

# GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULA EN CHINCUYA (*Annona purpurea* Moc y Sessé) Y SU RELACIÓN CON LOS NIVELES DE GIBERELINAS Y ÁCIDO ABSCÍSICO

J. A. Gómez–Castañeda<sup>1</sup>; H. Ramírez; A. Benavides–Mendoza; L. I. Encina-Rodríguez

Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista Saltillo, Coahuila, México. México.

Correo-e: juanma91@yahoo.com (<sup>1</sup>Autor responsable)

## RESUMEN

Con el propósito de analizar algunos factores que contribuyen a la deficiencia de germinación en semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé se realizó la presente investigación. Semillas maduras de esta especie frutal se mantuvieron durante cinco días en inmersión de ácido giberélico a concentraciones de 0, 100, 500 y 1,000 mg-litro<sup>-1</sup>, su germinación y desarrollo de plántula fue posteriormente evaluadas en invernadero. El contenido de giberelinas y ácido abscísico en las semillas fue medido con la prueba del hipocótilo de la lechuga, mientras que con la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas se identificaron giberelinas endógenas. Los resultados indican que el ácido giberélico, en cualquier concentración estudiada estimula sustancialmente la germinación. Mientras el testigo alcanzó solamente un 8 % de germinación total, los niveles de 100, 500 y 1,000 mg-litro<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub> produjeron 53.3, 62 y 68 %, respectivamente. El desarrollo de la plántula reflejó los efectos observados en la germinación de semilla, al mostrar el testigo un máximo de 0.32 mm de altura en comparación con 44.4, 65.3 y 71.2 mm con 100, 500 y 1,000 mg-litro<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub>, respectivamente. Se encontró actividad biológica de giberelinas y ácido abscísico en las semillas analizadas; sin embargo, esta actividad fue siempre superior en las primeras, aunque insuficientes para causar germinación. Se identificaron las giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>20</sub> y A<sub>53</sub>. Se concluye que la deficiencia en germinación de *Annona purpurea* Moc y Sossé está relacionada con bajos niveles de giberelinas en las semillas.

**PALABRAS CLAVE ADICIONALES:** fisiología, fitohormonas, frutal tropical.

## GERMINATION AND SEEDLING DEVELOPMENT OF SONCOYA (*Annona purpurea* Moc y Sessé) IN RELATION TO GIBBERELLINS AND ABSICIC ACID LEVELS

## SUMMARY

With the purpose to study the lack of seed germination in *Annona purpurea* Moc y Seesé, mature seeds were immersed during five days in a solutions of GA<sub>3</sub> (0, 100, 500 and 1000 mg-liter<sup>-1</sup>). Seed germination and seedling development was evaluated under greenhouse conditions. Gibberellins and ABA in seeds were measured using the lettuce hypocotyl bioassay whereas identification of endogenous gibberellins was conducted using the gas chromatography and mass spectrometry technique. It was found that any concentration of GA<sub>3</sub> promotes seed germination. Control seed showed 8 % of total germination whereas GA<sub>3</sub> treatments showed 55.3, 62 and 68 % at 100, 500 and 1,000 mg-liter<sup>-1</sup> respectively. Seedling development showed the same pattern as in seeds germination. Control plants reached a final height of 0.32 mm in comparison with 44.4, 65.3 and 71.2 mm with 100, 500 and 1,000 mg-liter<sup>-1</sup> of GA<sub>3</sub>, respectively. More gibberellin activity than ABA was found in seeds although not enough to provoke germination. Gibberellins A<sub>1</sub>, A<sub>20</sub>, and A<sub>53</sub> were identified. It is concluded that the lack of seed germination in *Annona purpurea* Moc. Sossé is related to low levels of endogenous gibberellins in seeds.

**ADDITIONAL KEY WORDS:** physiology, phytohormones, tropical fruit

## INTRODUCCIÓN

La germinación de semillas es un proceso fisiológico que integra armónicamente factores internos y externos, los cuales permiten la expresión genética de una especie

vegetal (Ramírez *et al.*, 2001b). La modificación adversa de alguno de esos factores como temperatura, luz, oxígeno, nutrimentos y hormonas endógenas influenciarán substancialmente de manera negativa en el proceso germinativo (Heins *et al.*, 2000; Marroquín *et al.*, 1997).

La semilla de la especie tropical *Annona purpurea* Moc y Sessé se caracteriza por tener un embrión rudimentario que refleja, aparentemente, una diferenciación incompleta de los órganos que la forman (Garwood, 1995). Con frecuencia esta condición de deficiencia fisiológica la relaciona el fruticultor mexicano con el bajo porcentaje de germinación que presentan los diversos lotes de semilla utilizados en los viveros del estado de Chiapas, México. Sin embargo, observaciones de campo demuestran inconsistencia en lo anterior, ya que experiencias indican que semillas totalmente desarrolladas también presentan un bajo porcentaje de germinación (Hernández *et al.*, 1999).

Las hormonas vegetales y, en particular, las giberelinas y el ácido abscísico han sido relacionados directamente con el proceso de germinación en diferentes especies vegetales (Looney, 1996); las primeras como estimulantes y las segundas como inhibidores (Garcíarrubio *et al.*, 1997; Debeaujon y Koornneet, 2000). Por lo tanto, con base en lo anterior, la presente investigación fue diseñada con el objetivo de estudiar la deficiencia de germinación de semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé y su relación con el nivel de giberelinas y ácido abscísico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el invernadero de alta tecnología del Departamento Forestal y Laboratorio de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México.

El material experimental consistió de semillas extraídas de frutos de chincuya colectados de varios árboles en el periodo septiembre – octubre de 2000 en una huerta localizada en el municipio de Villaflores, Chiapas, México. Las semillas fueron lavadas en agua potable, secadas y seleccionadas por su uniformidad en tamaño y forma para su posterior uso experimental. Este estudio se dividió en tres experimentos descritos a continuación:

### Experimento 1

#### Germinación y crecimiento de plántula

Un lote de semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé fueron mantenidas durante cinco días en inmersión con ácido giberélico a concentraciones de 0, 100, 500 y 1000 mg·litro<sup>-1</sup>. Posteriormente, el 23 de abril del 2001 se sembraron 10 semillas de cada tratamiento en charolas de unicel de 60 orificios, con “peat moss” como sustrato. Los efectos de los tratamientos fueron evaluados diariamente durante 57 días. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de germinación y altura de plántula. El diseño experimental que se empleó fue completamente al azar con cinco repeticiones, en arreglo factorial. Con el propósito de mantener el coeficiente de variación dentro de los niveles normales, los datos obtenidos de las variables referidas,

fueron transformados mediante la fórmula:  $\sqrt{x+2}$  (x= dato original; 2= constante).

### Experimento 2

#### Actividad biológica de fitohormonas

Se hicieron siete lotes de 40 semillas cada uno que se colocaron en sustrato de “peat moss”; luego un lote fue retirado cada siete días desde el momento de la siembra, para ponerse de inmediato en congelación. Una vez colectadas todas las muestras, se les eliminó la testa, se liofilizó y pulverizó la almendra para su análisis de fitohormonas en el laboratorio de Horticultura. En cada fitohormona estudiada, se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por lote en cada prueba biológica realizada.

#### Giberelinas y ácido abscísico

Al extraer las giberelinas y el ácido abscísico, en cada ocasión se utilizó una muestra consistente en un gramo de peso seco de semillas; se colocó en un matraz Erlenmeyer al cual se agregaron 50 ml de metanol (80 %). Las muestras se conservaron durante 24 horas en congelación. Posteriormente, se filtró en papel Whatman 1 a temperatura de 24 °C. Esta actividad se repitió con el filtrado en dos ocasiones con igual cantidad de metanol (100 %) cada cuatro horas y a la misma temperatura. Los tres filtrados integrados en un matraz bola de 250 ml fueron evaporados a temperatura de 50 °C, en evaporador rotatorio con baño maría. En seguida se procedió a la purificación de giberelinas a través de la separación de impurezas, empleando una cápsula para separación rápida de fitohormonas a base de sílica gel. Lo anterior se realizó utilizando la técnica reportada por Ramírez *et al.* (2001a). En seguida, las muestras fueron sometidas a cromatografía de capa fina (CCF) utilizando sílica gel GF254, y como eluyente una solución de alcohol isopropílico (97 %)–amoníaco (98 %)–agua en una proporción de 10:1:1 (v:v:v) durante cuatro horas, a temperatura de 20 °C. Al terminar este tiempo las giberelinas fueron identificadas por su R<sub>f</sub> de cada muestra, separadas y evaluadas con la prueba biológica del hipocótilo de la lechuga, utilizando la técnica descrita por Ramírez *et al.* (2001b). Ésta, consistió en germinar semillas de lechuga del cultivar Mesa 659 durante 24 horas a una temperatura de 25 °C bajo luz fluorescente (120 mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>). Las muestras de extractos fueron transferidas a cajas Petri de 5 cm de diámetro, conteniendo papel filtro. Luego de permitir la evaporación total de acetona–metanol, se agregó 1 ml de agua destilada, colocando inmediatamente después 10 semillas germinadas en cada una. Se prepararon soluciones estándar de ácido giberélico a concentraciones de 1, 0.1, 0.01 y 0.001 M incluyendo un testigo con agua destilada. Pasadas 48 horas bajo las condiciones señaladas se evaluó

el crecimiento del hipocótilo de la lechuga, utilizando una tabla con cuadrícula milimétrica.

Para la cuantificación del ácido abscísico (ABA), se realizó el mismo procedimiento utilizado para las giberelinas, excepto en el proceso de cromatografía, donde se empleó una solución de acetato de etilo (97 %)-cloroformo (98 %)-ácido acético (99 %), en una proporción de 15:5:1 (v:v:v), como eluyente.

La evaluación estadística de las muestras se realizó empleando la siguiente fórmula:  $DMS = FC \Sigma / \text{Número de repeticiones}$  [DMS=diferencia mínima al 5 %; Fc=factor crítico (0.47);  $\Sigma$ =suma de límites entre repeticiones].

## Experimento 3

### Identificación de giberelinas

Un lote de 480 semillas de cada tratamiento con ácido giberélico (100, 500 y 1000 mg·litro<sup>-1</sup>) fueron preparados para identificar en ellas la presencia de giberelinas, mediante la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas. Se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento de de ácido giberélico. Después de purificados los extractos de semillas, fueron disueltos en 0.1 ml de acetona (98 %) -metanol (98 %) en la proporción 50:50 (v:v) por gramo de peso seco de muestra y metilados con diazometano. Una porción del extracto metilado fue disuelto en 0.1 ml de piridina y tratado con 0.1 ml de trimetil clorosilano y hexametildisilazano. Alícuotas fueron examinadas con un separador de membrana de silicón Pye 104 CLC acoplado a un espectrómetro de masas AEI MS30. En este equipo se instalaron columnas de vidrio salinizadas (213 x 0.2 cm) con 2 % de Se-33, en 80-100 de gas Chrom Q. La proporción de flujo fue de 25 ml·min<sup>-1</sup> y la temperatura de la columna fue programada entre 180 a 280 °C a 2 °C·min<sup>-1</sup>. La espectrometría de masas fue determinada a 24eV en una fuente de temperatura de 190 °C y una velocidad de búsqueda de 6.5 s por década de masa. El espectro fue registrado por una computadora Dec Lin 8. La identificación fue conducida por comparación del Índice de retención Kovats (KRI) y el espectro de espectrometría de masas de sus metil ester trimetilsilil éter con sus derivados de las muestras originales (Ramírez *et al.*, 2001b).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La germinación de la semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé se inició 23 días después de la siembra. Los resultados del análisis de varianza en esta variable indican diferencia altamente significativa para los tratamientos con ácido giberélico. La prueba de medias mostró que el ácido giberélico, utilizado en cualquier concentración, estimuló sustancialmente la germinación. El testigo alcanzó solamente un 8 % de germinación total, mientras que los

niveles de AG<sub>3</sub> produjeron 53.3, 62 y 68 % a 100, 500 y 1000 mg·litro<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 1). Los resultados demuestran que el ácido giberélico estimuló la germinación en semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé. Este efecto también fue observado en la misma especie por Hernández *et al.* (1999). Resultados similares han sido también obtenidos con AG<sub>3</sub> a concentraciones que se encuentran dentro del intervalo estudiado en la presente investigación en *Annona diversifolia* Saff (Marroquín *et al.*, 1997) y en *Annona cherimola* Mill. (De Smet *et al.*, 1999).

La respuesta de chincuya al tratamiento con ácido giberélico es valorable tomando en consideración que es una especie poco domesticada y que su germinación en ocasiones toma meses sin tratamientos pregerminativos (Hernández *et al.*, 1999).

El análisis de varianza aplicado en las cinco fechas de muestreo al crecimiento de plántula de semillas tratadas con ácido giberélico, indica que existe diferencia altamente significativa con respecto a las tratadas con el regulador de crecimiento. La prueba de medias reflejó los mismos efectos observados en la semilla, al mostrar el testigo un máximo de 0.32 mm de altura, en comparación con 44.4, 65.3 y 71.2 mm con 100, 500 y 1,000 mg·litro<sup>-1</sup> de AG<sub>3</sub>, respectivamente (Figura 2). Este efecto pudiera deberse a que el ácido giberélico, además de estimular la germinación, promueve un crecimiento más rápido de la plántula. Lo anterior se puede relacionar con el aumento que origina este regulador de crecimiento en la división celular, en el ápice del tallo, en especial en células meristemáticas basales que conducen a un crecimiento más rápido (Looney, 1996; Bangerth, 1997).

La Figura 3, muestra la actividad biológica de giberelinas en semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé

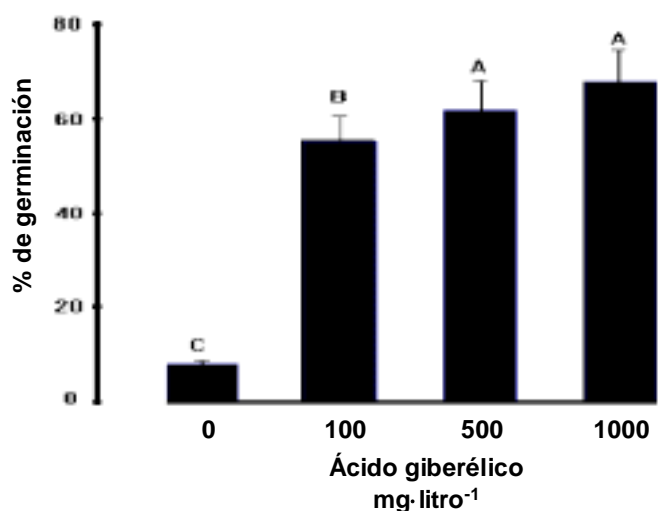


Figura 1. Efecto del ácido giberélico sobre la germinación de *Annona purpurea* Moc y Sessé. Cada valor representa la media de cinco repeticiones  $\pm$  error estándar. Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.01$

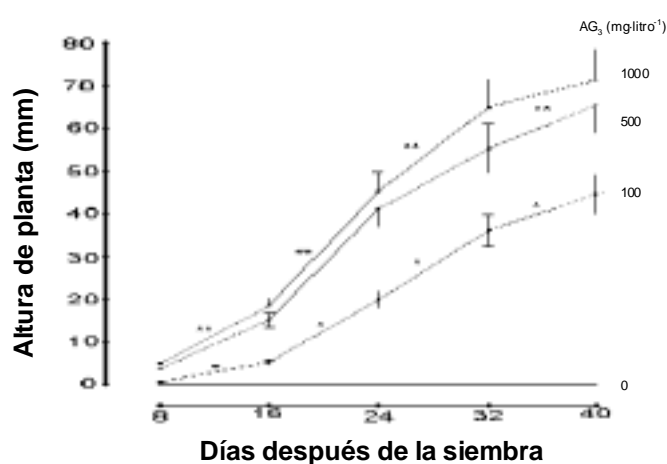


Figura 2. Tasa de crecimiento de plántulas de *Annona purpurea* Moc y Sessé generadas de semillas tratadas con ácido giberélico (AG<sub>3</sub>). Cada punto representa la media de cinco repeticiones  $\pm$  error estándar. \*, \*\*, diferencia significativa a una  $P \leq 0.05$  y 0.01, respectivamente.

según la prueba del hipocótilo de la lechuga (Ramírez *et al.*, 2001b). De las fechas estudiadas, se observó la presencia de estas fitohormonas a los 7, 14, 28 y 42 días de la siembra. Esta acción fue mayor en las fechas 7, 21 y 28 días en donde la actividad biológica fue evidente en las muestras obtenidas en la región 0.1–0.9 de los Rf evaluados. Estos resultados indican la existencia de giberelinas en las semillas de chincuya durante sus primeros días bajo condiciones de pregerminación. Este comportamiento también ha sido observado en semillas de otras especies como manzano (Ramírez *et al.*, 2001b). Considerando que la prueba del hipocótilo de la lechuga sólo refleja actividad giberélica (Ramírez *et al.*, 2001a), la distribución en actividad biológica observada en la región 0.1–0.9 de los Rf evaluados pudiera estar relacionada con la presencia de diferentes giberelinas de acuerdo a su polaridad (Mander *et al.*, 1995).

Se observó que el nivel de giberelinas fue superior al del ácido abscísico durante las fechas de muestreo (Figura 4). La mayor concentración de giberelinas (5.3 mg) se localizó a los 28 días después de la siembra, mientras que la menor ocurrió en el día 35 (0.3 mg). El ácido abscísico mostró su máximo nivel a los 35 días de siembra (0.01 mg) y su mínimo a los 42 días (0.005 mg). La deficiencia de germinación que posee *Annona purpurea* Moc y Sessé en forma natural con base en los resultados de este estudio, no parece depender de un efecto de ABA como ha sido demostrado en otras especies (Le Page *et al.*, 1996). Es posible que esta adversidad pudiera tener una relación más directa con el sistema de giberelinas, que son conocidas por su capacidad para estimular la germinación cuando se encuentran en los niveles adecuados (Ramírez, 1993). Ciertamente su efecto en la germinación no ocurre cuando la concentración es inadecuada (Khan, 1996). Es posible que a pesar de la presencia de estas hormonas en las semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé (Figuras 3 y 4), su contenido no sea suficiente para el estímulo de la

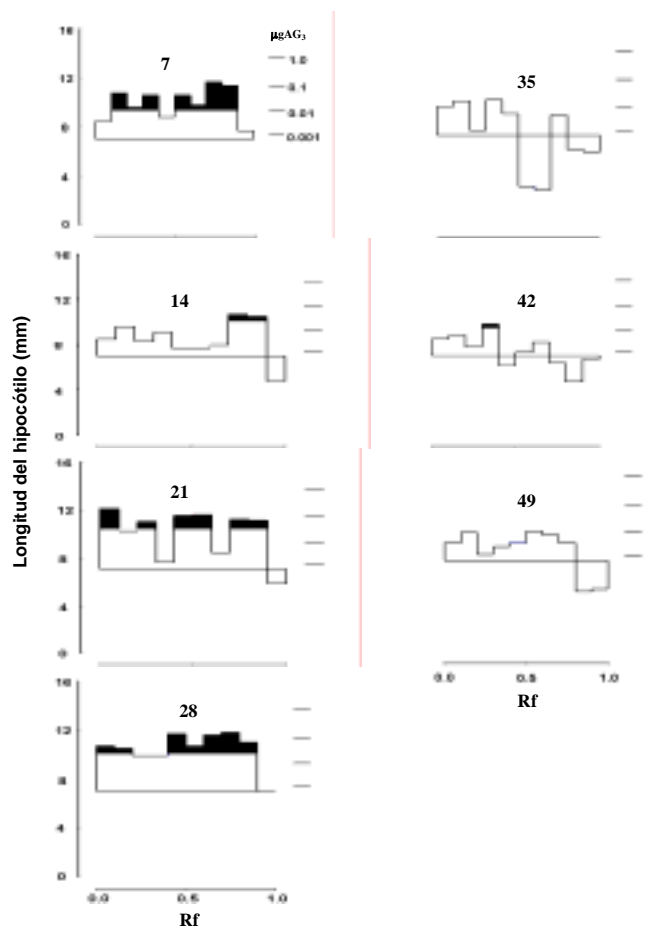
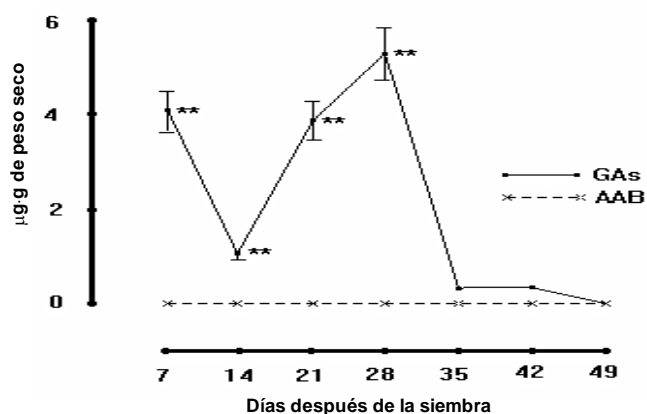


Figura 3. Actividad biológica giberélica en extractos de semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé según la prueba del hipocótilo de la lechuga. Los días posteriores a la siembra son indicados. Cada valor representa la media de tres repeticiones. Las áreas sombreadas indican significancia  $P \leq 0.05$

germinación, o bien, que este efecto también dependa del factor cualitativo de esas sustancias (Ramírez *et al.*, 2001a).

En las semillas previamente tratadas con cualquier concentración de ácido giberélico (100, 500 y 1,000 mg·litro<sup>-1</sup>) fueron identificadas las giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>20</sub> y A<sub>53</sub> con la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas (Figura 5). La presencia de estas hormonas pudiera estar relacionada en el proceso de germinación de *Annona purpurea* Moc y Sessé al manifestar su actividad biológica observada en las placas de cromatografía de capa fina (Figura 3). Lo anterior indica que su efecto estimulante en la germinación de semilla es el resultado de una acción cualitativa y cuantitativa como ha sido evidenciado en otras especies (Ramírez 1993, 1995, 1997; Ramírez *et al.*, 2001b). Es posible que en esta especie investigada, las cantidades de giberelinas encontradas no sean lo suficientemente altas para el estímulo de la germinación. Esto ya ha sido demostrado en semillas de manzano





**Figura 4.** Niveles endógenos de giberelinas (GAs) y ácido abscísico (AAB) en semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé. Cada punto representa la media de tres repeticiones  $\pm$  error estándar. \*\*: diferencia significativa a un  $P \leq 0.05$

(Ramírez *et al.*, 2001a). Además, la presencia de hidroxilos en la mayoría de giberelinas, caracteriza su movilidad y efecto fisiológico (Ramírez, 1993). Con base en lo anterior, es posible que de las giberelinas encontradas la  $AG_1$  pudiera tener más influencia en el proceso que la  $AG_{20}$  y la  $AG_{53}$  (García, 1997); sin embargo, esta situación no ocurrió probablemente por la baja concentración observada en este estudio. Cuando la semilla de chincuya fue tratada con el ácido giberélico, la germinación fue evidente (Figura 1), lo que pudiera reflejar un estímulo en la síntesis endógena de las giberelinas  $A_1$ ,  $A_{20}$  y  $A_{53}$  (Figura 5), y su acción en ese proceso y en el crecimiento de la plántula (Figura 2), como ha sido observado en manzano, durazno y cerezo (Looney, 1996).

## CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos y bajo las condiciones en que se realizó el estudio, se concluye lo siguiente:

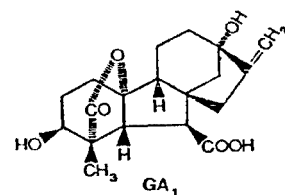
El ácido giberélico en concentraciones de 100, 500 y 1000 mg·litro<sup>-1</sup>, estimula sustancialmente la germinación de semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé y promueve un mejor desarrollo de la plántula.

La deficiencia de germinación de *Annona purpurea* Moc y Sessé está relacionada con los niveles de giberelinas.

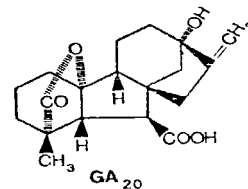
Las semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé producen las giberelinas  $A_1$ ,  $A_{20}$ , y  $A_{53}$ .

## LITERATURA CITADA

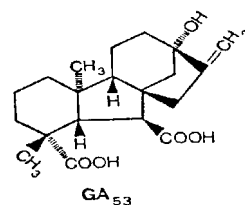
BANGERTH, F. K. 1997. Can regulatory mechanism in fruit growth and development be elucidate the study of endogenous hormone concentration. *Acta Horticulturae* 463: 77–87.



[506(100), 448(14), 375(18), 207(30)]



[418(100), 375(49), 238(11), 207(38)]



[448(45), 251(29), 208(92), 193(22)]

**Figura 5.** Giberelinas endógenas  $A_1$ ,  $A_{20}$  y  $A_{53}$  identificadas en semillas de *Annona purpurea* Moc y Sessé con la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas. Los principales iones con su intensidad relativa (% base) son indicados.

DE SMET, S.; VAN D., P.; SCHELDDEMAN, X.; ROMERO, J. 1999. Germinación y estructura de la semilla de Chirimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Acta Horticulturae* 497: 279–289.

DEBEAUJON, I.; KOORNNEEF, M. 2000. Gibberellin requirement for *Arabidopsis* seed germination determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid. *Plant Physiology* 122: 415–424.

GARCÍA M., J. L. 1997. Gibberellin metabolism and control of fruit growth. *Acta Horticulturae* 463: 39–52.

GARCIARRUBIO, A.; LEGARIA, J. P.; COBARRUBIAS, A. A. 1997. Abscisic acid inhibits germination of mature *Arabidopsis* seed by limiting the availability of energy and nutrients. *Planta* 203(2): 182–197.

GARWOOD, N. C. 1995. Studies in Annonaceae. XX. Morphology and ecology of seedlings, fruit and seeds of selected Panamain species. *Botanischer Jahrbucher fur Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 117(1-2): 1-152.

HEINS, R. D.; LIU, B.; RUNKLE, E. S. 2000. Regulation of crop growth and development based on environmental factors. *Acta Horticulturae* 514: 13-22.

HERNÁNDEZ D., C. M.; RÍOS M., J. A.; VIDAL L., E.; MARROQUÍN A., L. M. 1999. Efecto de giberelinas y sustrato sobre la germinación de semillas de Chincuya (*Annona purpurea* Moc & Sessé). Memoria del II Congreso Internacional de Anonáceas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. pp. 81–82.

- KHAN, A. A. 1996. Control and manipulation of seed dormancy, pp. 29-45. *In: Plant Dormancy: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Lang, G. A. (ed.) CAB International. Great Britain.
- LE PAGE D., M. T.; BIANCO, J.; BARTHE, P.; GARELLO, G. 1996. Changes in hormone sensitivity in relation to onset and breaking of sunflower embryo dormancy, pp. 221-231. *In: Plant Dormancy: Physiology, Biochemistry and Molecular biology*. Lang, G. A. (ed) CAB International. Great Britain.
- LOONEY, N. E. 1996. Role of endogenous plant growth substances in regulation fruit tree growth and development, pp. 31-40. *In: Tree Fruit Physiology: Growth and Development*. P. K. Andrews; G. A. Lang; K. Millinix (eds.). Good Fruit Grower. Washington State, USA.
- MANDER, L. N.; CAMP, D.; EVANS, L. T.; KING, R. W.; PHARIS, R. P.; SHERBURN, M.; TWITCHIN, B. 1995. Designer gibberellins: The quest for specific activity. *Acta Horticulturae* 394: 45-55.
- MARROQUÍN A., L.; HERNÁNDEZ R., R; MARTÍNEZ S., J.; VERGARA S., M. A. 1997. Tratamientos pregerminativos en semillas de llama (*Annona diversifolia* Saff). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 3(1): 61-64.
- RAMÍREZ R., H. 1993. Identification of gibberellins in Golden Delicious apple seeds. *Acta Horticulturae* 329: 95-97.
- RAMÍREZ R., H. 1995. Estimation and identification of apple seed gibberellins in the early stages of fruit development. *Acta Horticulturae* 394: 101-103.
- RAMÍREZ R., H. 1997. Identification of endogenous gibberellins in Red Delicious apple seeds. *Acta Horticulturae* 463: 231-234.
- RAMÍREZ R., H.; BENAVIDES M., A.; GALVÁN E., M.; RANGEL L., E. A. 2001a. giberelinas biológicamente activas en tejido floral de manzano (*Malus domestica* Borkh.) *Revista Chapingo Serie Horticultura* 3(2): 197-201.
- RAMÍREZ, H.; GORDON V., H.; BENAVIDES, A.; RANGEL, E. 2001b. Gibberellins in apple seeds and the transport of [ $^3\text{H}$ ]GA $_4$ . *Revista de la Sociedad Química de México* 45 (2): 47-50.