

Estabilización de semilla de *Solanum lycopersicum* durante almacenamiento y estimulación de la germinación

CARRILLO-CASTAÑEDA, Guillermo, JUÁREZ-MUÑOZ, Juana, HERNÁNDEZ-MENDOZA, Fanny, MALDONADO-PERALTA, María de los Ángeles y MANZO-RODRÍGUEZ, Sinai Mariana

G. Carrillo[´], J. Juárez^{´´}, F. Hernández^{´´´}, M. Maldonado^{´´´} y S. Manzo^{´´´}

[´] Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo.

^{´´} Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo – ICAP

^{´´´} Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo.

carrillo@colpos.mx

E. Figueroa, L. Godínez, F. Pérez (eds.) Ciencias de la Biología y Agronomía. Handbook T-I. -©ECORFAN, Texcoco de Mora-México, 2015.

Abstract

A procedure to store seeds of *S. lycopersicum* has been designed based on the following considerations: The seed, after storage, must germinate fast and the total germination equal or higher than the control seeds. All seed was submitted to: 1. Pre - storage treatment in saline solution for 8 days at 26 ± 2 °C in a germination chamber in the dark. Then the seed was divided into 2 samples. A sample of seeds was washed in a strainer with running tap water for 5 min (L seed) and the other sample of seeds was not washed (S seed). The two samples of seeds were dried at room temperature. 2. Storage. The seeds were stored in the dark at 20 ± 3 °C. 3. Un-treated seed (control) was stored in the same conditions. 3. Germination test. After one year of storage, the S seed was washed in a strainer with running tap water for 5 min (LS seed). Three samples of 100 seeds per Petri dish of L and SL seeds were set to germinate on two filter paper sheets moistened with 3.5 mL distilled water. The seeds were incubated in the dark at 28 ± 2 °C to determine the kinetics and total germination. After 365 days of storage, the L and SL seeds showed similar kinetics of germination and the total germination observed was 82 and 77 % respectively while the germination of the un-treated seeds was slower and the total germination was 78 %.

7 Introducción

El mantenimiento de la calidad de la semilla en almacenamiento desde el momento de la producción en campo hasta el momento en que es sembrada es imperativo, para asegurar el patrón óptimo de germinación y el establecimiento del cultivo. Las semillas de calidad óptima debieran mantener la condición de viabilidad alta, uniformidad y rápida germinación.

Durante el almacenamiento de las semillas, se pueden presentar riesgos que pueden ser de magnitud variable dependiendo de la especie, el tipo de evento, las condiciones y eventualidades bióticas y abióticas que se presenten durante el almacenamiento. La pérdida de la viabilidad, que puede ser irreversible, es simplemente el síntoma de que algo se ha hecho mal con la semilla y, en consecuencia es muy importante determinar e identificar los errores cometidos para prevenir o corregirlos a tiempo.

Existe semilla de mucha importancia que es conservada en almacenamiento y, por lo tanto se requiere mantener las semillas a bajas temperaturas y con baja humedad relativa para reducir la actividad fisiológica basal de las semillas a su mínima expresión pues, con el transcurso del tiempo, esta actividad fisiológica terminar abatiendo la germinación, lo que repercute en los altos costos de estos sistemas de conservación de semillas.

La salinidad provoca de manera instantánea estrés osmótico, similar a la sequía y al estrés por frío (Zhu, 2002) y, además, la acumulación gradual de iones, que llegan a ser tóxicos para la planta. Las plantas responden muy rápidamente a la sal, mediante la regulación de los canales iónicos, la generación de las señales de lípidos, incluyendo el ácido fosfatídico y fosfoinosítidos así como por la activación de las vías de proteína cinasas (Boudsocq y Lauriere, 2005; Craig Plett y Moller, 2010; Galvan-Ampudia y Testerink, 2011; Hong *et al*, 2010; Kulik *et al*, 2011; Munnik y Vermeer, 2010; Testerink y Munnik, 2011).

En la fisiología de la semilla y el desarrollo del cultivo, las sales (fundamentalmente el NaCl), causan estrés iónico, inhibiendo ciertas actividades enzimáticas (Carrillo-Castañeda y Ortega, 1967; López y Carrillo-Castañeda, 1996).

La salinidad actúa también como estrés osmótico, pues la presencia de sales disminuye el potencial hídrico, provocando menor disponibilidad de agua para las semillas, de manera que estas deben generar suficiente potencial osmótico para mejorar el estatus hídrico de los embriones y permitir su crecimiento (Jones, 1986).

El efecto de la sales se manifiesta de formas muy variadas pues pueden inhibir la germinación así como el crecimiento tanto del embrión como del estado inicial del desarrollo de las plántulas. Está demostrado que la sal causa envejecimiento foliar, inhibe la fotosíntesis, la síntesis de proteínas y la actividad de enzimas importantes. Ciertos autores han demostrado que en muchas plantas tanto glicofitas como halofitas, incluyendo muchos casos de cultivos importantes, la germinación y el desarrollo de la plántula son los estadios más sensibles al estrés por salinidad (Ashraf y Foolad, 2005; Sosa *et al.*, 2005). La sal (NaCl), incluso, puede inhibir la germinación al 100 % y las diferencias de las respuestas de la planta o las semillas al estrés por NaCl dependen de la concentración de sal en que se encuentren así como de la especie y variedad de las plantas. Camejo y Torres (2000), al utilizar las concentraciones: 50 (0.29%), 100 (0.58%) y 150 (0.87%) mM de NaCl y semilla de dos cultivares de jitomate (1 9(1) y 1-17), encontraron que únicamente la solución de 150 mM inhibía al 100% la germinación del cultivar 1-17.

A pesar de todos los efectos negativos que causa la sal a los cultivos y a las semillas, vemos en la sal a un agente importante para la conservación de la semilla por largos períodos, donde la sal puede ser utilizada para diseñar un método práctico, seguro y sobre todo, económico. Un resultado importante para nuestra investigación ha sido la demostración que la inhibición de la germinación por la sal es un efecto reversible. Bajji y colaboradores (2002) demostraron que la inhibición de la germinación de la semilla de la especie halófila *Atriplex halimus* L. tratada con solución salina es eliminada si la semilla es lavada antes de colocarla para germinar, porque esta semilla tiene alto contenido de sodio y poco calcio en relación a la semilla sin tratar. El hecho de que esta inhibición sea reversible puede deberse, en parte, a que tanto la sal como el estrés osmótico interfieren la movilización de minerales hacia el embrión en desarrollo.

Tomando en cuenta esta información científica, se postula que es factible encontrar un procedimiento práctico, económico y seguro para almacenar la semilla de jitomate y se plantea la hipótesis siguiente.

Hipótesis: Si se considera que: a) La germinación puede ser inhibida al 100% mediante un tratamiento pre-germinativo de la semilla en solución salina y b) Si la condición de inhibición de la germinación es un proceso reversible, consideramos que la sal un agente importante para la conservación de la semilla durante períodos prolongados de almacenamiento y, tomando en cuenta además que, para llevar a la práctica este procedimiento, la semilla debe ser sometida a un tratamiento pre-germinativo (remojo en solución salina) para que después de secarla almacenarla impregnada en sal. La semilla, por haber experimentado el tratamiento pre-germinativo en agua salada, deberá exhibir mayor: a) Estabilidad durante el almacenamiento, debido a que la semilla se almacena impregnada de sal. b) Viabilidad, c) Velocidad, y d) Uniformidad de la germinación. En este procedimiento diseñado para la conservación de semillas en almacenamiento, no se considera el control de la temperatura ni de la humedad y fue requerido conocer el patrón de germinación y la condición de vigor durante los períodos de almacenamiento.

7.1 Materiales y métodos

Semilla de *Solanum lycopersicum* (Jitomate) variedad Saladet de la casa Hortaflores (Rancho los Molinos) y el compuesto NaCl de la casa Sigma (Cell culture reagents, U.S.A.).

Se postula que es factible encontrar un procedimiento práctico, económico y seguro para almacenar la semilla de jitomate y, en consecuencia, se ha diseñado el procedimiento siguiente:

Tratamiento pre-germinativo. Remojo de la semilla en solución de NaCl (171.3 mM). Lotes de 500 semillas por caja Petri de vidrio de 150 mm de diámetro (6 lotes) se distribuyeron sobre dos hojas de papel toalla (toalla interdoblada blanca, GP–Georgia Pacif). A cada caja se agregaron 8 mL de la solución de NaCl. Las semillas se mantuvieron 8 días en una cámara de germinación dentro de una incubadora Blue M ajustada a la temperatura de 28 ± 2 °C y en toda la parte inferior de la cámara germinadora es colocada agua destilada por lo que la humedad relativa es cercana al 100 %, condición óptima que permite que la semilla germine si estuviera remojada en agua dulce. A continuación, 3 lotes de semilla fueron lavados al chorro de agua de la llave durante 5 minutos (Semilla *L*) y la semilla de los otros 3 lotes no fue lavada (Semilla *S*). Esta semilla al no ser lavada queda impregnada con sal y en esta condición es almacenada. A continuación, toda la semilla fue secada a temperatura ambiente durante 4 h con la ayuda de un ventilador. La semilla ya seca, fue almacenada en oscuridad a 20 ± 3 °C. Una muestra de semilla que no fue tratada fue almacenada en las mismas condiciones (semilla control). Tratamiento post-almacenamiento. Después de 8 períodos de almacenamiento, la semilla *S* fue lavada con agua corriente de la llave durante 5 min (semilla *SL*).

Determinación de la germinación. Para evaluar la capacidad germinativa de la semilla, la unidad experimental fue de 100 semillas por caja Petri de plástico de 90 mm de diámetro y 9 mm de alto. La semilla fue distribuida sobre dos hojas de papel toalla (toalla interdoblada blanca, GP–Georgia Pacific) que fueron humedecidas con 3.5 mL de agua destilada. Tres muestras de: 100 semillas *L*, de 100 semillas *S* y de 100 semillas control fueron utilizadas para determinar la germinación, después de cada período de tiempo de almacenamiento determinado. La semilla fue colocada en la cámara de germinación dentro de una incubadora Blue M ajustada a la temperatura de 28 ± 2 °C. A los tiempos indicados fue determinado el número de semillas germinadas.

Determinación del vigor. Tres plántulas fueron seleccionadas de cada caja Petri, de 10 días a partir del tiempo 0, que provenían de semillas que habían sido almacenadas durante 45 y 60 días. El tallo fue separado la raíz y las muestras fueron secadas a temperatura ambiente durante 48 horas para luego, colocarlas en una estufa ajustada a 70 °C donde permanecieron durante 72 horas. Posteriormente, el peso de cada muestra fue determinado en una balanza de precisión Mettler.

Los resultados se expresan como promedio de germinación así como promedio de peso de materia seca (mg), en ambos casos con la desviación estándar.

7.2 Resultados y discusión

Germinación

Por definición, la semilla seca inicia el proceso de la germinación que comienza con la absorción de agua y culmina con el alargamiento del eje embrionario y aparición de la raíz cuando rompe la cubierta de la semilla. Este es un proceso complejo durante el cual la semilla debe recuperar rápidamente la actividad fisiológica suspendida durante el tiempo en que la semilla se encuentra deshidratada, incrementar la intensidad del metabolismo, completar los eventos celulares que permitan la emergencia del embrión y prepararse para el posterior crecimiento de la plántula (Nonogaki *et al.*, 2010).

Para que la germinación tenga lugar es necesario que se den una serie de condiciones ambientales favorables como son: un sustrato húmedo, suficiente disponibilidad de oxígeno que permita la respiración aerobia y la temperatura adecuada para los distintos procesos metabólicos así como para el desarrollo de la plántula. En los estadios iniciales de este proceso deben actuar una serie de moléculas o familias de ARNm preformadas que son de fácil degradación. Si por alguna situación (como consecuencia del almacenamiento prolongado de la semilla), este tipo de moléculas de fácil degradación son destruidas, ese tipo de funciones requeridas en estos estadios ya no se llevan a cabo y, como consecuencia, la semilla pierde su capacidad germinativa. Tomando muy en cuenta todo este conocimiento, en el diseño del procedimiento de almacenamiento aquí presentado, se consideró entonces a) Proporcionar a la semilla un tratamiento pre-germinativo que le llamaremos *pre-almacenamiento*, para que en la semilla se lleven a cabo prácticamente todas los procesos fisiológicos, incluyendo reacciones donde intervienen moléculas de fácil degradación que ocurren en la semilla en remojo pero, la semilla es secada antes de que germine. Al término de este tratamiento *pre-almacenamiento*, la semilla es secada y queda en una fase fisiológica más avanzada en la serie de eventos que ocurren en el proceso de germinación. Es posible que las funciones y moléculas que van participar en las etapas que deban presentarse cuando la semilla se vuelva a rehidratar, sean más estables y resistan el período de almacenamiento prolongado. Estas ideas son las bases para explicar por qué la semilla así tratada debe exhibir al término del almacenamiento: Mayor viabilidad, b) Mayor capacidad germinativa, germinación más rápida y c) Mayor uniformidad en la germinación.

Desde otro punto de vista se conoce que las semillas pre-acondicionadas deben germinar en menos tiempo dado que el proceso de germinación se re-inicia a partir del punto que alcanzó al término del tratamiento pre-germinativo. Tenemos la evidencia experimental de que la velocidad, la uniformidad y el porcentaje de la germinación de la semilla son mejorados mediante tratamientos pre-germinativos (Carrillo-Castañeda *et al.*, 2013; Herrera-Corredor *et al.*, 2011; Bautista-Calles *et al.*, 2008; Artola *et al.*, 2003)

En la serie de Figuras de la 7 a la 7.8, se presentan las cinéticas de germinación de determinaciones llevadas a cabo después 8, 15, 30, 45, 60, 75 días, 9 y 12 meses de almacenamiento de la semilla. Las cinéticas de germinación son de semillas que habían sido sometidas a los dos tipos de tratamientos *pre-almacenamiento* así como las de la semilla sin tratar (control).

Los resultados obtenidos demuestran que las semillas de jitomate *L* (que experimentaron el tratamiento pre-germinativo en la solución NaCl, posteriormente lavadas con agua corriente, secadas y almacenadas a temperatura ambiente), germinaron siempre más rápidamente; además, los porcentajes de germinación después de los períodos de almacenamiento analizados fueron, por lo general, los más altos. Las semillas *S* conservadas en almacenamiento con los restos de sal del tratamiento *pre-almacenamiento* (sin enjuagar previo al almacenamiento) germinaron por lo general más rápidamente que las semillas que no fueron tratadas (testigo) pero, los porcentajes de germinación fueron iguales o menores al de las semillas que no recibieron el pretratamiento (testigo). Como ya se ha indicado, toda semilla, por haber recibido el tratamiento *pre-almacenamiento* debe germinar mejor cuando vuelven a rehidratarse para germinar.

La semilla que ha recibido el tratamiento de *pre-almacenamiento* tiene impedida la germinación por tres razones: a) Los iones sodio inhiben enzimas que deben actuar en un momento determinado a lo largo del proceso de germinación y, entonces dicho proceso se detiene porque las reacciones enzimáticas en cuestión no se llevan a cabo.

Es importante indicar esto ya que en esta situación, el impedimento de la germinación es independiente de la cantidad de agua absorbida y requerida por la semilla para que germine. b) La inhibición de la germinación se debe también a que la cantidad de agua que penetra a la semilla no llega al umbral requerido por esa semilla, por la concentración de NaCl de la solución, para que el proceso continúe y la semilla germine. c) La combinación de ambas posibilidades. En todo caso, la semilla queda inhibida y estacionada en una fase del proceso de germinación cuando es remojada en la solución salina. Cuando esta semilla nuevamente se coloca en las condiciones que le permitan germinar, la rehidratación permite que las enzimas y estructuras necesarias para el reinicio del metabolismo sea reactivado y el proceso continúe a partir del estadio en que quedó detenido y, por esa razón esta semilla tiene la potencialidad de exhibir a) Mayor viabilidad, b) Germinación más rápida, y c) Mayor uniformidad de la germinación.

No todos los compuestos y enzimas que actúan a lo largo de los estadios del proceso de germinación son igualmente susceptibles a las condiciones que mantienen inhibida a la semilla (fosfatasas de peso molecular de 55 y 100 KDa, mayoritarias en ejes en desarrollo del frijol que se inducen tras la germinación de las semillas). Estas se diferencian por su sensibilidad al molibdato, que es un inhibidor de fosfatasas ácidas) o al tiempo (Es conoce que la semilla, antes de madurar, sintetiza ácidos ribonucleicos que quedan almacenados y deben traducirse en las etapas más tempranas de la germinación. Múltiples especies de ARNm en semillas secas de *Arabidopsis* (Nakabayashi *et al.*, 2005) y cebada (Sreenivasulu *et al.*, 2008) han sido encontrados. Estas moléculas, por su característica química, son degradadas fácilmente.

La germinación máxima que se logró después de 8 días de almacenamiento fue de 83 %, a los 45 días de 80 %, a los 9 meses de almacenamiento de 75 % y después de 1 año de almacenamiento de 81 %. La germinación de la semilla, en el 50 % de las determinaciones de germinación, después de 15, 30, 60 días y 9 meses de almacenamiento fue de 77, 76, 76 y 75 % pero a los 8, 45, 75 y 365 días de almacenamiento, la máxima germinación registrada fue mayor de 80 %. Estas variaciones pueden deberse en parte, al error experimental. Después de un año de almacenamiento la semilla germinó 81 %.

La semilla posee las potencialidades requeridas para llevar a cabo cada una de sus funciones importantes; sin embargo, dichas potencialidades se van reduciendo como consecuencia del tiempo de almacenamiento (envejecimiento), que es amortiguado o acelerado de acuerdo con las características propias de la semilla y de las condiciones dadas durante el almacenamiento. En general, durante el almacenamiento no se observaron cambios realmente importantes en el patrón comparativo de las cinéticas de germinación de los tres tipos de semilla ni en la germinación total. El resultado que merece ser resaltado es el que se presenta en las Figuras 7.7 y 7.8. Las semillas *S* conservadas con restos de sal (sin ser enjuagadas previo al almacenamiento) germinaron por lo general más lentamente y menos que las semillas *L*; sin embargo, llamó la atención de manera sorprendente ver que cuando las semillas *S* son lavadas (en la figura 7.8 se identifican como Sal-lavada), después de haber sido almacenadas pero antes de ponerlas a germinar, su germinación fue la más rápida que las semillas *L* y las semillas control. Esto es muy interesante porque puede ser una ventaja más del modelo propuesto de almacenamiento de la semilla. La semilla impregnada de sal le puede conferir mayor estabilidad durante el almacenamiento. La capacidad germinativa de esta semilla, en torno al 80 % y, la de la semilla *L* fue muy similar.

Figura 7 Cínicas de germinación de semillas de jitomate Saladet. La semilla recibió el tratamiento pre-germinativo en la solución de NaCl y después de 8 días de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas

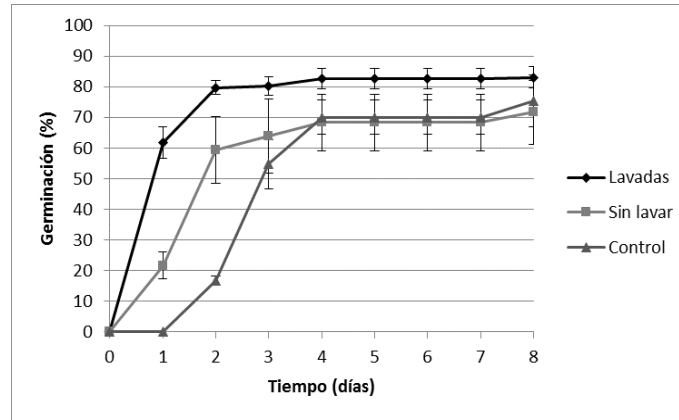


Figura 7.1 Cínicas de germinación de semillas de jitomate Saladet. La semilla recibió el tratamiento pre-germinativo en la solución NaCl y después de 15 días de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas

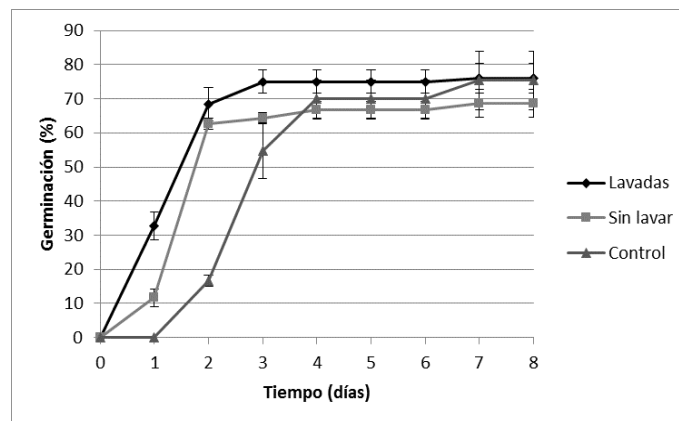


Figura 7.2 Cínicas de germinación de semillas de jitomate Saladet. La semilla recibió el tratamiento pre-germinativo en la solución de NaCl y después de 30 días de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas

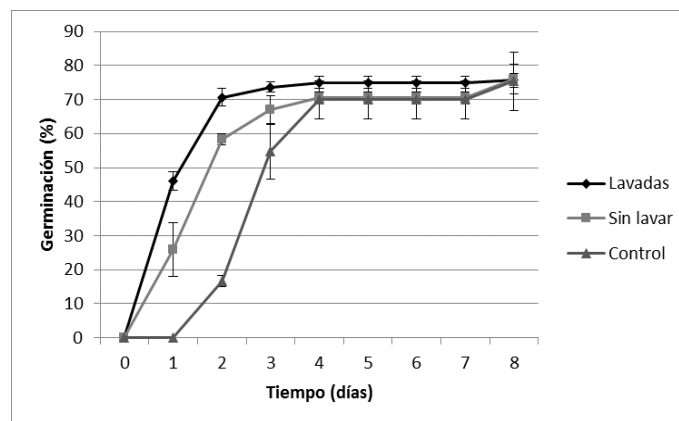


Figura 7.3 Cineticas de germinación de semillas de jitomate Saladet. La semilla recibió el tratamiento pre-germinativo en la solución de NaCl y después de 45 días de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas

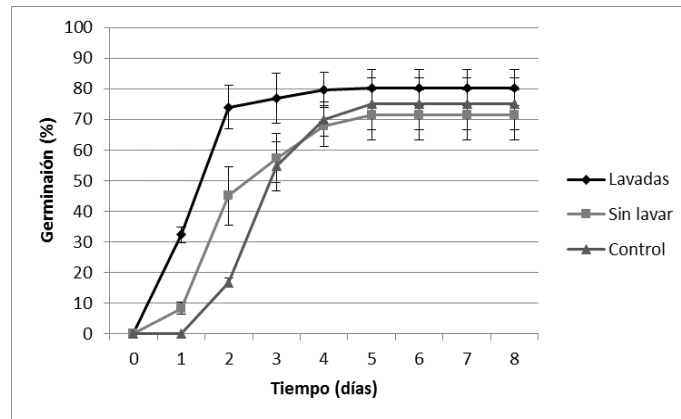


Figura 7.4 Cineticas de germinación de semillas de jitomate Saladet. La semilla recibió el tratamiento pre-germinativo en la solución de NaCl y después de 60 días de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas

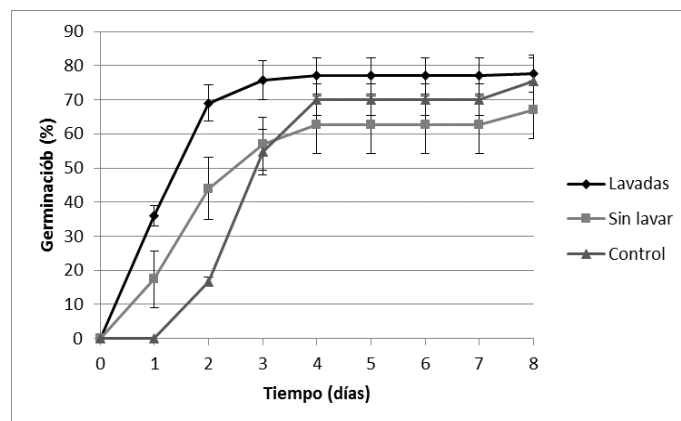


Figura 7.5 Cineticas de germinación de semillas de jitomate Saladet. La semilla recibio el tratamiento pre-germinativo en la solución de NaCl y despues de 75 días de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas

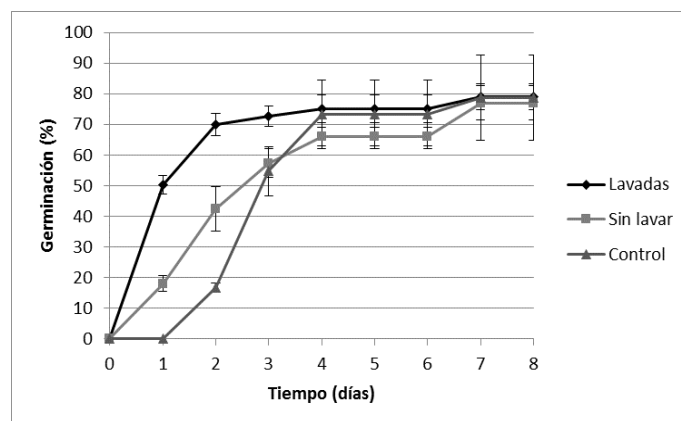


Figura 7.6 Cineticas de germinación de semillas de jitomate Saladet. La semilla recibió el tratamiento pre-germinativo en la solución de NaCl y después de 9 meses de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas

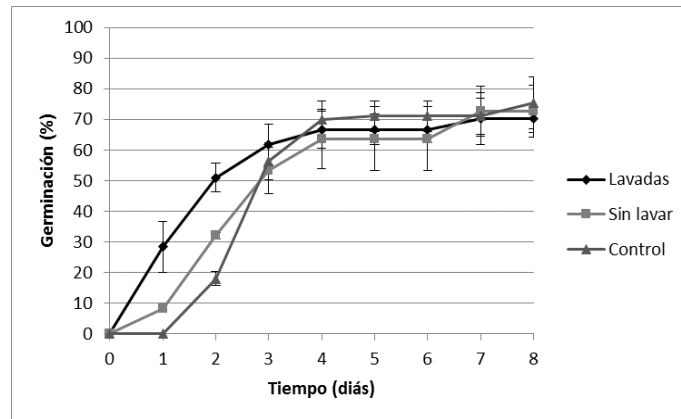


Figura 7.7 Cineticas de germinación de semillas de jitomate Saladet. La semilla recibió el tratamiento pre-germinativo en la solución de NaCl y después de 12 meses de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas

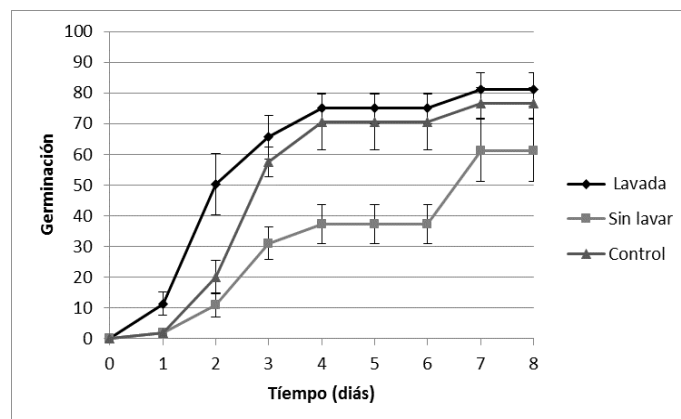
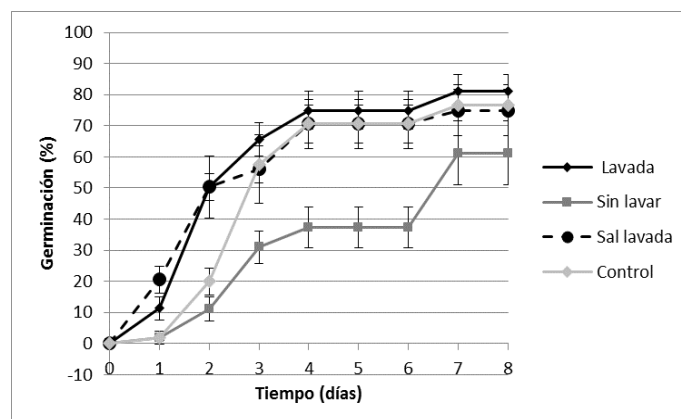


Figura 7.8 Cineticas de germinación de semillas de jitomate Saladet. La semilla recibió el tratamiento pre-germinativo en la solución de NaCl y después de 1 año de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas



Vigor

En relación con la condición de vigor de la semilla almacenada, únicamente fueron realizadas dos determinaciones para comparar esa condición de vigor, después de los 8 y 75 días de almacenamiento.

Los resultados obtenidos demostraron que las semillas de jitomate que habían experimentado el tratamiento *pre-almacenamiento* en la solución de NaCl germinaron más rápidamente pero, el peso de la biomasa de los tres tipos de plántulas: las obtenidas de semilla que fue tratada y almacenada durante 8 días y el de las semillas que no experimentaron el tratamiento pre-germinativo fue muy similar. La diferencia más marcada fue en relación al tiempo de almacenamiento.

El vigor disminuyó conforme aumentó el tiempo de almacenamiento, entre el intervalo de 8 y 75 días de almacenamiento. Se ve con claridad que el peso de la biomasa de las plántulas obtenidas de semilla que fue tratada y almacenada durante 75 días fue menor (26 mg) en relación con el peso de la biomasa de las semillas que no experimentaron el tratamiento pre-germinativo (32 mg).

Ciertos autores (Dell'Amico *et. al.*, 1988) encontraron que las plantas de jitomate I 9(1) tratadas con soluciones de salinidad moderada como 50 mM (0.292%) tuvieron una producción de biomasa de tallo y de raíz similar o superior al control, en correspondencia con incrementos en el contenido de azúcares reductores, totales y de prolina. Torres y Echevarria (1994) demostraron que la salinidad afecta la producción de biomasa seca de las plántulas de arroz pero que la producción de biomasa está relacionada con el grado de salinidad del medio.

Figura 7.9 Determinación del peso de biomasa seca de plántulas de jitomate Saladet procedentes de semillas que habían sido tratadas en la solución de NaCl y después de 8 días de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas

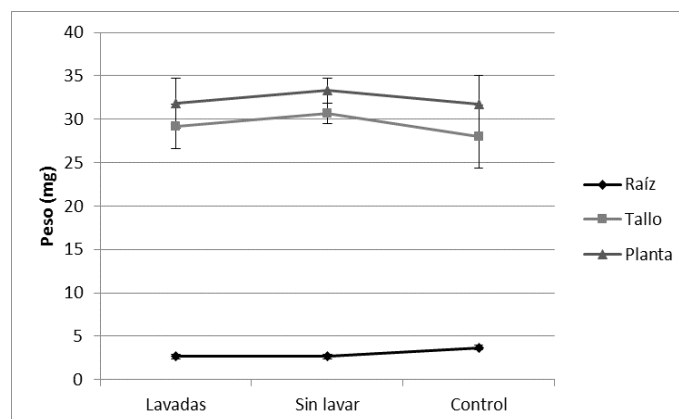
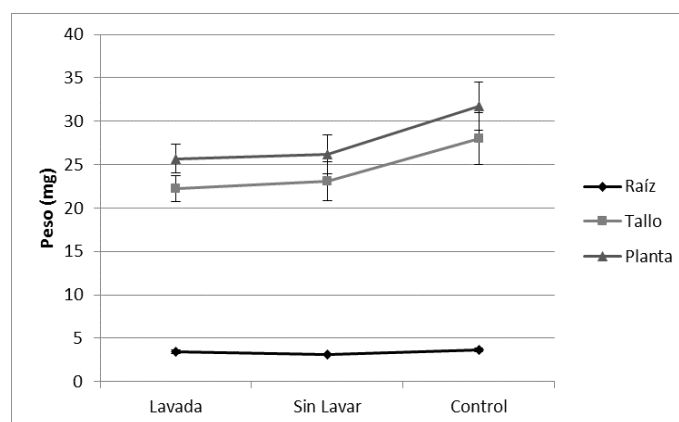


Figura 7.10 Determinación del peso de biomasa seca de plántulas de jitomate Saladet procedentes de semillas que habían sido tratadas en la solución de NaCl y después de 75 días de almacenamiento, puestas a germinar en las condiciones indicadas



Pudo observarse un comportamiento diferenciado entre cultivares, encontrándose además, que la salinidad afecta de forma más acentuada el desarrollo (la longitud) de la raíz (Camejo y Torres, 2000). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores (Gurusinghe *et al.*, 2002; Jones, 1986).

En una investigación (trabajo en preparación) se demostró que la semilla de jitomate, cuando es sometida a un tratamiento pre-germinativo en agua destilada, cuando es germinada en una solución de calcio, incrementa considerablemente su condición de vigor. Esto da pauta para establecer condiciones de germinación de la semilla almacenada, para ganar terreno en su condición de vigor.

Finalmente, se tiene programado iniciar una investigación para determinar si el efecto del tratamiento *pre-almacenamiento* en agua salina aplicado a la semilla de jitomate también repercute en el rendimiento. Bybordi (2010) trabajando con ciertas variedades de Canola ('Licord', 'Fornax', 'Okapi', 'Elite', 'SLM046'), supuestamente por efecto del remojo en soluciones de NaCl (0, 75, 150, 200, 250 y 300 mM) incrementaron significativamente el porcentaje y velocidad de germinación así como la longitud de la raíz y del tallo. La respuesta de los cultivares de Canola fue diferente en la germinación y en los estados de crecimiento vegetativo pues, estos investigadores encontraron en sus experimentos en maceta que fueron modificados: La altura de la planta, el área foliar, la cantidad de biomasa seca acumulada, la concentración de ciertos elementos, la acumulación de prolina así como el rendimiento de grano.

7.3 Conclusiones

1. La semilla previamente sometida a un tratamiento *pre-almacenamiento* en solución salina, se pudo almacenar de manera estable durante un año.
2. Mediante el tratamiento *pre-almacenamiento* se asegura mayor capacidad germinativa de la semilla y la germinación es, además, más rápida que la semilla sin tratar (testigo).
3. La semilla almacenada impregnada con sal, pudiera resultar más estable durante el almacenamiento y germinar al mismo nivel que la semilla que fue lavada antes de ser almacenada.
4. El método aquí diseñado es práctico, seguro y económico

7.4 Referencias

- Artola, A., Carrillo-Castañeda, G. y García de los Santos, G. (2003). Hydropriming: a strategy to increase *Lotus corniculatus* L. seed vigor. *Seed Sci. Technol.* 31 (2): 455-463.
- Ashraf, M. y Foolad, M. R. (2005). Pre-Sowing Seed Treatment—A Shotgun Approach to Improve Germination, Plant Growth, and Crop Yield Under Saline and Non-Saline Conditions. *Adv. Agron.* 88: 223-271.
- Bautista-Calles, F., Carrillo-Castañeda, G. y Villegas-Monter, A. (2008). Recuperation of the high germinability of papaya seed through priming technology and biorregulators. *Agrociencia* 42: 817-826.
- Boudsocq, M. y Lauriere, C. (2005). Osmotic signaling in plants: multiple pathways mediated by emerging kinase families. *Plant Physiol.* 138: 1185–1194.
- Bybordi, A. (2010). The influence of salt stress on seed germination, growth and yield of Canola cultivars. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.* 38 (1): 128-133.
- Camejo D. y Torres, W. (2000). La salinidad y su efecto en los estadios iniciales del desarrollo de dos cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). *Cultivos Tropicales.* 21 (2): 23-26.
- Carrillo-Castañeda, G., Bautista-Calles, M. F. y Villegas-Monter A. (2013). Postharvest seed treatments to improve the papaya seed germination and seedlings development. *Tropical and subtropical Agroecosystems.* 16: 133-141.
- Carrillo-Castañeda, G. y Ortega, M. V. (1967). Effect of inorganic phosphate upon *Salmonella typhimurium* phosphatase activities: Non-repressible alkaline phosphatase and non-inhibited acid phosphatase. *Biochim. Biophys. Acta.* 146: 535-543.
- Craig Plett, D. y Moller, I. S. (2010). Na(+) transport in glycophytic plants: what we know and would like to know. *Plant, Cell Environ.* 33: 612–626.
- Dell'Amico, J. M., Perez-Alfocea, F., Balibrea, M. E. y Bolarin, M. C. (1988). Variaciones en el contenido de solutos orgánicos en hojas y raíces de plantas de tomate cultivadas en condiciones de salinidad. *Cultivos Tropicales.* 19 (3):15-18.
- Galvan-Ampudia, C. S. y Testerink, C. (2011). Salt stress signals shape the plant root. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14: 296–302.
- Gurusinghe, S., Powell, A. L. T. y Bradford, K. J. (2002). Enhanced expression of BiP is associated with treatments that extended storage longevity of primed tomato seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 127: 528-534.
- Hong, Y., Zhang, W. y Wang, X. (2010). Phospholipase D and phosphatidic acid signalling in plant response to drought and salinity. *Plant, Cell Environ.* 33: 627–635.
- Jones, R. A. (1986). High salt tolerance potential in *Lycopersicon* species during germination. *Euphytica.* 35: 575-582.

- Kulik, A., Wawer, I., Krzywinska, E., Bucholc, M. y Dobrowolska, G. (2011). SnRK2 protein kinases-key regulators of plant response to abiotic stresses. *OMICS* 15, 859–872, 10.1089/omi.2011.0091.
- López, D. H. y Carrillo-Castañeda, G. (1996). Acetylsalicylic acid: Its effects on a highly expressed phosphatase from *Solanum cardiophyllum*. *Biotechnología aplicada*. 13: 186-189.
- Munnik, T. y Vermeer, J. E. (2010). Osmotic stress-induced phosphoinositide and inositol phosphate signalling in plants. *Plant, Cell Environ.* 33: 655–669.
- Nakabayashi, K., Okamoto, M. Koshiha, T., Kamiya, Y. y Nambara, E. (2005). Genome-wide profiling of stored mRNA in *Arabidopsis thaliana* seed germination: epigenetic and genetic regulation of transcription in seed. *Plant J.* 41: 697-709.
- Nonogaki, H., Bassel, G. W. y Bewley, J. D. (2010). Germination-Still a mystery. *Plant Sci.* 179: 574-581.
- Sosa, L., Llanes, A., Reinoso, H., Reginato, M. y Luna, V. (2005). Osmotic and specific ion effect on the germination of *Prosopis strombulifera*. *Ann. Bot.* 96: 261-267.
- Sreenivasulu, K., Raghu, P., Ravinder, P. y Nair, K. M. (2008). Effect of dietary ligands and food matrices on zinc uptake in Caco-2 Cells: Implications in assessing zinc bioavailability. *J. Agricult. Food Chem.* 56: (109) 67-72.
- Testerink, C. y Munnik, T. (2011). Molecular, cellular, and physiological responses to phosphatidic acid formation in plants. *J. Exp. Bot.* 62: 2349–2361.
- Torres, W. y Echevarría, I. (1994). Germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) at different NaCl concentrations. *Cultivos Tropicales*, 15: 44-47.
- Zhu, J. K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53: 247–273.