrazolio en las semillas de *Raphanus sativus* L. *Revista facultad de ciencias básicas*, 15(2) Pp 7-15.

- Salas, J. S., Ybarra, E. J., Moreno, M. P., Rivas, J. F. y Pérez, G. M. 2010. Ambientes áridos. Germinatives strategie seeds in arid zones. 2. Pp 35–38.
- Taiz, L.y Zeiger, E. 2006. *FisiologiaVegetal Volumen II*
- Torices, R. 2014. La ecología reproductiva de las plantas: estrategias reproductivas, fuerzas ecologicas y evolutivas. *Ecosistemas*, 23.
- Troiani, H. O., Prina, A. O., Muiño, W. A., Tamame, M. A., y Beinticinco, L. 2017. *Botánica, morfología, taxonomía y fitogeografía* (1a Edicion).
- Valdés-Reyna, J. 2015. Gramineas de Coahuila. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)* 1. Pp 80-81.

## VIII. ANEXOS

### Anexo 1. Caracterización morfológica.

Muestra	Ancho (mm)	Largo (mm)
1	1.7	2.85
2	1.87	3.54
3	2.02	3.44
4	2.18	3.62
Promedio	1.94	3.36

### Anexo 2. Viabilidad de la cariopsis.

Muestra	1	2	3	4
Viable	11	3	6	4
No viable	14	22	19	21
Suma	25	25	25	25
% de viabilidad	44	12	24	16
Promedio	24 %			

### Anexo 3. Foto-sensibilidad.

Muestra (planta)	Tratamiento	1	2	3	4
Cariopsis por caja Petri	Sin aluminio	50	50	50 *	50
	Con aluminio	50	50	50	50
Respuesta		0	0	1 (26 días)	1 (35 días)

### Anexo 4. Foto-sensibilidad duplicado.

Muestra (planta)	Tratamiento	1	2	3	4
Cariopsis por caja Petri	Sin aluminio	50	50 *	50	50
	Con aluminio	50	50	50	50
Respuesta		0	1 (10 días)	0	0

### Anexo 5. Choque térmico.

Muestras	1	2	3	4
Cariopsis * caja Petri	25	25	25	25
Resultados	0	0	0	0

## Anexo 6. Escarificación química.

Tratamiento	Hidróxido de sodio (NaOH)			Peróxido de Hidrogeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )			Agua (H <sub>2</sub> O)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Repeticiones	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Cariopsis * Caja Petri	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Cariopsis * Caja Petri	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Respuesta	1 (24 días) 3 (28 días)	1 (52 días)	1 (41 días)	0	0	0	1 (10 días)	1 (35 días)	0

## Anexo 7. Escarificación química y mecánica.

Tratamiento	Ácido giberélico (AG <sub>3</sub> )			Escarificación mecánica+ ácido giberélico (AG <sub>3</sub> )		
	1	2	3	1	2	3
Repeticiones	1	2	3	1	2	3
Cariopsis * Caja Petri	25	25	25	25	25	25
Respuesta	1 (5 días)	0	0	0	0	0

## Anexo 8. Memoria fotográfica



Fotografía 1. Colecta de ejemplares de zacate picoso para extracción de las espiguillas cleistogamas.



Fotografía 2. Colecta de zacate para extracción de las espiguillas cleistogamas.

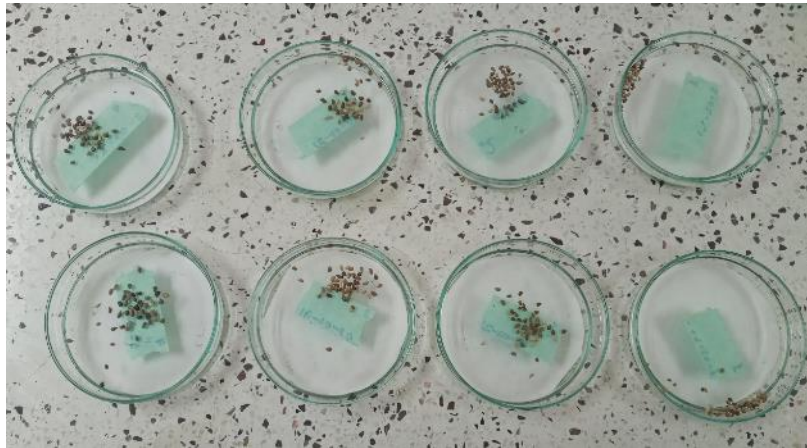


Fotografía 3. Medición de la longitud de las cariospsis para la caracterización morfológica.

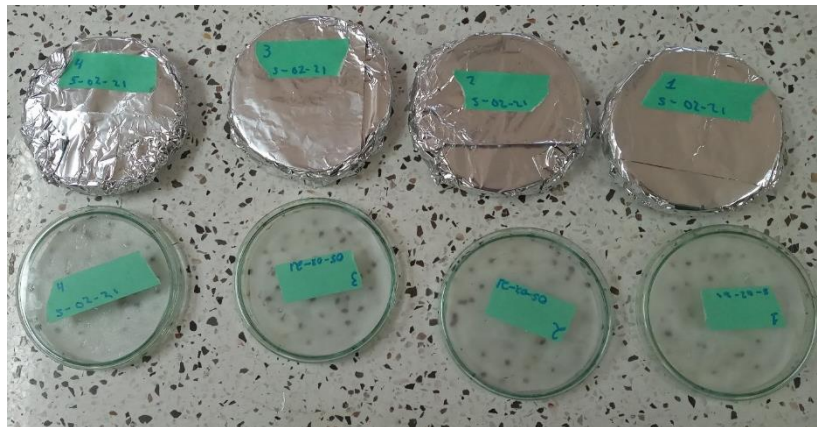


Fotografía 4. Disección de espiguillas cleistogamas.



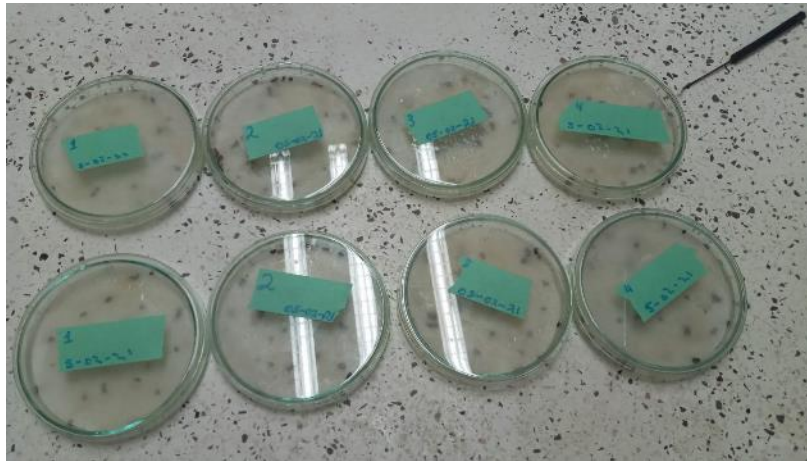


Fotografía 5. Siembra de cariopsis en cajas Petri.

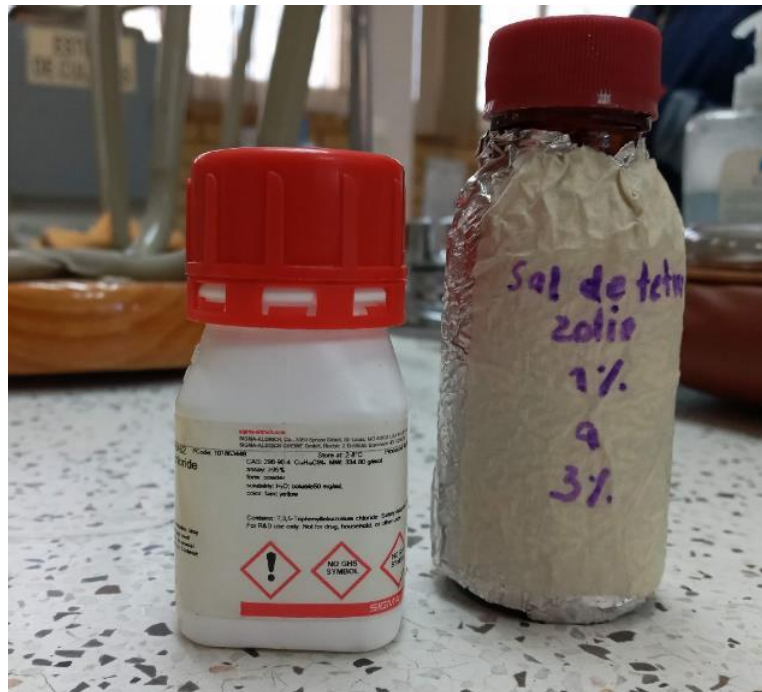


Fotografía 6. Siembra cubierta con aluminio (tratamiento sin luz) y siembra sin aluminio (tratamiento con luz).





Fotografía 7. Siembra de las cariopsis en cajas Petri.



Fotografía 8. Sal de tetrazolio para prueba de viabilidad con tinción de tetrazolio.



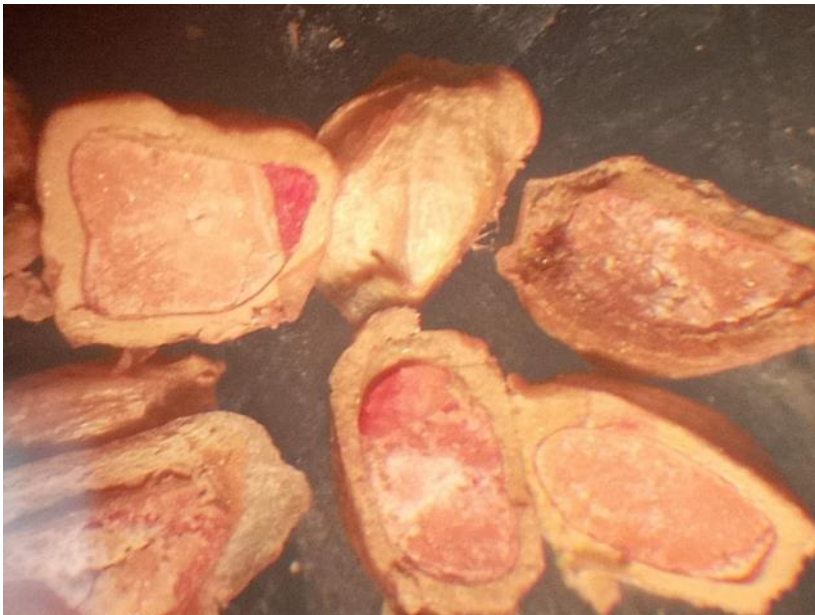
Fotografía 9. Balanza analítica con reactivo para escarificación mecánica.



Fotografía 10. Hidróxido de sodio.



Fotografía 11. Siembra de cariopsis del tratamiento de choque térmico.



Fotografía 12. Cariopsis con tinción de tetrazolio.





Fotografía 13. Cariopsis con tinción de tetrazolio hidratadas.



Fotografía 14. Resultados de germinación en cariopsis cleistogamas.



Fotografía 15. Resultados de germinación en cariopsis cleistogamas.



Fotografía 16. Resultados de germinación en cariopsis cleistogamas.



Fotografía 17. Resultados de germinación en cariopsis cleistogamas.



Fotografía 18. Espiguillas casmogamas.



Fotografía 19. Espiguillas casmogamas.