UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

ESCUELA DE BIOLOGIA

GERMINACION Y CRECIMIENTO DE LAS PLANTULAS DEL TAMARINDO

Tamarindus indica L

Trabajo realizado para optar por el grado de

LICENCIATURA EN BIOLOGIA

Braulio Vílchez Alvarado

1986

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

ESCUELA DE BIOLOGIA

GERMINACION Y CRECIMIENTO DE LAS PLENTULAS DEL TAMARINDO

Tamarindus indica L

Trabajo realizado para optar por el grado de

LICENCIATURA EN BIOLOGIA

Braulio Vílchez Alvarado

1986

TESIS DE GRADO

"GERMINACION Y CRECIMIENTO DEL TAMARINDO
Tamarindus indica L"

Sometida el día 23 de mayo de 1986 a consideración de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica, como requisito para optar el grado de:

LICENCIATURA EN BIOLOGIA

Presenta :

BRAULIO VILCHEZ ALVARADO

TRIBUNAL EXAMINADOR

Msc. María Eugenia de Castillo
Directora de Tesis

Msc. María Isabel Morales

Msc. Carlos Villalobos
Director Escuela de Biología

Dr. Luis Fournier Origgi

Msc. Ricardo Soto

Braulio Vílchez Alvarado
Sustentante

DEDICATORIA

A mis padres.

AGRADECIMIENTOS

A todos los miembros de mi Tribunal de Tesis, con especial agradecimiento a Msc. María Eugenia de Castillo, quien supo darme muy buenos consejos en los momentos más difíciles.

A la Dra. Eugenia Flores, por su colaboración en las primeras etapas de este trabajo, a sus asistentes Nelly Vázquez, Elizabeth Armáez y Benjamín Mora.

A las señoritas Shirley Herrera Zárate, Isabel Carpio y Yamileth Brenes, por su abnegación, cariño, desinterés e importantes colaboraciones y a todas las personas que de una u otra forma, en algún momento de mi vida universitaria me dieron la mano.

Muchas gracias.

INDICE

		Página
I-.	INTRODUCCION	1
II-.	REVISION DE LITERATURA	3
III-.	MATERIAL Y METODOS	9
IV-.	RESULTADOS	13
	Desarrollo del fruto	13
	Semilla	23
	Germinación y desarrollo de las plántulas.	32
V-.	DISCUSION	38
VI-.	CONCLUSIONES	47
VII-.	RECOMENDACIONES	48
VIII-.	RESUMEN	49
IX-.	BIBLIOGRAFIA	50

INDICE DE FIGURAS

		Página
FIGURA 1 :	Curva que describe el crecimiento del fruto del Tamarindus indica en relación al cambio en peso fresco, en una población de 20 individuos.....	15
FIGURA 2 :	Cél., parénquima con gránulos de almidón.....	16
FIGURA 3 :	Mostrando un gran número de pequeños haces vasculares(H.V.).....	16
FIGURA 4 :	Haz vascular dorsal (V.D.).....	17
FIGURA 5 :	Haz vascular ventral (V.V.).....	17
FIGURA 6 :	Fibras del endocarpo (F).....	18
FIGURA 7 :	Parénquima almidón (pa), fibras (F) y esclereidas (E) hacia la periferia paredes más gruesas.	20
FIGURA 8 :	Fibras asociadas (F), haces vasculares (H.V.)..	20
FIGURA 9 :	Cél. que circundan endocarpo más separadas entre sí. Fibras endocarpo más diferenciadas . Fibras (F). Endocarpo (end.).....	21
FIGURA 10 :	Desintegración del parénquima.....	21
FIGURA 11 :	Esclereidas y fibras en "semicírculos" en la región longitudinal central vaina. Fibras (F) , esclereidas (E).....	22
FIGURA 12 :	Morfología general de la semilla de Tamarindus indica (m,micropilo; h,hilo; cs,cubierta de la semilla; r,radícula; ep,epicótilo;c,cotiledón).	25
FIGURA 13 :	Tres zonas bien diferenciadas.Externa:compuesta por gran cantidad de poros y pequeñas reticulaciones. Una zona intermedia lisa y otra interna caracterizada por numerosas líneas de fractura. Poros (p); líneas fractura (LF).....	26
FIGURA 14 :	Pequeñas reticulaciones entre los poros, que le dan a la semilla una apariencia ornamentada . Reticulaciones (R).....	27

Página

FIGURA 15 : Ornamentaciones de la testa a mayor aumento. Ornamentaciones (O)..... 27

FIGURA 16 : Líneas de fractura de la región central. Línea fractura (LF)..... 28

FIGURA 17 : Fractura a mayor aumento, donde se puede apreciar las células malpighianas dispuestas en empalizada. Células malpighianas (CM)..... 28

FIGURA 18 : Vista parcial del hilo donde se puede observar - la fractura..... 29

FIGURA 19 : Vista parcial al microscopio de luz, donde observamos las células malpighianas en empalizada(CM) células de parénquima (PA), células con taninos, (CT) y espacios aéreos..... 30

FIGURA 20 : Células de parénquima con taninos y numerosos espacios aéreos. Parénquima terminal (PT)..... 30

FIGURA 21 : Corte transversal de la testa de la semilla de Tamarindus indica..... 31

FIGURA 22 : Características morfológicas generales de la plántula de Tamarindus indica 35

FIGURA 23 : Porcentajes de germinación de semillas de Tamarindus indica sometidas a cuatro tipos de tratamientos pregerminativos..... 36

INDICE DE CUADROS

Página

CUADRO 1: Resultados obtenidos en cuatro tratamientos pregerminativos de semillas de *Tamarindus indica* 38

INTRODUCCION

El tamarindo es un árbol de origen asiático, introducido en América en el siglo XVI.

Su fruto es una vaina aplanada, de gran demanda en el mercado , por sus múltiples usos. Se emplea en la elaboración de jugos y refrescos y constituye la base "secreta" de numerosas salsas y condimentos. La pulpa (pericarpo) tiene un alto valor nutritivo por ser rica en proteínas, vitaminas, minerales y una alta variedad de sustancias ácidas. Las semillas son comestibles y representan una buena fuente de carbohidratos, una vez tratadas y escarificadas (LEON, 1968; HERNANDEZ y LAKSHMINARAYANA, 1982).

Este especie es una planta de uso doméstico y comercial, que se acostumbra sembrar cerca de las casas o en las sabanas como árbol de sombra; en Costa Rica hay pequeñas plantaciones, aledañas a la costa del Pacífico.

Costa Rica en un país que necesita desarrollar nuevos cultivos, exportables a otros mercados, que le permitan obtener una mayor cantidad de divisas anualmente. Especies como el tamarindo, con características que permiten su utilización comercial y forestal, están llamadas a formar parte de futuros programas de diversificación agrícola; sin embargo,como sucede con la gran mayoría de las plantas cultivadas

o de uso común en los trópicos, es muy poca la información que se tiene de ellas, imperativo el impulsar estudios sobre la biología de estas plantas.

Con base en las consideraciones anteriores, se formularon los siguientes objetivos para esta investigación:

a-. Estudiar los cambios anatómicos que se producen en el pericarpo durante el proceso de maduración del fruto.

b-. Estudiar las características de la testa, que la convierten en una barrera estructural que inhibe la germinación de la semilla.

c-. Determinar el porcentaje de germinación total, que se observa aplicando métodos de escarificación mecánica, química y de temperatura.

d-. Describir el crecimiento de las plántulas de tamarindo bajo condiciones de invernadero.

REVISION DE LITERATURA

El tamarindo (Tamarindus indica, L.,) es un árbol de la familia Leguminosa, subfamilia Caesalpinioideae.

HOLDRIDGE y POVEDA (1975), NUÑEZ (1978) aseguran que es originario del Sudeste de Asia. LEON (1968) sostiene que es originario de Africa y que se dispersó posteriormente a Asia.

Se caracteriza por ser un árbol de crecimiento lento, que alcanza hasta 30 metros de altura por unos 8 metros de circunferencia de la copa. Puede llegar a producir frutos durante 50 años y sobrevivir cerca de 200 años (HERNANDEZ y LAKSHMINARAYANA, 1982). Es conocido en casi todos los países tropicales,se establece en terrenos con buen drenaje, de textura migajón-arcilloso-arenoso y PH de 6,5-7,5; sin embargo, se puede encontrar en suelos relativamente pobres y calcáreos, siempre y cuando se les dé una buena fertilización y se cuente con suficiente agua en períodos secos. Las flores se agrupan en inflorescencias que se encuentran en pequeños racimos terminales colgantes y axilares de 5 a 10 cm. de longitud; los pétalos mayores son de 8 a 10mm. de largo, amarillos, con líneas rojas (HOLDRIDGE, 1975 y AGUILAR , 1981).

Los frutos maduros son vainas indehiscentes usualmente curvadas, oblongas, pardas y que miden entre los 1,3 cm. y 2.5 cm. de ancho ,

con una cobertura quebradiza, un peso que oscila entre 15-20 gramos y posee de una a diez semillas.

La pulpa es de color marrón y constituye entre el 40-50% de la vaina; ésta pierde su consistencia al llegar a la madurez, donde se transforma en una estructura suave y pegajosa. Es uno de los compuestos orgánicos más ácidos conocidos,con un alto contenido de ácido tartárico (8-12%), 30-68% de azúcares, entre los que se destacan pentosas y hexosas, de 3-18% de proteínas y cantidades apreciables de vitamina E, tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, además de cantidades considerables de minerales como calcio, fósforo, hierro, sodio, potasio y nitrógeno (LEON, 1968; DIAZ, 1979; LEFEVRE, 1971). Al contrario de otras frutas, en la maduración del tamarindo, no hay disminución de su acidez. Sin embargo, la hidrólisis de almidón durante un corto período de la maduración, produce una acumulación de azúcares reductores, que le dan a la fruta un sabor dulce (AGUILAR, 1971).

Las semillas son grandes, ovaladas, aplanadas, de color café y de casi un centímetro de longitud, unidas entre sí por fibras que se encuentran en la pulpa que rodea la testa. Dicha testa es extremadamente dura e impermeable, lo que impide la germinación, hasta que una modificación estructural permita la hidratación del embrión (VAZQUEZ y PEREZ, 1977). La cubierta de la semilla, suele ser generalmente una envoltura dura, con una cutícula lipídica o cérea, que junto con una o varias capas de células protectoras, le confiere un mayor o menor

grado de impermeabilidad al agua y los gases, que hace de ésta una estructura muy importante en el control de la germinación(BARCELÓ,1980). Además de la testa, sin embargo, hay varios factores que afectan la germinación; podemos considerar entre ellos la viabilidad de las semillas, o aquel período de tiempo durante el cual conservan su capacidad para germinar; esto depende de las condiciones de almacenamiento, y por supuesto, del tipo de semilla.

Según el tiempo que puedan permanecer viables, se pueden considerar las semillas del tamarindo como macrobióticas,ya que pueden germinar mucho tiempo después, como ocurre en otras semillas de leguminosas con una envoltura seminal dura (BALLARD, 1973 y BARCELÓ, 1980).

Otros factores de restricción al paso del agua, o imbibición están determinados por la composición química y características estructurales de la testa. Las semillas ricas en proteínas podrán absorber mayor cantidad de agua que las oleaginosas. Además, la cubierta de la semilla puede proveer materiales químicos que previenen el crecimiento del embrión, creando en algunos casos un valor osmótico desfavorable para el crecimiento (LEOPOLD y KRIEDEMANN, 1975). Se debe recordar que la entrada de agua al interior de la semilla, se debe exclusivamente a una diferencia de potencial hídrico, entre la semilla y el ambiente, que crea lo que se conoce como "presión de imbibición".

La imbibición se debe considerar como un proceso físico, de ningún modo relacionado con la viabilidad, debido a que afecta de igual

manera semillas vivas o muertas, provocando en ambos casos un hinchamiento (DEVLIN, 1975; BARCELÓ, 1980).

Restricciones al paso del agua por la testa, son bien reconocidas dentro de las familias Leguminosae, Malvaceae, Convolvulaceae, Cannaceae, Geraniaceae y Liliaceae (BALLARD, 1973).

Se han realizado varias descripciones detalladas de la testa de las semillas, entre ellas las de CORNER (1951) y GUNN(1982), donde se ha puesto de manifiesto que la restricción al paso del agua, es una propiedad dada principalmente por esclereidas lignificadas dispuestas en empalizada.

Un mecanismo extraordinario de limitación a la imbibición, está dada por la actividad del hilo de la semilla, que puede funcionar como una válvula higroscópica. Estudios de la estructura de leguminosas hechos por HYDE (1954) demostraron que la operación de apertura de la fuerte cubierta de algunas leguminosas (Papilionaceae), está condicionada por la entrada de humedad a través del hilo.

Otro tipo de latencia de las semillas, se atribuye a la presencia de un pericarpo duro, que impide por su resistencia mecánica, que el embrión pueda romperlo; o bien, en algunos casos de germinación epígea, donde la testa se desprende parcialmente, o no lo hace del todo. Estos casos se ven favorecidos cuando las plantas son sometidas a un estrés hídrico o a condiciones de una baja humedad relativa (BALLARD, 1973; NAYLOR, 1982).

Las semillas de todas las especies de plantas requieren, además de agua, de otras condiciones externas, para que pueda producirse la germinación, tales como: temperatura, oxígeno y luz.

Aunque en etapas tempranas de la germinación de algunas especies, la respiración es total o casi totalmente anaeróbica, debido a la relativa "impermeabilidad" al oxígeno por sus tegumentos germinales, tan pronto como los tegumentos se rasgan, la respiración aeróbica reemplaza a los procesos oxidativos anaeróbicos y se convierte en un factor muy importante en todos los procesos de respiración celular, vitales para el posterior desarrollo de la planta. En general, se dice que la exposición a concentraciones altas de oxígeno (20%), incrementan la germinación y que el efecto del dióxido de carbono es opuesto (LEOPOLD y KRIEDEMANN, 1975).

Si no actúan otros factores limitantes, las semillas de cada especie germinarán dentro de un ámbito de temperaturas específico.

Por lo general, las semillas de especies originarias de especies tropicales o subtropicales, germinan dentro de ámbitos de temperaturas más altas, que las de especies nativas de regiones templadas. Sin embargo, la temperatura óptima está comúnmente en medio de dos valores extremos y es muy difícil señalar una temperatura exacta como la óptima de germinación, debido a que ésta no sólo está influida por otros factores prevalecientes, sino también por el criterio o método seleccionado para el cálculo del índice de germinación.

En un número considerable de especies, la luz es necesaria para que las semillas puedan germinar, y en otros casos el efecto de la luz es el de retardar o inhibir la germinación. Este factor varía con las distintas especies y se puede decir que las respuestas de las semillas fotoblásticas se ven también fuertemente afectadas por la temperatura (BARCELÓ, 1980).

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el invernadero y laboratorio de Anatomía Vegetal de la Escuela de Biología y en la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica, San Pedro de Montes de Oca, de agosto a diciembre de 1985. En el invernadero la temperatura máxima registrada fue de 39°C. y la mínima de 17°C., con un promedio de 26°C.

Las semillas y frutos se recolectaron en el Parque Nacional Santa Rosa y en los alrededores de Liberia, provincia de Guanacaste, Costa Rica. La selección de los árboles se basó en la uniformidad de tamaño y producción, así como en las buenas condiciones fitosanitarias.

Cada 4 semanas se tomaron muestras de 50 frutos por árbol y se les calculó el promedio de peso fresco en gramos. Los tratamientos aplicados a las semillas, previos a la siembra, fueron:

a-. Escarificación mecánica (desgaste lateral con una lima).

b-. Inmersión en H_2SO_4 al 20% durante 15 minutos.

c-. Temperatura de 60°C., aplicada en una estufa, durante 7 días.

d-. Secado al sol durante 30 días.

e-. Testigo.

Se utilizó 120 semillas en cada grupo, incluyendo el testigo, y a cada una de las cuatro repeticiones.

Los estudios de germinación en los tratamientos a, b y c se realizaron con semillas previamente tratadas con hipoclorito de sodio al 1% durante dos minutos, para prevenir ataques de hongos, y luego fueron colocadas en el invernadero. Se sembró las semillas a una profundidas de 2 cm. cada 10 cm., con un espacio entre hileras de 12 cm. de distancia. El suelo se mantuvo a capacidad de campo.

Se realizaron cuatro repeticiones de cada tratamiento y la cantidad de semillas germinadas se anotó cada 3 días durante un mes, para obtener el porcentaje de germinación. La altura de las plantas se midió a intervalos de 7 días durante 56 días.

Parte del material colectado en el campo se procesó para microscopía de luz, parte para microscopía óptica de alta resolución, y una última parte se usó en microscopía electrónica de barrido.

Los especímenes utilizados en microscopía de luz fueron fijados en F.A.A. (JOHANSEN, 1959). Se deshidrataron mediante una serie ascendente de alcohol butílico terciario, y se infiltraron en Paraplast-Plus. Se hicieron secciones de 15 um. de grosor y se tiñieron, según la técnica de SHARMAN (1943) y con safranina-verde rápido.

Para el examen con microscopio electrónico de barrido, se fijó

el material en glutaraldehido al 2% en un amortiguador de fosfatos durante tres horas.

Luego se hizo una segunda fijación con tetróxido de osmio al 1% en un amortiguador de fosfatos durante tres horas, con un lavado de una hora en buffer de fosfatos entre una fijación y otra. Las secciones se dejaron en buffer de fosfatos durante toda la noche después de la primera fijación. Se procedió a deshidratarlas, mediante una serie ascendente de alcohol etílico y se llevaron hasta el punto de secado crítico con CO_2 líquido.

Los especímenes se montaron en soportes de aluminio, empleando para ello pintura conductora de plata y cinta adhesiva doble. Se colocó el material en un cobertor iónico y se cubrió con una película de oro. Se observaron las secciones en un microscopio de rastreo y se tomaron fotografías con película Verichrome Pan Kodak VP 120.

El material utilizado para microscopía óptica de alta resolución (MOAR) se fijó en glutaraldehido al 2% durante 24 horas, se lavó dos veces con una solución amortiguadora de fosfatos y se deshidrató con una serie ascendente de etanol. Los especímenes se aclararon en etanol-óxido de propileno (3:1, 1:1, 1:3) y se infiltraron en propileno-resina Speerr (3:1, 1:1, 1:3). Se polimerizó durante 12 horas, a 70°C. Se hicieron secciones con cuchilla de vidrio de 3 y 4 mm.de grosor en un ultramicrótomo.

Posteriormente, las secciones fueron recogidas en un portaobjetos de vidrio y secadas durante cuatro horas a 60°C. Se procedió a eliminar la resina y a teñir con toluidina azul. Las secciones se secaron y se montaron con Preservaslide y se les observó en un microscopio de luz.

RESULTADOS

DESARROLLO DEL FRUTO:

El fruto del tamarindo mostró durante su crecimiento una típica curva sigmoide, característica común de desarrollo de otros órganos de la planta (Fig.1).

Después de la polinización, cuatro semanas después de la antesis, se inició el período de crecimiento que comenzó con la formación de una pequeña vaina de color verde, que continuamente subió su peso fresco hasta unos 150 días después,en que ocurrió un cese del desarrollo. En esta etapa, el fruto llegó a un 60% del crecimiento (Fig.1).

Internamente, se observan células de parénquima con gránulos de almidón (Fig.2), así como un gran número de pequeños haces vasculares dispuestos a lo largo y ancho del fruto (Fig.3). Sobresalen un haz vascular dorsal y dos ventrales que rodean al endocarpo que está localizado en el centro de la vaina (Figs.4 y 5).

El endocarpo usualmente tiene numerosas fibras, que en los frutos jóvenes conservan parte de su protoplasto, por lo que no muestran los engrosamientos característicos de una fibra bien formada (Fig.6).

Hacia la periferia, inmediatamente debajo de la epidermis, se forman esclereidas aisladas y en disposición circular.

En el segundo estado de desarrollo o de maduración, que corresponde a un 20% del período total de crecimiento del fruto, ocurre el primer cambio visible de maduración, que es el paso de la coloración verde a verde-pardo y a la aparición de un tomento en el exterior del fruto, que luego desaparece, conforme las vainas continúan el proceso de maduración.

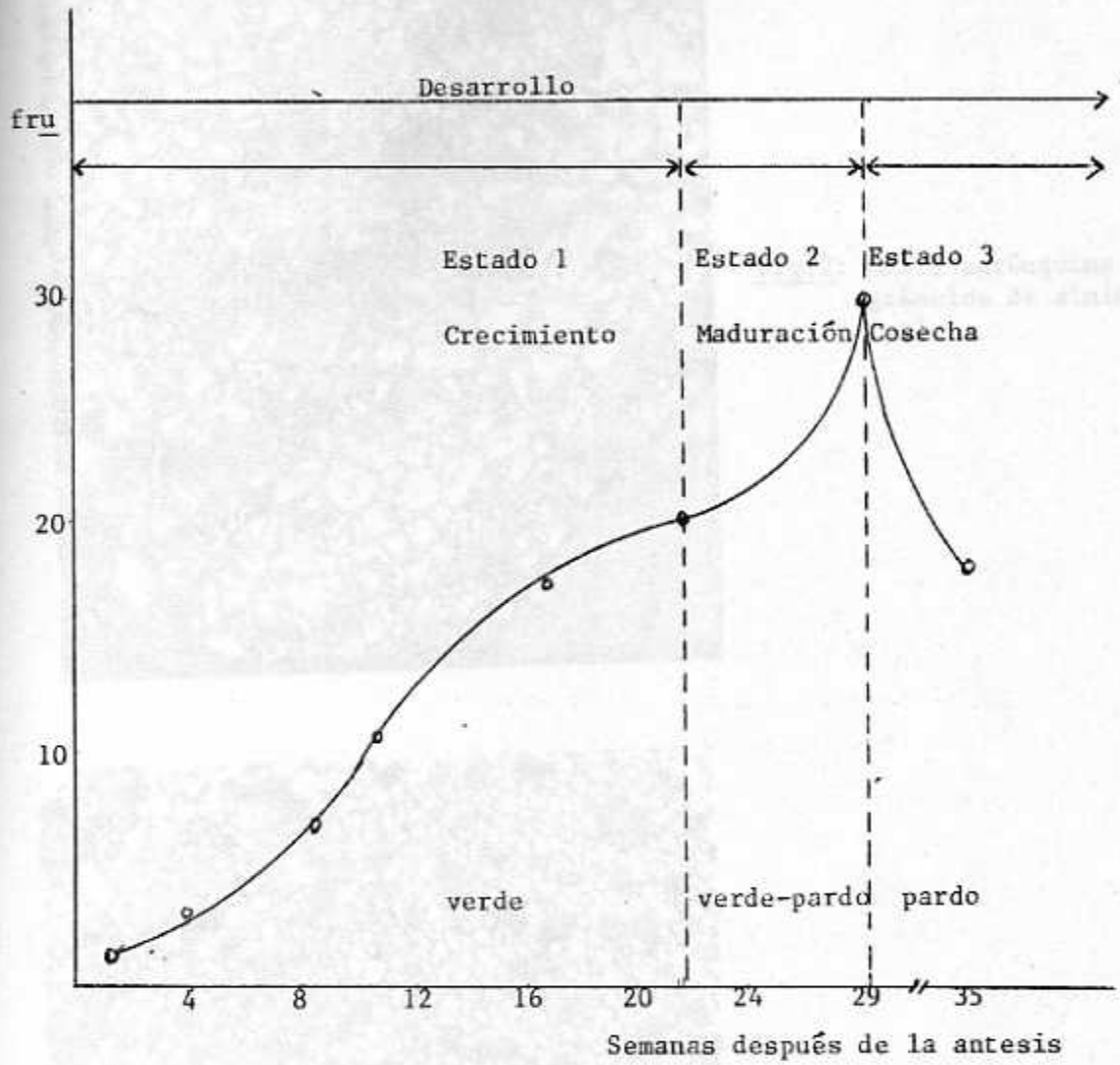

Fig.1: Curva que describe el crecimiento del fruto de Tamarindus indica en relación al cambio en peso fresco, en una población de 20 individuos.

Fig.2: Cél., parénquima con gránulos de almidón. (pa).

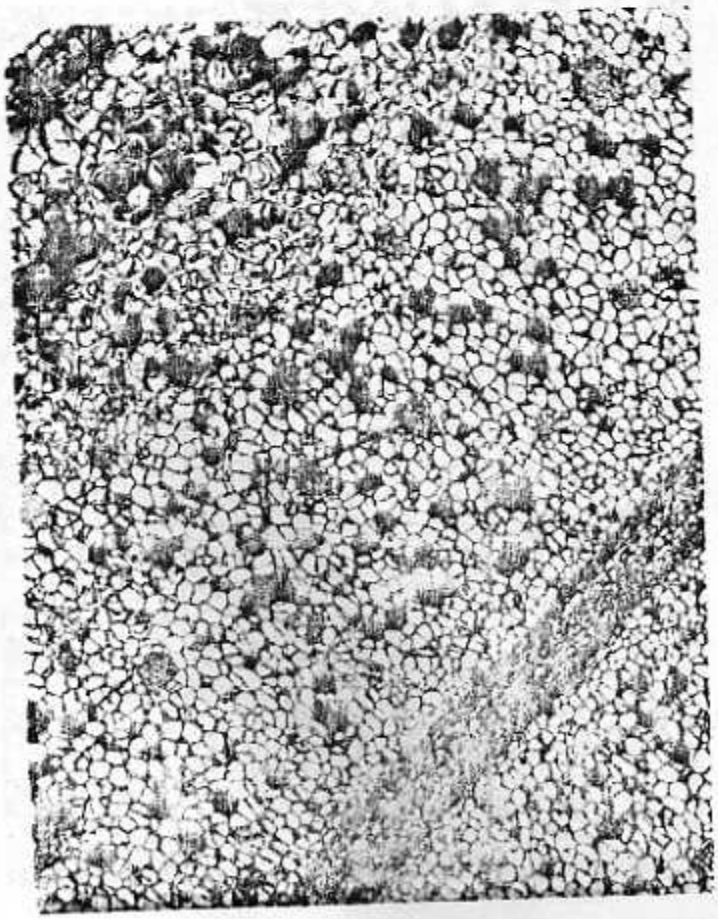

Fig.3: Mostrando un gran número de pequeños haces vasculares(H.V.)

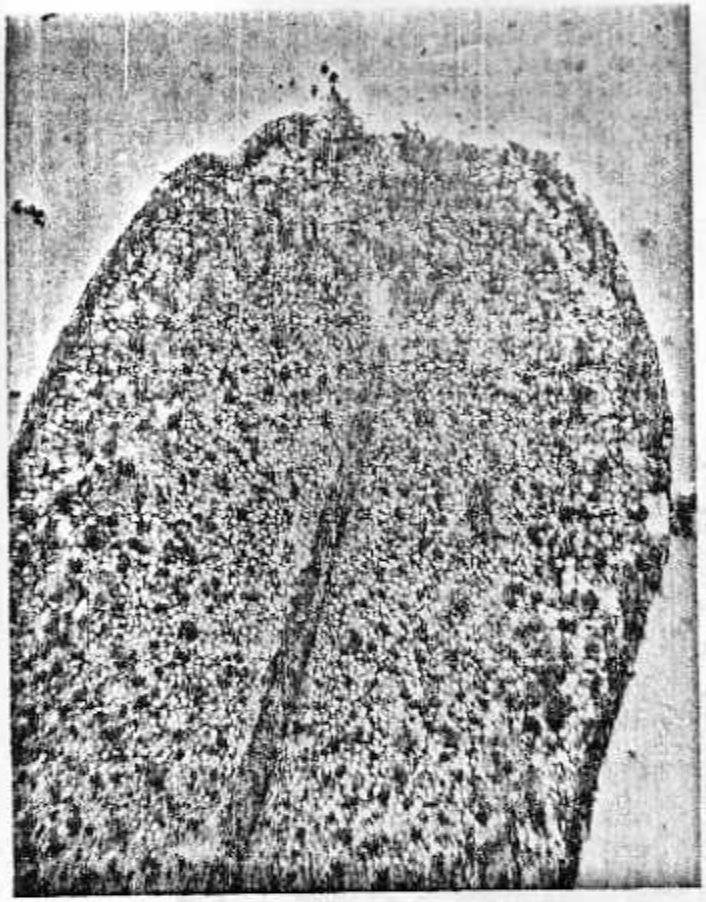

Fig.4: Haz vascular dorsal. (V.D.).

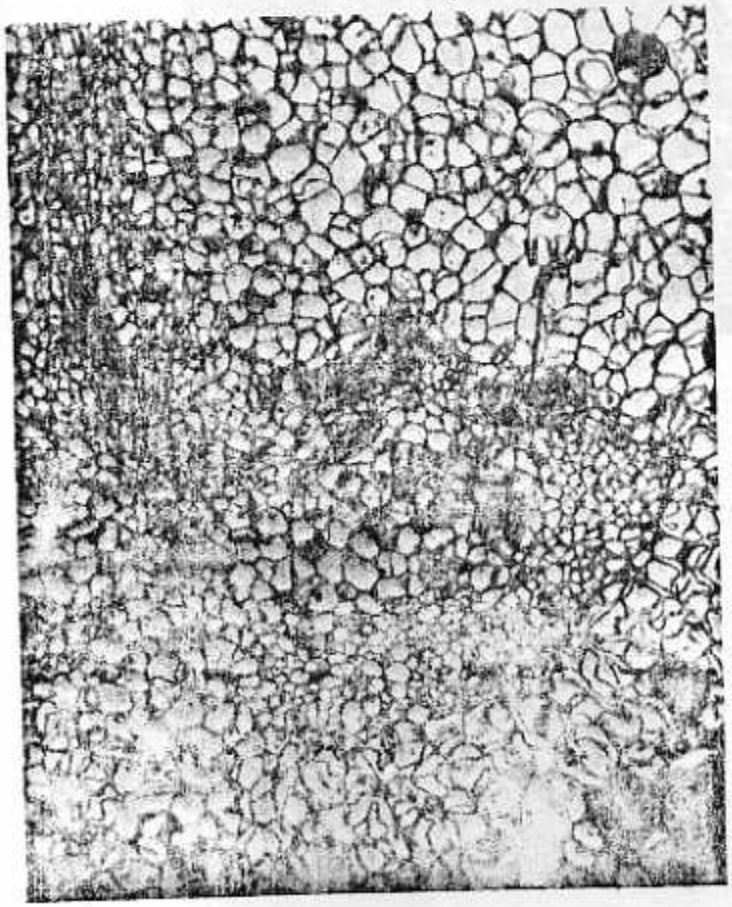

Fig.5 : Haz vascular ventral. (V.V.).

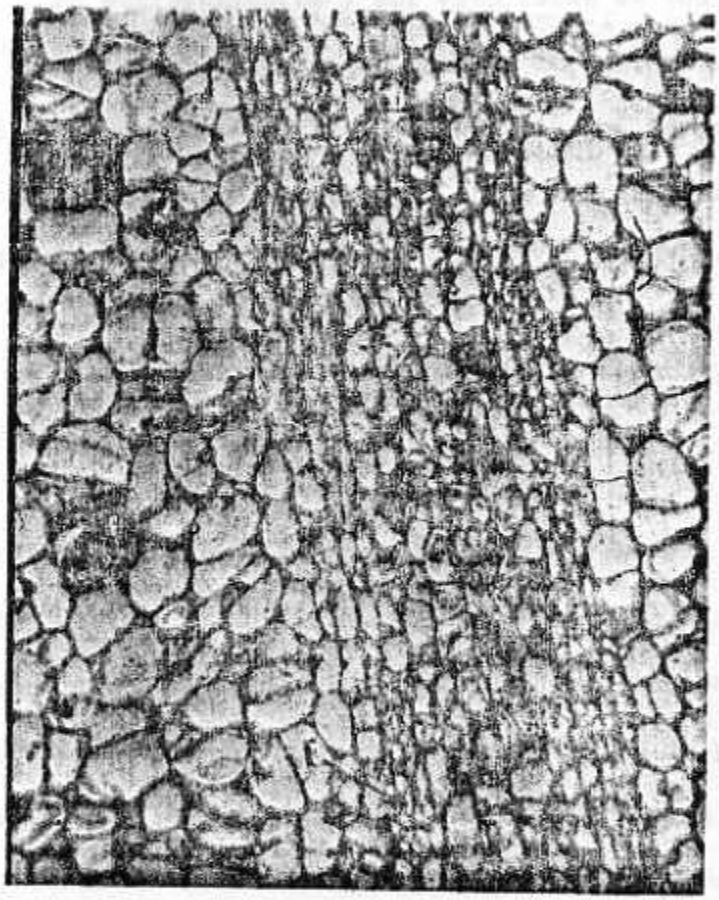

Fig.6: Fibras del endocarpo (F.).

En esta etapa es cuando se alcanza el máximo peso fresco del fruto y se producen ciertos cambios. En el parénquima de almacenamiento, los gránulos de almidón disminuyen en cantidad; en las paredes de las células ocurren engrosamientos y por ello éstas se ven mejor definidas aunque no lignificadas. Además, se observa la ruptura o lisis de algunas de las células. En la periferia se pueden ver agrupaciones dispersas de esclereidas y fibras (Fig.7) y otras asociadas a haces vasculares (Fig.8).

Las células periféricas del endocarpo se separan, y sus fibras son bien diferenciadas (Fig.9).

El tercer estadio de desarrollo, que corresponde aproximadamente a un 17% del período total de crecimiento, es el de cosecha. Externamente se manifiesta un cambio de coloración de verde-pardo a pardo y por un encogimiento de las vainas. La cáscara y la pulpa disminuyen simultáneamente y el peso final del fruto se reduce a un 50% del máximo alcanzado; cerca de un 25% de ese peso final, corresponde a las semillas.

Un cambio significativo para la identificación de esta etapa, es la separación de la cáscara y del pericarpo, así como el aumento del sabor ácido y la disminución en el contenido de humedad.

En el pericarpo hay una desintegración de las paredes del parénquima y la asociación de fibras y esclereidas en "semicírculos", en la región longitudinal central de las vainas, principalmente (Figs. 10 y 11).

Fig.7: . Parénquima almidón (pa) fibras (F) y esclereidas (E) hacia la periferia paredes más gruesas.

Fig.8: Fibras asociadas(F) haces vasculares(H.V.).

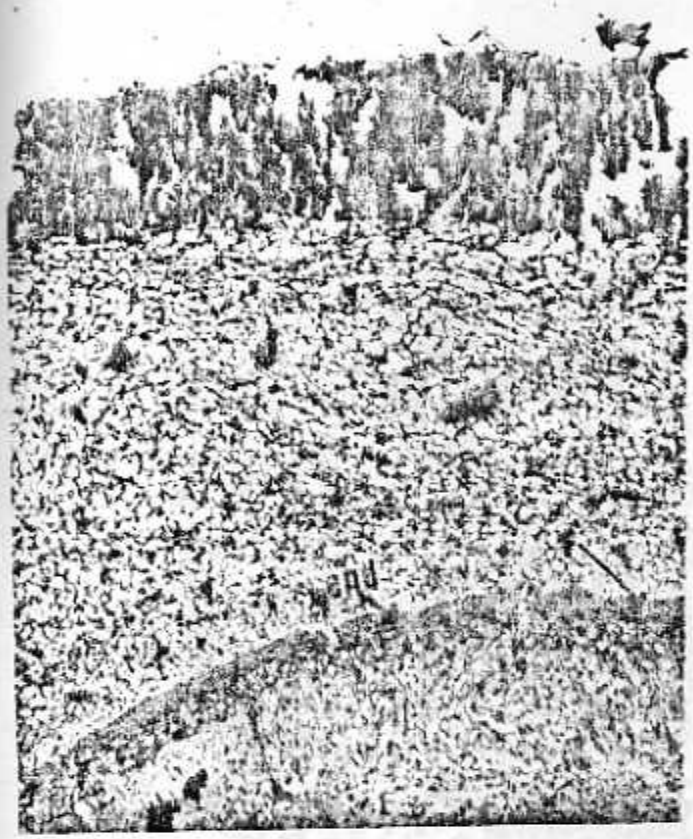

Fig. 9: Cél.que circundan endocarpo más separadas entre sí. Fibras endocarpo más diferenciadas Fibras (F) Endocarpo (end).

Tesis
9119
321264 e.2

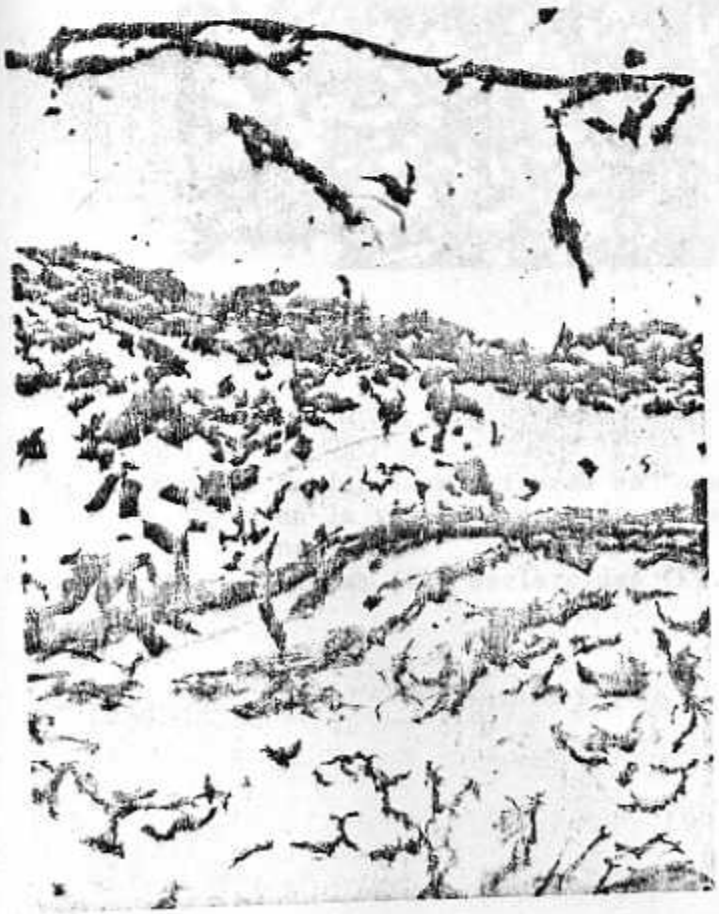

Fig.10: Desintegración del parénquima.

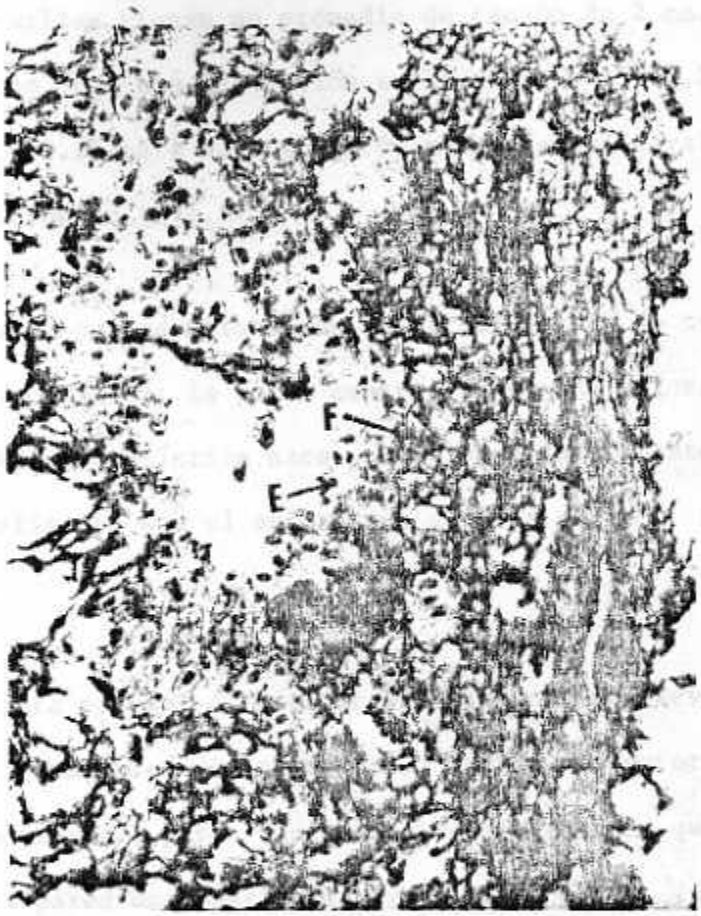

Fig.11: Esclereidas y fibras en "semicírculos" en la región longitudinal central vaina.
Fibras (F), esclereidas (E).

SEMILLA:

Las semillas tienen un promedio de tamaño de 2 cm. de largo por 1 cm. de ancho, con una desviación estándar de σ_{n-1}= 0.22 para el largo y de σ_{n-1}= 0.21 para el ancho., de simetría bilateral y el hilo opuesto al micropilo (Fig.12).

En etapas ontogenéticas más desarrolladas es de color pardo brillante y muy coriácea; la parte central tiene una coloración más intensa y esta característica hace que la semilla presente externamente dos zonas definidas por el color: una externa clara y otra central, más oscura.

Una vista parcial al microscopio electrónico, reveló la presencia de tres zonas bien definidas en la texta; una externa, compuesta por gran cantidad de poros y pequeñas reticulaciones que contribuyen a darle a la pared una apariencia ornamentada (Figs. 13,14 y 15); una zona intermedia, aparentemente lisa (Fig.13) y otra más interna caracterizada por numerosas líneas de fractura (Figs. 16 y 17). En la región del hilo se encuentra una fractura, pero no se encontró pleurograma (Fig.18).

En los análisis al microscopio de luz, los cortes transversales de la testa mostraron distintos estratos de células: una capa de cutícula exterior, una densa línea de macroesclereidas dispuestas en empalizada, de forma alargada y de paredes gruesas, también conocidas

8572 020000

como células malpighianas , en las que se encuentra una línea clara . Hacia el interior, en la hipodermis hay otra capa de esclereidas, de paredes muy gruesas, isodiamétricas, cuya forma es similar a la de osteoesclereidas. A menudo se traslapan con células de parénquima. En la parte más interna de la testa hay un área de células de parénquima de paredes delgadas, en cuyo interior hay sustancias de almacenamiento (posiblemente taninos), rodeadas por gran cantidad de espacios aéreos (Figs. 19 y 20).

Las características anatómicas de la testa se muestran en la figura 21.

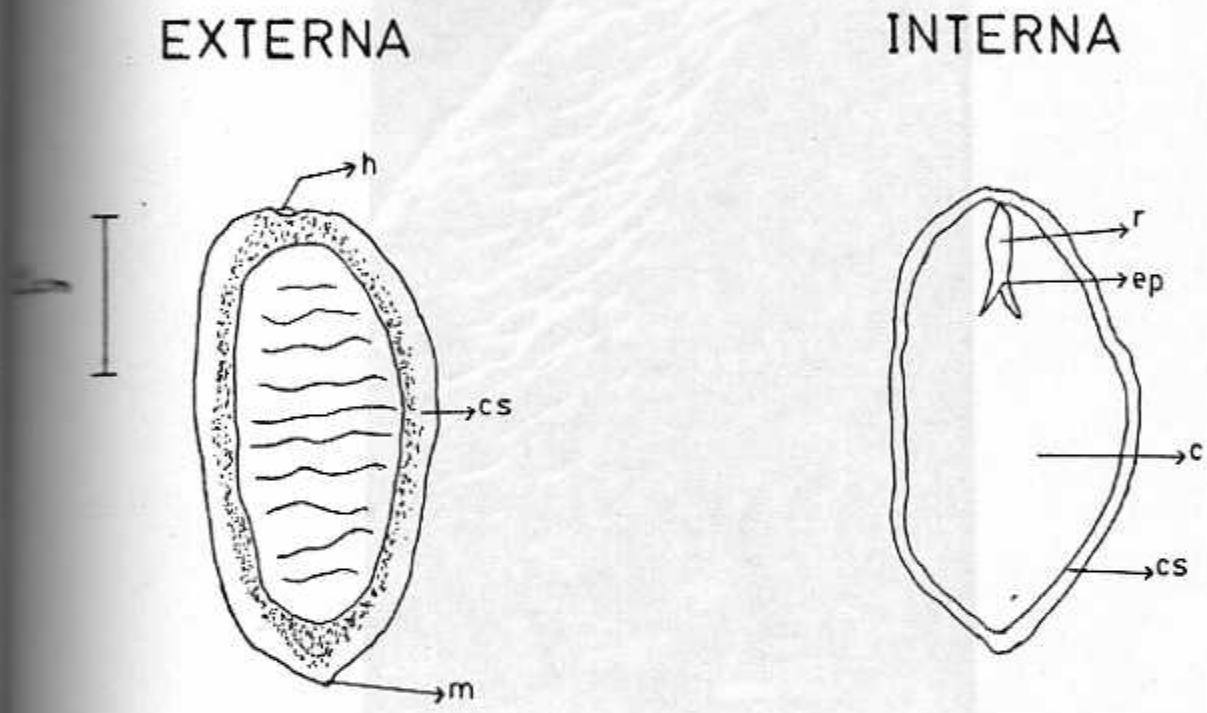

Fig.12: Morfología general de la semilla de Tamarindus indica (m,micropilo; h,hilo; cs,cubierta de la semilla; r, radícula; ep, epicótilo; c, cotiledón).

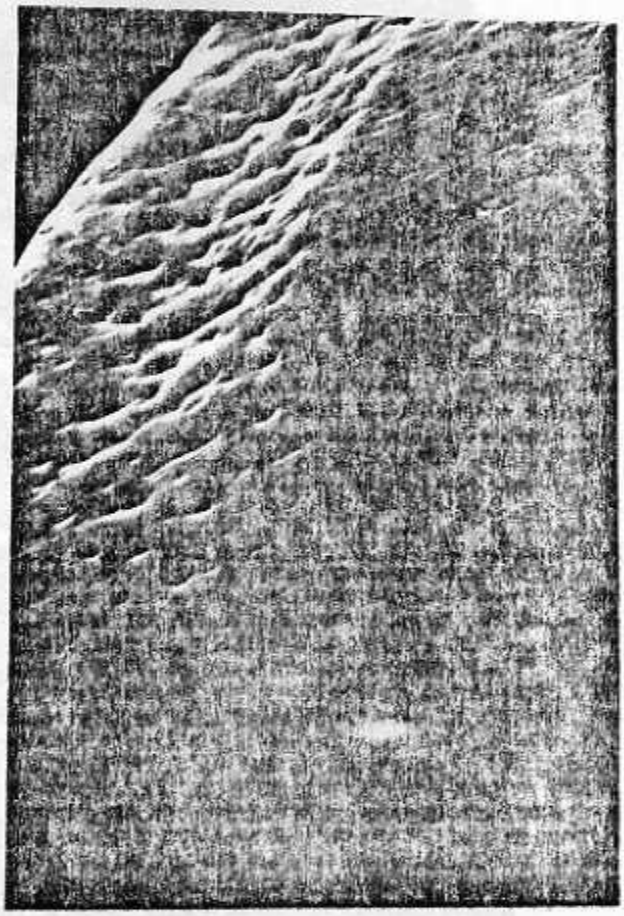

Fig.13: Tres zonas bien definidas.
Externa: compuesta por gran cantidad de poros y pequeñas reticulaciones. Una zona intermedia lisa y otra interna caracterizada por numerosas líneas de fractura.
Poros (p); líneas fractura (LF).

Fig.14: Pequeñas reticulaciones entre los poros, que le dan a la semilla, una apariencia ornamentada.
Reticulaciones (R).

Fig.15 : Ornamentaciones de la testa a mayor aumento.
Ornamentaciones (O).

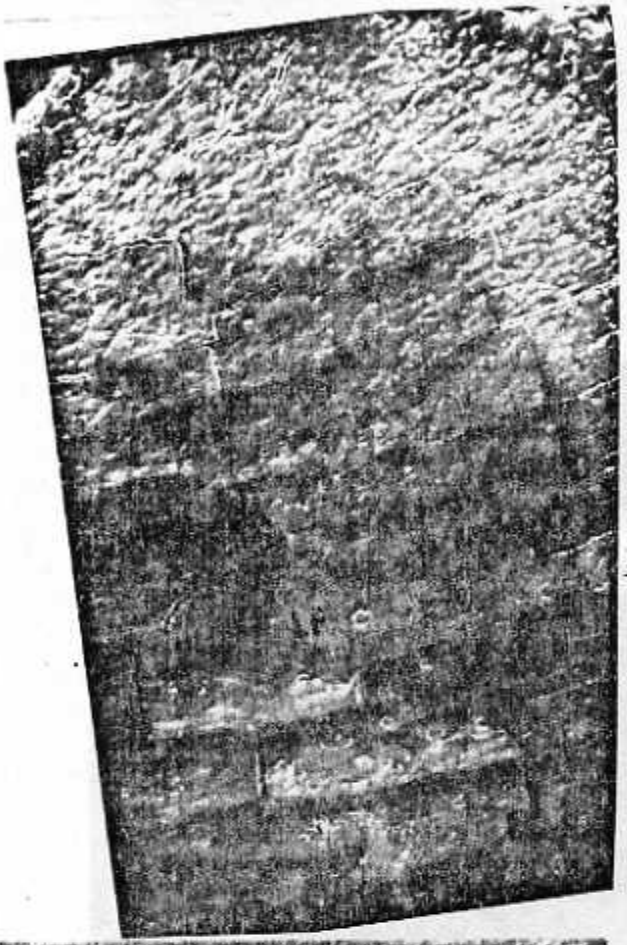

Fig.16: Líneas de fractura de la región central. Línea fractura (LF).

Fig.17: Fractura a mayor aumento, donde se pueden apreciar las células malpighianas , dispuestas en empalizada.
Células malpighianas (C.M.).

Fig.18: Vista parcial del hilo donde se puede observar una fractura.
Hilo (H).

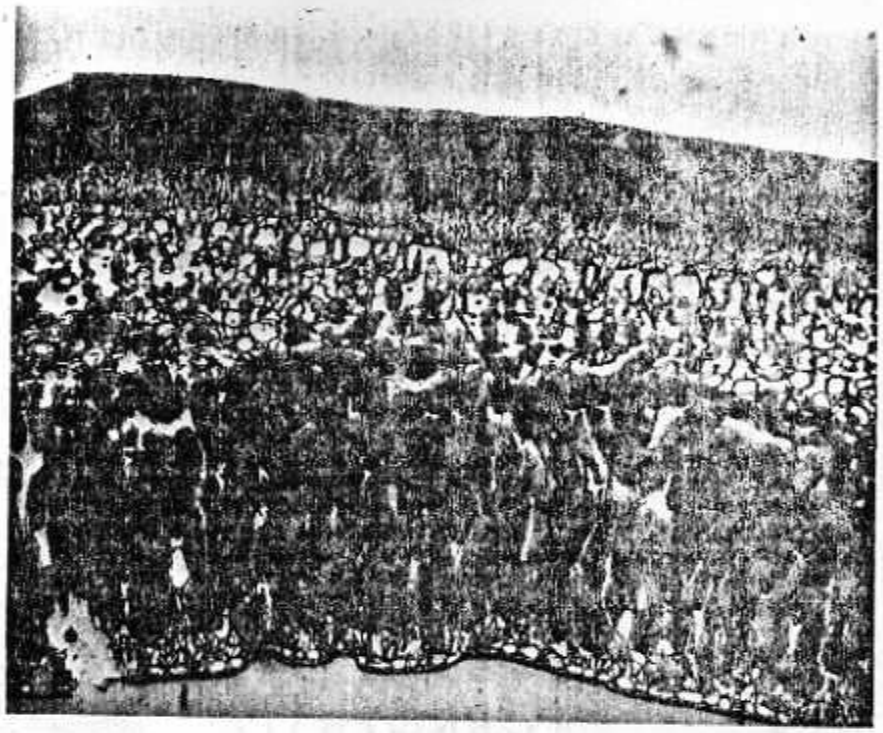

Fig.19 : Vista parcial al microscopio de luz, donde observamos las células malpighianas en empalizada (C. M.), células de parénquima (PA), células con taninos (CT) y espacios aéreos.

Fig.20: Células de parénquima con taninos y numerosos espacios aéreos.
Parénquima terminal (PT).

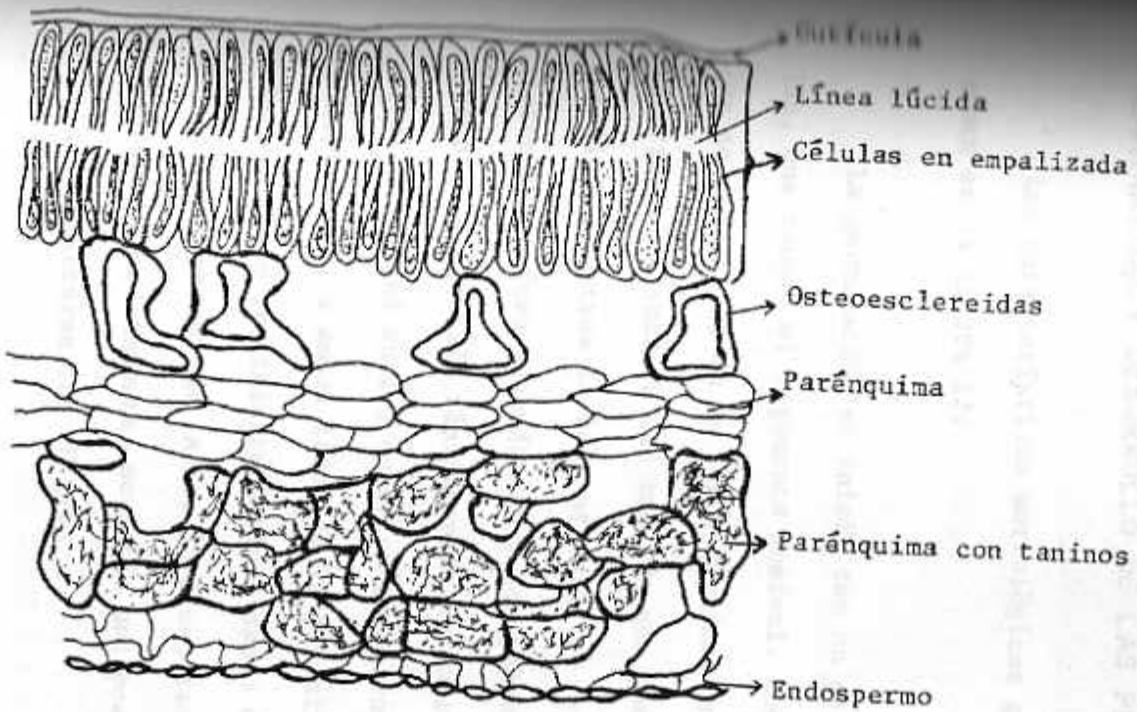

Fig.21 : Corte transversal de la testa de la semilla de Tamarindus indica

GERMINACIÓN Y DESARROLLO DE LAS PLÁNTULAS:

Las características morfológicas generales de la plántula se resumen en la figura 22.

La germinación se inició con un marcado hinchamiento de la semilla, que rompió el tegumento seminal. Luego emergió la raíz primaria, que se desarrolló en la parte terminal inferior del hipocótilo y fue la primera estructura del embrión que tomó contacto con el ambiente exterior. Mientras la raíz primaria se hundía en el suelo, se desarrollaron las raíces secundarias y los pelos radicales. Al tercer día se alargó el hipocótilo rápidamente, arrastrando los cotiledones hacia arriba, fuera del suelo, donde se separaron en posición aproximadamente horizontal, a ambos lados de la plúmula. A los siete días, la plúmula inició su crecimiento activo, dando origen al epicótilo, con un par de hojas primarias. A los 15 días, las hojas primarias llegaron a extenderse completamente, ocupando una posición perpendicular al tallo, al completarse los 20 días.

Las hojas son compuestas, el primer par es opuesto y las siguientes son alternas, cada una formada por ocho o nueve pares de hojuelas opuestas, oblongas, de 1 a 2.1 cm. de largo.

En la región del hipocótilo hubo formación de crecimiento secundario a partir de la décima semana.

El crecimiento longitudinal del tallo, en condiciones de capacidad de campo fue de 0,5 cm. semanalmente.

Dado que el tamarindo es una semilla sin endosperma, los nutrimentos utilizados durante su germinación deben provenir en su mayoría de los acumulados en los gruesos cotiledones, que tardan cerca de 45 días en dejar de ser funcionales y caer.

En el cuadro 1 y figura 23 se presentan los resultados de los diferentes tratamientos pregerminativos.

La escarificación química con H_2SO_4 produjo resultados relativamente bajos, con apenas un 22% de germinación. Debió realizarse a concentraciones de un 20%, pues las mayores a ésta, según se comprobó , fueron letales para las semillas.

La aplicación de temperatura constante (60°C) en la estufa, mostró porcentajes de germinación también bajos, de un sólo 20%. Sin embargo, los días para alcanzar el máximo porcentaje, fue menor que el de otros tratamientos (cuadro 1).

El más eficiente y rápido para inducir la germinación fue la escarificación mecánica; se comprobó además, que basta la eliminación parcial de la testa, para llegar a obtener altos porcentajes y en un menor número de días para que germinen.

El porcentaje de germinación final más bajo fue el de la exposición de semillas al sol y también fue el que ocupó el mayor número de días para romper la testa.

El grupo testigo (sin ningún tratamiento) dio un máximo de un 45% de germinación; no obstante, sucedió en él un mayor retardo en los días para germinar (cuadro 1).

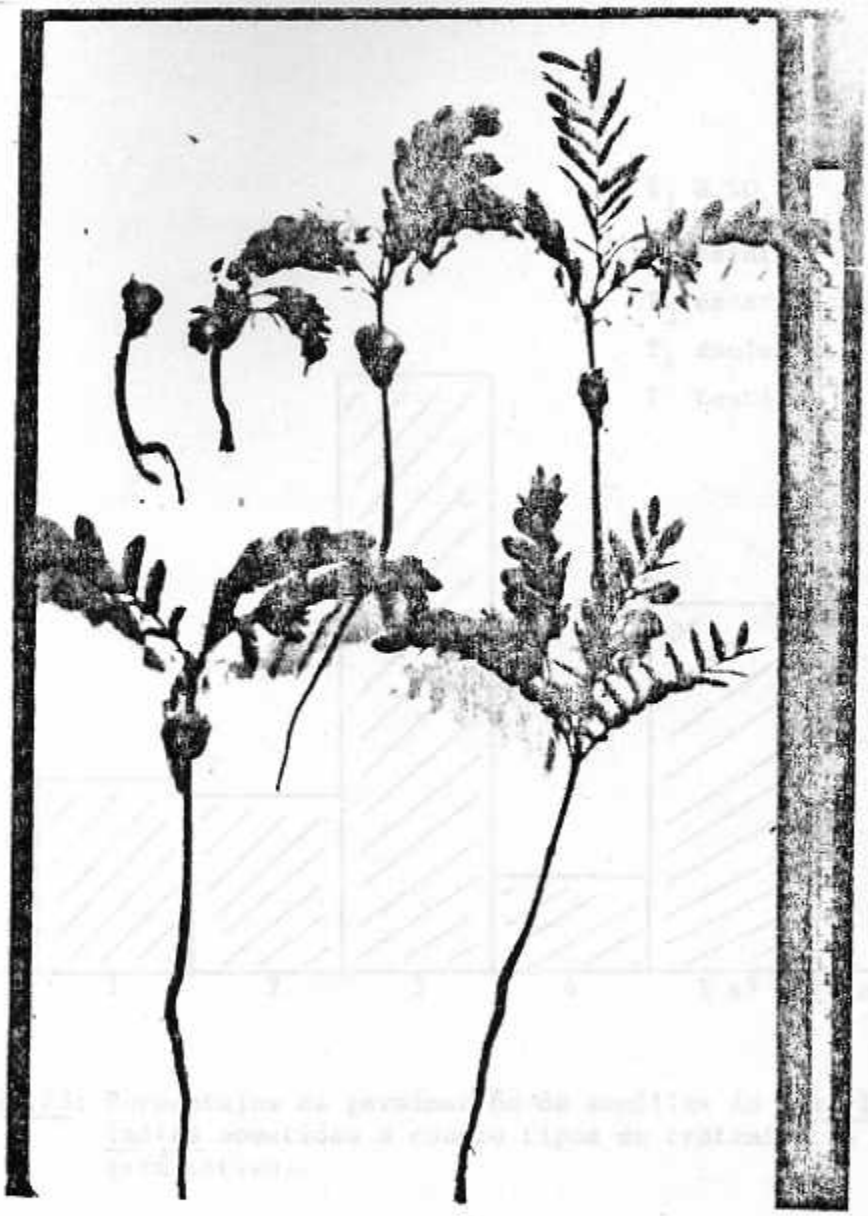

Fig.22: Características morfológicas generales de la plántula de *Tamarindus indica*.

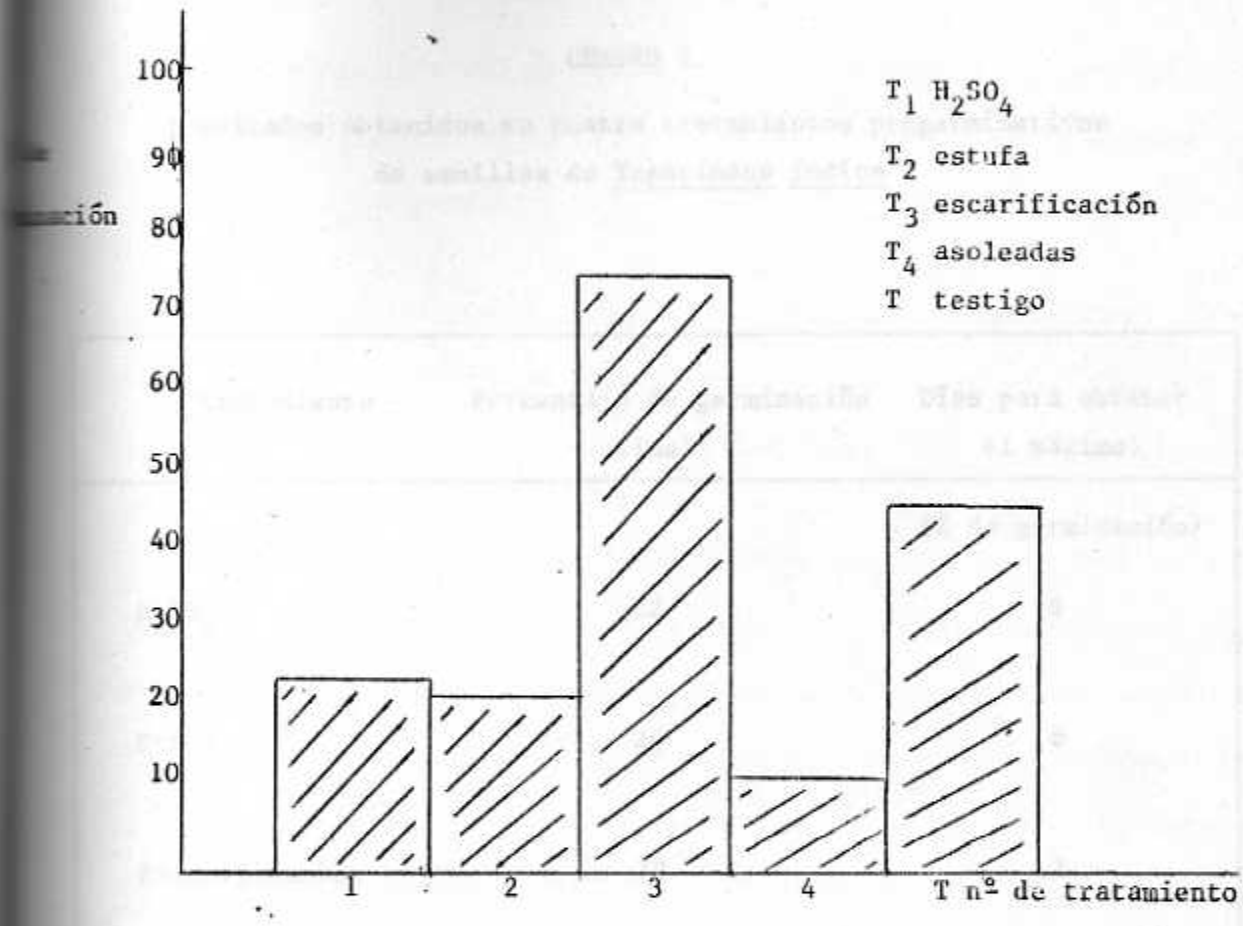

Fig.23: Porcentajes de germinación de semillas de Tamarindus indica sometidas a cuatro tipos de tratamientos pregerminativos.

CUADRO 1

Resultados obtenidos en cuatro tratamientos pregerminativos de semillas de *Tamarindus indica*

Tratamiento	Porcentaje de germinación final	Días para obtener el máximo (% de germinación)
H_2SO_4	22	16
Estufa	20	8
Escarificación	73	3
Sol	9	16
Testigo	45	21

DISCUSION

El crecimiento del grupo del tamarindo implica el desarrollo coordinado de un gran número de tejidos, desde que se inicia la antesis hasta la época de cosecha.

La causa principal del aumento del peso fresco puede estar determinada por el ascenso en el número, volumen y densidad celular; posterior a la apertura de las flores e inicio de la formación del fruto.

COOMBE (1976); BARCELÓ (1980), opinan que el volumen celular representa la mayor contribución a la expansión del fruto y que este fenómeno se verá fuertemente influido por el comportamiento de la pared celular. Cambios en la rigidez, depositación de materiales, variaciones en la turgencia celular, etc., afectarán el potencial osmótico y la extensibilidad de la pared.

El primer estadio del fruto del tamarindo representa el típico estado de crecimiento, pues en él se observa un continuo aumento en el número, densidad y volumen de células en todas las partes del pericarpo.

La gran cantidad de haces vasculares presentes en los primeros estadios de desarrollo, posiblemente existan porque los nutrimentos necesarios provienen de otras partes de la planta. BEWLEY y BLACK (1978), afirman que en las leguminosas, las hojuelas sirven como los mayores contribuyentes para el desarrollo de la semilla, además aseguran que las

estípulas son importantes durante los primeros estados de crecimiento y que conforme se desarrolla la vaina, su contribución declina. La capacidad fotosintética de los frutos es relativamente baja; su intensidad fotosintética por unidad de área, es aproximadamente la décima parte de la misma superficie de las hojas (BARCELÓ, 1980).

En el laboratorio se comprobó, que en estados avanzados de desarrollo del fruto, donde ya se había formado la semilla, gran cantidad de haces vasculares (provenientes de los tres principales de la vaina) son dirigidos hacia las regiones que rodean a la semilla, lo que parece ser una importante adaptación evolutiva, pues ésta servirá como el principal medio de propagación natural de esa especie y por ello, requiere de gran cantidad de nutrimentos.

En esta primera etapa de desarrollo del fruto, la semilla del tamarindo llega a conformarse pero es hasta en el próximo estadio, cuando se terminan de diferenciar sus estructuras.

Una vez que la semilla avanza en su desarrollo asume el control del crecimiento del fruto (BARCELÓ, 1980). Esta afirmación está basada en que semillas jóvenes que no se desarrollan, dan lugar a frutos con anormalidades en el tamaño y forma final, desarrollándose normalmente sólo las partes próximas a las semillas viables. Las zonas próximas a las no viables quedan muy retardadas en su desarrollo. (BARCELÓ, 1980). De aquí parte la idea que las semillas deben contener una

mayor cantidad de reguladores del crecimiento, que los tejidos del fruto que las rodean. LEOPOLD y KRIEDEMANN (1975), demostraron que el peso fresco de las vainas de otras leguminosas aumenta, conforme pasa el tiempo en los días después de la antesis, debido a un crecimiento exponencial del peso de las semillas, en contraposición a una disminución del peso fresco de las vainas.

En el tamarindo, el peso final del fruto en todos los casos, fue proporcional al número de semillas viables, lo que parece ser una comprobación de lo anterior. Sin embargo, todos estos resultados dependen de varios factores como la nutrición del árbol, efectos del ambiente , de la polinización y aspectos genéticos.

En el estado dos o de maduración, es cuando suceden cambios cualitativos, de color, sabor y textura, que son los que hacen al fruto agradable al consumo humano.

Internamente, las paredes celulares del parénquima entran en una etapa de crecimiento, con paredes más gruesas, debido a su función anterior de almacenamiento de sustancias de reserva.

La ruptura de las paredes de algunas de las células, ocurre por la presión y fuerzas de tensión superficial a que fueron sometidas, en el estado de desarrollo anterior, cuando las células aumentaron considerablemente su volumen.

En las regiones laterales del fruto de este estado de desarrollo, se puede apreciar muy bien la formación de esclerénquima, que consta de fibras y esclereidas, con paredes muy gruesas y secundarias, cuya función primordial es la de soporte mecánico; su disposición aislada, en grupos o asociada al xilema y floema, corresponde a la distribución encontrada por otros autores, en diversos órganos de las plantas. La gran diferenciación de células en esclereidas, puede ser inducida por la alta concentración de sacarosa (FOARD, 1958).

A diferencia de otras especies, en el tamarindo no ocurre una disminución en la acidez; sin embargo, la hidrólisis del almidón durante un corto período de la maduración, produce una acumulación de azúcares reductores, que le da a la fruta un sabor dulce (AGUILAR, 1981).

Cerca de las veintinueve semanas posterior a la antesis, es cuando se completa la fase de maduración y da inicio el estado tres, donde se produce una disminución en el peso fresco del fruto, causado por una pérdida de la humedad, lo que provoca internamente un rompimiento total de las paredes del pericarpo y se concentra el sabor ácido. Otra consecuencia de esta deshidratación, es la separación de la cáscara y la pulpa, cuyo origen son los tejidos del pericarpo. La consistencia suave y pegajosa de la pulpa es por degradaciones pectolíticas (AGUILAR,1981).

HERNANDEZ y LAKSHMINARAYANA (1982), en estudios realizados en México, encontraron disminuciones de la humedad del fruto del tamarindo , de un 80 a un 20% en pulpa y de 50 a 20% en la cáscara y una disminución

de sustancias pécticas y lignina en la época de cosecha, lo que puede explicar la destrucción de las paredes celulares.

En Costa Rica, lo anterior se produce en los meses de marzo, abril y ocasionalmente mayo, meses pertenecientes a la época seca.

Las semillas son bilateralmente simétricas y elípticas; el hilo está al final de la elipse y contiguo al extremo de la radícula. El micropilo ocupa la región opuesta al hilo. El endospermo "desaparece" durante la formación del embrión y en los cotiledones se lleva a cabo la reserva de los nutrimentos.

La vista parcial al microscopio electrónico de la superficie externa, permitió la observación de numerosos poros en una zona restringida, entre los cuales hay una gran cantidad de pliegues o pequeñas reticulaciones, que según LERSTEN y GUNN (1982), contribuyen a dar a las semillas una apariencia ornamentada.

HILL y WEST (1982), comunicaron la presencia de poros en la superficie de las semillas de soya (Glicine max, L) a través de los cuales penetran hifas de hongos, pero no mencionan si estos poros están restringidos a una sola área, o si están en toda la superficie de la semilla. En el tamarindo, la presencia de los poros probablemente está relacionada con la entrada de agua a la semilla, durante los procesos de imbibición y germinación. Las reticulaciones entre los poros, no son consideradas como micelio de algún hongo, pues se observa que

salen del tejido de la semilla y no están sobre la superficie, como sucede con las hifas de los hongos (VARGAS, comunicación personal).

Las líneas de fractura de la región central, son fisuras que rompen las células de empalizada o macroesclereidas y eliminan la principal barrera contra la germinación. Estas grietas no se pueden considerar como un pleurograma, porque no son una línea continua de fisura . GUNN (1982), define a las líneas de fractura como grietas discontinuas y paralelas, que se forman en la región central de las semillas, de varias familias de plantas, entre ellas las leguminosas. Señala además , que en las regiones cercanas al hilo en ocasiones se forman fracturas. HYDE (1954) encontró que en algunas Papilionáceas, la fisura en las regiones del hilo, funciona como una válvula higroscópica que se abre o cierra de acuerdo a la humedad relativa de la atmósfera circundante . Cuando la humedad es muy baja, la válvula se mantiene abierta;el ascenso gradual de humedad, permite la entrada del agua hacia el interior y cuando la humedad es muy alta, la válvula se cierra, y se obstruye el paso del agua. Es muy probable que en el tamarindo el hilo funcione de una manera similar a lo reportado por HYDE para las Papilionáceas.

El estudio de la testa como una barrera contra la germinación , presenta varias restricciones al paso del agua; la primera es una capa de cutícula, cuyo grosor varía en los diferentes géneros y especies de leguminosas (CORNER, 1951). La segunda es una densa capa de células de la epidermis, dispuestas en empalizada, llamadas células malpighianas,

de paredes gruesas y duras, debido a la presencia de celulosa y pectina (MARBACH y MAYER, 1979). En estas células epidérmicas se destaca una línea lúcida que antiguamente se creyó era un obstáculo a la germinación. ROLSTON (1978), dijo que esta línea es producto de diferencias en la refracción óptica, por un cambio en la composición química de las células malpighianas, donde hay una yuxtaposición de capas de suberina o cutina y la celulosa.

LERSTEN y GUNN (1982) afirman que su función es aún desconocida.

La siguiente capa de células es una línea de osteoesclereidas, isodiamétricas, lignificadas, entre las cuales hay numerosos espacios aéreos.

Hacia el interior de la capa de la testa hay parénquima de paredes delgadas, que se entremezclan con otras células parenquimatosas, de almacenamiento de taninos (FLORES, comunicación personal).

DIAZ (1979) en estudios hechos sobre la caracterización química de la cubierta de la semilla del tamarindo, encontró un 60% en peso de taninos.

La siguiente zona o capa de células, son de una fila de 2-3 células de grosor con remanentes del endospermo (CORNER, 1951; ROLSTON, 1978; GUNN, 1982 y LERSTEN, 1982). Esta capa delgada es un remanente, pues según los distintos autores durante el desarrollo de las semillas de leguminosas "no endospérmicas", los cotiledones pasan por una

fase inicial breve de división celular, seguida por otra etapa de expansión celular, en la cual el remanente del endospermo "desaparece", y el almacenamiento de las sustancias de reserva tiene lugar en los cotiledones, porque las reservas del endospermo de estas dicotiledóneas son consumidas en la maduración del embrión. Por su función, es posible que estas células llamadas de "endospermo", sean más bien, un perisperma.

La germinación de la semilla del tamarindo, morfológica y fisiológicamente, puede ocurrir después de las veintinueve semanas, a partir de la antesis.

La latencia es provocada por la presencia de la cubierta seminal, ya que basta la eliminación parcial para que las semillas germinen con muy poca dificultad. La testa dura, tiene la ventaja de permitir a estas semillas permanecer un considerable tiempo en el suelo , hasta que se den las condiciones favorables que induzcan o inicien su germinación. En condiciones naturales, la flora microbiana del suelo, junto con diversas influencias del ambiente como la temperatura, la lluvia y otras, logran ir erosionando las cubiertas, hasta conseguir hacerlas permeables al agua.

MARBACH y MAYER (1974) explican que la dormición de muchas leguminosas de regiones tropicales, es consecuencia de los fenoles, como el ácido salicílico, oxibenzoico y cinámico, que están en las distintas capas de la testa; sin embargo, en el tamarindo parece no ser esta

la razón, porque en ninguno de los trabajos de caracterización química de la semilla, incluso del fruto, se han encontrado fenoles.

La función de los taninos no es conocida.

Los malos resultados obtenidos en la escarificación química, se pueden deber a la formación de una posible reacción química con el ácido sulfúrico, que debe dañar al embrión,porque el desarrollo de las plántulas tratadas con este ácido, es más lento, e incluso, varias se malforman.

Los tratamientos de escarificación por temperatura, no lograron los resultados deseados, pues en la estufa se mantuvo siempre una temperatura constante y no de cambios bruscos u oscilaciones que son los que han dado mejores resultados (QUINLIVAN, 1966; MAYER y MAYBER, 1975). Los días de permanencia a temperatura constante es otro factor que pudo influir.

La exposición al sol disminuyó la viabilidad, porque muchas de las semillas sufrieron daños físicos en la testa, que causan deshidratación.

CONCLUSIONES

1-. El desarrollo del fruto tarda aproximadamente 35 semanas, para completarse.

2-. El crecimiento del fruto muestra tres marcados estadios de desarrollo, con diferencias tanto internas como externas.

3-. Las principales barreras de la testa, contra la germinación de la semilla, son la cutícula y las células malpighianas de la epidermis, dispuestas en empalizada.

4-. El endospermo aparece durante le maduración del embrión y queda sólo un remanente en la parte interna de la testa. Debido a su función, es probable que la definición de perisperma, sea más conveniente.

5-. La escarifiacción mecánica es suficiente para inducir la germinación, en menor número de días.

6-. La inmersión de las semillas en ácido sulfúrico, no produjo los resultados esperados, si se comparan con los obtenidos para otras especies de cubierta seminal dura.

7-. La aplicación de temperatura en la estufa no debió ser constante.

8-. La exposición continua de las semillas al sol, disminuyó su viabilidad.

RECOMENDACIONES

- Incrementar el cultivo del tamarindo en Costa Rica, contribuye al desarrollo de la economía del país.

- Remover parcialmente la testa de la semilla, (por escarificación mecánica) es muy eficiente para inducir la germinación, siempre que se efectúe la siembra en el menor tiempo posible, después de escarificar.

- Realizar el efecto de la temperatura controlada como un tratamiento pregerminativo puede ser mejor, si se realizan oscilaciones, o cambios periódicos.

- Utilizar el ácido sulfúrico puede dar mejores resultados a concentraciones menores de un 20%, por un período de tiempo de inmersión no mayor a los 15 minutos. El uso de otros ácidos posiblemente sea efectivo.

- Evitar la exposición continua de las semillas al sol, por más de 30 días.

RESUMEN

El crecimiento del fruto de Tamarindus indica, desde la antesis hasta la época de la cosecha, tarda aproximadamente 35 semanas para completarse y muestra tres marcados estadios durante su desarrollo , con diferencias tanto internas como externas.

Las principales barreras de la testa contra la germinación de la semilla, son la cutícula y las células malpighianas de la epidermis . Durante la maduración del embrión, el endospermo desaparece. La escarificación mecánica parcial es suficiente para inducir la germinación en menor número de días. La inmersión de las semillas en ácido sulfúrico no produjo los resultados esperados, si se comparan con los obtenidos para otras especies. La aplicación de temperatura en la estufa, no debió ser constante. La exposición continua de las semillas al sol disminuye su viabilidad. La germinación de las plántulas es de tipo epígeo. Las hojas son compuestas, con un par de estípulas alargadas en su base ; el primer par es opuesto y las siguientes son alternas,cada una formada por ocho o nueve pares de hojuelas. El crecimiento secundario aparece aproximadamente en la décima semana en la región del hipocótilo. Los cotiledones dejan de ser funcionales a los 45 días aproximadamente.

En suelos a capacidad de campo, el crecimiento longitudinal del tallo es de 0,5 cm. semanalmente, durante los primeros 60 días.

BIBLIOGRAFIA

ABDUL,A.A. y BAKER,J.E.:
Are changes in cellular organelles or membranes related to vigor in seeds?
Seed.Sci. Tech. 1: 89-125. 1973.

AGUILAR, J.R.:
El tamarindo y sus usos.
Bol.Tec. Lab. 2: 22-24. 1981.

BALLARD, L.A.:
Physical barriers to germination.
Seed. Sci. Tech. 1: 285-303. 1973.

BARCELÓ, J.:
Fisiología Vegetal. Edición Pirámide, Madrid. 1980. pp.38-670.

BEWLEY, J.D. y M. BLACK:
Physiology and biochemistry of seed.
Springer-Verlag, Berlñín. 1982. 375 p.

COOMBE, P.G.:
The development of fleshy fruits.
Ann. Rev. Plant Physiol. 27: 507-528. 1976.

CORNER, E.J.:
The leguminous seed.
Phytomorphology 1: 117-50. 1951.

DEVLIN, R.M.:
Plant physiology.
3a. ed. Litton Educational Publishing. 1975. 600p.

DIAZ, A.:
Caracterización química de la semilla del tamarindo (Tamarindus indica).
Departamento de frutas y vegetales, CNIC, Cuba. 2:71-79.1979.

DICKSON, M.M.:
Imbibition rate and seed composition as factors affecting transverse cotyledon cracking in bean (Thaseolus vulgaris) seed.
J.Amer.Soc.Hort.Sci. 98: 409-513. 1973.

DURE, L.S.:
Seed formation.
Ann. Rev.Plant.Physiol. 26:259-278. 1975.

ESAU, K.:
Anatomy of seed plants.
Willey, New York. 1960. 376p.

FERNANDEZ, J. y G. NICOLAS:
Starch degradation in the cotyledons of germinating lentils.
Plant.Physiol. 58: 618-621. 1976.

FOARD, D.E.:
An experimental study of sclereid development in the leaf of Camellia japonica.
Plant.Physiol. 33(Suppl.) 1958, 40p.

FORDHAM, A.J.:
Germination of woody legume seed with impermeable seed coat.
Arnoldia 25: 1-8. 1965.

FOSTER,A.S. y GIFFORD,E.M:
Comparative morphology of vascular plants.
W.H. Fresman & Company, San Francisco. 1974. 2a.ed. 751p.

FRANFLAND, B.:
Phytochrome and seed germination.
Plant.Physiol. 11: 29-32. 1980.

GELMOND, H.:
Physiological aspects of seed germination.
Seed Sci.Tech. 6: 625-639. 1978.

GOMEZ, P.A. y VAZQUEZ, Y.C.:
Regeneración de selvas.
Comp. Edit. Continental, S.A., México. 1976.

GUNN, C.R.:
Seed topography in the Fabaceae.
Seed Sci.Tech. 9: 737-757. 1981.

HERNANDEZ,H.Y. y LAKSHMINARAYANA, S.:
Developmental physiology of tamarind fruit (Tamarindus indica L).
Hort. Sci. 17: 938-940. 1982.

HERNANDEZ,H.Y. y LAKSHMINARAYANA, S.:
Biochemical changes during development and ripening of tamarind fruit (Tamarindus indica L).
Hort.Sci. 17: 940-942. 1982.

HILL, H.J. y WEST, S.H.:
Fungal penetration of soybean seed through pores.
Crop.Sci. 22: 602-605. 1982.

HOLDRIDGE, L. y POVEDA, J.:
Arboles de Costa Rica.
Centro Científico Tropical, San José, Costa Rica.1975. 546p.

HYDE, E.C.:
The function of the hilum in some Papilionaceae in relation to the ripening of the seed and permeability of the testa.
Ann. Botany. 18: 241-256. 1954.

JANZEN, D.H.:
Seed eaters versus seed size, numbers, toxicity and dispersal.
Evolution. 23: 1-27. 1969.

JANZEN, D.H.:
Digestive seed predation by a Costa Rican baird's tapir.
Biotropica, (Suppl.). 13:59-63. 1981.

JANZEN, D.H.:
Ecological distribution of chlorophyllous developing embryos among perennial plants in a tropical deciduos forest.

JANZEN, D.H.:
Cenízaro tree (Leguminosae, Pithecellobium saman) delayed fruit development in Costa Rican deciduous forests.
Amer. J.Bot. 69: 1269-1276.

JANZEN, D.H. y HIGGINS, M.L.:
How hard are Enterolobium cyclocarpum seeds.
Brenesia. 16: 61-67. 1979.

JOHANSEN, D.A.:
Plant microtechnique.
Mc.Graw-Hill Book Company. 1959.

KORBAN, S.S.:
Rate of water uptake and siter of entry in seeds of different cultivars of dry bean.
Hort. Sci. 16: 545-546. 1981.

KOZLOWSKY, T.T.:
Seed Biology.
Academic Press, London. 1972. 422p.

LEBEDEIT,G.A.:
Studies on the inheritance of hard seeds in beans.
J. of the Agric. Research. 74: 202-215. 1947.

LEFEVRE, J.C.:
Revue de la literature sur le tamarinier.Recherchers fruitieres Cutre-Merc. Fruits. 26: 587-695. 1971.

LEON, J.:
Fundamentos botânicos de los cultivos tropicales.
Lima, Perú, Editorial Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. 1968. 487p.

LEOPOLD, A.C. y KRIEDEMANN, P.E.:
Plant growth and development.
2a.ed. Mc.Graw-Hill Book Company. 1975. 466p.

LERSTEN, N.R. y GUNN, C.R.:
Testa characters in tribe Vicieae, with notes about tribas Abreae, Cicerae and Trifolieae (Fabaceae).
United States Department of Agriculture Tech.Bull. No.1667
40p.

MARBACH, I. y MAYWR,A.M.:
Permeability of seed coats to water as related to drying conditions and metabolism of phenolics.
Plant.Physiol. 54: 817-820. 1974.

MAYER, A.M. y POLJAKOFF, A.M.:
The germination of seeds.
2a.ed., Pergamon Press. 1975. 191p.

MORENO, P.:
Estudios sobre viabilidad y latencia de semillas tropicales.
Tesis Universidad Nacional Autónoma de México,D.F. Facultad de Ciencias. 1973.

MORENO, P.:
Latencia y viabilidad de semillas de árboles tropicales.
Inv. y Ciencia. 2: 298-300. 1977.

NAYLOR,P.E.:
Variation in germination behavior.
Seed Sci. Tech. 10:67-76. 1982.

NUÑEZ, E.:
Plantas medicinales de Costa Rica y su folklore.
2a.ed. San José, Costa Rica. Editorial Universidad de Costa Rica. 318p.

PENNINGTON, I.D. y SARUKHAN, J.:
Arboles tropicales de México.
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, México . 1968.

PEOPLER, M.B.:
Economy of water, carbon and nitrogen in the developing cowpea fruit.
Plant. Physiol. 77: 142-147. 1985.

PERNOLLET, J.C.:
Biosynthesis and accumulation of storage proteins in seeds.
Plant.Physiol. 23: 45-49. 1985.

QUINLIVAN, B.J.:
The relationship between temperature fluctuations and the softening of hard seeds of some legume species.
Aust.J.Agric.Res. 17: 625-634. 1966.

ROLSTON, M.P.:
Water impermeability seed dormancy.
The Bot.Rev. 44: 365-391. 1978.

RUGENSTEIN, S.R. y LERSTEN, N.R.:
Stomata on seeds and fruits of Behuinia (Leguminosae: Caesalpinioideae).
Amer.J.Bot. 68: 873-876. 1981.

SHARMAN, B.C.:
Tanic acid and iron alum with safranin and orange G in studies of the shoot apex.
Stain. Tech. 18: 105-111. 1943.

SINGH, B.:
Ovule and seed of Sechium edule SW. Are investigation
Current Sci. 34: 696-697. 1965.

SOMARIBA, E. y FERREIRO, O.:
Efecto de tres tratamientos pregerminativos sobre la germinación y viabilidad de las semillas de Enterolobium ovolocarpum.
Turrialba. 34: 99-101. 1984.

THORNE, R.E.:
Phloem unloading of Cand N assimilates in developing seeds.
Ann. Rev. Plant.Physiol. 36: 317-343. 1985.

VAZQUEZ, C.Y. y PEREIRA, B.P.:
Notas sobre la morfología, la anatomía de la testa y la fisiología de las semillas de Enterolobium cyclocarpum.
Dept. Biología Universidad Autónoma Metropolitana, México .
427-430. 1977.

WERKER, E.; MARBACH, I. y MAYER, A.M.:
Relation between the anatomy of the testa, water permeability and the presence of phenolics in the genus Pisum.
Ann. Bot. 43: 765-771. 1979.