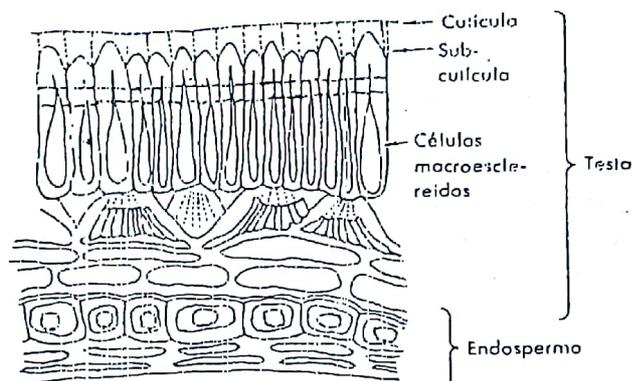


# CÁTEDRA DE FISIOLÓGÍA VEGETAL

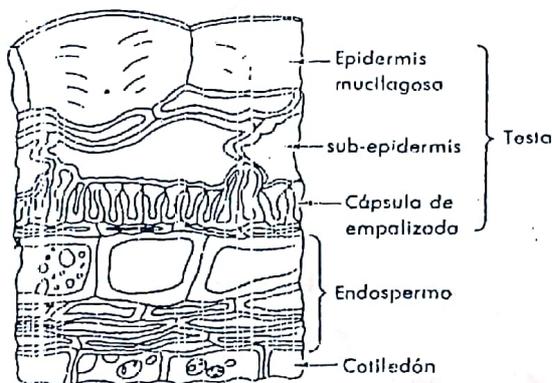
## CURSO DE FISIOLÓGÍA VEGETAL 2011

### FISIOLÓGÍA de la GERMINACIÓN

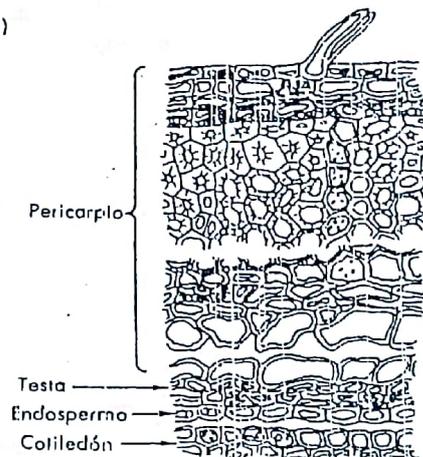
Dra. Marta Ronco<sup>(1)</sup>, Ing. Agr. José Beltrano<sup>(3)</sup>, Ing. Agr. Daniel O. Giménez<sup>(2)</sup>



A. Trébol blanco (Leguminosae)



B. Mostaza Blanca (Cruciferae)



C. Girasol (Compositae)

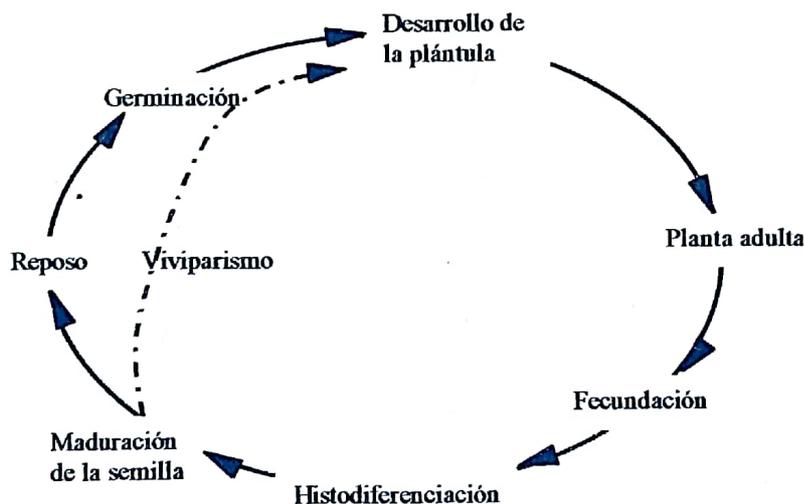
Tres tipos de cubiertas de las semillas que influyen en las condiciones de letargo de las mismas. (A) Trébol blanco (*Melilotus alba*) LEGUMINOSAE: La capa exterior de células se vuelve dura e impermeable debido a las células macroscle-reidas orientadas verticalmente que han sido cubiertas por una capa de cutícula. (B) Mostaza blanca (*Brassica hirta*) CRUCIFERAe: Las cubiertas exteriores de la semilla desarrollan una capa mucilaginosa al remojarlas en agua. (C) Girasol (*Helianthus annuus*) COMPOSITAE: El pericarpio se endurece en una capa fibrosa que coalesce con la cubierta de la semilla. La capa endospermicá es delgada y más o menos membranosa, y en algunas especies y cultivares puede funcionar en el control del letargo. Cortesía de Bewley y Black. (3)

(1) Jefa de Trabajos Prácticos; (2) Profesor Adjunto; (3) Profesor Titular de la Cátedra de Fisiología Vegetal

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

La aparición de las semillas en el ciclo vital de las plantas superiores constituye un proceso de adaptación único, ya que es la única forma de propagación natural "a distancia" que presentan las plantas superiores, es decir que es su "**unidad de dispersión**". Además, mediante las semillas la planta se asegura la supervivencia de la generación siguiente frente a situaciones ambientales adversas.

El ciclo ontogénico de una planta comienza luego de la *fecundación*, con la formación de la cigota, a partir de la cual, por división y diferenciación celular se forma el embrión, el que ya posee los primordios de una plántula: cotiledones, hipocótilo y radícula. Este primer estado se denomina *histodiferenciación*. Luego continúa la fase de *maduración*, donde el embrión crece rápidamente por deposición de materiales de reserva en los cotiledones, endosperma o perisperma, según la especie. Esta fase termina con la *desección*, en la cual la semilla pierde cerca del 85-90% del contenido de agua. La semilla se encuentra, entonces en un estado de *reposo*, el cual puede ser más o menos prolongado, según las especies, para luego continuar con la *germinación* y posteriormente el *desarrollo de la plántula*. En algunas semillas el período de reposo no existe y el embrión se desarrolla directamente en la planta madre, este fenómeno se llama *viviparismo*, demostrando que el reposo no es un proceso estrictamente programado, sino que está afectado por factores externos e internos, entre los cuales se puede nombrar una disminución en la concentración de ácido abscísico en la planta madre.



## ORIGEN Y DESARROLLO DE LA SEMILLA.

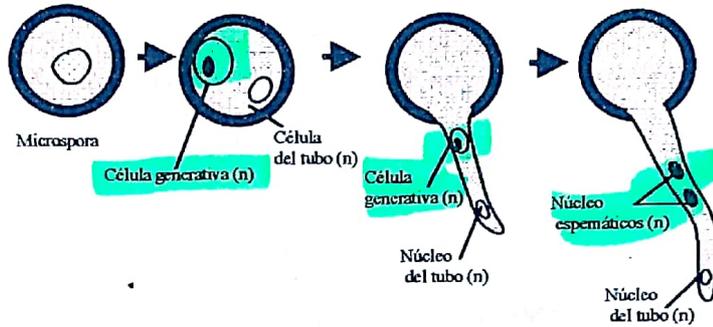
La semilla está constituida por tres partes: a) El **embrión**, a partir del cual se origina la plántula; b) Los tejidos de reserva (**endosperma** o, en algunos casos como en la yuca y el café, **perisperma**), que nutren al embrión durante su crecimiento inicial, hasta que la plántula al diferenciar hojas y un sistema radical, se independiza nutricionalmente; c) La cubierta o tegumento (**testa**), que no solo encierra y protege a los tejidos anteriores, sino que cumple también otras funciones fisiológicas.

### Gametogénesis.

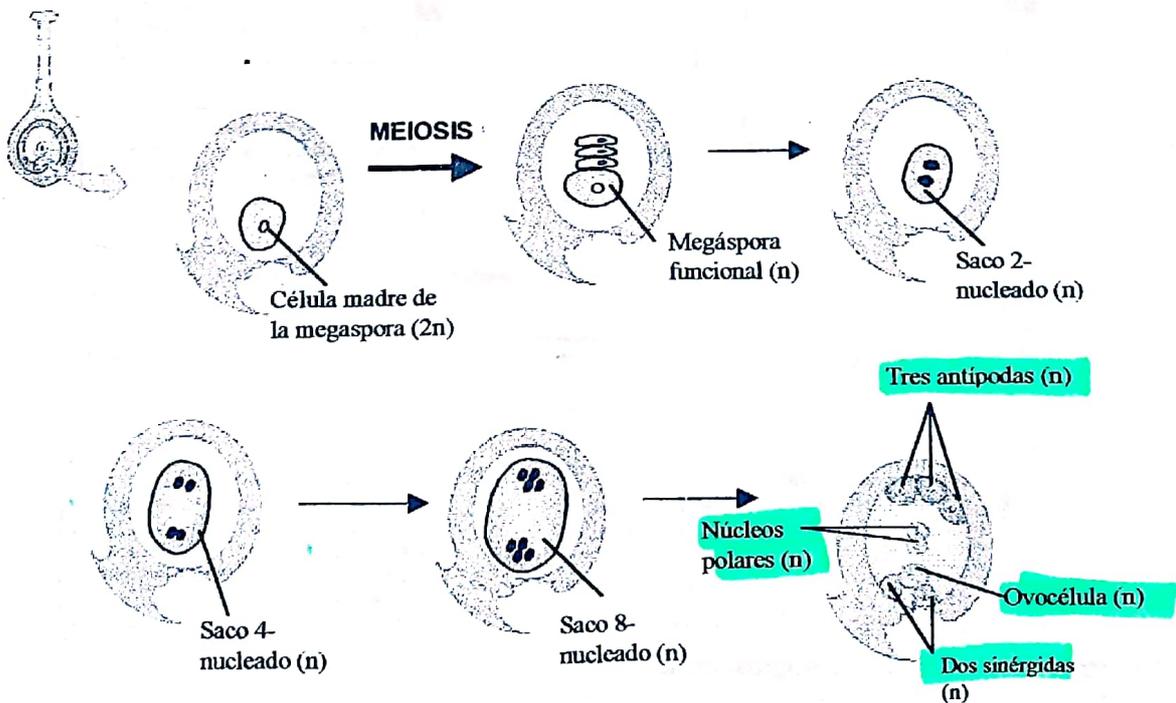
Germinación del grano de polen: El grano de polen está formado por dos células haploides, *célula del tubo o vegetativa*, cuyo núcleo gobernará el crecimiento del tubo polínico, y un a menor, *célula generativa*. Cuando se inicia la germinación del grano de polen, la célula vegetativa se alarga y la célula

generativa se divide mitóticamente o para producir dos *células espermáticas*, que serán las que actuarán como *gametos*. (Fig. 1).

**Figura 1.** Germinación del grano de polen.



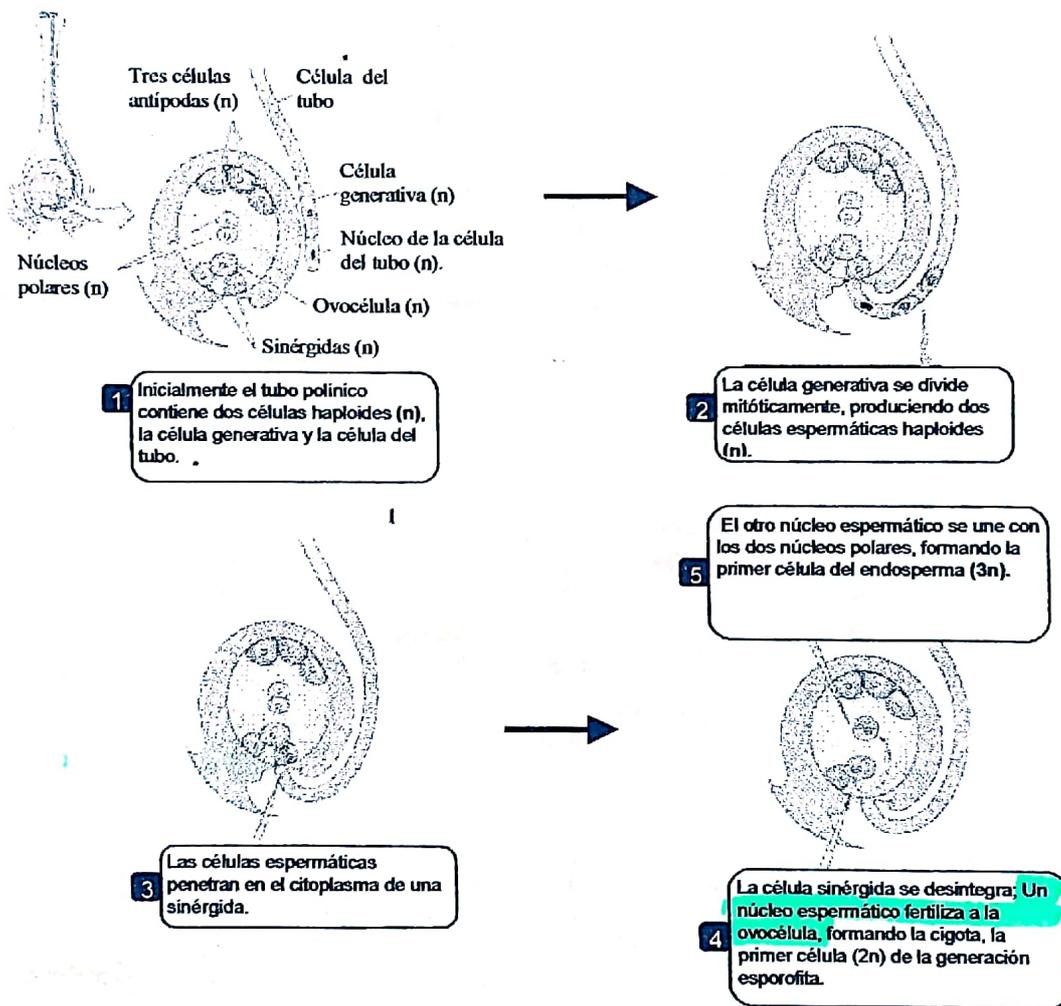
**Formación del saco embrionario:** Se origina a partir de la célula madre de la megaspora (megasporocito) diploide ( $2n$ ), la que forma, por meiosis, cuatro megasporas haploides ( $n$ ). Tres de ellas degeneran, la que sobrevive aumenta de tamaño y se divide en sucesivas divisiones mitóticas hasta dar 8 núcleos. Finalmente el saco embrionario queda constituido por: *una ovocélula, dos sinérgicas, tres antípodas y dos núcleos polares*. Fig. 2.



**Figura 2.** Desarrollo del saco embrionario.

**Fecundación.**

Se puede decir que la fecundación comienza con la llegada del grano de polen al estigma de la flor. Allí el polen inicia su germinación, apareciendo el tubo polínico. Una vez que la punta del tubo llega al micrópilo del saco embrionario, el tubo crece hacia el interior del saco embrionario a través de una de las sinérgidas que flanquean la ovocélula, descargando allí su contenido [2-3]. Un gameto masculino ( $n$ ) se fusiona con la ovocélula ( $n$ ) produciendo el cigoto ( $2n$ , diploide) [4] que desarrollará la próxima generación esporofítica, formando un embrión. El segundo gameto masculino ( $n$ ) se fusiona con los dos núcleos polares ( $n$ ) localizados en la célula del centro del saco [5], produciendo en tejido nutritivo triploide ( $3n$ ), el endosperma, de reserva para el crecimiento y desarrollo del embrión. Fig. 3.



**Figura 3.** Fecundación en Angiospermas.

A diferencia de las Angiospermas, en donde aparece la doble fecundación, resultando un cigoto y el endosperma como sustancia de reserva, la cual sólo se forma si existe fecundación, con el consiguiente ahorro de energía, en las Gimnospermas la fecundación es simple: da como resultado un cigoto y las sustancias de reserva de la semilla derivan del gametofito femenino

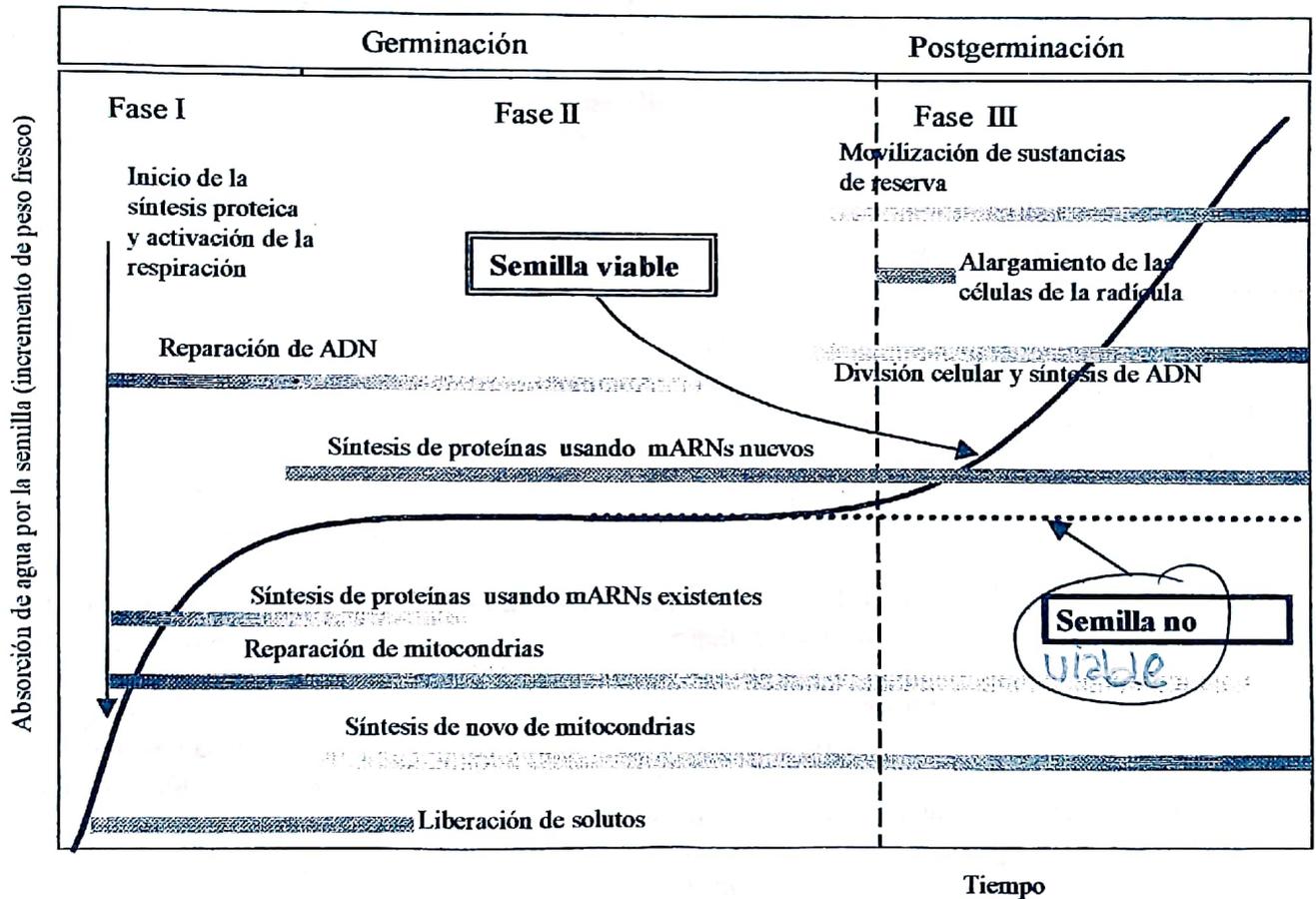
## PROCESO DE GERMINACIÓN.

El **proceso de germinación** se puede definir como el regreso a la vida activa de un embrión que se hallaba en estado de reposo, es decir, que ha detenido su crecimiento y su capacidad de síntesis, pero que mantiene su potencial de crecimiento y desarrollo para poder convertirse en un individuo adulto.

La semilla contiene las sustancias de reserva suficientes como para sostener el crecimiento del embrión, hasta que se convierta en una planta autótrofa.

El proceso de la germinación se **inicia con la absorción de agua por la semilla (imbibición) y finaliza con la emergencia de la radícula a través de los tegumentos.**

Desde el punto de vista del aumento del peso fresco de las semillas, se puede dividir en tres fases:



**Gráfico 1.** Algunos eventos importantes asociados con la germinación y el crecimiento de posgerminación. Durante la fase I, la semilla absorbe agua (imbibición). La absorción llega a un plateau (fase II). Durante la cual comienza la actividad metabólica y se produce la reparación completa de los componentes celulares dañados en el proceso de deshidratación-rehidratación. Después de la aparición de la radícula, el peso fresco de la semilla aumenta (fase III) y comienza el crecimiento de la plántula, produciéndose la movilización de las sustancias de reserva.

**Fase I: Imbibición.** Este primer paso se produce porque el potencial agua de la semilla es muy negativo (hasta -100 MPa), generado por las fuerzas mátricas de las paredes celulares y los constituyentes celulares de la semilla, los que se encuentran principalmente en el endosperma, en el embrión o los cotiledones: **proteínas, pectinas, mucilagos** y, en menor grado, **celulosa**. Al final de esta fase el potencial agua de la semilla asciende a valores cercanos a -1,0 MPa.

La velocidad con que la semilla absorbe agua dependerá del flujo de agua entre el suelo y la semilla, es decir, de la diferencia entre el potencial agua del suelo y el de la semilla.

*La imbibición, al ser un proceso fisico ocurre tanto en semillas viables como no viables.*

En condiciones naturales, además de tener en cuenta el contenido de agua en la semilla (el potencial agua de la semilla), hay que considerar la interacción entre la semilla y el sustrato (suelo).

El grado de contacto entre la semilla y el suelo se denomina **impedancia** (es decir, la conductividad hidráulica entre la semilla y el suelo). Este depende del volumen y forma de la semilla, del tamaño de los microagregados y macroagregados del suelo y de la composición relativa de sus componentes (arena, limo, arcilla, humus).

Por lo tanto el flujo de agua desde el suelo a la semilla está dado por:

$$F = \frac{\Psi_{sem} - \Psi_{suelo}}{i_s + I + i_t}$$

Donde:

**F** = flujo de agua desde el suelo a la semilla

$\Psi_{sem}$  = potencial agua de la semilla

$\Psi_{suelo}$  = potencial agua del suelo

$i_s$  = impedancia interna de la matriz del suelo *conductancia.*

**I** = impedancia externa (grado de contacto de la semilla con el suelo) *conductancia del agua.*

$i_t$  = impedancia interna de la semilla (incluye los tegumentos y los espacios aéreos)

Al inicio de la imbibición la diferencia de potencial entre el suelo y la semilla es enorme, luego va disminuyendo. El éxito de la germinación dependerá de la velocidad del movimiento del agua desde el suelo hacia la semilla. Cuando una semilla está en el suelo, su velocidad de imbibición y su subsiguiente germinación estará determinada por la impedancia de la matriz del suelo y el grado de contacto de la semilla con el suelo, la que dependerá en gran medida de la granulometría del suelo.

En la tabla se muestra la velocidad de germinación de semillas de arveja en relación a tamaño de las partículas del suelo y de papel de filtro en contacto con las semillas.

Superficie de contacto (mm <sup>2</sup> )	Días de germinación	
	Comienzo	Finalización
0.8	9	21
3	8	14
9	5	10
28	5	9
Papel de filtro	2	3

**Fase II: Síntesis y activación de los sistemas enzimáticos.** En esta etapa el peso fresco es constante, no hay absorción de agua y en las semillas viables ocurren los principales eventos metabólicos

en las semillas no durmientes. Se produce la reactivación de enzimas inactivadas por la extrema desecación y la síntesis de nuevas enzimas. Las enzimas hidrolíticas degradan las reservas de las semillas (almidón, inulina) hasta glucosa, fructosa, etc. y las ponen a disposición del embrión, como así también, la energía generada por los procesos de respiración y fermentación. En los cereales, el control de estas enzimas es ejercido por el embrión, el cual sintetiza ácido giberélico, que difunde hasta la capa de aleurona desreprimiendo los genes para la síntesis de las enzimas. En esta etapa también se degradan otras sustancias de reservas como ser las proteínas y los lípidos, estos últimos son las principales sustancias de reserva de muchas leguminosas, los que son degradados a glicerol y ácidos grasos.

El potencial mátrico es alto (cerca de cero). El potencial agua de la semilla se encuentra entre -1,0 y - 0,5 MPa. Al final de esta fase el embrión dispone de suficientes nutrientes como para crecer normalmente y emerge la radícula.

*En las semillas no viables el peso fresco también se mantiene constante aunque no ocurre ningún evento metabólico.*

**Fase III: Germinación visible.** Solo ocurre en las semillas viables. Se produce un nuevo incremento en la absorción de agua el que está asociado con el crecimiento del embrión. Este incremento se lo atribuye a la acumulación de solutos osmóticamente activos, al aumento de la extensibilidad de las paredes celulares, etc los que inducen al crecimiento celular. La radícula rompe las cubiertas y pasa de un metabolismo preferentemente anaeróbico a uno aeróbico. En esta fase se produce también división y alargamiento celular. El potencial agua de la semilla puede llegar a -0,1 MPa.

La emergencia de la radícula indica la finalización de la germinación y el comienzo del crecimiento de la plántula.

*En las semillas no viables no hay incremento en el peso fresco, es decir es igual al de la fase II.*

La duración de cada fase dependerá de las características de la semilla (tamaño, contenido de sustratos hidratables, permeabilidad de las coberturas, etc.) y de las condiciones externas (temperatura, disponibilidad de O<sub>2</sub>, contenido de humedad del sustrato, etc.).

Desde el punto de vista metabólico, los procesos más importantes que se producen durante la germinación son: el incremento de la respiración, la actividad enzimática y la síntesis de nuevos compuestos.

Se han encontrado muy bajos niveles de respiración en semillas en reposo, actuando los tegumentos como barreras principales para la entrada de O<sub>2</sub>. La absorción de agua en las semillas produce un rápido intercambio gaseoso. Los primeros eventos metabólicos ocurren durante la imbibición de agua por las semillas. El patrón de consumo de O<sub>2</sub> por semillas viables embebidas se puede ver en el Gráfico 2. Básicamente la absorción de O<sub>2</sub> se puede dividir en cuatro fases.

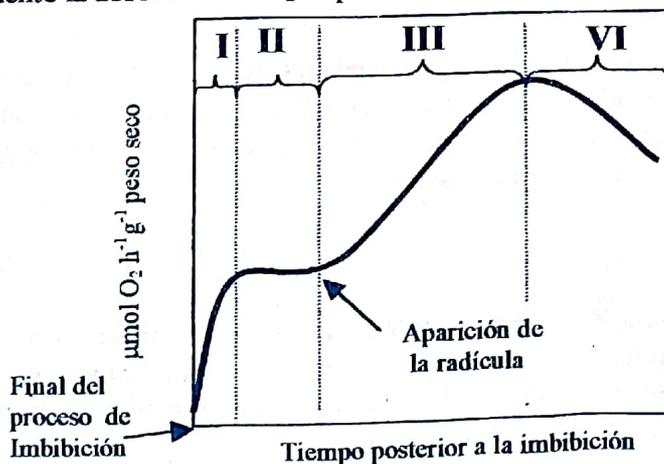


Gráfico 2. curva de consumo de O<sub>2</sub> por semillas viables embebidas en agua en función del tiempo.

**Etapa I:** Comienza la **reparación de mitocondrias** que estaban deshidratadas, se inicia la síntesis proteica y se produce un aumento rápido incremento de la respiración, atribuida en gran parte, a la activación e hidratación de las enzimas mitocondriales asociadas al ciclo de Krebs y a la cadena transportadora de electrones. El principal sustrato es probablemente la sacarosa (glucosa y fructuosa). El cociente respiratorio (CR) es cercano a 1.

**Etapa II:** Finaliza la reparación de todos los componentes dañados durante el proceso de desecación. Se produce una leve disminución de la respiración. **Se completa la hidratación de los tejidos** y, se activan todos los sistemas enzimáticos pre-existentes. El CR es cercano a 3, lo que indica que hay **también respiración anaeróbica**. Esto se puede atribuir principalmente a las coberturas que aún están intactas. **Al final de esta fase emerge la radícula.**

**Etapa III:** **Está caracterizada por un nuevo aumento en la respiración**, atribuida a un incremento en la entrada de  $O_2$  por los tegumentos rotos, a una **síntesis de-novo de mitocondrias y enzimas respiratorias**, principalmente en las células del eje de crecimiento del embrión. El CR desciende a 1. **En esta etapa se produce la degradación de todas las sustancias de reserva de las semillas** (la cual había comenzado en la etapa anterior), **utilizándolas el embrión para su crecimiento**. Los hidratos de carbono (almidón, inulina) son degradados hasta glucosa y fructuosa. La degradación de las proteínas de reserva hasta aminoácidos se produce a través de enzimas proteolíticas, que en las dicotiledóneas, se encuentran en el endosperma o los cotiledones. En las monocotiledóneas, la proteólisis también se inicia en la capa de aleuronas. Estos aminoácidos serán luego utilizados en la síntesis de nuevas proteínas. La degradación de las sustancias lipídicas de reserva producen ácidos grasos y glicerol, a partir de los triglicéridos.

**IV Etapa VI:** **Se produce una marcada disminución de la respiración, que coincide con la disminución de las reservas hasta que la plántula no emerja a la luz y comience el proceso fotosintético.**

La longitud de las fases varía con las especies y las condiciones del medio (temperatura, disponibilidad de agua y concentración de oxígeno externa). Por ejemplo en *Pisum sativum*, la fase III comienza 30 h después de la imbibición, mientras que en *Pisum mungo*, comienza solo 6 h después. En el otro extremo se encuentra *Pinus densiflora*, donde solo la fase I tarda dos días en finalizar. En las semillas comerciales de trigo, antes de 24 h ya se observa la emergencia de la radícula, cuando se hacen germinar a 20-25°C.

## **FACTORES QUE AFECTAN LA GERMINACIÓN.**

### **REPOSO.**

La diversidad de las plantas se refleja en las distintas posibilidades de desarrollo y de la germinación de las semillas de diferentes especies. Por un lado, existen plantas que diseminan sus semillas cuando ya han germinado en el fruto y, por otro lado, algunas semillas están provistas de una dura testa impermeable que sólo permite la germinación después de muchos meses de desgaste.

### 1. DORMICION O LATENCIA:

El reposo de las semillas se denomina **dormición o latencia** cuando la semilla no germina a pesar de encontrarse en un lugar óptimo en cuanto a las condiciones ambientales. Las causas por las que no germinan pueden deberse a la existencia de un periodo cronológicamente regulado de interrupción del crecimiento y de disminución del metabolismo durante el ciclo vital.

Esta es una estrategia adaptativa de supervivencia frente a condiciones ambientales desfavorables. En las plantas superiores puede existir dormición o interrupción del crecimiento en el tejido meristemático, por ejemplo en las yemas de crecimiento de las ramas, así como en las semillas. El establecimiento de la dormición está regulado por factores hereditarios que determinan los mecanismos fisiológicos endógenos de las plantas, los cuales interactúan con factores del ambiente en el que las plantas crecen; esto da lugar, a la larga, a cambios evolutivos en las plantas. Las variaciones micro y macroclimáticas, así como las condiciones hormonales y nutricionales de la planta madre tienen gran influencia en el establecimiento de la dormición de sus semillas durante su desarrollo, por lo cual pueden existir variaciones entre cosechas de semillas de una especie, según la época y el lugar de producción.

La dormición de las semillas se puede deber a diversos factores, entre ellos:

**1. Dormición impuesta por los tegumentos:** La dormición es impuesta por las coberturas seminales (testa, pericarpio, perisperma, endosperma, glumas) interfiriendo en el proceso de germinación por varios mecanismos:

a.- *Impedir la absorción de agua* (en el caso de semillas de las familias de Leguminosas, Cannaceas, Convolvulaceas, Liliaceas, Solanaceas, Malvaceas), por poseer coberturas impermeables por la presencia de ceras, suberina, sustancias grasas, mucilagos, etc., las que se pueden eliminar por saponificación con álcalis. Es probable también, que muchas de las semillas resistentes al calor presenten tegumentos impermeables al agua, ya que las semillas contienen enzimas, nucleoproteínas y otras sustancias que se desnaturalizan con facilidad con el calor; estos compuestos son menos lábiles cuando están deshidratados, por lo que una testa impermeable impide que la semilla se embeba y por lo tanto queda protegida durante los incendios.

b.- *Impedir el intercambio gaseoso*, restringiendo la entrada de  $O_2$  o la salida del  $CO_2$  (*Cucurbita pepo*, *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Pyrus malus*).

c.- *Resistencia mecánica* a la germinación, al oponerse a la emergencia de la radícula o la plúmula, debido a su dureza (achira, olivo, durazno, ciruelo, cereza, etc.). Tanto el mecanismo anterior como en este las coberturas se pueden eliminar por medios mecánicos, mediante la **escarificación**.

En condiciones naturales, la dormición impuesta por las cubiertas seminales puede revertirse por varios agentes ambientales, tales como la abrasión mecánica, la alternancia de hielo y deshielo, la degradación por microorganismos del suelo, el paso por el tracto digestivo de aves o mamíferos o por el fuego.

En el suelo la cubierta de la semilla gradualmente se vuelve permeable por intemperismo, degradación microbiana o por el efecto de fluctuaciones de temperatura, y va germinando poco a poco. Este mecanismo es frecuente en los bosques tropicales secos, sabanas y pastizales secos, y puede haberse originado como un mecanismo de persistencia de las semillas en el suelo a lo largo de la estación desfavorable de crecimiento.

Las altas temperaturas también pueden romper los tegumentos. Esto ocurre frecuentemente durante los incendios o las quemadas en los terrenos de cultivo, sobre todo en los trópicos. Los tegumentos también pueden cambiar su estructura después de ser expuestos a la insolación directa por periodos prolongados.

**2. Dormición impuesta por inhibidores de naturaleza química variada** (mostaza, alelí, café peral, paraíso, acelga, plantas de desierto). Estas sustancias pueden inhibir el crecimiento del embrión por presión osmótica, acidez o actividad inhibitoria hormonal. Su producción está regulada por las condiciones del medio. En la semilla puede estar presente tanto en el fruto como en los tegumentos. Son en su mayoría hidrosolubles y de diversa naturaleza química. Representan formas de adaptación cuya función en la naturaleza es la de evitar que la semilla germine y se desarrolle una nueva plántula en condiciones adversas, lo que determinaría su muerte. En las plantas de desierto (efimerófitas) este fenómeno es muy marcado. Son compuestos como tales el ácido cianhídrico (producido por la hidrólisis de glucósidos cianogenéticos), amoníaco (liberado enzimáticamente en algunos frutos), lactonas no saturadas (anemoninas), cumarina (en

leguminosas), aldehidos, alcaloides, fitatos (en umbelíferas), ácidos orgánicos como el acético, málico, cítrico, ferúlico (en tomate). Entre las sustancias de naturaleza hormonal, el ácido abscísico y el ácido jasmónico son poderosos inhibidores de la germinación, además de serlo del crecimiento, como por ejemplo la brotación de yemas.

Estos inhibidores se pueden eliminar por medios físicos: teniendo en cuenta su hidrosolubilidad, por un lavado con agua corriente de hasta 48 h. El frío favorece también la degradación de muchos inhibidores. Una estratificación en arena húmeda a bajas temperaturas (0 a 7 °C), es muy efectiva y práctica para favorecer la ruptura de la dormición en semillas de muchas especies. El lavado y el frío se cumplen en la naturaleza para un gran número de especies, sin los cuales sus semillas no podrían germinar en época favorable. También se puede romper por medios químicos: existen sustancias que en adecuada concentración son capaces de interrumpir la dormición de algunas especies, por ejemplo: tiourea, glutatión, cistina, nitrato de potasio y reguladores como el ácido giberélico, etileno y citocininas.

**3. Dormición impuesta por el embrión:** Los mecanismos de control de la dormición por el embrión pueden involucrar:

a. *Cotiledones o a la presencia de inhibidores en el mismo embrión.* En muchos casos los cotiledones son los responsables de la inhibición del crecimiento del eje embrionario, ya una vez que son removidos se produce la germinación del embrión (manzana, pera). En otros casos la presencia de inhibidores (principalmente ácido abscísico), fundamentalmente en los cotiledones, produce la dormición del embrión (avellana, *Fagus*, *Fraxinus*, Rosa).

b. *Embriones morfológicamente inmaduros.* Al momento de liberarse la semilla de la planta madre el embrión aun no ha completado su madurez, y por ende, requieren de un período posterior para finalizar su maduración y poder germinar. A veces la fertilización ocurre normalmente pero el embrión no puede alcanzar la madurez debido a una ruptura del equilibrio entre el mismo y el endosperma o por anomalías en el desarrollo embrionario que impiden una nutrición normal. En general éstos embriones son pequeños, pobremente diferenciados, y deben incrementar 3 a 4 veces su longitud, previo a su germinación (orquídeas, ginkgo, algunos cultivares de duraznero).

## 2. QUIESCENCIA:

Una vez que la semilla ha completado su desarrollo se inician los cambios que podrán dar lugar al establecimiento de un período más o menos prolongado de reposo o latencia. Este reposo o reducción del metabolismo se denomina **quiescencia** cuando uno o más factores ambientales (humedad, temperatura, concentraciones adecuadas de CO<sub>2</sub> o de O<sub>2</sub> y/o irradiancia) no son los adecuados y a pesar de que la semilla sea viable, esta no germina.

Cuando las semillas llegan al suelo, el agua es el recurso más importante para reiniciar los procesos fisiológicos que conducen a la germinación, activar el metabolismo y el crecimiento celular de los distintos tejidos que componen las semillas. La cantidad de agua que absorbe una semilla y la velocidad a la que lo hace no sólo dependen de las características de la semilla, como la permeabilidad de sus cubiertas, la composición química de sus reservas, su tamaño y su contenido de humedad, sino que también están determinadas por condiciones ambientales como la humedad del suelo, la humedad del aire y la temperatura. Muchos árboles, por ejemplo, de los bosques tropicales producen semillas con alto contenido de humedad, cuya germinación se ve favorecida en los ambientes húmedos y sombreados del sotobosque. Es frecuente que estas semillas no puedan germinar bien en suelos desnudos que reciben insolación directa, pues la pérdida de agua de la superficie de la semilla a la atmósfera supera la cantidad absorbida en la interfase semilla-suelo, por lo que raramente alcanzan altas tasas de germinación en estos ambientes. Estas semillas tienden a germinar casi de inmediato cuando llegan al

suelo, en pocos días la radícula emerge de las cubiertas de la semilla y en pocas semanas ocurre la total germinación de las semillas viables. Estas semillas no se caracterizan por un reposo o latencia profunda, ya que el único factor que determina la germinación es la disponibilidad de agua. Por otra parte, algunas semillas pueden tolerar cierto grado de sequía cuando se encuentran en el suelo, perdiendo humedad y entrando en un estado de reposo hasta que se incrementa la humedad del suelo, al inicio en general de la estación lluviosa. Las semillas del cedro y la caoba de América tropical son dos ejemplos de semillas que son dispersadas por el viento en la estación seca, tienen bajo contenido de humedad y permanecen en reposo en el suelo hasta que las primeras lluvias permiten su germinación. La aparición de numerosas plántulas de árboles en el suelo de los bosques tropicales al principio de la estación lluviosa se explica por la presencia de muchas semillas en reposo que se diseminaron durante la estación seca. La germinación de estas semillas con frecuencia tiene lugar en la superficie del suelo, por lo que el equilibrio entre la ganancia de humedad del suelo y su pérdida por evapotranspiración determina el momento en que la semilla se satura de humedad y comienza a germinar. Algunas veces este equilibrio mejora cuando las semillas están parcialmente enterradas en la hojarasca.

Es decir que el proceso de germinación también depende de factores externos tales como: agua, temperatura, gases ( $O_2$ ,  $CO_2$ , etileno), luz.

**1. Temperatura:** La temperatura es un factor externo importante ya que todos los procesos metabólicos que ocurren durante la germinación dependen directamente de esta. Es así que existe una temperatura mínima, una óptima y una máxima de germinación, dependiendo de cada especie. En algunas especies el rango de temperatura en la cual germinan es muy amplio, en *Gypsophila perfoliata* se extiende desde los  $2^\circ C$  hasta los  $40^\circ C$ ; mientras que en otras, por ejemplo *Allium porrum*, es entre  $7^\circ C$  y  $23^\circ C$ . En el interior de los bosques la temperatura en la superficie del suelo se mantiene relativamente constante durante el día y la noche, en tanto que en los lugares abiertos ésta puede fluctuar hasta más de  $10^\circ C$  cada día. Esta forma de control de la germinación es frecuente en regiones tropicales de baja altitud, cubierta por vegetación perennifolia densa, donde el suelo es prácticamente isotermal a lo largo del año; en tanto que las temperaturas de los suelos desnudos de vegetación presentan una fluctuación diaria muy marcada en la capa superficial durante los días despejados. Las distintas especies vegetales se pueden dividir en tres grandes grupos según el rango de temperatura a la que germinan:

**a. Tolerantes a bajas temperaturas:** son semillas de zonas templadas que germinan en un amplio rango que va desde los  $4,5^\circ C$  hasta los  $30^\circ C$ , estando su temperatura óptima entre los  $20-25^\circ C$ . Por ejemplo: brócoli, lechuga, zanahoria. También se ha observado que diversas especies vegetales poseen semillas capaces de tolerar altas temperaturas y aumentar su germinación bajo los efectos de éstas. Especies con estas características son frecuentes en las sabanas tropicales y los pastizales templados.

**b. Tolerantes a elevadas temperaturas:** son semillas de zonas tropicales o subtropicales, su rango varía entre los  $10^\circ C$  y los  $40-45^\circ C$ . Ejemplos: espárragos, tomate, berenjenas.

**c. Temperaturas alternadas:** En general, la necesidad de temperaturas alternadas es común en especies no cultivadas, aunque en la alternancia de temperatura día/noche aumenta el porcentaje de germinación en la mayoría de las especies que germinan a temperatura constante. La fluctuación de temperatura deberá ser de por lo menos de  $10^\circ C$ .

Muchas semillas necesitan un período de estratificación en frío ( $5^\circ C$ ) para poder germinar, por ejemplo especies vegetales de los bosque templado-húmedo del sur de Argentina y Chile: *Gevuina avellana*, *Drymis winteri*, *Austrocedrus chilensis*.

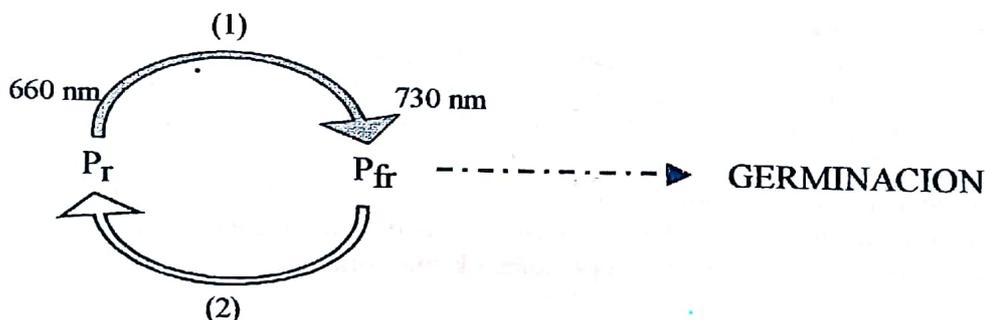
**2. Agua:** La semilla germina cuando el contenido agua varía entre un 40-60% de su peso fresco. Las semillas secas tienen una gran capacidad de absorber agua debido a su naturaleza coloidal, variando con las características de las semillas y la permeabilidad de las cubiertas, pero la absorción dependerá en

definitiva de la disponibilidad de agua en el suelo. La mayoría de las especies germinan desde en suelos con alto contenido de humedad (a capacidad de campo) hasta en suelos casi secos (punto de marchitez permanente), dependiendo del potencial agua inicial de las semillas. Hay especies que necesitan un alto contenido de humedad para poder germinar (remolacha, lechuga), en cambio, en otras (poroto, espinaca) el porcentaje de germinación aumenta cuando el contenido de humedad del medio es relativamente bajo.

**3. Luz:** La luz actúa de distintas formas sobre la germinación. La luz blanca puede inhibir la germinación de numerosas especies, entre ellas, cebolla, Amaranthus, lechuga. La sensibilidad a la luz puede variar desde unas pocas horas hasta varias horas de exposición. En general, se dice que estas semillas poseen fotoblastismo negativo. Por otro lado, en cambio, la exposición de unos pocos minutos u horas o sometidas a radiaciones intermitentes o en ciertos rangos del espectro lumínico, estimulan la germinación, estas semillas se denominan: **Semillas fotoblásticas**. Los fitocromos están involucrados en la fotorespuesta de estas semillas.

Los fitocromos (cromoproteínas) son pigmentos de color azulado que están presentes, en pequeñísimas cantidades, en todas las células de los tejidos vegetales. Tienen la propiedad de percibir estímulos de la luz de baja energía y determinada longitud de onda, y activar genes nucleares. Después de haber percibido el estímulo de luz, la semilla puede germinar en la oscuridad.

El fitocromo presenta dos formas interfotocromos: **fitocromo  $P_r$** , con una absorción máxima en el rojo a los 660 nm de longitud de onda y **fitocromo  $P_{fr}$** , con una absorción máxima en el rojo lejano cercana a los 730 nm. La dinámica de la interconversión se puede esquematizar como sigue:



Las semillas fotoblásticas poseen escasas sustancias de reserva y deben estar cerca de la superficie del suelo para poder germinar. En estas condiciones, la luz incide naturalmente sobre ellas a través de poros o grietas del suelo y en la semilla, al percibir la luz blanca, se producen ambas conversiones (1) y (2) en la molécula del fitocromo. Dado que la velocidad de la reacción en el sentido (1) es más veloz que en el sentido (2), el equilibrio de la reacción se desplaza hacia la derecha, existiendo en un mismo momento más cantidad de la especie activa  $P_{fr}$  que  $P_r$ , lo que inicia los pasos metabólicos sucesivos que desencadenan el proceso de germinación. Si por algún motivo estas semillas quedan enterradas más profundamente, en sitios donde la luz no llega, esta conversión no ocurre y, por lo tanto, no se produce la germinación. Si esta remoción del suelo (erosión eólica, hídrica, pastoreo, laboreo mecánico, etc.) estas semillas alcanzan la cercanía de la superficie, la luz incidirá sobre ellas y germinarán.

El fotoblastismo implica una adaptación de semillas pequeñas y con reservas escasas. Este mecanismo le asegura a la semilla germinar y que las plántulas se conviertan lo más rápidamente posible en individuos fotótrofos. En las semillas pequeñas la conversión del fitocromo normalmente se realiza a muy bajas intensidades de luz; sin embargo, la temperatura y el fotoperíodo tienen influencia directa en el

resultado final del proceso, expresado en porcentaje y velocidad de germinación. Son ejemplos de semillas fotoblásticas: algunos cultivares de lechuga, chamico, etc.

### **VIABILIDAD.**

Es la capacidad de una semilla para poder germinar. Las semillas pueden mantener su viabilidad por períodos muy variables, dependiendo de la especie y de las condiciones de almacenamiento. La duración de la viabilidad está determinada genéticamente y por los factores ambientales. En general es mayor la viabilidad en condiciones en las cuales la capacidad metabólica esté reducida al mínimo, es decir, bajas temperaturas, bajo contenido de humedad relativa, baja presión de O<sub>2</sub> y altas concentraciones de CO<sub>2</sub>. Por ejemplo: *Acer sacharium*, *Salix japonica* pierden su viabilidad en una semana, mientras que otras, como *Hevea sp.*, *Thea sp.* permanecen viables, luego de un año. Por otro lado, hay especies palustres necesitan condiciones de alta humedad (sumergidas) para mantener su viabilidad (*Juncus tenuis*, 7 años). Existen casos de semillas (*Canna compacta*, *Juglans australis*) con coberturas duras e impermeables, encontradas en restos arqueológicos que, con más de 500 años, mantuvieron su viabilidad.

### **LONGEVIDAD.**

Es el tiempo durante el cual la semilla en reposo, no pierde su poder germinativo y está en estrecha relación con la viabilidad. La longevidad de las semillas varía desde unas pocas semanas hasta muchos años, dependiendo de la especie y de las condiciones ambientales. Las semillas de la mayoría de las plantas cultivadas son relativamente de corta vida, bajo condiciones normales de almacenamiento, conservándose generalmente viables de 1 a 3 años, con algunas excepciones, por ejemplo: *Brassica napus* mantiene su longevidad por 10 años si se la conserva a temperatura ambiente en recipientes cerrados; *Picea glauca*, 15 años, a 4°C, *Lactuca sativa*, 20 años, a 4°C y 8% HR; *Medicago sativa*, 80 años, a temperatura ambiente en recipientes cerrados. En otro extremo, hay unos pocos registros auténticos de semillas que han sobrevivido más de 100 años. Investigadores del INFIVE han hallado semillas de achira en yacimientos arqueológicos de los Valles Calchaquíes que germinaron luego de más de 500 años. También, en términos generales, se puede encontrar mayor longevidad en semillas de malezas, en comparación con las de la mayoría de las plantas cultivadas.

### **ALMACENAMIENTO DE SEMILLAS.**

**Semillas ortodoxas.** Estas semillas pueden ser desecadas hasta contenidos de humedad muy bajos sin sufrir daños, al menos hasta un nivel de humedad constante que se mantenga en equilibrio con una humedad ambiental relativa de 10% (a este valor las semillas con almidón tienen un contenido de humedad cercano a 5%, en tanto que las semillas grasas tienen valores de 2 a 3%). Sus longevidades aumentan cuando disminuye el contenido de humedad y con la temperatura durante el almacenamiento, en una forma cuantificable y predecible. Se encuentran la mayoría de las especies cultivadas.

**Semillas recalcitrantes.** En contraste con las semillas ortodoxas, las recalcitrantes no pueden ser desecadas por debajo de un punto relativamente alto en el contenido de humedad sin causarles daño. A pesar de que existe gran variación en el contenido de humedad crítico entre las especies, bajo el cual la viabilidad se reduce, algunas especies comienzan a morir rápidamente aun en equilibrio con una humedad relativa ambiental de 98-99%, y la mayoría de las semillas muere cuando su contenido de humedad está en equilibrio con una humedad ambiental de 60-70% (que corresponde a un contenido de humedad de 16-30%

sobre el peso fresco). Todavía no existe un método satisfactorio para mantener la viabilidad de las semillas de estas especies, en particular las de origen tropical, por arriba de un periodo corto, menor a un año.

**Semillas intermedias.** Una tercera categoría de comportamiento de las semillas en almacenamiento ha sido demostrada recientemente con semillas de café, palma aceitera, papaya. La principal característica de este comportamiento es cierta sensibilidad a la desecación hasta un nivel de humedad relativamente bajo de 7 a 10% (en equilibrio con una humedad relativa ambiental de 30-50%). Sin embargo, la longevidad de las semillas secas de origen tropical se reduce en temperaturas bajas (por debajo de 5°C) y temperaturas bajo cero. Por esto, las condiciones ideales para el almacenamiento a largo plazo de semillas ortodoxas (5% de contenido de humedad, -18°C) son potencialmente dañinas para las semillas intermedias y no deben usarse ya que les provoca la muerte en pocos meses. A pesar de esto, es posible almacenar las semillas "intermedias" por periodos de alrededor de 10 años, desecándolas hasta un 7-10% de contenido de humedad, y manteniéndolas a la temperatura de un laboratorio.

### CALIDAD DE LAS SEMILLAS.

La calidad de un lote de semillas se puede valorar por el poder germinativo, el vigor, la pureza, la sanidad, entre otros. Una semilla de mala calidad originará pérdidas económicas, reducción en la cosecha potencial y desconfianza en el proveedor. Sembrar semillas que no nacen o que son de baja viabilidad es una pérdida de tiempo y dinero. Para ahorrar ambas cosas, se realizan pruebas de germinación de laboratorio.

El **poder de germinación o poder germinativo (PG)** indica el número de semillas germinadas en condiciones de laboratorio por un número dado de semillas. Se determina por el número de semillas germinadas y se mide en porcentaje:

$$PG = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Número de semillas totales}} \times 100$$

La **Energía germinativa o Coeficiente de velocidad de germinación (EG)**, es el tiempo que tarda en germinar el 50% de las semillas germinadas.

El **vigor** de la semilla está definido por la posibilidad que tiene de germinar durante un determinado período de tiempo, luego de haber sido recolectada, aunque esto es variable, porque cada especie se desarrolla de manera distinta.

La **pureza** de semilla es el número de semillas de la especie o variedad que se está analizando. Una semilla de pureza de 94% quiere decir que seis semillas son extrañas y las 94 restantes son puras.

El **valor real** es el número de semillas que son capaces de germinar teniendo en cuenta la pureza y el poder de germinación. También se mide en tanto por ciento.

Las características de semillas de alta calidad son la germinación rápida, el crecimiento vigoroso de las plántulas y un aspecto normal de ellas. Todo esto lleva a un pronto autotrofismo y a superar en la competencia inicial a las malezas. La baja germinación se puede deber a las propiedades genéticas de los cultivares, a daños durante la cosecha, a procesamientos y almacenamientos inadecuado de las semillas, a enfermedades y envejecimiento de las mismas. En general semillas poco vigorosas no pueden resistir condiciones adversas, tales como patógenos, suelos duros, etc.

### TRABAJO PRACTICO

Los **objetivos** del trabajo práctico son: 1) Evaluar los mecanismos que causan dormición en las semillas y su eliminación mediante distintos métodos; 2) Determinar la viabilidad de una muestra de semillas.

## MATERIALES Y METODOS

### 1. Dormición impuesta por inhibidores:

Las semillas y frutos de muchas especies vegetales poseen un poderoso inhibidor de naturaleza química compleja, termoestable. Algunos son frutos secos como las silicuas de *alelí* (*Mathiola incana*), mientras que otros son frutos carnosos, como por ejemplo: **paraíso** (*Melia azederach*) o *Crataegus*.

Para comprobar la presencia de inhibidores, primero se realizará un extracto con frutos de paraíso. El inhibidor se extraerá por macerado del fruto de paraíso previa extracción de la semilla, en un mortero con cantidad de agua necesaria como para formar una pasta cremosa, filtrándose luego. Se realizarán dos tratamientos con semillas de **tomate** (*Lycopersicon esculentum*) y de **paraíso** (*Melia azederach*), previa eliminación del tegumento duro del paraíso: 1) a un lote de semillas (10) se las pondrá a germinar, humedeciendo el papel de filtro de la caja de petri con 2ml del extracto inhibidor y 2) a otro lote de semillas (10) se las pondrá a germinar (testigo) en caja de petri, en la cual se humedecerá el papel de filtro con 2 ml de agua destilada. Se llevan las cajas a incubar en estufas de cultivo a 28 °C. Con los resultados obtenidos del recuento de las semillas germinadas, a distintos tiempos, se completará el cuadro 1.

### 2. Dormición impuestas por los tegumentos:

- Tegumentos impermeables:

Se emplearán semillas de **achira** (*Canna glauca*), las cuales se rasparán con papel de lija (escarificado mecánico) sin dañar el endosperma y el embrión, con el objeto de adelgazar su cubierta y permitir la imbibición. Luego se colocarán en cajas de petri con papel de filtro humedecido con 2 ml de agua destilada, 10 semillas raspadas y en otra caja 10 semillas sin raspar y se llevarán a incubar en una estufa de cultivo a 28 °C. Con los resultados obtenidos del recuento de semillas germinadas se completará el cuadro 1.

### 3. Efecto de la luz en la germinación: semillas fotoblásticas.

Diez semillas de **lechuga cv. Grand Rapid** se colocarán en cajas de petri con papel de filtro humedecido con 2 ml de agua destilada. Tratamientos: 1) expuestas a luz blanca durante su incubación y 2) sometidas a oscuridad permanente. Las cajas se llevarán a estufas de cultivo a 28 °C. Con los resultados obtenidos con el recuento de semillas germinadas se completará el cuadro 1.

### 4. Determinación de la viabilidad de las semillas:

Para determinar la viabilidad de las semillas se utilizará el método del cloruro de trifetil tetrazolium (TTC), el cual actúa sobre las deshidrogenasas, enzimas directamente involucradas en la germinación. La sal de trifetil tetrazolium es un indicador de óxido-reducción, el cual es incoloro en su forma oxidada y rojo en su forma reducida (formazano). El trifetil tetrazolium, en presencia de las deshidrogenasas de los tejidos vivos del embrión se transforma en trifetil formazano, de color rojo. La velocidad de la reacción se ve afectada por varios factores, como son el pH, temperatura, presión atmosférica y concentración del reactivo.

Se embeben semillas de trigo de la última cosecha y 10 años de edad en agua durante 4 a 6 h. Al cabo de este lapso, se toman 10 semillas al azar de cada edad y se las corta longitudinalmente, con un escalpelo u hoja de afeitar, cuidando de evitar aplastamiento o fractura de los tejidos y que se pueda observar el embrión. Una mitad se descarta y la otra se sumerge en una solución de Trifenil tetrazolium al 0,5 % y se colocan en estufa de incubación a 30 °C durante 30 a 60 min. Al cabo de este tiempo se observa la coloración del embrión y se interpretan los resultados.

**RESULTADOS:**

**CUADRO 1:**

TRATAMIENTO	% DE GERMINACION							TOTAL
	DIAS							
	2	4	6	8	10	12	14	
a) Paraíso con inhibidor								
b) Paraíso sin inhibidor								
c) Tomate con inhibidor								
d) Tomate sin inhibidor								
e) Achira escarificada								
f) Achira sin escarificar								
g) Lechuga - luz								
h) Lechuga - oscuridad.								

**VIABILIDAD:**

### Preguntas de germinación.

- 1) Esquematice el ciclo ontogénico de un vegetal superior.
- 2) Esquematice una semilla. Describa sus partes. Defina germinación e indique las distintas etapas. *Curva de crecimiento - pag 4.*
- 3) Describa la germinación de un grano de polen.
- 4) Describa la formación del saco embrionario.
- 5) Describa el proceso de fecundación en una angiosperma.
- ✓ 6) Cuales son los factores externos que actúan en la germinación y a que se llama quiescencia. *causas externas. T, humedad, luz, etileno, O<sub>2</sub>*
- ✓ 7) Que es el estado de dormición de una semilla y que factores lo determinan.
- 8) Describa el proceso de imbibición de una semilla viable y el de una no viable.
- 9) Que es una semilla fotoblástica. Explique como actúa el sistema de fitocromos.
- ✓ 10) Que son los inhibidores de la germinación. Como actúan.
- ✓ 11) Que es la energía germinativa y que importancia tiene. *tiempo q tardan en germinar el 50%*
- ✓ 12) Diferencie viabilidad de longevidad. Como puede determinar que una semilla es viable. *TP*