INCREMENTO DE LA GERMINACIÓN EN SEMILLAS DE FRUTA BOMBA POR APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS DE HIDRATACIÓN-DESHIDRATACIÓN

Laura A. Montejo, J. A. Sánchez[®] y Bárbara Muñoz

ABSTRACT. The effects of pregerminative hydrationdehydration treatments over germination of four varieties of fresh papaya seeds were determined with low initial germinative power and high viability. Six pregerminative hydration-dehydration treatments with different levels of partial hydration in water or KNO₃ were applied. Test treatments were done under three alternate temperature conditions of the substratum (25-30, 25-35 and 25-40°C). In the 25-30°C thermoperiod, the best results were achieved to accelerate and increase germination in all the varieties except Maradol Roja-1, when seeds were hydrated in KNO₃ for 30 minutes and with a cycle of hydration-dehydration in water or KNO₂. In 25-35°C, the previous treatments have similar results on the beginning of radicule emergency in Nika y Maradol Rojo-90 varieties; however, germination was not obtained in the rest. None of the varieties germinated in the 25-40°C thermoperiod, even after seed treatments.

Key words: Carica papaya, germination, seed treatment

INTRODUCCIÓN

La fruta bomba (*Carica papaya*, L.) propagada principalmente por semillas para su comercialización ha sido ampliamente estudiada, por presentar germinación pobre y errática (1, 2). Esta dificultad se atribuye fundamentalmente a la presencia de inhibidores de la germinación que han sido aislados de la sarcotesta (2) y la ausencia de embriones (3). También el grado de maduración fisiológica que tengan las semillas en el momento de la colecta, podría influir en su germinación, tal como sucede en otros cultivos (4, 5). En Cuba se han realizado diferentes investigaciones para incrementar la producción de fruta bomba; sin embargo, la calidad y el vigor de las semillas atentan contra el establecimiento exitoso de las plantaciones¹.

(José Fresneda, 2000, comunicación personal)

Laura A. Montejo, Investigador; Ms.C. J. A. Sánchez, Investigador Auxiliar y Ms.C. Bárbara Muñoz, Investigador Agregado del departamento de Ecología Funcional, Instituto de Ecología y Sistemática (CITMA), carretera de Varona km. 3 ½, Capdevila, Boyeros, AP 8029, CP 10800, Ciudad de La Habana, Cuba.

■ ecologia.ies@ama.cu, nmontejo@infomed.sld.cu

RESUMEN. Se determinaron los efectos de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación sobre la germinación de cuatro variedades de semillas frescas de fruta bomba cosechadas en Cuba, que presentaron bajo potencial germinativo inicial y alta viabilidad. Se aplicaron seis tratamientos pregerminativos que representaron distintos niveles de hidratación parcial en agua o solución de KNO₂. Las pruebas de efectividad de los tratamientos se realizaron en tres condiciones de temperatura alterna del sustrato (25-30, 25-35 y 25-40°C). En el termoperíodo 25-30°C, los mejores resultados para acelerar e incrementar la germinación en todas las variedades, excepto en Maradol Roja-1, se obtuvieron cuando las semillas se hidrataron en KNO₂ durante 30 min. y con un ciclo de hidratación-deshidratación en agua o en KNO₂. En 25-35°C, los tratamientos antes mencionados producen efectos similares sobre el inicio de emergencia de la radícula en las variedades Nika y Maradol Rojo-90; sin embargo, en el resto no se obtiene germinación. Ninguna variedad germinó en el termoperíodo 25-40°C, aún después de tratadas las semillas.

Palabras clave: Carica papaya, germinación, tratamiento de semillas

Estudios realizados por algunos autores (3) demostraron que soluciones de KNO₃ o GA₃ incrementan significativamente la germinación y la velocidad de dicho proceso en semillas de fruta bomba con baja capacidad germinativa inicial, debido posiblemente a que estas sustancias penetran fácilmente al interior del tejido celular, suministrando oxígeno durante el tratamiento osmótico o que activen enzimas encargadas de la degradación del endospermo (3, 6).

Una vía fisiológica para incrementar la germinación de las semillas frescas y envejecidas son los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación (5, 7, 8). Estos procedimientos activan reacciones metabólicas pregerminativas que aceleran la germinación, la autorreparación enzimática de las membranas celulares y numerosos mecanismos bioquímicos-fisiológicos de tolerancia al estrés ambiental (9, 10, 11). Dichos tratamientos consisten en la inmersión de las semillas en soluciones osmóticas o en cantidades limitadas de agua durante determinado tiempo, con deshidratación previa a la siembra o sin ella (4, 11). De acuerdo con este propósito, han sido llamados revigorizadores de semillas (seed revigoritation), acondicionadores de semillas (seed

priming) y robustecedores de semillas (seed hardening). Por otra parte, se ha planteado (12) que los mejores resultados para incrementar la germinación se obtienen cuando la imbibición de las semillas se realiza aproximadamente hasta mediados de la fase II del patrón trifásico de absorción de agua.

El objetivo del presente estudio consistió en determinar los efectos de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación sobre la germinación de semillas frescas de fruta bomba cultivadas en Cuba que tienen baja capacidad germinativa inicial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas frescas con bajo poder germinativo de tres variedades cubanas de fruta bomba (Maradol Roja-90, Maradol Amarillo y Maradol Roja-1) y una variedad foránea (Nika), cultivadas todas en Cuba, obtenidas en enero del 2000, y suministradas por la Empresa Productora de Semillas Varias del Ministerio de la Agricultura. Las variedades empleadas presentaron una viabilidad potencial de 90 % determinada mediante la prueba de Tetrazolium (TZ), según las normas del *International Seed Testing Association* (13). Para ello se utilizó el modelo de hidratación parcial propuesto (14) y las semillas se hidrataron en agua o en solución de KNO₃.

Determinación de la temperatura óptima de germinación. Las pruebas de germinación se realizaron en cámaras de crecimiento (Gallenkamp, Londres) bajo luz blanca fluorescente. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado y las semillas se colocaron en placas de Petri (9 cm de diámetro) y se incubaron a temperatura fija del sustrato de 25°C y alterna de 25-30, 25-35 y 25-40°C, con un alternancia de temperatura de 12 h para 25°C y 8 h para la más elevada, y una transición entre ellas de 4 h (tiempo necesario para que las incubadoras estabilicen los valores de cada rango de temperatura). El fotoperíodo fue de ocho horas-luz y coincidió con el termoperíodo de mayor temperatura. Se utilizaron cinco réplicas de 50 semillas cada una por tratamiento. Se consideraron germinadas las semillas con emergencia incipiente de la radícula. El conteo de la germinación se realizó diariamente durante 30 días y se determinó el porcentaje de germinación final y el inicio de la germinación. Los datos de porcentaje de germinación final se transformaron en arcsen √% sometieron a una prueba "t" de Student.

Determinación del patrón de imbibición en agua. Las semillas se colocaron en placas de Petri (9 cm de diámetro) sobre papel de filtro humedecido con agua destilada a temperatura alterna de 25-30°C (rango de temperatura óptima para la germinación, ver en resultados) y en luz blanca fluorescente (con similar termoperíodo y fotoperíodo al anteriormente descrito). En diferentes tiempos de imbibición, durante ocho días, con intervalos de 24 h, las semillas se pesaron para determinar la dinámica de absorción de agua en relación con el peso fresco.

Para tal propósito, se utilizaron cinco réplicas de 50 semillas cada una por cada punto de imbibición. El contenido inicial de agua de las semillas se determinó mediante el secado de estas durante 17 h en una estufa mantenida a 103 ± 2 °C (13).

Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación en agua y KNO, Los tratamientos aplicados en las cuatro variedades fueron: semillas no tratadas (T1); un ciclo de hidratación en agua durante 96 h y desecadas durante 48 h antes de la siembra (T2); dos ciclos de hidratación en agua durante 96 h, alternados con dos períodos de desecación durante 48 h (T3); un ciclo de hidratación en KNO₂ (1M) durante 96 h y desecadas durante 48 h antes de la siembra (T4); dos ciclos de hidratación en KNO₃ (1M) durante 96 h, alternados con dos períodos de desecación (T5). Además, las semillas se hidrataron en KNO₃ (1M) durante 30 min. a 30°C (T6) antes de ser transferidas a las condiciones de siembra. Este último tratamiento se utilizó (3) para incrementar la germinación en semillas de fruta bomba; por consiguiente, en el presente trabajo se empleó para probar su efectividad en las variedades cultivadas en Cuba y con respecto a los demás procedimientos.

Las semillas hidratadas en solución de KNO_3 (1M) se lavaron durante un minuto en agua corriente antes de ser desecadas o transferidas a las condiciones de siembra. La fase de hidratación parcial de los tratamientos T2, T3, T4 y T5 se realizó en temperatura alterna de 25-30°C, tal como se describió en la determinación del patrón de imbibición de las semillas. Por el nivel de hidratación que alcanzaron las semillas con los tratamientos T2, T3, T4 y T5 pueden considerarse como acondicionadas (15). La deshidratación se realizó a 25 ± 2°C (45 % de humedad relativa) durante 48 h hasta alcanzar aproximadamente el porcentaje de humedad inicial de los lotes, que fue de 10.3, 9.4, 9.5 y 14.0, en las variedades Nika, Maradol Rojo-90, Maradol Amarillo y Maradol Rojo-1 respectivamente.

Las pruebas de germinación se realizaron en tres condiciones de temperatura alterna del sustrato: 25-30, 25-35 y 25-40°C. El termoperíodo y fotoperíodo fue similar al empleado en la prueba de determinación de la temperatura óptima de germinación. Las semillas se colocaron en placas de Petri (9 cm de diámetro) sobre papel de filtro humedecido con agua destilada. El conteo de la germinación se realizó diariamente durante 30 días y se determinó el porcentaje de germinación final y el inicio de la germinación. Los datos de porcentaje de germinación final e inicio de la germinación se procesaron independientemente para cada variedad y se sometieron a un análisis de varianza con arreglo factorial (temperatura x tratamiento), de acuerdo con la información obtenida por variedad. Las diferencias entre medias se detectaron por medio de una prueba de rangos múltiples de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Temperatura óptima de germinación y patrón de imbibición de las semillas. El comportamiento germinativo de las variedades empleadas fue pobre y errático en las temperaturas ensayadas, excepto en Maradol Rojo-90, que alcanzó la máxima germinación (Tabla I). Sólo se obtuvo germinación en el termoperíodo de 25-30 y 25-35°C, lo cual podría deberse al grado de maduración o vigor germinativo que tengan las semillas en el momento de la colecta de los frutos o al manejo posterior, como ha sido informado en diversas especies de interés agrícola (4, 5). Los mejores resultados para incrementar y acelerar el inicio de la germinación en las cuatro variedades se obtuvo en el termoperíodo de 25-30°C (Tabla I). Después de Maradol Rojo-90, las variedades que tuvieron mayor germinación fueron Nika y Maradol-Amarillo. Por consiguiente, de los rangos de temperatura ensayados, 25-30°C resultó el óptimo para incrementar la germinación. También dicho rango de temperatura debe considerarse el idóneo para llevar a cabo la imbibición de las semillas, como ha sido informado en la mayoría de las plantas cultivadas (6, 16).

Tabla I. Efectos de la temperatura del sustrato sobre el comportamiento germinativo en semillas de cuatro variedades de fruta bomba

Variedades	Temperatura (°C)	Germinación final (%)	Inicio de la germinación (días)		
Nika	25-30	14.0	9.0		
	25-35	9.0	16.0		
	EE	2.0*	3.5**		
Maradol Rojo-90	25-30	62.0	9.0		
	25-35	48.2	15.0		
	EE	6.9***	3.0*		
Maradol Rojo-1	25-30	6.0	14.0		
v	25-35	1			
	EE				
Maradol Amarillo	25-30	15.0	10.0		
	25-35	8.2	13.0		
	EE	3.4*	1.5 NS		

NS: no significativo, p*≤0.05; **p≤0.01; ***p≤0.001

EE (error estándar de las medias)

Ninguna variedad germinó en 25 y 25-40°C

En general, los resultados obtenidos evidenciaron que la germinación de estas variedades se desencadena por la oscilación de la temperatura y no a valores fijos de este factor. Al parecer, los mecanismos enzimáticos que regulan la germinación se activan solamente ante fluctuaciones de temperatura del suelo, como sucede en las semillas de los árboles pioneros (17). Por su parte, el termoperíodo de 25-40°C podría haber sido inefectivo para la germinación, por inducir termoinhibición de eventos bioquímicos-fisiológicos relacionados con la germinación (por ejemplo, síntesis de proteínas, elongación y división celular, etc.), tal como ha sido informado en condiciones de estrés calórico (6, 18).

La dinámica de absorción de agua no difiere entre las variedades estudiadas en relación con el tiempo necesario para alcanzar la fase I del patrón trifásico de absorción de agua (Figura 1); sin embargo, sí existen diferencias considerables entre el nivel de humedad que alcanzaron las semillas de cada cultivar. Este resultado facilita la introducción de los tratamientos en la práctica agrícola, pues permite utilizar un tiempo único en la aplicación de los tratamientos de hidratación parcial de las semillas. Por otra parte, las diferencias obtenidas en cuanto al nivel de hidratación se deben posiblemente a las propiedades intrínsecas de cada variedad (contenidos de sustrato hidratables, permeabilidad de las cubiertas seminales, toma de oxígeno, tamaño de las semillas, etc.), debido a que las condiciones ambientales (temperatura, iluminación y humedad) que prevalecieron durante la imbibición fueron semejantes para todos los cultivares (6). La fase II siguió un comportamiento muy similar a la fase I en relación con el tiempo; esta fase es un largo período de absorción de agua que permite el desarrollo de eventos metabólicos sucesivos e indispensables para el crecimiento celular (6, 9, 18). La última fase de la curva de absorción (fase III) que se asocia con la emergencia de la radícula, no se alcanzó durante el tiempo de imbibición a que fueron sometidas las semillas (ocho días). El inicio de la germinación en todas las variedades fue después del octavo día en la temperatura de 25-30°C (Tabla I).

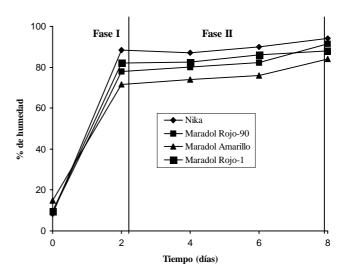


Figura 1. Curvas de imbibición en semillas de cuatro variedades de fruta bomba utilizando agua como medio de hidratación. Las líneas verticales representan el tiempo de duración de cada fase de imbibición

Efectos de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación. Los mejores resultados para incrementar y acelerar la germinación en todas las variedades, excepto Maradol Rojo-1, se obtuvieron cuando las semillas se colocaron en temperatura alterna de 25-30°C y cuando las semillas fueron tratadas mediante los procedimientos T2, T4 y T6 (semillas sometidas a un ciclo

^{1:} Datos no disponibles

de hidratación-deshidratación en agua o KNO, e hidratadas en KNO₃ durante 30 min., respectivamente) (Tabla II). La efectividad de estos procedimientos podría deberse a la estimulación provocada por el KNO₃ sobre el aparato metabólico pregerminativo (6), combinado con largos períodos de hidratación a los que se sometieron las semillas, lo cual permite alcanzar un mismo nivel de humedad y estado fisiológico en una gran proporción de semillas y con ello uniformar, incrementar y acelerar la germinación (4, 19). Los resultados obtenidos con los tratamientos acondicionadores T3 y T5 (dos ciclos de acondicionamiento en agua o KNO3, respectivamente) en cualquiera de los termoperíodos ensayados, demostraron que la repetición de los ciclos de hidratación-deshidratación agotaron la viabilidad de las semillas menos vigorosas del lote, efecto que fue mayor al incrementarse la temperatura del sustrato (Tabla II). Al parecer, las condiciones de siembra en combinación con largos y repetidos ciclos de hidratación-deshidratación de las semillas desencadenan procesos fisiológicos irreversibles, que aceleran el agotamiento de sus reservas nutricionales sin lograr alcanzar la emergencia del embrión (8, 20).

En el termoperíodo de 25-35°C las variedades Maradol Rojo-1 y Maradol Amarillo no lograron germinar aún después de tratadas las semillas y ninguna variedad germinó en 25-40°C. Esto podría deberse a la termoinhibición que producen los referidos termoperíodos a los eventos metabólicos pregerminativos anteriormente señalados.

También se observó que las variedades tienen distintos potenciales para responder a los tratamientos pregerminativos ensayados (Tabla II), lo cual podría estar relacionado con el grado de maduración y vigor que tengan las semillas en el momento de la colecta (5, 11) o las características genéticas propias de cada variedad (18).

Por otra parte, en la variedad Maradol Rojo-1 ningún procedimiento empleado logró superar los valores de germinación final obtenidos en las semillas no tratadas (Tabla II). Es necesario destacar el bajo poder germinativo de esta variedad, debido posiblemente a un inadecuado proceso de obtención (4). También la falta de estandarización de las condiciones ambientales donde se realizaron los tratamientos pregerminativos, podrían haber afectado la viabilidad de las semillas de esta variedad, como ha sido demostrado en otros cultivos (11, 15).

Según los resultados anteriormente obtenidos (4), el sobreacondicionamiento de las semillas puede reducir la germinación, debido posiblemente al agotamiento de las reservas nutricionales. También se conoce que las soluciones salinas afectan la estructura celular de las semillas y por consiguiente su viabilidad (7). Según algunos autores (21), tales efectos deletéreos pueden ser atribuidos a un desbalance osmótico celular provocado por la solución salina de imbibición.

A partir de estos resultados, se puede concluir que los mejores efectos para incrementar, sincronizar y acelerar la germinación en semillas frescas de las variedades de fruta bomba empleadas, salvo en Maradol Rojo-1, se obtienen cuando las semillas se hidratan en KNO₃ durante 30 min. (T6). De igual forma, el tratamiento T2 (un ciclo de hidratación-deshidratación en agua) puede considerarse adecuado para mejorar el comportamiento germinativo en Nika, Maradol Rojo-90 y Maradol Amarillo, resultado que tiene gran valor en la práctica agrícola, debido a que este tratamiento no involucra ningún compuesto químico y su aplicación a grandes volúmenes de semillas resultaría menos costoso; además, permite desarrollar una agricultura orgánica o agroecológica, minimizando la dependencia de productos químicos.

Tabla II. Efectos de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación en agua y en KNO₃ sobre el porcentaje de germinación final (%GF) y el inicio de la germinación (IG) de cuatro variedades de fruta bomba sembradas en dos condiciones de temperaturas alternas del sustrato

Tratamiento ¹		Nika		Maradol Rojo-90		Maradol Rojo-1		Maradol Amarillo	
		%GF	IG	%GF	IG	%GF	IG	%GF	IG
25-30°C	T1	14.0 cd	14.0 bc	61.0 ab	11.0 b	6.0 a	18.3 a	15.0 c	14.0 a
	T2	39.6 ab	11.0 c	68.6 ab	7.3 c	4.0 a	10.3 b	24.3 bc	8.0 b
	T3	33.3 b	13.0 bc	50.3 b	12.6 b	1.5 b	15.0 ab	-	-
	T4	48.6 a	10.0 cd	76.6 a	8.3 c	1.1 b	14.3 ab	20.0 bc	7.3 b
	T5	21.6 c	12.0 bc	53.0 b	13.6 b	3.3 ab	18.3 a	3.3 d	19.0 a
	T6	50.6 a	8.0 d	77.6 a	7.8 c	4.6 a	13.0 b	42.0 a	9.0 b
25-35°C	T1	10.0 cd	16.0 ab	48.0 b	13.3 bc	_2	-	-	-
	T2	5.3 d	11.0 c	18.0 d	9.0 bc	-	-	-	-
	T3	10.6 cd	18.6 a	15.3 d	17.6 a	-	-	-	-
	T4	6.6 d	13.6 bc	38.6 bc	11.3 b	-	-	-	-
	T5	8.0 d	18.0 a	7.0 d	18.3 a	-	-	-	-
	T6	3.0 d	10.6 cd	16.3 d	10.6 bc	-	-	-	-
	EE	5.0***	1.2**	7.2**	0.9**	0.7*	1.2*	6.3*	1.6*

Medias con letras comunes no difieren significativamente a p≤0.05 según prueba de Duncan EE (error estándar de las medias)

^{1:} T1, testigo; T2, un ciclo de hidratación en agua; T3, dos ciclos de hidratación en agua; T4, un ciclo de hidratación en KNO₃;

T5, dos ciclos de hidratación en KNO₃ T6, hidratación en KNO₃ durante 30 min

^{2:} datos no disponibles *p≤0.05; **p≤0.01; ***p≤0.001

REFERENCIAS

- Pérez, A.; Reyes, M. N. y Cuevas, J. Germination effect of two papaya varieties on seed aeration, K-treatment, removing of the sarcotesta high temperature, soaking in distilled water and age of seeds. *J. Agr. Univ. Puerto Rico*, 1980, vol. 64, p. 173.
- Reyes, M. N.; Pérez, A. y Cuevas, J. Detecting endogenous growth regulators on the sarcotesta, sclerotesta, endosperm, and embryo by paper chromatography on fresh and old seeds of two papaya varieties. *J. Agr. Univ. Puerto Rico*, 1980, vol. 64, p. 164.
- 3. Nagao, A. M.; Furutani, C. y Sheldon, A. Improving germination of papaya seed by density separation, potassium nitrate, and gibberellic acid. *Hort Science*, 1986, vol. 21, p. 1439.
- 4. Welbaum, G. E. /et al./. Biophysical, physiological and biochemical processes regulating seed germination. Seed Science Research. 1998, vol. 8, p. 161.
- Sánchez, J. A. /et al./. Comparación de dos técnicas de acondicionamiento de semillas y sus efectos en la conducta germinativa del tomate, pimiento y pepino. Cultivos Tropicales, 1999, vol. 20, no. 4, p. 51-56.
- Bewley, J. D. y Black, M. Seed physiology of development and germination. New York: Plenum Press, 1994, 445 p.
- 7. Sánchez, J. A. /et al./. Tratamientos pregerminativos de hidratación- deshidratación para semillas de pepinos (*Cucumis sativus* L.). Acta Botánica Mexicana, 1997, vol. 38, p. 13.
- Sánchez, J. A.; Muñoz, B. y Fresneda, J. Combined effects of hardening hydration-dehydration and heat shock treatments on the germination of tomato, pepper and cucumber. Seed. Sci. Technol., 2001, vol. 29, p. 691.
- Welbaum, G. E. /et al./. The evolution and effects of priming vegetable seeds. Seed Technology, 1998, vol. 20 p. 209-235.

- McDonald, M. B. Seed deterioration: physiology, repair, and assessment. Seed. Sci. Technol., 1999, vol. 27, p. 177.
- McDonald, M. B. Seed priming. En: Seed technology and its biological basis, Sheffied: Academic Press, 2000, p. 286-325.
- Özbingol, I. N., Corbineau, F. y Côme, D. Responses of tomato seeds to osmoconditioning as related to temperature and oxygen. Seed Science Research, 1998, vol. 8, p. 377.
- International Seed Testing Association.. International rules for seed testing. Seed Sci. Technol., 1999, vol. 27, p. 351.
- 14. Orta, R. /et al./. Modelo de hidratación parcial en agua para tratamientos revigorizadores, acondicionadores y robustecedores de semillas. *Acta Botánica Cubana*, 1998, no.121, p. 8.
- Sánchez, J. A. Regenerative strategies of main forest pioneer species under adverse ecological conditions of the Sierra del Rosario, Cuba. Informe final del proyecto. MAB-UNESCO (SC/ECO/565/19.1). París, Francia. 2000. 94 p.
- Bradford, K. J. Water relations in seed germination. En: Seed development and germination. New York: Marcel Dekker, 1995, p. 209-235.
- 17. Vázquez-Yanes, C. y Orozco-Segovia, A. Signals for seeds to sense and respond to gaps. En: Exploitation of environmental heterogeneity by plants. London: Academic Press, 1994. 235 p.
- 18. Bewley, J. D. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 1997, vol. 9, p. 1055.
- 19. Taylor, A. /et al./. Seed enhancements. Seed Science Research, 1998, vol. 8, p. 245.
- 20. Bonner, F. T. Testing tree seeds for vigor: a review. *Seed Technology*, 1998, vol. 20, p. 5.
- 21. Cerda, A. /et al./. Effect of potassium on growth, water relations and the inorganic and organic solute contents for two maize cultivars grown under saline conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 1995, vol. 18, p. 839.

Recibido: 2 de enero del 2002 Aceptado: 2 de mayo del 2002