

Fundamentos fisiológicos de la germinación

Aspectos morfoanatómicos de las semillas
Test de calidad de semilla

Francisco José Cardinali - Mónica Liliana Murcia

FUNDAMENTOS FISIOLÓGICOS DE LA GERMINACIÓN

Aspectos morfoanatómicos de las semillas
Test de Calidad de Semilla

FRANCISCO JOSÉ CARDINALI - MÓNICA LILIANA MURCIA



Cardinali, Francisco José

Fundamentos fisiológicos de la germinación: aspectos morfoanatómicos de las semillas: test de calidad de semillas / Francisco José Cardinali; Mónica Liliana Murcia. - 1a ed. - Mar del Plata: EUDEM, 2020.

210 p.; 25 x 17 cm.

ISBN 978-987-4440-71-6

1. Agronomía. 2. Almacenamiento de Semillas. I. Murcia, Mónica Liliana. II. Título. CDD 631.521

Queda hecho el depósito que marca la Ley 11.723 de Propiedad Intelectual.

Prohibida su reproducción total o parcial por cualquier medio o método, sin autorización previa de los autores.

ISBN 978-987-4440-71-6

Este libro fue evaluado por la Ing. Liliana Ferrari

Primera edición: septiembre 2020

© 2020, Francisco José Cardinali - Mónica Liliana Murcia

© 2020, EUDEM

Editorial de la Universidad Nacional de Mar del Plata
3 de Febrero 2538 / Mar del Plata / Argentina

Arte y Diagramación: Luciano Alem - Agustina Cosulich



Libro
Universitario
Argentino

*El viento la empuja y finalmente cae por su propio peso.
La lluvia la empapa, los olores de la tierra la inundan.
Sol, aire, tierra, agua y... la obra de la naturaleza se hace evidente.
Y ahí está el hombre, contemplando la perfección, tratando de
descifrar lo invisible – FJ CARDINALI*

AGRADECIMIENTOS

Toda obra es el resultado del esfuerzo conjunto, de diálogos, ideas y reflexiones. Indirectamente han participado en ella mis profesores, colegas y alumnos que a través de sus inquietudes me han estimulado para concretarla.

PRIMERA EDICIÓN

Agradecemos a la Cooperadora de la UIB por el apoyo económico. También al Departamento de Gráfica y Diseño de la Universidad Nacional de Mar del Plata por el asesoramiento recibido.

Esta obra se concretó gracias al apoyo económico de:



Asociación Cooperadora
de la Facultad de Ciencias Agrarias

SEGUNDA EDICIÓN

Agradecemos a la Dra. Liliana Ferrari por la revisión y por sus generosos aportes que han contribuido al mejoramiento de esta obra.

También a la Editorial EUDEM, al Consejo Editorial y particularmente al Departamento de Diseño de la Editorial de la Universidad Nacional de Mar del Plata por la atención y asesoramiento recibido.

El presente libro se ha realizado en el marco de la **IAP** - Iniciativa de Acceso a la Publicación 2020, por iniciativa de la Universidad de Mar del Plata y con el apoyo de la Facultad de Ciencia Agrarias.

CONTENIDOS

PRESENTACIÓN	11
PRÓLOGO	13
1. GENERALIDADES	15
1.1. Origen de la semilla. Aspectos evolutivos e históricos	15
1.2. Aspectos ecofisiológicos. Funciones de la semilla en la naturaleza	19
1.3. La semilla desde el punto de vista agronómico	19
2. SEMILLA	23
2.1. Definición y concepto. Aspectos morfológicos	23
2.2.- Formación de la semilla en angiospermas y gimnospermas	23
3. ESTRUCTURA DE LA SEMILLA	37
3.1. Embrión	37
3.2. Reservas	40
3.2.1. Tipos de reservas y clasificación de las semillas	41
3.2.1.1. Carbohidratos – Semillas amiláceas	41
3.2.1.2. Proteínas – Semillas proteaginosas	44
3.2.1.3. Lípidos – Semillas oleaginosas	47
3.2.1.4. Fitina	49
3.2.2. Clasificación de las semillas según ubicación de las reservas	50
3.2.2.1. Cotiledonales	50
3.2.2.2.- Endospermadas	51
3.2.2.3. Perispermadas	51
3.3. Cubiertas	53
4. PROCESO DE GERMINACIÓN	61
4.1. Germinación. Definición y concepto	61
4.2. Etapas	62
4.2.1. Hidratación	62
4.2.2. Activación de la respiración	71
4.2.3. Crecimiento del embrión	75
4.3. Estrategias para la emergencia	77
4.3.1. Gancho plumular	77
4.3.2. Coleóptilo	82
4.4. Pretratamientos	86
4.5. Aporte fotosintético de los cotiledones	87

5. HORMONAS EN LA GERMINACIÓN	91
5.1. Concepto de hormona. Grupos hormonales	91
5.1.1. Precursores hormonales. Vía de los isoprenoides	93
5.2. Giberelinas.	95
5.2.1. Aspectos históricos	95
5.2.2. Características químicas y acción de las giberelinas	96
5.2.3. Degradación de reservas. Mecanismos de acción	98
5.2.4. Las giberelinas y el crecimiento	103
5.2.4.1. Retardadores de crecimiento	104
5.3. Auxinas	105
5.4. Citocininas	109
5.5. Ácido Abscísico	112
5.6. Etileno	115
5.7. Otras fitohormonas	119
5.7.1. Brasinas	119
5.7.2. Jasmonatos	120
5.7.3. Salicilatos	122
5.8. Los estímulos y las respuestas de las plantas	1223
6. DEGRADACIÓN Y MOVILIZACIÓN DE RESERVAS	125
6.1. Carbohidratos	125
6.2. Proteínas	128
6.3. Lípidos	130
6.4. Fitina	131
7. IMPEDIMENTOS A LA GERMINACIÓN	133
7.1. Quiescencia	133
7.2. Dormición	134
7.2.1. La dormición como estrategia de supervivencia en semillas y yemas	135
7.2.2. Dormición en plantas salvajes y domesticadas	137
7.2.3. Tipos de dormición	139
7.2.4. Causas de la dormición. Posible superación	141
7.2.4.1. Dormición impuesta por las cubiertas	141
7.2.4.2. Dormición embrional	146
7.3. Promotores de la germinación	151
7.3.1. Giberelinas	151
7.3.2. Nitrato de potasio	151
8. FOTOCONTROL DE LA GERMINACIÓN	153
8.1. Respuestas a la luz	153
8.2. Espectro de acción y reversibilidad del efecto	153
8.3. Identificación del fotorreceptor. Fitocromo	155
8.3.1. Localización	157

8.3.2. Metabolismo	157
8.3.2.1. Síntesis y degradación	157
8.3.2.2. Influencia de las condiciones ambientales	159
8.3.3. Mecanismo de acción	160
8.4. Aspectos ecofisiológicos del fotocontrol de la germinación	161
9.- LAS SEMILLAS Y LAS CONDICIONES DEL AMBIENTE.	163
9.1. Ambiente aéreo. Radiación	163
9.2. Ambiente edáfico	164
9.2.1. Temperatura	164
9.2.2. Agua	166
9.2.3. Aire	169
9.3. Profundidad de siembra	170
10.- CALIDAD DE SEMILLAS. EVALUACIÓN DE LA GERMINACIÓN, ASPECTOS TÉCNICO-AGRONÓMICOS.	173
10.1. Introducción	173
10.2. Muestreos de semillas y análisis de pureza	175
10.3. Análisis de germinación	176
10.3.1. Sustratos	177
10.3.2. Disponibilidad de agua	179
10.3.3. Temperatura	179
10.3.3.1. Temperaturas alternas	180
10.3.4. Luz	180
10.3.5. Pretratamientos	181
10.4. Determinaciones en el ensayo de germinación	181
10.4.1. Energía germinativa	181
10.4.2. Poder germinativo	182
10.4.2.1. Evaluación	182
10.5. Determinación de densidad de siembra	184
10.5.1. Valor cultural	185
10.6. Viabilidad. Ensayo topográfico de viabilidad	187
10.6.1. Ensayos rápidos de viabilidad	190
10.7. Vigor de la semilla	190
10.7.1. Ensayo de frío (Test de Frío o “Cold Test”)	190
10.7.2. Envejecimiento acelerado	195
10.7.3. Conductividad eléctrica	196
10.7.3.1. Ensayo de CE Individual (CEI)	198
10.7.4. Validez de los ensayos de vigor	199
10.8. Sanidad	199
10.9. Conservación de semilla	200

PRÓLOGO DE LA PRIMERA EDICIÓN

Como docente universitario de Fisiología Vegetal, durante años he tenido a cargo el dictado de este tema. La constante actualización me ha conducido al manejo de abundante información que he transmitido a los alumnos en las clases teóricas y prácticas. A través de los años, esta información fue clasificada dando origen, primero, a un texto manuscrito, luego tipeado y puesto a disposición de los alumnos junto a la bibliografía clásica de la materia.

Este texto, con el tiempo, se constituyó en una guía útil para el estudio ordenado del proceso de germinación. Contribuyó el hecho de que generalmente en los libros de fisiología vegetal el tema está fragmentado en diferentes capítulos, es decir, relacionado a aspectos bioquímicos, ambientales y ecológicos, lo cual dificulta al estudiante el logro de una visión secuencial e integral del proceso.

La obra incluye los conocimientos básicos de morfología y anatomía de la semilla, que considero prerequisites fundamentales para poder entender el proceso de germinación de semillas.

El tema se aborda tomando a la semilla como objeto de estudio según diferentes ópticas. A partir de allí, se ingresa al estudio del proceso de germinación que respeta, en la medida de lo posible, la secuencia cronológica de las diferentes etapas. Cada capítulo presenta información básica y actualizada sin pretender constituirse en conocimientos profundos o especializados. Los constantes avances, fundamentalmente en el campo de la Biología Molecular, hacen necesaria una permanente actualización, hoy facilitada por la posibilidad de un acceso rápido y sencillo a la bibliografía científica.

Esta obra dirigida a estudiantes universitarios de las carreras de Agronomía, Biología y Profesorados de Ciencias Naturales, intenta constituir un humilde aporte para mejorar y facilitar el proceso de enseñanza y aprendizaje. Proporciona a los alumnos un texto en castellano, organizado, actualizado y que evite el uso de apuntes tomados en clase, generalmente incompletos y con errores.

Francisco J. Cardinali

PRÓLOGO DE LA SEGUNDA EDICIÓN

Desde que se publicó por primera vez este libro ha pasado un tiempo considerable. La generación de conocimientos avanza rápidamente y la información lograda es analizada y transmitida por docentes-investigadores, como es en este caso, y volcada en los libros como un aporte para la educación.

En los tiempos de la primera edición el tema de germinación estaba atomizado en los diferentes libros de fisiología vegetal y sólo unos pocos de ellos le daban un capítulo completo abordando los diferentes aspectos del proceso. Hoy esta situación está siendo superada y podemos encontrar el tema tratado en capítulos específicos y en sitios de internet de organismos oficiales de investigación y educación que aportan valiosa información nueva y vieja sobre el tema.

La primera edición intentó, creo con éxito, enmendar ese problema de la atomización. En esta oportunidad se han ampliado algunos temas y se han incorporados otros como el referido al vigor de las semillas y a las pruebas correspondientes.

Estamos inmersos en un mundo de progreso con abundante información que pone en evidencia el incesante avance de la ciencia y la tecnología. Sin embargo, considero que además de la incorporación de esa nueva información debemos reconocer la importancia de la comprensión más profunda o de la revisión de los conceptos ya conocidos y ponerlos bajo la óptica relacionada a la nueva realidad del mundo que nos rodea.

Como objetivo se mantiene la obstinada voluntad de intentar contribuir a la formación de estudiantes y profesionales interesados en el tema, aportando un texto organizado secuencialmente según el ciclo natural de la primera parte de la vida de las plantas de interés agronómico comunes de nuestro país.

Por último, es fundamental reconocer el apoyo obtenido de la Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata y del asesoramiento y destacado trabajo profesional del Dpto. de Gráfica de dicha Universidad. El presente texto es una obra genuina, sin patrocinantes externos, lograda totalmente en el marco de una Universidad Pública.

1

GENERALIDADES

1.1. Origen de la semilla. Aspectos evolutivos e históricos

La historia sobre el origen de la semilla aparece como testimonio del pasado oculto en los sedimentos y en las rocas que, paso a paso, ha sido descubierto por geólogos y botánicos. Los fósiles documentan la evolución y permiten interpretar los cambios que fueron ocurriendo en respuesta a las fuerzas naturales que orientaron el camino evolutivo hasta nuestros días.

La capacidad de generar semillas ha sido uno de los grandes eventos en la historia vegetal. Implica el aporte de una estructura reproductiva compleja que otorgó suficientes ventajas adaptativas como para desplazar a los productores de esporas, algas, musgos y helechos, que reinaron en el ambiente terrestre durante millones de años.

Los registros fósiles muestran que el origen de esta notable arquitectura reproductiva surge en la era paleozoica superior, período carbonífero, hace unos 286 millones de años. En esa época, grandes plantas similares a helechos poseían estructuras semejantes a semillas. Muchas quedaron atrapadas y conservadas en los sedimentos turbosos, húmedos y cálidos, todavía pertenecientes a la única gran masa continental del planeta denominada Pangea.

La nueva estructura reproductiva, considerablemente protegida, permitió a las plantas terrestres enfrentar con éxito las difíciles condiciones ambientales que siguieron en el período Pérmico, caracterizado por intensas glaciaciones y sequía. Estos dramáticos cambios en el final de la era paleozoica constituyeron una fuerte presión de selección que derivó en la extinción en masa de numerosas especies terrestres y marinas. Sin embargo, la excelente adaptación alcanzada por las plantas les permitió superar la adversidad y dar el gran paso hacia el dominio del ambiente terrestre. El ingreso a la era mesozoica mostró claramente los avances logrados. Así, durante su primer período -conocido como Triásico-, aparecieron Pináceas y Ginkgoáceas. De esta familia, el único representante sobreviviente que permanece hasta nuestros días, considerado un fósil viviente, es el *Ginkgo biloba*.

Los continuos avances evolutivos condujeron al desarrollo de estructuras más perfeccionadas, que pasaron a gimnospermas más eficientes durante el Jurásico, y finalmente a las angiospermas, plantas con óvulos protegidos, en el Cretácico.

Lo expuesto ser puede observar en la siguiente Tabla:

Tabla 1.1. Principales acontecimientos evolutivos de las plantas durante las eras Paleozoica y Mesozoica.

ERAS	PERÍODOS	ACONTECIMIENTO
MESOZOICA	Cretácico 144-65	Radiación de las angiospermas. Primeras plantas con flor y fruto
	Jurásico 200-144	Abundancia de árboles y arbustos leñosos
	Triásico 248-200	Iniciodislocación del Pangea. Grandes extensiones de helechos y coníferas
PALEOZOICA	Pérmico 286-248	Extinción masiva de gran número de especies
	Carbonífero 360-286	Bosques de coníferas. Helechos gigantes
	Devónico 408-360	Primeros helechos y Gimnospermas
	Silúrico 438-408	Primeras plantas Terrestres-Briofitas
	Ordovícico 505-438	Colonización del medio terrestre por las plantas. Plantas anfibias similares a hepáticas y antocernos
	Cámbrico 590-505	Explosión de vida en el agua. Abundante cantidad de algas

Hoy reconocemos a las plantas más evolucionadas como *espermatófitas*, es decir, que poseen semillas. En estas, se distinguen dos grupos: las *gimnospermas*, que poseen semillas totalmente descubiertas o protegidas por brácteas formando falsos frutos, y las *angiospermas*, en las cuales las semillas están protegidas por una o más hojas carpelares que forman uno o más ovarios, que luego de la fecundación se transformarán en frutos.

Las espermatófitas se destacan por poseer un avanzado sistema reproductivo, cuyo producto final es la semilla. Este órgano permite no sólo la continuidad de la especie, sino también su dispersión, con su propia fuente de alimento. Esta característica le otorga mayor resistencia a los factores ambientales que las esporas y la capacidad de controlar el momento de iniciación del período de crecimiento. Esto hace de la semilla una formidable estructura capaz de ser cosechada, conservada, transportada y de reiniciar su actividad en otro ambiente. Se ha convertido en un extraordinario producto de la naturaleza, de enorme importancia para el hombre. De hecho, las grandes civilizaciones surgieron en coincidencia con las zonas de origen de los principales cultivos.

Hace unos 10.000 años dio comienzo un acontecimiento de enorme trascendencia para la humanidad, la domesticación de las plantas. El inicio es impreciso en tiempo y espacio, sin embargo se considera que surgió en diferentes sitios de la Tierra en forma independiente. Las huellas más antiguas pueden ubicarse en el oriente cercano en la zona llamada “media luna fértil”. Algunos creen que, en aquellos tiempos, los cazadores y recolectores en sus travesías desechaban las semillas de los frutos que consumían, las cuales posteriormente originaban nuevas plantas. Otros se aventuran a proponer que fueron las mujeres, observadoras por naturaleza, las que pudieron reconocer las nuevas plantas que se originaban a partir de esas pequeñas estructuras descartadas.

En América, el inicio de la Agricultura se la ubica en los Andes. Tal vez, al igual que en el resto de los lugares, familias nómades, desparramaron las semillas, las cuales frecuentemente surgían en terrenos cercanos a los refugios, en lugares donde el suelo había sido enriquecido por la materia orgánica desechada. Pronto, estos agricultores notaron que podían multiplicar sus recursos alimentarios enterrando a la profundidad adecuada no sólo semillas, sino también tubérculos y raíces. Aquí también se asocia fuertemente a la mujer con la semilla. El reconocido cronista Felipe Guamán Poma de Ayala en sus grabados del siglo XVI muestra a la mujer siempre relacionada con la semilla y la tierra en la siembra de maíz y papa.

Sin duda, se trató de un trabajo que requirió de gran esfuerzo y dedicación pero el resultado fue notable, mejoró la previsibilidad en la obtención de alimentos, condujo a reducir el hambre, la mortalidad infantil y mejorar la calidad de vida. Las poblaciones se radicaron en las zonas más propicias para el cultivo y se incrementaron rápidamente. Nacían las civilizaciones.

Paralelamente a estos cambios, el hombre comenzó a observar dificultades que, entendió, debía resolver para seguir avanzando en esta nueva actividad: ¿en qué época del año sembrar?; ¿por qué a veces las semillas no dan plantas?, entre otras. Observaron, probaron tras el objetivo de comprender y “dominar” la naturaleza. El conocimiento que iban acumulando permitió, poco a poco, avanzar en el aprovechamiento de este recurso natural y mejorar la producción a través de la continua selección de aquellos caracteres que mejor respondían a sus intereses.

Los primeros estudios documentados sobre fisiología de las semillas datan del siglo IV a.C. y son atribuidos a Teofrasto, discípulo de Aristóteles, considerado el “Padre de la Botánica”. Sin embargo, los estudios sistemáticos de la germinación se estancaron o se perdieron en la historia hasta prácticamente el siglo XIX.

En 1860 se divulgaron los estudios de Sachs sobre “temperaturas cardinales” para la germinación. Este investigador es considerado hoy el “Padre de la Fisiología de Semillas”. En 1876 se publicó un libro, en el cual se recopilaron trabajos del Dr. Friedrich Nobbe sobre métodos de análisis de semillas. A partir de allí comenzó a evaluarse rutinariamente la calidad fisiológica de las semillas, a través del ensayo de germinación estándar.

Luego, en la década de 1940, el botánico alemán Georg Lakon desarrolló el test de viabilidad por tetrazolio y desde entonces ambos ensayos (Germinación estándar y Viabilidad) fueron básicos en el estudio de la calidad de las semillas. En función de la importancia cada vez mayor de contar con semillas aptas para obtener una buena implantación de cultivos, se han ido desarrollando nuevos ensayos para generar información fidedigna acerca de la calidad de la semilla utilizada.

Posteriormente, el comercio de semillas que se generó entre agricultores, regiones y países, requirió cada vez más de análisis precisos y “reproducibles”; surgieron entonces numerosos laboratorios, principalmente en EUA y en Europa. Se volvió indispensable estandarizar los análisis, a través de reglas generales y, a su vez, lograr un sistema que permitiera incorporar los resultados de nuevas investigaciones y superar métodos incompletos u obsoletos. Para alcanzar esos objetivos se fundó en 1908 AOSA (Association of Official Seed Analysts) en EEUU. En 1924 se formalizó la creación de la ISTA (International Seed Testing Association) en Copenhague, con la finalidad de desarrollar y publicar procedimientos estándar en análisis de semillas. Participan de ella laboratorios de 70 países. Argentina se incorporó en 1925. Las primeras “Reglas internacionales para análisis de semillas” fueron redactadas en 1924, las cuales han permanecido hasta la actualidad con modificaciones y actualizaciones. En un capítulo posterior, se presentan los análisis que se utilizan en la actualidad para determinar fehacientemente la capacidad germinativa de las semillas.

A nivel de nuestro país, por iniciativa de analistas e investigadores en EEUU, el organismo que regula las actividades relacionadas con la producción, utilización, evaluación y comercialización de semillas es el INASE (Instituto Nacional de Semillas), creado por Decreto 2817/91, órgano de aplicación de la Ley 20247/73 de Semillas y Creaciones Fitogenéticas cuyo objetivo es:

“promover una eficiente actividad de producción y comercialización de semillas, asegurar al productor agrario la identidad y calidad de la simiente que adquieren y proteger la propiedad de las creaciones fitogenéticas”

Este organismo nacional ejerce el control para el cumplimiento de la referida ley. Ésta incluye básicamente la certificación de la calidad nacional e internacional, de todo órgano vegetal destinado para la siembra, la protección y registro de la propiedad intelectual de las semillas y creaciones fitogenéticas y biotecnológicas, y las normativas referidas a la identidad y a la calidad de la semilla.

1.2. Aspectos ecofisiológicos. Funciones de la semilla en la naturaleza

La semilla puede ser considerada como órgano de:

Persistencia: ya que asegura la descendencia, la continuidad de la especie.

Diseminación: ya que contribuye a la dispersión natural de la especie. Su capacidad de diseminación dependerá de la dehiscencia del fruto y de las propias estructuras adaptadas a los distintos agentes diseminantes que permiten clasificar a las plantas en: anemocoras, hidrocoras y zoocoras, etc. según sea el aire, el agua o los animales los agentes que intervienen, respectivamente.

Resistencia: ya que las semillas son capaces de soportar condiciones ambientales extremas de temperatura y humedad, muchas veces letales para la planta madre. En estos casos la semilla sobrevive ya que soporta las condiciones extremas sin germinar y el ciclo se reinicia cuando las condiciones ambientales son propicias. Esto asegura la supervivencia de la especie en ambientes desfavorables.

Para caracterizar a la semilla se ha preferido el término *persistencia*, que expresa la permanencia por un largo período de tiempo, en lugar de perpetuación, que indica la existencia para siempre. Considerando desde una visión evolutiva, la perpetuación estrictamente no ocurre. Todos los organismos a lo largo de la historia de la vida en la Tierra han ido desapareciendo o cambiado originando nuevo individuos mejor adaptados a las nuevas condiciones ambientales.

1.3. La semilla desde el punto de vista agronómico

Comúnmente, en agronomía se utiliza el término "**semilla**" cuando la finalidad es reproductiva, es decir, cuando su destino es generar una nueva planta. Asimismo, suelen designarse como semilla a los propágulos de multiplicación vegetativa, como por ejemplo "papa semilla". Los términos diseminulos o diásporas incluyen tanto semilla botánica como partes de plantas utilizados en

propagación vegetativa, por ejemplo: bulbos, estolones, rizomas, raíces gemíferas, tubérculos, estacas y yemas.

Este concepto es coincidente con la Ley de Semillas y Creaciones Fitogenéticas (20247) que en su Decreto Reglamentario: 2183/1991 define "**SEMI-LLA**" o "**SIMIENTE**" como toda estructura vegetal destinada a siembra o propagación.

Asimismo, establece en su Artículo 3 los datos que debe exhibir en el envase como nombre común y botánico de la especie, poder germinativo pureza y otros datos referidos al productor o semillero. En la República Argentina, el INASE (Instituto Nacional de Semillas), creado por Decreto 2817/91, es el órgano de aplicación de la referida Ley de Semillas.

En cambio, el término "**grano**" se refiere generalmente a los frutos de los cereales, fundamentalmente de trigo, maíz, avena, cebada, arroz y sorgo, y de las oleaginosas como girasol y soja, cuando se los destina a procesos industriales o para consumo directo.

Por otro lado, también suele usarse la denominación "**fruto-semilla**" para los numerosos frutos indehiscentes en los cuales el pericarpio o paredes del fruto permanecen adheridas a la cubierta seminal, tal como ocurre en los cariósidos de las gramíneas, como son el trigo (*Triticum sp*), cebada (*Hordeum sp*) y maíz (*Zea mays*), los aquenios de las ciperáceas, como el cebollín (*Cyperus rotundus*) y las cipselas de las compuestas como es el caso de girasol (*Helianthus annuus*), que si bien no están adheridas permanecen formando parte integral de la estructura.

Desde el punto de vista botánico, incurrimos frecuentemente en un error debido a que en numerosos grupos taxonómicos se consideran semillas a lo que en realidad son frutos. Esto ocurre cuando la semilla u óvulo fecundado se halla acompañado de estructuras ováricas que constituyen el pericarpio. Diversos ejemplos de semillas y frutos se presentan en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Ejemplos de estructuras reproductivas.

ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS	Derivadas únicamente del óvulo	SEMILLA	Ej: Algodón, Café, Poroto, Arveja, Pepino, Tomate
	Derivadas únicamente del óvulo y estructuras ováricas (pericarpio)	FRUTO	Ej: Avellano, Fresno, Girasol, Olmo, Trigo, Lechuga.

La "semilla" de los cereales y demás gramíneas, en realidad, es un fruto denominado cariósido, caracterizado por ser uniseminado, seco e indehisciente y con un pericarpio delgado soldado al tegumento seminal, que separado en la molienda del trigo constituye el salvado. Otro caso de fruto considerado habitualmente como semilla es la cipsela, fruto de algunas compuestas, como el girasol (*Helianthus annuus*). Este también es uniseminado, seco e indehisciente, pero cuyo pericarpio coriáceo, esclerificado, derivado de un ovario ínfero que no está soldado a la semilla.

2

SEMILLA

2.1. Definición y concepto. Aspectos morfológicos

La semilla es la unidad reproductiva de las plantas superiores. Es multicelular, de origen sexual y, por lo tanto, con variabilidad genética.

Está compuesta por el embrión -que es el esbozo de la futura planta-, las reservas nutricionales que permitirán sostener el crecimiento del embrión hasta que la plántula sea autosuficiente, y las cubiertas que constituyen las estructura protectoras que la rodean (Fig. 2.1).

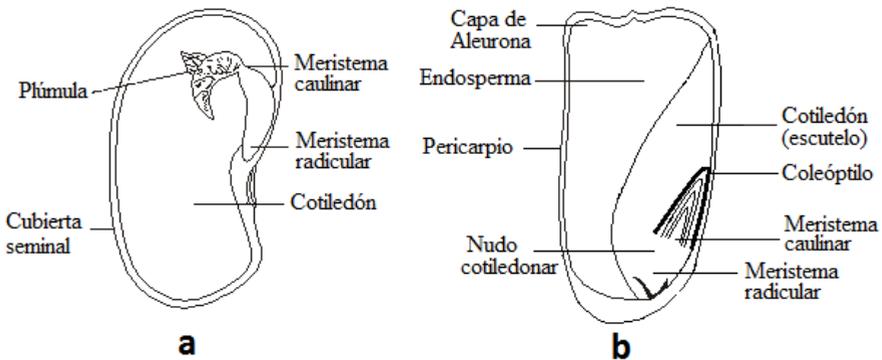


Fig. 2.1. Esquema en corte longitudinal de diferentes “semillas” de angiospermas y sus partes (-a- Dicotiledónea Poroto y -b- Monocotiledónea Maíz)

La enorme diversidad de plantas superiores adaptadas a muy diferentes ambientes y sometidas a distintas presiones de selección, ha conducido a enormes variaciones morfológicas referidas fundamentalmente a forma, color y tamaño de las semillas. Las más pequeñas corresponden a las orquidáceas que producen gran cantidad de semillas con la particularidad de que el embrión está representado por una pequeña masa indiferenciada de células carecen de endosperma, o, si está presente, se encuentra apenas desarrollado. Ejemplo de este tipo es la especie *Goodyera repens*, la que puede ser hallada en bosques y pantanos de Europa, cuyas semillas pesan 0,002 miligramos; son tal vez las más pequeñas que se conocen. En el otro extremo, las semillas más grandes, representadas por los “cocos” de diferentes géneros. Como ejemplo está la palma *Lodoicea maldivica* conocida como “coco de mar”, originaria de las Islas Seychelles, cuyos frutos pesan entre 18 y 27 kilogramos. También es notable el caso de *Dimorphandra megistosperma*, una Leguminosa, perteneciente a la

subfamilia Cesalpinoidea, de origen centroamericano, propia de los ecosistemas de los manglares del pacífico colombiano, cuya semilla puede alcanzar los dieciocho centímetros de largo.

2.2. Formación de la semilla en angiospermas y gimnospermas

La semilla procede del óvulo, estructura multicelular que se origina en la placenta de la hoja carpelar y que contiene la ovocélula u oosfera o gameta femenina (Fig 2.2).

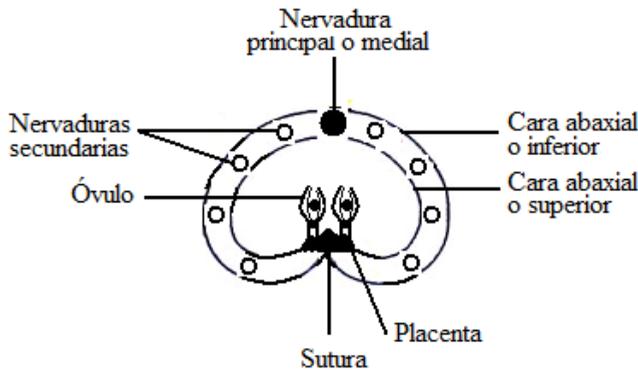


Fig. 2.2. Esquema de corte transversal de la hoja carpelar a nivel del ovario

Luego de la fecundación, el conjunto experimenta profundas transformaciones. A la madurez se han diferenciado el embrión, los tejidos con sustancias nutritivas o de reserva y una o varias cubiertas de protección. Este concepto es válido en términos generales, ya que frecuentemente en la naturaleza se presentan sorprendentes variaciones que impiden contener todos los casos dentro de este planteo.

El óvulo es un corpúsculo ovoide que se forma sobre la placenta en el interior del ovario y está provisto comúnmente de dos tegumentos que encierran al tejido materno llamado nucela. El tegumento externo o primina originará la testa de la semilla y el tegumento interno o secundina, originará el tegmen. (Fig. 2.3 y 2.4).

Óvulos con dos tegumentos o bitégmicos, se presentan en la mayoría de las mono y dicotiledóneas. Las dicotiledóneas gamopétalas, así como tres familias de monocotiledóneas como son las Poáceas (Gramíneas), Amarilidáceas y Orquidáceas presentan óvulos unitégmicos. Asimismo, las gimnospermas muestran óvulos unitégmicos, excepto las Podocarpáceas cuya semilla está recubierta por el epimacio de 8 a 10 mm de largo, considerado como un segundo tegumento que cuando se encuentra maduro presenta color rojizo.

El óvulo se halla unido a la placenta a través del funículo, estructura en forma de cordón o pedicelo, equivalente a un cordón umbilical que nutre al óvulo con haces vasculares que alcanzan la base de la nucela en el punto llamado chalaza, calaza o cálaza, donde se ramifican hacia el o los tegumentos. Algunos óvulos carecen de funículo en cuyo caso se dice que son sésiles.

Las diferentes estructuras de los óvulos y sus particulares morfogénesis, luego de la fecundación, producirán diferentes formas de semilla

Se reconocen tres tipos básicos de óvulos como se puede apreciar en la Fig. 2.3. El **ortótropo o átropo** se caracteriza porque funículo, chalaza y micrópila se disponen en línea recta. Este tipo de óvulos se presenta generalmente en Gimnospermas, aunque también los presentan unas pocas familias de angiospermas como Polygonáceas y Juglandáceas. El **anátropo** muestra un giro o curvatura de 180° , lo que determina que el funículo se sulte a un lado del tegumento externo del óvulo produciendo un reborde visible en la semilla, denominado rafe. Este tipo de óvulo es el más común dentro de las angiospermas. El **campilótropo** muestra una notable curvatura o arqueado que también vincula el funículo con el tegumento externo generando el rafe; ejemplo de este tipo se encuentra en las familias Leguminosas y Crucíferas.

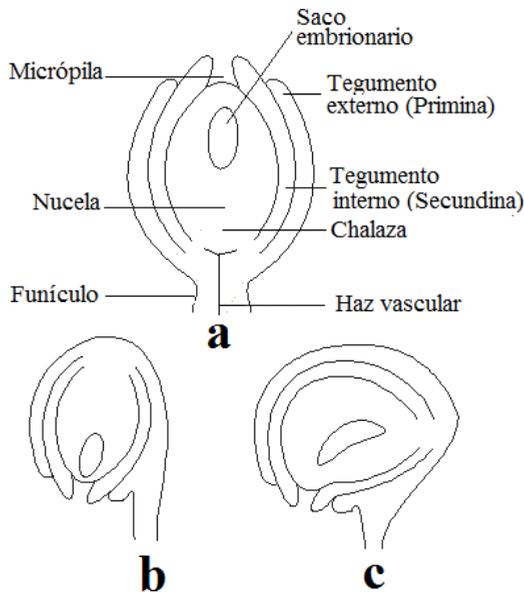


Fig. 2.3. Distintos tipos de óvulos (a: Ortótropo, b: Anátropo y c: Campilótropo) y sus elementos constitutivos en vista longitudinal radial.

En el interior de la nucela, la célula madre de la megaspora sufre una división meiotótica y produce cuatro megasporas haploides, de las cuales tres degeneran.

La megaspora remanente es funcional y pasa por tres mitosis sucesivas que originan ocho núcleos. Estos dan origen a siete células: una ovocélula, dos sinérgidas, tres antípodas y una central binucleada (núcleos polares) (Fig. 2.4 y 2.5). El conjunto es llamado saco embrionario y corresponde al gametofito femenino, estructura haploide que contiene a la gameta. Existen otras formas de desarrollo del saco embrionario, en diferentes especies, pero el descrito es el más común.

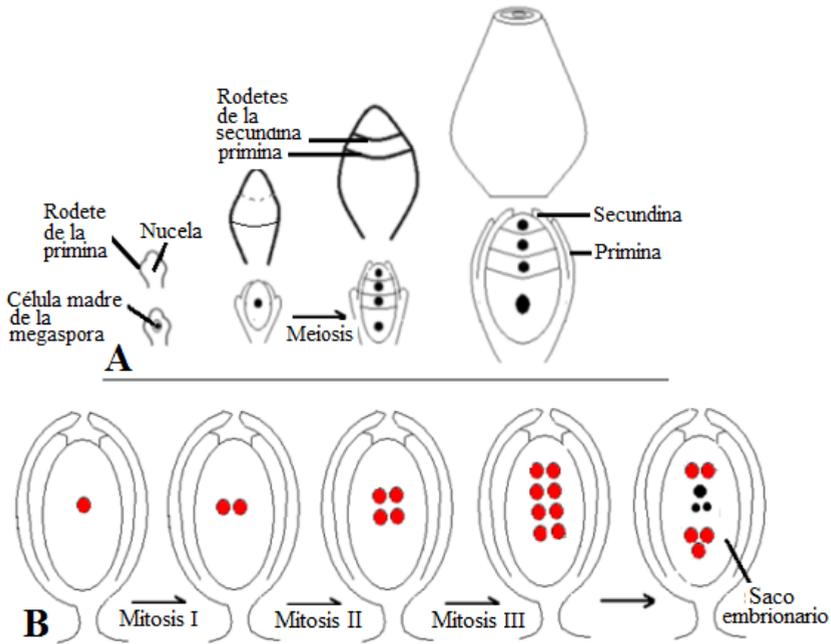


Fig. 2.4. Secuencias del desarrollo del óvulo: **A-** vista externa y longitudinal radial a partir de la división meiótica de la célula madre de la megaspora y **B-** detalle en vista longitudinal radial de las sucesivas divisiones mitóticas hasta la formación del saco embrionario.

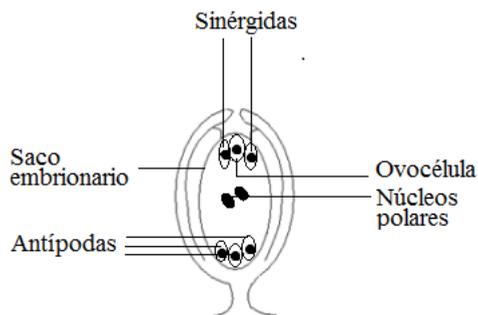


Fig. 2.5. Detalle de la composición final del saco embrionario

En las angiospermas el gametofito masculino es el grano de polen. Se origina a partir de la célula madre de las microsporas que se diferencia en el saco polínico, ubicado en la parte interna de la antera. La antera constituye el extremo ensanchado del estambre que se conecta con el filamento a través del tejido conectivo (Fig. 2.6). El filamento está constituido por una estructura simple que en su porción central está recorrido por un haz vascular colateral aunque frecuentemente se presenta como anficribal. Esto mejora el transporte, prácticamente unidireccional hacia la antera, de materia y energía que se acumula en el tapete o capa nutricia de los granos de polen. El haz vascular está rodeado por tejido parenquimático y externamente por una epidermis cutinizada, que puede presentar estomas y tricomas de variables tamaños y complejidad.

Las anteras están formadas por dos cavidades o tecas que encierran a los sacos polínicos rodeados por varias capas o estratos celulares con diferentes funciones. Una externa, el **exotecio**, que constituye una delgada epidermis generalmente uniestratificada que recubre totalmente cada teca. Por debajo de ésta se encuentra el **endotecio**, otra capa uniestratificada, en principio similar a la anterior, que recubre al saco polínico. Más internamente se diferencia el tapete o estrato nutricional que es una capa de células que acumula sustancias de reserva para nutrir a las células madres de las microsporas hasta la formación de los granos de polen (Fig. 2.6 y 2.7). Algunas sustancias derivadas del tapete adheridas a los granos de polen maduros, en algunos casos, son las responsables de los fenómenos de autoincompatibilidad que evitan la germinación del grano de polen sobre el estigma del gineceo.

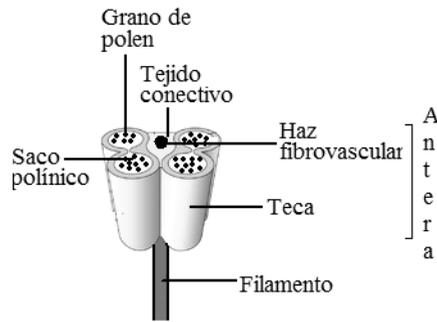


Fig. 2.6. Esquema de filamento y antera madura. En corte transversal se muestra la vascularización y los sacos polínicos conteniendo los granos de polen (gametofitos masculinos).

A medida que se produce la formación de los granos de polen, las capas de la antera van desarrollándose o degradándose según su función.

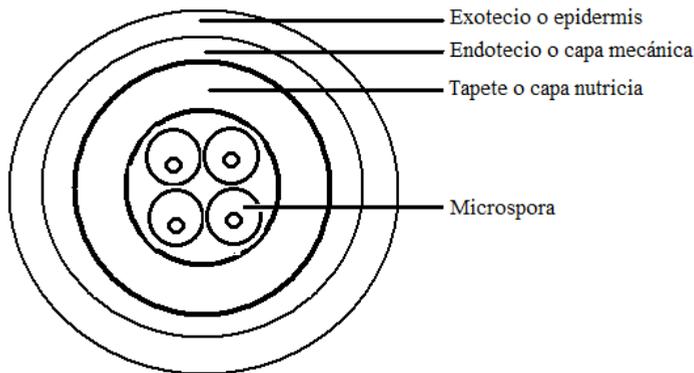


Fig. 2.7. Esquema en corte transversal de un saco polínico con sus diferentes capas y una tétrada de microsporas

Cuando la antera está próxima a la madurez, el tapete o capa nutricia experimenta una serie de transformaciones de carácter regresivo. Al mismo tiempo, las células del endotecio se modifican notablemente, sus paredes tangenciales internas y radiales sufren engrosamiento y lignificación, mientras que sus paredes externas permanecen celulósicas y sutiles. Estas diferencias estructurales en las células del endotecio son fundamentales para la dehiscencia de la antera y la consecuente liberación de los granos de polen maduros. En

efecto, el proceso de desecación de la antera madura genera tensiones diferenciales entre las paredes internas y externas del endotecio, que producen su ruptura y la consecuente dehiscencia de la antera (Fig. 2.8).

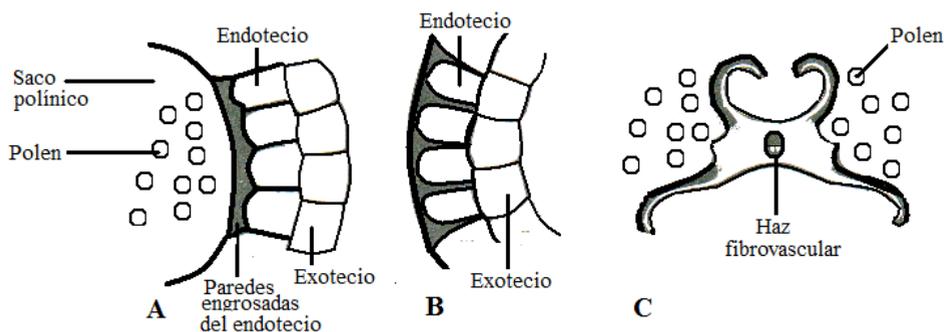


Fig. 2.8. Esquema de vistas parciales de anteras en corte transversal, mostrando la secuencia del proceso de dehiscencia. **A:** Antera madura; **B:** Antera deshidratada; **C:** Dehiscencia de la antera y liberación de los granos de polen. Se destacan las diferencias estructurales en las paredes celulares del endotecio. (Adaptado de Gola *et al.*, 1959).

La célula madre de las microsporas a través de una división meiótica genera cuatro microsporas haploides. Cada una de ellas sufre una mitosis generando una célula binucleada, constituida por dos núcleos, el vegetativo y el generativo. Este último sufre una segunda mitosis que origina dos núcleos que constituyen las gametas. Si bien no hay tabicación o formación de paredes celulares conspicuas, se puede decir que son núcleos vinculados con su citoplasma circundante, de manera que se deben considerar células. Estas células están contenidas en una célula de mayor tamaño, llamada vegetativa, su núcleo conducirá el crecimiento del tubo polínico. Las otras dos células más pequeñas, las gametas, intervendrán en la doble fecundación propia de las angiospermas. Esta composición da lugar al grano de polen o gametofino masculino (tricelular).

Cabe aclarar que la segunda división mitótica, que genera las gametas, puede ocurrir dentro del saco polínico, antes de la dehiscencia de la antera, o posteriormente cuando el grano de polen germina sobre el estigma. En consecuencia, el grano de polen liberado puede estar conformado por dos células, la vegetativa y la generativa (polen bicelular) o por tres células, la vegetativa y las dos gametas (polen tricelular), característica propia de las Gramíneas.

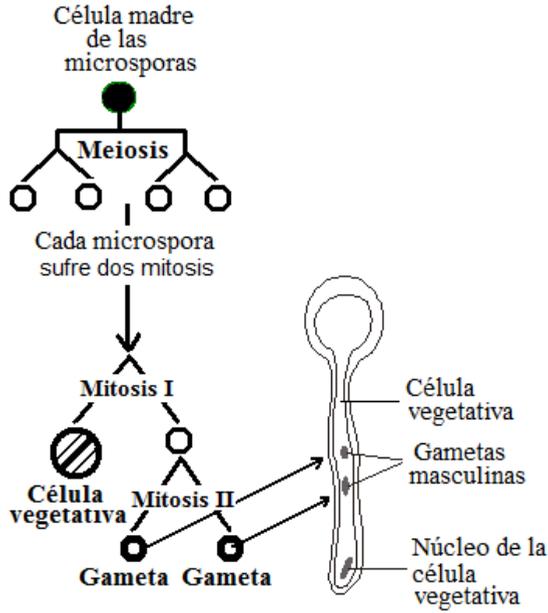


Fig. 2.9. Secuencia de divisiones celulares a partir de la célula madre de las microsporas.

Los granos de polen liberados quedan expuestos a condiciones ambientales muchas veces extremas. Sin embargo, están muy bien protegidos por una cobertura muy resistente llamada esporodermis formada por dos estratos, uno interno poco resistente rico en celulosa y pectina, la **intina** y otro externo muy resistente, la **exina**, constituida por esporopolenina, un politerpeno más fuerte que la cutina y la suberina. Su resistencia y estabilidad química permite la conservación del grano de polen, en algunos casos por miles de años, en los sustratos donde se ha depositado.

La superficie de la exina forma estructuras diversas, que se reconocen como ornamentación de la exina y proporcionan una morfología característica al grano de polen. Esta característica hace posible los estudios palinológicos de muestras tomadas de diferentes sedimentos conducentes a estudios detallados de la flora del pasado. Sin embargo, esta exina se interrumpe en ciertos lugares llamados colpos, si la apertura es de forma alargada, o poros, si es de forma circular. Por estas aberturas emerge el tubo polínico luego de la polinización y en contacto con el estigma de la flor (Fig. 2.10).

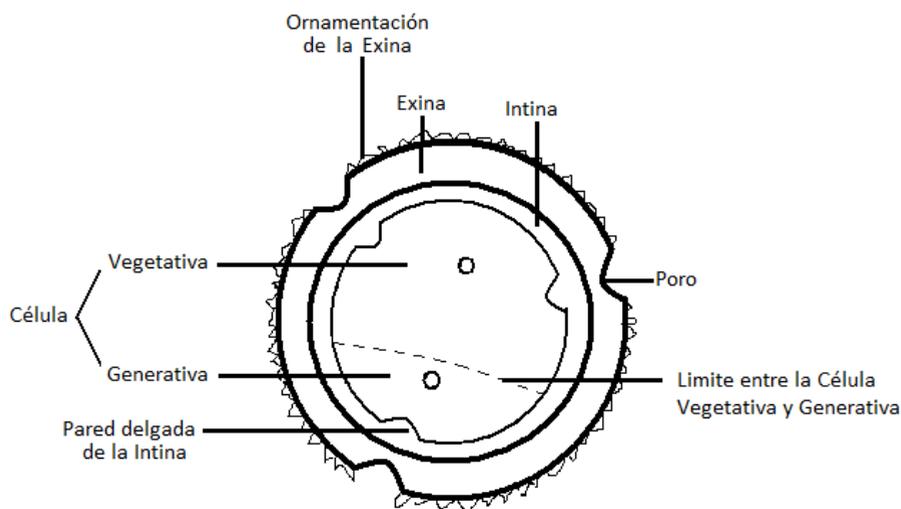


Fig. 2.10. Esquema en corte transversal de un grano de polen triporado, bicelular de una angiosperma.

Se denomina **polinización** al proceso de transferencia de los granos de polen desde las anteras dehiscentes hasta la micrópila de los óvulos de las gimnospermas y hasta el estigma que es la porción receptiva de la flor en las angiospermas. El estigma es receptivo cuando alcanza su plena madurez, período en el que ofrece un ambiente adecuado para la germinación del grano de polen.

La superficie de los estigmas está tapizada de papilas cubiertas de una película de proteínas hidrofílicas que permiten la captura e hidratación del grano de polen. Estas proteínas actúan en el reconocimiento que estimula la germinación del polen o, por el contrario, generan reacciones de incompatibilidad.

Los agentes polinizadores pueden ser abióticos como el agua y el viento o bióticos como los diversos animales (insectos, aves, moluscos, quirópteros, etc.). Ellos permiten que muchos granos de polen alcancen el estigma; sin embargo, sólo uno producirá la fecundación de cada uno de los óvulos presentes en el ovario de la flor.

En condiciones normales, el tubo polínico emerge a través de uno de los poros. Por crecimiento apical recorre el estilo de la flor siguiendo el tejido de transmisión, llevando en su extremo la célula vegetativa y, por detrás de ésta, las dos gametas, hasta alcanzar el óvulo (Fig. 2.9 y 2.11).

Los estilos de las angiospermas pueden ser macizos o huecos. En los primeros, típicos de las dicotiledóneas, se presenta el tejido de transmisión o conductor del polen en bandas de células ubicadas verticalmente, de paredes engrosadas ricas en pectinas de consistencia mucilaginosa. En este caso, los tubos

polínicos pueden crecer a través de las células o entre las células cuyas paredes celulares son disueltas por enzimas generadas en el extremo del tubo. En estilos huecos, generalmente presentes en las monocotiledóneas, el tejido de transmisión rodea el canal estilar por el cual el tubo polínico se desplaza embebido en una capa mucilaginosa intercelular. El tubo polínico crece por alargamiento de su extremo que requiere de un rápido proceso de síntesis de pared celular interviniendo activamente los dictiosomas que acercan a la pared los precursores fundamentales para su crecimiento.

La célula vegetativa posee abundantes reservas compartimentalizadas en diferentes plastidios, como amiloplastos que aportan el almidón como fuente de energía para el crecimiento de tubo polínico. En los casos en que la doble fecundación demande largos tubos polínicos, las células vegetativas poseen sustancias de reserva con mayor concentración energética dada por la abundancia de lípidos. A medida que el tubo polínico avanza a través del estigma siguiendo el tejido de transmisión se van formando sucesivamente tabiques de calosa que van sellando el tramo recorrido.

Una vez que el tubo polínico alcanza el ovario, continúa su crecimiento siguiendo el tejido de transmisión. Generalmente la penetración es porogámica, es decir a través de la micrópila del óvulo, que se constituye en la puerta más común de entrada del tubo polínico para la fecundación. La penetración también puede ocurrir por otros lugares, en cuyo caso se denomina aporogámica, es decir por otros sitios distintos de la micrópila, por ejemplo la chalaza (chalazogamia), como ocurre en las caso Casuarinas. También puede ocurrir por algún punto intermedio, atravesando los tegumentos del óvulo (mesogamia) como es el caso del *Ulmus* sp.

Lo expuesto se presenta en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Modos de penetración del tubo polínico en el óvulo

PENETRACIÓN DEL TUBO POLINICO	TIPOS DE PENETRACIÓN		LUGAR
	POROGÁMICA		Micrópila
	APOROGÁMICA	CHALZOGÁMICA	Chalaza
MESOGÁMICA		Algún punto intermedio entre micrópila y calaza	

Las semillas de las angiospermas derivan de una doble fecundación que da origen al embrión y el endosperma. El embrión se origina a partir de la unión de una de las gametas masculinas con la ovocélula. Por la unión de la gameta masculina restante con la célula central binucleada se constituirá el endosperma, tejido de reserva triploide de origen sexual (Fig.2.11). Las cubiertas seminales derivan de los tegumentos del óvulo.

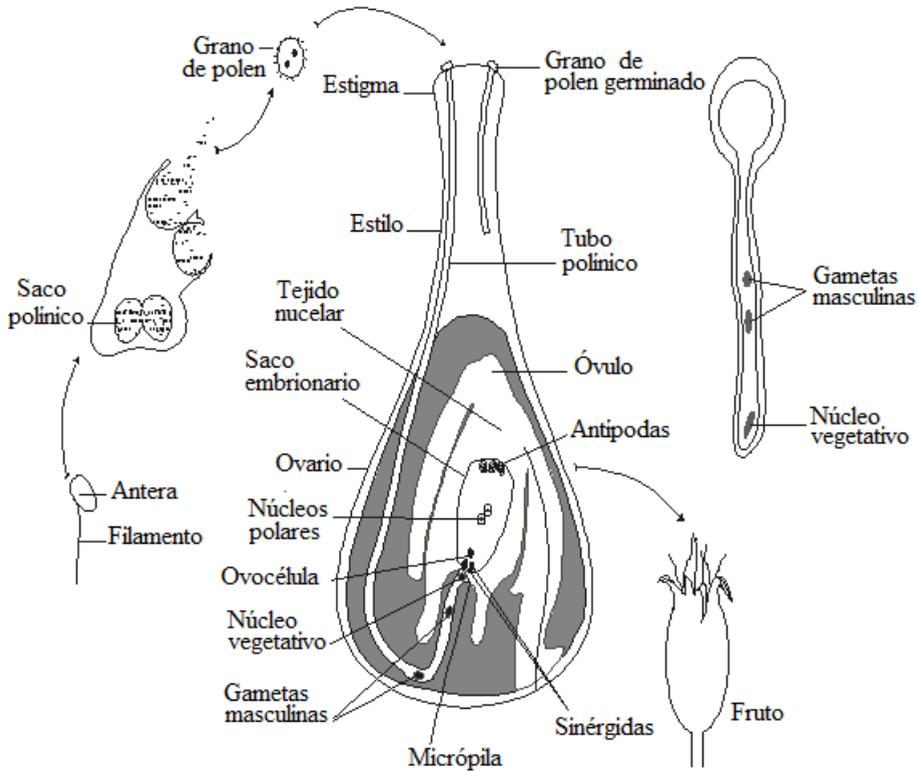


Fig. 2.11. Fase reproductiva de una angiosperma

En el caso de las gimnospermas, considerando la división más numerosa que son las coníferas, existen diferencias tanto estructurales como funcionales en el proceso de formación de las semillas, con respecto a las angiospermas. Como lo indica su denominación (gimnos: desnudo, sperma: semilla), los óvulos y, consecuentemente las semillas, se encuentran expuestas sobre escamas ovulíferas, en los “conos” femeninos. Los conos masculinos se encuentran en la misma planta (especies monoicas como el cedro) o en diferentes plantas (especies dioicas como el enebro) en ramas cortas. Los microsporofilos están insertos en el eje del cono y los microsporangios o sacos polínicos se

encuentran en la cara inferior. Allí se produce la formación de los granos de polen.

Los procesos de megaesporogénesis y microesporogénesis son similares a los de las angospermas (una célula madre sufre meiosis generando cuatro esporas haploides).

Los óvulos son “unitegmicos” y su tegumento está fuertemente unido a la nucela excepto en el extremo opuesto al pedicelo, donde se encuentra una cavidad denominada cámara polínica, que se abre a la superficie por la micrópila. El gametofito femenino se forma a partir de numerosas divisiones de la megaspora viable, originando varios miles de células, en contraposición con las siete células del saco embrionario de las angiospermas. Allí se diferencian uno o más arquegonios (estructuras que no se encuentran en las angiospermas) con una oósfera en cada uno.

En los microsporofilos, cada microspora haploide se recubre de dos capas de pared (exina e intina) y ocurren una o dos divisiones nucleares antes de que se diferencie como grano de polen y pueda liberarse. En el pino y algunas otras coníferas, la exina forma dos protuberancias (sacos aéreos) que permiten que los granos de polen floten, facilitando la dispersión por el aire. El grano de polen está, luego de varias mitosis, conformado por unas células pequeñas, llamadas protálicas que varían en número, según las especies y que, al final del desarrollo degeneran. Junto a las células protálicas hay una célula de mayor tamaño, la célula generativa y otra mayor aún, la célula vegetativa, similares a las de angiospermas.

Cuando el óvulo está preparado para la fecundación, algunas células de la nucela se desorganizan y forman una gota mucilaginosa o gota de polinización, que alcanza la micrópila. Allí se hundirán los granos de polen que, a medida que se seque la gota llegarán a la cámara polínica, quedando apoyados en la nucela. Comienza entonces a crecer el tubo polínico. De forma similar a las angiospermas, el núcleo de la célula vegetativa se mueve hacia el extremo del tubo y la célula generativa se divide varias veces por mitosis, generando dos gametas y otras células que, así como ocurre con las células protálicas, no cumplen función alguna y degeneran, siendo residuos del cuerpo vegetativo del gametofito.

El tubo polínico crece a través de la nucela y luego de un período variable, desde varias semanas hasta más de un año, alcanza un arquegonio y libera las gametas cerca de la oósfera. Una gameta masculina será funcional y fecundará a la oósfera. Por este motivo, sólo ocurre una **fecundación simple** que da origen al embrión. Dado que, como se mencionó anteriormente, puede haber varios arquegonios y consecuentemente varias oósferas en cada óvulo, son comunes los casos de poliembriónía. Esto también puede ser producto de una primera división del cigoto por la que se generen dos embriones. Sin embargo, en las semillas maduras normalmente se completa el desarrollo de un único embrión (Fig. 2.12)

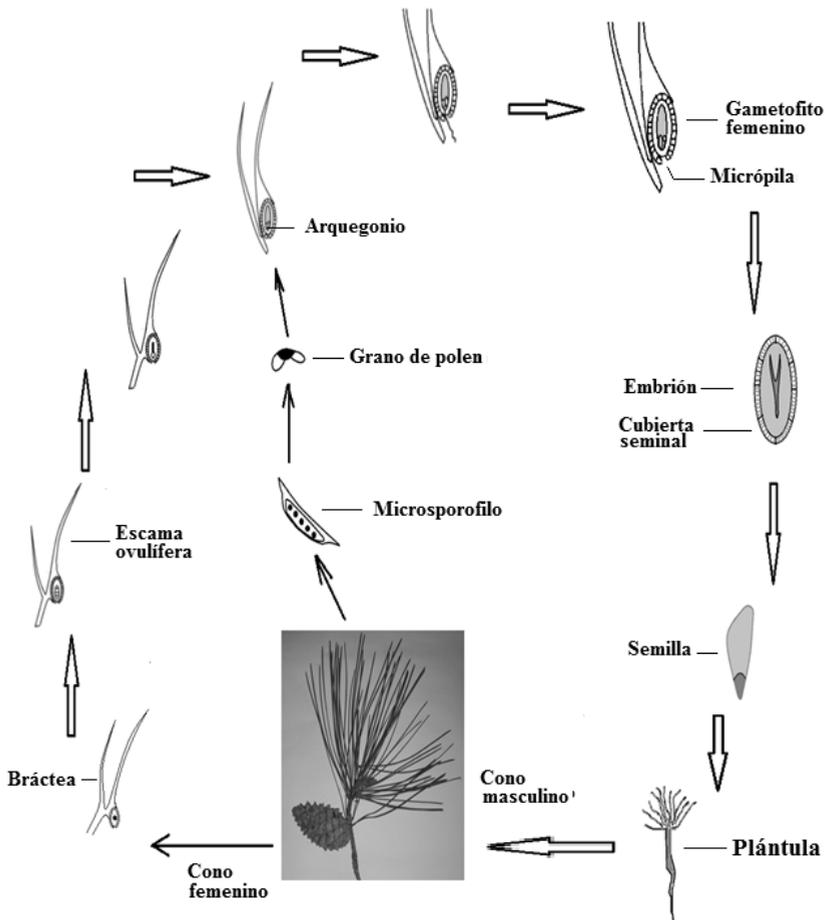


Fig. 2.12. Fase reproductiva de una gimnosperma (*Pinus*)

El embrión en las gimnospermas está formado, en un primer momento, por un suspensor, que luego degenera, una radícula y un hipocótilo, un epicótilo y cotiledónes (entre cinco y 18 dependiendo de la especie) de forma acicular. Las sustancias de reserva de estas semillas son de origen materno y haploide, es decir, no derivan de una segunda fecundación, como en las angiospermas. Las cubiertas seminales derivan del único tegumento del óvulo y suele desarrollar una expansión con forma de ala, que cumple una importante función en la dispersión de la semilla.

3

ESTRUCTURA DE LA SEMILLA

Las semillas están constituidas básicamente por tres partes: eje embrionario, reservas alimenticias y cubiertas protectoras, la cuales se abordan particularmente en este capítulo.

3.1. Embrión

Es una verdadera planta en miniatura. Está constituido por los esbozos de raíz, tallo y hojas de la futura plántula. Su crecimiento depende de la provisión de reservas alimenticias las cuales pueden estar en el o los cotiledones, que forman parte del embrión o están separados de éste, como ocurre con aquellas que depositan sus reservas en el endosperma. La Fig. 3.1 muestra los detalles morfoanatómicos de una monocotiledónea (Poácea) típica y en Fig 3.2 se puede apreciar aquellos detalles en dos tipos de dicotiledóneas según la ubicación de sus reservas principales.

El embrión es el producto de la fecundación de la ovocélula por una de las gametas masculinas y como consecuencia presenta una constitución genética diploide.

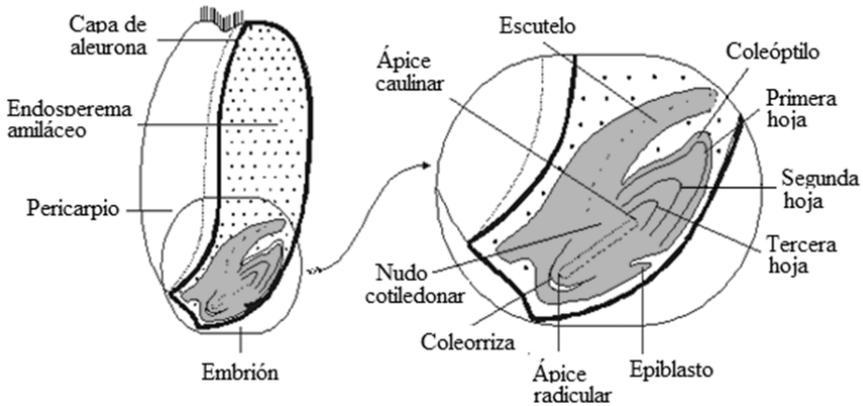


Fig. 3.1. Semilla de monocotiledónea Poácea (trigo) con detalles morfoanatómicos de sus componentes.

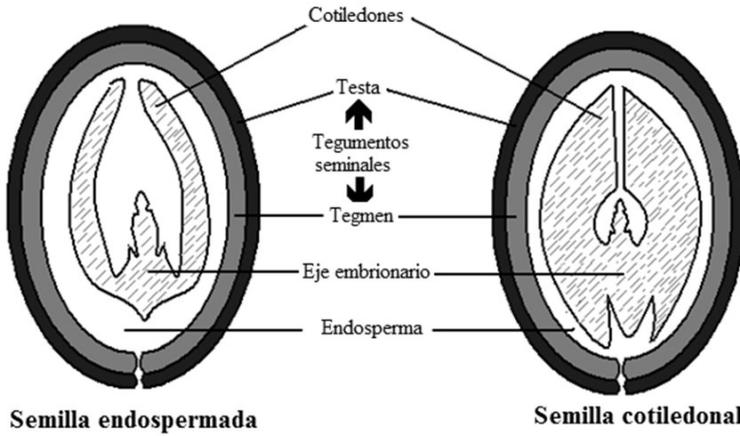


Fig. 3.2. Esquemas en corte longitudinal radial de semillas de dos tipos de dicotiledóneas, endospermada (tipo ricino), y cotiledonal (tipo lechuga), con detalles morfoanatómicos de sus estructuras.

Luego de la fecundación se inicia el proceso de desarrollo del embrión con una primera división asimétrica de la cigota que establece desde esta temprana etapa su polaridad. En efecto, esta primera división genera dos células visiblemente diferentes: una de ellas pequeña y de citoplasma denso, que da origen al embrión, y la otra grande, poco densa y vacuolada que se ubica cerca de la micrópila. Esta última, por divisiones sucesivas genera células superpuestas a modo de filamento. Éste constituye una estructura transitoria denominada suspensor que empuja al embrión hacia el endosperma en las angiospermas, y hacia el tejido nutritivo protalar en las gimnospermas. El suspensor mantiene unido el embrión con el tejido materno y se constituye en una estructura fundamental para la nutrición. En algunos casos adopta la forma de haustorio, estructura especializada para la absorción (Fig 3.3 y 3.4).

La célula que origina al embrión se polariza en una zona superior que deriva en el meristema caulinar y otra inferior, en contacto con el suspensor, que deriva en el meristema radical. El meristema caulinar -o de tallo- genera en primer término las hojas embrionarias o cotiledones, uno en el caso de las angiospermas monocotiledóneas y dos en el caso de las dicotiledóneas. Las divisiones mitóticas se suceden continuamente formando sucesivamente estructuras de cuatro células o cuadrante, de ocho células u octante y posteriormente una estructura globular que muestra una capa de células periféricas, la protodermis. Mientras, internamente se comienzan a esbozar el procambium que originará los elementos de conducción, xilema hacia el interior del órgano y floema hacia el exterior (Fig 3.3 y 3.4).

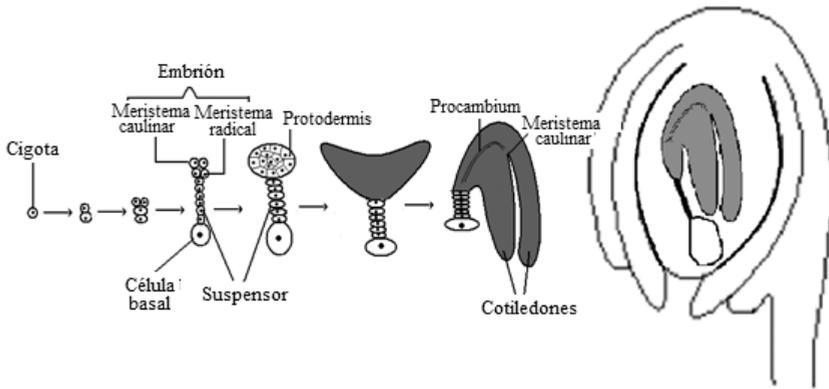


Fig. 3.3. Secuencia de la embriogénesis de una dicotiledónea típica y vista de su ubicación dentro de un óvulo anátropo.

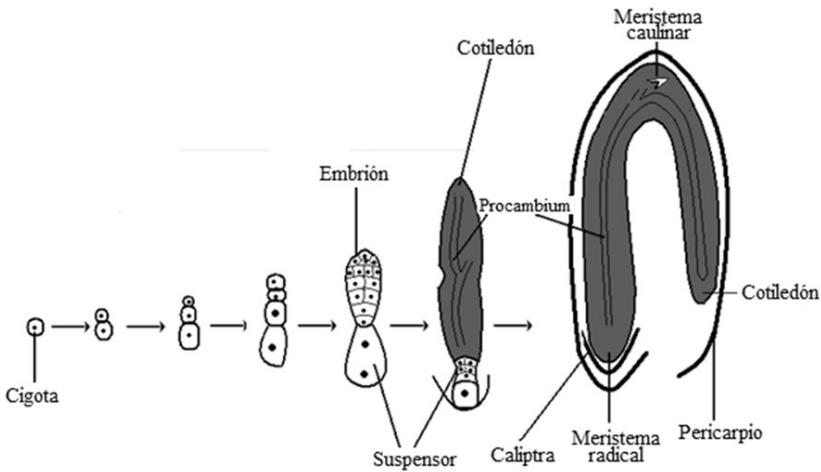


Fig. 3.4. Secuencia de la embriogénesis de la una monocotiledónea típica

Por encima de la inserción de los cotiledones se desarrolla un pequeño entrenudo denominado epicótilo que contiene la plúmula constituida por la yema apical y los primeros primordios foliares.

En muchas gramíneas, como el trigo (*Triticum* sp.) y el arroz (*Oriza sativa*), en posición opuesta al escutelo o cotiledón, se presenta una excrescencia o escamita denominada epiblasto cuya naturaleza morfológica se discute. Sin embargo, prevalece la idea de que se trata de un segundo cotiledón atrofiado o rudimentario, ausente en algunas gramíneas como el maíz (*Zea mays*).

Por debajo del nudo cotiledonar se desarrolla una corta porción del eje caulinar llamado hipocótilo que se continúa con la radícula sin un límite preciso. En efecto, las observaciones anatómicas de esta porción del eje embrionario no permiten determinar claramente los límites, ya que los tejidos de conducción de cada órgano, que permitirían su identificación, no se diferencian hasta después de iniciado el proceso de germinación. La radícula o rudimento radical se continúa con la base del hipocótilo y presenta su ápice dirigido hacia la micrópila.

En el embrión de las gramíneas, la radícula está protegida por una vaina cerrada, la coleoriza, la cual se desgarrará durante la emergencia radicular.

En ciertos casos, el embrión puede tener una pobre diferenciación, tal como se presenta en el género *Cuscuta*, el cual sólo presenta plúmula, carece de cotiledones y de radícula. El caso extremo lo muestra la familia Orquidáceas, cuyos embriones diminutos están constituidos por una masa indiferenciada de células meristemáticas.

Generalmente, las semillas poseen un único embrión; sin embargo, en ocasiones es posible observar la presencia de embriones múltiples o poliembrionía. Esta característica está ampliamente distribuida en el reino vegetal y es común en cítricos. De todos modos, finalmente sólo se completa el desarrollo de un solo embrión dentro de la semilla, tal vez como consecuencia de un mejor abastecimiento nutritivo desde las partes fotosintéticamente activas de la planta.

El embrión puede adoptar distinta forma, tamaño y posición dentro de la semilla. Así, puede ubicarse en posición basal, periférico o axial y además, cada una de ellas puede tener variantes características en las diferentes especies.

3.2. Reservas

Constituyen la fuente energética de la que depende la plántula hasta alcanzar la autosuficiencia por medio del proceso fotosintético. Las reservas alcanzan su lugar de acumulación por translocación, vía floemática, de sacarosa, principal forma de transporte del carbono fijado. Generalmente, el aporte proviene de la síntesis contemporánea al desarrollo del fruto que ocurre en las áreas fotosintéticas, siendo las más comprometidas las más cercanas al fruto en formación. Tal es el caso de los cereales, cuyos granos reciben un importante suministro de carbohidratos sintetizados por la última hoja, llamada hoja bandera, y por la propia espiga. También en girasol (*Helianthus annuus*) el aporte fundamental para el llenado del fruto se realiza sobre la base de la fotosíntesis contemporánea, fundamentalmente de las hojas superiores. De allí la importancia, en estas especies, del mantenimiento del área foliar, libre de enfermedades y fotosintéticamente activa hasta etapas avanzadas del ciclo biológico. También contribuyen al llenado de los frutos los asimilados generados por fotosíntesis previa y acumulados transitoriamente en otros órganos como tallos y raíces. Estos son removilizados hacia los frutos en crecimiento, en una magnitud variable según la especie.

Cabe aclarar que tanto la cantidad como la calidad de las fracciones de los compuestos almacenados se pueden ver seriamente alterados en función de las condiciones ambientales existentes durante la acumulación de las reservas. Estos efectos son, en muchos casos, bien conocidos y es posible seleccionar el genotipo más adecuado a un ambiente determinado. Por otro lado, se pueden adoptar diferentes prácticas agronómicas, como poda y raleo de frutos, a efecto de orientar la producción hacia los objetivos cualitativos y cuantitativos deseados por el productor.

3.2.1. Tipo de reservas y clasificación de las semillas

Los carbohidratos transportados son transformados metabólicamente y acumulados básicamente como carbohidratos, proteínas y/o lípidos. Esos componentes de las reservas no son excluyentes unos de otros, sino que se presentan en diferentes semillas con contenidos relativos variables lo cual determina la caracterización y clasificación de las semillas. Un caso típico lo muestra la semilla de maíz que presenta reservas de aceite en el embrión, más específicamente en el escutelo, aunque las mayores reservas son de almidón que se almacenan en el endosperma.

3.2.1.1. Carbohidratos. Semillas Amiláceas

Son aquellas que contienen más del 50% de hidratos de carbono, tal como ocurre en los cereales. Así, en trigo, avena, cebada, centeno, maíz, sorgo y arroz, alrededor del 80% del peso de la materia seca total corresponde a carbohidratos, predominando el almidón y en menor proporción celulosa, hemicelulosa y también dextrinas y azúcares.

El almidón es un polisacárido de reserva, polímero de D-glucosa con uniones α 1:4 y α 1:6. Se sintetiza a partir de la sacarosa proveniente del flujo floemático, la cual se convierte en primer término en fructosa y luego en difosfato de glucosa ligado a nucleótidos. Finalmente, el difosfato de glucosa y adenosina libera moléculas de glucosa que se van uniando, básicamente, en forma lineal con leves ramificaciones. Esta estructura de cadena recta, la **amilosa**, está formada por cientos a miles de unidades de glucosa. Asimismo, las uniones se pueden dar en forma muy ramificada generando una extensa estructura de miles a cientos de miles de moléculas de glucosa, la **amilopectina**. La proporción de amilosa y amilopectina es una característica distintiva de las diferentes especies. En general, en los granos con reservas amiláceas el componente principal del almidón lo representa la amilopectina con valores entre el 70 y 80 % del almidón total.

El almidón se sintetiza en los cloroplastos de las células del tejido fotosintético o clorénquima rico en estas organelas. Posteriormente, el almidón es degradado y resintetizado en los amiloplastos como almidón de reserva. Éstos adoptan la forma de gránulos de tamaño y forma variables: esférica, lenticular,

fusiforme o angular. La acumulación del almidón se realiza formando estratos, en capas concéntricas alrededor de un punto o centro de formación llamado hilo. El mismo puede ubicarse en posición central o excéntrica. Los amiloplastos pueden presentar un hilo único en cuyo caso se denominan simples, cuando se forman dos o más hilos, se denominan compuestos. El trigo (*Triticum aestivum*) presenta un hilo único en posición central, al igual que el maíz (*Zea mays*) y en el género *Solanum*, como el caso de la papa (*Solanum tuberosum*) el hilo adopta una posición excéntrica (Fig. 3.5). Por otro lado, la batata (*Ipomoea batatas*) y la avena (*Avena sativa*) se caracterizan por presentar amiloplastos compuestos (Fig. 3.6). Las caracterizaciones de estas organelas constituyen una apreciable herramienta para comprobar la materia prima en la elaboración de los alimentos.

Cuando la membrana del amiloplasto se rompe se liberan “granos de almidón”.

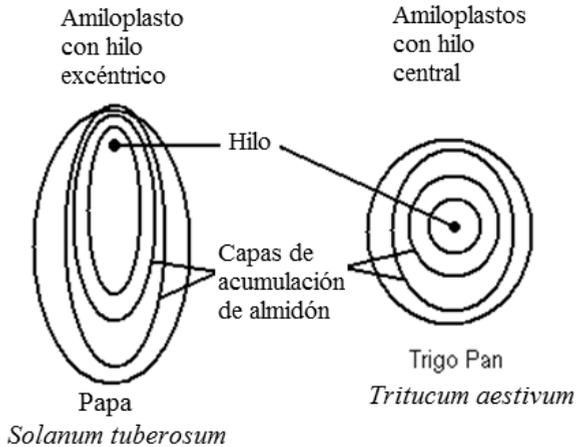


Fig. 3.5. Esquema de amiloplastos simples con hilo excéntrico y central

La presencia de almidón es fácilmente comprobable pues frente al reactivo “lugol” (solución acuosa de yodo y yoduro de potasio) desarrolla un color azul. En realidad, la amilopectina toma una coloración rojiza, pero es enmascarada por la reacción azul de la amilosa.

Otro carbohidrato de importancia es la **celulosa**, componente fundamental de las paredes celulares. La celulosa es un polisacárido, polímero de residuos de glucosa unidos covalentemente por enlaces glucosídicos β 1-4. En principio, dos moléculas de glucosa se unen para formar el disacárido celobiosa. Éste, por polimerización, genera celulosa en cadenas lineales, constituidas por un número variable de monómeros que en paredes primarias es cercano a 2.500 y en secundarias pueden oscilar entre 8.000 y 15.000.

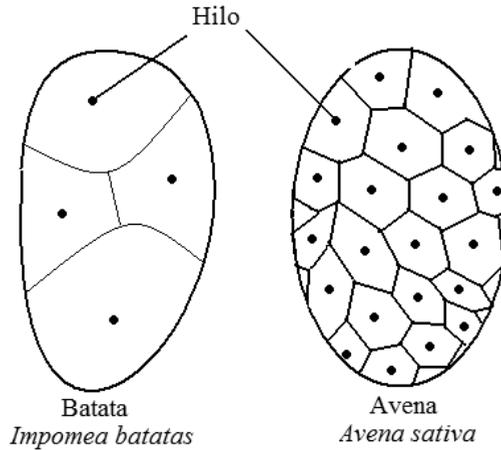


Fig. 3.6- Esquema de amiloplastos compuestos

La **hemicelulosa** es un componente de la laminilla media y de la pared primaria. Está compuesta por un conjunto de polisacáridos. Hay diversos tipos de hemicelulosa, pero todas se caracterizan por tener una cadena troncal formada por un azúcar principal, generalmente glucosa en uniones β 1-4, con cortas ramificaciones laterales, comúnmente de un solo azúcar de longitud (xilanos o mananos). La hemicelulosa puede alcanzar entre el 25 y el 50% del peso en una pared primaria típica. Se dispone a lo largo y paralelamente a las microfibrillas de celulosa con las cuales se une por puentes de hidrógeno. Se destaca como sustancia de reserva en las paredes celulares de tejidos de acumulación de algunas semillas como las de cafeto (*Coffea arabica*), arvejas (*Pisum sativum*), datilero (*Phoenix dactylifera*) y lupinos (*Lupinus sp.*).

El género *Diospyros* (Ebenáceas), acumula sustancias de reservas en las paredes de las células parenquimáticas del endosperma. Se trata de polisacáridos no celulósicos que se depositan en capas, constituyendo una estructura resistente, pero que se descompone por la acción de enzimas digestivas que se activan durante la germinación (Fig. 3.7).

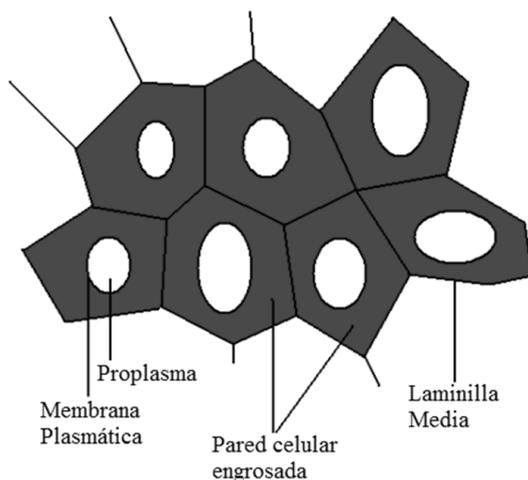


Fig. 3.7- Esquema de tejido endospermático de *Diospyros* con notables engrosamientos de paredes celulares.

3.2.1.2. Proteínas. Las semillas proteaginosas

Son aquellas que contienen más del 35% de proteínas, tales como soja y algodón. Las proteínas pueden ser metabólicamente activas, como son las enzimas y las nucleoproteínas, o inactivas que cumplen una función estructural o de reserva. Sobre la base de su solubilidad, es posible diferenciar básicamente cuatro clases de proteínas: **albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas**. Las albúminas son solubles en agua y las globulinas son solubles en soluciones salinas diluidas. Ambas son activas, con funciones metabólicas y estructurales. Se ubican fundamentalmente en el citoplasma del embrión y no son constituyentes del gluten. Las prolaminas son solubles en soluciones acuosas de etanol y glutelinas son solubles en soluciones de ácidos y bases diluidas y ambas constituyen el gluten, la reserva proteínica más importante en los cariopses de trigo. Tienen la capacidad de retención del dióxido de carbono liberado durante la fermentación y, en consecuencia, posibilitan el elevado de la masa para la fabricación de pan de buena calidad. En resumen, las prolaminas y glutelinas son las proteínas de reserva en cereales y las globulinas son las proteínas de reserva en las dicotiledóneas.

Las proteínas se encuentran en todos los tejidos de las semillas, pero las mayores concentraciones se presentan en el embrión. En el caso de los cereales se destaca su presencia en el embrión y en la capa de aleurona, mientras que en las especies dicotiledóneas, con importantes reservas proteicas, se ubican fundamentalmente en los cotiledones.

La Figura 3.8 muestra un corte de semilla de *Cuphea glutinosa* (Angiospermas Dicotiledónea Litrácea) con cuerpos proteicos que se presentan abundantemente como reserva proteica en los cotiledones de esta especie.

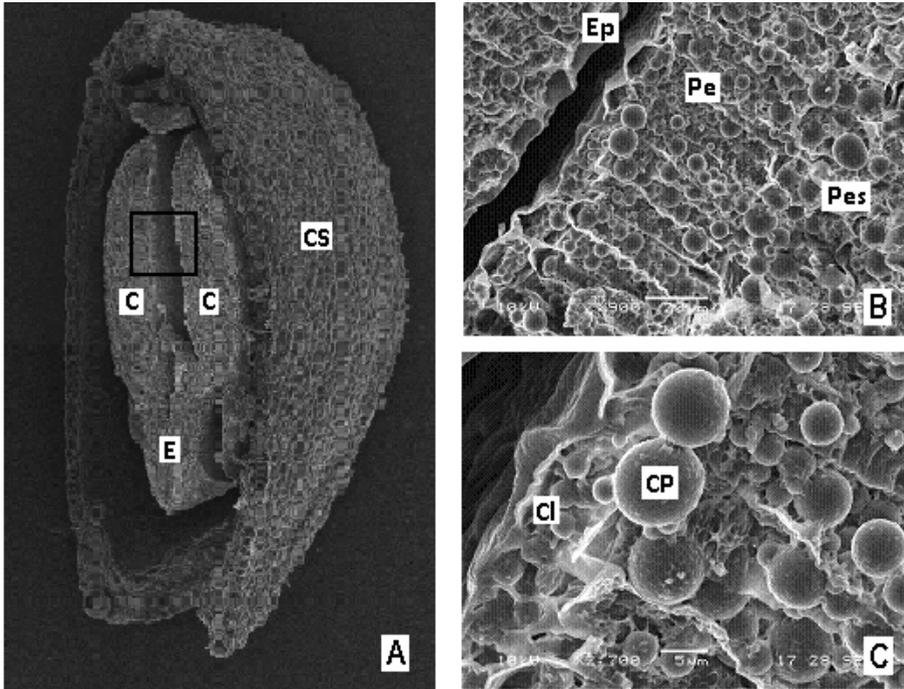


Fig. 3.8. Corte longitudinal de semilla de la dicotiledónea *Cuphea glutinosa*. A: Vista general (MEB 70X), B: Detalle de cotiledón con vista de parénquimas (MEB 900X), C: Vista de cuerpos lipídicos y proteicos de parénquima en empalizada (MEB 2700X). Imágenes tomadas de Di Santo *et al.* 2012. (C: cotiledón, E: Eje embrionario, CS: Cubierta seminal, Ep: Epidermis adaxial, Pe: Parénquima en empalizada, Pés: Parénquima esponjoso).

Las proteínas están compuestas por un número limitado de aminoácidos. Ellos son de fundamental importancia en la nutrición humana y animal, ya que algunos son esenciales, lo cual define la calidad nutritiva del grano. Algunos de estos aminoácidos son sintetizados por las hojas y raíces, y transportados vía floema a la semilla. Otros, tales como tirosina, leucina, fenilalanina, lisina y arginina no se hallan en el floema, por lo cual deben ser sintetizados *in situ* antes de que comience la acumulación de las proteínas correspondientes, lo que ocurre en polisomas asociados al retículo endoplásmico.

En consecuencia, las proteínas de reserva deben ser sintetizadas en el lugar de destino a partir de los compuestos fundamentales para su síntesis, translocados vía floemática como aminoácidos, amidas y otros compuestos ricos en nitrógeno como ureídos. Diferente situación se presenta con el nitrógeno inorgá-

nico que se transporta por el xilema preferentemente en forma de nitrato. Éste se reduce a amonio y se incorpora a esqueletos carbonados para la síntesis de aminoácidos, los cuales pueden formar proteínas.

En la mayoría de las plantas, ya sean leguminosas con alto contenido proteico en sus semillas o gramíneas anuales con mínimas acumulaciones y que no fijan nitrógeno, se verifica una importante movilización vía floema de compuestos nitrogenados desde las partes vegetativas, durante el crecimiento del grano. Esta etapa, en plantas anuales, corresponde a un avanzado estado del ciclo ontogénico en el cual disminuye progresivamente el nivel fotosintético por reducción de la superficie foliar dada la senescencia de las hojas inferiores. En consecuencia, los aportes más importantes provienen de los estratos superiores de las hojas más cercanos al destino, en particular en las etapas avanzadas del ciclo ontogénico.

En consecuencia, los aportes más importantes provienen de los estratos superiores de las hojas más cercanos al destino en particular en las etapas avanzadas del ciclo ontogénico.

El nitrógeno se encuentra participando de las proteínas foliares las cuales se ubican en gran proporción en cloroplastos, formando parte de la estructura de la enzima rubisco (ribulosa 1,5 di fosfato carboxilasa). Las hojas senescentes remobilizan el nitrógeno foliar aportando la materia prima fundamental para la síntesis proteica. Esto se magnifica ante situaciones de estrés especialmente durante el período de llenado del grano. Comparativamente, este hecho afecta en mayor medida a las especies con metabolismo C3 que a especies C4 que contienen sólo un 10% de esta enzima en relación a las especies C3.

Las reservas proteicas se agrupan en la capa de aleurona de los cereales o en los cotiledones de muchas otras especies, en particulares organelas denominadas cuerpos proteicos. Sus tamaños pueden variar entre 0,1 y 25 μm . Son de origen vacuolar y están rodeados por una membrana típica. Internamente están formados por una matriz proteinácea que en determinadas especies puede presentar diversas inclusiones.

Estudios detallados realizados con microscopía electrónica de barrido han permitido caracterizar íntimamente a los cuerpos proteicos. Los homogéneos, que se caracterizan por presentar una matriz uniforme; y los heterogéneos, que se diferencian de los anteriores por presentar inclusiones que le otorgan a la matriz un aspecto irregular. Estas inclusiones, variables en su tamaño y forma de acuerdo a sus contenidos, pueden ser globoides o cristaliodes, y se reconocen en función de la electrodensidad. Las inclusiones globiodes muestran la presencia de pequeños cuerpos generalmente esféricos, constituidos por acumulaciones proteicas no cristalinas inmersas en la matriz del cuerpo proteico y a veces constituidas por asociaciones de proteínas y carbohidratos. También se incluye en este tipo la fitina, que asocia a su estructura cationes esenciales. Estas inclusiones son particularmente importantes pues constituyen una fuente fundamental de reservas seminales por el aporte de fosfatos y elementos minerales esenciales como calcio, magnesio, potasio, hierro, cinc, cobre y fósforo. Las inclu-

siones cristaloides son generadas por la presencia de concentraciones de proteínas insolubles en la matriz del cuerpo proteico. Raramente pueden presentarse otras estructuras cristaloides que son las mineralizaciones, representadas por drusas las cuales son acumulaciones de oxalato de calcio.

En algunos casos, las proteínas se ubican primero en estructuras transitorias como en las células del tejido nucelar y aún en el endosperma y luego son removilizadas hacia los cotiledones. Otras, en cambio, se acumulan definitivamente en el endosperma de donde sólo se movilizan durante la germinación. A modo de ejemplo se puede citar el caso del maíz, cuya mayor reserva proteica son las zeínas. Éstas son proteínas del tipo de las prolaminas, por lo tanto insolubles en agua, que se van acumulando durante el desarrollo y maduración del grano. Se depositan en todo el endosperma, pero muy abundantemente en conspicuos cuerpos proteicos de las células que constituyen la aleurona y subaleurona.

Por otra parte, el tipo de reserva acumulada, en muchos casos, no es estática. Frecuentemente ocurren variaciones en las proporciones de las fracciones proteicas por interconversiones metabólicas de unas a otras. Esto ocurre en función de las diferentes condiciones ambientales durante el período de llenado y maduración del fruto.

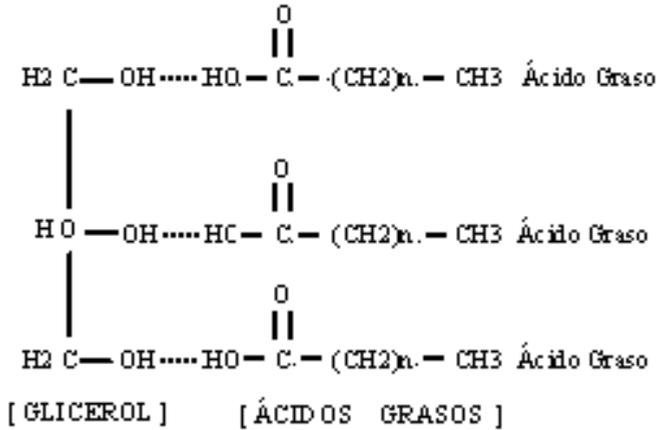
3.2.1.3. Lípidos. Semillas Oleaginosas

Las semillas oleaginosas son aquellas que contienen más del 35% de lípidos, tales como girasol, lino, colza, ricino y maní. Las grasas no son transportadas por los elementos de conducción de la planta, por lo que deben ser sintetizadas *in situ* a partir de la sacarosa y otros azúcares transportados por el floema. La síntesis es compleja e involucra diferentes compartimientos celulares como son el retículo endoplásmico liso, el citosol y plastidios, ya que en ellos se localizan las enzimas necesarias para cumplir con el ciclo biosintético.

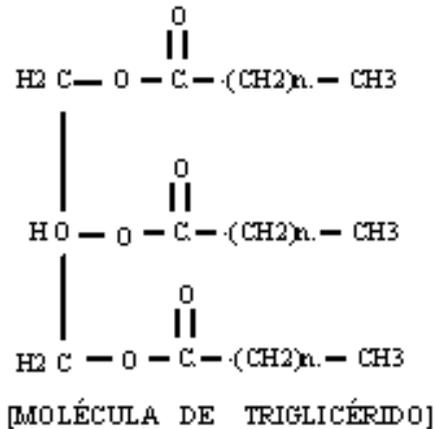
La síntesis se produce por condensaciones sucesivas de acetyl CoA que van generando largas cadenas hidrocarbonadas que varían entre los 12 y 20 átomos de carbono, por lo común entre 16 y 18. Cuando el ácido graso posee algún enlace doble se dice que es insaturado. Esta es la forma más abundante en vegetales, como los ácidos grasos oleico (18:1), linoleico (18:2), linolénico (18:3) y araquidónico (18:4). Más escasas se presentan las formas saturadas, es decir que carecen de dobles ligaduras en la cadena carbonada, como son los casos de los ácidos grasos láurico (12:0), mirístico (14:0), palmítico (16:0) y esteárico (18:0), entre otros. La presencia de abundantes ácidos grasos saturados en vegetales es excepcional y como ejemplo podemos citar el cocotero (*Cocos nucifera*) y la palma aceitera (*Elaeis guineensis*).

Los lípidos se acumulan en el citoplasma de las células de los cotiledones o del endosperma, en estructuras especiales llamadas oleosomas, esferosomas o cuerpos lipídicos derivadas del retículo endoplásmico (Fig. 3.8). Son de forma aproximadamente esférica y con diámetros que varían entre 0,5 a 2,0 μm , según

mediciones realizadas en numerosas especies. Se caracterizan por poseer lo que se denomina "simple unidad de membrana", es decir una monocapa de fosfolípidos orientados con sus cabezas polares hacia el citosol y las colas hidrofóbicas hacia el interior de la organela en contacto con los lípidos contenidos. Las reservas lipídicas, químicamente adoptan la forma de triglicéridos, los cuales se forman a través de uniones éster de tres ácidos grasos a una molécula de glicerol proveniente de la reducción de la dihidroxiacetona fosfato que ocurre durante la glucólisis, según la siguiente reacción:



Por esterificación con eliminación de tres moléculas de agua se genera:



Dentro de los esferosomas los lípidos pueden también acumularse, aunque en menor proporción, como fosfolípidos (ácido fosfatídico, fosfatidil colina - lecitina-) y glucolípidos (mono y digalactosil diglicérido).

El almacenamiento de reservas lipídicas se ha estudiado fundamentalmente en dicotiledóneas y se pueden distinguir tres etapas:

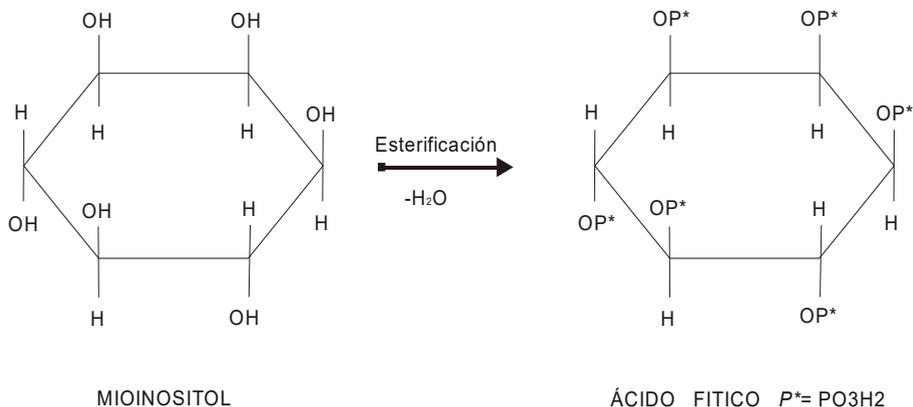
a- Etapa inicial: en la cual no hay síntesis de ácidos grasos debido a la carencia de enzimas específicas. Este período depende de la especie, pero en general es superior a los 20 días desde la polinización, tal como está reportado para *Ricinus* y *Brassica*.

b- Etapa rápida: ocurre a continuación de la anterior y se caracteriza por una rápida acumulación de ácidos grasos, en la cual se completa el 90% del total acumulado en cuerpos lipídicos. Esta etapa puede durar otros 20 días.

c- Etapa final: concluye la deposición de ácidos grasos lo que coincide con la deshidratación de las semillas. Se especula que en esta etapa se destruyen las enzimas asociadas a la biosíntesis de triglicéridos.

3.2.1.4. Fitina

Es un tipo de reserva cuantitativamente menos importante. Sin embargo, constituye una fuente fundamental de las reservas seminales por el aporte de fosfato y elementos minerales esenciales. Se obtiene por esterificación del mioinositol, un alcohol polihidroxiado, con ácido fosfórico que genera la formación de ácido fítico. Éste permite la formación de sales, conocidas como fitinas, al intercambiar los hidrógenos del ácido por elementos inorgánicos esenciales como calcio, magnesio, potasio, hierro, cinc, cobre, etc., como se puede ver a continuación:



La fitina se acumula adoptando la forma globular dentro de los cuerpos proteicos. Se ubica tanto en el endosperma como en las diferentes zonas del embrión, tales como hipocótilo y radícula.

La siguiente figura (3.9) representa un patrón general de los eventos que ocurren durante el desarrollo, división y expansión celular, y acumulación de los diferentes productos de almacenamiento en una leguminosa.

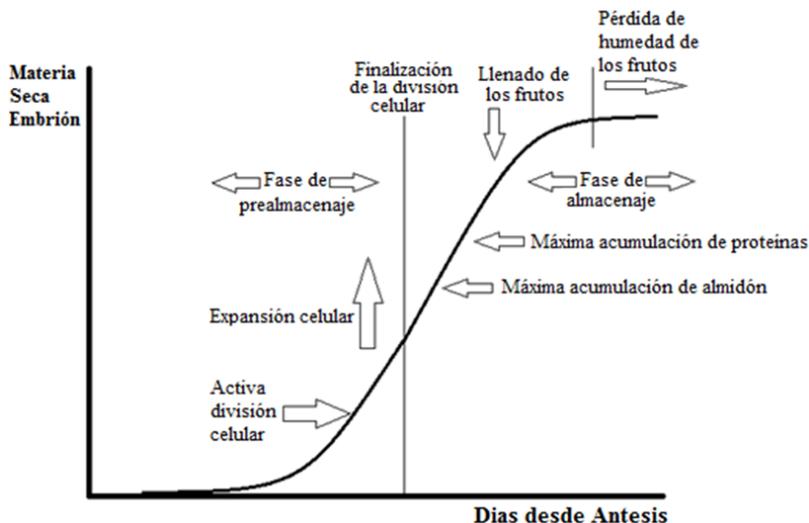


Fig. 3.9. Patrón general de los principales eventos fisiológicos durante el proceso de crecimiento y acumulación de reservas (aumento de la biomasa) de una leguminosa. (Adaptado de Dure *et al.* 1981 y Patric *et al.* 2003)

3.2.2. Clasificación de las semillas según la ubicación de las reservas

Según la compartimentalización de las principales reservas acumuladas, las semillas pueden clasificarse, básicamente, en tres tipos: cotiledonales, endospermadas y perispermadas.

3.2.2.1. Semillas cotiledonales

Son aquellas cuyas reservas se encuentran alojadas en el embrión, es decir, en el o los cotiledones. En numerosas especies ellos constituyen el único depósito nutritivo del cual dependerá la plántula hasta lograr la autosuficiencia trófica luego de la emergencia. Se destacan las familias Cucurbitáceas, Fabáceas (Fig. 2.1a - Poroto), Compuestas y Crucíferas por poseer conspicuos cotiledones que constituyen la mayor parte de la semilla. Comúnmente, las reservas se depositan como cuerpos grasos y proteicos que se alojan en el mesófilo, generalmente poco diferenciado, en empalizada y esponjoso.

En los casos de germinación epigea de las dicotiledóneas (Fig 4.8), los cotiledones constituyen las “primeras hojas” emergentes. Éstas contribuyen al desa-

rrollo de la plántula por translocación de las reservas nutritivas acumuladas y por aporte de material generado por la fotosíntesis a partir de la emergencia y del desdoblamiento del gancho plumular que permite la exposición de los cotiledones a la luz. En consecuencia, se constituyen en una importante fuente para el crecimiento de la plántula como se podrá ver en el Punto 4.5.

3.2.2.2. Semillas endospermadas

Son aquellas que poseen las reservas compartimentalizadas fuera del embrión, en el endosperma. Se trata de un tejido triploide ($3n$) de origen sexual, obtenido en la fecundación de las angiospermas, al unirse una de las gametas masculinas con la célula doblemente nucleada del gametofito femenino. Este endosperma es propio de las angiospermas, muy notable en gramíneas (Fig. 2.1b - maíz) y se lo denomina también endosperma secundario. Está compuesto por una capa externa de un espesor de dos a cuatro células vivas llamada capa de aleurona, que acumula reservas proteicas; también por una zona central que corresponde al endosperma amiláceo (Fig. 3.1), constituido por células metabólicamente inactivas a la madurez, que acumula principalmente almidón y una cantidad variable de proteínas y lípidos, según la especie.

A diferencia del anterior, el endosperma presente en gimnospermas se lo denomina endosperma primario. Es un tejido haploide materno, derivado del gametofito femenino que está presente antes de producirse la fecundación simple, que origina únicamente al embrión.

3.2.2.3. Semillas perispermadas

Son aquellas cuyas reservas se encuentran fuera del embrión, en el perisperma. Deriva del desarrollo de la nucela que es tejido nutricional, diploide, de origen materno que se ubica en el centro del óvulo y generalmente es consumido durante el desarrollo del mismo. Sin embargo, en algunas especies persiste, acumula reservas y se constituye en la principal fuente energética que aportará los sustratos respirables para sostener el crecimiento del embrión durante la germinación. Tal situación se presenta en las familias Amarantáceas, Cariofiláceas, Quenopodiáceas y Poligonáceas, entre otras.

Como vemos, una forma de caracterizar a las semillas es en función de la ubicación de sus reservas principales. Pero se debe tener en cuenta que en una misma semilla pueden coexistir reservas compartimentalizadas en diferentes sitios. Es común encontrar simultáneamente endosperma y perisperma como se presenta en Piperáceas y Ninfáceas o en remolacha (Fig. 3.10).

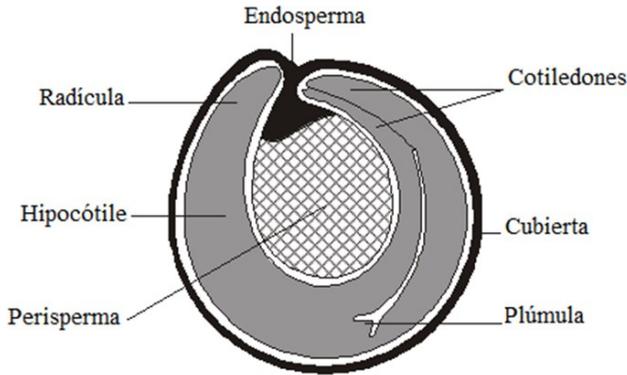


Fig. 3.10. Depósito de reservas en cotiledones, endosperma y perisperma en remolacha. (*Beta vulgaris*)”.

Asimismo, las reservas pueden ser cambiantes a lo largo del desarrollo de la semilla. De hecho, inmediatamente después de la doble fecundación, las reservas se concentran en el endosperma y son transferidas al embrión durante su crecimiento y desarrollo como en la cebolla (Fig. 3.11); en esta especie permanece también un resto nucelar en la semilla madura. En algunos casos, las reservas pasan totalmente a los cotiledones como ocurre en semillas de leguminosas.

En otros casos puede haber acumulación de reservas en el tejido nucelar, lo que generará una semilla de tipo perispermada, pero posteriormente estas reservas pueden ser consumidas por los cotiledones, con lo cual la semilla finalmente se clasifica como cotiledonal con resto nucelar.

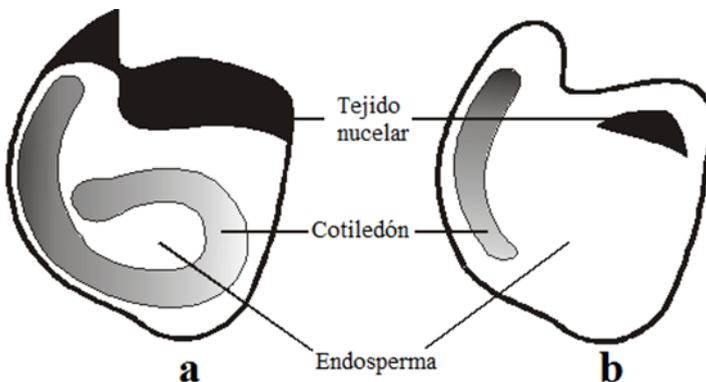


Fig. 3.11. Variación en la distribución de las reservas en -a- semilla madura y -b- semilla inmadura de cebolla.

3.3. Cubiertas

Las cubiertas constituyen el tegumento que rodea y protege a la semilla. Se denomina también tegumento seminal o episperma.

Las cubiertas corresponden a tejidos $2n$ de origen materno, ya que derivan del desarrollo de las envolturas que cubren y protegen al óvulo. Surgen desde la base de la nucela y rodean íntegramente al óvulo excepto en la zona apical. Esto genera una depresión a modo de canal o abertura, la micrópila. Por allí eventualmente penetrará el tubo polínico en el caso de la fecundación porogámica. Comúnmente, se presentan dos tegumentos: el originado en primer término, que tomará la posición externa y se lo denomina primina, y el que se origina posteriormente, que se ubicará por debajo del anterior, denominado secundina. En los casos de presentarse otras capas de protección se las denomina secuencialmente como terciña, cuartina y quintina.

Por lo común, la cubierta externa de la semilla es de consistencia dura y se la denomina testa, que generalmente proviene, aunque no necesariamente, de la primina. Por debajo de ésta suele presentarse una segunda capa de consistencia más blanda denominada tegmen o endopleura que corresponde, aunque no necesariamente, a la secundina.

Existen grandes diferencias estructurales en las cubiertas. Una de las más simples está presente en orquidáceas, cuyo embrión poco diferenciado está rodeado de una monocapa de células alargadas que derivan del tegumento externo del óvulo. Además, entre el embrión y la testa membranosa, queda encerrada una capa de aire que facilita la dispersión anemófila.

Para establecer con precisión el origen de las cubiertas seminales, es decir, cual tegumento del óvulo interviene en su formación, se requiere el seguimiento ontogénico en cada caso. En algunos casos estas estructuras son digeridas por el propio desarrollo del óvulo, quedando finalmente la semilla envuelta sólo por la testa o, en algunos casos, únicamente por la parte más externa del endosperma. Por ejemplo, en algunas monocotiledóneas como maíz (*Zea mays*) los tegumentos son digeridos y quedan representados por una delgada capa adherida a la semilla. En algunos géneros de las compuestas, como lechuga (*Lactuca sativa*), el tegumento persiste como una minúscula capa de células, de manera que las cubiertas, casi en su totalidad, derivan de las paredes ováricas. Otra situación se presenta en las familias Litráceas y Aristoloquiáceas que desarrollan su cubierta seminal con la participación de ambos tegumentos del óvulo, pero además con una capa más interna que deriva de la nucela.

La dureza de las cubiertas está dada por la presencia de tejido esclerenqui-mático, representado por diversas células de paredes fuertemente engrosadas que incluyen lignina. El contenido de lignina juega un importante rol en la resistencia al daño mecánico y su presencia disminuye el grado de permeabilidad de las cubiertas, lo que se relaciona con una situación fundamental como es la de regular la velocidad de imbibición, como se explicará más adelante cuando se trate el tema de hidratación de la semilla (Sec. 4.2.1).

En algunas especies como algodón (*Gossypium hirsutum*), y en la mayoría de las leguminosas se presenta una capa característica de células radialmente alargadas, ubicadas en forma de empalizada y sin espacios intercelulares. Se la denomina capa de Malpighi o células malphigianas, en honor a su descubridor. Estas células son macroesclereidas, cuyas paredes poseen espesamientos de celulosa que pueden estar acompañados por lignina y taninos. Por debajo de ellas suele presentarse una o más capas de células en forma de hueso llamadas osteoesclereidas, de gruesas paredes lignificadas, que pueden contener pigmentos (Fig. 3.12). Las características mencionadas en cuanto a tipo, disposición de células y presencia de pigmentos tienen un importante valor taxonómico.

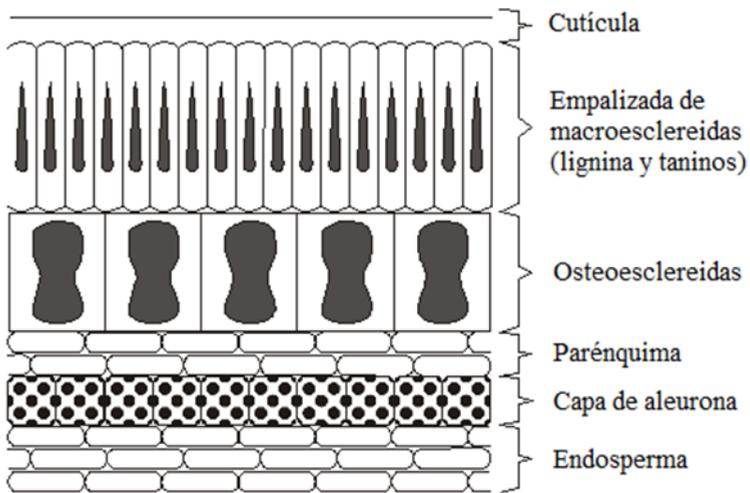


Fig. 3.12. Anatomía típica de una cubierta seminal en corte transversal.

La lignina es un polímero natural que se presenta en diferentes tejidos vegetales confiriendo resistencia. Sin duda, este compuesto ha jugado un rol decisivo en la evolución, particularmente formando parte de estructuras fundamentales necesarias para la conquista del ambiente terrestre. En efecto, el transporte de agua a distancias considerables y los tejidos de sostén para soportar el efecto de la gravedad dependieron de la presencia de lignina. Es el compuesto orgánico más abundante sobre la tierra luego de la celulosa, con la cual se enlaza covalentemente, y también con otros polisacáridos de las paredes celulares. Estas uniones dificultan su extracción en forma pura, lo cual impide conocer su estructura específica. No obstante, el análisis de compuestos intermedios ha permitido reconocer que generalmente está compuesta por tres tipos de alcoholes aromáticos, fenilpropanos de estructura (C₆ - C₃), como son el coniferol, el sinapol y el p-cumarol (Fig. 3.13).

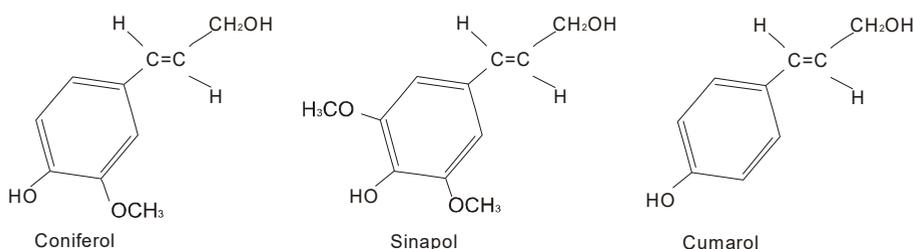


Fig. 3.13. Esquema de los tres tipos de alcoholes aromáticos más comunes presentes en la construcción de la lignina.

Estos alcoholes se unen formando polímeros a través de la acción de enzimas peroxidasas. Generan una compleja estructura tridimensional pero no repetitiva, de manera que cada molécula de lignina es de alguna manera original y, tal vez, única. Por otra parte, la presencia de lignina se relaciona a mecanismos de defensa contra la herbivoría, ya que disminuye la palatabilidad y digestibilidad de los órganos de posible consumo. Asimismo, constituye una protección contra el ataque de insectos y patógenos.

En las cubiertas seminales frecuentemente ocurren crecimientos superficiales localizados en diversos puntos denominados arilos. Si bien este término se ha utilizado con gran amplitud, el uso frecuente lo refiere a las excrecencias carnosas de las semillas que adoptan diferentes denominaciones según su ubicación. Así, cuando el arilo se forma a partir del funículo, como ocurre en acacias (*Acacia sp.*) o del rafe como en el género *Chelidonium*, se lo denomina estrofilo. Cuando se origina a partir de la micrópila, se denomina carúncula como ocurre en ricino (*Ricinus communis*), en nuez moscada (*Myristica fragrans*) y en algunas especies del género *Euphorbia* como *Euphorbia elioscopia*. La presencia de arilos está relacionada con la dispersión de las semillas. Así, los estrofilos desarrollados en plantas acuáticas como el irupé (*Victoria cruziana*), generan una acumulación de gases entre los tegumentos internos que le permiten la flotación y, en consecuencia, la diseminación por el agua. Por otra parte, los arilos pueden constituirse en depósitos de aceites como se presentan en reseda (*Reseda odorata*), en ricino (*Ricinus communis*) y en muchas otras especies. En estos casos se los denomina eleosomas, para designar la presencia de reservas nutricias exteriores a la semilla. Las sustancias contenidas constituyen un gran atractivo para ciertos insectos, principalmente hormigas, que utilizan estos nutrientes sin dañar el embrión pero contribuyendo efectivamente a su diseminación. Por otra parte, el contenido de aceites esenciales de ciertos arilos como los presentes en semillas de nuez moscada (*Myristica fragrans*) se utilizan en perfumería.

En otros casos, la testa adopta una consistencia carnosa y blanda que envuelve completamente al endosperma y al embrión, que se denomina sarcotesta.

La presentan las semillas de algunas gimnospermas como *Cyca revoluta* y *Ginkgo biloba*. Los ejemplares femeninos de esta especie producen semillas con una cubierta rica en ácido butírico, que es un ácido graso de cadena corta, muy volátil que produce el característico olor a manteca rancia.

Las cubiertas que envuelven a la semilla cumplen la función de protección contra heridas, daño por pájaros o roedores, pero también pueden contribuir a su dispersión. En muchos casos, la propia testa aporta prolongaciones, tal como los pelos presentes en las semillas del algodón (*Gossypium hirsutum*) y tomate (*Lycopersicon esculentum*). En otros casos (frutos) es el pericarpio dilatado en forma de ala como en el Jacarandá (*Jacaranda mimosifolia*) o como se presentan en las sámaras de olmos (*Ulmus* sp.) y fresnos (*Fraxinus* sp.).

En ocasiones las cubiertas presentan mucílagos, que ayudan a la diseminación de los frutos al adherirse a animales, maquinarias, etc., y ser depositados en lugares muy alejados de la planta madre. En situaciones con agua excesiva, las semillas llegan a cubrirse completamente de mucílago que puede impedir la germinación a través de la limitación del intercambio gaseoso con el medio. Pero, simultáneamente, la presencia de mucílago contribuye a disminuir el peso específico del fruto, lo que haría posible su flotación y una efectiva dispersión por el agua.

Sin embargo, las cubiertas también pueden actuar en sentido contrario evitando la dispersión. Así, en semillas de lino (*Linum usitatissimum*) durante el desarrollo de la testa se generan células mucilaginosas. Éstas presentan paredes celulares con una importante matriz péctica, compuesta fundamentalmente por ácidos glucorónico y galacturónico que le confieren una enorme capacidad para hidratarse y generar una película viscosa o gelatinosa. En estos casos, al caer los frutos y humedecerse, quedan adheridos al suelo lo que impide que sean llevados a lugares desfavorables y eventualmente evita su desecación.

La presencia de mucílagos se da en varias familias, tales como Compuestas, Crucíferas, Labiadas y Plantagináceas. Dentro de esta familia se destaca el caso de zaragatona (*Plantago psyllium*) cultivada como medicinal por sus semillas mucilaginosas.

Las cubiertas cumplen un rol estratégico en la regulación del ingreso de agua durante la primera etapa del proceso de hidratación. Este aspecto se detalla más adelante en la Sección 4.2.1, cuando se describa el proceso de hidratación. En algunas especies pueden impedir la germinación a través de algunos de los múltiples efectos como se describe detalladamente en la Sección 7.2.4.1.

Sin embargo, cuando el diseminulo es un fruto, además de las cubiertas seminales posee tejidos ováricos que se constituyen en la pared del fruto o pericarpio. Un ejemplo de interés agronómico de dicotiledóneas es el girasol (*Helianthus annuus*), cuya cáscara es el pericarpio que rodea a la semilla o pepita (Fig 3.14 y 3.15)

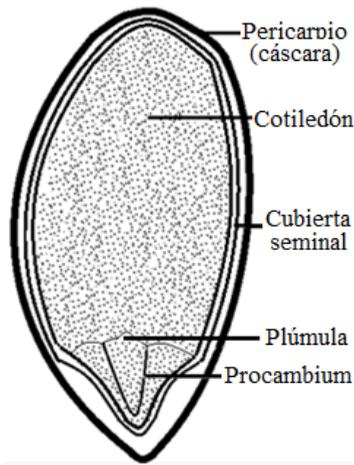


Fig. 3.14. Esquema en corte longitudinal de fruto de girasol.

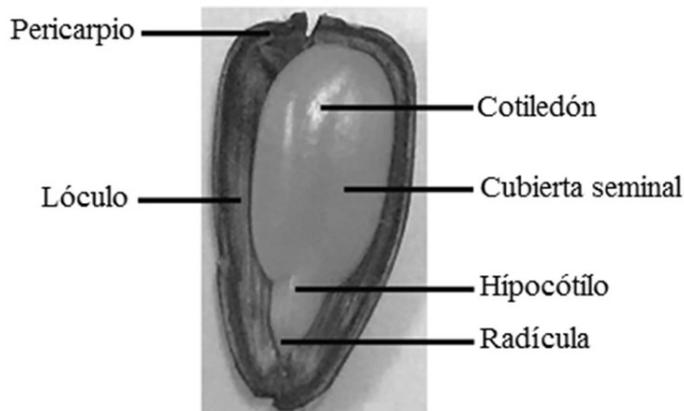


Fig. 3.15. Vista de un fruto de girasol abierto, mostrando la semilla y sus partes.

En monocotiledóneas gramíneas encontramos al pericarpio protegiendo a la semilla. La planta de trigo (*Triticum* sp.) produce un fruto monospermo, seco, indehiscente llamado cariósido, que tiene un pericarpio muy delgado pegado a la semilla (Fig. 3.16). Las capas más externas del grano constituyen el salvado, un subproducto de la molienda del grano de trigo y otros cereales. Este producto incluye también a las cubiertas seminales y la capa más externa del endosperma, rico en proteínas, que es la capa de aleurona, que no forma parte de las cubiertas.

El salvado de trigo constituye alrededor del 15% del peso del grano y contiene abundante cantidad de celulosa y en menor proporción hemicelulosa, proteínas, vitaminas, principalmente del grupo B, B1, B2, B3, B6 y B9 (ácido fólico) y sales minerales (calcio, magnesio, hierro, zinc, manganeso, cobre, selenio y fósforo).

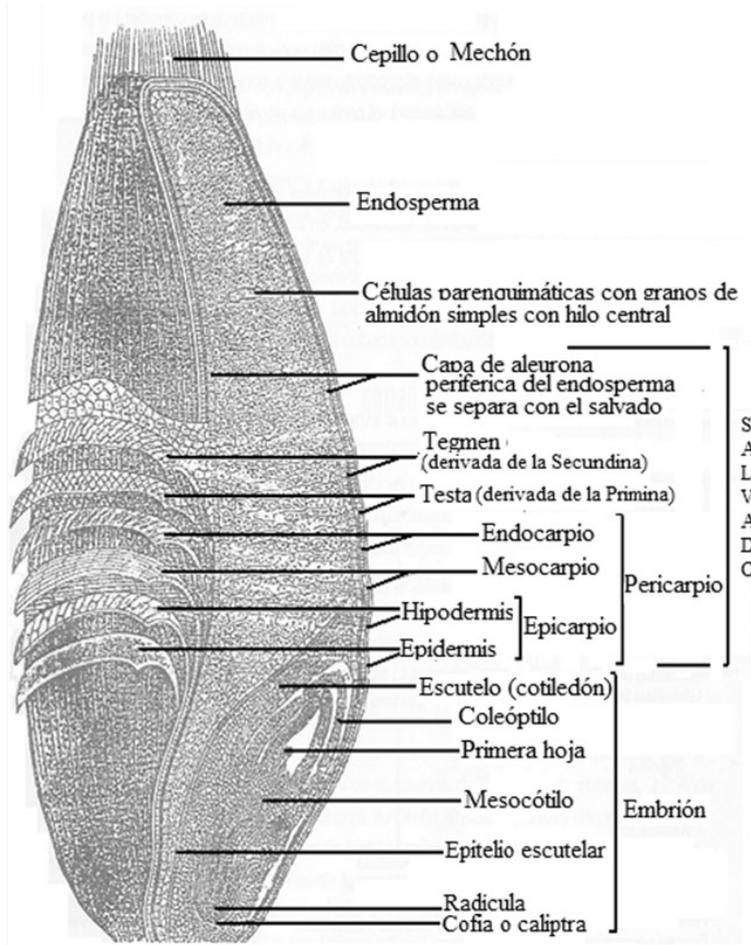


Fig. 3.16. Esquema en vista longitudinal de un cariósido de trigo.

En otros frutos uniseminados, el pericarpio juega un rol diferente al rodear a la semilla de un tejido jugoso, dulce, coloreado y brillante, sumamente atractivo para las aves. Además de constituir una valiosa fuente de alimento para ellas, al pasar por su tracto digestivo la ponen en condiciones de germinar y contribuyen a su dispersión como ocurre con el tala (*Celtis spinosa*) (Fig. 3.17).

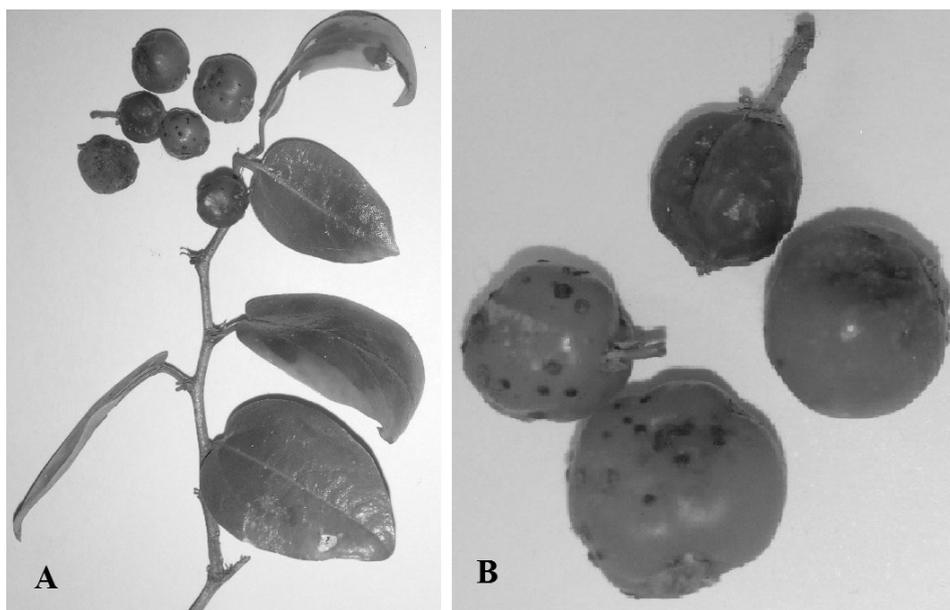


Fig. 3.17. Rama con frutos de tala (*Celtis spinosa*) y detalle de sus frutos.

Precisamente, el tala presenta una drupa globosa que al madurar muestra un color anaranjado. Su epicarpio es delgado y rodea al mesocarpio carnoso, el cual contiene un jugo dulce muy apetecido por las aves que, al ingerirlos y atravesar su tracto digestivo, ponen a la única semilla en condiciones de germinar.

4

PROCESO DE GERMINACIÓN

El proceso de germinación se puede iniciar a partir de una semilla completa y madura. La maduración se inicia cuando los procesos de crecimiento y diferenciación han concluido y se detiene progresivamente el flujo de materia y energía hacia los diferentes lugares donde la semilla acumula sus reservas, sea en los cotiledones, en el endosperma o en el perisperma según la estrategia de acumulación de reservas propias de cada especie. Estos hechos van ocurriendo a medida que progresa la desconexión entre el tejido de conducción del tallo, pedúnculo y semilla, lo que determina su independencia energética. El proceso de deshidratación se ve acelerado por los bajos potenciales agua de la atmósfera los cuales se ven influenciados por la temperatura y la humedad relativa del ambiente.

En esta situación, la semilla se encontraría en **madurez fisiológica**. Significa que ha completado los principales parámetros de acumulación; esto es, que alcanza el máximo de peso seco y consecuentemente los componentes de carbohidratos, proteínas y lípidos según corresponda al tipo de semilla.

En condiciones de madurez fisiológica, las semillas tienden a abscindir, principalmente en plantas salvajes. Sin embargo, la domesticación de las plantas ha llevado a que se hayan seleccionado características deseadas; entre otras, que las semillas permanezcan ligadas a la planta madre por tiempos más prolongados y en condiciones de muy baja actividad metabólica. Esta situación ha facilitado la recolección a través del uso de maquinarias y ha evitado las pérdidas de semillas.

Alcanzada la madurez fisiológica, la semilla tiende a perder agua paulatinamente, lo que lleva a una drástica disminución del metabolismo y a cambios estructurales reversibles, como son la reducción del número de mitocondrias, y cambios conformacionales de proteínas estructurales. Como veremos, esta situación lleva a que la semilla sea vulnerable a los daños que puede presentar una hidratación violenta, como ocurre cuando el potencial agua entre el sustrato y la semilla es muy favorable para el ingreso de agua a la misma. Cabe destacar el rol fundamental de las cubiertas seminales para regular el ingreso de agua y evitar los daños que puede generar una rápida hidratación, aspecto que se trata en el punto 4.2.1 de este capítulo.

4.1. Germinación. Definición y concepto

Una semilla completa y madura, puesta en condiciones adecuadas, podría germinar. Pero ¿qué es la germinación?, ¿cuál es su amplitud?

Desde una mirada biológica, podemos afirmar que la germinación es la reactivación del crecimiento de la planta en miniatura que se halla alojada en el

embrión. Es el crecimiento que se reanuda luego de un período de detención y permite el surgimiento de una nueva plántula que da continuidad a la especie.

Desde el **punto de vista de la tecnología de semillas**, utilizado en un laboratorio de análisis de calidad semillas, se define a la germinación como:

“La aparición y desarrollo a partir del embrión de aquellas estructuras esenciales que para un cierto tipo de semilla indica la capacidad de producir una planta normal en condiciones favorables”.

Este concepto implica un sentido amplio del proceso. Abarca desde la hidratación hasta un estado avanzado del crecimiento inicial, que incluye la presencia de hojas verdaderas.

Sin embargo, desde el **punto de vista fisiológico** se tiene una concepción más restringida del proceso, el cual se inicia con la hidratación y finaliza con la salida de la radícula, que generalmente emerge antes que la plúmula. En efecto, con pocas excepciones, la radícula es la primera estructura que emerge a través de las cubiertas seminales. Esto indicaría la finalización de la germinación y el inicio el crecimiento de la plántula.

Lo correcto, pero poco práctico, sería considerar al proceso con total amplitud. Así, algunos autores consideran el inicio con la hidratación y la finalización cuando la planta se independiza de las reservas seminales logrando su autosuficiencia a través del proceso fotosintético.

Cabe aclarar que las condiciones favorables son las indicadas en las metodologías para las pruebas de germinación, estandarizadas internacionalmente para un número muy grande de especies y detalladas en las “Reglas Internacionales para Ensayos de Semillas”, establecidas por ISTA (International Seed Testing Association). Se considera el sustrato que debe ser utilizado, la temperatura, la fecha del primer recuento y el recuento final, así como las recomendaciones adicionales para romper la dormición, en el caso que fuera necesario. Estas normas se van actualizando periódicamente en los Congresos Internacionales de Ensayos de Semillas.

4.2. Etapas

El proceso de germinación puede ser estudiado considerando tres etapas fundamentales: hidratación, activación de la respiración y crecimiento del embrión.

4.2.1. Hidratación

La actividad metabólica de las semillas maduras es extremadamente baja debido al escaso contenido de agua, generalmente inferior al 15%, en comparación con la mayoría de los tejidos activos de los diferentes órganos, que contienen entre el 80 y 95%.

La escasa cantidad de agua contenida en semillas “secas” está firmemente unida a los coloides y, por lo tanto, es incapaz de intervenir en reacciones químicas, de congelarse aún a temperaturas extremadamente bajas y es únicamente removible por tratamiento de secado a temperaturas cercanas a los 100°C. Esta condición de la semilla la predispone para un rápido ingreso de agua desde un medio circundante húmedo.

Todo el movimiento del agua dentro de la planta y entre la planta y su ambiente puede ser explicado desde el punto de vista termodinámico a través del **potencial agua (ϕ_a)**, que expresa en términos energéticos el estado del agua. El **término potencial agua** hace referencia a la potencialidad o capacidad de transferir agua, particularmente desde un punto de mayor a otro de menor potencial agua, es decir, desde un lugar de mayor energía hacia otro de menor estado energético. El agua pura a nivel del mar, a 25°C y 1 atmósfera de presión, por convención, se considera que posee un potencial agua igual a cero. Este valor puede ascender o descender en función de las condiciones a las que está expuesto el sistema, como son: a) la presencia de solutos, b) la presión, c) la atracción por la superficie que ejercen el sustrato que rodea que rodea a la semilla y c) la fuerza de gravedad, tal como se describe a continuación:

a) La presencia de solutos es un componente del potencial agua que se expresa como **potencial osmótico (ϕ_o)**. Este término como máximo puede ser cero cuando el agua carece de solutos, pero generalmente toma valores negativos, los cuales son crecientes en la medida que aumenta la presencia de solutos. Es posible calcular en forma aproximada el valor del potencial osmótico de una solución a través de la relación que originalmente la planteó el químico holandés Jacobus Henricus van't Hoff creador de la estereoquímica y Premio Nobel de Química en 1901 que muestra:

$$\Psi_o = -m i R T$$

siendo: **m** la concentración en Mol L⁻¹; **i** el factor de van't Hoff o de ionización; **R** la constante universal de gases (-0,0083 L MPa mol⁻¹K⁻¹ ó 8,3 J mol⁻¹K⁻¹) y **T** la temperatura absoluta en grados Kelvin.

El factor de van't Hoff permite valorar la situación que se presenta cuando el soluto al disolverse se disocia generando diferentes tipos de solutos, de manera que la concentración del soluto original en disolución no coincide con la del soluto activo. Esta situación se da frecuentemente con los compuestos iónicos. Por ello, este científico propuso un factor que al multiplicarlo por la concentración del soluto original nos da la concentración total y real de la disolución. Un ejemplo típico se presenta con la sal cloruro de sodio (ClNa). En este caso 1 molar de cloruro de sodio (PM 35,5) es decir (35,5 g de CLNa en 1

L de agua), sería la concentración supuestamente normal. Sin embargo, cuando esta sal se disuelve, se disocia en un ión sodio monopositivo (Na^+) y otro cloruro mononegativo (Cl^-), lo que determina que la concentración real es el doble de la concentración original de ClNa , que en este caso es obviamente 2, lo que se reflejaría en el factor “i” que tendría un valor de 2. En realidad, el factor 2 es una muy cercana aproximación, ya que no todas las moléculas de ClNa se disocian, aunque son muy pocas las moléculas de la sal que quedan en su estado original. Otro caso, podría ser el sulfato de potasio SO_4K_2 , que en una disolución acuosa se disocia en un anión SO_4^- y en dos cationes K^+ , lo que lleva a que el factor van’t Hoff tome un valor de 3.

Sin embargo, generalmente en los trabajos de laboratorio donde se intenta demostrar los efectos del potencial osmótico sobre la germinación se trabaja con solutos que no generan iones como el manitol, el polietilenglicol o simplemente la glucosa o la sacarosa. En este caso el factor de van't Hoff se valora como 1, con lo cual la fórmula anterior se puede expresar prescindiendo de este factor y se expresa como:

$$\Psi_s = -m R T$$

En la práctica, en los laboratorios de docencia y a efectos de facilitar los cálculos se aplica equivalentemente la siguiente expresión:

$$\Psi_s = - 22,4 m (273 + ^\circ\text{C})/273$$

Como ejercicio, podemos calcular el potencial osmótico de una solución 1,3 Molal **Manitol** que se encuentra a 25°C. Aplicando la fórmula de van’t Hoff sería:

$$\Psi_o = - (1,3 \text{ mol. kg}^{-1}) \times 1 \times (0,00831 \text{ kg} \cdot \text{Mpa} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}) \times (273+25\text{K})$$

$$\Psi_o = - 3,219 \text{ Mpa} = \underline{\underline{31,77 \text{ atm}}}$$

El mismo resultado se obtendría aplicando la ecuación más sencilla usada comúnmente para efectuar un cálculo más rápido.

b) La presión se expresa como **potencial presión (φp)** o presión de turgencia. Un aumento en la presión genera un incremento en el φa y viceversa. Este efecto se expresa a través del potencial presión (φp).

c) Los efectos coloidales y estructuras capilares tienden a retener o inmovilizar el agua, y son considerados a través del **potencial mátrico (ϕ_m)**. Esta atracción está dada por las fuerzas entre las moléculas del agua y las partículas de sólidas del suelo, como la arena o la arcilla, o como del sustrato papel de filtro que se usa en las pruebas de germinación en el laboratorio. Se presenta en suelos subsaturados y alcanza el cero cuando el sustrato está saturado. Por ello, su valor es cero o negativo y en este caso se opone a la extracción de agua de suelo por las raíces de las plantas. Las semillas, dado su bajo contenido de agua, tienen un potencial mátrico muy negativo, lo que contribuye a la hidratación de la semilla aún en suelos con bajo o muy bajo potencial agua.

d) La atracción gravitatoria, valorada por el **potencial gravitacional (ϕ_g)**, surge como diferencia entre el nivel o altura tomada como referencia, que es el nivel del mar, y la altura presentada en una situación dada. Así, el valor de este término será positivo cuando la altura supere el nivel de la referencia, y negativo cuando se ubique en un punto inferior. Su determinación está dada por la siguiente ecuación que relaciona la densidad del agua (D_a), la constante gravitatoria ($9,8 \text{ ms}^{-2}$) y la altura respecto del nivel de referencia

$$\phi_g = \delta a. g. h$$

Generalmente, este término no es considerado por su valor poco significativo. En la práctica es sólo tenido en cuenta para cálculos precisos que involucran a árboles con alturas superiores a los 30 metros, ya que este valor de potencial aumenta apenas 0,01 MPa por metro de altura.

De modo que el potencial agua resulta de los efectos conjuntos de los factores considerados, que participan en la siguiente ecuación:

$$\phi_a = \phi_p + \phi_o + \phi_m + \phi_g$$

Estos potenciales pueden ser expresados en términos de energía (cal/mol, J/mol, kJ/kg), lo que es lógico, pues el potencial agua expresa la capacidad de realizar trabajo, refleja un estado energético que se concreta a través del movimiento del agua desde un lugar de mayor energía a otro de menor energía. Sin embargo, comúnmente en fisiología vegetal, se utilizan unidades de presión (atm, bar o MPa), ya que es mucho más sencillo medir directa o indirectamente las presiones en un sistema, que calcular en términos de energía el trabajo realizado por el movimiento del agua.

Para pasar de unidades de energía (ej.: cal/mol) a unidades de presión (ej.: atm) se procede de la siguiente manera:

Unidades de energía/volumen / Volumen específico = (Cal/mol) / (cm³ / mol) =

$$= (\text{Cal/mol}) \times (\text{mol/cm}^3) = \text{Cal/cm}^3$$

Recordemos que Energía/volumen (Cal/cm³) = Presión

Ya que: 1 Atm. 1 Litro = 24,2 Cal, o lo que es igual 1Atm = 24,2 Cal / 1 Litro

Recordando que:

$$\boxed{9,87 \text{ atm} = 10 \text{ bar} = 1\text{Mpa}}$$

podemos expresar las unidades de energía en diferentes unidades de presión.

Para el caso de las semillas, el movimiento de agua inicial ocurre entre ésta y el medio circundante. Teniendo en cuenta lo considerado precedentemente, la semilla está sobre el suelo o cercana a la superficie del mismo, de manera que el φg no es considerado. Tampoco está sometida a presión, ni sus células están turgentes, por ello el φp puede ser descartado. Finalmente, la ecuación anterior queda reducida a los siguientes términos:

$$\boxed{\phi_a = \phi_o + \phi_m}$$

Recordemos que, para un análisis más detallado, en el caso de un tejido, cada célula que lo compone está rodeada de una membrana diferencialmente permeable, elástica y por lo tanto extensible. De manera que la salida o el ingreso de agua hará variar su volumen, lo que sin duda modifica la concentración en el interior de las células.

Independientemente de la amplitud considerada para el proceso de germinación o de cuál es la porción del embrión que irrumpe primero a través de las cubiertas seminales, el proceso de germinación comienza lentamente y casi inadvertido con la hidratación o imbibición.

Como vimos, la fuerza impulsora para la hidratación es el potencial agua (φa), de modo que el ingreso de agua a la semilla es directamente proporcional al gradiente de potencial agua entre la semilla y el medio (Δφa) e indirectamente proporcional a la sumatoria de resistencias (Σr) que debe superar el agua en su camino. Según la ecuación de flujo (J), (Fig 4.1); esto mismo puede ser expresado aplicando la conductancia hidráulica (L) que es la inversa de la resistencia.

$$\boxed{J = \frac{\Delta\phi_a}{\Sigma r} \quad \text{o} \quad J = L \cdot \Delta\phi_a}$$

J: Flujo de agua expresado en $\text{cm}^3/\text{cm}^2 \cdot \text{s} = \text{cm}/\text{s}$

L: Conductancia hidráulica $\text{cm}/\text{s} \cdot \text{Mpa}$

(1MPa* = 10 bar = 9,87 atm).

L: $1/r$

$\Delta\phi_a$: Gradiente de potencial MPa, entre los tejidos seminales y el medio

($\phi_a \text{ sem} - \phi_a \text{ medio}$)

Fig.4.1: Expresión del flujo de agua con el gradiente de potencial agua como fuerza impulsora y según la resistencia o la permeabilidad de las estructuras seminales. * Los valores normales en las células vegetales son del orden de Mpa (Pa = 1N/ m²).

Recordemos que la semilla se comporta como un coloide relativamente seco, con un potencial agua extremadamente bajo, que generalmente se ubica entre – 350 y – 50 MPa, condición sumamente favorable para una rápida hidratación. Sin embargo, hay resistencias que debe superar, y la principal es la cubierta seminal. Esto que *a priori* parece ser un impedimento que juega un papel negativo para la velocidad de germinación, en muchos casos preserva la vida de la semilla.

Anteriormente presentamos a la semilla como un órgano de resistencia (Secc. 2.2.2), ya que es capaz de soportar condiciones ambientales adversas insuperables para la planta madre; entre ellas se destaca la capacidad de soportar niveles de humedad extremadamente bajos. Cabe aclarar que cuando los niveles de humedad de la semilla descienden en promedio por debajo del 18% de humedad, la membrana plasmática y las membranas de las organelas comienzan a desorganizarse. Esto significa una pérdida de funcionalidad, con lo cual internamente la semilla presenta gran vulnerabilidad al ingreso violento de agua. Es aquí donde las cubiertas cumplen un rol fundamental como estructura limitante del ingreso rápido del agua. La excesiva velocidad de hidratación conduce a la rápida solubilización de contenidos celulares, en momentos en que aún las membranas no están completamente funcionales. Esto ocasiona no sólo la pérdida de solutos y, consecuentemente, el empobrecimiento de las reservas, sino el vertido de nutrientes hacia el exterior favoreciendo el desarrollo de hongos alrededor de la semilla. Por ello, el ingreso de agua debe ser gradual, de manera de permitir una lenta hidratación de las estructuras celulares y el regreso a la plena funcionalidad. Lo contrario significaría la muerte de la semilla.

Las cubiertas seminales pueden presentar grandes diferencias entre especies y también dentro de la misma especie. Aún dentro de una misma semilla las cubiertas no son homogéneas. De hecho, el poro micropilar, que corresponde a la abertura que presentan los tegumentos del óvulo, y el hilo, que corresponde a la cicatriz dejada por la unión del funículo con el óvulo, son zonas más permeables y, en consecuencia, presentan menores resistencias al flujo de agua (Fig. 4.1) hacia el interior de la semilla. En poroto (*Phaseolus vulgaris*) y haba (*Vicia faba*) se estima que el 20% del ingreso de agua durante las primeras 24 horas de hidratación ocurren por la micropila. En otros casos, el hilo cumple un rol fundamental, como en el poroto de manteca o Pallar (*Phaseolus lunatus*), con cu-

biertas prácticamente impermeables al ingreso de agua desde el exterior, hasta que el agua, que puede ingresar por el hilo, permite la hidratación. En algunas especies las particulares características de las cubiertas permiten una regulación diferencial del ingreso y egreso del agua. Tal es el caso del maní (*Arachis hypogaea*) y del castaño de las Indias de flor blanca (*Aesculus hippocastanum*), en los cuales la testa presenta mayor permeabilidad al ingreso del agua que al egreso, lo que representa una adaptación hacia una mayor retención del agua ingresada.

Estudios realizados en un gran número de semillas muestran que el proceso de hidratación tiene características particulares. El ingreso de agua no es simple y continuo sino que ocurre en tres fases o etapas y se lo denomina “**patrón trifásico de hidratación**” y la expresión gráfica general del proceso se puede ver en la Figura 4.2.

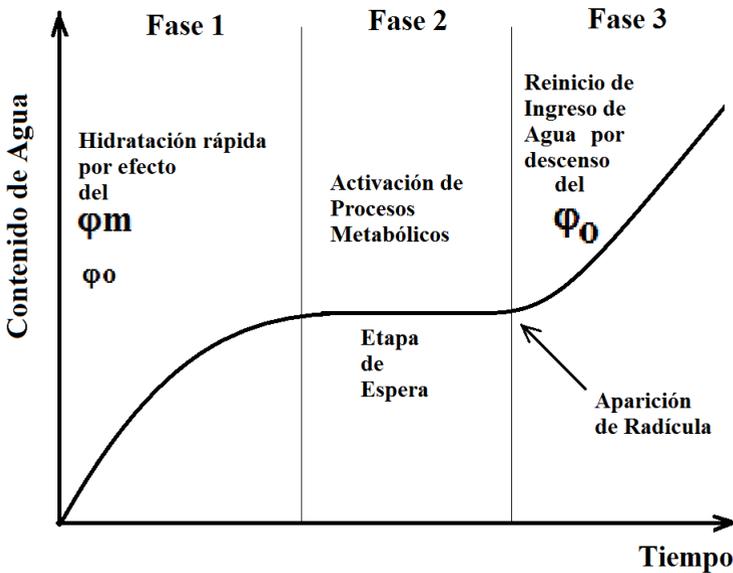


Fig. 4.2. Patrón trifásico de ingreso de agua a la semilla.

En la primera fase del proceso (**F1**) el ingreso de agua responde a un gradiente de potencial agua generado básicamente por un potencial mátrico (φ_m) extremadamente negativo y, en menor proporción, por el potencial osmótico (φ_o). Esta fase se da siempre en la semilla independientemente que sea viable o no, y es reversible. Es un proceso no metabólico, puramente físico de hidratación coloidal, que ocurre aún en condiciones anaeróbicas y con un Q_{10} levemente superior a 1, es decir, poco afectado por la temperatura. Cabe aclarar que el Q_{10} es un factor de uso frecuente en termodinámica que expresa la variación de la velocidad de una reacción ante incrementos de 10°C en la

temperatura. Así, un $Q_{10}=2$ indica una duplicación en la velocidad de la reacción por efecto de la temperatura. El potencial mátrico, fundamental en esta etapa, se genera básicamente por la presencia de macromoléculas de proteínas y polímeros de carbohidratos que poseen grupos hidrofílicos como NH_2 -, OH -, COOH -. Estos atraen las moléculas dipolares de agua formando una cubierta de hidratación a su alrededor. A medida que transcurre esta etapa, el potencial mátrico aumenta hasta alcanzar el valor cero. La misma tendencia ocurre con el potencial osmótico que también aumenta por el efecto de dilución que provoca el ingreso de agua y simultáneamente aparece cierta presión de turgencia con valores en ascenso.

En esta primera etapa, la semilla se hidrata a partir del agua del suelo del sustrato que la rodea como el papel de filtro en una prueba de germinación. Esto lleva a un considerable aumento del peso fresco que en los cereales varía entre el 40 y el 60% respecto del peso seco inicial de la semilla. En las dicotiledóneas en general -y en las leguminosas en particular- al final de la hidratación el peso fresco prácticamente duplica el peso seco inicial, tal es el caso de arveja (*Pisum sativum*), en la cual el incremento supera el 180% del peso inicial.

En general, la hidratación avanza desde las capas periféricas hacia el centro y es más rápida en los tejidos embrionales, particularmente la radícula, que en los tejidos reservantes. En las semillas de los cereales, el embrión, con mayor contenido proteico, absorbe mayor cantidad de agua que el endosperma rico en almidón.

Esta etapa finaliza cuando el ϕ_a interno de la semilla constituido por el ϕ_o y el ϕ_p , y el ϕ_a que la rodea dado por el ϕ_o , se equiparan manteniendo un equilibrio dinámico, donde la cantidad de agua que ingresa es equivalente a la que sale de la semilla, según:

$$\phi_a \text{ ext} = \phi_a \text{ sem} \Rightarrow \phi_o \text{ ext} = (\phi_o + \phi_p) \text{ sem}$$

En la segunda fase (**F2**) no se verifica ingreso de agua. Se mantiene el máximo nivel de hidratación alcanzado al final de la F1. Los valores de equilibrio de ϕ_a generalmente fluctúan entre -1 y $-1,5$ MPa. A esta etapa se la considera de espera o de preparación. En ella ocurren importantes eventos metabólicos que condicionan el ingreso a la tercera fase (F3), lo que ocurre si la semilla está en condiciones de germinar.

En la tercera fase (**F3**) que comienza con la emergencia de la radícula, se reinicia el ingreso de agua a la semilla en respuesta al descenso del ϕ_a , como consecuencia de la disminución del ϕ_o . La caída en los valores de este componente del potencial agua se debe a la hidrólisis de las reservas presentes en la semilla por acción de enzimas hidrolíticas activadas y/o sintetizadas durante la F2. Aquí, el ingreso de agua también ocurre en respuesta a un gradiente de ϕ_a

pero a instancias de un proceso metabólico, por lo cual esta etapa posee un Q_{10} entre 2 y 3.

Cabe aclarar que la figura 4.2 representa el patrón general de hidratación. Se debe tener en cuenta que semillas de diferentes especies pueden presentar variaciones tanto en las pendientes como en la duración de cada fase considerada. Esto depende de las características propias de la semilla y de la diferencia entre los niveles de ϕ_a de la semilla y del suelo o del sustrato que la rodea durante la germinación. La conjunción de estos factores determinará la velocidad y el grado de hidratación de la semilla. Trabajos realizados sobre hidratación a partir de bajos potenciales agua del sustrato, han mostrado incrementos notables en los tiempos de hidratación a medida que los valores de dicho ϕ_a disminuyen. Esto se explica por los mayores tiempos insumidos para el cumplimiento de la F2. Por otra parte, también se ha comprobado la existencia de un umbral crítico de contenido de agua en semillas, por debajo del cual el proceso se detiene en la F2 por largo tiempo, manteniendo un equilibrio dinámico con el medio. Sólo cuando supera el nivel crítico mencionado puede ingresar en F3 y, finalmente, germinar (Fig. 4.3).

El ingreso de agua permite la hidratación del citoplasma, de las organelas presentes en él incluidas fundamentalmente sus membranas, las que se reorganizan y recobran su funcionalidad. La hidratación trae aparejado cambios estructurales, como es el desarrollo del retículo endoplásmico y del aparato reticular de Golgi y un aumento en el tamaño de las mitocondrias.

Otro factor importante que influye en el ingreso de agua a la semilla es el contacto entre la semilla y el suelo o el sustrato de que se trate. Este punto se desarrollará más adelante cuando se aborde el tema de la semilla y el medio ambiente, en especial en lo referente a los micrositos en el suelo (Secc. 9.3).

En resumen, la hidratación tanto en cantidad como en velocidad, responde al proceso físico de difusión y a las características propias de la semilla referidas a su potencial mátrico y al potencial osmótico determinado por la presencia de solutos. Por otro lado, se debe destacar la presencia de los tegumentos seminales que generan cierta resistencia al ingreso de agua que permite, de alguna manera, la regulación del ingreso de agua. El agua ingresada genera presión de imbibición, de gran importancia en cuanto a la fuerza generada, lo que determina al rompimiento de las cubiertas seminales, tegmen y testa, por la radícula. Este hecho, desde el punto de vista fisiológico, indica la finalización del proceso de germinación.

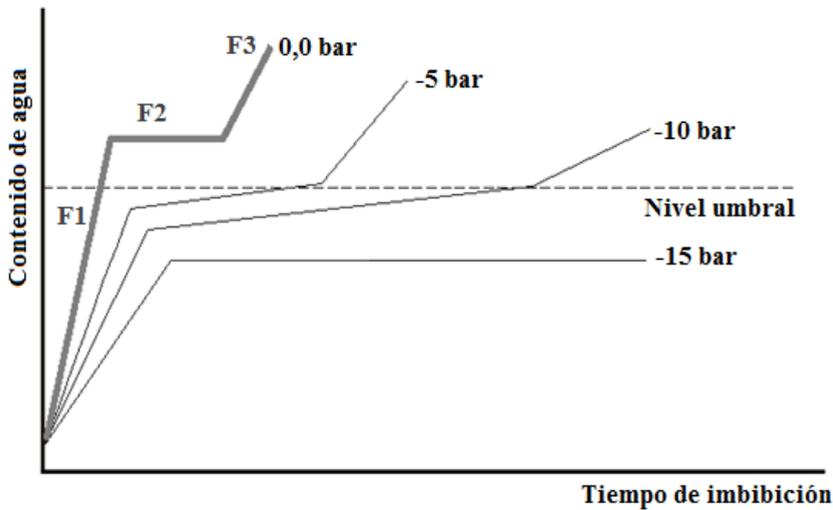


Fig 4.3. Variaciones del patrón trifásico de hidratación en función de diferentes potenciales agua del sustrato. Se indica el umbral crítico de hidratación requerido para ingresar en F3. (Adaptado de Bradford, K. J. 1995).

4.2.2. Activación de la respiración

La semilla posee sus propias reservas energéticas provistas por la planta madre durante el período de llenado del grano y acumuladas en diferentes compartimientos según la característica de la especie. Durante la hidratación, se activa gradualmente la maquinaria metabólica presente en la semilla para degradar las reservas almacenadas. De ellas se obtiene la energía fundamental para el crecimiento del embrión y de la plántula generada hasta alcanzar la autosuficiencia a través del proceso fotosintético.

En semillas “secas” la actividad metabólica es extremadamente baja. Trabajos realizados en semillas de maíz con un contenido de humedad inferior al 11% mostraron niveles de respiración extremadamente bajos. A partir de allí ascendieron hasta más de ocho veces cuando los contenidos de humedad treparon hasta el 18%. Aunque en cifras absolutas los valores fueron bajos no se descarta su importancia cuando se trata de lograr una adecuada conservación.

En respuesta a la hidratación, se activan tres rutas catabólicas: glucólisis, Ciclo de Krebs y Ciclo de las Pentosas Fosfato que generan energía, poder reductor y compuestos intermediarios fundamentales para el crecimiento del embrión. La glucólisis transcurre en citoplasma, dada la presencia de las enzimas correspondientes y puede llevarse a cabo en condiciones aeróbicas o anaeróbicas hasta ácido pirúvico. A partir de allí, en ausencia de oxígeno, ocurren procesos fermentativos (Fig. 4.4), con producción de etanol o ácido láctico lo que depende de la actividad de las enzimas presentes.

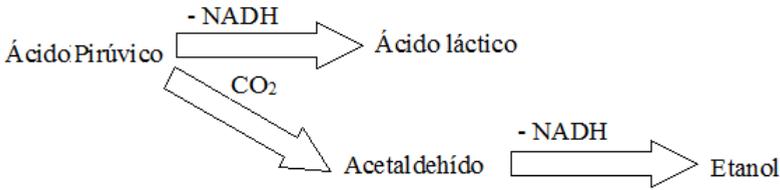
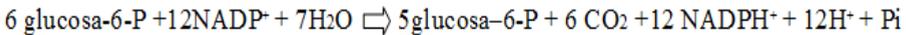


Fig.4.4. Secuencia resumida de la respiración anaeróbica a partir del ácido pirúvico.

En condiciones aeróbicas, el proceso ocurre en mitocondrias a partir del ácido pirúvico que por descarboxilación forma acetyl-CoA e ingresa al ciclo de Krebs para ser completamente oxidado, obteniendo CO₂, H₂O y ATP.

La otra vía de degradación de la glucosa es la conocida como Ciclo de las Pentosas Fosfato, que se desarrolla en el citoplasma. Consiste en convertir hexosas en pentosas, generar poder reductor a través de la formación de NADPH₂ y compuestos intermedios para la formación de ácidos nucleicos, lignina y compuestos aromáticos. Resumidamente la ecuación se puede apreciar en la siguiente reacción:



Las reservas almacenadas pueden ser de tres tipos: polisacáridos, lípidos y proteínas. Se acumularán en pequeñas cantidades en el propio eje embrionario para ser utilizadas al inicio de la germinación, y en grandes cantidades repartidas en concentraciones variables en el endosperma, el o los cotiledones y/o el perisperma.

Si bien las semillas poseen un tipo de reserva principal que las caracteriza, generalmente también acumulan los otros tipos mencionados, por lo cual las diferentes vías de degradación coexisten y funcionan paralelamente para aportar la energía requerida para el crecimiento del embrión. Sin embargo, recordemos que la degradación de las reservas no sólo constituye el aporte energético sino también la provisión de intermediarios metabólicos fundamentales para la construcción de las diversas estructuras celulares que demanda el crecimiento y para la síntesis de compuestos orgánicos fundamentales que requiere el vegetal, tales como enzimas, pigmentos y hormonas. La figura 4.5 aporta mayor información sobre lo comentado precedentemente.

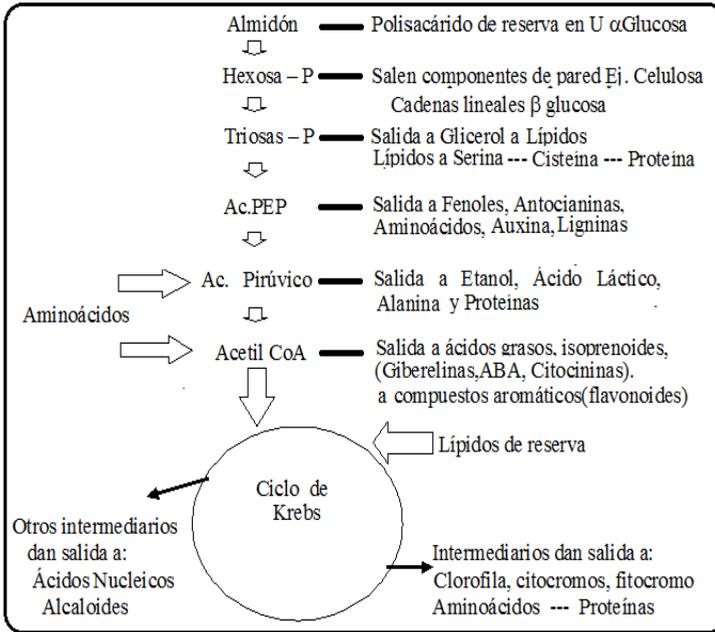


Fig. 4.5. Resumen del conjunto de reacciones de Glucólisis y Ciclo de Krebs. Incluye los sitios de ingreso de los productos de degradación de proteínas y lípidos, y los puntos de salida hacia la síntesis de compuestos metabólicos fundamentales.

Como se mencionó, las semillas poseen abundantes reservas provistas por la planta madre y perfectamente compartimentalizadas. Las primeras reservas que se degradan son las propias del embrión constituidas por azúcares solubles, como la sacarosa. En algunas semillas, la degradación y movilización de las grandes reservas ocurren tardíamente. Tal es el caso de las leguminosas que comienzan a movilizar el almidón acumulado en los cotiledones luego del inicio del crecimiento del embrión, que se verifica por la salida de la radícula. A partir de allí, los procesos anabólicos se suceden con intensidad. En consecuencia, es indispensable el aporte de abundante cantidad de materia y energía que provienen de las grandes reservas compartimentalizadas, en este caso en los cotiledones. Independientemente del tipo de reserva y del lugar de ubicación, las mismas serán degradadas por el sistema enzimático correspondiente, como se ve en detalle en el Cap. 6. Los productos resultantes finalmente son respirados por algunas de las vías descriptas anteriormente en la Sección 4.2.2.

El proceso respiratorio en su conjunto medido en numerosas semillas a través del consumo de oxígeno sigue un patrón de tres fases (Fig. 4.6):

Fase 1: Se caracteriza por un rápido incremento del oxígeno consumido que dura entre 6 y 10 horas desde el inicio de la hidratación. Esta etapa es atribuida a la activación de las enzimas mitocondriales.

Fase 2: Ocurre una vez que la hidratación se ha completado. Se observa una tendencia a la estabilización o con leves incrementos en el consumo de oxígeno. Este comportamiento, que ocurre en algunas semillas, es atribuido a las limitaciones al ingreso de oxígeno que provocan ciertas cubiertas. De hecho, semillas con cubiertas permeables, como los cereales, o que se les ha removido las cubiertas disminuyen o no presentan esta fase. Otra característica destacable es que si bien la absorción de oxígeno no aumenta o lo hace levemente, mediciones de dióxido de carbono han mostrado que este gas sigue generándose. Esto estaría indicando que continúa la respiración por glucólisis anaeróbica, es decir, por fermentación, con la consiguiente pérdida de eficiencia desde el punto de vista energético. Esta etapa finaliza cuando la radícula emerge a través de las cubiertas seminales.

Fase 3: Se verifica un nuevo incremento en la absorción de oxígeno. Este hecho se relaciona con la emergencia de la radícula y la disminución de las resistencias a la difusión de oxígeno desde el medio. Pone nuevamente en funcionamiento los mecanismos de respiración aeróbica, acompañando la formación de nuevas mitocondrias y enzimas correspondientes, las cuales a través de su actividad incrementarían la demanda de oxígeno. El límite de esta fase, que determinará una drástica disminución de los niveles de respiración, es coincidente con el agotamiento de las reservas y con la pérdida de funcionalidad de los cotiledones.

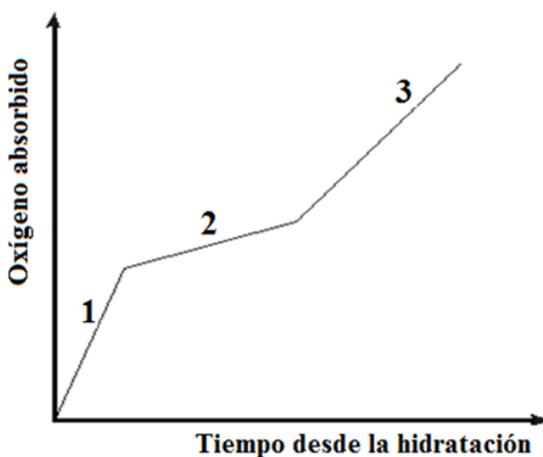


Fig 4.6. Patrón general de absorción de oxígeno en semillas hidratadas.

4.2.3. Crecimiento del embrión

El embrión es una verdadera planta en miniatura que debe crecer con el aporte de la materia y energía provista por la maquinaria metabólica. Este aporte determina un aumento de peso fresco y seco del embrión que conducirá a que generalmente, primero la radícula y luego la plúmula, irrumpen a través de las cubiertas e inician la ocupación del espacio subterráneo y aéreo, que le aportará los elementos fundamentales para alcanzar rápidamente el crecimiento autosuficiente de la plántula.

Considerando el embrión aisladamente, es evidente que aumentará su peso fresco y seco en función del aporte de sustancias provistas por las reservas extraembrionales. Sin embargo, si consideramos la totalidad de la semilla, ésta mostrará durante todo el proceso una notable pérdida de peso seco en función de los niveles de respiración requeridos. Esta tendencia se modificará radicalmente luego de la emergencia de la plúmula y la puesta en marcha del proceso fotosintético.

Estudios realizados sobre plántulas de maíz creciendo en oscuridad, para evitar cualquier tipo de interferencia, han revelado que durante la germinación el peso seco total de la semilla disminuye permanentemente. Esto es debido a la importante caída del peso individual del endosperma, desde el cual se movilizan las reservas hacia el escutelo e inmediatamente al eje embrionario para su crecimiento, como se puede apreciar claramente en la Fig. 4.7.

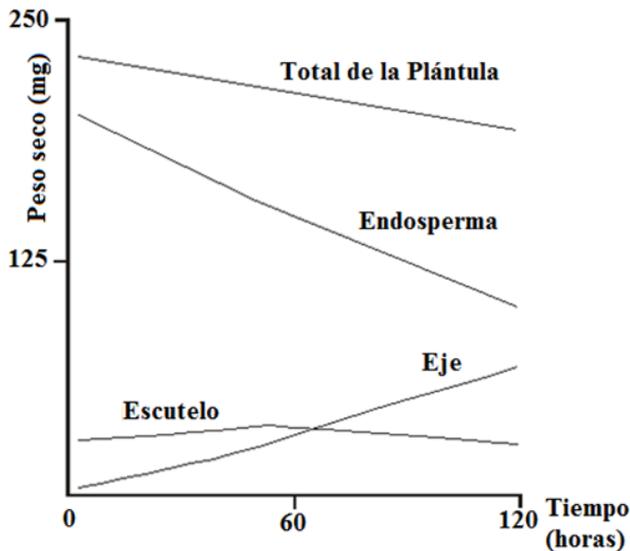


Fig. 4.7. Evolución del peso seco de total de plántulas de maíz (*Zea mays*) y su partición en endosperma, escutelo y eje embrionario, durante el proceso de germinación a 25°C y en oscuridad. (Adaptado de Ingle, J. et. al., 1964).

El crecimiento se manifiesta como un aumento irreversible, permanente, de masa de una célula, de un órgano o de todo el individuo. En los vegetales, el crecimiento ocurre de forma muy particular, debido a la característica fundamental de las células vegetales que es la presencia de pared que envuelve totalmente la célula. De manera que todo cambio en tamaño y forma, que generalmente también involucra cambios adaptativos y fisiológicos, está ligado a cambios en la pared celular.

El paso inicial para el crecimiento del embrión ocurre con la hidratación, que no sólo pone en marcha la maquinaria metabólica, sino también genera la presión necesaria para superar las restricciones al crecimiento que imponen las paredes celulares de los tejidos que lo rodean. Si el φ_p que genera el ingreso de agua es insuficiente, no ocurrirá el crecimiento.

Los mecanismos que se ponen en marcha para lograr el crecimiento avanzan en dos direcciones, sea aumentando la presión, o bajando las resistencias. De modo que a través de uno o de ambos mecanismos se alcance el φ_p mínimo necesario para superar las restricciones. En detalle las estrategias serían:

- a) Acumulación de solutos, es decir, de sustancias osmóticamente activas que hacen descender el φ_o y por lo tanto el φ_a , y favorecer un mayor ingreso de agua que redundará en un aumento del φ_p .
- b) Relajación o ablandamiento de las paredes celulares de los tejidos embrionales, que genera una menor resistencia mecánica y consecuentemente un descenso en el φ_p mínimo para el crecimiento.
- c) Debilitamiento de las cubiertas seminales.

La resultante del efecto de una o más de estas alternativas permite finalmente el crecimiento del embrión. Los mecanismos descritos fueron considerados en el modelo de crecimiento planteado por J. A. Lockhart en 1965 a través de la siguiente ecuación:

$$\frac{dV}{Vdt} = m (\varphi_p - Y)$$

Donde dV/Vdt es la tasa de incremento de volumen respecto del volumen original, es decir, expresa la velocidad o rapidez de crecimiento; m es un coeficiente de extensibilidad o de expansión; φ_p es el potencial presión o presión de turgencia que indica la fuerza a la que está sometida la pared; e Y es la presión umbral o mínima requerida, por lo tanto, la que debe ser superada para que ocurra el crecimiento. En el caso del crecimiento embrional, éste

ocurre como culminación de la germinación y parte de una situación de equilibrio hidráulico que se alcanza en la Fase 2 de la hidratación.

El crecimiento se hace evidente con la salida de la radícula. Ésta tiene sus particularidades, ya que forma parte del embrión, el cual está rodeado de estructuras que constituyen verdaderas barreras para la emergencia de la radícula. Superar estas barreras requiere de la degradación de las paredes celulares, lo que verdaderamente ocurre por la acción de enzimas digestivas específicas.

Si bien técnicamente la germinación generalmente finaliza con la salida de la radícula, agrónomicamente es de fundamental importancia que el embrión continúe creciendo activamente. Este crecimiento le permite atravesar el suelo que media entre la profundidad del surco y la superficie para lograr la emergencia y la autosuficiencia de la plántula.

Se denomina **plántula** al joven individuo de la división espermatófita (plantas con semillas) en las primeras etapas de su ciclo de vida que abarca desde la germinación, dada por la salida de la radícula, hasta que se desarrollen las primeras hojas verdaderas que le permiten un crecimiento autosuficiente.

En una superficie destinada a la producción, esto se debe conseguir con la mayor rapidez y uniformidad posible (ver Secc. 4.4). En efecto, este período es el de mayor vulnerabilidad para las plántulas ya que requieren de todas las reservas para la emergencia, lo que las deja, en el mejor de los casos, con una mínima disponibilidad energética para reparar los posibles daños ocasionado por insectos, aves, etc. Tampoco dispone de meristemas tales como yemas para reiniciar el crecimiento ante la contingencia.

4.3. Estrategias para la emergencia

Básicamente se presentan dos estrategias para la emergencia, es decir, para conducir hasta la superficie las delicadas estructuras de la plúmula entre las partículas de suelo sin ser dañadas. Según las especies se pueden presentar gancho plumular o coleóptilo.

4.3.1. Gancho plumular

Corresponden a aquellas que adoptan la forma de gancho o codo y es típica de la mayoría de las dicotiledóneas. En este caso, hay dos estructuras: el hipocótilo o el epicótilo, las que pueden adoptar la forma de gancho según sea el tipo de germinación. La germinación epigea corresponde a aquellas especies que elevan sus cotiledones sobre la superficie del suelo, como es el caso del poroto. Aquí, el hipocótilo, porción del tallo que se encuentra por debajo del nudo cotiledonar, adopta una forma curvada que va abriendo el suelo y protegiendo la plúmula, constituida por la yema apical y las hojas embrionarias hasta su emergencia (Fig. 4.8).

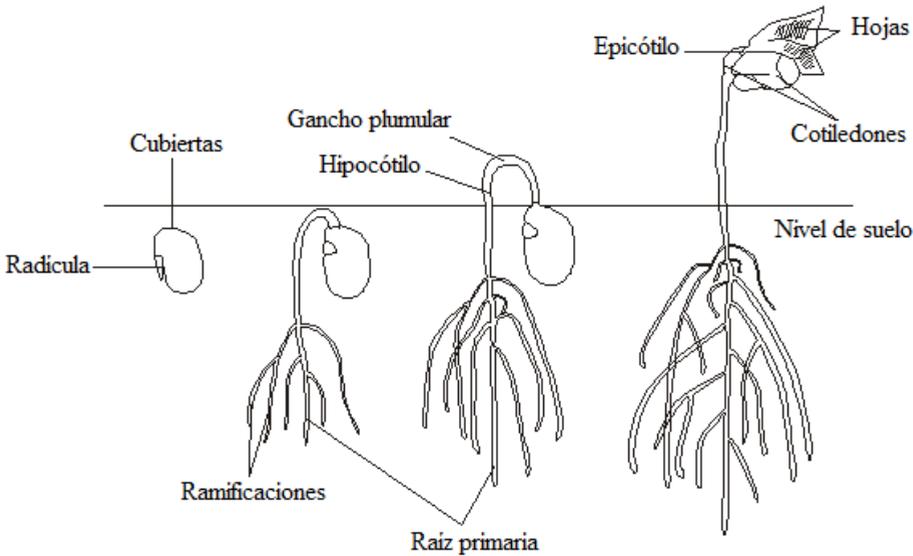


Fig. 4.8. Estrategia de emergencia en la germinación epigea de poroto (*Phaseolus vulgaris*).

En la figura 4.9 se puede observar la secuencia de una planta de germinación epigea donde se puede ver una semilla germinada con incipiente salida de radícula, la emergencia y hasta la constitución de una plántula con hojas adultas desarrolladas y autosuficiente para el mantenimiento de crecimiento a través del proceso fotosintético.

Un caso particular se presenta en cebolla (*Allium cepa*), monocotiledónea bulbosa que muestra una germinación epigea con emergencia en forma de gancho o codo. La cebolla produce un fruto en cápsula que contiene numerosas semillas negras y angulosas, las cuales presentan un embrión con un notable cotiledón cilíndrico rodeado de reservas, principalmente endosperma y también restos nucelares, según se describe en el capítulo 3 (figura 3.11). A partir de la hidratación, el crecimiento del cotiledón genera la presión necesaria para que el extremo radical y el corto hipocótilo emerjan a través de la zona micropilar. Posteriormente, emerge el cotiledón que adopta la forma de un codo que al crecer se abre camino hacia la superficie del suelo. Al contacto con la luz toma color verde que le permite dar inicio al proceso fotosintético. Mientras tanto, el extremo inferior del cotiledón queda inmerso en la semilla y, a través de células con función de haustorios, se nutre de las reservas extraembrionales que lo rodean. El crecimiento diferencial de ambos lados del cotiledón permite enderezar la porción emergida del cotiledón aunque la curva inicial permanece. Finalmente, los tegumentos adheridos al extremo del cotiledón se desprenden, mientras que la porción que abarca desde el ápice hasta la curva inicial se seca

progresivamente. La primera hoja emerge por una hendidura lateral del cotiledón, mientras que por debajo se generan endógenamente las raíces adventicias (Fig. 4.10)

La germinación hipógea es aquella en las que los cotiledones permanecen debajo de la tierra pues el crecimiento del hipocótilo es muy limitado, como es el caso del garbanzo. Aquí es el epicótilo o primer internodio que se halla por encima de la inserción de los cotiledones el que adopta la forma de gancho, el cual se elonga elevando y protegiendo a la plúmula hasta llegar a la superficie del suelo como se puede apreciar en las figuras 4.11 y 4.12.

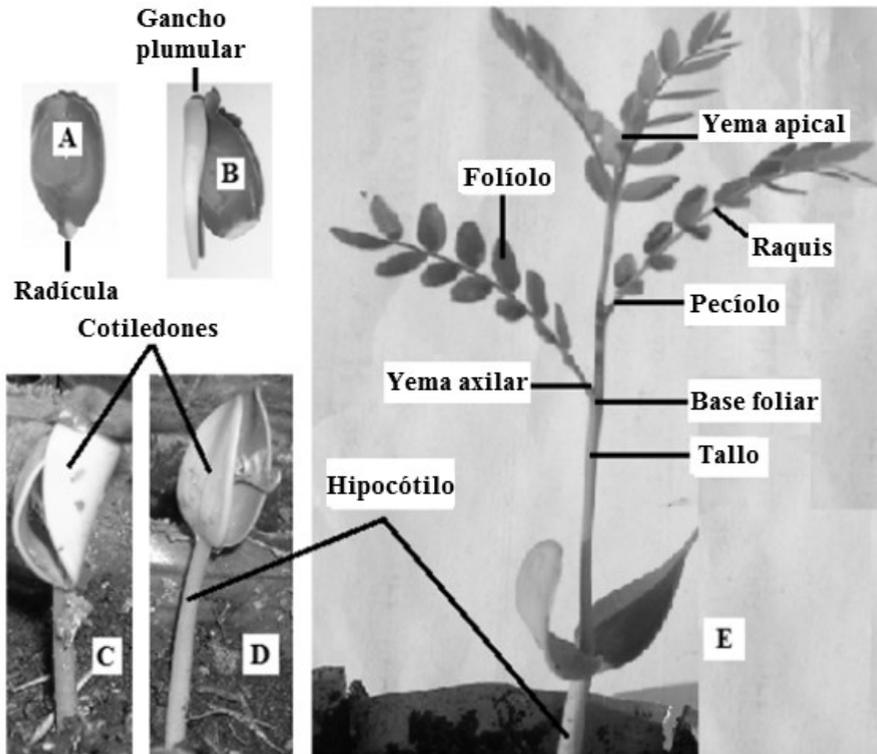


Fig 4.9. Secuencia desde la germinación hasta el estado de plántula en pleno crecimiento de *Gleditsia triacanthus* var *inermis* (Tomado de Cardinali *et al.*, 2015).

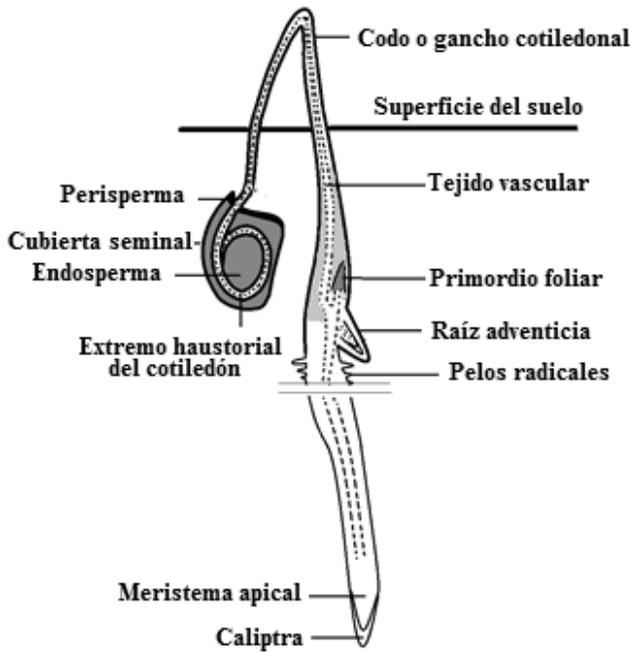


Fig. 4.10. Corte longitudinal de semilla germinada de cebolla (*Allium cepa*). Las porciones sombreadas de celeste indican las zonas de alargamiento.

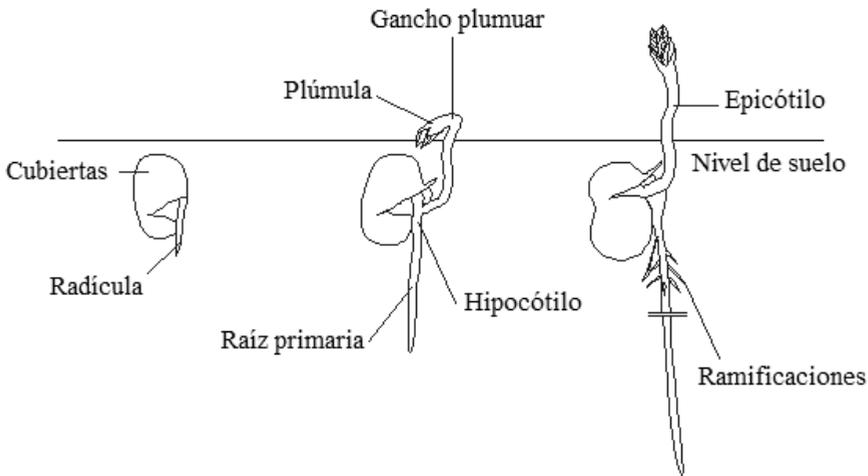


Fig. 4.11. Estrategia de emergencia en la germinación hipógea de arveja (*Pisum sativum*).

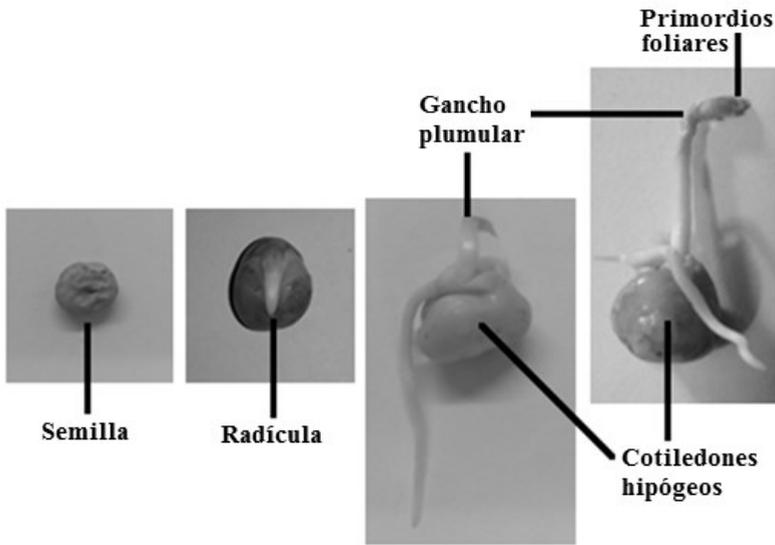


Fig 4.12. Secuencia desde la germinación hasta el estado de plántula en pleno crecimiento de *Pisum sativum*.

Tanto el hipocótilo en la germinación epígea, como el epicótilo en la germinación hipógea en dicotiledóneas, constan de una zona de crecimiento generado por la división y alargamiento celular, y una zona curvada causada por una elongación diferencial entre ambos lados del órgano que genera la forma típica de gancho. Este proceso de curvado está dado por la distribución asimétrica de auxina. Estudios realizados aplicando inhibidores del transporte polar de auxinas, como ácido 2,3,5 triiodobenzoico (TIBA), ácido 2-cloro-9-hidroxi-fluorene-9-carboxílico (HFCA) y ácido N-1 naftiltalámico (NPA), permitieron comprobar que éstos reprimían la formación del gancho plumular.

En ambos tipos de germinación, al alcanzar la superficie del suelo, la acción de la luz promueve el desdoblamiento del gancho plumular, el cual adopta una posición vertical y permite que, ya sean los cotiledones o las primeras hojas se desplieguen y tomen una coloración verdosa, dando inicio al proceso fotosintético. Se trata de una respuesta fototrópica en la que interviene el fitocromo. En efecto, experimentos realizados en *Pisum sativum* L. var Alaska, aún a bajas intensidades de luz roja y durante unos minutos provocaron la inhibición del alargamiento hipocotilar, el desdoblamiento del gancho plumular y la expansión de los primordios foliares. A la inversa, en trabajos realizados en poroto (*Phaseolus vulgaris*) en completa oscuridad, se observó un extenso hipocótilo, el gancho plumular sin abrir y las primeras hojas sin expandirse. Sin embargo, en *Pisum sativum* L. var Alaska se ha comprobado que ante importantes alarga-

mientos hipocotilares, ocurre el desdoblamiento parcial del gancho, aún en oscuridad.

Los efectos fotomorfológicos del fitocromo se basan en su acción a nivel génico, específicamente a nivel de transcripción, activando o desactivando genes específicos. Así, a partir de la iluminación, una cantidad importante de genes aumentan considerablemente su expresión. Se han observado incrementos en los niveles de ARN mensajero correspondientes a la enzima rubisco y a diversas proteínas relacionadas a la síntesis de clorofila.

Se trata de un proceso complejo en el que además de la intervención de la luz y de las auxinas se ha comprobado la intervención de otras fitohormonas, como son el etileno y las giberelinas.

En consecuencia, se debe considerar la formación y el desdoblamiento del gancho plumular como el resultado de múltiples intervenciones. Señales del ambiente, o exógenas e internas, o propias de la planta, afectan procesos de control del crecimiento que involucran la división y la expansión celular diferenciadas a ambos lados de tanto del hipocótilo o del epicótilo.

4.3.2. Coleóptilo

Es una estructura típica de las gramíneas y de otras monocotiledóneas que se caracterizan por poseer el tipo de germinación hipógea. El coleóptilo es una hoja modificada en forma de vaina que encierra a la plúmula constituida por la yema apical y las hojas embrionarias que se encuentran enrolladas. Desde el punto de vista evolutivo, se considera al coleóptilo verdaderamente una hoja modificada con funciones de protección, ya que otras especies primitivas de gramíneas como *Jouvea pilosa* y el género *Streptochaeta* muestran un coleóptilo abierto con una nervadura central y los márgenes foliares libres.

El coleóptilo posee su extremo superior endurecido y aguzado, lo que constituye una perfecta adaptación para atravesar el suelo protegiendo la plúmula (Fig. 4.12), con una abertura donde las capas epidérmicas externas e internas se continúan y presentan estomas que permiten la liberación de agua y pueden asociarse con una función secretora.

El ascenso hasta la superficie del suelo se debe al alargamiento del coleóptilo y también del mesocótilo, que es un entrenudo entre el escutelo y la inserción del coleóptilo, perfectamente diferenciable en embriones de trigo (*Triticum* sp), arroz (*Oriza sativa*), cebada (*Hordeum* sp) y bambú (*Bambusa* sp), pero difícilmente distinguible en muchas otras especies. Sin embargo, después de ocurrida la germinación, es decir, de la salida de la radícula, el mesocótilo puede elongarse considerablemente junto con el coleóptilo y permitir la emergencia de la plúmula aún en siembras a excesiva profundidad.

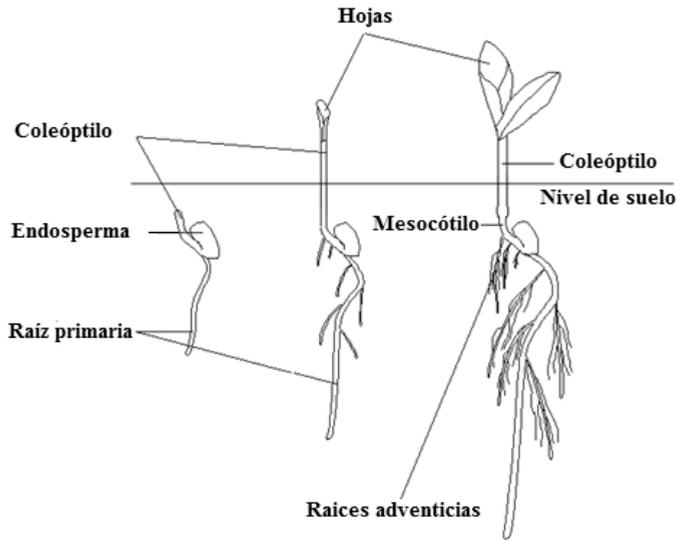


Fig 4.12. Detalle de la estrategia de emergencia a través del coleóptilo en plántulas de maíz.

Esta propiedad, que permite el alargamiento del coleóptilo para acompañar a la plúmula hasta la emergencia era conocida por algunos aborígenes americanos quienes la aprovechaban para el cultivo de maíz en regiones de climas semiáridos. La técnica consistía en la realización de siembras profundas que aseguraba la humedad para la germinación, emergencia y supervivencia de las plántulas en regiones marginales para el cultivo de maíz. En la Fig. 4.13 se puede apreciar claramente las diferencias en el largo de los epicótilos de dos plántulas de maíz como consecuencia de diferentes profundidades de siembra.

El alargamiento conjunto del mesocótilo, coleóptilo y hojas contenidas, hace posible la emergencia y el establecimiento de las raíces adventicias que surgen en el nudo cotiledonal en el extremo superior del mesocótilo (Fig. 4.14). Estudios detallados realizados sobre plántulas de maíz (*Zea mays*) muestran una porción de unos 10 milímetros ubicada inmediatamente por debajo del lugar de inserción del coleóptilo, identificada como "zona de elongación del mesocótilo", que está compuesta por células de tipo meristemáticas capaces de elongarse considerablemente sin cambios notables en su ancho. Mediciones precisas indican que las células de la porción superior de esa zona, de unos 5 milímetros pueden multiplicar su longitud unas 3,5 veces en oscuridad en un tiempo de 20 horas.

Coleóptilo y mesocótilo crecen por acción del flujo de la auxina que se mueve en forma basípeta desde el extremo de coleóptilo. Cuando el coleóptilo se acerca a la superficie del suelo el estímulo lumínico recibido genera un cambio en el flujo auxínico que detiene el crecimiento del mesocótilo y más tarde el

crecimiento del coleóptilo, que para este tiempo generalmente sobrepasa levemente la superficie del suelo. Esta situación no sólo está dada por una disminución del flujo auxínico al mesocótilo desde el coleóptilo, sino también por otros aspectos aún no totalmente dilucidados como son los referidos a los receptores auxínicos. Sin embargo, las hojas preformadas dentro del coleóptilo incrementan su crecimiento estimulado por la incidencia de la luz. La expansión de las hojas y la consecuente presión termina abriendo el coleóptilo y dando lugar a la emergencia de la primera hoja.

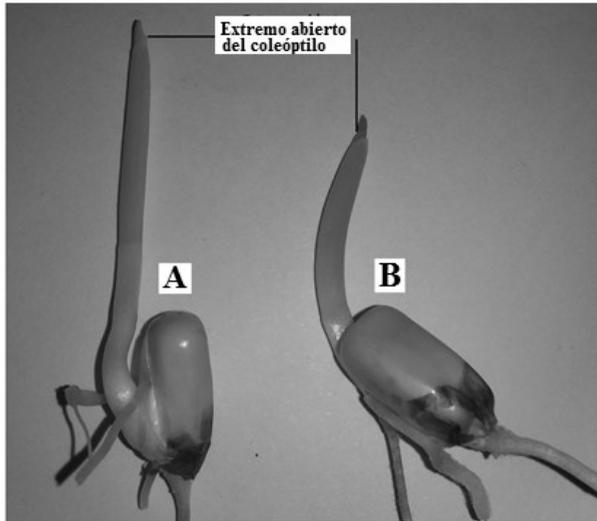


Fig 4.13. Vista de dos plántulas de maíz con diferentes largos de coleóptilos. Plántulas A y B provenientes de siembras a 4 y 2 cm de profundidad respectivamente. En ambas se puede apreciar la incipiente emergencia de la primera hoja a través del extremo del coleóptilo (Cardinali, 2016).

En detalle, las hojas contenidas dentro del coleóptilo emergen por una ranura ubicada cerca del ápice del mismo. El coleóptilo es una estructura foliosa que a nivel de la mencionada ranura carece de mesófilo, por lo que sólo presenta las epidermis interna y externa, generando una zona de debilidad estructural que facilita la emergencia foliar.

Luego de la aparición de 2 o 3 hojas, en la mayoría de las gramíneas, se activan las yemas ubicadas en la axila de la vaina foliar en los nudos basales, dando inicio al proceso conocido como ahijamiento o macollaje. Cada uno de los macollos se constituye en una unidad morfológica con capacidad para generar nuevas hojas, raíces y macollos. Cada macollo presenta un ápice caulinar en forma de domo de 1 a 2 milímetros de altura formado por varias unidades o segmentos superpuestos que constituyen los nudos y entrenudos, similar a la plúmula surgida del embrión de la semilla.

Los macollos pueden ser: intravaginal, cuando crece dentro de la vaina y sale al exterior por el cuello de la misma, o extravaginal, cuando emerge por la base de la lámina a la cual rompe.

Las hojas surgen de cada nudo siguiendo una filotaxis $\frac{1}{2}$ (disposición de las hojas alrededor del tallo) en forma alterna y dística, de modo que se disponen en posición opuesta con respecto a la anterior y a la siguiente. Cada hoja crece en forma de vaina por dentro de los hojas más viejas y cubriendo a las más nuevas. Este conjunto forma un tallo vegetativo o pseudotallo.

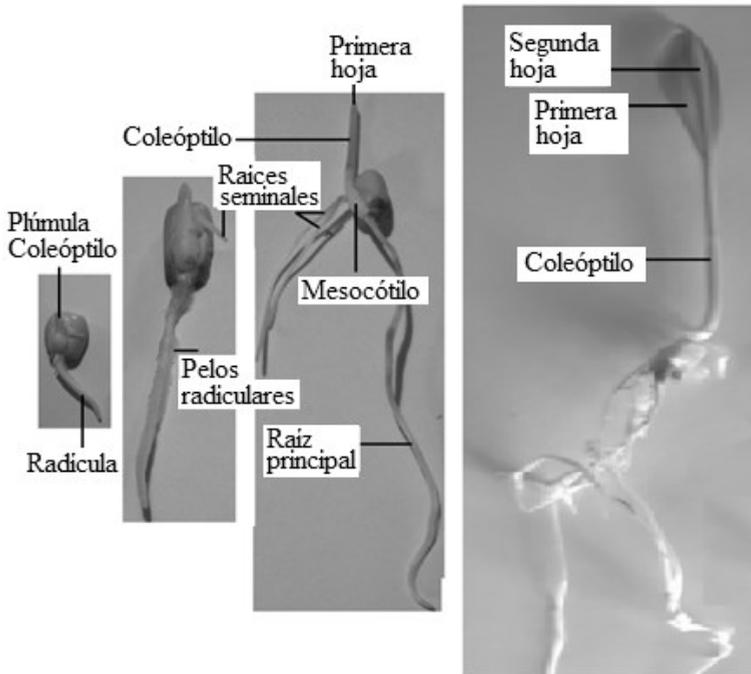


Fig 4.14. Secuencia del proceso de germinación de maíz (Cardinali, 2016).

El tipo de germinación no está condicionado por la ubicación de las reservas, ni la determina, de manera que en la naturaleza se presentan todas las combinaciones posibles como muestra la Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Detalle de diferentes especies considerando la ubicación de sus reservas principales y el tipo de germinación que las caracteriza.

Tipos de reservas	Germinación Hipogea	Germinación Epígea
Cotiledonales	<i>Psidium sativum</i> <i>Vicia faba</i> <i>Lens culinaris</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> <i>Helianthus annuus</i> <i>Lactuca sativa</i>
Endospermadas	<i>Triticum aestivum</i> <i>Zea mays</i> <i>Sorghum sudanense</i>	<i>Ricinus communis</i> <i>Rumex spp.</i> <i>Allium cepa</i>
Perispermadas	<i>Yuca filamentosa</i> <i>Piper nigrum</i> <i>Acorus calamus</i>	<i>Dianthus barbatus</i> <i>Beta vulgaris</i> Var. <i>Rapacea</i> <i>Coffea arabica</i>

4.4. Pretramientos

Como se mencionó, el período más crítico para la semilla es el que transcurre desde la siembra hasta la aparición de las primeras hojas verdaderas. En condiciones de campo este período frecuentemente se extiende en forma excesiva debido a condiciones ambientales desfavorables, tales como deficiencias en los niveles de humedad del suelo y/o bajas temperaturas que se presentan en esta etapa. Como consecuencia, se suele observar una gran dispersión de los tiempos de emergencia. Esto brinda mayores oportunidades para el ataque de plagas y enfermedades que harán disminuir la densidad de plantas del cultivo y eventualmente el rendimiento por unidad de superficie.

En condiciones de laboratorio y de campo se han ensayado diversos tratamientos previos a la siembra tales como la hidratación a bajos potenciales osmóticos o a temperaturas controladas y posterior deshidratación. Estos tratamientos muestran ser efectivos para mejorar el porcentaje y la velocidad de germinación y, en consecuencia, favorecer un más rápido y mejor establecimiento del cultivo en diversas especies, tales como rabanito (*Raphanus sativus*), zanahoria (*Daucus carota*), pimiento (*Capsicum annuum*), tomate (*Lycopersicon esculentum*), avena (*Avena sativa*), Festuca (*Festuca arundinacea*) y mostaza (*Brassica alba*), entre otras. Semillas de estas especies son capaces de tolerar la hidratación y posterior desecación por cortos períodos de tiempo después de haber ingresado en la etapa de crecimiento del embrión. Además, el efecto de hidratación/deshidratación se hace más efectivo a medida que aumenta el número de ciclos y las horas de imbibición. El número de horas de hidratación tiene efectivamente un efecto beneficioso cuando abarca la etapa de hidratación y se extiende al de división celular. Sin embargo, cuando avanza y com-

promete la etapa de elongación celular, la deshidratación posterior causa daños irreversibles en la semilla que anula los efectos beneficiosos y perjudica en mayor medida a la semilla. Estas técnicas de pretratamiento conocidas también como "priming", bien conducidas, generan un avance en el metabolismo que acelera y mejora la germinación y emergencia, y en consecuencia la implantación del cultivo.

En la naturaleza frecuentemente ocurren fenómenos similares a los de "priming" en frutos de diversas especies antes de la separación de la planta madre y de su dispersión. El tratamiento también lo puede proporcionar directamente el suelo que rodea a la semilla. Esto ocurre a través de las fluctuaciones en los niveles de humedad propios de las variaciones ambientales que ocurren en condiciones naturales.

Se han realizado investigaciones sobre diversas especies hortícolas y forrajeras combinando técnicas de pretratamientos. Controles osmóticos, "osmopriming" utilizando polietilenglicol 6000 y KNO_3 que es un activador de la germinación con niveles finales de potencial agua de $-1,25$ MPa, conjuntamente con tratamientos de "hidropriming" (atmósfera saturada) aplicados a Festuca (*Festuca arundinacea*) durante 4, 6 y 8 días provocaron la disminución del TMG (tiempo medio de germinación) de entre el 50 y el 56% y germinación notablemente más sincrónica que los testigos sin tratamiento.

Otra combinación frecuente es "osmopriming" con la de inoculación con bacterias, "biopriming", consistente en recubrir la semilla con *Pseudomonas aureofaciens* AB254. En conjunto son llamadas técnicas de "Bio-osmopriming". Ellas han permitido a los cultivos, no sólo lograr una germinación más rápida y uniforme en un amplio rango de temperaturas de suelo, sino también mejorar su comportamiento frente a damping-off o enfermedad de los almácigos ocasionada por diversos hongos del suelo. Más aún, semillas de maíz dulce cubiertas con *P. aureofaciens* han exhibido buen comportamiento, equivalente a otras tratadas con funguicidas específicos, frente a *Phytophthora sp.*, uno de los agentes criptogámicos responsables del damping-off.

Otro tratamiento que mejora el comportamiento de la semilla en condiciones de campo es la siembra en medio fluido, que consiste en ubicar a la semilla en un gel que le provee una continua y adecuada hidratación a lo largo del período crítico indicado, permitiendo el establecimiento exitoso aún en condiciones fuertemente desfavorables.

Todos estos tratamientos son factibles de ser realizados en explotaciones comerciales particularmente en especies hortícolas.

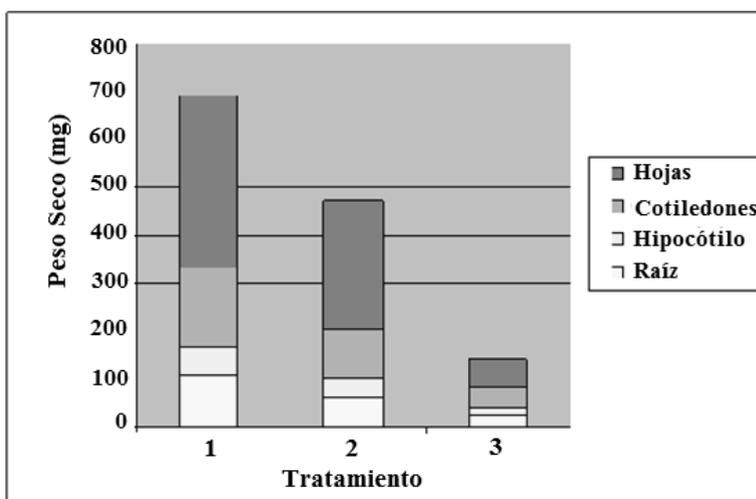
4.5. Aporte fotosintético de los cotiledones

Los cotiledones de especies de germinación epigea cumplen un importante rol nutricional. Constituyen una fuente fundamental de material de reserva acumuladas por la fotosíntesis contemporánea al llenado del grano, dado por hidratos de carbono, proteínas y/o ácidos grasos, dependiendo de la especie.

Además, los cotiledones son hojas embrionales con un mesófilo clorofiliado con cierta capacidad fotosintética, lo que determina su doble rol de órgano reservante y sintético. Estudios realizados en girasol (*Helianthus annuus*) y lotus (*Lotus glaber*) mostraron que el aporte fotosintético favorece significativamente el vigor de las plántulas y la implantación.

Estudios recientes cubriendo los cotiledones de manera de evitar su fotosíntesis, pero permitiendo que sigan siendo fuente de reserva para el crecimiento del embrión, han arrojado interesantes resultados que ponen de manifiesto la importancia de su aporte carbonado realizado a través del proceso fotosintético. En efecto, en un ensayo bajo invernáculo en girasol (*Helianthus annuus*), se pudo determinar que cubriendo un solo cotiledón, el peso total de las plántulas previo a la emergencia de las primeras hojas verdaderas fue el 75% respecto del testigo con ambos cotiledones descubiertos, en tanto que cubriendo los dos cotiledones las plantas presentaron el 63% del peso del testigo.

Otro caso más dramático se presenta en zapallito de tronco (*Cucurbita maxima* var. zapallito) en el que las plántulas con un y dos cotiledones cubiertos tuvieron un peso del 68% y 20% respectivamente, respecto del testigo como se puede ver en detalle en las Fig. 4.15 y 4.16.



APORTE FOTOSINTÉTICO DE LOS COTILEDONES DE ZAPALLITO
(*Cucurbita maxima* var. Zapallito)

Tratamiento 1 - Control - 691,122 mg (100%)

Tratamiento 2 - Un cotiledón tapado - 470,728 mg (68%)

Tratamiento 3 - Ambos cotiledones tapados - 139,12 mg (20%)

Fig. 4.15. Peso seco total y su partición en los diferentes órganos según el tratamiento aplicado a plántulas de zapallito de tronco.



Fig. 4.16. Detalle de los tratamientos aplicados a zapallito de tronco. (Scorciello *et al.* 2010)

Otros ensayos realizados con la misma metodología en girasol (*Helianthus annuus*) mostraron en sus resultados un aporte más moderado de sus cotiledones, como se puede ver en el siguiente recuadro:

APORTE FOTOSINTÉTICO DE LOS COTILEDONES DE GIRASOL (*Helianthus annuus* L).

Tratamiento 1 - Control – 582,806 mg (100%)
 Tratamiento 2 - un cotiledón tapado – 440,893 mg (76%)
 Tratamiento 3 - ambos cotiledones tapados – 366,304 mg (63%)

Estos resultados ponen claramente de manifiesto la importancia de la permanencia de los cotiledones intactos, libres de daños como factor fundamental para el crecimiento del embrión. Así se lograría una rápida implantación del cultivo, contribuyendo a superar una etapa particularmente vulnerable como es la que va desde la emergencia de la radícula hasta la aparición de las primeras hojas verdaderas.

5

HORMONAS EN LA GERMINACIÓN

5.1. Concepto de hormona. Grupos Hormonales

Los organismos superiores requieren de precisos mecanismos que regulen y coordinen sus actividades. Esto ocurre en función del transcurso del ciclo ontogénico y de las diversas variaciones ambientales, que las plantas perciben y responden en consecuencia. El mecanismo de regulación en vegetales se establece mediante fitohormonas.

Las fitohormonas u hormonas vegetales son compuestos orgánicos sintetizados por el vegetal, distintos de los nutrientes, que en pequeñas cantidades estimulan, inhiben o modifican los procesos fisiológicos en las plantas.

Su lugar de acción puede ser el mismo tejido o células en las que se producen. También pueden desplazarse desde el lugar de producción al lugar de acción en un tejido distante. Prueba de ello es la presencia de fitohormonas que muestran los análisis de los fluidos xilemáticos y floemáticos, indicando que ellas son distribuidas por toda la planta. Actúan a bajas concentraciones mayores a 1nM y menores a 1 μ M.

Los vegetales no poseen estructuras especiales para sintetizar sus hormonas. De modo que ellas pueden formarse en diversos tejidos, si bien no todos poseen la misma capacidad para producirlas. Los principales lugares de biosíntesis son los ápices caulinares y radicales, yemas vegetativas y reproductivas, semillas en desarrollo y frutos maduros.

Las fitohormonas son compuestos sintetizados por el vegetal. Existen además compuestos naturales no sintetizados por el vegetal y artificiales o sintéticos obtenidos en laboratorios, capaces de provocar respuestas fisiológicas en las plantas. Estos compuestos se denominan reguladores naturales y sintéticos respectivamente. De manera que el término regulador es de amplio sentido ya que abarca a todos los compuestos mencionados.

Tradicionalmente se reconocen cinco grupos de hormonas vegetales: auxinas, giberelinas (GA), citocininas, ácido abscísico (ABA) y etileno. También hay otras fitohormonas menos conocidas que se tratan en el punto 5.7. Todas ellas presentan moléculas pequeñas y de fácil translocación. Además, de alguna manera, todas intervienen en el proceso de germinación.

En términos generales, se considera que el control hormonal del desarrollo está determinado por las variaciones en las concentraciones hormonales en las células blanco. Sin embargo, esta consideración es insuficiente cuando se refiere a hormonas vegetales, debido a que las respuestas están condicionadas no sólo

por la concentración sino también por la sensibilidad de las células blanco receptoras.

La sensibilidad se manifiesta claramente cuando un tejido varía su respuesta frente a idénticas concentraciones hormonales. Recordemos que las hormonas se comportan como mensajeros químicos (mensajeros primarios) cuyo accionar depende de la percepción, dada por la cantidad de receptores y por la afinidad de la hormona al receptor, y de la transducción o transmisión de la señal. La transducción está dada por la cadena de eventos, es decir, la intervención secuenciada de una serie moléculas (mensajeros secundarios) que conducen a la respuesta fisiológica (Fig 5.1).

Los receptores son de naturaleza proteica y tienen la capacidad de reconocer a la hormona o mensajero y unirse en forma específica y reversible. Pueden ubicarse en las membranas plasmática, nuclear, de las organelas y en el retículo endoplásmico.

Los receptores hormonales reconocen la señal y forman un complejo receptor-hormona. Esta unión genera una alteración conformacional del receptor que determina su activación. A partir de allí, se inicia una cadena de reacciones a modo de amplificación de la señal recibida que produce un cambio bioquímico o respuesta (Fig 5.1). Es fundamental tener presente que el proceso de transducción no es una simple cadenas de reacciones establecidas, ya que todas ellas pueden ser controladas a través de una compleja red de interacciones positivas o negativas.

En resumen, el mecanismo básico de acción hormonal, se puede dividir en tres etapas:

- 1.- Percepción de la señal (reconocimiento)
- 2.- Transmisión de la señal (transducción)
- 3.- Respuesta (cambio bioquímico)

Los aspectos considerados, concentración y sensibilidad, explican los diferentes efectos frente a una especie determinada. Sin embargo, ambos varían según el genotipo, la etapa del ciclo ontogénico, el órgano de que se trate, las condiciones ambientales pasadas y presentes y la presencia o ausencia de otras hormonas. Como ejemplo de esto podemos citar el caso del etileno que actúa sobre el proceso de maduración de frutos como bananas y cítricos en general. Esta hormona actúa sobre ciertas células diana o blanco, en las que estimula la síntesis de enzimas degradativas de la pectina, constituyente fundamental de la laminilla media y de la pared primaria, material cementante o de unión entre células. La degradación de este compuesto determina la pérdida de adhesión entre células y consecuentemente el ablandamiento característico de los frutos maduros. Sin embargo, las células de los tejidos de dichos frutos son sensibles al etileno en la etapa avanzada del desarrollo del fruto.

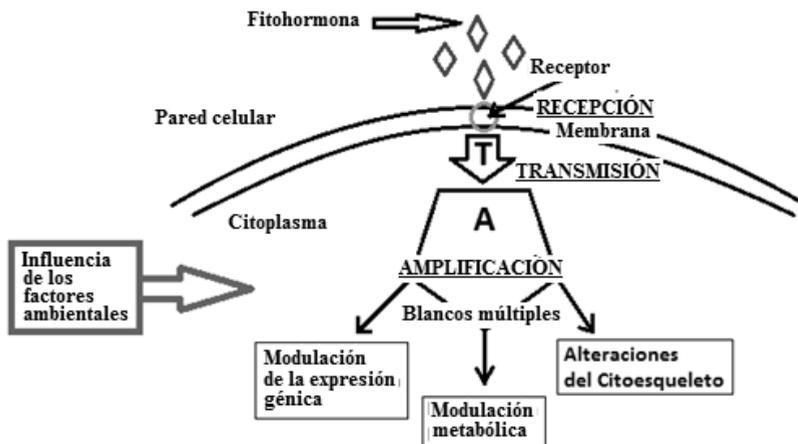


Fig. 5.1. Esquema general de la recepción, transmisión y amplificación de la señal generada por una fitohormona que puede conducir a diferentes respuestas fisiológicas.

Además, las fitohormonas pueden actuar en diferentes tejidos y momentos. Así, las giberelinas actúan sobre la región meristemática subapical caulinar de plantas en roseta estimulando la división celular, pero también lo hacen sobre las células blanco de la capa de aleurona de los frutos de los cereales, como se describe en la Secc. 5.2.3.

En semillas todas las hormonas participan regulando diferentes procesos fisiológicos como la fecundación, la diferenciación, la maduración, la activación o inhibición de su germinación, la movilización de reservas y el crecimiento de las mismas. Una consideración especial ha merecido el estudio del rol de las hormonas en la degradación de las reservas durante la germinación. Si bien la regulación del proceso depende del embrión, éste lo realiza a través de la intervención de hormonas que son la llave para el inicio de una secuencia de reacciones que más adelante veremos en detalle (Secc. 5.2.3).

Se ha avanzado enormemente en el conocimiento de las vías metabólicas que conducen a la formación de estos compuestos, pero todavía quedan muchos aspectos por dilucidar. Por ejemplo, si bien es lógico considerar que los niveles de síntesis y degradación o desactivación temporal cumplen un rol decisivo, aún se desconoce mucho acerca de los mecanismos de control de las concentraciones adecuadas.

5.1.1. Precursores hormonales. Vía de los isoprenoides

Según los precursores de cada hormona se pueden considerar tres grupos, como muestra la Fig. 5.2.

PRECURSOR	HORMONA
Aminoácidos	Auxinas – Etileno
Isoprenoides	Giberelinas – ABA
Isoprenoides y Purina	Citocininas

Fig. 5.2. Principales hormonas vegetales y sus precursores biosintéticos.

Como vemos, la vía de los isoprenoides es el camino biosintético que conduce a la obtención de tres de las cinco hormonas vegetales. Los isoprenoides son moléculas complejas de 10, 15, 20 o 40 átomos de carbono, formadas por adiciones sucesivas de una unidad básica de 5 átomos de carbono denominada isopentenil pirofosfato (IPP). Su origen parte de tres moléculas de acetil CoA, como se puede ver resumidamente en la secuencia que muestra la Fig. 5.3.

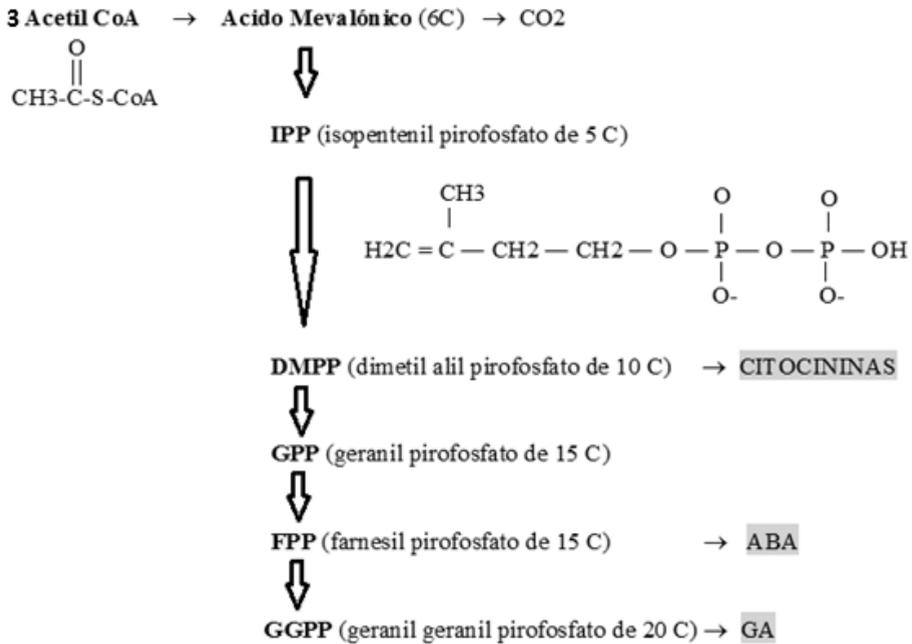


Fig. 5.3. Diagrama de la Vía de los Isoprenoides con los puntos de salida de las principales hormonas.

5.2. Giberelinas

5.2.1. Aspectos históricos

Los cinco grupos de hormonas mencionados intervienen de una u otra manera en el proceso de germinación, pero sin duda son las giberelinas las que tienen la acción más destacada y se las ha estudiado ampliamente en diferentes especies. Las giberelinas se designan con la sigla GA acompañada de un número como subíndice que las identifica y que corresponde al orden en que fueron descubiertas.

Fueron descubiertas por un grupo de investigadores japoneses que estudiaron la enfermedad llamada "mal del pie de arroz" o bakanae (plántula tonta). Ésta tuvo efectos desastrosos para la economía del Japón a partir de 1890, con pérdidas que alcanzaban al 40% de la cosecha de arroz. Las plantas afectadas eran altas, delgadas y pálidas y algunas no llegaban a producir fruto. En 1912, Sawada demostró la relación entre esta enfermedad y el hongo *Gibberella fujikuroi* (Saw), conocido en su estado asexual o imperfecto como *Fusarium moniliforme* (Shuld). Posteriormente, en 1926 Eiichi Kurosawa demostró que filtrados estériles procedentes del hongo podían provocar la enfermedad. Pero recién en 1938, T. Yabuta y T. Hayashi lograron aislar, a partir del hongo, cristales impuros de un compuesto activo para el crecimiento vegetal al que denominaron Giberelina A. En 1945 Brian y colaboradores logran aislar varias giberelinas a partir del mismo hongo *Gibberella fujikuroi*, entre ellas el ácido giberélico o GA₃. Estos trabajos fueron ignorados por el mundo occidental hasta avanzada la década de 1950, debido a barreras comunicacionales con los investigadores japoneses, generadas por la Segunda Guerra Mundial. A partir de esa fecha, investigadores norteamericanos pertenecientes al Departamento de Agricultura (USDA) e investigadores británicos de Industrias Químicas Imperiales (ICI), avanzaron en las investigaciones. Sus estudios sobre los filtrados de cultivos de hongos permitieron descubrir la estructura química del compuesto activo al que denominaron Ácido Giberélico. Simultáneamente, investigadores japoneses de la Universidad de Tokio trabajando sobre la descubierta Giberelina A, aislaron tres compuestos con leves diferencias entre sí, a los que denominaron Giberelina A1, A2 y A3. Rápidamente se pudo comprobar que las estructuras del Ácido Giberélico coincidía con la Giberelina A3.

Posteriores investigaciones permitieron descubrir muchas otras giberelinas, todas ellas ácidas. En 1969 se habían identificado sólo 27; en 1975 el número llegaba a las 45; en 1986 ya se conocían 62 giberelinas; y en 2003 sumaban 126, las cuales fueron halladas en plantas superiores, en el hongo *Gibberella* y en dos especies de bacterias. Si bien el número es importante, se considera que hay unas pocas giberelinas activas y que el resto son intermediarios metabólicos. Más de la mitad de las giberelinas descubiertas han sido encontradas en semillas en desarrollo.

5.2.2. Características químicas y acción de las giberelinas

Las giberelinas se sintetizan a través de la vía de los isoprenoides (Secc 5.1.1 y Fig. 5.3) a partir de la GGPP de 20 átomos de carbono. Desde este punto, una secuencia de reacciones químicas conducen a la síntesis de diferentes giberelinas, algunas de 19 y otras de 20 átomos de carbono. Las activas corresponden a GAs C19 que portan un grupo hidroxilo en la posición 3 β , tal como GA1, GA3, GA4 y GA7. De modo que las GAs C20 y las GAs carentes del grupo hidroxilo que en los bioensayos muestran actividad es debido a que cambian su estructura a GAs C19 3 β hidroxiladas.

Las giberelinas activas pueden transformarse en otras menos activas o, al igual que sus intermediarios metabólicos, convertirse en conjugados inactivos, comúnmente glucósidos. Éstos resultan de la unión de una glucosa a uno de los grupos hidroxilos (OH) de las giberelinas a través de un enlace éster con desprendimiento de agua, aunque también pueden hacerlo a un grupo carboxilo (COOH) de la hormona. Luego pueden almacenarse o translocarse hacia sitios de acumulación o de acción. Las giberelinas activas pueden ser desactivadas en forma irreversible a través de la incorporación de un grupo hidroxilo en posición 2 β , constituyendo un producto final de la ruta biosintética sin actividad biológica.

En semillas, el contenido de giberelinas libres o activas va disminuyendo a medida que avanza la maduración, llegando a ser prácticamente nulas en semillas maduras y secas. Simultáneamente se genera un incremento de giberelinas desactivadas por la incorporación del grupo 2 β -hidroxilo o inactivas, por estar ligadas formando glucósidos. Estas formas hidrosolubles pueden transportarse por los tejidos hidratados de la semilla y transformarse en compuestos activos en el lugar de acción.

En cuanto a la compartimentalización subcelular, la síntesis se localiza en proplastidios y se continúa con reacciones de oxigenación mediadas por enzimas ligadas al retículo endoplásmico. Las reacciones finales de síntesis de GAs activas y las de inactivación ocurren en el citoplasma. A nivel tisular se considera que la mayoría de los tejidos vegetales jóvenes en activo crecimiento tienen la capacidad de sintetizar esta hormona, en especial los tejidos meristemáticos de los brotes.

Las semillas inmaduras contienen las concentraciones más elevadas de la hormona dentro de la planta, aunque con grandes variaciones entre los diferentes tejidos que componen su estructura. Bioensayos con células aisladas de semillas han permitido comprobar su capacidad para sintetizar giberelinas, lo que hace posible inferir que parte de esos altos contenidos hormonales estén dados por síntesis *in situ* y no por la translocación. En muchos casos el inicio de la síntesis de esta hormona ocurre en los tejidos mencionados, pero la giberelina activa se genera en los diferentes lugares de acción hacia los que ha sido translocada a través del xilema o del floema.

En semillas maduras, los niveles de giberelinas decrecen hasta desaparecer, de manera que esta fitohormona se sintetiza en el embrión durante la germinación y son vertidas al endosperma a través del escutelo, lo que posibilita la degradación de las reservas, como se describe en detalle en el punto 5.2.3. El aporte de giberelinas para el crecimiento de la plántula surge de la biosíntesis de esta fitohormona en hojas, yemas y entrenudos.

El número y tipo de giberelinas sintetizadas dependerá de la especie; sin embargo, se reconoce a varias giberelinas presentes en un gran número de plantas, ligadas a algún proceso específico; tal el caso de la GA1 (Fig. 5.4) que se la considera fundamental en el alargamiento del tallo y de la GA3 (Fig. 5.4) que aparece relacionada a la movilización de reservas durante la germinación en gramíneas. En semillas se presentan con frecuencia además de GA1 y GA3, otras como GA4, GA7, GA8 y GA9.

Cabe aclarar que algunos reportes indican que en respuesta a la aplicación de determinada giberelina se estimula algún proceso fisiológico. Sin embargo, esto no significa necesariamente que su acción sea directa sobre el mismo, ya que frecuentemente ocurren conversiones metabólicas a otro tipo de GA, finalmente activo.

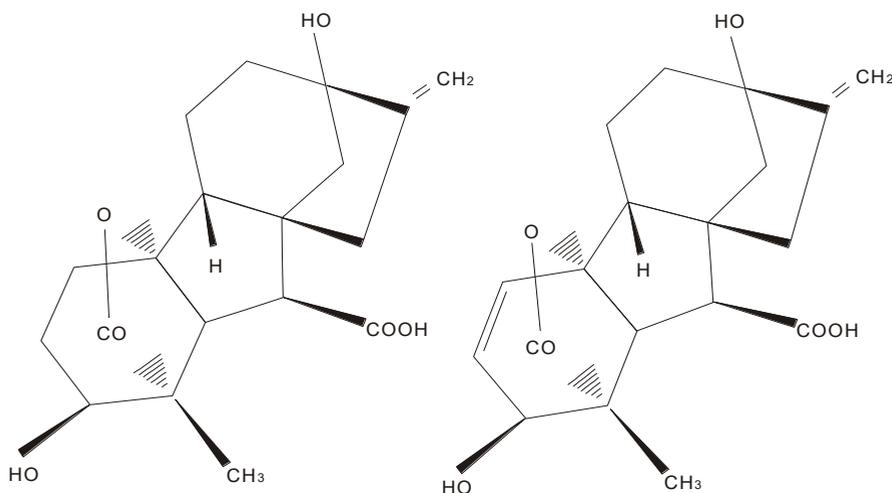


Fig. 5.4. Estructuras de GA1 (izquierda) y GA3 (derecha).

Las giberelinas actúan en diferentes procesos fisiológicos; entre los más conocidos podemos mencionar:

1. Estimulación del alargamiento celular
2. Reversión del enanismo genético
3. Ruptura de la dormición en semillas y yemas

4. Estimulación del espigamiento y floración de plantas bianuales no vernalizadas
5. Sustitución del efecto de día largo para floración
6. Estimulación de la producción de α amilasa para la degradación de reservas en semillas de cereales.

Ésta última es una acción fundamental que se verá en detalle con el siguiente tema sobre degradación de reservas (Secc. 5.2.3) y más adelante cuando se aborde la movilización de carbohidratos (Secc. 6.1).

5.2.3. Degradación de reservas. Mecanismos de acción

Las giberelinas cumplen un rol fundamental en la degradación de reservas induciendo la síntesis de diversas enzimas hidrolíticas, en especial la α amilasa en cereales, particularmente en cebada cervecera (*Hordeum distichum*). En esta especie se han estudiado más profundamente los detalles de la movilización de sus reservas, dada la enorme importancia económica que reviste este proceso en la industria maltera.

La molécula de almidón en su configuración helicoidal tiende a agruparse generando gránulos. La enzima α amilasa, conocida comúnmente como diastasa, es la única capaz de actuar sobre el gránulo de almidón y aunque estén presentes otras enzimas, la degradación de esta reserva no ocurre hasta que no haya presencia y acción de la α amilasa. De manera que es esta enzima la que da inicio al proceso y su síntesis está determinada por las giberelinas como se describe a continuación.

Los avances en el conocimiento de este proceso fueron aportados sobre la base de detallados estudios realizados en la década de 1960. Éstos demostraron claramente que la síntesis de α amilasa ocurre *de novo* en el endosperma y está regulada por el embrión a través de la secreción de giberelinas. En efecto, luego de la hidratación las giberelinas se transportan desde el embrión hasta la capa de aleurona. Allí estimulan la síntesis de la enzima, que desencadena la degradación de las reservas del endosperma.

Los trabajos realizados por Yomo (1960) y Paleg (1960) en semillas de cebada (*Hordeum sp.*) aportaron los primeros conocimientos. Consistieron básicamente en:

- 1) Imbibición controlada a baja temperatura
- 2) Corte para separar el embrión del endosperma
- 3) Medición de actividad de α amilasa en el endosperma.

Estos investigadores trabajaron sobre aleurona aislada en medio estéril variando los tiempos de imbibición y corte. Experimentaron además con el agregado de hormonas e inhibidores en concentraciones apropiadas. Sobre la base de estos estudios se pudo ver que:

- Cuando el corte era realizado inmediatamente después de la imbibición no se observaba actividad de α amilasa.
- Cuando la separación del embrión no era inmediata, es decir que el embrión estaba en contacto con el endosperma durante cierto tiempo, se observaba actividad de la enzima.
- Cuando la separación era inmediata, pero a la parte sin embrión se le agregaba GA3 se observaba actividad de la enzima.
- La actividad enzimática estimulada por GA3 podía ser inhibida aplicando inhibidores de la síntesis proteica.

Estudios posteriores de Ana M. MacLeod y G.H. Palmer en 1966, demostraron que el GA3 se sintetizaba en el embrión y era transportado a la capa de aleurona (Fig. 5.5). Aquí entra en juego otra fitohormona que es el AIA (ácido indol acético), una auxina producida por el coleóptilo del embrión en crecimiento y que actúa sobre la diferenciación vascular y por lo tanto sobre el transporte de las giberelinas desde su centro de producción, que es el escutelo del embrión, hasta la capa de aleurona.

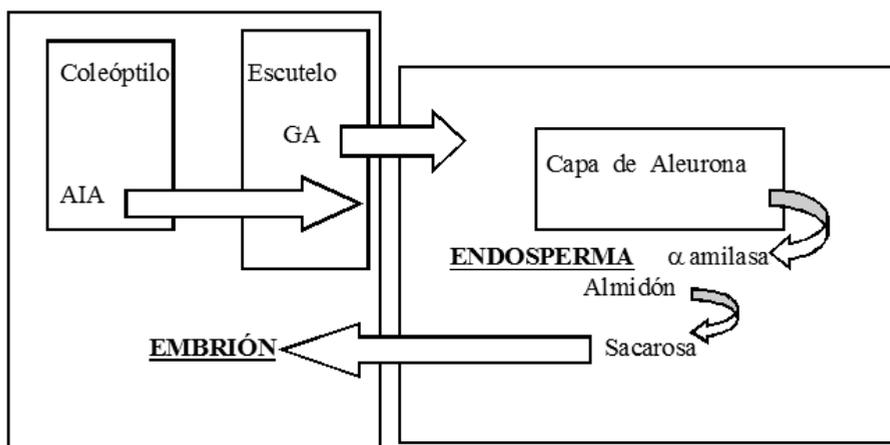


Fig. 5.5. Diagrama simplificado sobre la movilización de reservas en cebada.

Más tarde, Filner y Varner (1967) trabajando con agua radiactiva con el oxígeno marcado ($H_2^{18}O$), y proteasas para efectuar la hidrólisis de las proteínas de reserva ubicadas en la capa de aleurona, demostraron que la enzima α amilasa era sintetizada *de novo*, como se puede ver en el esquema de la Fig. 5.6.

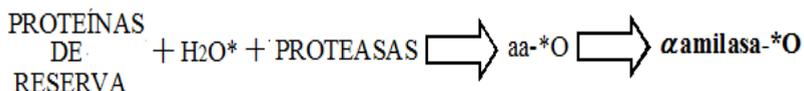


Fig. 5.6. Detalle de las reacciones de la síntesis *de novo* de α amilasa.

En efecto, se ha demostrado que en la capa de aleurona de semillas no germinadas la presencia de esta enzima es casi nula o que contiene trazas. Este nivel se mantiene o aumenta levemente cuando se inicia el proceso de germinación; sin embargo, dos o tres días después se observa un importante aumento de la enzima. Ésta es fabricada *in situ* utilizando los aminoácidos provenientes de las moléculas de proteínas presentes en la capa de aleurona, las cuales deben ser primero hidrolizadas en presencia de agua y proteasas. Por ello, simultáneamente con la hidratación ocurre la activación de proteasas que se encuentran presentes en la semilla y además se incrementa considerablemente su producción.

Las giberelinas son las responsables de promover la síntesis *de novo* de α amilasa y de otras enzimas como dextrinasa límite y α glucooxidasa que se requieren para la hidrólisis del almidón presente en el endosperma. El estudio de la secuencia de eventos que ocurren en la capa de aleurona de los cereales desde la llegada de GAs hasta la síntesis de la α amilasa ha permitido integrar un modelo biosintético de la transmisión de la señal de esta hormona. El conocimiento actual permite hipotetizar acerca de la existencia de un receptor que se ubicaría del lado externo de la membrana plasmática. Cabe aclarar que hasta el presente no se ha reconocido ningún receptor o proteína que posea las características adecuadas para vincularse con la hormona. Los trabajos científicos que respaldan esta hipótesis se basan en la aplicación de tratamientos consistentes en la incorporación de GAs al interior de las células de la capa de aleurona a través de microinyecciones. La consecuencia fue la falta de respuesta a las GAs que se verifica por la falta de síntesis de α amilasa. Opuestamente la aplicación de GAs en el medio extracelular o externo a la célula tuvo como consecuencia la síntesis de dicha enzima. De la misma manera, la aplicación específicamente de GA₄ con ligandos impermeables tuvo como consecuencia la síntesis de la enzima.

Por lo expuesto, es razonable considerar la existencia de un receptor del lado externo de la membrana. De todos modos, la llegada de GA desde el embrión a la capa de aleurona y luego de la recepción, se activa una Proteína G que se ubica del lado interno de la membrana plasmática y se desencadena la transducción de la señal. El proceso se lo puede dividir en dos etapas (Fig 5.7). En la primera de ellas, parte de la Proteína G activa la vía de señalización que conduce hasta GAmyb, factor o regulador transcripcional positivo que promueve la síntesis de α amilasa. A lo largo de esta vía pueden actuar varios reguladores negativos incluido el PKABA que es una proteína-quinasa inducida por ABA.

En una segunda etapa, el factor transcripcional GAmyb reconoce y activa el gen para la α amilasa.

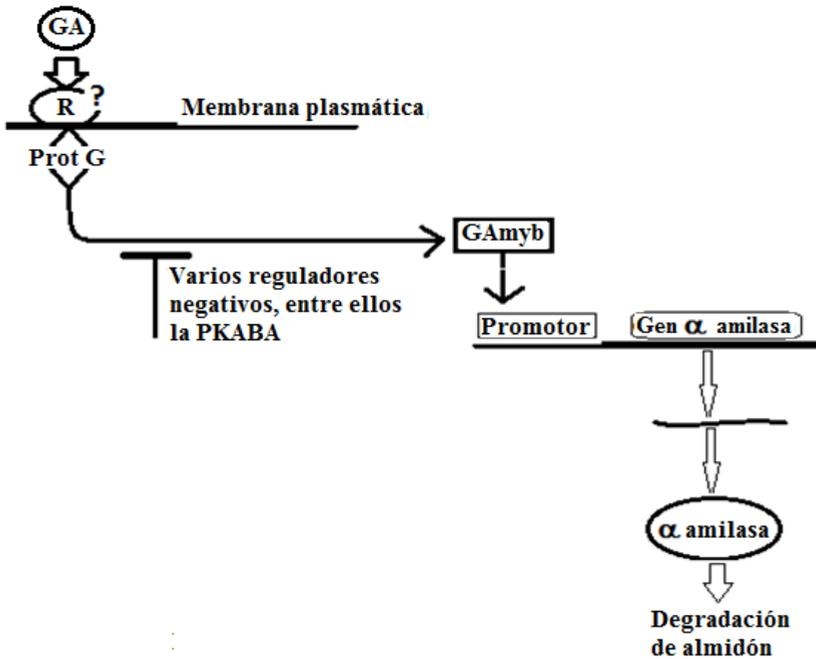


Fig. 5.7. Recepción, transcripción y respuesta de las giberelinas en las células de la capa de aleurona. R: posible receptor, PKABA: proteína-quinasa inducida por ABA, GAmyb: inductor de la transcripción de la α amilasa.

En este proceso que conduce a la síntesis de α amilasa, también se considera la participación de Ca^{2+} . Está demostrado que otras de las respuestas celulares inducidas por GAs es el transporte de Ca^{2+} . En efecto, la presencia de esta fitohormona provoca un aumento del Ca^{++} en el citosol proveniente de las vesículas del aparato de Golgi por acción de una ATPasa dependiente de Ca^{2+} . Sin embargo, otros estudios basados en la microinyección de este catión al protoplasto de células de aleurona no han generado la síntesis de α amilasa, por ello se ha considerado la posible existencia de dos procesos tendientes a la síntesis de α amilasa que parten de la Proteína G, uno independiente y otro dependiente de Ca^{2+} . La situación actual es que se han identificado varios activadores e inhibidores de la transcripción de la α amilasa y simultáneamente la participación del ión Ca^{2+} , lo que supone que existe un complejo proceso que conduce a la transcripción de la enzima y hasta hoy se desconocen los detalles.

En consecuencia, las giberelinas actúan a nivel de transcripción induciendo la expresión génica que codifica la α amilasa. Recordemos que para la síntesis de esta enzima se requiere de los aminoácidos que la componen, los cuales se

obtienen de la degradación de las reservas proteicas presente en la capa de aleurona que son hidrolizadas por las proteasas durante la hidratación de la semilla.

Otras enzimas como la β amilasa y la maltasa están presentes en el endosperma y se activan luego de la hidratación y de que la enzima α amilasa haya iniciado la hidrólisis del almidón. Los detalles de la degradación completa del almidón se pueden ver en el Cap. 6 donde se aborda la degradación y movilización de las reservas, ítem 6.1 y lo ilustra la Fig 6.1.

También se requiere la activación de enzimas capaces de actuar sobre los componentes de las paredes celulares, ya que hay ciertos endospermas, como los de algunas familias de leguminosas, cuyas células depositan abundantes reservas no almidonosas constituidas básicamente por galactomananos, polisacárido formados por un esqueleto de manosa con ramificaciones constituidas por unidades de galactosa. Las enzimas presentes en el endosperma posibilitan que este polisacárido sea degradado hasta manosa y galactosa, monosacáridos que serán translocados al embrión (Ver también Cap. 6 ítem 6.1).

Una vez sintetizada la α amilasa debe ser transferida, desde la capa de aleurona o desde el escutelo, hacia el endosperma. Las paredes celulares constituyen una barrera para el movimiento de moléculas de gran tamaño, de manera que la acción de enzimas hidrolíticas que degradan los componentes de pared posibilitan la llegada de las enzimas requeridas para la hidrólisis de las reservas. Las paredes celulares también constituyen una fuente de reservas cuyos componentes luego de hidrolizados deben ser transferidos al eje embrionario.

Cabe aclarar que si bien en la capa de aleurona se generan importantes cantidades de enzimas hidrolíticas, hay evidencias que muestran que el escutelo también secreta enzimas digestivas hacia el embrión. De hecho, entre ellos existe una sola capa de células columnares con abundante retículo endoplásmico y dictiosomas, características de células "transfers" o secretoras. En algunas especies, la secreción de enzimas por el escutelo es mayor que la generada en la capa de aleurona particularmente en el inicio de la germinación. Tal es el caso de arroz donde la provisión de α amilasa la aporta prácticamente en forma íntegra el escutelo.

Las giberelinas también cumplen un rol fundamental en el ablandamiento de las paredes celulares que rodean al embrión y facilitan la emergencia de la radícula. La semilla de tomate (*Lycopersicon esculentum*), se caracteriza por poseer el extremo de la radícula cubierto con una porción o capa de endosperma. Aquí la emergencia radicular depende del balance entre la presión de turgencia y la resistencia impuesta por la capa de endosperma. Luego de la imbibición, las giberelinas inducen la formación o activación de enzimas hidrolíticas de pared tales como manasas, que ocasionan una disminución de la resistencia mecánica. Esto determina una caída del potencial presión umbral (ver crecimiento del embrión Secc. 4.2.3), facilitando el crecimiento y emergencia radicular. Un caso similar se presenta en tabaco (*Nicotiana tabacum*) donde la GA4 induce la formación de β -1,3-glucanasa que actúa sobre el ablandamiento del endosperma micropilar.

5.2.4. Las giberelinas y el crecimiento

Como se mencionó en el punto 5.2.2, las giberelinas actúan en diferentes procesos fisiológicos. Ya mencionamos su intervención en la movilización de las reservas durante la germinación y ahora abordaremos su efecto sobre el crecimiento.

El crecimiento se verifica fundamentalmente por un aumento del volumen. Para ello es necesaria la generación de la materia prima que son las células, las cuales a través de un incremento en su volumen producirán el alargamiento celular.

Como la generalidad de las fitohormonas, las giberelinas son muy activas y efectivas a bajas concentraciones. Así, la elongación de tallos de plántulas de arroz y lechuga responden a concentraciones del orden de 10^{-10} molar. Como vimos, las células que responden a este grupo de hormonas, como son las correspondientes a los meristemas intercalares responsables del crecimiento en altura, deben poseer los mecanismos de recepción y amplificación de la señal.

En ensayos basados en aplicaciones exógenas de giberelinas sobre arvejas enanas se ha determinado que las giberelinas actúan tanto sobre la división como sobre la elongación celular. Estos efectos también se han visto en la elongación de hipocótilos y de los entrenudos de varias plantas herbáceas y sobre las divisiones celulares que se verifican en los meristemas apicales caulinares.

Como se expresó en el punto 4.2.3, los mecanismos para la elongación se establecen a través de un aumento en la presión dado por el ingreso de agua a favor de un gradiente de potencial agua generado por un descenso del potencial osmótico, o por una disminución de las resistencias de la pared celular. Se ha visto que las giberelinas no tienen influencia alguna sobre el componente osmótico de las células; sin embargo, se han observado sus efectos sobre la extensibilidad de las paredes celulares pero en forma diferente de los efectos auxínicos. Las auxinas generan el ablandamiento de la pared a través de la acidificación en la misma y, como consecuencia de esto, se produce la activación de expansinas, proteínas especiales que producen un reordenamiento de los enlaces de los componentes de pared. Además, se activan las enzimas XET (xiloglucano endotransglicosilasa) que escinden los enlaces entre la celulosa y la hemicelulosa, permitiendo otros arreglos de los componentes de pared. Como dijimos, las giberelinas generan una disminución de la fuerza necesaria para generar la deformación de la pared lo que facilitaría el crecimiento explicado según el modelo de J. A. Lockart (1965) desarrollado en el punto 4.2.3, pero no lo hacen a través de una acidificación de la pared, sino a través de un efecto, posiblemente complementario, sobre la enzima XET presente en las paredes celulares.

Cabe aclarar que se ha demostrado una clara interrelación entre giberelinas y auxinas, ya que se ha reportado que las primeras nunca están presente en los tejidos en completa ausencia de auxinas, y la presencia de giberelinas producen un aumento en la concentración de auxinas. Estos efectos combinados y com-

plementarios contribuyen a explicar la importante acción de las giberelinas sobre la elongación celular.

Por otro lado, las giberelinas tienen efecto sobre la división a través del **ciclo celular**, ya que actúan activando genes de proteínas quinasas específicas para ciclinas (CDKs), fundamentales para dar inicio al proceso de división mitótica. Específicamente, induce a las células de los meristemas intercalares en Fase G1 a sintetizar ADN es decir, a ingresar en la Fase S, lo que conduce posteriormente a la continuidad del ciclo a través de la Fase G2 y M, generando nuevas células que al expandirse producen crecimiento. (Fig., 5.8).

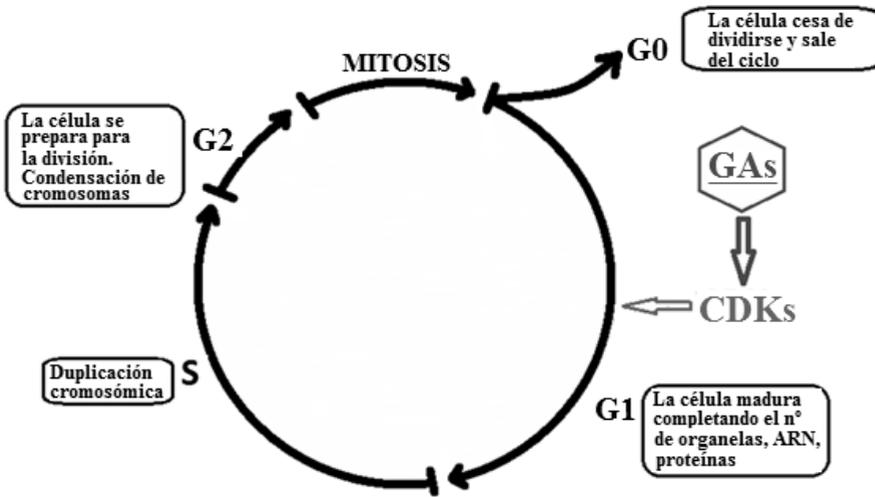


Fig. 5.8. Diagrama del ciclo celular con el detalle de cada una de las fases (G1.S y G2), Se destaca el punto de intervención de las giberelinas (GAs) a través de las enzimas quinasas dependientes de ciclinas que regulan el ciclo celular.

5.2.4.1. Retardadores de crecimiento

Este punto se desarrolla en el marco de los reguladores en plantas, sólo tras el objetivo de señalar algunos compuestos que actúan sobre la síntesis de giberelinas y que son frecuentemente usados en diversas explotaciones comerciales con interesantes resultados. Los retardadores de crecimiento son compuestos que reducen el tamaño de la planta sin causar efectos fitotóxicos. En este punto nos referiremos a aquellos que actúan inhibiendo la síntesis de las giberelinas tales como CCC (cloruro de cloromequat o Cycocel), AMO 1618 y Phosphon-D.

Estos compuestos interfieren en la síntesis de giberelinas, lo que determina una reducción en el crecimiento principalmente por su acción sobre las divisio-

nes de las células de los meristemas apicales caulinares e intercalares. Como consecuencia, las plantas son más pequeñas y de mayor espesor. Sin embargo, este efecto no provoca una disminución en el contenido de clorofila foliar, ni reducción del rendimiento de los frutos. Estos efectos pueden ser revertidos por agregado exógeno de giberelinas.

Diversos retardadores son usados principalmente en cultivos intensivos hortícolas, florales y frutícolas. Estos producen, simultáneamente a la reducción del crecimiento, un incremento del color verde de las hojas, un aumento de la tasa fotosintética y de la eficiencia en el uso del agua, entre muchos otros efectos que dependen del cultivo, el producto utilizado y la dosis empleada.

5.3. Auxinas

Constituye el grupo hormonal descubierto en primer término y el más ampliamente estudiado. El camino hacia su descubrimiento está ligado al estudio de las respuestas de las plantas a estímulos lumínicos unidireccionales, lo que se conoce con el nombre de fototropismo. Desde los estudios sobre el movimiento de las plantas realizados por Charles Darwin y su hijo Francis en 1880, pasando por los de Boysen Jensen en 1910 y Paal en 1919, todos los trabajos fueron realizados sobre el comportamiento de coleóptilos de gramíneas expuestos a la iluminación lateral. Este tipo de iluminación genera una mayor concentración auxínica del lado no iluminado estimulando el alargamiento celular en ese sector y, en consecuencia, el curvado hacia el lado iluminado. El decapitado de los coleóptilos y su ubicación en posición lateral permitió comprender los efectos fototrópicos.

Este meticuloso trabajo fue llevado a cabo en 1926 por Frits W. Went, cuando era todavía un estudiante, quien trabajaba en el laboratorio de su padre en la Universidad de Utrech. Estos estudios le permitieron aislar la sustancia responsable de la curvatura haciéndola difundir desde los ápices de coleóptilos a bloques de agar y de éstos nuevamente sobre coleóptilos decapitados, los cuales reiniciaban su alargamiento. Pero si el bloque conteniendo auxina se colocaba desplazado sobre un costado se verificaba la curvatura hacia el lado contrario. Esto era ocasionado por una mayor concentración de la sustancia aportada por el bloque colocado excéntricamente. Además se comprobó que el grado de curvatura era proporcional a la concentración hormonal que presentaba el bloque de agar. Este delicado trabajo no sólo permitió aislar la sustancia sino idear un bioensayo llamado "Test de Curvatura de Avena", que se convirtió en un método rutinario y ampliamente usado para determinar los contenidos relativos de auxinas en diferentes tejidos vegetales.

Desde el punto de vista metodológico es muy interesante la descripción del método, pues permite descubrir los detalles de estandarización anatómicos y fisiológicos manejados por Went en la década de 1920 (Fig. 5.9) y más tarde aplicados en el test de curvatura. Las plántulas de avena seleccionadas se cultivan en oscuridad a 25°C y 90% de humedad relativa. Las manipulaciones deben

realizarse bajo luz de seguridad roja o anaranjada fototrópicamente inactiva. Los coleótilos de 3 a 4 centímetros de longitud se decapitan a unos 4 milímetros del extremo apical, pero unas 3 horas después es necesario cortar nuevamente la punta debido a que la nueva superficie apical retoma la función de ápice fisiológico con capacidad de generar auxina. A continuación se extrae la hoja primaria encerrada en el coleótilo y se corta a efectos de que su crecimiento no interfiera el procedimiento. Posteriormente, sobre uno de los laterales se fija un pequeño bloque de agar, que previamente y por un lapso de 2 horas estuvo en contacto con el tejido recibiendo las auxinas a cuantificar. Después de un período de 90 minutos se determina el grado de curvatura, que estará en función de la concentración de la auxina contenida en el bloque.

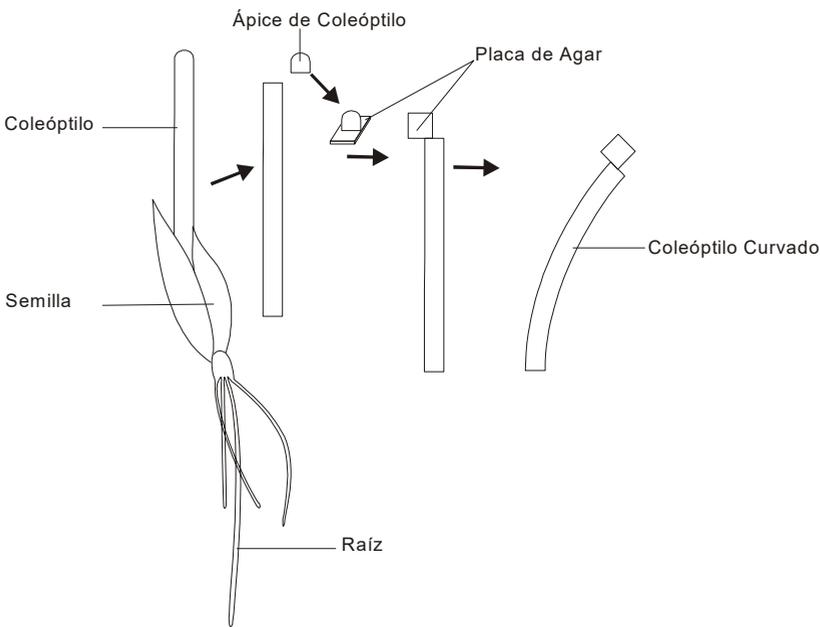
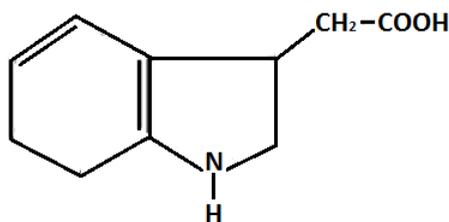


Fig. 5.9. Test de curvatura de avena. Método del coleótilo.

Hasta aquí los logros se limitaban a reconocer la existencia de una sustancia que difundía desde el ápice y que estimulaba el alargamiento celular, la cual inclusive se había aislado. Sin embargo no fue hasta mediados de la década de 1930 cuando los trabajos de F. Kogl y A. J. Haagen Smit en Holanda, e inmediatamente K. Thimann en los Estados Unidos, identificaron la sustancia aislada por Went como ácido indol-3-acético (AIA). Se adoptó el nombre de auxinas (del griego *auxo* o *aux*: incrementar) para designar a aquellas sustancia naturales o sintéticas capaces de estimular el alargamiento celular y ser responsables de las respuestas a estímulos unidireccionales o tropismos, tales como fototropismo y geotropismo.

Investigaciones posteriores permitieron profundizar los conocimientos sobre la acción auxínica, en particular los detalles de su rol en el alargamiento celular a través de su acción sobre la extensibilidad de la pared celular. En este proceso están involucrados una serie de factores relacionados, como son la presión de turgencia, el potencial osmótico, además de mecanismos propios de pared relacionados a la extensibilidad. También se establecieron relaciones con la inhibición del crecimiento lateral de yemas y, por lo tanto, con la arquitectura de la planta, con la formación de raíces laterales, con la abscisión de hojas, con el desarrollo de frutos, etc.

La principal auxina presente en semillas es el AIA (ácido indol acético) (Fig 5.10), aunque no es la única, ya que también se han encontrado otras auxinas naturales tales como ácido indol butírico (AIB) y el ácido 4-cloroindolacético (4-cloroAIA). Otros compuestos tanto naturales como sintéticos con acción auxínica se citan en la abundante bibliografía; sin embargo, su actividad depende de la capacidad de transformación en auxina activa por los diferentes tejidos.



Acido Indol-3-acético (AIA)

Fig. 5.10. Estructura del ácido indol acético (AIA).

El AIA presente en las semillas no proviene de la planta madre sino que es formado en los tejidos de la semilla durante su desarrollo, a partir del aminoácido triptófano. Se han descubierto diferentes vías de síntesis; sin embargo, las más reconocidas como presentes en la mayoría de las plantas superiores son la de la triptamina y la del indol-3-pirúvico, como se detalla en la Fig. 5.11.

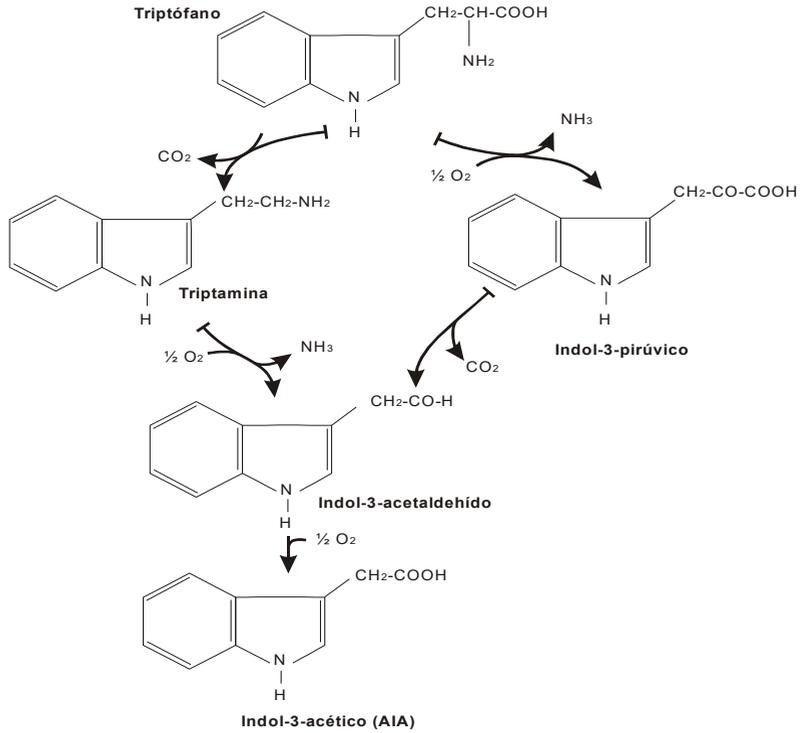


Fig. 5.11. Biosíntesis de AIA

Las auxinas se presentan en forma libre y conjugada, es decir, ligadas a diferentes compuestos como glucanos, inositoles y péptidos. Ellos le confieren una desactivación temporal, constituyendo de esta manera una forma de almacenamiento de la hormona. Esto forma parte del mecanismo de control de la concentración hormonal en los tejidos, además de los procesos degradativos a cargo de la enzima AIA oxidasa. Las semillas maduras presentan habitualmente concentraciones variables de auxinas libres y también en forma ligada la cual puede ser movilizada desde el endosperma hasta el coleóptilo. Una vez liberadas por hidrolasas específicas promueven la diferenciación de tejido de conducción que facilitará el transporte desde el escutelo hacia el embrión en crecimiento. Últimamente diversos tratamientos con reguladores, entre ellos auxinas y citocininas han indicado que ellos participan en la diferenciación de elementos de conducción, específicamente tráqueas. La serie de eventos del proceso de xilogénesis, desde la iniciación hasta la muerte celular, incluye reorganización del citoesqueleto, formación de pared secundaria, lignificación y por último autólisis para la formación de elementos de conducción.

5.4. Citocininas

Las citocininas están presentes en una enorme variedad de semillas maduras, particularmente la conocida como zeatina (Fig. 5.12) descubierta en 1964 simultáneamente por D.S. Lethan en Australia y C. Miller en los Estados Unidos. Ambos investigadores trabajaron en forma independiente en endospermas inmaduros de cariopses de maíz (*Zea mays*). Posteriormente, la zeatina también fue encontrada abundantemente en plantas superiores y en bacterias, entre ellas varias fitopatógenas tales como *Agrobacterium tumefaciens*.

Las citocininas se caracterizan por poseer una adenina sustituida en el grupo amino 6, que da lugar a una cadena lateral insaturada unida al anillo de purina. También pueden presentarse en la forma de nucleósido como es el caso del ribósido de zeatina (Fig. 5.12) existente en gran cantidad de plantas, y en forma de nucleótido por el agregado de un grupo fosfato unido a la ribosa como es el caso de ribosil zeatina monofosfato.

Además de las citocininas mencionadas existen otras naturales pero no presentes en plantas, como la cinetina, primera citocinina descubierta en 1954 por C. Miller. Esto se alcanzó a partir de bioensayos con médula de tabaco (*Nicotiana tabacum*) iniciados por F. Skoog y colaboradores en la Universidad de Wisconsin. Ellos probaron diferentes sustancias promotoras de la división celular, en particular aquellas que tuvieran ácidos nucleicos. Notaron que el producto de la degradación en autoclave (de esperma de arenque) estimulaba la división celular del tejido vegetal crecido en un medio de cultivo a base de agar, minerales, azúcares, vitaminas, aminoácidos y AIA. Las células que antes no se dividían sino que sólo aumentaban su tamaño y hasta multiplicaban su número cromosómico, cuando se agregaba esa sustancia se estimulaba fuertemente la división celular. Esta respuesta ocurría únicamente si el medio contenía AIA. Visto este notable efecto a la sustancia se la denominó cinetina, químicamente identificada como 6-furfuril aminopurina (Fig. 5.12), hoy ampliamente usada en forma sintética. Otro es el caso de la bencilaminopurina encontrada raramente en vegetales y actualmente la forma sintética es de uso frecuente en agricultura.

La síntesis de citocininas deriva en parte de la vía de los isoprenoides (Secc. 5.1.1 y Fig. 5.3) que aporta la cadena lateral a través del compuesto IPP (isopentenil pirofosfato) y por la acción fundamental de la enzima Isopentenil AMP sintasa que cataliza la unión del compuesto con AMP (adenosin monofosfato) para dar isopentenil AMP. Posteriormente la eliminación sucesiva del grupo fosfato y de la ribosa permite la obtención de isopentenil adenina, la cual finalmente puede oxidarse a zeatina. A través del balance entre ambas se alcanzan las concentraciones adecuadas en los tejidos.

Tan importante como la síntesis es la degradación. Ésta se realiza por medio de un sistema enzimático conocido como citocinina oxidasa que extrae la cadena lateral y libera adenina.

Otra forma de regulación es a través de la formación de conjugados glucósidos que se obtienen por unión de la glucosa a la cadena lateral, los cuales pueden ser almacenados como derivados inactivos. También la formación de conjugados con aminoácidos inactiva a las citocininas. Un ejemplo de este tipo es el ácido lupínico que es un conjugado muy estable de la zeatina con el aminoácido alanina.

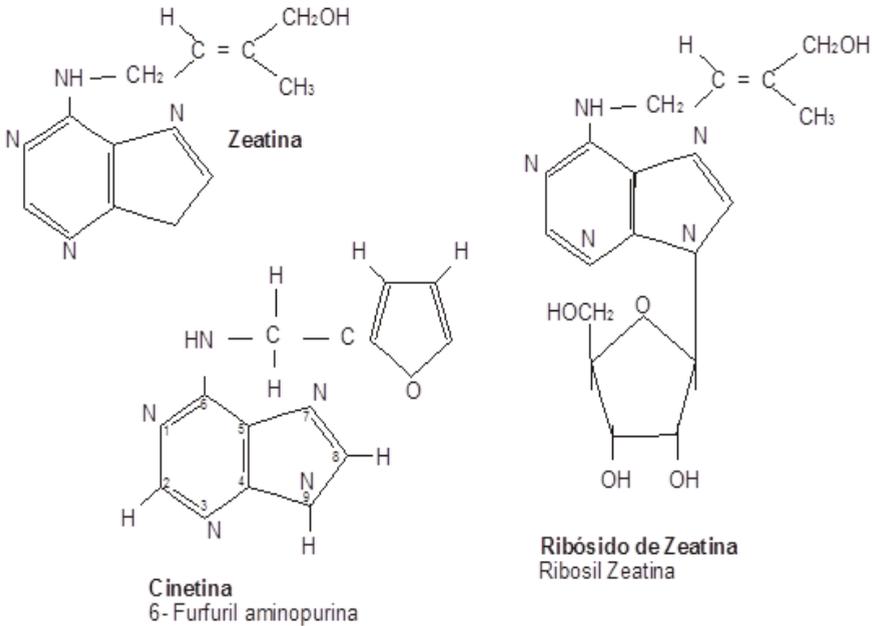


Fig. 5.12. Estructura química de las citocininas más conocidas.

Las citocininas actúan fundamentalmente estimulando la división celular en tejidos no meristemáticos, como mostraron los primeros trabajos que condujeron al descubrimiento de la cinetina. Sin embargo, las citocininas también actúan sobre otros procesos fisiológicos, tales como alargamiento celular, retraso de la senescencia de tejidos aislados, diferenciación de tejidos y morfogénesis, interrupción de la dormición de yemas, desarrollo de cloroplastos y floración.

La mayoría de los procesos fisiológicos de las citocininas se explican por su interacción con las auxinas. Ambas fitohormonas participan en el control de la otra. Así, las citocininas incrementan los niveles de auxinas, en tanto que las auxinas disminuyen la concentración de las citocininas activas. Particularmente importante es la regulación del ciclo celular que depende de proteínas específicas. El control de la expresión de estas proteínas puede explicarse por una interacción auxina-citocinina.

La cantidad de citocininas aumentan considerablemente durante el desarrollo de la semilla, es decir, cuando los tejidos embrionales y reservantes están creciendo y luego declinan hacia la maduración. Se reconoce que los frutos son un destino fundamental y que las citocininas se encuentran a la mayor concentración, en el período de división celular y alargamiento. Precisamente, cuando están ocurriendo activamente los procesos de división celular, diferenciación y morfogénesis. Parte de las citocininas puede provenir de la planta madre, sin embargo, el endosperma se constituye en un centro de producción importante durante el desarrollo de la semilla. Más tarde, cuando se inicia el proceso de germinación, el eje embrionario pasa a ser el centro de producción y distribución de las citocininas.

Una etapa fundamental en el proceso de germinación es la movilización de reservas que, como se expuso anteriormente, está regulada por el embrión. Los trabajos que demostraron estos aspectos fueron llevados a cabo aplicando diferentes hormonas a tejidos de reserva aislados del embrión. Bajo esta metodología, la aplicación de citocininas a cotiledones aislados de zapallo (*Cucurbita máxima*) provocó la acción de enzimas proteolíticas, en tanto que en garbanzos (*Cicer arietinum*) causó incrementos en las actividades amilolíticas y proteolíticas similares a las ocurridas en condiciones naturales. En los casos de cotiledones con reservas lipídicas como el girasol (*Helianthus annuus*) la aplicación de citocininas incrementó la actividad de la isocitrato liasa, enzima que participa en la degradación de las reservas grasas en el ciclo del glioxilato, dentro del glioxisoma. En especies con reservas amiláceas, como es el caso del trigo, se reconoce que un tratamiento previo de la capa de aleurona con citocininas mejora sensiblemente la acción de las GA sobre la síntesis de esa enzima.

Otra etapa fundamental es la del crecimiento del embrión, que es resultado de la acción conjunta de división y expansión celular, ambos procesos ligados de alguna manera a la acción de las citocininas. Éstas actúan promoviendo la división celular de los tejidos del embrión como se ha visto en radícula de lechuga (*Lactuca sativa*), entre otros.

Su acción está ligada a la regulación del ciclo celular particularmente sobre la transición de G2 a M (mitosis). En cuanto a la expansión, se ha visto que la aplicación de citocininas a cotiledones de diversas especies entre ellas mostaza blanca (*Sinapis alba*), girasol (*Helianthus annuus*), pepino (*Cucumis sativus*) y muchos otros, generó un incremento adicional en la expansión celular por su acción sobre la plasticidad de las paredes celulares, pero no mediante la acidificación como es el caso de la acción auxínica. Pero sin duda, el efecto más destacado de estas fitohormonas en germinación es la capacidad de sustituir el requerimiento de luz de aquellas semillas que necesitan de dicho factor para germinar, como es el caso de lechuga *Lactuca sativa* var. Grand Rapids.

5.5. Ácido Abscísico

Es un inhibidor universal en vegetales y, por consiguiente, también lo es del proceso de germinación. Las primeras evidencias sobre este inhibidor se dieron al principio de la década de 1950, pero no fue hasta 1963 cuando un grupo de investigadores en los Estados Unidos, encabezados por F. T. Addicott, estudiando los compuestos promotores de la abscisión de frutos de algodón, purificaron un compuesto que denominaron Abscisina II que era más activo que otro anterior denominado Abscisina I. Aproximadamente al mismo tiempo P. F. Wareing en Gales estudiando la dormición de yemas de *Acer pseudoplatanus* descubrió la sustancia responsable a la que denominó Dormina. Del mismo modo M. Van Steveninck y colaboradores trabajando en Nueva Zelanda e Inglaterra sobre la abscisión de flores y frutos de lupino amarillo (*Lupinus luteus*) descubrieron un compuesto semejante. En 1964 se confirmó que los compuestos Abscisina II y Dormina eran idénticos y desde 1967 se acordó designar internacionalmente al compuesto con el nombre de Ácido Abscísico o ABA.

El ABA se halla en angiospermas mono y dicotiledóneas, gimnospermas y helechos. Su presencia se ha determinado en semillas, frutos, raíces, tallos y hojas. Su biosíntesis está relacionada a células que contienen cloroplastos, como ocurre en el mesófilo foliar, mientras que en los órganos no fotosintéticos su biosíntesis se relaciona a la presencia de amiloplastos, cromoplastos y proplastidos, dada la dependencia de carotenoides para una de sus vías biosintéticas.

La biosíntesis se puede realizar a través de la Vía de los Isoprenoides (Secc. 5.1.1 y Fig. 5.3) a partir del ácido mevalónico, que por el agregado de unidades de 5 carbonos se obtiene Farnesil pirofosfato de 15 carbonos del cual deriva en forma directa. La otra vía surge a partir de la degradación de carotenoides de 40 carbonos, como es el caso de la violaxantina, que luego de una serie de reacciones con sus correspondientes intermediarios metabólicos, entre ellos xantoxina, deriva en la formación de ABA, según se puede apreciar en la resumida secuencia que muestra la Fig. 5.13.

Estudios sobre los requerimientos estructurales muestran que cualquier modificación en su estructura química conduce a la pérdida de actividad. De manera que su desactivación surge a partir de la formación de formas ligadas tales como ABA-glucosa. Sin embargo también se presenta otra alternativa para la inactivación que es a través de la oxidación para la obtención de ácido faseico o dehidroxifaseico (Fig 5.13).

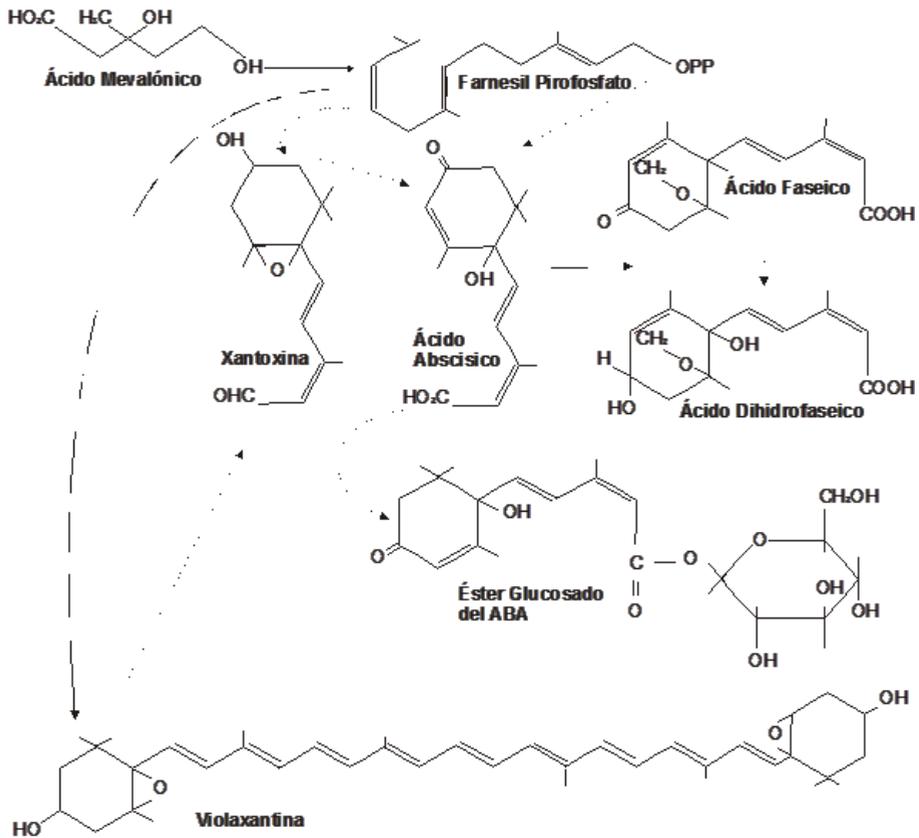


Fig. 5.13. Biosíntesis de ABA y sus dos vías de desactivación: a) por oxidación para formar ácido faseico y dihidrofaseico y b) por fijación de glucosa.

Si bien el ABA se relaciona a diversas respuestas fisiológicas como abscisión de flores y frutos, dormición de yemas y semillas, inhibición del crecimiento inducido por AIA, cierre estomático y senescencia, en términos generales se lo considera como la hormona del estrés, pues su presencia se vuelve notable cuando las plantas enfrentan algún tipo de adversidad que se aparta de los parámetros normales.

En germinación, la acción del ABA se debe considerar dentro de un contexto ecológico, ya que en ciertos momentos es fundamental ponerle un freno a la actividad como estrategia para resguardar la supervivencia de la especie. De hecho, está presente en un gran número de semillas inmaduras para impedir la germinación prematura. También es responsable de la dormición de semillas maduras. En este caso el ABA actuaría impidiendo la germinación durante algún período adverso, como es el invierno para muchas especies sensibles al frío o la estación seca para aquellas que habitan regiones semiáridas. La detención

del ciclo en este punto asegura la continuidad de muchas especies típicas de hábitats con algún período fuertemente adverso.

Durante el desarrollo de la semilla, el ABA cumple un rol fundamental que es el de impedir la germinación prematura de los embriones. Estudios realizados sobre embriones de numerosas especies muestran que separados de la semilla aproximadamente a la mitad de su desarrollo, es decir, siendo completamente inmaduros y cultivados en medios apropiados pueden germinar y producir plántulas normales. Por otra parte, se ha visto que en muchas especies, entre ellas poroto (*Phaseolus vulgaris*) y soja (*Glycine max*), el tratamiento con ABA exógeno contribuye a la formación de proteínas de almacenamiento, lo que estaría indicando su intervención en el acumulación de proteínas de reserva. Asimismo en vid (*Vitis vinifera*) el ABA mejora la acumulación de azúcares.

En general, la concentración de ABA aumenta durante el desarrollo de la semilla y luego desciende rápidamente hacia la madurez. Esto muestra que una embriogénesis normal ocurre en presencia de ABA y contribuye a la acumulación de sustancias de reserva, como se comentó en el párrafo precedente pero, a su vez, evita que inmediatamente de terminada la embriogénesis el embrión pueda germinar.

La concentración de esta hormona es la resultante entre la síntesis, la degradación y el transporte que puede realizarse tanto por floema como por xilema. En semillas, las concentraciones pueden ser muy variables y, en algunos casos, se suele encontrar en altas concentraciones, especialmente en legumbres que pueden alcanzar los 2 mg/kg de peso fresco, aunque lo normal oscila entre 0,1 y 1 mg/kg de peso fresco.

En semillas maduras, el ABA se presenta tanto en forma libre como ligada y puede localizarse en el embrión, en el endosperma o en las cubiertas. La forma libre o activa es en muchos casos la responsable de impedir la germinación en semillas maduras, como ocurre en algunas rosas (*Rosa sp*) y damasco (*Prunus armeniaca*), entre muchas otras.

El mecanismo de acción del ABA en semillas está básicamente relacionado tanto a la inhibición de la síntesis proteica, como a la activación y desactivación de ciertos genes.

El ABA también actúa como antagonista de las giberelinas sobre la producción de α amilasa en la capa de aleurona. Su acción previene el incremento de α amilasa inducida por GA3 interfiriendo en la producción de ARNm codificado para su síntesis, pero también inhibe la actividad de la α amilasa. De manera que su acción abarca dos aspectos, uno a nivel traduccional y el otro interfiriendo la propia acción enzimática. Este efecto del ABA puede ser revertido por acción de las citocininas.

Hay otros efectos del ABA con relación a las giberelinas y a la acción de enzimas hidrolíticas de pared inducidas por estas hormonas. Tal el caso de la inhibición de la producción de β -1,3-glucanasa inducida por GA4 en endosperma micropilar de tabaco (*Nicotiana tabacum*) y de la pérdida de actividad de la endo- β -manasa inducida por GA4 y GA7 en semilla de tomate (*Lycopersicon*

esculentum). La acción de este tipo de enzimas es fundamental para generar un debilitamiento de las estructuras que rodean la radícula y permitir su emergencia.

5.6. Etileno

Es una fitohormona que se presenta en estado gaseoso en condiciones fisiológicas. Esta característica permitió que desde el siglo XIX se reconociera la existencia de cierta sustancia volátil cuya emanación aceleraba la maduración de frutos y la abscisión de hojas. A partir de allí se adoptaron algunas precauciones fundamentalmente en el almacenaje de ciertos frutos para evitar su deterioro o, a la inversa, que se aplicara técnicas para acelerar la maduración en otros casos.

En 1901 Dimitri N. Neljubow, investigador del Instituto Botánico de San Petersburgo, demostró la presencia de etileno en el gas de alumbrado público, cuyas fugas eran las responsables de la defoliación prematura de las plantas cercanas. Sus trabajos sobre plántulas de arveja (*Pisum sativum*) crecidas en oscuridad le permitió plantear los efectos del etileno como de respuesta triple, caracterizada por la reducción del alargamiento del tallo, aumento de la expansión radial y del crecimiento horizontal. En 1934, R. Gane probó que el etileno era un producto natural generado por el metabolismo de las plantas y comenzó a ser considerado una fitohormona, pero de importancia secundaria. Recién a partir de 1959, con la incorporación de la técnica de cromatografía gaseosa, fue posible profundizar las investigaciones y revalorizar su rol como fitohormona.

El etileno puede producirse prácticamente en cualquier tejido de las plantas superiores y se mueve por difusión por los espacios intercelulares. El precursor biosintético es el aminoácido metionina, a partir del cual una secuencia de reacciones conducen a que los carbonos 3 y 4 de éste aminoácido se conviertan en etileno (Fig. 5.14).

La velocidad del proceso biosintético está limitada por los niveles de la ACC sintasa. El agregado exógeno de esta enzima, que habitualmente se encuentra en muy bajas concentraciones, tiene como consecuencia el inmediato incremento en la producción de etileno. El AIA también acelera su producción a través de su efecto positivo sobre la síntesis de ACC sintasa. Así se explican las mayores concentraciones de etileno causadas por heridas u otros fenómenos que provoquen un aumento del AIA en los tejidos afectados. Este efecto ha conducido a errores de interpretación, ya que en realidad algunas acciones atribuidas a las auxinas eran en realidad debidas a la acción del etileno. Este es el caso de la inducción de la floración en ananá (*Ananas comosus*). La planta de ananá frente a aspersiones con auxinas, activa la síntesis de etileno provocando una mayor velocidad de floración.

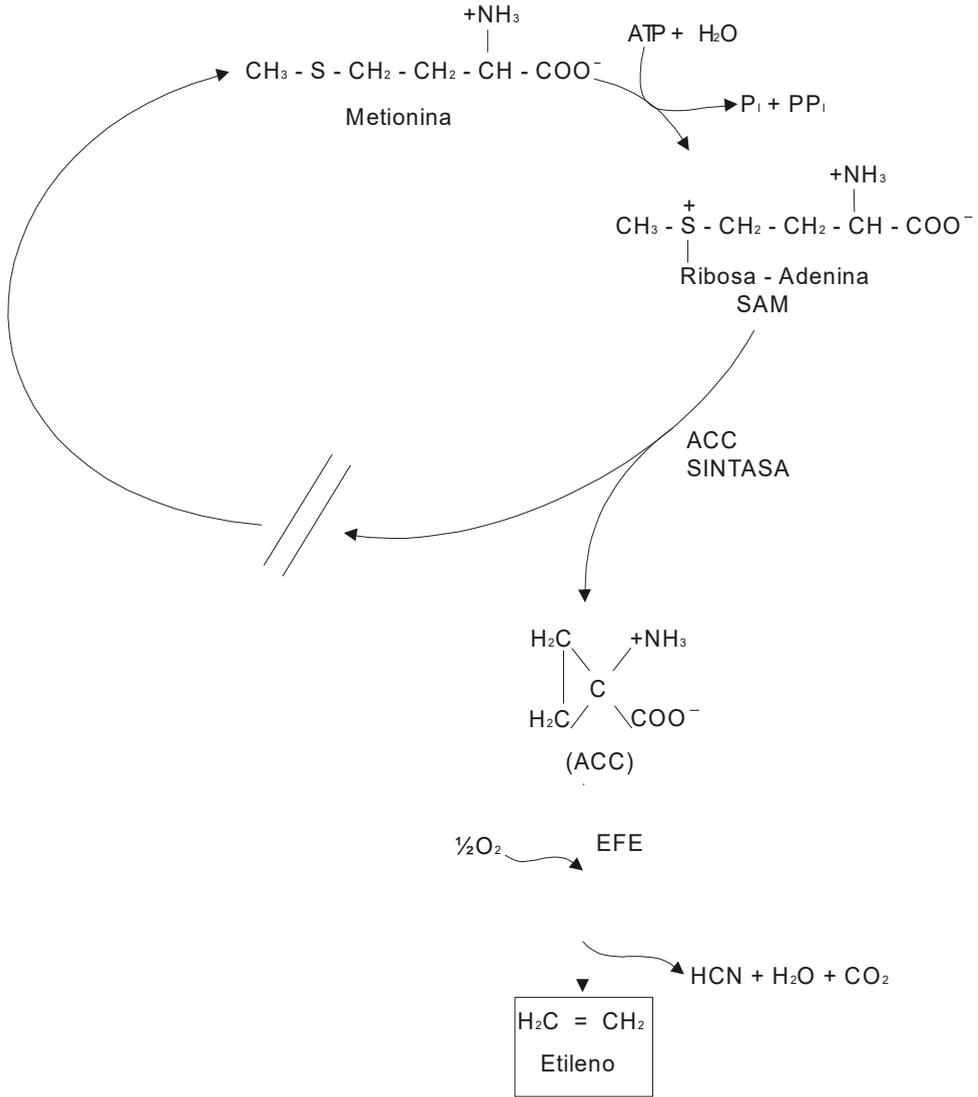
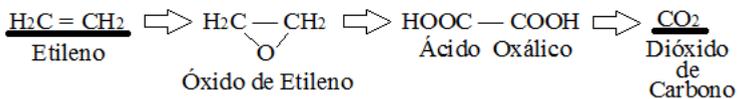


Fig. 5.14. Biosíntesis de etileno (SAM: S-adenosilmetionina; ACC: Ácido ciclopropano- carboxílico; EFE: Enzima formadora de etileno).

Como en las demás hormonas, el etileno presente está determinado por dos procesos opuestos como son la biosíntesis y la degradación. Respecto de esto último, el etileno puede ser completamente oxidado hasta CO_2 en la mayoría de los tejidos vegetales, según la siguiente secuencia:



Además, la formación de conjugados, por lo común con glucosa, constituyen formas inactivas del etileno.

En la mayoría de los casos, el etileno estimula la germinación de semillas en dormición y sin dormición. En algunos casos no ejerce efecto o actúa como inhibidor. El efecto sobre la ruptura de la dormición parece estar relacionado con el balance en el ABA y las GAs.

Diversos trabajos que consistieron en retirar el etileno del ambiente que rodea a la semilla, mostraron una inhibición de la emergencia radicular. En tanto que en presencia de etileno se promovió el desarrollo celular que permitió superar la resistencia de las cubiertas. De hecho, en numerosas especies se ha verificado un aumento en la síntesis de esta fitohormona durante la ruptura de las cubiertas y la emergencia radicular. Sin embargo, la acción más reconocida del etileno está relacionada a la emergencia de las estructuras aéreas sobre la superficie del suelo. El efecto es notable y se relaciona con la respuesta triple. Ésta es particularmente significativa para la emergencia en condiciones adversas como la que se presenta cuando existe una resistente capa de suelo que dificulta la emergencia.

La denominada “triple respuesta” del etileno, consiste en:

- a. la disminución del alargamiento
- b. el incremento del desarrollo lateral
- c. el estímulo del crecimiento horizontal

La presencia del etileno responsable de estos efectos surge dada la compactación superficial del suelo, lo que se denomina comúnmente “planchado” y que forma una delgada capa

Estos hechos implican un cambio en la orientación del crecimiento de plántulas, que conlleva a que posean hipocotilos más cortos, gruesos y con gancho plumular cerrado.

Ocurre a través de una reorientación de los microtúbulos, los cuales se disponen en sentido longitudinal, condicionando la orientación de las microfibrillas de celulosa de la pared celular. Estas se depositan en forma paralela a la orientación de los microtúbulos. La orientación de los microtúbulos y, en consecuencia, el sentido de orientación de la microfibrillas de celulosa determina la dirección del crecimiento, el cual ocurre en sentido transversal a dichas orientaciones.

Por ello, el crecimiento será mayor en ancho que en largo, generando engrosamiento y una mayor fuerza del gancho plumular en dicotiledóneas, y en coleóptilos y mesocótilos de gramíneas. Así, es posible superar la resistencia impuesta por los suelos compactos, aunque lentamente debido al retraso del crecimiento impuesto por la acción del etileno presente.

El otro efecto correspondiente a la triple respuesta se refiere a una mayor tendencia hacia el crecimiento horizontal, debido a la disminución de la sensibilidad geotrópica negativa de los tallos de plántulas de dicotiledóneas. Esta característica permite aumentar las posibilidades de ubicar puntos de menor resis-

tencia para la emergencia en condiciones de suelos compactos. En estas condiciones edáficas, el etileno producido por la flora del suelo, escapa más lentamente, aumenta su concentración y en consecuencia, sus efectos.

Además, el etileno favorece la capacidad de germinación de las semillas de numerosas especies, y se ha constatado un aumento de su síntesis durante la ruptura de las cubiertas y la emergencia de la radícula.

En detalle, la triple respuesta del etileno se relaciona con su efecto sobre la inhibición del alargamiento del tallo y paralelamente sobre el aumento de su engrosamiento, lo que ocurre a través de una reorientación de los microtúbulos. Éstos se disponen en sentido longitudinal, condicionando la orientación de las microfibrillas de celulosa de la pared celular, las cuales se depositan en forma paralela a la orientación de los microtúbulos. La orientación de los microtúbulos y, en consecuencia, el sentido de orientación de la microfibrillas de celulosa determinan la dirección del crecimiento, el cual ocurre en sentido transversal a dichas orientaciones. Por ello, el crecimiento será mayor en ancho que en largo, generando engrosamiento y una mayor fuerza del gancho plumular en dicotiledóneas, y en coleóptilos y mesocótilos de gramíneas. Así, es posible superar la resistencia impuesta por los suelos compactos, aunque lentamente debido al retraso del crecimiento impuesto por la acción del etileno presente.

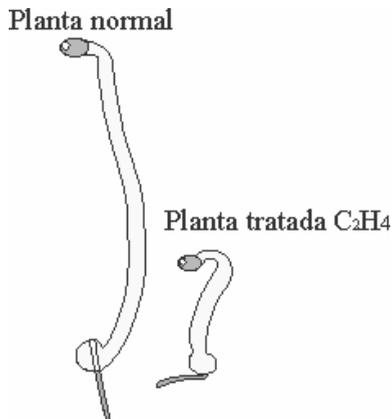


Fig. 5.15- Esquema comparativo que muestra la diferencia en el crecimiento de una plántula dicotiledónea de germinación epigea normal y de otra tratada con etileno.

El etileno, conjuntamente con la luz y las auxinas, también está involucrado en el desdoblamiento del gancho plumular a través de su efecto sobre el alargamiento del tallo, (Secc. 4.3.1). Se ha encontrado que la luz rojo lejana (LRL-730nm) y las auxinas, inducen la liberación de etileno en la parte apical inhibiendo el alargamiento de la parte cóncava interna del gancho, lo que determina el mantenimiento de esta forma característica. Opuestamente, la incidencia de luz roja (LR-660nm) reduce la liberación de etileno y permite la

apertura del gancho. Este efecto de la luz está mediado por el fitocromo. Los aspectos referidos al fotocontrol de la germinación se abordarán en el Capítulo 8.

5.7. Otras fitohormonas

En este punto se consideran otras fitohormonas diferentes de las clásicas reconocidas y abordadas anteriormente. Estudios recientes han permitido identificar algunas sustancias que tienen significativos efectos en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Algunas de ellas con posibilidades de aplicación en la agricultura, dados algunos efectos positivos mostrados por algunas plantas tratadas y expuestas a factores ambientales adversos, y también sobre la cantidad y calidad de la producción de diferentes cultivos de gran importancia agronómica.

5.7.1. Brasinas

También mencionadas como brasinólidos o brasinoesteroides son conocidas desde la década del 70 y consideradas como el sexto grupo de fitohormonas. Fueron descubiertas por J. W. Mitchell y colaboradores en 1970 a partir de extractos de polen de nabo (*Brassica napus*). Las llamaron brasinas y sus bioensayos probaron los efectos sobre el alargamiento celular y engrosamiento del segundo entrenudo de poroto (*Phaseolus vulgaris*). Estudios posteriores permitieron reconocer que se trataba de un compuesto con una estructura esteroideal. Específicamente son polihidroxiesteroides (Fig. 5.15) que actúan sobre procesos fundamentales en el crecimiento y desarrollo de las plantas como son la división, diferenciación y expansión celular en tejidos de plantas en activo crecimiento. Más tarde, los estudios con mutantes de *Arabidopsis thaliana* deficientes o insensibles a brasinoesteroides mostraron cambios notables en el fenotipo como enanismo severo, disminución notable del alargamiento del hipocótilo, disminución del desarrollo radicular y alteraciones en la morfología foliar.

También se ha demostrado que actúan a muy bajas concentraciones del orden de 100 veces inferiores a las concentraciones típicas de las fitohormonas clásicas. En ensayos a campo se ha probado que actúan favoreciendo la producción de biomasa y el rendimiento de los cultivos en cantidad y calidad como en papa, arroz, tabaco y especies hortícolas como tomate y sandía.

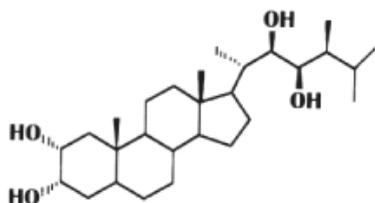


Fig. 5.16- Estructura básica de una brasina.

Específicamente, en germinación se destaca la importancia de este regulador sobre la elongación del hipocótilo. El crecimiento de este órgano en los primeros estadios de la plántula produce, en las especies de germinación epigea, la elevación de los cotiledones y de la plúmula hasta superar el nivel de la superficie del suelo. Esto es fundamental, ya que la emergencia de los cotiledones permite, luego del desdoblamiento del gancho plumular, el inicio del proceso fotosintético y, por lo tanto, la generación de fotosintatos que aportan materia y energía, necesarias para el crecimiento de la plántula (Ver 4.3.1 y 2). La acción de las brasinas sobre el crecimiento hipocotilar, pone en evidencia su acción como regulador fundamental que estimula la división y la expansión de este órgano de las plántulas recién germinadas, contribuyendo a la rápida emergencia de los cotiledones y al crecimiento de las primeras hojas verdaderas. Recordemos que esta etapa es particularmente riesgosa para un cultivo ya que es la etapa de mayor vulnerabilidad frente al ataque de microorganismos patógenos de suelo, insectos y pájaros. En consecuencia la rapidez en superar esta etapa aumenta consecuentemente el índice de supervivencia de las plantas del cultivo.

5.7.2. Jasmonatos

Los jasmonatos son reguladores, derivados oxigenados de los ácidos grasos linoleico y linolénico. Se reconocen el ácido jasmónico (AJ) (Fig. 5.16) y el metil jasmonato (MeJA), compuesto volátil aislado en 1962 a partir del aceite de jazmín del país (*Jasminum grandiflorum*). Se sintetizan a través de la ruta de los octadecanoides, sobre la cual hay abundante información.



Fig. 5.17. Estructura del ácido Jasmónico

Los estudios sobre la acción reguladoras de estos compuestos se inician en la década del 80 cuando se descubre que aplicaciones exógenas promovían la senescencia, ya que provocaban clorosis foliar por activación de los procesos de degradación de la clorofila. Posteriormente se comprobó que actuaban como moléculas señalizadoras de la expresión génica en respuesta a diversas situaciones de estrés generadas por factores bióticos y abióticos. Entre los primeros, podemos mencionar el daño causado por insectos y patógenos, los cuales inducen mecanismos de respuestas sistémicas (MRS) y locales. En efecto, como respuesta al ataque de insectos, se incrementa la concentración de JA desencadenando la síntesis de proteínas de defensa.

Las proteínas de defensa son propiamente proteínas o polipéptidos capaces de inhibir la acción de un gran número de proteasas digestivas de los insectos que atacan a las plantas. Este tipo de enzimas se hallan presentes en casi todas las formas de vida, incluidas las plantas. Generalmente se concentran en tejidos de almacenamiento como semillas de leguminosas, frutos de gramíneas y tubérculos de papa. Además, se ha reportado su presencia en tejidos de raíces y hojas de numerosas familias.

A partir del ataque de herbívoros y con su consecuente daño, la planta pone en marcha el mecanismo de defensa que incluye la inducción de la expresión de genes de inhibidores de proteasas. Esto ocurre tanto en células ubicadas en el lugar del daño (respuesta local) como en lugares distantes (respuesta sistémica). La respuesta de defensa de la planta puede desencadenar la expresión génica de múltiples inhibidores de proteasas que pueden inhibir un amplio número de proteasas propias del agente causante del daño. La acción directa es el impedimento de la degradación de proteínas vegetales por parte del insecto y en consecuencia la limitación del crecimiento y desarrollo de la plaga.

Se reconocen varias señales sistémicas relacionadas con los daños causados por la herbivoría entre las que se incluyen la sistemina, el ABA, variaciones hidráulicas (cambios en el potencial agua) y señales eléctricas (activación de potenciales eléctricos de membrana). La sistemina es un péptido de 18 aminoácidos cuya presencia fue detectada inicialmente en tomate a partir de daños ocasionados por insectos. La presencia de esta molécula señal incrementa la concentración de jasmonatos y, como consecuencia, se activa la expresión de genes inhibidores de proteasas limitando el consumo de proteínas vegetales por parte del insecto responsable del ataque.

Por otra parte, estudios en numerosas plantas han demostrado un aumento en la concentración de jasmonatos frente a exposiciones a factores abióticos estresantes. Déficit hídricos, bajas temperaturas, salinidad y elevadas concentración de ozono provocan niveles más elevados de jasmonatos en plantas tolerantes que en las sensibles. Específicamente, plantas de tomate expuestas a estrés salino incrementaron los niveles de enzimas lipoxigenasas pertenecientes a la vía biosintética de AJ. Las plantas con mayores incrementos de AJ fueron las que mostraron mayor tolerancia a este tipo de estrés. Por otra parte, en numerosas plantas estudiadas sometidas a déficit hídrico se comprobó una elevada con-

centración de jasmonatos, lo que determinó una disminución de la transpiración a través del cierre estomático.

En cuanto a su relación con la germinación, se ha comprobado que el AJ y el MeJA ejercen muy poca acción y se ha observado que sólo elevadas concentraciones son efectivas para inhibir el proceso de germinación, el crecimiento del embrión y la elongación de las raíces. Los aportes bibliográficos indican que el ácido abscísico (ABA) es siempre más eficaz que el JA o MeJA sobre los procesos mencionados.

5.7.3. Salicilatos

Dentro de los salicilatos, se encuentran el ácido salicílico (AS) que es la principal molécula señal, en tanto que el ácido acetil salicílico (AAS) es uno de sus análogos, mientras que el salicilato de metilo (SaMe) es un compuesto volátil que la planta puede sintetizar a partir de AS.

El ácido salicílico (AS) es mundialmente conocido dado su aplicación en medicina como componente de la aspirina o ácido acetilsalicílico (Fig 5.17). La denominación de ácido salicílico proviene del sauce, científicamente conocido como género *Salix*, específicamente del *Salix alba*. Las hojas y corteza de este árbol se utilizaban como cura para el dolor y la fiebre. A partir de este conocimiento empírico, Johann Buchner aisló en 1828 el compuesto activo al cual denominó salicina. Más tarde, en 1874 comenzó en Alemania la producción comercial de AS. Finalmente, en 1898 y luego de numerosos aportes científicos, se obtuvo el ácido acetilsalicílico que fue producido y comercializado por la compañía Bayer bajo el nombre de aspirina.

En plantas se ha visto que la aspirina aumenta la vida de las flores cortadas y puestas en un florero, probablemente por un efecto combinado de inhibición en la biosíntesis de etileno y celulasa en los tejidos y de acidificación del medio. Asimismo, el AS presenta propiedades de retraso de la senescencia, inductor de floración y tuberización. También actúa como compuesto termogénico y alelopático.

El AS pertenece a un grupo muy diverso de sustancias conocidas como fenólicos, más específicamente derivadas del ácido benzoico. Los compuestos fenólicos están relacionados con el metabolismo secundario e involucrados en gran cantidad de actividades de regulación en las plantas.

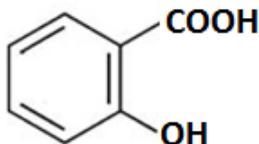


Fig. 5.18- Estructura del ácido Salicílico.

Diversos trabajos científicos han demostrado que el AS está presente en casi todos los tejidos de las diversas plantas estudiadas, alguna de ellas de gran interés económico como arroz, cebada, soja. Se presenta en concentraciones de hasta $1\mu\text{g g}^{-1}$ y se lo puede encontrar en los tejidos en forma libre y conjugada con glucósidos, ésteres y amidas.

Sus efectos se asocian a diversos procesos fisiológicos, en particular con los relacionados a mecanismos de defensa. Recordemos que los mecanismos de defensa en plantas actúan sobre la base de cambios físicos, químicos y moleculares, generalmente no individuales, sino de acción combinada y consecuentemente de mayor efectividad. Así, cambios en la lignificación o en la síntesis de proteínas de defensa son notables mecanismos de defensas en plantas. Sin embargo, una de las defensas activas más efectivas son las llamadas de **resistencia sistémica adquirida (RSA)** caracterizada por la producción por parte de la planta de señales desde la o las zonas infectadas o atacadas, en forma sistémica a otras partes de las plantas no afectadas. El fenómeno RSA se desencadena una vez iniciado el proceso de infección, activando los niveles de compuestos propios de defensa como quitinasas y otras enzimas como glucanasas. Estas enzimas hidrolíticas tienen la capacidad de degradar polisacáridos, componentes de la pared celular de los hongos patógenos, lo que limita su crecimiento y en consecuencia el avance del daño.

El RSA actúa a través de una señal o señales que se mueven de forma sistémica entre los diferentes órganos de la planta. Trabajos experimentales con aplicación exógena de AS han mostrado el inicio de RSA, por ello se cree que el AS funciona como activador o inductor de este proceso.

En relación al AS con la germinación, se ha demostrado que un pretratamiento a semillas de chile (*Capsicum annum*) con SA 10^{-4} M fue efectiva para inducir tolerancia al estrés por frío a nivel de 4°C , lo que se manifestó con un mayor crecimiento en altura y peso fresco y seco de la parte aérea. Asimismo, en ensayos realizados sobre varias variedades de arroz (*Oriza sativa*) se observaron respuestas claramente positivas en el porcentaje de germinación y en el crecimiento de la raíz y el coleóptilo, lo que se reflejó en un mejoramiento del vigor. Esto abre un posible uso dentro de las prácticas agronómicas de este cultivo.

5.8. Los estímulos y las respuestas de las planta

Las plantas responden a diferentes estímulos propios o exógenos, tanto bióticos como abióticos. Las respuestas generadas no son el resultado de una única vía de señalización, sino de un conjunto complejo de diferentes vías de señalizaciones con diferentes intensidades. Las interacciones y el balance entre las mismas producen finalmente la resultante o respuesta final al estímulo recibido.

Existen numerosas evidencias de que la célula es capaz de combinar de distintas formas las mismas rutas hormonales para determinar respuestas muy dis-

tintas a distintos estímulos. Un ejemplo claro lo constituye la respuesta de las plantas a patógenos y heridas. Aunque en ambos casos la planta activa la ruta del jasmonico (AJ) y del etileno (E) combina estas dos rutas de distinta forma para que las respuestas finales sean distintas y específicas para cada estímulo.

Esto implica decir que las rutas de señalización hormonal no son independientes ni lineales. Por lo que la comprensión de cualquier ruta requiere entender las interacciones estables con otras rutas y cómo se regulan estas interacciones desde el punto de vista molecular.

6

DEGRADACIÓN Y MOVILIZACIÓN DE RESERVAS

Como vimos, la germinación se inicia con el proceso de hidratación. Posteriormente ocurre la activación de la respiración que provee la energía necesaria para el crecimiento del embrión. La provisión de energía deriva de la respiración de las reservas nutritivas acumuladas en las diversas formas, por lo general, polímeros de alto peso molecular en forma de almidón, lípidos complejos y proteínas. La semilla debe poner en funcionamiento el aparato enzimático capaz de degradar esas reservas y movilizarlas hacia el embrión como monosacáridos, ácidos grasos o aminoácidos. Sin embargo, la degradación de estas grandes reservas acumuladas generalmente no ocurre inmediatamente después de la hidratación. En numerosas especies se ha observado que la degradación de las grandes reservas compartimentalizadas ocurre después de varias horas de incubación. Por ello, el embrión debe disponer de otras fuentes energéticas de uso inmediato. Aminoácidos, lípidos y carbohidratos solubles almacenados desde la maduración de la semilla, abastecen los requerimientos energéticos en los primeros momentos de demanda.

A continuación, desarrollaremos los aspectos referidos a la movilización de cada una de las grandes reservas. La de carbohidratos la abordaremos desde los cereales, en especial la cebada, mientras que las proteicas y lipídicas se tomarán en un sentido más general, si bien para la primera se considerarán aspectos más relacionados a las semillas de leguminosas.

6.1. Carbohidratos

En este punto se considera la movilización de las grandes reservas de carbohidratos almacenadas fundamentalmente en el endosperma. Recordemos que el embrión debe disponer de reservas rápidamente respirables para abastecer los requerimientos energéticos en los primeros momentos de demanda. La semilla de cebada contiene, aunque en poca cantidad, sacarosa (disacárido) y rafinosa (trisacárido), carbohidratos de bajo peso molecular, en una relación 3:1. Se ha observado que sus concentraciones decaen significativamente dentro de las primeras 48 horas de iniciado el proceso de germinación. A partir de allí, la degradación de las grandes reservas del endosperma aportarán los sustratos respirables para cubrir los requerimientos energéticos que demanda el crecimiento, hasta alcanzar la autosuficiencia fotosintética.

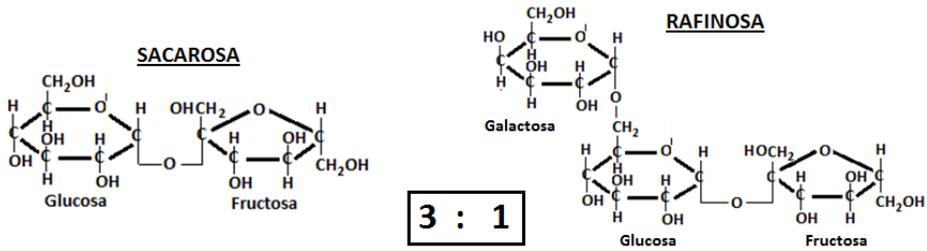


Fig. 6.1. Reservas de bajo peso molecular y de rápida disponibilidad en cebada. Vista de semillas y plántula de cebada (*Hordeum vulgare*)

Cuando hablamos de las grandes reservas de carbohidratos nos referimos a polisacáridos, en especial al almidón que se acumula en los amiloplastos, tanto del endosperma como de los cotiledones. La degradación *in vivo* del almidón dentro de las semillas puede ocurrir básicamente por dos rutas catabólicas: a) hidrolítica y b) fosforolítica.

a) Ruta hidrolítica: está mediada por la acción de amilasas. La amilosa y la amilopectina constituyentes del almidón son degradadas por la α amilasa. Ésta rompe los enlaces α 1-4 de las cadenas liberando oligosacáridos, que por hidrólisis sucesivas liberarán glucosa y maltosa (disacárido glucosa-glucosa) para el caso de la amilosa, y además dextrina límite para la amilopectina. La dextrina límite es un residuo derivado de las cadenas ramificadas de la

amilopectina; consiste en un compuesto muy ramificado constituido por cadenas de glucosa con enlaces α 1-6 que la α amilasa es incapaz de hidrolizar. La β amilasa interviene luego de la acción inicial de la α amilasa. Actúa sobre los oligosacáridos, generados luego de la acción de la α amilasa, desde el extremo no reductor de la cadena hidrolizando enlaces α 1-4 liberando maltosa y dextrinas límite. Las dextrinas límites deber ser degradadas por enzimas específicas que rompen enlaces 1-6. Éstas son las dextrinasas límite, enzimas desramificadoras que liberan oligosacáridos, los cuales frente a la acción de α amilasa, también generan glucosa y maltosa. Finalmente, el disacárido maltosa es hidrolizado a dos moléculas de glucosa por la acción de la enzima maltasa (glucosidasa).

La secuencia de reacciones descriptas se presenta en la Fig. 6.2.

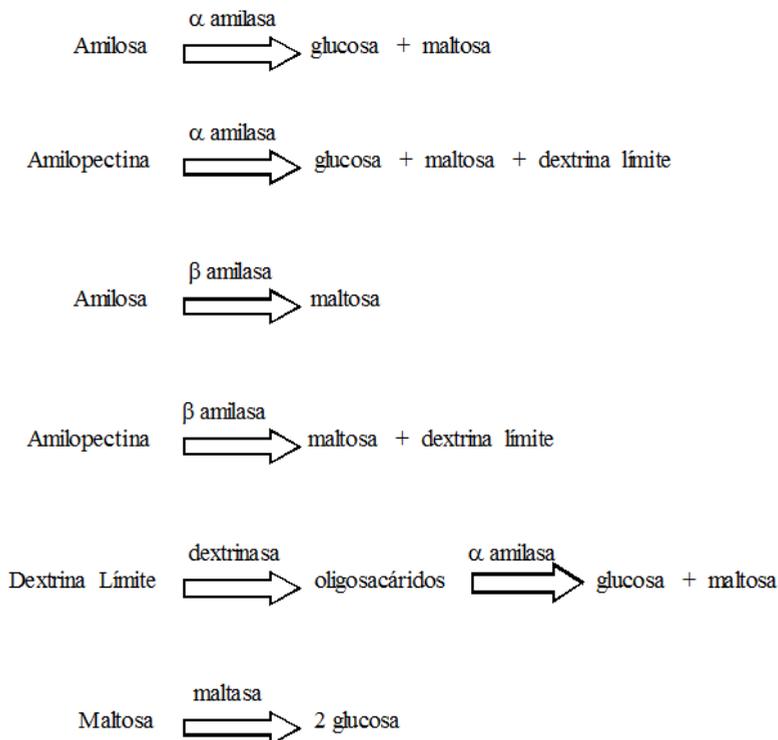
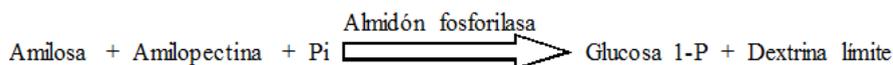


Fig. 6.2. Reacciones de degradación del almidón con las enzimas intervinientes. No se incluyen las moléculas de agua requeridas por cada uno de los enlaces removidos como corresponde a las reacciones hidrolíticas.



b) Ruta Fosforolítica: está mediada por la acción de la enzima almidón fosforilasa que actúa incorporando fosfato en lugar de agua y liberando glucosa 1-P y dextrina límite, como se puede apreciar en la siguiente reacción:

Ambas vías coexisten y las enzimas correspondientes se presentan en cantidades apreciables en las semillas. Pero, recordemos que el grano de almidón debe ser primero degradado por la α amilasa. El almidón fosforilasa puede participar en grado variable según la especie después de la acción primaria a cargo de la α amilasa.

Las características particulares de las células que separan el escutelo del endosperma hacen posible que los mayores productos de la degradación del almidón, como son glucosa y también maltosa, puedan ser transferidos al escutelo y, posteriormente, allí convertidos en sacarosa. Bajo esta forma son transportados vía floema hacia los principales lugares de consumo en esta etapa, como son los ápices caulinar y radicular.

El almidón también puede formar parte de reservas ubicadas fuera del endosperma. En estos casos, la degradación sigue los mismos mecanismos que los indicados para los cereales, y los productos obtenidos son transportados desde los cotiledones o desde el perisperma hacia el eje embrionario.

Hasta aquí se ha considerado la movilización de reservas de hidratos de carbono en forma de almidón. En las leguminosas no endospermadas, las sustancias de reserva se almacenan en los cotiledones. Sin embargo, en algunos representantes de la familia Leguminosas, tribu Trifólieas sus reservas se acumulan en el endosperma, el cual no es absorbido durante el desarrollo de la semilla. Estas reservas endospermadas están constituidas por hidratos de carbono distintos del almidón: los galactomananos. Éstos se depositan hacia el interior de la pared primaria de las células del endosperma durante el llenado del grano llegando a obturar completamente las células, las cuales terminan perdiendo su protoplasto. Estas reservas son degradadas y movilizadas desde el inicio de la hidratación por tres enzimas fundamentales: la α galactosidasa que rompe enlaces α 1-6 liberando la galactosa ubicada lateralmente a la cadena de manosas, y las endo y exo β manasa que actúan sobre el polímero de manosa restante liberando manosa. Ambos carbohidratos -galactosa y manosa- son translocados a los cotiledones y de allí, como sacarosa, al eje embrionario para ser respirados o para generar compuestos intermedios del metabolismo. Hay otras especies que también disponen de este tipo de reservas fuera del endosperma, tal es el caso de *Coffea arabica* que las posee en el perisperma.

6.2. Proteínas

Las proteínas de reserva se almacenan como cuerpos proteicos rodeados por una membrana típica (ver Secc. 3.2.1.2). Se acumulan, durante el llenado del grano, en el mesófilo de los cotiledones y en el endosperma, fundamentalmente en la

capa más externa o capa de aleurona y, en menor proporción, en la parte central del endosperma o endosperma amiláceo (Secc.3.2.2.2 y Fig. 3.1).

La hidrólisis ocurre por la acción de enzimas proteolíticas o proteasas que hidrolizan los enlaces peptídicos, es decir C-N, produciendo la liberación de polipéptidos y luego de aminoácidos. Estos productos son usados fundamentalmente en la resíntesis de nuevas proteínas o enzimas requeridas para la degradación de reservas, para el crecimiento del embrión o, en menor medida, para ser desaminados y sus esqueletos carbonados usados en el proceso de respiración oxidativa.

Las proteasas se clasifican, según su función específica, en endo y exopeptidasas. Las primeras rompen los enlaces ubicados en posiciones internas o centrales de la cadena polipeptídica para generar polipéptidos de menor tamaño. Las exopeptidasas actúan sobre los extremos de la cadena peptídica liberando aminoácidos terminales. Se clasifican según el extremo sobre el que actúan en: carboxipeptidasas, lo hacen sobre los extremos carboxílicos y aminopeptidasas, sobre terminaciones amino. Lo descrito corresponde a la secuencia presentada en la Fig. 6.3.

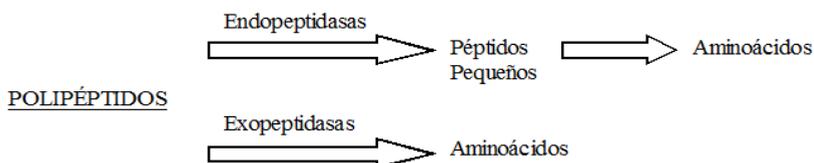


Fig. 6.3- Vías posibles de hidrólisis proteica.

No obstante haber presentado los aspectos generales de la degradación de las reservas proteicas es posible describir brevemente algunos aspectos particulares referidos a los cereales y a las dicotiledóneas. En cereales se reconocen tres sistemas proteolíticos que actúan en tres lugares claves de la semilla:

- a) proteasas de la capa de aleurona: se sintetizan *de novo* y están bajo el control del embrión a través de las giberelinas. Estas enzimas hidrolizan las proteínas de la capa de aleurona y los aminoácidos generados se utilizan básicamente para la resíntesis de enzimas como la α amilasa, fundamental para el inicio de la degradación del almidón.
- b) proteasas del endosperma amiláceo: de ellas es posible distinguir dos tipos, aquellas provenientes de la capa de aleurona cuya síntesis depende de las giberelinas y otras proteasas preexistentes y que se activan luego de la hidratación.

- c) proteasas del embrión: corresponde al sistema responsable de la hidrólisis de péptidos pequeños movilizados desde el endosperma hacia el escutelo.

Independientemente de estas proteasas específicas, se debe tener presente la acción permanente del conjunto de proteasas responsables de la síntesis y degradación de las proteínas o "turnover", fundamental para el mantenimiento de la adecuada concentración enzimática.

En dicotiledóneas, las reservas proteicas principales se localizan fundamentalmente en los cuerpos proteicos del mesófilo de los cotiledones y, en menor proporción, en el endosperma remanente no consumido por el embrión. Cabe aclarar que las reservas proteicas de los cotiledones, generalmente no son hidrolizadas hasta que se hayan consumido las reservas del endosperma.

Los cuerpos proteicos contienen endoproteasas y carboxipeptidasas generadas como síntesis *de novo* que inician la degradación de las proteínas de reserva. Su acción produce aminoácidos y pequeños oligopéptidos los cuales son transportados al citosol y allí degradados por aminopeptidasas para completar la hidrólisis hasta aminoácidos (Fig. 6.2). Los estudios reportados indican que dentro de los cuerpos proteicos se presenta un ambiente ácido con un pH entre 5 y 6, lo que favorece la acción de carboxipeptidasas. En cambio el pH más elevado, entre 6.5 y 8, que presenta el citosol impone las condiciones óptimas para la acción de las aminopeptidasas.

6.3. Lípidos

Las reservas lipídicas se presentan en el citoplasma de los tejidos de almacenamiento, fundamentalmente en los cotiledones de las dicotiledóneas y en el escutelo de las gramíneas, en forma de cuerpos lipídicos, esferosomas u oleosomas. Se hallan rodeados por una simple unidad de membrana, como fue descrito en detalle en el capítulo tres, cuando se abordó el tema referido a la acumulación de las diferentes reservas (Secc. 3.2.1.2).

Los lípidos acumulados no pueden ser transportados directamente desde el lugar de almacenamiento hacia el eje embrionario, de manera que deben ser degradados a compuestos más simples, factibles de ser movilizados.

Las semillas acumulan sus reservas lipídicas principalmente como triglicéridos y su degradación implica la transformación de éstos en carbohidratos. La vía de movilización ha sido estudiada en detalle en *Ricinus communis* y puede ser tomada como referencia para la mayoría de las semillas con este tipo de reservas. El proceso completo implica una serie de reacciones compartimentalizadas en cuatro lugares diferentes:

- a) En los cuerpos lipídicos, donde se inicia el proceso con la acción de lipasas sobre los triglicéridos. Generan secuencialmente diglicéridos, monoglicéridos y finalmente glicerol y ácidos grasos libres.

- b) En los glioxisomas, donde ocurre la β oxidación y el ciclo del glioxilato, y se obtiene succinato
- c) En las mitocondrias, donde se transforma el succinato en oxaloacetato por las reacciones comunes correspondientes al ciclo de Krebs.
- d) En el citoplasma, donde, por gluconeogénesis se transforma el oxalacetato en sacarosa que es la forma comúnmente transportable

La vía de β oxidación requiere que el ácido graso sea previamente activado a través de una reacción que requiere de ATP y Coenzima A. El producto final de esta vía es Acetil-CoA el cual puede ingresar en el ciclo del glioxalato o alternativamente al ciclo de Krebs. La secuencia desarrollada con el agregado de los intermediarios metabólicos se representa en la Fig. 6.4.

Por otra parte, algunos representantes de la familia Cucurbitáceas y algunas oleaginosas como algodón (*Gossypium hirsutum*) y girasol (*Helianthus annuus*) desarrollan grandes cotiledones que rápidamente se transforman en órganos con cierta capacidad fotosintética. En estos casos, los carbohidratos obtenidos por degradación de las reservas grasas pueden tener destinos diferentes. Una parte de ellos puede ser exportada hacia el eje embrionario y abastecer los requerimientos del crecimiento, mientras que otra parte permanece en el tejido cotiledonal a efectos de aportar las estructuras carbonadas para el desarrollo de cloroplastos y de otras estructuras celulares.

6.4. Fitina

Se acumula fundamentalmente en cotiledones y endosperma, en particular en la capa de aleurona, dentro de los cuerpos proteicos adoptando una forma globular. Su papel es el de suministrar fosfato, cationes mono y divalentes como potasio, magnesio, calcio, etc., y mio-inositol (Secc. 3.2.1.4), los cuales son movilizados hacia el embrión en crecimiento.

Los elementos minerales esenciales se incorporan al metabolismo según sus funciones estructurales y/o funcionales. El mio-inositol actúa como precursor de pectinas, constituyente principal de la laminilla media y también de polisacáridos componentes de pared celular.

La degradación de la fitina depende de la acción de una fitasa. Ésta se encuentra presente en las semillas maduras antes de iniciada la germinación. Su actividad se pone de manifiesto por las notables variaciones de las fracciones fosfatadas entre los lugares de acumulación y de uso. Como referencia es posible citar el caso de la avena (*Avena sativa*), en la cual se ha observado que a los dos días desde el inicio de la hidratación ocurre una notable disminución de estos componentes en el endosperma y simultáneamente un incremento de los mismos en el eje embrionario.

Cabe aclarar que si bien las semillas poseen un tipo de reserva principal que las caracteriza, también acumulan los otros tipos mencionados, en proporciones variables. Por ello, las diferentes vías de degradación coexisten, funcionan paralelamente y aportan la energía que requiere el crecimiento del embrión. Sin embargo, recordemos que la degradación de las reservas no sólo constituye el aporte energético, sino también la provisión de intermediarios metabólicos. Éstos son fundamentales para la construcción de las diversas estructuras celulares que demanda el crecimiento y para la síntesis de compuestos orgánicos tales como enzimas, pigmentos y hormonas, entre otros.

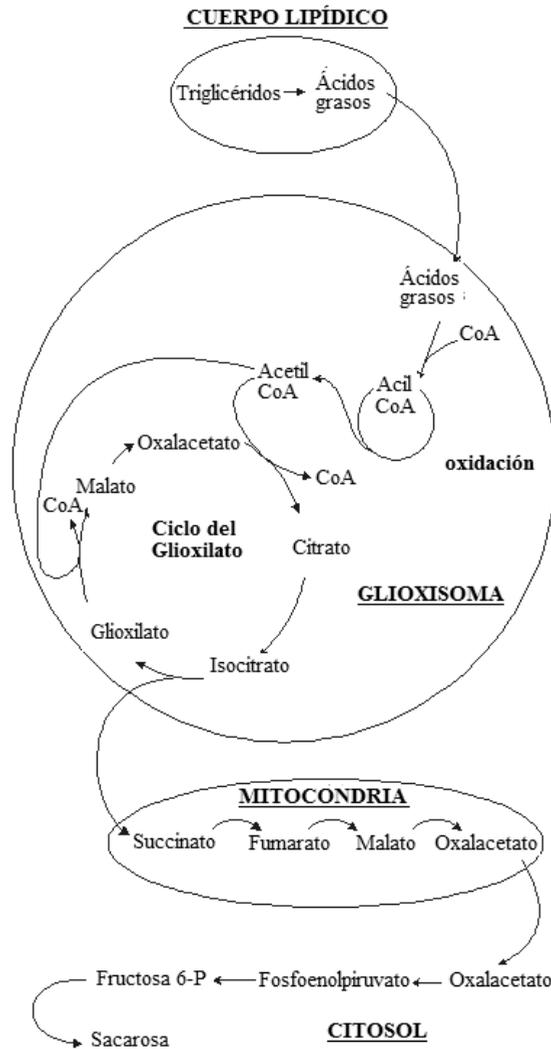


Fig. 6.4. Vía de degradación de las reservas lipídicas.

7

IMPEDIMENTOS A LA GERMINACIÓN

Hasta aquí hemos visto cómo está formada una semilla y cómo es el proceso de germinación incluido su control hormonal. A continuación estudiaremos las causas que impiden que una semilla entera y sana pueda germinar. Para ello, consideraremos una semilla en madurez fisiológica, es decir una semilla viable y que ha alcanzado su máximo peso seco. Una semilla es viable cuando está viva y es capaz de germinar si se le suministran las condiciones adecuadas. También se considera viable aunque no pueda germinar en condiciones adecuadas debido a que algún factor propio de la semilla lo impide, pero una vez superado podrá germinar. Opuestamente, se considera no viable, a la semilla incapaz de germinar independientemente de las condiciones que se utilicen para promover su germinación aún en condiciones adecuadas y sin ningún factor interno que lo impida.

Frecuentemente semillas viables puestas bajo condiciones de germinación, no germinan debido a que presentan un período inactivo. En la mayoría de los casos los períodos de inactividad están ligados de alguna manera a variaciones del ambiente. El éxito de una especie en cierto hábitat está determinado, no sólo por la capacidad de resistencia a las condiciones ambientales, sino también por la habilidad para regular su ciclo de vida según las variaciones estacionales. Esto implica reconocer las señales físicas del ambiente, tales como las variaciones de temperatura, humedad, horas de luz, etc. y transformarlas en señales químicas reguladoras del crecimiento y desarrollo, de manera que posibilite a estas semillas eludir la adversidad o enfrentarla de la mejor manera posible.

Hay dos razones por las cuales una semilla viable no germina, ellas son: **quiescencia y dormición**. La terminología utilizada en este texto ha sido cuidadosamente aplicada dada la diversidad de términos usados con muy diferentes significados y frecuentemente opuestos.

7.1. Quiescencia

Se dice que una semilla presenta este estado cuando no germina debido a que las condiciones ambientales no son las adecuadas, es decir, factores externos tales agua, luz, temperatura, entre otros, limitan el proceso.

En este caso la semilla no germina por causas externas, ajenas a la propia semilla. En este estado puede permanecer y sobrevivir generalmente por largos períodos de tiempo. Esta condición es aprovechada para la conservación de semillas, como es el caso de los depósitos en silos, en diferentes envases o lugares que impidan su hidratación, para ser comercializada o utilizada largo tiempo después de recolectada, manteniendo su calidad. Posteriormente, ante el cambio

a condiciones ambientales propicias para la hidratación, a temperaturas adecuadas y en presencia de oxígeno, la semilla podrá germinar.

Cabe aclarar que las condiciones adecuadas pueden ser sensiblemente diferentes para las distintas semillas. Así, la temperatura adecuada para una especie de clima templado puede ser inadecuada para una de clima tropical y viceversa. Tal es el caso de *Vicia graminea*, especie indígena de la provincia de Buenos Aires que presenta una temperatura óptima para germinación de 19°C, en tanto que *Calotropis procera*, que habita zonas tropicales áridas requiere una temperatura mínima para germinar de 18°C. También podríamos mencionar las enormes diferencias que muestran las semillas hortícolas cultivadas en la misma zona pero con diferente ciclo. Así la espinaca (*Spinacia oleracea*) especie de cultivo otoño-invernal, requiere unos 2°C para germinar y un máximo de aproximadamente 30°C, en tanto que melón (*Cucumis melo*) de cultivo primavero-estival requiere unos 15°C y tolera hasta un máximo cercano a los 40°C. Recordemos que datos de este tipo están disponibles para un gran número de especies en las Reglas Internacionales para Ensayos de Semillas, publicadas y actualizadas periódicamente por la ISTA (Secc. 4.1).

7.2. Dormición

Otro caso es el que ocurre cuando las semillas viables no germinan, aun suministrándole todas las condiciones ambientales adecuadas. En este caso se dice que la semilla está en dormición, es decir, no germina por causas propias o internas de la semilla.

El término dormición es el más comúnmente usado, aunque también se aplican los términos *letargo* y *latencia* como sinónimos. Frecuentemente la terminología usada y su significado varían según sean aplicadas para el caso de semillas o yemas. Así, el término latencia usado en fruticultura, expresa el estado de inactividad de las yemas determinado por causas externas, expresando el mismo significado que quiescencia para semillas. En otros casos también suele utilizarse el término *reposo* como sinónimo de dormición tanto para yemas como para semillas.

Las condiciones adecuadas deberían generar como respuesta inmediata la germinación. Sin embargo, en semillas con dormición esta respuesta está bloqueada o frenada por factores internos o propios de la semilla.

Una característica del proceso es que este bloqueo puede ser superado por la acción o aplicación de un determinado factor que no es requerido para la germinación. En algunas semillas con dormición la acción de bajas temperaturas, del orden de 4 o 5°C durante varios días o semanas, altera ciertas condiciones internas que resultan en el desbloqueo, que permitirá la germinación de las semillas cuando se las ubique en condiciones adecuadas. En otras, es la luz el factor requerido para romper la dormición. En este caso, someter a las semillas a la luz apropiada durante algunos segundos es suficiente para superar el bloqueo. En resumen, para que una semilla con dormición germine debe ser some-

tida, natural o artificialmente, a la acción discontinua de un factor que la prepare o predisponga para germinar cuando reciba las condiciones adecuadas.

7.2.1. La dormición en semillas y yemas como estrategia de supervivencia

La dormición implica la imposición de un período de inactividad de enorme importancia estratégica para la supervivencia de numerosas especies, tanto en la actualidad como en el pasado. De hecho, contribuyó a importantes avances evolutivos ligados a la colonización de hábitats con condiciones ambientales desfavorables en ciertos períodos del año.

La dormición es un freno, un bloqueo propio de la semilla que impide la germinación. Un juicio apresurado nos llevaría a considerarla como un factor negativo que impide la continuidad del crecimiento y retarda la multiplicación de una especie determinada. Sin embargo, la dormición debe ser considerada dentro de un contexto ecológico, ya que este freno permite la supervivencia de muchas especies que serían incapaces de superar las adversidades climáticas en condiciones de activo crecimiento. De no existir este freno o período inactivo, que generalmente coincide con condiciones ambientales desfavorables, tales como bajas o altas temperaturas, sequías, etc., muchas especies desaparecerían de los ecosistemas que ocupan habitualmente. Por ello, a la semilla se la puede considerar como un órgano de resistencia, equipado de un mecanismo capaz de impedir la germinación en lugares o momentos inapropiados en los cuales la planta en activo crecimiento, moriría.

Una notable demostración de la dormición como estrategia de supervivencia se presenta en verdolaga (*Portulaca olearacea*), la cual produce muchas semillas contenidas en pequeñas cápsulas que se abren a medida que maduran. Lo destacable es que cada planta posee varias cápsulas con diferentes tiempos de maduración y a su vez las semillas contenidas en las diferentes cápsulas poseen diferente grado de dormición (Tabla y Figura 7.1). Esto genera un enorme abanico de posibilidades que le permiten a la especie encontrar períodos adecuados para su crecimiento y desarrollo, asegurando la continuidad en el ecosistema.

Otro claro ejemplo lo podemos encontrar en las llamadas especies anuales de invierno, características de zonas que presentan un verano cálido y seco, y un invierno templado y húmedo. Las semillas de estas especies se forman y dispersan en primavera y verano y permanecen en dormición durante todo este período, en el cual la capa superficial del suelo frecuentemente cuenta con muy poca humedad. Esta condición impediría la supervivencia de las plántulas obtenidas luego de alguna lluvia ocasional. Sin embargo, las semillas no germinarán hasta el otoño con muy diferentes condiciones ambientales. Un caso extremo es el de las plantas del desierto que poseen un severo ajuste de su estación de crecimiento. Se las denomina **plantas efímeras**, **pseudoxerófitas** o **“draught scaping”**, características de zonas semiáridas con una o más épocas de lluvias bien determinadas. La limitante de la germinación parecería ser la humedad. Sin embargo,

las semillas no germinan con lluvias de poca importancia, sólo lo hacen luego de lluvias abundantes. La suficiente provisión de agua en el suelo permite la germinación y asegura el crecimiento de la planta hasta cumplir su ciclo de vida completo. Éste culmina con la formación y maduración de nuevas semillas en el término de unas tres a cuatro semanas. Pareciera que la semilla reconoce la cantidad de agua caída. En realidad, estas semillas poseen inhibidores de la germinación que son hidrosolubles. Sólo una lluvia abundante los lava, elimina el bloqueo y desencadena el proceso de germinación, con la seguridad de que el contenido de agua en el suelo es suficiente para cumplir el ciclo de la especie.



N° Planta	Porcentaje de Germinación		
	Cápsula 1	Cápsula 2	Cápsula 3
1	100	10	6
2	0	94	15
3	24	0	98
4	4	13	41

Tabla y Fig. 7.1. Porcentaje de germinación en las distintas cápsulas de cada planta de *Portulaca oleracea*. (Tomado de Egley, 1974). Recorte de la plata de verdolaga con capsulas en distinto grado de maduración.

Otro ejemplo es el de las semillas que requieren luz para germinar, es decir que la luz rompe la dormición. En muchos casos este mecanismo también opera como un seguro de supervivencia ya que permite la germinación sólo cuando la ubicación de la semilla es correcta. En efecto, muchas de estas semillas poseen una limitada cantidad de reservas que serían insuficientes para lograr la emergencia si quedaran muy enterradas. También podría ocurrir que se ubicaran sobre la superficie del suelo pero cubiertas por un denso pastizal o a la sombra de un bosque. En estos casos, el follaje filtra los rayos solares y altera la calidad de la luz, disminuyendo drásticamente la proporción de rojo que requiere la semilla. En estas condiciones la semilla no germina evitando el nacimiento en un ambiente poco propicio. Este mecanismo puede explicar la aparición espontánea de especies poco frecuentes, generalmente malezas que se creían desaparecidas, pero que reaparecen luego de roturar un suelo que ha permanecido durante muchos años en descanso.

Existe una gran similitud entre semillas y yemas en cuanto a la dormición. En efecto, la dormición es una condición que también se presentan en las yemas

de especies semileñosas y leñosas, implica un cese del crecimiento que actúa como un mecanismo que asegura la supervivencia de muchas especies, fundamentalmente de climas templados. El acortamiento de los días percibido por las hojas y la disminución de las temperaturas induce la detención del crecimiento, la caída de hojas y la producción de yemas de resistencia. Estas particulares yemas se rodean de "péculas", primordios foliares externos transformados en escamas fuertemente apretadas, con segregaciones mucilaginosas que evitan la desecación y el ingreso de oxígeno que condiciona a un muy bajo metabolismo. De este modo la yema apical y las laterales quedan encerradas y protegidas del intenso frío invernal y con el crecimiento detenido. La reanudación del crecimiento ocurre en primavera, luego de acumular cierta cantidad de horas de frío y el adecuado número de horas de luz.

7.2.2. Dormición en plantas salvajes y domesticadas

En general, las plantas salvajes -es decir no alteradas por el mejoramiento genético- presentan un apreciable período de dormición. Con el inicio de la agricultura dio comienzo un lento pero permanente proceso de selección que alteró las características propias de aquellas plantas salvajes, para conferirles un comportamiento acorde con las necesidades del hombre.

Entre innumerables características seleccionadas para la domesticación, se destaca la de una germinación rápida y uniforme, lo que eliminó o minimizó la dormición que le era propia de la especie. Por ejemplo, el poroto (*Phaseolus vulgaris*) actualmente posee una corta dormición o carece por completo de ella. Sin embargo, las variedades salvajes tales como *Phaseolus heterophyllus*, *P. polystachios* y *P. polyanthus* poseen una fuerte dormición impuesta por las cubiertas. Del mismo modo ha ocurrido con los cereales, fundamentalmente trigo, avena, cebada y centeno, en cuyas especies ancestrales se verifica algún grado de dormición y en la actualidad prácticamente carecen de ella. Esto constituye un claro beneficio en el caso de la industria maltera, en la cual un impedimento en la germinación complicaría el proceso industrial. Asimismo, la dormición constituiría un obstáculo cuando se realizan siembras sucesivas prácticamente inmediatas, como las que llevan a cabo las empresas productoras de semillas. Es una práctica común cosechar semilla en una localidad determinada y luego de un corto período de tiempo, sembrarla en otra latitud. Esto permite realizar dos cosechas al año y acortar los tiempos requeridos para evaluar un nuevo cultivar de una especie determinada.

Sin embargo, la carencia completa de dormición supone un gran riesgo, fundamentalmente para aquellas especies de importancia agronómica, ya que podría significar la germinación sobre la planta madre, cuando por causas climáticas o de cualquier otra índole, se dilatara la cosecha. Por lo tanto, lo ideal sería la existencia de un tiempo moderado de dormición que evite la germinación sobre la planta madre, pero que no constituya un impedimento cuando los

tiempos entre la cosecha y siembra son breves, como en los casos mencionados anteriormente.

En el mismo sentido podemos indicar la importancia de la dormición para evitar la germinación de las semillas dentro de un fruto carnoso, como pueden ser los casos del tomate (*Lycopersicon esculentum*) y melón (*Cucumis melo*). En ellos la semilla no germina aun disponiendo de humedad y temperaturas frecuentemente adecuadas. Sin embargo, una vez separadas del fruto, secadas y puestas en condiciones apropiadas germinan sin inconvenientes. La prevención de la germinación en estos casos se debe a la presencia de ABA, tanto dentro del embrión como en las estructuras que lo rodean. De hecho, durante el desarrollo del fruto es común un incremento en el contenido de ABA, el cual generalmente declina hacia el final de la maduración, a medida que va ocurriendo la pérdida de humedad. En algunos casos los tejidos del embrión simultáneamente pierden sensibilidad al ABA, lo que va preparando a la semilla para la germinación sin inconvenientes. En otros casos, el filtrado de la luz por las estructuras que rodean al embrión impide cumplir con los requerimientos lumínicos para la germinación.

La germinación sobre la planta madre implica que el desarrollo del embrión no se detuvo oportunamente, generando una nueva planta que al separarse de su progenitor se encuentra en avanzado estado de crecimiento y desarrollo. A este fenómeno se lo denomina **viviparidad**. Como se indicó precedentemente la germinación prematura o viviparidad es frenada por la acumulación de ABA.

Esto ha quedado perfectamente demostrado por los trabajos realizados con mutantes vivíparos de maíz en los cuales se determinó que la concentración de ABA era de entre un 25 y un 50% de la observada en los cultivares normales, no vivíparos. Un ejemplo extremo de viviparidad es el del mangle (*Rhizophora mangle*) en el cual no alcanza a formarse la semilla porque el proceso de embriogénesis es continuo y cuando la nueva planta se separa de la planta madre se halla enormemente desarrollada, sobre todo en la región hipocotilar. Sin embargo, en este caso la viviparidad no se debe a una baja concentración de ABA, sino a la insensibilidad que manifiesta el embrión a esta fitohormona. De hecho, para evitar el crecimiento de embriones aislados de esta especie se requieren concentraciones de ABA mucho más altas que las que normalmente se requieren para frenar la germinación.

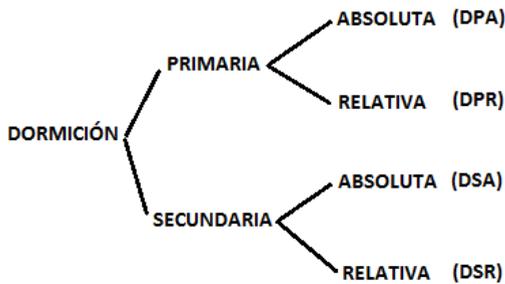
7.2.3. Tipos de dormición

De acuerdo al momento en que se origina la dormición puede clasificarse en dos grandes tipos:

Dormición primaria o innata: es la que se encuentra en la semilla desde la planta madre. Es decir, desde la madurez fisiológica y generalmente antes de su dispersión.

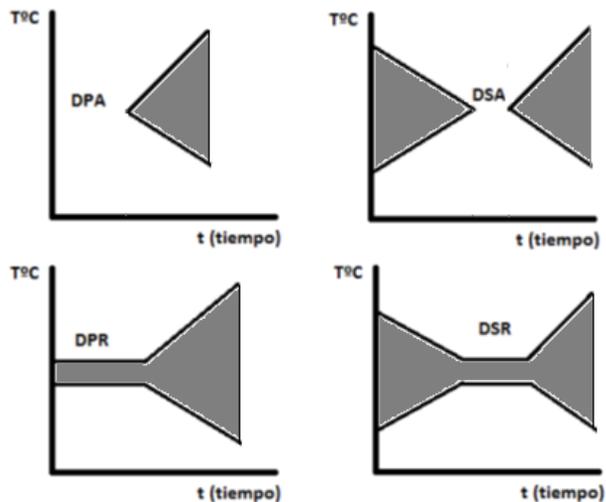
Dormición secundaria o adquirida: es la que aparece en una etapa posterior a la madurez fisiológica, generalmente luego de la dispersión de las semillas. Al principio la semilla puede germinar perfectamente y posteriormente no germinar o hacerlo en un rango más reducido de condiciones.

En ambos casos la dormición puede ser **absoluta** o **relativa**.



La dormición absoluta se presenta cuando hay un período o etapa en la cual la germinación está bloqueada totalmente. La semilla no germina en ningún rango o condición normal de germinación.

A diferencia de la anterior, en la dormición relativa la germinación ocurre, pero en un rango limitado de condiciones; por ejemplo, en condiciones normales la semilla de una especie determinada germina entre 12 y 28°C, en condiciones de dormición relativa este rango se reduce, de manera que germinaría sólo entre 20 y 24°C. Lo explicado se puede apreciar gráficamente en la siguiente figura:



7.2. Representación gráfica de los distintos tipos de dormición, DPA y DPR (dormición primaria absoluta y relativa) y DSA y DSR (dormición secundaria absoluta y relativa), tomando como referencia la respuesta a la temperatura. Las zonas sombreadas corresponden a los rangos de temperatura en los que la semilla germina y los espacios en blanco a los rangos en los cuales no germina. (Adaptado de Bewley, J.D. y M. Black. 1982).

Como se ve, la dormición se puede presentar en distintos momentos y no siempre es un proceso de todo o nada, sino que puede presentar distintos grados, según sea absoluta o relativa, y con niveles de amplitud en cuanto al tiempo. El período previo a la dormición, tanto absoluta como relativa, se denomina **predormición** y el período posterior **posdormición**.

Una cuestión fundamental es distinguir el papel de ciertos factores sin los cuales la semilla no germina. Así, hay semillas que requieren luz para germinar y otras germinan en oscuridad o son indiferentes a la presencia de este factor. En estos casos cabría plantearse las siguientes preguntas:

¿Es la luz un factor fundamental, necesario o indispensable para la germinación?

o

¿Es que la luz rompió la dormición?

En principio, esta respuesta es imposible de contestar si no se conoce la historia previa de la semilla, el comportamiento de la especie en cuanto al factor considerado desde su madurez fisiológica en adelante. Así, si la luz siempre es requerida se la puede considerar un factor indispensable para la germinación; pero si la luz es requerida en un momento determinado y en otro no, significa

que en realidad actúa en la ruptura de la dormición. En ese caso, la luz posibilita la germinación a través de la liberación de algún obstáculo metabólico o estructural que la impide.

7.2.4. Causas de la dormición. Posible superación

Cuando se desea investigar sobre el mecanismo de la dormición deberíamos comenzar planteando la siguiente pregunta:

¿Qué es lo que está bloqueando o impidiendo la germinación, aún en las condiciones ambientales favorables para el desarrollo del proceso?

Identificado este aspecto, se debería contestar otra pregunta:

¿Cómo opera ese bloqueo?

La primera pregunta apunta a identificar el factor responsable de la dormición y la segunda a descubrir su mecanismo de acción, es decir, la acción primaria o fundamental que frena el proceso de germinación.

En la bibliografía se presentan diversas clasificaciones tendientes a explicar las causas de la dormición, algunas desde el punto de vista de los factores, entonces se habla de:

- a) **dormición física** cuando se impide el ingreso de agua o aire a la semilla;
- b) **dormición química** cuando hay inhibidores presentes en la semilla que frenan metabólicamente el proceso;
- c) **dormición mecánica** que se atribuye a la presencia de cubiertas duras que impiden la emergencia del embrión por resistencia estructural;
- d) **dormición morfofisiológica** que se atribuye a causas propias del embrión.

Sin embargo, se propone identificar las causas de la dormición planteándolas desde una dicotomía básica:

- * **Dormición impuesta por las cubiertas**
- * **Dormición embrional**

7.2.4.1. Dormición impuesta por las cubiertas

Este tipo de dormición es la provocada por las estructuras que encierran al embrión. En estos casos resultan fáciles de comprobar ya que al desnudar a los

embriones, removiendo las cubiertas que los rodean, éstos germinan perfectamente. Las cubiertas seminales pueden actuar limitando el proceso de germinación de diferentes maneras, tales como: interfiriendo en la absorción de agua, interfiriendo en el intercambio de gases, ejerciendo resistencia mecánica, actuando como barrera impidiendo la salida de inhibidores, conteniendo inhibidores químicos y modificando la penetración de la luz. A saber:

a. Interfiriendo en la absorción de agua

Presentan este impedimento las semillas llamadas "duras" o de "testa dura", como es el caso de las Leguminosas. Esta característica fue muy estudiada en esta familia dada su importancia agronómica. También se presenta en otras familias tales como Quenopodiaceas, Malváceas y Liliáceas.

b. Interfiriendo en el intercambio de gases

Este es un caso particular ya que en general las cubiertas son permeables al oxígeno cuando están secas. Sin embargo, cuando la semilla se hidrata el oxígeno difunde con dificultad; de hecho, el coeficiente difusional de un gas en un líquido es aproximadamente diez mil veces menor que en el aire. Si bien esto limita el ingreso de oxígeno y la salida del dióxido de carbono en la semilla, en la actualidad no se lo considera como una limitante absoluta del intercambio gaseoso. Investigaciones recientes atribuyen este problema en parte a las cubiertas, pero fundamentalmente a la presencia de mucílagos que rodean a dichas cubiertas. Tal es el caso de *Sinapis arvensis* y *Spinacia oleracea*, entre otras.

c. Ejerciendo una resistencia mecánica

Este caso ocurre en algunos frutos indehiscentes que se caracterizan por tener cubiertas sumamente duras que impiden la emergencia del embrión; como ejemplos podemos mencionar semillas de *Eleagnus angustifolia* y *Lectuca sativa*, entre muchas otras.

d. Actuando como barrera impidiendo la salida de inhibidores

Esta situación se presenta en semillas con cubiertas que actúan como barreras completamente impermeables a los inhibidores presentes en el interior de las mismas. La presencia de un alto contenido del inhibidor bloquea algún proceso metabólico que impide la germinación. Este tipo de situación aparece en *Xanthium pennsylvanicum*, donde la testa impide la salida del inhibidor, de hecho, se ha comprobado la difusión del inhibidor a partir de embriones aislados pero no a partir de semillas intactas.

Particularmente, *Xanthium pennsylvanicum* se caracteriza por presentar una unidad de dispersión conformada por dos aquenios rodeados por un involucro

ovoide, cerrado, cubiertos de espinas en forma de gancho. Los aquenios se ubican en forma superpuesta, el inferior pequeño, con leve dormición y el superior de mayor tamaño con una profunda dormición, que germina al segundo año de producido (Fig. 7.3).

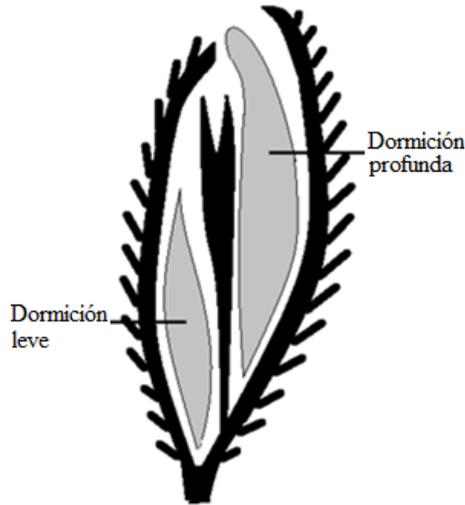


Fig. 7.3. Esquema de corte longitudinal de una unidad de dispersión de *Xanthium pennsylvanicum*, se observa dos aquenios de diferente tamaño y grado de dormición,

Estas diferencias morfológicas asociadas a las variaciones fisiológicas se designan con diferentes términos como **polimorfismo, heteromorfismo, heteroblastismo o heterogenidad fisiológica**, siendo este último término el que mejor describe este comportamiento. Situaciones similares están reportadas en representantes de las familias Compuestas, Crucíferas y Quenopodiaceas.

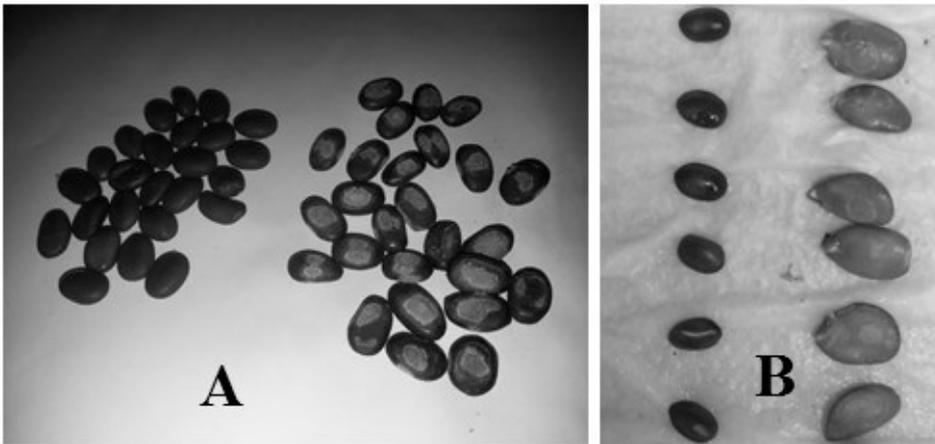
En esta última familia, un caso interesante lo presenta *Chenopodium álbum* conocida como “Quinoa”, que posee aquenios con notables diferencias morfológicas y de color, que se reconocen como marrón tenue, marrón reticulado, negro liso y negro reticulado. Cada fruto presenta diferentes requerimientos para la geminación y en este caso responden diferencialmente a la aplicación de frío y nitrato de potasio.

Los cuatro casos mencionados precedentemente pueden ser superados debilitando de alguna manera las cubiertas seminales. A esta técnica se la denomina **escarificación**, y consiste en desgastar las cubiertas con diferentes métodos:

- **mecánicos:** con una sustancia abrasiva como papel de lija fino.
- **químicos:** con ácidos sulfúrico, nítrico, etc.
- **físicos:** con alternancia brusca de temperaturas altas y bajas, ultrasonido, etc.

En condiciones naturales, las semillas que presentan estos tipos de dormición pueden permanecer en el suelo por largo período de tiempo. Durante ese período las propias condiciones del ambiente, incluida la acción microbiana, la temperatura, y aún la acción del fuego van debilitando las cubiertas. En otros casos las semillas deben pasar por el tracto digestivo de algunos pájaros para poder germinar, como es el caso del tala (*Celtis spinosa*).

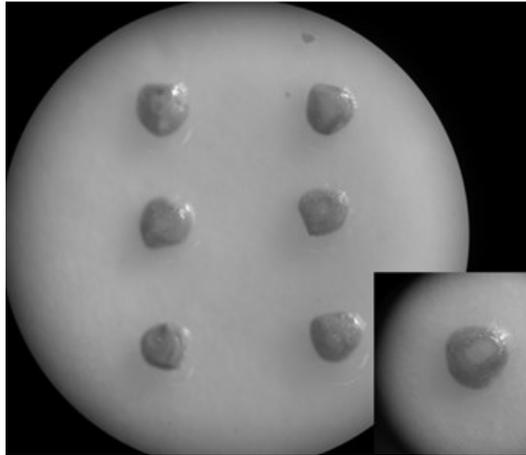
Un caso interesante lo presenta la semilla de *Gleditsia triacanthos* y *Gleditsia triacanthos* var. *inermis*, conocidas vulgarmente como “Acacia de tres espinas”, “Acacia de tres púas” o “Acacia negra”, cuyas semillas mantienen el poder germinativo durante varios años. Se trata de un árbol de rápido crecimiento que se adapta a diversas condiciones de clima y suelo, de gran valor ornamental y cuya madera es apreciada por su dureza y durabilidad. Sin embargo, muestra notables dificultades para su multiplicación sexual dada la enorme dureza de las cubiertas de sus semillas. Esta dormición impuesta por las cubiertas fue superada por escarificación física dada por un lijado profundo de las cubiertas (Fig. 7.4) y también por escarificación química sumergiendo la semilla durante una hora en ácido sulfúrico puro.



7.4. A: vista de un grupo de semillas sin escarificar (tratamiento testigo) y otro de semillas escarificadas con lija en seco de *Gleditsia triacanthos* var. *inermis* y B: detalle de la respuesta a los tratamientos aplicados, que permiten ver la falta de imbibición del testigo y semillas completamente hidratadas y con inicio de emergencia de radícula (Cardinali, *et al.* 2015).

Otro caso es el de *Cuphea glutinosa*, conocida vulgarmente como “Siete Sangrías” que en pruebas de germinación de laboratorio mostró respuesta positiva a la luz, a la estratificación a 5°C durante 8 días y al nitrato de potasio; y no mostró respuesta al escarificado físico ni a temperaturas alternas de 20/30°C.

En la siguiente figura (7.5) se puede observar el detalle del tratamiento es-carificado suave con lija fina.



7.5. Vista del tratamiento es-carificado y detalle del desgaste de las cubiertas por es-carificado suave con lija seca, en semillas de *Cuphea glutinosa* (Cardinali, *et al.* 2015).

e) Conteniendo inhibidores químicos

Existe gran cantidad de semillas que poseen en sus cubiertas inhibidores de la germinación. Un caso muy notable, ya mencionado, es el de plantas de ambientes desérticos pero con una o varias estaciones de lluvias, que germinan sólo cuando ocurren lluvias abundantes. Esto se explica pues los inhibidores presentes en las cubiertas de las semillas son hidrosolubles y factibles de ser lavados o lixiviados por el agua de lluvia (ver Secc. 7.2.1).

Casos similares se presentan en algunos cereales, como ocurre en ciertos cultivares de arroz cuyas cubiertas poseen ácido abscísico (ABA). En estos casos las semillas deben ser remojadas durante un día para lograr el lavado del inhibidor. Sin embargo, la presencia de inhibidores constituye un hecho de importancia fundamental para la cosecha de trigo en los países nórdicos. Allí los cultivares utilizados poseen catequinas (sustancia del tipo del tanino) en las cubiertas, que impiden la germinación previa a la cosecha, la cual se realiza a fines del verano y principio de otoño en condiciones de alta humedad ambiental.

Otro caso se presenta en el olivo de Bohemia (*Eleagnus angustifolia*) en el cual la presencia del inhibidor cumarina (derivado fenólico) en la testa impide la germinación. En diversos bioensayos se ha visto que la aplicación exógena de cumarina interviene en el metabolismo lipídico y proteico, y también en las reacciones de fosforilación oxidativa del proceso respiratorio, de manera que a través de alguna de estas acciones podría imponer el estado de dormición.

Situaciones similares se presentan en numerosas árboles y arbustos tales como *Corylus avellana*, *Fraxinus americana*, *Acer negundo* y *Rosa canina*.

f) Modificando la penetración de la luz

Algunas semillas requieren luz de cierta longitud de onda para germinar. En ellas puede ocurrir que las cubiertas actúen como filtro alterando la calidad de la luz requerida por el embrión. Tal es el caso de *Chenopodium album* en la cual el espesor y la pigmentación de las cubiertas alteran la penetración de la luz, lo que impide que la semilla se libere de la dormición. En este caso las propias condiciones ambientales de suelo y clima pueden debilitar las cubiertas y alterar la pigmentación, posibilitando que la luz requerida alcance al embrión y de inicio al proceso de germinación.

Cabe aclarar que los mecanismos planteados pueden actuar individualmente, sin embargo, es frecuente que dos o más de ellos actúen conjuntamente ocasionando la dormición.

7.2.4.2. Dormición embrional

Corresponde a los casos en que el bloqueo se encuentra en el embrión. Se la reconoce cuando falla la germinación de embriones aislados. Se la puede dividir en dos tipos:

a) Inmadurez del embrión

Este tipo de bloqueo responde a un desarrollo deficiente del embrión. Se genera una asincronía entre las reservas que se encuentran perfectamente acumuladas y disponibles, y un embrión subdesarrollado incapaz de iniciar su crecimiento. Se la conoce también como dormición morfológica y se caracteriza porque el embrión es pequeño y poco diferenciado. Se presenta en varios géneros de las familias Annonáceas, Magnoliáceas, Ranunculáceas y Oleáceas.

La superación de esta inmadurez se logra lentamente a través del tiempo. Puede ayudar al proceso el mantenimiento de las semillas en condiciones de humedad y temperatura relativamente baja.

Un claro ejemplo lo constituye el caso de *Heracleum*, género perteneciente a la familia Umbelífera, que presenta embriones rudimentarios cuando la semilla ha alcanzado la madurez en la planta madre. Esta condición del embrión impide la germinación hasta que se haya completado su diferenciación, para lo cual requiere una temperatura de 2°C. En este caso, la semilla una vez separada de la planta madre, puede quedar en el suelo sin germinar hasta que se presenten las condiciones ambientales que permitan completar la madurez del embrión.

b) Presencia de inhibidores en el embrión

Este caso ocurre en semillas que poseen su embrión completamente desarrollado, es decir, que no padecen de un impedimento anatómico para su crecimiento. Sin embargo, presentan alteraciones importantes en su crecimiento total o en alguna de sus partes. Es frecuente que sólo alguna de las partes esté en dormición. Puede ocurrir que la radícula no esté en dormición o la padezca levemente, en tanto el epicótilo tenga una profunda dormición y no crezca. Esta situación genera lo que se llama enanismo fisiológico tal como se suele presentar en durazno, manzana, pera y crataegus.

En estos casos si no se rompe la dormición, a través de dos desbloques con bajas temperaturas en diferentes momentos, la plántula puede llegar a morir.

En otros casos son los cotiledones los responsables de inhibir el crecimiento del eje embrionario. Experimentalmente se ha logrado superar el problema cortando ambos cotiledones, demostrado en *Viburnum trilobum* y *Fraxinus excelsior* y en otros casos cortando sólo uno de ellos como en *Evonymus europaea*.

Si bien no están suficientemente en claro las bases fisiológicas y bioquímicas, se especula que la presencia de ABA o el balance entre promotores e inhibidores es responsable de este freno al crecimiento.

En general, el tratamiento con bajas temperaturas a semillas en dormición provoca la disminución en la concentración de ABA y esta disminución es proporcional al tiempo del tratamiento. En la naturaleza es frecuente que semillas maduras en otoño queden expuestas al frío invernal y luego en primavera germinen sin inconvenientes. A este proceso se lo denomina **estratificación**.

Una forma sencilla de reproducir o imitar las condiciones naturales antes descritas de estratificación, es ubicando a la semilla en condiciones de imbibición en la parte inferior de la heladera, que se mantiene entre 4 y 5 °C, durante varias semanas o meses dependiendo del requerimiento específico de la especie, como se puede apreciar en la Fig 7.6, para tres especies diferentes.

Sin embargo, este efecto no puede ser sólo atribuido a la disminución de la concentración de ABA, ya que diferentes estudios han demostrado que simultáneamente, es frecuente observar un incremento en promotores de la germinación como giberelinas y citoquininas de manera que, en algún momento del tratamiento, el balance entre promotores e inhibidores sea favorable a los primeros y se libere el bloqueo que impedía la germinación. Una situación de este tipo se ha observado en *Corylus avellana* donde la estratificación a 5°C produce una disminución de la concentración de ABA y una vez finalizado el tratamiento de frío y habiendo transferido las semillas a condiciones de 20°C (temperatura adecuada para la germinación de esta especie), se produce un aumento de síntesis de GA.

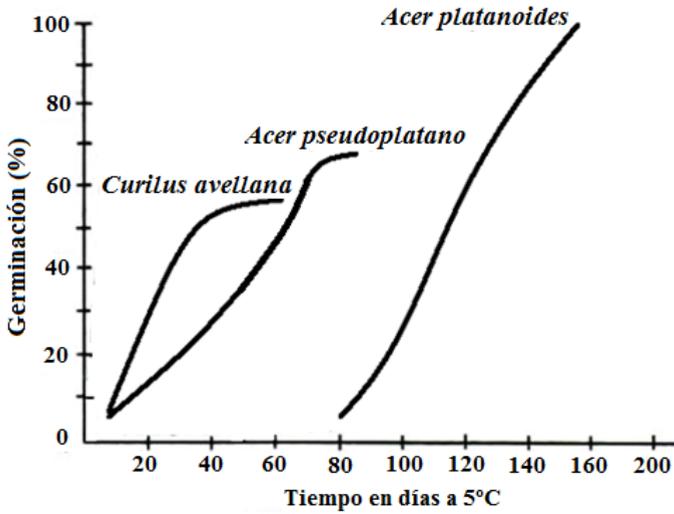


Fig. 7.6. Efecto del tiempo a bajas temperaturas sobre la germinación de semillas de tres especies de árboles (Adaptado de Bewley y Black, 1982).

Otro caso lo muestra *Acer saccharum*, comúnmente conocido como “Arce azucarero” donde el tratamiento a temperaturas de 5°C provoca una rápida caída en las concentraciones de ABA y un aumento equivalente en citoquininas y uno más lento y prolongado en las concentraciones de giberelinas como se puede apreciar en la Fig. 7.7.

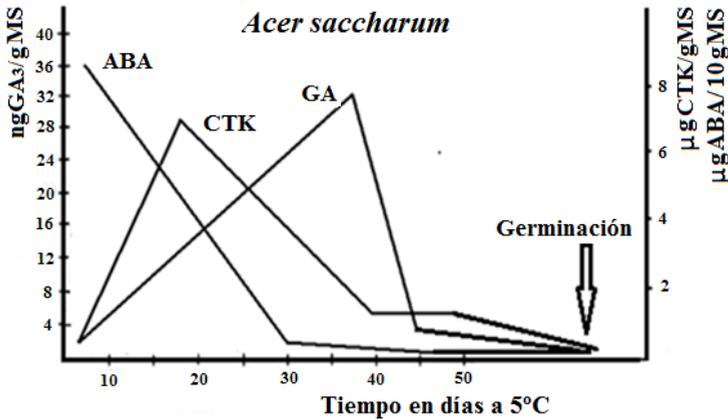


Fig. 7.7. Efecto del tiempo a bajas temperaturas sobre la concentración de ácido abscísico (ABA), citoquininas (CTK) y Giberelinas (GA) en semillas de *Acer saccharum*. (Adaptado de Web et al, 1973).

Respecto a la importancia del balance entre promotores e inhibidores como determinantes de la germinación, Khan (1977) propone un modelo que apoya la hipótesis de equilibrio entre ellos, planteando ocho situaciones básicas y su resultante, como se puede ver en la Fig.7.8 que reproduce el Modelo de Khan.

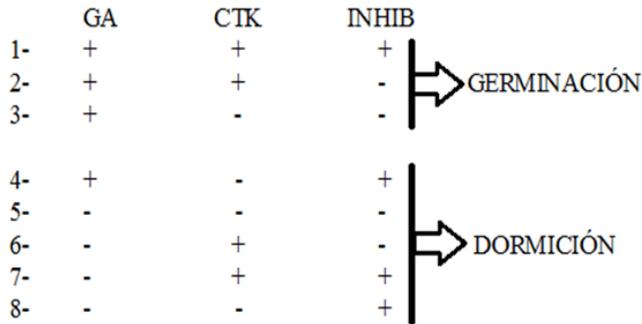


Fig. 7.8. Relación entre el balance de promotores e inhibidores y el estado de las semillas dado por su capacidad de germinación o dormición según el Modelo de Khan (1977).

Este modelo es interesante pues gráficamente y con claridad permite explicar situaciones particulares, como la posibilidad de germinación en presencia de inhibidores y la situación de dormición, aun habiendo promotores.

Otro caso a tener en cuenta es el de aquellas semillas perfectamente maduras y en condiciones aparentemente adecuadas para germinar que, sin embargo, inmediatamente de cosechadas no germinan: están en dormición. Pero un tiempo después de almacenamiento en seco a temperatura ambiente la situación queda plenamente superada. Es decir, la semilla no germina mientras que su contenido de agua permanezca en niveles bajos durante un cierto período de tiempo. Esto también se debe considerar dentro de un contexto ecofisiológico, ya que además de evitar la germinación prematura sobre la planta madre y de mejorar las condiciones para su diseminación, esta estrategia puede resultar muy ventajosa cuando se trata de especies que habitan en ambientes con una estación seca y que únicamente puede superar este período en forma de semilla. Sin embargo, el requerimiento de un período de sequedad prolongado puede constituir una desventaja en la agricultura. Normalmente estas semillas no germinan aún bajo condiciones favorables, salvo que se den temperaturas muy bajas. A medida que el período en seco avanza en el tiempo van perdiendo el estado de profundo reposo y empiezan a ser capaces de germinar a temperaturas cada vez más altas. Finalmente, pueden germinar a temperaturas cálidas, normales para la germinación.

Trabajos realizados en *Veronica arvensis* mostraron que las semillas frescas germinaban a temperaturas cercanas a los 10°C, mientras que después de un

período de 35 días de almacenaje en seco, la geminación más rápida ocurría entre los 15 y 20°C.

Un claro ejemplo de esta situación lo muestra la Fig 7.9, donde se pueden observar los cambios en los niveles de germinación para semillas de *Impatiens balsamina* conocida comúnmente como “Brincos” con diferentes tiempos de almacenamiento. Como se puede apreciar, a mayores tiempos de almacenamiento en seco menores son los tiempos que demanda la germinación de estas semillas.

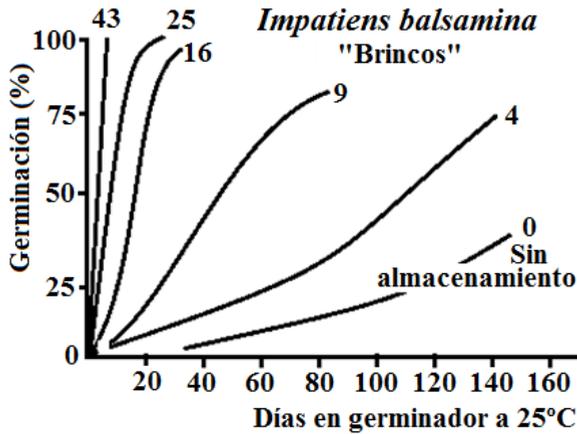


Fig. 7.9. Efecto del almacenamiento en seco a temperatura ambiente sobre la germinación de *Impatiens balsamina*. Los números indicados sobre cada línea indican la cantidad de semanas mantenidas en almacenamiento (Adaptado de Wareing y Phillips, 1978).

En resumen, el almacenamiento en seco permite que las semillas vayan perdiendo gradualmente la dormición sin necesidad de tratamiento particular alguno. Presentan esta particularidad las semillas de algunos cereales como avena, cebada, trigo y arroz. Se desconoce con exactitud las causas que lo provocan, pero se lo atribuye a cambios internos que van alterando las concentraciones internas de promotores e inhibidores de la germinación. Finalmente esas alteraciones generarían un balance favorable de promotores sobre los inhibidores lo que resulta en una pérdida de la dormición y consecuentemente la capacidad de germinar cuando sean expuestas a las condiciones favorables.

En este sentido, muchos trabajos han demostrado de qué modo las aplicaciones exógenas de promotores, como GA, fueron efectivas para romper la dormición de semillas con requerimientos de frío o de almacenamiento en seco.

7.3. Promotores de la germinación

7.3.1. Giberelinas

Los efectos mencionados en este punto son independientes del efecto sobre la movilización de las reservas durante el proceso de germinación, ya descrito en el capítulo correspondiente. Las giberelinas y en particular el ácido giberélico (GA_3), son ampliamente utilizadas para promover la germinación. Se las utiliza en soluciones acuosas de baja concentración para promover o inducir la germinación de semillas en diversas especies y romper la dormición permitiendo la germinación y crecimiento del embrión. También son efectivas en la inducción del crecimiento de yemas y frutos. Esta acción se considera contraria a la del ácido abscísico (ABA).

Las giberelinas también cumplen un rol fundamental en el ablandamiento de las paredes celulares que rodean al embrión y facilitan la emergencia de la radícula. La semilla de tomate (*Lycopersicon esculentum*), se caracteriza por poseer el extremo de la radícula cubierto con una porción o capa de endosperma. Aquí la emergencia radicular depende del balance entre la presión de turgencia y la resistencia impuesta por la capa de endosperma. Luego de la imbibición, las giberelinas inducen la formación o activación de enzimas hidrolíticas de pared tales como mananasas, que ocasionan una disminución de la resistencia mecánica. Esto determina una caída del potencial presión umbral, facilitando el crecimiento y emergencia radicular. Un caso similar se presenta en tabaco (*Nicotiana tabacum*) donde la GA_4 induce la formación de β -1,3-glucanasa que actúa sobre el ablandamiento del endosperma micropilar.

7.3.2. Nitrato de Potasio

El nitrato de potasio (KN_3) es un promotor de la germinación recomendado ampliamente en las Reglas Internacionales de Ensayos de Semillas (ISTA) para superar la dormición en semillas de diversas especies. Asimismo, la bibliografía es abundante en cuanto a resultados favorables por el uso de este compuesto en semillas con dificultades para germinar. Se aplica humedeciendo el sustrato en solución acuosa generalmente al 0,2%. El KN_3 ha sido efectivo en semillas de *Panicum maximum*, cultivares Makueni, Gatton, Trichoglume y Likini, incrementando su germinación en 15%.

En el caso de *Cuphea glutinosa* la hidratación con solución acuosa de nitrato de potasio al 0,2% permitió alcanzar el máximo porcentaje de germinación. Sin embargo, lo más relevante fue el considerable aumento de la velocidad del proceso.

Para entender la acción del nitrato de potasio como activador de la germinación debemos remitirnos a los procesos metabólicos que se desencadenan al inicio de la germinación. Si bien la glucólisis es la principal vía metabólica para la degradación de la glucosa, hay una vía alternativa que es la de las pentosas fosfato (VPP) que transcurre en el citosol y aporta poder reductor como NA-

DPH y Ribosa-5-P requerido para la síntesis de nucleótidos (ATP, Adenosin trifosfato; GTP, Guanosin trifosfato; UTP, Uridin trifosfato; CTP, Citidina tri-

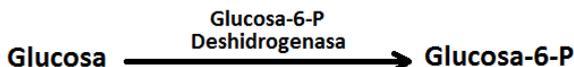


fosfato; NAD, Nicotinamida adenina dinucleótido y FAD, Flavina adenina dinucleótido) y ácidos nucleicos (ADN y ARN).

Precisamente, es la VPP la que se activa al principio del proceso de germinación, ya que la secuencia que se inicia con la glucólisis y avanza hacia el Ciclo de Krebs y Cadena Transportadora de Electrones, toma relevancia luego de iniciado el crecimiento del embrión.

En este contexto, podemos reconocer que aquellas sustancias que estimulen las VPP también estimulan la germinación; a la inversa, cualquier sustancia que la inhiba generará dormición.

El compuesto iniciador de la VPP es la Glucosa-6-P que se obtiene a partir



de la Glucosa mediante la enzima Glucosa-6-P deshidrogenasa

El NADP^+ es un activador de la enzima G-6-P deshidrogenasa, de hecho, la VPP es dependiente de la relación $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$; así una alta relación favorece la actividad de esta vía y lo contrario ocurre ante una baja relación.

El uso de nitrato de potasio a través de su reducción a nitrito y posteriormente a amoníaco va consumiendo sucesivamente poder reductor, fundamentalmente a partir del NADPH, lo que produce como consecuencia un incremento de NADP^+ favoreciendo directamente la VPP, proceso fundamental para iniciar el proceso de germinación.

8

FOTOCONTROL DE LA GERMINACIÓN

La luz es un factor ambiental fundamental como fuente de energía externa para la producción de biomasa en autótrofos a través del proceso de fotosíntesis. Sin embargo, la intervención de la luz en plantas también participa de respuestas no fotosintéticas ya que ellas tienen la capacidad de reconocer la dirección, calidad, intensidad e inclusive la duración de la luz incidente para ajustar su ciclo de vida. A este proceso regulador del crecimiento y desarrollo que se lo denomina **fotomorfogénesis** e incluye la fotomodulación del crecimiento, los fotomovimientos y el fotocontrol de la germinación.

8.1. Respuestas a la luz

La respuesta de las semillas a la luz ha sido ampliamente estudiada en numerosas especies, en especial como factor determinante de la ruptura de la dormición primaria o innata impuesta por las cubiertas.

La mayoría de las semillas que responden al estímulo lumínico corresponden a especies salvajes, en general de muy pequeño tamaño y con escasas reservas que limitan su capacidad de emergencia.

El efecto de la luz como desencadenante del proceso de germinación se denomina **fotoblastismo** y de allí derivan las denominaciones que identifican los tipos de semilla en función de la respuesta a la luz. Las semillas **fotoblásticas positivas** son aquellas que tienen requerimientos de luz para germinar, en tanto que las **fotoblásticas negativas** son aquellas que no germinan en presencia de luz. Las llamadas **neutras**, en cambio, son aquellas indiferentes, es decir, capaces de germinar en condiciones de luz u oscuridad.

Las respuestas de semillas sensibles a la luz tienen como requerimiento fundamental que estén suficientemente hidratadas. En esta condición, la luz es efectiva aunque con gran variabilidad en el período requerido para desencadenar el proceso, desde décimas de segundo a varios minutos, según la especie. Sin embargo, es importante tener en cuenta que el fotoblastismo es completamente dependiente de la temperatura. Las semillas sólo exhiben fotoblastismo dentro de un rango determinado de temperatura, fuera del cual muchas que son fotoblásticas positivas pueden comportarse como negativas o neutras.

8.2. Espectro de acción y reversibilidad del efecto

Hace más de un siglo que se conoce la dependencia de la luz para la germinación de muchas especies. Sin embargo, los estudios más detallados fueron realizados al comienzo de la década de 1950 en la Estación de Investigaciones del Departamento de Agricultura de Estados Unidos en

Beltsville, Maryland. Trabajaron sobre el tema el fisiólogo vegetal H. A. Borthwich, el especialista en la resolución de problemas fisico-químicos S.B. Hendricks y sus colaboradores. Observaron el comportamiento de semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) variedad Grand Rapids y plantearon la existencia de un sistema de fotorreacciones reversibles, por las cuales un pigmento expuesto a determinada calidad de luz podía isomerizarse, de manera que un isómero activaba la germinación y el otro la inhibía.

En efecto, cuando un lote de semilla de lechuga, previamente hidratada durante 12 horas, era iluminado con luz monocromática de 660 nm (rojo) germinaba en una alta proporción, mientras que cuando se lo iluminaba con luz de 730 nm (rojo lejano) se verificaba una drástica disminución en el número de semillas germinadas. Más precisamente, el estímulo comenzaba a los 600 nm, alcanzaba el punto máximo a los 660 nm y de allí en adelante comenzaba la inhibición que alcanzaba el máximo a los 730 nm. Además, observaron que el tratamiento promotor (+) rojo (R) era anulado por el tratamiento inhibitor (-) rojo lejano (RL) y viceversa, lo que demostró que se trataba de un efecto fotorreversible. De manera que cuando se aplicaban sucesivamente los tratamientos R y RL, las semillas respondían en función del último tratamiento aplicado (Tabla 8.1).

Tabla 8.1. Respuesta de la semilla de lechuga (*Lactuca sativa*) variedad Grand Rapids a diferentes y sucesivos estímulos lumínicos a 20°C (RL: Rojo lejano; R: Rojo; +: Germina; -: No Germina)

<u>Tratamiento</u>	<u>Respuesta</u>
Oscuridad	-
RL	-
R	+
R - RL	-
R - RL - R	+
R - RL - R - RL	-
R - RL - R - RL - R	+

La claridad que muestra la tabla anterior permitiría pensar en la sencillez de las respuestas. Sin embargo, en condiciones naturales también intervienen otros factores que en algunos casos pueden generar cierto grado de incertidumbre. La calidad espectral de la luz que recibe el fotorreceptor puede ser bastante diferente a la luz incidente en el exterior de la semilla o más lejos aún, sobre el canopeo que eventualmente pueda cubrirla. Asimismo, la sensibilidad de la semilla y la temperatura son otros factores que pueden alterar la acción de la luz demostrada bajo las condiciones controladas del laboratorio.

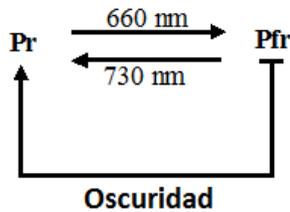
8.3. Identificación del fotorreceptor - Fitocromo

Cuando se investiga sobre una respuesta lumínica es fundamental identificar al fotorreceptor.

Recordemos que siempre que hay un fenómeno en respuesta a la luz hay un fotorreceptor capaz de captar el estímulo.

La pista evidente para su identificación es la longitud de onda en que ocurre la respuesta, que corresponderá seguramente a la longitud de onda a la que es sensible el fotorreceptor.

El fotorreceptor involucrado es una sustancia capaz de generar dos isómeros fotorreversibles y antagónicos, sensibles a distinta longitud de onda. Usando técnicas de espectrofotometría y observando los cambios en las absorbancias, pudieron identificar a los dos isómeros. Uno de ellos, al que llamaremos **Pr** (P: Phytochrome, fitocromo y r: red, rojo) es de color azul y sensible al rojo. Al recibir una radiación de esta longitud de onda se transforma en otro isómero al que llamaremos **Pfr** (fr: far red, rojo lejano), de color azul verdoso y sensible al rojo lejano. Éste al recibir ese tipo de radiación se transforma en Pr y así sucesivamente. La forma activa es el isómero Pfr y la inactiva es el Pr. Además, Borthwick y su equipo descubrieron que este pigmento también podía pasar lentamente de Pfr a Pr en completa oscuridad, a lo que se denomina reversión oscura. Esquemáticamente es:



Para que ocurran las transformaciones Pr – Pfr o viceversa es suficiente una única radiación, corta y de baja intensidad. El cambio ocurre rápidamente, aún a bajas temperaturas, por lo que su Q10 es cercano a 1.

En lechuga, la dosis de saturación de luz roja, es decir, la requerida para lograr la máxima fotoconversión a Pfr está alrededor de 10 J/m², en cambio, los requerimientos de rojo lejano para lograr la fotoconversión a Pr es mucho mayor, del orden de 600 J/m² de luz 730 nm para alcanzar el 50% de la reversión del Pfr causada por la dosis de saturación de luz roja.

En el laboratorio, las altas dosis de luz roja lejana se suministran a través de un alto flujo de esa calidad de luz o prolongando los tiempos de exposición

La otra vía de conversión es la reversión oscura que depende básicamente de la temperatura y del pH, y muestra un Q10 superior a 1. Estos cambios generan una respuesta que responde a la ley de todo o nada, es decir germina o no germina.

Las reacciones comentadas precedentemente en cuanto al espectro de acción, la reversibilidad del estímulo y el antagonismo, constituyeron fuertes evidencias fisiológicas que indicaban como responsable a un único fotorreceptor. El grupo de Beltsville identificó, aisló y dio el nombre de **fitocromo**, tarea que demandó toda la década del 50.

Los estudios del fitocromo, al comienzo, debieron hacerse sobre plantas etioladas, es decir, crecidas en oscuridad. En esta condición ambiental aumenta la concentración de fitocromo, ya que en condiciones normales se presenta en muy bajas concentraciones. Además, en oscuridad no hay interferencia para los estudios espectrofotométricos por la presencia de clorofila que absorbe luz roja y azul. Actualmente, el estudio a través de técnicas inmunológicas de alta sensibilidad ha permitido profundizar enormemente el conocimiento sobre esta sustancia.

El fitocromo es una cromoproteína constituida por dos componentes:

- a) **Proteínico**: constituido por dos monómeros o polipéptidos iguales con un peso molecular de 124 KDa cada uno. Cada monómero se encuentra unido desde uno de sus aminoácidos, una cisteína, y en forma covalente a un cromóforo mediante un átomo de azufre.
- b) **Cromóforo** o grupo prostético que es un tetrapirrol de cadena abierta muy semejante al pigmento fotosintético de las algas azules y rojas que es una ficocianobilina.

La fotoconversión Pr – Pfr y viceversa, ocurre en el cromóforo a través de una isomerización cis-trans en el carbono 15 como se puede ver en la Fig. 8.1. El cambio en el cromóforo provoca cambios en la proteína responsables de la acción fisiológica.

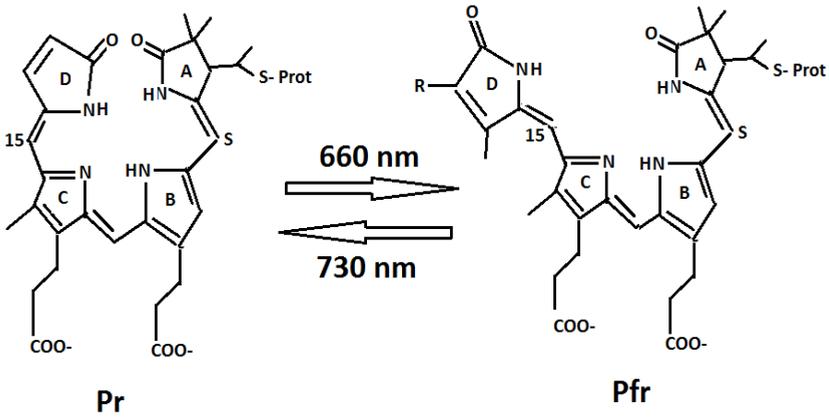


Fig. 8.1. Fotoconversión del cromóforo del fitocromo

8.3.1. Localización

La mayoría de los estudios sobre el fitocromo se han realizado en angiospermas. Sin embargo, se considera que es un compuesto ampliamente distribuido en el reino vegetal, y se ha comprobado su existencia en algunas algas, briófitas, pteridófitas y gimnospermas.

Dentro de la planta se lo ha identificado en todos los órganos en concentraciones variables, pero fundamentalmente se lo encuentra en tejidos jóvenes, particularmente en las zonas apicales. En cuanto a su ubicación intracelular, uno de los resultados más notables descubiertos a través del uso de técnicas inmunocitoquímicas es que la irradiación con luz roja provoca importantes cambios en la distribución subcelular. En efecto, se ha determinado la presencia de fitocromo Pr en el citosol de plantas etioladas, pero luego de ser irradiadas con rojo, el Pfr formado se encuentra asociado a estructuras membranosas. Una nueva irradiación con rojo lejano lo regresa a la forma difusa en el citosol. Estos y otros resultados indicarían la posible unión del Pfr con un receptor para desencadenar su acción.

8.3.2. Metabolismo

8.3.2.1. Síntesis y degradación

La formación inicial del fitocromo ocurre durante el proceso de maduración de la semilla. Su cantidad y calidad está de alguna manera regulado por la composición e intensidad del espectro lumínico incidente y en algunos casos por el fotoperíodo.

Cuando se habla de la luz incidente en realidad debe considerarse la que efectivamente llega a los lugares de formación del fitocromo. Esto puede ser

significativamente diferente en función de los sombreos en distintos sectores de la planta, lo que podría generar diferencias entre semillas individuales, aún provenientes de la misma planta madre. Algunas semillas fotoblásticas positivas suelen estar cubiertas por células con clorofila que producen un considerable filtrado de la luz, que está en función del espectro de absorción propio de la molécula de clorofila. Esto puede significar una enorme diferencia entre la cantidad y calidad de luz del ambiente y lo que efectivamente llega a los lugares de formación del fitocromo.

Estos hechos explican la heterogeneidad entre semillas de la misma especie en cuanto a los requerimientos de luz para la germinación. Los diferentes contenidos de Pfr pueden variar en función de las diferentes condiciones de maduración, y también por las variaciones morfológicas y estructurales en cuanto a espesor y color de las cubiertas que naturalmente presentan las semillas.

Las radiaciones absorbidas por el fitocromo generan, por cambios en el cromóforo, dos isómeros: el Pr que es la forma inactiva, sensible al rojo y estable en la oscuridad y el Pfr que es el activo, sensible al rojo lejano e inestable en oscuridad. Éste puede seguir diferentes vías como son: la reversión oscura, la destrucción o la de acción para desencadenar los efectos sobre la gran cantidad de procesos morfogénicos que regula (Fig. 8.2).

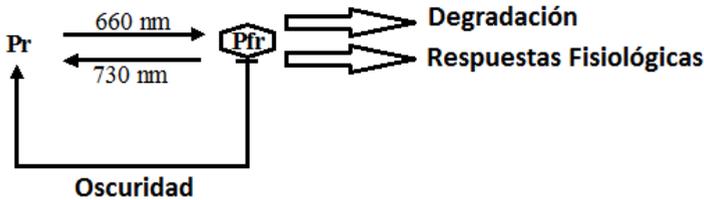


Fig. 8.2. Cambios del fitocromo en función de la calidad de luz monocromática, 660 o 730 nm, recibida y las posibles vías emergentes a partir de la formación del isómero Pfr.

Estos hechos podrían generar una rápida caída en los niveles de Pfr. Sin embargo, ellos son permanentemente compensados por los niveles de síntesis de Pr que con la luz adecuada pasan a Pfr. Recordemos que cuando hablamos de síntesis, se requiere la formación tanto de la proteína como del grupo prostético, por ello actualmente se reconoce que son varios los genes involucrados en la síntesis de Pr.

Cabe aclarar que las fototransformaciones Pr-Pfr y viceversa no son directas, sino que se dan a través de intermediarios metabólicos de corta vida.

Anteriormente mencionamos que los estudios del fitocromo se realizaron sobre plantas etioladas, es decir crecidas en oscuridad, porque presentan una concentración mayor de fitocromo. Las investigaciones han comprobado que en presencia de luz los niveles de ARNm codificados para la síntesis de la proteína descienden significativamente.

Un hecho particular que se ha podido observar en algunas semillas, como la de lechuga variedad Reina de Mayo, es que poseen un mecanismo llamado de reversión oscura inversa, que permite la conversión de Pr a Pfr en oscuridad, lo que explicaría la presencia de Pfr en estas condiciones.

8.3.2.2. Influencia de las condiciones ambientales

El espectro de absorción del fitocromo muestra los picos de máxima en la zona del rojo, tanto para el Pr como para el Pfr, sin embargo se verifican absorciones entre los 200 nm y 800 nm. La radiación lumínica que incide sobre el planeta puede ser profundamente modificada de acuerdo a las condiciones ambientales propias de los diferentes ecosistemas. En función de ello, las plantas ajustan su desarrollo como mecanismo de adaptación y eventualmente de supervivencia. Esta adaptación en la morfogénesis está regulada por las relaciones entre ambos isómeros del fitocromo y se la expresa de la siguiente manera:

$$\frac{\text{Pfr}}{\text{Pr} + \text{Pfr}} = \frac{\text{Pfr}}{\text{P total}}$$

En un ambiente despejado, expuesto a radiación solar directa hay mayoritariamente una conversión del Pr a Pfr que podría conducir a que la relación Pfr/Pt alcanzara valores cercanos al 80%. En cambio, si el ambiente fuera un sotobosque cubierto por un denso canopeo que filtrara la radiación solar restando fuertemente el rojo, absorbido por la presencia de la clorofila, la relación Pfr/Pt descendería a valores mínimos. Esto influiría marcadamente en el desarrollo de los vegetales expuestos a esta condición, incluida la imposibilidad de germinar para muchas especies que por los diversos mecanismos de dispersión hayan llegado hasta allí.

Los valores de fotoequilibrio (Pfr/Ptotal) requeridos para romper la dormición son muy variables, pero en general bajos. Uno de los más bajos citados en la bibliografía corresponde a *Amaranthus retroflexus* con 0,001, mientras que en el otro extremo se presenta la lechuga (*Lactuca sativa*) con un requerimiento mínimo del 0,59.

Cabe aclarar que, dada la superposición de los espectros de absorción de Pr y Pfr en la zona del rojo, cuando el Pr es irradiado con luz roja, como máximo se genera aproximadamente un 80% de Pfr, ya que parte de la radiación es también absorbida por el Pfr que genera Pr en un 20%. En cambio la irradiación con rojo lejano determina que todo el Pfr cambie a Pr, pues en esta zona del espectro sólo absorbe el Pfr.

Lo expuesto se puede apreciar claramente en la Fig. 8.3.

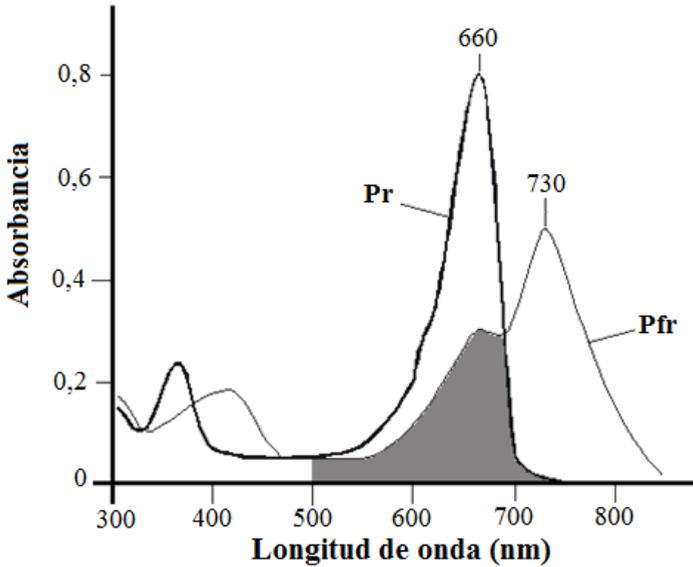


Fig. 8.3. Espectro de absorción de soluciones de Pr y Pfr.

8.3.3. Mecanismo de acción

En numerosas semillas fotoblásticas positivas, un solo flash de luz de la intensidad y calidad adecuada es suficiente para romper la dormición; sin embargo, en otros casos se requieren largos períodos de exposición. Las explicaciones a estos hechos son varias. Una de ellas se basa en los efectos causados por las cubiertas que en algunos casos modifican significativamente la cantidad y calidad de luz recibida por el embrión, pero también se debe tener en cuenta que una vez formado el Pfr surgen diferentes vías (Fig. 8.2) mutuamente competitivas, con diferentes velocidades relativas que influirán sobre los requerimientos y los tiempos de respuesta.

Otro aspecto a tener en cuenta referido a la acción del Pfr es lo que se denomina "**tiempo de escape**", que se refiere al período de tiempo de acción del Pfr, luego del cual la reversión ya no impide la germinación. Este período es muy variable, para el caso de lechuga Grand Rapids el 100% de efectividad se alcanza cuando el tiempo de escape se extiende a unas 4 o 5 horas a 25°C, en tanto que en *Pinus sylvestris* se requieren 48 horas.

Diferentes trabajos con embriones aislados de semillas de lechuga variedad Grand Rapids permitieron aclarar algunos aspectos sobre el mecanismo de acción del Pfr. Estos trabajos han demostrado que los embriones aislados, es decir libres de cubierta y endosperma, pueden germinar sin problemas en presencia de rojo, rojo lejano y aún en oscuridad, lo que se comprueba por el crecimiento

de la radícula en cualquiera de estas condiciones. Sin embargo, fue sorprendente observar que los embriones expuestos al rojo poseían un mayor crecimiento radicular, que los expuestos a los otros tratamientos. De manera que la luz roja generaba un crecimiento adicional. Se sabe que la expansión celular está relacionada con la presión hídrica, fundamental para la deformación de la pared celular. Esto depende del gradiente de potencial agua entre la célula y el medio. A mayor potencial agua externo, mayor tendencia al ingreso de agua, lo que genera mayor presión y equilibra los potenciales. El mayor crecimiento observado por irradiación con rojo es debido a que el Pfr actúa bajando el potencial agua del eje embrionario, genera un ingreso adicional de agua con el consiguiente aumento de la presión, que provoca una expansión adicional. Lo expuesto quedó demostrado cuando se lograron crecimientos equivalentes de radículas irradiadas con rojo y rojo lejano por ajuste osmótico del medio en que crecieron. Así, las irradiadas con rojo y en un medio de potencial osmótico de -5 bares tuvieron un crecimiento equivalente a las irradiadas con rojo lejano pero creciendo en un medio de -1,6 bares. Dicho de otra manera, para equilibrar el crecimiento radicular con una y otra luz se requería que el medio de hidratación presentara la diferencia indicada de potencial osmótico.

CRECIMIENTO EQUIVALENTE

$$\begin{array}{ccc} \mathbf{R} & = & \mathbf{RL} \\ \mathbf{-5b} & & \mathbf{-1,6b} \end{array}$$

Se puede concluir que el Pfr aumenta el potencial de crecimiento al disminuir el potencial agua y generar un mayor flujo de agua hacia el interior celular. La semilla de lechuga no germina en oscuridad porque la radícula no genera la fuerza suficiente como para vencer las resistencias de los tejidos que rodean al embrión. La limitante no está dada por las cubiertas, sino por una porción del endosperma, que aunque sólo presenta un espesor de dos o tres capas de células genera una resistencia suficiente como para impedir la emergencia radicular.

Hoy se sabe que el fitocromo actúa a nivel de membrana estimulando el ingreso de cationes a la célula y también sobre la síntesis de enzimas hidrolíticas responsables del ablandamiento de la pared celular. El ingreso de cationes genera un descenso del potencial osmótico y por lo tanto del potencial agua interno favoreciendo el ingreso de agua y provocando un aumento de la presión de turgencia hasta alcanzar el equilibrio. En estas condiciones y con paredes ablandadas por la acción de enzimas hidrolíticas se hace posible el crecimiento de la radícula superando las resistencias que impedían la germinación.

8.4. Aspectos ecofisiológicos del fotocontrol de la germinación

La dependencia de la luz para la germinación de numerosas semillas constituye un efecto de gran importancia dentro de un ecosistema o de un agroecosistema. La luz, como se puede apreciar en el siguiente capítulo (Punto 9.1), puede penetrar el suelo pero sólo unos pocos milímetros, lo que genera un

impedimento para la germinación de semillas fotobásticas positivas como lo muestra gráficamente el bioensayo de la Fig. 8.4. En muchos casos esta situación se presenta como un mecanismo fundamental para la supervivencia de pequeñas semillas que seguramente tendría pocas o nulas posibilidades de sobrevivir si se encuentran a cierta profundidad en el suelo o debajo del dosel de otras plantas que constituirán una enorme competencia por agua, luz y nutrientes durante su crecimiento.

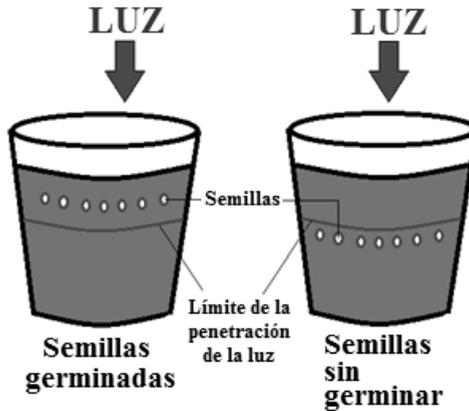


Fig. 8.4. Bioensayo con semillas fotobásticas positivas

Recordemos que el fitocromo responde a bajas intensidades de luz, sin embargo la formación del isómero activo para la germinación, Pfr, varía enormemente de acuerdo a medio en que se propaga la radiación. Así, el canopeo, el suelo y aún las cubiertas de la semilla pueden afectar enormemente la relación Pr/Pfr. De manera que el fitocromo constituye un mecanismo que poseen las plantas para identificar las condiciones lumínicas, en cuanto a calidad y cantidad, prevenir futuras competencias y en consecuencia, a contribuir a una mayor seguridad de la germinación y del crecimiento de las plántulas.

9

LAS SEMILLAS Y LAS CONDICIONES DEL AMBIENTE

Por lo común, el medio para la germinación de la semilla es el suelo, ya sea en condiciones absolutamente naturales o conducidas por el hombre. Allí, las semillas podrían enfrentar un amplio rango de situaciones dadas, fundamentalmente, por el ambiente aéreo al que está expuesto el suelo, por las propias condiciones edáficas y por la profundidad de siembra. Sin embargo, el medio también puede estar determinado por las condiciones imperantes en el laboratorio donde se realizan los análisis de germinación.

En este capítulo se considerarán los aspectos referidos a la influencia de los diferentes factores ambientales presentes durante el proceso de germinación.

9.1. Ambiente aéreo. Radiación

La radiación solar que llega a la superficie terrestre es muy amplia, sin embargo una estrecha franja ubicada entre los 400 y 800 nm es la fotobiológicamente activa. Dentro de este rango, la luz que estimula la germinación de las semillas se ubica en la zona espectral correspondiente al rojo. En condiciones normales, la calidad de luz determina relaciones P_{fr}/P_{total} adecuadas para la germinación de las semillas fotoblásticas positivas (ver Secc. 8.3.2.1). Sin embargo, esta condición puede ser profundamente alterada por el medio, que puede ser enriquecido en rojo por la radiación del entorno, o empobrecida por el filtrado que realiza el canopeo que cubre el suelo (Fig 9.1).

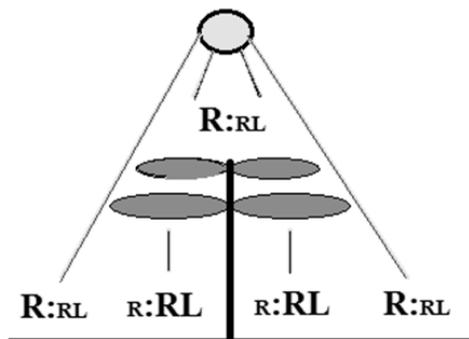


Fig. 9.1. Alteraciones en la relación rojo (R) rojo lejano (RL) por influencia del canopeo.

En los laboratorios, el uso de luces artificiales puede generar un ambiente de particulares condiciones espectrales. Así, los tubos fluorescentes son comúnmente usados en las cámaras de crecimiento pues producen un calentamiento mínimo, pero son pobres en longitudes de onda correspondientes al rojo y ricas en azul que, aunque levemente, es absorbida por ambas formas de fitocromo entre los 400 y 450 nm. En estos casos, frecuentemente se debe suplementar este tipo de luz con lámparas incandescentes comunes para compensar la escasez de luz roja, cuyo déficit puede provocar alteraciones sobre el crecimiento normal de algunas plantas.

El suelo puede estar expuesto a distintas condiciones de radiación, ya sea que se trate de un suelo desnudo, cubierto por escasa o por densa vegetación. Estas condiciones pueden ser determinantes para la germinación de semillas fotoblásticas positivas. Este hecho se hace evidente cuando se rotura un suelo que durante años ha estado como pradera natural o artificial y aparecen malezas poco frecuentes o que se consideraban desaparecidas del lote. En realidad, sus semillas estaban en la profundidad del suelo y al recibir luz germinan. Casos similares pueden ocurrir cuando el suelo está cubierto por vegetación y ésta es removida ya sea por medios mecánicos realizados por el hombre, por el pastoreo o por el pisoteo de los animales. Un claro ejemplo está dado por semillas de *Ambrosia*, las cuales primero requieren frío y luego luz para germinar. Esta semilla, si después de pasar el invierno queda cubierta por un denso canopeo no germina, sin embargo luego de un simple pastoreo germina sin inconvenientes.

La intensidad de estos hechos depende de la profundidad a la que esté la semilla en el suelo. El margen de tolerancia es bajo porque también es baja la transmisión de la luz en el suelo y además porque se altera la calidad de la luz a medida que penetra en él.

Ensayos llevados a cabo con *Plantago sp.* y *Sinapis sp.* muestran la rápida disminución del porcentaje de germinación a medida que aumenta la profundidad de siembra. Esto depende también del tipo de suelo de que se trate. En efecto, en los suelos arcillosos la penetración de la luz varía entre 10 y 20 mm, en cambio en suelos arenosos es muy superior (ver también Secc. 8.4. Aspectos ecofisiológicos del fotocontrol de la germinación).

También se ha comprobado que algunas semillas que habitualmente son neutras, es decir, indiferentes a la luz tales como *Sinapis arvensis*, *Chenopodium rubrum*, *Hypochaeris radicata*, cuando quedan enterradas desarrollan requerimientos de luz para germinar como un mecanismo adaptativo, fitocromo dependiente, que aumenta sus probabilidades de supervivencia.

9.2. Ambiente edáfico

9.2.1. Temperatura

El estudio de este factor en las pruebas de germinación llevadas a cabo con semillas viables, sin dormición y en condiciones óptimas, muestra que las

semillas responden a un patrón común de mínimo, óptimo y máximo. Trabajos llevados a cabo con temperaturas constantes muestran que el porcentaje de germinación en un gran número de especies aumenta en forma lineal a medida que aumenta la temperatura y alcanza un intervalo óptimo, pasado el cual desciende rápidamente (Fig 9.2). Esto es atribuido a que la temperatura influye en el metabolismo de dos maneras opuestas: por un lado, incrementa la energía cinética generando un aumento en la velocidad de reacción; y, por el otro, pasado cierto nivel, provoca la desnaturalización de enzimas.

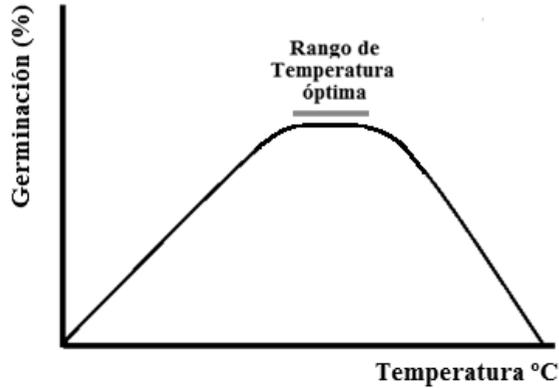


Fig. 9.2. Efecto típico de la temperatura sobre la germinación de semillas viables sin dormición

Si bien para temperaturas constantes es válido un patrón de respuesta de este tipo, es evidente que el óptimo puede variar ampliamente entre especies y aún entre cultivares de la misma especie. Un ejemplo muy evidente es la gran diferencia que se presenta entre especies tolerantes y sensibles al frío. Así, los trigos de primavera se siembran con una temperatura media de suelo de 4 °C, mientras que el maíz requiere temperaturas cercanas a los 15 °C. Estudios realizados en un amplio rango de temperaturas constantes, que relacionan velocidad y porcentaje de germinación, muestran que la máxima velocidad de germinación corresponde a temperaturas supraóptimas que disminuyen el porcentaje de germinación. Mientras que temperaturas subóptimas reducen la velocidad de germinación y, como consecuencia, amplían el tiempo entre siembra y los primeros estadios de crecimiento de la plántula emergida, período de gran vulnerabilidad que puede ocasionar una importante pérdida de plantas (ver también Secc. 4.4 – Pretratamientos).

Los requerimientos de temperaturas alternas se relacionan concretamente con los centros de origen de las semillas y están dadas por las variaciones climáticas o por la alternancia día-noche. Así, aquellas originadas en climas templados seguramente se verán favorecidas por fluctuaciones de temperaturas como

las que ocurren en esos ambientes. En cambio, aquellas originarias de ambientes tropicales no tendrán ese patrón de respuesta ya que en esa latitud se presenta una menor variación térmica a lo largo del año. Las semillas de diferentes especies que requieren este tratamiento responden favorablemente a rangos de variación específicos, que se reflejan en el poder germinativo. Por ejemplo, en *Agrostis alba* temperaturas alternas de 12/21 °C arroja un PG del 69%, en cambio 21/35°C muestra un PG del 95%.

La respuesta a este tratamiento se va debilitando a medida que avanza la edad de las semillas. Llega un momento en que este requerimiento deja de ser indispensable y las semillas germinan a temperatura constante, siempre y cuando se cubran las exigencias de humedad y que la temperatura, ahora constante, sea adecuada para la especie. Esto es lo que ocurre en la naturaleza.

Trabajos llevados a cabo con temperaturas fluctuantes o alternas, muestran para algunas semillas valores de germinación considerablemente más elevados que los obtenidos a temperaturas constantes. Esto se explica porque las diferentes etapas, con sus innumerables reacciones químicas mediadas por diferentes enzimas, pueden llevarse a cabo a diferentes temperaturas óptimas, en algunos casos coincidentes con aquellas a la que se expone la semilla. Esto mismo es aplicable para el crecimiento de la plántula hasta la emergencia sobre la superficie del suelo.

Un método muy eficaz para determinar temperaturas óptimas de germinación es el termogradiante que se logra con una plancha altamente conductora del calor y sometida a alta temperatura en un extremo y fuertemente enfriada en el otro, lo que genera un gradiente térmico sin solución de continuidad entre los extremos, ideal para este tipo de estudios.

9.2.2. Agua

La parte superficial de un suelo agrícola está ocupada en un 50% por materiales sólidos dados por el componente mineral y orgánico del suelo; el otro 50% corresponde al espacio poroso ocupado por agua y aire. Estos porcentajes varían en diferentes tipos de suelos. Los componentes deben estar equilibrados para posibilitar un ambiente adecuado para el mantenimiento de todos los organismos que habitan ese suelo. En condiciones ideales, el agua baña las paredes de los sólidos del suelo y ocupa parte de los poros, quedando el resto del espacio ocupado por aire (Fig. 9.3).

El primer paso en el proceso de germinación es la hidratación, que está dado por el aprovisionamiento de agua del suelo que rodea a la semilla. Este factor determina en gran medida la velocidad y el grado de germinación.

Una adecuada hidratación dependerá del óptimo contenido de agua del suelo, el cual es mayor a medida que aumenta la capacidad de retención de agua del mismo. Al igual que para la temperatura, aquí se presenta una respuesta de mínimo, óptimo y máximo con valores muy diferentes de humedad de suelo, según sea su capacidad de retención. Es posible lograr máximos valores de germi-

nación con contenidos de agua cercanos al 15, 25 y 30% sobre materia seca para suelos arenoso, arcilloso y turbosos respectivamente. Los bajos porcentajes de germinación por debajo de la humedad óptima indican un aprovisionamiento insuficiente de agua. Por encima del óptimo la reducción se da por la escasez de oxígeno o hipoxia.

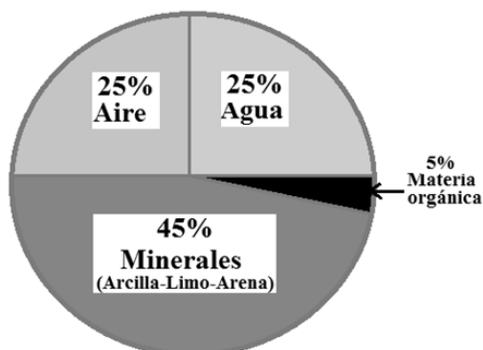


Fig. 9.3. Composición óptima en volumen de un suelo agrícola para el crecimiento de las plantas

El flujo de agua hacia la semilla es directamente proporcional al gradiente de potencial agua entre el suelo y la semilla, e indirectamente proporcional a la sumatoria de las resistencias que presentan la semilla y el suelo. En la semilla, dichas resistencias son ocasionadas fundamentalmente por las cubiertas y en el suelo dadas básicamente por su estructura y textura. Recordemos que el potencial agua de la semilla al inicio de la hidratación es extremadamente bajo, debido fundamentalmente, al componente mátrico y en menor grado al osmótico (ver Secc. 4.2.1 y Fig. 4.2). Esto determina una condición muy favorable para el ingreso de agua, considerando un rango de humedad normal.

En el suelo, la semilla está rodeada de partículas, bañadas por una película de agua líquida, con las cuales está en contacto sólo en algunos puntos. El resto de la superficie seminal se comunica con los poros, que en condiciones normales para un suelo agrícola están llenos de aire. Ambos aspectos son importantes y deben estar balanceados. En efecto, desde los poros difunde el oxígeno, fundamental para el metabolismo aeróbico, y también vapor de agua. Por los puntos de contacto con las partículas de suelo fluye agua hacia el interior de la semilla, provoca la hidratación masiva y pone en marcha el proceso de germinación.

Esto destaca la importancia de un adecuado contacto de la semilla con el suelo como forma de asegurar un rápido ingreso de agua a la semilla. De allí podemos imaginar la importancia de la morfología de la semilla, ya que aque-

llas que poseen protuberancias tienen menos puntos de contacto con el suelo. Por el contrario, aquellas que poseen abundante mucílago (ver Secc. 3.3) establecen un contacto prácticamente total con el suelo asegurando un rápida y uniforme germinación. Además, le proporciona mejores condiciones para enfrentar un período crítico dado por la escasez de agua en el suelo.

Estos aspectos que aparentan ser conceptos absolutamente teóricos en fisiología vegetal han sido muy tenidos en cuenta por los fabricantes de sembradoras. Desde hace tiempo se han incorporado ruedas compactadoras de fondo de surco y superficiales para asegurar un íntimo contacto de la semilla con el suelo y contribuir a aumentar la velocidad de germinación, emergencia y uniformidad del lote. Estas condiciones contribuyen fuertemente para acortar los tiempos entre siembra y primeros estadios de crecimiento de la plántula. Con ello se logra disminuir las oportunidades de ataque de plagas animales y poder realizar una oportuna aplicación de herbicidas, acorde con el estado fenológico requerido, el cual debe ser uniforme para todo el cultivo.

Una vez germinada la semilla sobreviene la etapa de activo crecimiento vegetativo que se evidencia en la formación de las estructuras aéreas y subterráneas. El adecuado balance de agua y aire es fundamental durante todas las etapas del cultivo y en particular en esta primera etapa donde las plántulas son muy vulnerables.

Aquí un exceso de agua puede generar severos daños que en algunos casos conduce a la muerte de las plántulas. El desplazamiento del aire del suelo genera condiciones edáficas hipóxicas, las cuales se agravan ante suelos poco permeables o con napas freáticas altas. Además, el escaso aire remanente es consumido por la respiración de las propias raíces y por la microfauna y la microflora del suelo. En estas condiciones, la planta activa vías alternativas de obtención de energía como es la fermentación, muy poco eficiente comparada con la respiración aeróbica. Se ha reportado la liberación de cantidades considerables de etanol (fermentación alcohólica) en numerosas especies entre ellas, lechuga, cebada, arroz y trigo. Estos cambios metabólicos se dan como respuestas rápidas y reversibles ante cortos períodos de anegamiento.

Frente extensos períodos en estas condiciones se verifican procesos de aclimatación, que consisten en cambios morfoanatómicos. En efecto, la permanencia en este ambiente dispara señales que conducen a cambios morfológicos como son la formación de raíces adventicias, y cambios anatómicos como son la formación de aerénquima en el tejido cortical de raíz. El aerénquima, de acuerdo a las especies puede ser de origen lisígeno que conlleva a la muerte de las células corticales, o esquizógeno por la separación de las células. En ambos casos se generan grandes espacios de aire en sentido longitudinal. Esta condición permite el abastecimiento de oxígeno desde las porciones aéreas y constituye una respuesta fundamental de las plantas que les permite soportar prolongados períodos hipóxicos del suelo.

En plántulas de maíz las condiciones hipóxicas estimulan la actividad del precursor del etileno ACC (Ácido ciclo propano amino carboxílico) que promueve una rápida síntesis de etileno que conduce a la muerte celular de células blanco en forma muy selectiva.

Experimentos llevados a cabo en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Mar del Plata confirmaron los efectos de la hipoxia sobre tallos y raíces de plantas de maíz. Las observaciones con microscopio óptico mostraron enormes espacios esquizógenos como se puede apreciar en la Figura 9.4.

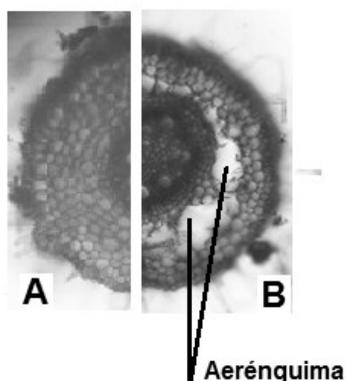


Fig. 9.4. Cortes transversales de raíz primaria de maíz A: condiciones normales y B: condiciones hipóxicas con notable aerénquima de origen esquizógeno en el parénquima cortical (Gentileza de Di Santo, M.E, Lasso, M. y Melo, V. 2012. FCEyN-UNMDP).

9.2.3. Aire

El aire del suelo está contenido en el espacio poroso y en permanente equilibrio con el contenido de agua, ya que a medida que aumenta la cantidad de ésta provoca el desplazamiento del aire. Ese aire contiene la reserva de oxígeno, el cual es constantemente usado en los procesos bioquímicos de los organismos que habitan ese suelo, que al mismo tiempo le incorporan dióxido de carbono. Esto lleva a considerar dos aspectos fundamentales como son el adecuado balance agua-aire y la necesidad de un activo intercambio de gases con la atmósfera, indispensable para mantener un ambiente compatible con la vida en este medio (Fig. 9.3).

El anegamiento de un suelo provoca el desplazamiento del aire disminuyendo severamente el aporte de oxígeno. Cierta cantidad de aire queda disuelto en el contenido acuoso, pero el coeficiente difusional de oxígeno en el agua es cinco veces menor que en el aire. Esto crea condiciones aneróbicas que afectan severamente el proceso de germinación y crecimiento, por la propia falta de oxígeno y por el ambiente reductor que puede plantear serios problemas de fito-

toxicidad para muchas especies. Por otra parte, la actividad biológica que continúa aportando dióxido de carbono deprime la respiración de las semillas y puede provocar daños en plántulas. Sin embargo, se ha visto que concentraciones elevadas de dióxido de carbono son beneficiosas para romper la dormición en algunas especies, *Trifolium subterraneum*, *Arachis hypogaea* y *Oriza sativa*, entre otras.

El porcentaje de oxígeno en el aire del suelo también disminuye con la profundidad, siendo el coeficiente de disminución mucho más rápido en los suelos densos. Si bien la presencia de oxígeno es fundamental para la germinación, los requerimientos son generalmente bajos. Un gran número de especies alcanzan muy altos porcentajes de germinación con concentraciones de oxígeno que no superan el 10%. Así, arroz (*Oryza sativa*), lechuga (*Lactuca sativa*) y pepino (*Cucumis sativus*) alcanzan altos porcentajes de germinación con concentraciones inferiores al 2,5%. Se diferencia claramente de ellas el tomate (*Lycopersicon esculentum*) que requiere el 10%.

Otro componente a considerar en la atmósfera del suelo es el etileno, generado por los organismos del suelo, que se presenta en concentraciones variables. Para algunas especies tiene efecto inhibitorio. Para otras constituye un factor importante ya que estimula su germinación, tal como ocurre para algunos representantes del género *Trifolium*, *Apium* y *Lactuca* y de algunas malezas como *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus albus*, *Chenopodium album* y *Ambrosia artemisifolia* entre otras.

Esta información ha llevado a la fabricación de productos químicos generadores de etileno, como el Ethrel que, aplicado con anterioridad a la siembra, estimula la germinación de algunas malezas. Esto permite la eliminación de las mismas antes de la siembra del cultivo evitando la competencia prematura y controles posteriores.

9.3. Profundidad de siembra

La profundidad de siembra apropiada es aquella que ubica a la semilla a la menor profundidad posible, pero que asegure un buen aprovisionamiento de agua. En efecto, las siembras poco profundas permiten una rápida emergencia e inicio del proceso fotosintético y del crecimiento.

Las siembras superficiales suelen ser peligrosas porque exponen a la semilla a la posibilidad de importantes variaciones de humedad y temperatura, las cuales pueden ocasionar la muerte de aquellas recién germinadas o de plántulas recién emergidas. Cuanto mayor sea la profundidad de siembra hay menos riesgos que el suelo se seque y se mantiene una temperatura más uniforme. Sin embargo, se expone a la semilla y a la plántula a concentraciones menores de oxígeno y a tener que superar una gruesa capa de suelo para lograr la emergencia. Las reservas seminales juegan un rol decisivo para superar esta situación. Experimentos llevados a cabo con *Trifolium subterraneum* sembrado a profundidades crecientes mostraron claramente la estrategia de la planta consistente en

una disminución progresiva del peso seco de los cotiledones a medida que aumentó la profundidad de siembra. Sin embargo, no se observó variación de la superficie de los mismos y por lo tanto no se alteró el área fotosintética, que contribuye al crecimiento inmediatamente después de la emergencia.

En condiciones de producción es necesario considerar los diversos aspectos planteados precedentemente a efecto de proporcionar a la semilla "**sitios seguros**", es decir, condiciones que aseguren una germinación y emergencia rápida y uniforme. Cuanto mayor es el tiempo que permanece una semilla en el suelo, mayores son los riesgos de daños por microorganismos de suelo, insectos y pájaros y, por ende, se podrá ver seriamente afectado el índice de supervivencia. Contrariamente, la uniformidad y velocidad de emergencia y crecimiento inicial alejan más rápidamente a la plántula de esta peligrosa etapa, ya que una vez implantado el cultivo los riesgos de pérdidas son mucho menores.

10

CALIDAD DE SEMILLAS

EVALUACIÓN DE LA GERMINACIÓN, ASPECTOS TÉCNICO-AGRONÓMICOS.

En los capítulos precedentes se abordó íntegramente el proceso de germinación considerando los aspectos morfológicos, fisiológicos y ambientales. Se discutió acerca de la amplitud del proceso desde el punto de vista puramente fisiológico y desde la óptica de un laboratorio de análisis de semillas. Este último punto de vista nos permitió avanzar en las consideraciones acerca del crecimiento del embrión que conduce a la emergencia y a la obtención de una plántula.

Que todo esto ocurra exitosamente depende de numerosos factores, algunos relacionados a las técnicas de cultivo, calidad de suelo y ambiente. Sin embargo, el inicio de todo está en la semilla, que debe ser la adecuada para el ambiente y con la capacidad de generar una plántula normal con un crecimiento vigoroso.

10.1. Introducción

La semilla destinada a la siembra es un insumo básico primordial que debe pasar por los controles necesarios que permitan establecer su calidad. Este dato es fundamental ya que es imposible obtener altos rendimientos a la cosecha si se parte de una semilla de baja calidad. De igual modo, la calidad del producto cosechado no será, de ningún modo, mejor que la de la semilla utilizada. El inicio de un cultivo que contemple las prácticas agronómicas adecuadas debe ir acompañado de una siembra con semilla de muy buena calidad a efecto de alcanzar, finalmente, altos niveles de producción en cantidad y calidad, factores determinantes de la rentabilidad de la actividad agrícola.

La actividad científica ha permitido diseñar una serie de análisis tendientes a determinar la calidad de la semilla, que se reflejará en su comportamiento al momento de la siembra. Actualmente, estos análisis resultan claves ya que constituyen una herramienta fundamental para determinar la calidad de las mismas, en base a sus atributos, en forma cuantitativa y objetiva.

Con vistas a la siembra en el campo, las semillas deberían cumplir con determinadas condiciones; a saber:

Que la especie sea la correcta,
que no contenga otras semillas que pudieran ser nocivas,
que no contenga material extraño (entre el cual se podría encontrar piedras , tierra, etc., que “ pesan” como semilla, o restos vegetales con propágulos de patógenos o malezas),
que la semilla adquirida sea apta para germinar en las condiciones de campo previstas,
que, eventualmente, pueda conservarse por cierto tiempo antes de su siembra, sin perder su capacidad germinativa.

Cada una de las condiciones mencionadas puede ser considerada un aspecto de la calidad de las semillas y es susceptible de “análisis”. En los análisis de semillas se aplican diferentes técnicas sumamente útiles para clasificar lotes según su probable comportamiento en el campo. Prestan utilidad, asimismo, en diferentes momentos del proceso productivo de las semillas (determinación del momento óptimo de cosecha, posibilidad de conservación a largo plazo, entre otras consideraciones).

En la producción de cultivos, los análisis permiten al productor corroborar la calidad de la semilla que ha adquirido y tomar decisiones respecto al uso que le dará en función de las condiciones de siembra, tales como fecha y densidad de siembra y condiciones del suelo. Además, le permitirá establecer la posibilidad de conservación, calcular la cantidad de semilla a sembrar para obtener un adecuado y uniforme stand de plantas.

Los aspectos considerados que determinan la calidad de la semilla se pueden apreciar en la siguiente tabla.

Tabla 10.1. Aspectos fundamentales (Atributos) considerados para la determinación de la calidad de un lote de semillas.

CALIDAD DE SEMILLA	Pureza Genética
	Pureza Físico-Botánica
	Calidad Fisiológica - Poder germinativo - Viabilidad - Vigor
	Sanidad

Para la adecuada evaluación de estos aspectos existen análisis que han sido desarrollados a través de los años por especialistas y que han sido recopilados y estandarizados por asociaciones nacionales e internacionales como la

Asociación Oficial de Analistas de Semillas (AOSA), o la Asociación Internacional de Analistas de Semillas (ISTA), entre otras.

10.2. Muestreo de semillas y análisis de pureza

Antes de efectuar cualquier análisis se debe contar con una muestra representativa del lote de semillas a evaluar. Se define como lote a una cantidad específica de semilla físicamente identificable y susceptible de ser analizada como un todo. Para ello, es fundamental extraer muestras primarias de diferentes puntos del contenedor (si la semilla está almacenada “a granel”) o de diferentes bolsas, en ambos casos tomadas al azar, de modo de conformar una muestra única o muestra compuesta. ISTA establece la frecuencia de muestreo necesaria de acuerdo al tamaño del lote completo. Dicho lote no debe presentar signos evidentes de heterogeneidad. Asimismo, se establece un peso máximo para los lotes de cada género botánico de semillas, y en caso de exceder el mismo será necesario fraccionarlo para obtener lotes del peso admitido y cada uno de ellos será muestreado por separado. El Instituto Nacional de Semillas (INASE) establece un peso máximo de 10.000 kg, para un lote de semillas de forrajeras y hortícolas de tamaño menor al de agropiro; hasta de 40.000kg, para maíz, etc.

Como ejemplo, podemos citar los siguientes casos: si el tamaño del lote es de entre 501 y 3000 kg, deberá tomarse una muestra primaria de cada 500 kg, pero no menos de 5 en total. En caso de semilla embolsada, si el número de bolsas está en un rango de entre 31 y 400, es necesario extraer muestras parciales de 10 bolsas o por lo menos una de cada 5 (la mayor de ambas opciones).

A su vez, de la muestra completa que se destinará a análisis es necesario obtener muestras menores para los diferentes ensayos a los que se someterá. Para ello, es crucial homogeneizar la muestra y luego dividirla en tantas submuestras como sea necesario. Esta tarea puede efectuarse en forma manual, en función del tamaño de la semilla de la especie a analizar, o se puede recurrir a divisores de muestras mecánicos que se adquieren a proveedores especializados. Independientemente de la metodología empleada, es necesario seguir las indicaciones para tomar la muestra evitando “elegir” las semillas a analizar y logrando una única muestra homogénea y representativa.

Una muestra es representativa del lote, si en ella están presentes los mismos componentes del lote y en igual proporción.

El análisis de Pureza Físico Botánica resulta indispensable al menos para confirmar la especie con la que se trabaja (especie declarada por quien solicita el análisis) o, si se trata de una mezcla de especies, como ocurre en el caso de siembras de pasturas consociadas.

El objetivo de este análisis es determinar la composición porcentual en peso de la semilla correspondiente a la especie declarada, con respecto al total de la muestra tomada. Este porcentaje es equivalente en la totalidad el lote muestreado, si la muestra obtenida es, efectivamente, representativa.

En este análisis se identifican semillas de otras especies y material inerte como paja, restos vegetales, insectos, tierra, pequeñas piedras, etc., que se encuentran en la misma y cuyo valor porcentual en peso, se considera que corresponde a la composición del lote completo. El material inerte debe ser tenido muy en cuenta, especialmente en caso de semillas recubiertas (peleteadas), porque incrementa el peso de la muestra y al momento de la siembra es menor la cantidad de semilla empleada.

-Se define como Pureza física al porcentaje en peso de la semilla de la especie declarada con respecto al total de la muestra.

$$\text{Pureza (\%)} = \frac{\text{Peso de semilla de la especie declarada}}{\text{Peso total de la muestra}} \times 100$$

Las fracciones en que se separa la muestra y sus detalles se pueden ver en la Tabla 10.2.

Tabla 10.2. Fracciones en que se separa una muestra de semillas en el análisis de pureza físico- botánica y descripción de los componentes de cada una.

Fracción de la muestra	Descripción
Semilla pura	Corresponde a la especie declarada en la muestra ingresada o aquella predominante.
Otras semillas	Semillas de otras especies, incluidas malezas.
Material inerte	Trozo de semillas de tamaño menor al 50% del original, restos de espigas u otras partes estériles, esclerocios, agallas, etc. Es decir, todo aquello que no es semilla.

ISTA provee especificaciones sobre el tamaño de la muestra a estudiar, modo de trabajo, equipamiento, cálculo y expresión de los resultados.

A partir de la fracción caracterizada como Semilla pura, se toman las semillas necesarias para los ensayos subsiguientes: humedad, germinación estándar, viabilidad, vigor y análisis sanitario.

10.3. Análisis de germinación

El ensayo por excelencia de calidad de semillas es el Análisis de germinación, considerado test de referencia, estandarizado internacionalmente para la

mayoría de las especies. Junto con el ensayo de viabilidad y el de vigor aportan valiosa información sobre la calidad fisiológica, que surge como resultado de los procesos implicados en la producción de las semillas.

El ensayo de Germinación Estándar provee información referente al comportamiento de un lote de semillas en condiciones favorables de siembra. Estas condiciones permiten expresar la máxima capacidad de implantación (emergencia a campo) del lote. La información obtenida resulta útil para comparar lotes diferentes de una especie dada y seleccionar los más adecuados para la siembra.

La International Seed Testing Association (ISTA) establece en las Reglas Internacionales de Ensayos de Semillas, las condiciones recomendadas para llevar a cabo el ensayo de Germinación Estándar conocido comúnmente como Poder Germinativo (PG). Para este ensayo se consideran: tipo de sustrato de siembra, disponibilidad de agua, aireación, temperatura de incubación, condiciones de iluminación, tratamientos para superar dormición, en caso de presentarse esta situación. Asimismo, se especifica la forma de evaluar las plántulas resultantes y el modo de expresar los resultados para un amplio conjunto de especies.

Sin pretender agotar el tema, este capítulo incluye algunas especificaciones respecto a cómo llevar a cabo la prueba de germinación.

10.3.1. Sustratos

La siembra se puede realizar en diferentes sustratos o medios. El material utilizado como sustrato debe constituir un soporte para las plántulas y, además, contener suficiente humedad para la germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas durante el período de ensayo.

Los sustratos comúnmente utilizados y recomendados por ISTA, en análisis con fines comerciales en laboratorios de semillas son: arena de río, papel de filtro y toallas de papel, que en todos los casos deben ser medios estériles e inertes para permitir la repetitividad y comparación de ensayos en diferentes laboratorios. No se recomienda el uso de suelo o de compost artificiales excepto en casos de fitotoxicidad en otros sustratos o para fines de investigación.

En caso de la arena, se utiliza la de río con pH neutro, tamizada de modo que tenga la granulometría adecuada. Además de esterilizarla, es necesario determinar su capacidad de retención de agua para calcular la humedad óptima para la siembra de cada especie.

El uso de papel como sustrato está muy difundido en especies de semilla pequeña, como forrajeras, ornamentales y algunas hortícolas. Debe ser de celulosa, libre de hongos y bacterias que pudieran alterar el normal desarrollo del proceso. A su vez, el papel debe poseer una porosidad apropiada para lograr una adecuada retención de agua pero que impida que las raíces penetren a través de él y debe poder contener humedad sin romperse al manipularlo.

Es importante descartar la existencia de residuos de la fabricación como colorantes u otras sustancias que podrían resultar fitotóxicas y distorsionar los

resultados del ensayo. Para ello, se efectúa un ensayo de prueba en el cual se comparan los resultados de germinación de una especie “sensible” en el papel nuevo y en otro conocido (no tóxico); si no difieren, puede utilizarse el nuevo papel. En las Reglas Internacionales se describe la metodología para llevar a cabo esta prueba.

En el marco de trabajos de investigación, se suelen utilizar otros sustratos o condiciones, diferentes de los recomendados por ISTA. En la siguiente figura se puede apreciar un ensayo de germinación en semillas de *Cuphea glutinosa* sobre papel (SP), en cajas de Petri.

En la figura 10.1 se pueden apreciar diferentes tratamientos:

- a. testigo donde las semillas fueron regadas con agua destilada
- b. semillas en oscuridad para probar posible respuesta fotoblástica
- c. semillas hidratadas con solución de ácido giberélico
- d. semillas escarificadas físicamente con lija

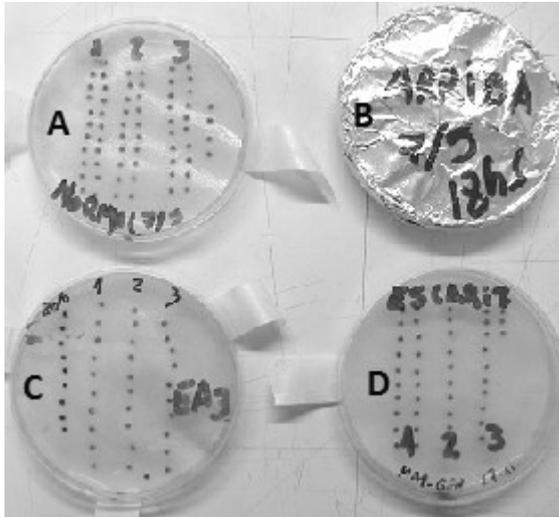


Fig. 10.1. Ensayo de germinación en *Cuphea glutinosa* con diferentes tratamientos en placas de Petri y doble papel de filtro desarrollado a 24°C (+/-1°C). Tomado de Cardinali, *et. al.* 2013.

Como soporte para los diferentes sustratos, en los laboratorios de semillas también suelen usarse bandejas plásticas y en algunos casos bandejas de cartón encerado.

Otra variante es ubicar a las semillas entre papeles (EP). Primero, las semillas se ubican sobre un papel humedecido y se cubren con otro papel humedecido; luego, se forma un rollo y se lo ubica en la cámara en las condiciones controladas, como se puede ver en las siguientes imágenes (Fig 10.2).

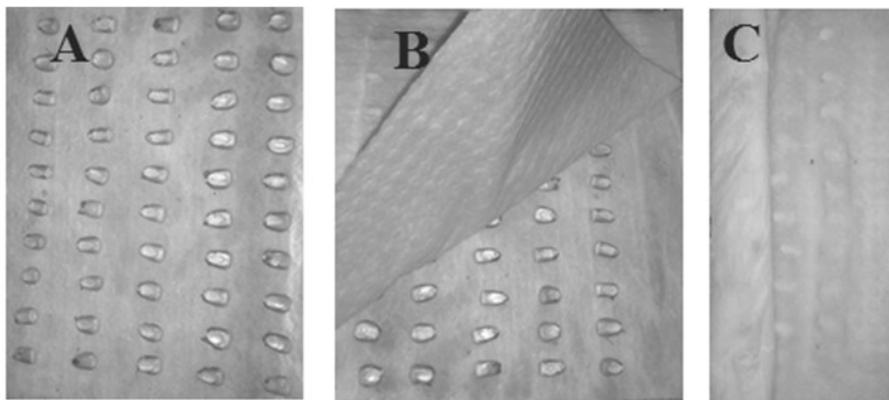


Fig. 10.2. Método de germinación entre papeles. A: Distribución de las semillas sobre la toalla de papel. B: Colocación de otra toalla sobre las semillas superior. C: Enrollado del papel con las semillas.

10.3.2. Disponibilidad de agua

La disponibilidad de agua para un ensayo de germinación es clave. Cualquier sustrato debe permitir un contenido de humedad tal que no sea necesario agregar más agua entre la siembra y el recuento final de las plántulas. Asimismo, no tiene que ser excesiva en detrimento de la disponibilidad de oxígeno, también fundamental para la germinación. El agua a utilizar debe ser, en lo posible, libre de impurezas orgánicas e inorgánicas y con pH neutro. Si cumple estos requisitos, puede usarse perfectamente agua corriente o de pozo.

Cuando el ensayo se realiza en placas de Petri, una forma práctica de calcular la cantidad de agua requerida para el ensayo es ubicar el papel de filtro en el fondo de la placa, luego inundarla y finalmente retirar el exceso de agua inclinando la placa a 45°. Con el papel completamente hidratado y con el menisco de agua remanente en el borde de la placa inclinada, las semillas dispondrían de suficiente cantidad de agua para completar el ensayo. Como se expresó anteriormente, es importante suministrar desde el inicio del ensayo la cantidad de agua adecuada ya que no debería agregarse más agua en ningún otro momento.

10.3.3.- Temperatura

El proceso de germinación está fuertemente influenciado por la temperatura. Las semillas de las diferentes especies germinan en un amplio rango de

temperaturas determinadas entre el mínimo y el máximo requerido. Entre ambos valores extremos se encuentra la temperatura óptima para cada especie. En términos generales la temperatura óptima para la germinación, que se aplica en la mayoría de ellas oscila entre 20 y 25°C.

Se debe tener en cuenta que la temperatura también afecta la absorción de agua, ya que a medida que aumenta la temperatura disminuye la viscosidad del agua acelerando el proceso difusional, motor de la hidratación de la semilla. Trabajos experimentales han demostrado que en los primeros momentos de la imbibición la tasa de absorción se duplica cada 10°C. Este tema se también se abordó anteriormente en el punto 9.2.1.

En la cámara de germinación se requiere que la temperatura no varíe en más de 1°C en ambos sentidos a lo largo del ensayo.

10.3.3.1. Alternancia de temperaturas

Las semillas de numerosas especies salvajes y cultivadas responden favorablemente cuando son expuestas a temperaturas alternas durante el proceso de germinación. La variación se proporciona alternando altas y bajas temperaturas en un rango adecuado y particular para cada especie. Comúnmente se aplica la temperatura más baja durante 16 horas y las más altas durante 8 horas. En las Reglas Internacionales de Ensayos de Semillas se encuentran especificadas estas condiciones para un gran número de especies.

10.3.4. Luz

Como vimos en el Capítulo 8, la luz influye en la germinación, existiendo especies que requieren luz para germinar y otras que lo hacen en oscuridad; dichas condiciones están también especificadas en las Reglas Internacionales.

En general, la luz favorece el crecimiento de las plántulas, facilitando su evaluación, por lo cual se recomienda una iluminación del ambiente de germinación, excepto para aquellas especies cuya germinación se conoce con seguridad es inhibida por la luz. Recordemos que la luz que estimula la germinación es la roja de 660 nm y la que generalmente inhibe corresponde al rojo lejano de 730 nm. Aquí estamos haciendo referencia a luz monocromática, pero sabemos que en la naturaleza las plantas reciben diferentes longitudes de onda y en consecuencia se establece cierta relación 660/730 que puede favorecer o no el proceso de germinación y el crecimiento del embrión. El fotorreceptor involucrado en estas respuestas es el fitocromo tal como se trató detalladamente en el capítulo 8 (8.2 y 8.3).

10.3.5. Pretratamientos

En caso de especies que presentan dormición se emplean pre-tratamientos específicos para superarla dependiendo del tipo de que se trate (Ver también 7.2.4), estos se encuentran también listados en las tablas de condiciones para la germinación. Por ejemplo: se recomienda escarificación química con ácido sulfúrico o física para semillas de *Gleditsia triacanthos*, *Brachiaria decumbens*, preenfriamiento o estratificación en *Dactylis glomerata*, entre muchos otros tratamientos según el tipo de impedimento que presente la semilla.

En algunas especies, se recomienda desinfectar la superficie de las semillas previamente a la siembra. Como referencia de este tratamiento podemos considerar lo que se consigna para tomate, donde lo recomendado es sumergir la semilla en una solución de hipoclorito de sodio (lavandina) del 1 al 5% en volumen. Luego de unos 30 minutos, la semilla debe ser lavada con abundante agua, se deja secar al aire y luego se siembra. El hipoclorito de sodio (NaClO) es el desinfectante más difundido. Es un fuerte oxidante, efectivo contra numerosos patógenos y muy económico. En cipselas de una línea de girasol con dormición impuesta por el pericarpio, se observó que el lavado durante dos minutos con hipoclorito de sodio al 0,5% contribuyó a mejorar el PG. Los mismos resultados se obtuvieron en tratamientos de aspersion, como los posibles de aplicar a escala industrial.

Entre las condiciones de germinación para las diferentes especies se indica el tiempo de duración del ensayo, para uniformar el momento de evaluación de las plántulas y poder determinar los parámetros de calidad como son la Energía Germinativa y el Poder Germinativo.

10.4. Determinaciones en el ensayo de germinación

10.4.1. Energía germinativa

La energía germinativa (EG) se refiere al porcentaje de semillas germinadas (entendiendo germinación, en este caso como emergencia de radícula únicamente), al tiempo del “primer recuento”. Permite una aproximación al resultado final del ensayo de germinación dando una idea de su velocidad en los ensayos en sustrato papel, no es posible de evaluar en ensayos en arena o compost

El valor de EG se expresa en porcentaje, generalmente en un corto intervalo de tiempo que corresponde a los primeros días en que transcurre el ensayo de germinación. El tiempo para determinar la EG ha ido cambiando a lo largo del tiempo dependiendo del tipo de semilla y las condiciones en que se realice el ensayo. En términos generales se ubica alrededor de los 3 o 4 días de iniciado el ensayo. En términos relativos suele considerarse que el momento para registrar el dato de EG es aproximadamente $\frac{1}{4}$ del tiempo requerido para determinar el poder germinativo. Estos antecedentes han sido considerados y para muchas

especies se ha establecido el momento del primer recuento en las Reglas Internacionales de Ensayos de Semillas (ISTA) y se informa como “Primer recuento”. Sin embargo, energía germinativa, por las limitaciones antes mencionadas, no es un resultado validado por las Reglas ISTA.

10.4.2. Poder germinativo

Se entiende por Poder Germinativo (PG) de un lote de semillas la capacidad de generar plántulas normales en condiciones favorables, es decir en las condiciones de humedad, temperatura y luz adecuadas para inducir la germinación.

La duración de este ensayo depende del tipo de semilla y se deben seguir las normas establecidas por la ISTA según la especie y variedad de que se trate. Se puede decir que los tiempos para la determinación pueden ser muy variables, pero es posible establecer un rango general amplio de entre 7 a 30 días. Sin embargo, en la mayoría de las semillas de interés agronómico ese rango se ubica entre 7 y 14 días. Un caso particular es el de las semillas de algunos árboles en los cuales la duración del ensayo puede llegar a los 90 días. En estos casos se suele hacer un seguimiento del lote a través de recuentos semanales.

10.4.2.1. Evaluación

En el Capítulo 4 hemos visto cómo se produce la germinación y emergencia de las plántulas en diferentes especies desde el punto de vista morfológico. En función de ello se reconocen las estructuras “esenciales” para el futuro desarrollo de las plantas:

- sistema radicular,
- eje aéreo (hipocótilo, epicótilo y mesocótilo, coleoptilo, yema terminal y primeras hojas),
- cotiledones.

El desarrollo adecuado de esas estructuras según las directivas de las Reglas Internacionales de Ensayos de Semillas permiten definir las “Plántulas normales”

¿Cómo se define una plántula normal?

Plántula normal es aquella que presenta capacidad para continuar su desarrollo en una planta normal, cultivada bajo condiciones favorables de humedad, temperatura e iluminación. Se incluyen en esta categoría las plántulas con todas sus estructuras esenciales completas, bien desarrolladas, proporcionadas y sanas (intactas), así como las plántulas con defectos leves en alguna de sus partes y

también aquellas que presentan estructuras normales, pero evidencian infección proveniente de una fuente externa (por ejemplo otra plántula).

La ISTA también describe con mayor detalle cada una de las categorías mencionadas para las especies con diferentes tipo morfológico de germinación (hipógea, epígea), o estrategia de emergencia. Estas estrategias fueron descritas en el Capítulo 4 de este libro.

El resto de las categorías, no incluidas en el valor de PG son:

- Plántulas anormales
- Semillas no germinadas

Una plántula anormal se podría definir simplemente por contraposición con una plántula normal, es decir que NO presenta capacidad para desarrollarse en una planta normal, cuando crece en condiciones favorables, porque algunas de sus estructuras esenciales son irreparablemente defectuosas.

Se agrupan en tres categorías:

- dañadas (en alguna de sus estructuras esenciales),
- deformes o desequilibradas (de desarrollo débil, hypocótilos cortos y gruesos, raíces con geotropismo negativo),
- podridas o enfermas (presentan infección primaria).

La ISTA presenta una lista de defectos en las plántulas detallando en cada estructura una serie de posibilidades dependiendo asimismo del tipo de plántula y de germinación que presente. A modo de ejemplo, a continuación se presentan los defectos considerados en raíz primaria:

- atrofiada
- mazuda (claviforme, que tiene forma de clava, maza o porra)
- raquítica
- ausente
- rota
- hendida desde el extremo.

Una lista similar indica los defectos en hypocótilo, epicótilo, coleoptilo, cotiledónes y hojas primarias. En la figura 10.4 se observa una plántula normal y diferentes anormalidades en girasol.

Las semillas que no germinaron, una vez finalizado el ensayo pueden ser:

- duras (no se imbibieron)
- frescas (se imbibieron pero no germinaron: viables-dormidas, se corrobora su viabilidad a través del test tretrazolio)
- muertas (no viables, presentaron pudrición)

Los resultados del ensayo resultan de efectuar el recuento de plántulas normales del total sembradas, se expresan en porcentaje (sobre 100 semillas) que corresponden al valor de PG.

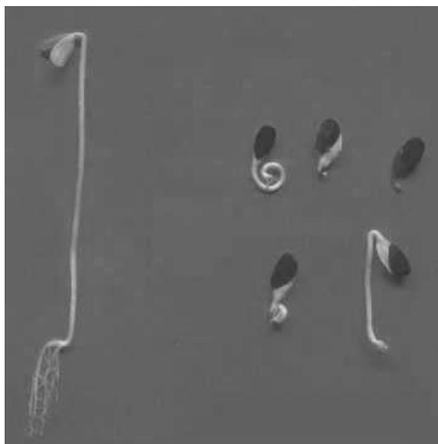


Fig. 10.4. a) Plántula normal de girasol, a) Plántulas mostrando diferentes anomalías.

Los investigadores establecieron tablas con los valores de tolerancia para las máximas diferencias entre repeticiones del mismo ensayo. Superados dichos valores es necesario repetir el análisis. Si bien numerosas especies han sido estudiadas y las condiciones para efectuar correctamente un ensayo de germinación se incluyen en la bibliografía, muchas otras no han sido aun estudiadas en laboratorio y se requiere trabajar en los ajustes metodológicos para evaluar su calidad o respuesta germinativa.

10.5. Determinación de densidad de siembra

Los resultados de los ensayos anteriormente descriptos (Pureza y Poder Germinativo) permiten conocer y comparar lo más objetivamente posible los atributos de diferentes lotes o partidas de semilla. Esto es un paso posterior a la elección de una determinada variedad por su aptitud o condiciones genéticas como son: alto rendimiento, resistente a una determinada enfermedad, características deseables para la industria, entre otras consideraciones.

La puesta en marcha del proceso productivo implica un importante desembolso de dinero. La compra de la semilla constituye un importante componente de los costos de producción. Si la semilla adquirida fuera de baja calidad, sería necesario sembrar mayor cantidad para obtener la misma población de plantas en el cultivo, con el agravante que se podría estar incorporando en el lote de siembra especies no deseadas como malezas o plantas invasoras.

10.5.1. Valor Cultural

El Valor cultural (VC), también llamado Valor real es un índice que indica el porcentaje de Semilla Pura que es capaz de germinar y se calcula con la siguiente fórmula:

$$\text{Valor Cultural} = \frac{\text{Pureza}(\%) \times \text{PG}(\%)}{100}$$

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos (SAGPyA) establece “Tolerancias” mínimas en los valores de Pureza, PG y VC para semilla “Fiscalizada” e “identificada”. Estos valores deben ser respetados por los proveedores de semillas e indicados en las bolsas. Su conocimiento y la posibilidad, por parte de los productores, de analizar la semilla permiten ejercer un control de calidad y eventualmente efectuar reclamos, si los resultados obtenidos no coinciden con los declarados.

Por otro lado, es muy importante tener en cuenta esta información para los productores, en caso de utilizar semilla de su propia producción o sobrante de la campaña en la siguiente siembra. Esa semilla que ha quedado almacenada podría haber perdido capacidad germinativa o contener sustancias extrañas que alteran la calidad. Este dato permite hacer un ajuste para la siembra de la cantidad adecuada para el nuevo ciclo productivo.

Llegado a este punto es posible plantear el siguiente interrogante:

¿Qué cantidad de semilla se necesita para obtener el “stand” de plantas deseado?

Como surge de los párrafos anteriores, esta cantidad de semilla a sembrar o Densidad de Siembra (DS), que comúnmente se expresa en kg por hectárea, está relacionada con la pureza y poder germinativo (Valor Cultural) y el Peso Absoluto (peso de 1000semillas).

La DS se define como la cantidad de kg/ha de semilla que se requieren o que se van a sembrar para obtener un determinado número de plantas en una superficie dada. Puede variar entonces considerablemente entre un lote y otro de semillas de la misma especie y cultivar. Se calcula con la siguiente fórmula:

$$DS(\text{Kg}/\text{Ha}) = \frac{\text{Plantas } m^2 \times \text{Peso de 1000 semillas}}{\text{Pureza} \times \text{PG} \times \text{CL}}$$

Donde CL es el Coeficiente de Logro que depende de factores externos a la semilla, relacionados con la preparación del suelo para el cultivo, la profundidad de siembra, la regulación de la sembradora. Es un valor que no supera el 90% aún con el máximo control de los factores mencionados.

A modo de ejemplo, calcularemos la DS de dos lotes hipotéticos de semillas de maíz, A y B con las siguientes características:

Lote A:

Pureza = 98%
 PG = 97%
 Peso absoluto = 400g/1000 granos

Lote B:

Pureza = 98%
 PG = 90%
 Peso absoluto = 400g/1000 granos

El valor de plantas por hectárea a lograr depende de la especie y cultivar, características agroecológicas, etc., en este ejemplo consideramos para maíz 50.000 plantas/ha.

Lote A:

$$DS = \frac{50000 \text{ plantas/ha} \times 400 \text{ g/mil semillas}}{0,98 \times 0,97 \times 0,90}$$

DS=23,3 Kg

Lote B:

$$DS = \frac{50000 \text{ plantas/ha} \times 400 \text{ g/ mil semillas}}{0,98 \times 0,90 \times 0,90}$$

DS=25,2 Kg

El rótulo o etiqueta que portan las bolsas de semilla de cada semillero consta de:

Datos del semillero: nombre, dirección, teléfono y correo electrónico
 N° de rótulo que identifica cada bolsa
 Nombre de la especie y la variedad
 Pureza Física y Botánica en porcentaje
 Contenido de la bolsa en kg.
 Fecha de análisis

Año de cosecha

Asimismo en el reverso de dicha etiqueta se declara:

“El identificador se hace responsable de las especificaciones contenidas en este rótulo (Art. 14 Ley N° 20.247), y de que el contenido de este envase se ajusta a las tolerancias establecidas reglamentariamente”

“En cuanto a la germinación y pureza el proveedor es responsable ante el adquirente dentro del lapso de cuarenta y cinco días a partir de la fecha del remito de la mercadería o dentro del plazo fijado por acuerdo entre partes”

Resulta evidente que la cantidad de semilla requerida puede variar considerablemente, dentro de los límites de pureza, PG y peso de mil semillas permitidos para la comercialización de semilla fiscalizada. Debemos tener en cuenta que puede haber semilla conservada por más tiempo o en malas condiciones de almacenaje entre la producción y la llegada al productor lo cual genera mayores variaciones.

Por todo ello, en relación a la toma de decisiones a la hora de adquirir semilla para la siembra, las siguientes preguntas ponen en evidencia otros factores que subyacen y que pueden ser considerados por el productor, ya que reflejan aspectos de la realidad productiva, aunque escapan a los contenidos de esa obra.

¿La diferencia en el costo de dos lotes de semillas compensa la diferencia en Kg/ ha a sembrar en el campo?

Dos o más lotes de igual PG ¿son estrictamente iguales?

¿Responden del mismo modo en el campo?

¿En condiciones que se alejan de las óptimas del ensayo de germinación estándar esas semillas responden de igual modo al que mostró el ensayo?

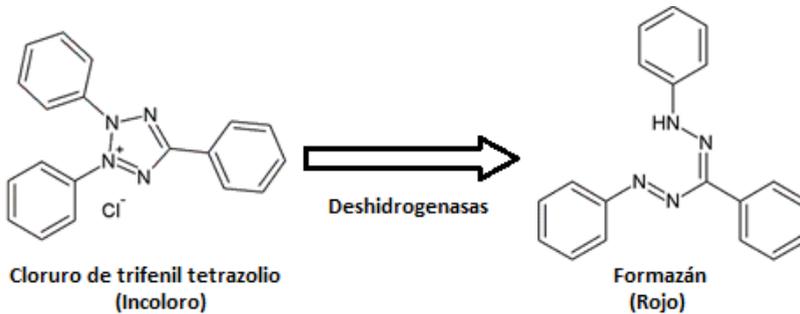
10.6. Viabilidad. Ensayo topográfico de viabilidad

La comercialización de semillas requiere de la determinación de varios indicadores de calidad. El análisis tradicional de Poder Germinativo que realizan todos los laboratorios demanda un período de tiempo que va desde varios días hasta semanas. Esta razón impide tener un dato rápido y confiable de acuerdo a la demanda ante ciertas situaciones como es la de tener que decidir rápidamente si un lote de semillas se destinará a siembra, a la alimentación animal o a la industria.

El ensayo topográfico de viabilidad por tetrazolio es una herramienta fundamental en estas situaciones que aporta en forma rápida y confiable información de calidad de la semilla. Es un ensayo bioquímico que permite una evalua-

ción muy rápida de la viabilidad de las semillas para estimar la potencialidad germinativa. Es particularmente útil cuando las semillas deben sembrarse poco tiempo después de ser cosechadas, cuando se sospecha la presencia de dormición en el lote y para evaluar daños producidos durante la cosecha, el secado y el procesamiento de las semillas.

El ensayo de viabilidad por tetrazolio es frecuentemente utilizado por las empresas semilleras para monitorear la viabilidad de la semilla cosechada y que será procesada para su posterior venta con las garantías correspondientes. Este ensayo se basa en la reacción de una solución de sal de tetrazolio que en estado oxidado es soluble e incoloro, pero en estado reducido se convierte en formazán, insoluble y de color rojo brillante. Las enzimas deshidrogenasas ligadas a la actividad respiratoria de los sistemas biológicos catalizan esta reacción. Como la reacción se produce dentro de las células y el pigmento no es difusivo hay una delineación perfectamente nítida entre el tejido que respira (viable) y el que no lo hace (no viable).



Así, las semillas viables deben presentar coloración en los tejidos embrionales que deben estar, necesariamente, vivos para que se desarrolle a partir de ellos una plántula normal. Dependiendo de las especies, se aceptan dentro de la categoría “viables” pequeñas áreas sin teñir en algunas regiones del embrión. En la figura 10.5 se observan dos embriones de girasol, uno de ellos viable (a) y otro no viable con un área si colorear correspondiente a tejidos muertos (b).

La sal utilizada habitualmente para el ensayo es 2,3,5 cloruro de trifenil tetrazolio en concentración de 0,1 a 1 %. La solución se prepara en agua estéril, con pH neutro; en caso de dudas respecto a la acidez, se debe preparar en una solución buffer. Una vez preparada la solución de tetrazolio debe ser conservada en la heladera y en oscuridad hasta su uso.

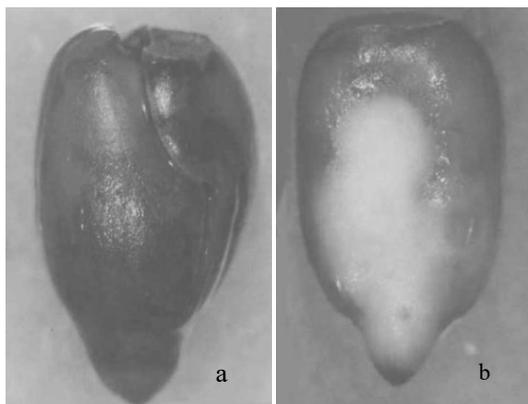


Fig. 10.5. a) embrión de girasol completamente teñido (semilla viable); b) embrión con un área mayor al 50 % de un cotiledón y parte del eje embrionario sin coloración (no viable)

Para efectuar el ensayo se deben seguir los siguientes pasos:

Prehumedecimiento de las semillas: se requiere para desencadenar los procesos respiratorios. Se deben colocar las semillas en cámara húmeda para que se embeban lentamente, en algunos casos a baja temperatura para evitar la emergencia de la radícula.

- Preparación para la tinción: para permitir el ingreso de la solución; dependiendo de la especie pueden ser necesario efectuar cortes en el tegumento, quitar cubiertas, o punzar la semilla en determinada zona.
- Tinción: este paso requiere sumergir las semillas pretratadas en la solución de tetrazolio, a temperatura (30°C) tal que acelere el proceso y necesariamente en condiciones de oscuridad durante un tiempo determinado, variable según la especie.
- Evaluación: se lleva a cabo observando las semillas (o embriones) y clasificándolos según la superficie sin colorear, la intensidad de la coloración, la zona específica del embrión carente de color. Para unificar criterios, se han elaborado patrones de numerosas especies, en los cuales se representan las regiones de los embriones que se aceptan “sin color” para considerar viable a la semilla.

Estas características dependen de la especie de que se trate; por este motivo, la evaluación es un punto crítico y requiere un conocimiento de la anatomía de la

semilla de la especie a evaluar y el entrenamiento adecuado para llevar a cabo la lectura.

10.6.1. Ensayos rápidos de viabilidad

Estos ensayos permiten, como su nombre lo indica, aportar información en forma inmediata sobre la calidad de un lote de semillas. Esto es importante, por ejemplo, para evaluar, especialmente en diferentes etapas del proceso de producción, acondicionamiento y comercialización de semillas y en función de ello poder rectificar los parámetros que afectan estos procesos.

Un ejemplo es el ensayo o “**Test de hipoclorito de sodio**” utilizado por productores de semillas, y también de granos, para ajustar la velocidad o la distancia cilindro – cóncavo en la cosechadora. Es un método práctico que se considera el más apto para detectar daños mecánicos producidos durante la cosecha, principalmente en soja y poroto y que permite determinar la presencia de daños no visibles a simple vista.

Consiste simplemente en sumergir una muestra de semillas extraída “a la cola de la cosechadora”, de la cual se separan al azar 4 repeticiones de 25 semillas y se sumergen en una solución de hipoclorito de sodio al 5 %, durante 15 minutos. Pasado ese tiempo, se retiran y se colocan sobre toallas de papel. Se cuenta el número de semillas completamente embebidas (hinchadas) y se calcula el porcentaje. Ese valor corresponde a semillas con daños mecánicos no visibles a simple vista.

El **ensayo de pH de exudados** (o Prueba colorimétrica de pH de exudados) es ampliamente utilizada en soja, maíz y poroto. También ha sido utilizada en arveja (*Pisum sativum*), con buenos resultados y ajustada la metodología para estimar comportamiento a campo. Se basa en el cambio del pH del agua de imbibición de semillas individuales. Según el daño que presenten en sus membranas celulares, liberan electrolitos (ácidos orgánicos, iones, incluyendo el H⁺) que aumentan la acidez del agua. Las semillas se colocan en celdas individuales con agua destilada, se incuban por 30 minutos a 23°C, se añade la solución indicadora (fenolftaleína- Na₂CO₃) y se observa el color en cada celda. Coloración rosa fuerte corresponde a semillas viables, mientras que las rosadas e incoloras a no viables.

Otros ensayos rápidos son la Prueba de tetrazolio de aleurona utilizada en maíz, la prueba de Fast green (verde rápido), que pone en evidencia lesiones en las tegumentos seminales en semillas de tréboles (*Trifolium spp*), *Lotus spp*, o pericarpio en maíz.

10.7. Vigor de semillas

La utilidad del ensayo de germinación estándar reside en su capacidad para demostrar el potencial de una muestra de semillas en condiciones ideales. Asimismo, permite la estandarización y posibilidad de repetición de los ensayos

(siempre que se respeten las reglas para su realización) lo cual hace a estos resultados altamente confiables.

Es obvio que las condiciones óptimas del ensayo de germinación son, por lo general, muy diferentes de aquellas que se presentan en la naturaleza, con lo cual no se espera que las semillas muestren en el campo el nivel de logro que se manifiesta en ese ensayo. Por otro lado, el valor de PG no expresa diferencias en la velocidad con que se llega a ese resultado y esta diferencia puede ser importante fuera de las condiciones aplicadas durante el ensayo. Efectivamente, la prueba de germinación estándar se realiza en un ambiente donde los factores fundamentales requeridos para la germinación son los ideales. Esto genera que se desarrollen plántulas normales, que en otras condiciones no lo serían. Esta situación trae como consecuencia que cuando dos o más lotes de semilla que han presentado altos valores de PG son sembrados a campo en la misma época y en idénticas condiciones de suelo, diferentes de la ideal, muestran un comportamiento muy diverso. De la misma manera pueden ocurrir notables diferencias en su comportamiento germinativo, en iguales condiciones de siembra, por haber atravesado diferentes condiciones de almacenaje.

Diversos trabajos científicos han demostrado que el vigor se reduce más rápidamente que la viabilidad. Esto explica que frecuentemente las semillas presenten altos porcentajes de PG y bajos porcentajes de vigor. Estas variaciones, lejos de quitar validez a los análisis de poder germinativo, indican que sus resultados expresan la máxima potencialidad de las semillas pero carecen de la capacidad de detectar las diferencias apuntadas anteriormente entre los lotes.

Considerando estas limitaciones del ensayo de germinación se han desarrollado los ensayos de vigor.

Los ensayos de vigor tienen como objetivo proveer información acerca del potencial de implantación de un lote de semillas en un amplio rango de condiciones ambientes y/o de almacenaje. Estos ensayos brindan información adicional al de germinación estándar, permitiendo determinar la calidad fisiológica de semillas y diferenciar entre lotes que han dado buenos valores de poder germinativo.

Cabe aclarar que tiene sentido realizar los ensayos de vigor los cuando las pruebas de germinación estándar han dado buenos resultados y se desconoce las condiciones en que se sembraran esas semillas. Sin embargo, si las pruebas de germinación han arrojado valores por debajo de los niveles recomendados o requeridos para su comercialización no es necesario destinar tiempo y recursos para estas determinaciones, ya que las semillas de esas condiciones deben ser descartadas para su uso como simiente.

ISTA (2011) define el vigor de la semilla como:

La suma de aquellas propiedades que determinan el nivel de actividad y desarrollo en un amplio rango de condiciones ambientales de lotes de semillas de germinación aceptable

Una vieja definición, pero que refleja un sentido agronómico y productivo, es la planteada por el destacado botánico estadounidense Duane Isely que define el vigor como:

“la suma total de todos los atributos de la semilla que favorecen el establecimiento rápido y uniforme de plántulas en el campo”.

¿Cuándo puede considerarse que un lote de semillas tiene un vigor adecuado?

Un lote de semillas con un vigor adecuado permite esperar un buen comportamiento aunque las condiciones ambientales que se presente en el lote de siembra sean subóptimas. El buen comportamiento significa buenos índices de emergencia y crecimiento que permitan esperar una buena implantación del cultivo. Esto debería ocurrir en tiempos considerados como razonables para evitar las pérdidas durante esta etapa crítica. Recordemos la necesidad de superar rápidamente las etapas de germinación y emergencia, lo que se logra manteniendo un activo crecimiento del embrión, tal como ya se expresó en el punto 4.2.3.

Como surge de estas definiciones, el vigor no está dado por una única característica a medir, sino que describe varias características asociadas al comportamiento de la semilla como son:

- velocidad y uniformidad de la germinación
- capacidad de emergencia en condiciones ambientales poco favorables
- comportamiento esperable después del almacenaje.

Cada una de estas características puede ser evaluada por uno o más test específicos, dependiendo, asimismo, de las especies. Esto genera dificultades en cuanto a la estandarización de los ensayos de vigor, de modo que solamente dos de ellos han sido validados y recomendados por ISTA. Ellos son el Ensayo de Conductividad eléctrica para *Pisum sativum* y el ensayo de Envejecimiento acelerado para *Glicyne max*.

Pese a ello, se han difundido numerosos test, en los cuales los investigadores en el tema siguen trabajando y que resultan útiles tanto para los productores como para las empresas semilleras.

Existen diferentes categorías de ensayos de vigor:

- Directos: Son los que reproducen en laboratorio diferentes condiciones de campo que implican factores de estrés ambiental, se determina un valor de emergencia (porcentaje). Ejemplo de estos son el test de frío, el test de Hiltner,
- Indirectos: Son aquellos que miden atributos de las semillas que se asocian al comportamiento a campo. Por ejemplo, conductividad eléctrica, envejecimiento acelerado, vigor por tetrazolio, velocidad de germinación, crecimiento de plántulas.

Clasificaciones más recientes de los ensayos de vigor resultan más precisas y prácticas, como la establecida por Mc Donald en 1975, que los agrupa en las siguientes categorías:

- Ensayos físicos: Evalúan aspectos morfológicos de las semillas asociados al vigor, por ejemplo: Tamaño, peso, densidad o coloración de semillas; Rayos x
- Ensayos fisiológicos: Miden actividad fisiológica que se manifiesta según el vigor, por ejemplo: Clasificación de plántulas por su vigor; Primer conteo; Velocidad de germinación o de emergencia de plántulas
- Ensayos bioquímicos: Evalúan alteraciones bioquímicas asociadas al vigor, por ejemplo: Tasa respiratoria; Conductividad eléctrica; Test de vigor por tetrazolio
- Ensayos de resistencia: Evalúan el desempeño de las semillas sometidas a estrés, por ejemplo: Germinación a bajas temperaturas; Test de Hiltner (siembra en ladrillo molido); Envejecimiento acelerado

En términos generales, se requiere que un ensayo de vigor reúna determinadas características, como ser:

- Simple
- Rápido
- Económico
- Objetivo
- Reproducible
- Mostrar relación con la emergencia a campo

A continuación se describirán someramente algunos de los ensayos más difundidos:

10.7.1. Ensayo de frío (Test de Frío o “Cold Test”)

Las bases fisiológicas de este test consideran que las condiciones de humedad y de frío del suelo retardan toda la actividad biológica, particularmente la de las semillas, a la vez que las mantienen expuestas por mayor tiempo al daño por patógenos o plagas presentes en el suelo. Por lo tanto, las semillas con mejor respuesta a este ensayo poseen mayor capacidad para enfrentar estas condiciones adversas, es decir, mayor vigor.

El ensayo se desarrolla en dos etapas contrastantes de temperatura. La primera de ellas expone a la semilla a baja temperatura del orden de 8 a 10°C y un

contenido de humedad del sustrato, entre el 70 y el 80% de su capacidad de retención de agua, dependiendo de la especie. En la segunda etapa, las semillas incubadas a baja temperatura se transfieren a condiciones de temperatura semejantes a las del test de germinación estándar.

Para que la humedad del sustrato sea adecuada se debe calcular la máxima capacidad de retención de agua del mismo. Un método agronómico práctico y muy sencillo para determinarlo se desarrolla de la siguiente manera: primero se debe determinar el peso de cierta cantidad de suelo completamente seco (100 gramos); luego se lo ubica en un recipiente con el fondo cribado que posibilite un adecuado drenaje. Más tarde, se lo inunda con cantidad suficiente de agua y se deja drenar libremente evitando pérdidas por evaporación. Al cabo de unas horas el agua dejará de escurrir y esto corresponde a la máxima capacidad de retención de agua de ese sustrato. El agua estaría retenida con un potencial mátrico aproximado de $-0,33$ atm. Conociendo dicha capacidad, se emplea una fórmula para obtener la cantidad de agua necesaria para humedecer el suelo a utilizar según el porcentaje correspondiente que la bibliografía recomienda para cada especie (como anteriormente citamos, entre el 70 y 80%).

La exposición a baja temperatura y alto contenido de humedad someten a la semilla a un estrés que permite expresar una respuesta fisiológica que se reflejará en su comportamiento en el campo. Para el caso del maíz, se recomiendan 2 o 3 días de exposición a baja temperatura, alta humedad y oscuridad, y luego se traslada a condiciones de 25°C durante 4 a 6 días.

Dado que este test se utiliza para informar sobre la capacidad de germinar en condiciones de baja temperatura se siembran en suelo, o mezclas de sustratos incluyendo suelo extraído de una parcela donde se haya sembrado la especie en cuestión, sin desinfectar. La siembra puede hacerse en bandejas de diferente tipo o en rollos de papel conteniendo este sustrato, donde, sobre el papel inferior se coloca una delgada capa de suelo humedecido sobre el cual se deposita la semilla y luego se las cubre con otro papel humedecido (Fig. 10.6). Finalmente se enrolla sobre sí mismo y se lo ubica en la cámara en las condiciones controladas de frío.

Para ciertas especies, y cuando sólo se requiere conocer el efecto de la baja temperatura, se efectúan siembras entre papel, en rollos sin suelo.

Finalizado el ensayo, se efectúa un recuento utilizando los mismos criterios que para la germinación estándar o poder germinativo. Como expresamos anteriormente, el PG es el ensayo de referencia, entonces, la diferencia entre ambos resultados indica el vigor de cada lote. Cuanto mayor es la diferencia, menor es el vigor.

Anteriormente se utilizaba una clasificación diferente para las plántulas obtenidas del test de frío, pero esta se descartó como resultado de numerosos trabajos de investigación, debido a que las muestras se “castigaban” por las condiciones impuestas y además por la clasificación más estricta de las plántulas por su vigor.

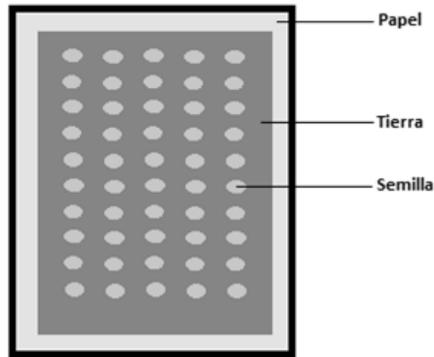


Fig. 10.6. Sistema de siembra en rollos de papel con sustrato para el test de frío.

10.7.2. Envejecimiento acelerado

El ensayo de envejecimiento acelerado es una importante prueba del vigor que pone de manifiesto las consecuencias del almacenamiento inadecuado sobre la calidad de la semilla. Es una herramienta destacada para los semilleros o para aquellos agricultores que retienen cierta cantidad de su producción para ser sembrada en la siguiente campaña.

Como mencionamos anteriormente, este test de vigor es uno de los pocos recomendados por ISTA, aunque se ha logrado su estandarización sólo para soja (*Glycine max*), cuyas condiciones están establecidas en las reglas internacionales de ensayos de semillas. Sin embargo es ampliamente utilizado para otras especies.

El almacenaje de semilla produce un progresivo deterioro fisiológico. Este normal envejecimiento de las semillas se produce más rápidamente y con consecuencias más graves si la semilla es almacenada en forma incorrecta. Por esta razón, esta prueba permite disponer de información más confiable que el simple test de germinación estándar para predecir el porcentaje de germinación y emergencia en el campo luego de cierto período de tiempo en que la semilla permaneció en depósito.

Este test consiste en someter a una muestra de semillas de un lote determinado a condiciones de alta temperatura, generalmente entre 30 y 45°C y una humedad relativa de entre el 85 y 100%, por un período de tiempo determinado según la especie, pero que oscila entre dos y ocho días. Estas condiciones generan un rápido incremento en el deterioro fisiológico indicando que su calidad ha sido afectada y pudiendo repercutir en su futuro comportamiento en el campo.

Las condiciones de temperatura, humedad y el período de exposición dependerán de la especie de que se trate. A modo de ejemplo, podemos citar el caso del maíz, el cual se mantiene a 42°C y 100% de humedad relativa durante 48 horas. Transcurrido el tratamiento, las semillas son retiradas de la cámara y sometidas a la prueba de germinación estándar para determinar su PG.

Si bien este ensayo se realiza en los laboratorios de semillas en cámaras equipadas con sensores de humedad y temperatura (cámara de envejecimiento), diseñadas especialmente, es posible armar dispositivos caseros usando envases herméticos de plástico. Dentro de ellos se deposita agua y sobre rejillas plásticas, evitando el contacto directo con el agua, se ubica la semilla. Estos envases se colocan en la cámara, con la temperatura y el tiempo correspondiente para la especie.

Las Reglas Internacionales de Ensayos de Semillas recomiendan atender una serie de cuidados para permitir que los resultados de diversas muestras sean comparables, por ejemplo que el contenido de humedad inicial de las semillas esté comprendido en un determinado rango, que las semillas no estén superpuestas en la cámara de envejecimiento, evitar que las semillas se mojen con agua condensada en las paredes de los recipientes, etc. Estas condiciones deben ser controladas, especialmente si se trata de emitir un resultado en un laboratorio y especialmente si se pretende que estos resultados sean repetibles y comparables.

10.7.3. Conductividad eléctrica (CE)

Como vimos antes, la semilla se va deteriorando con el paso del tiempo y ese deterioro está íntimamente relacionado a las condiciones ambientales en las que se encuentre durante el almacenamiento. También se mencionó que el vigor de la semilla descende más rápidamente que la viabilidad y que la disminución del vigor implica un retardo en el desarrollo y la generación de plántulas anormales. Esto hace que poco a poco se aleje la posibilidad de que la semilla pueda ser usada con éxito en una siembra a campo.

Desde lo fisiológico, el primer síntoma que expresa el deterioro son las alteraciones en la integridad de las membranas celulares, que se continúa con la reducción de la actividad enzimática y la síntesis de proteínas.

El ensayo de conductividad eléctrica (CE) determina en forma indirecta el grado de alteración de las membranas celulares de los tejidos de la semilla. La mayor salida de solutos está relacionada a la pérdida de permeabilidad selectiva, característica de las membranas celulares. Consecuentemente, el mayor deterioro de las membranas celulares se relaciona con una pérdida de vigor en las semillas. Las semillas menos vigorosas muestran pérdidas de compuestos citoplasmáticos como aminoácidos, iones y azúcares de bajo peso molecular. En consecuencia, los valores más elevados de CE implican un mayor deterioro de membranas y consecuentemente un menor vigor.

Dada la efectividad y sencillez de esta prueba, actualmente se la usa ampliamente en muchos países para diversas especies principalmente leguminosas, como es el caso de arveja (*Pisum sativum*) y soja (*Glicine max*). ISTA ha validado este ensayo para arveja, lo cual implica que las condiciones y procedimientos han sido controlados y pueden generalizarse para la especie. A su vez, ha demostrado una buena capacidad de inferir resultados a campo en un amplio

rango de condiciones ambientales, tal como se espera en los ensayos de vigor. El método consiste en determinar la CE generada por la lixiviación de electrolitos de las semillas en el agua donde se sumergen durante 24 horas y a 20°C. Se emplea agua desionizada con una conductividad conocida y no superior a 5 microsiemens por centímetro ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Se efectúan cuatro repeticiones de 50 semillas en recipientes adecuados y se coloca a incubar en similares condiciones dos recipientes con agua destilada solamente a modo de testigo. Pasado el período de incubación mide la CE con un conductímetro de mesa como el que se observa en la figura 10-5. Este equipo debe reunir determinadas condiciones (Rango de medición entre 0-1999 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$; $\pm 1\%$, con una resolución de 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), como el que se observa en la figura 10.7. Los valores de las repeticiones se promedian y se resta la CE, promedio de los recipientes usados como testigos. Este valor, que se expresa en $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, indica la CE promedio de la muestra (50 semillas) y puede dividirse para obtener el valor promedio por semilla. Se recomienda, antes de incubar las semillas, determinar su peso, con lo cual es posible efectuar el cociente y expresar el resultado en conductividad por gramo de semilla ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$). Este cálculo permite comparar por su CE lotes con semillas que presentan diferentes tamaños y/o pesos, independientemente de estas variaciones.



Fig. 10.7. Medición de CE en semillas de soja utilizando un conductímetro de mesa.

Este ensayo es útil para comparar lotes por su vigor y establecer un ranking de calidad; sin embargo, presenta la desventaja de que es difícil de interpretar si se desea extrapolar a la situación de campo. Por ello a partir de numerosos trabajos experimentales, ISTA elaboró para *Pisum sativum*, una tabla en la cual se establecen valores de CE entre los cuales los lotes tendrían una determinada respuesta a campo. Por ejemplo, un lote con una CE que supere los 43 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ se considera no apta para siembra; en cambio si el valor de CE se encuentra entre 30 y 43 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ la semilla no es apta para siembras tempranas o bajo condiciones adversas; si el resultado es inferior a 25 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$

1.g- la semilla es apta para siembras anticipada o en condiciones agroclimáticas no ideales. Varios investigadores están trabajando para establecer estos rangos en otras especies como *Vicia faba*, *Glycine max*, *Helianthus annuus*, *Phaseolus* sp.

10.7.3.1. Ensayo de CE Individual (CEI)

El dato de CE obtenido con la metodología antes descrita corresponde a un valor medio, con lo cual no es posible diferenciar si un lote con un valor determinado de CE tiene muchas semillas con daños leves o pocas semillas muy dañadas; sin embargo, esta diferencia repercutirá de diferente manera en el desempeño germinativo. Para tratar de develar esta duda que surge con el uso del ensayo denominado generalmente “CE masal” se han diseñado equipos especiales que permiten realizar lecturas de CE de semillas individuales (CEI), como el SAD 9000S® que se diseñó y se fabrica en nuestro país. Consta de gradillas para incubar 100 semillas y un cabezal con 100 pares de electrodos conectados a un ordenador que cuenta con un programa especial para registrar las mediciones de cada semilla. Si bien esta metodología no ha sido validada por ISTA, se han llevado a cabo numerosos trabajos de investigación en diferentes especies para lograr ajustarla. Muestra excelentes resultados experimentales en relación con ensayos de germinación y a campo en semillas de arveja, girasol y soja, entre otros cultivos, manteniendo, a su vez, la ventaja de obtenerse resultados en poco tiempo.

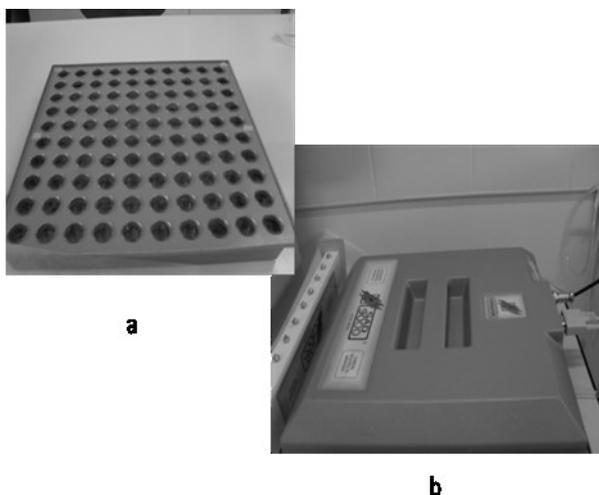


Fig.10.8. Vista de la gradilla multicelda (a); dosificador y cabezal de medición (b) del equipo para determinar conductividad individual en semillas (SAD 9000S®) (Gentileza Laboratorio de Calidad de Semillas (Unida Integrada Balcarce INTA- FCA, UNMdP).

10.7.4. Validez de los ensayos de vigor

Los test de vigor representan importantes herramientas para la toma de decisiones en cuanto a los lotes de semillas para la siembra. Sin embargo, es necesario considerar que los datos de estos análisis, aislados, carecen de valor si no se los relaciona con otros, representativos de la misma especie, o con los obtenidos en el ensayo de germinación estándar (valor de PG), que permanece como el ensayo de referencia. Huelga aclarar que es prácticamente imposible “predecir” el comportamiento a campo, ya que allí se conjugan muchos más factores de los que pueden ser controlados en el laboratorio. En consecuencia, ninguna de estas pruebas por si sola refleja en forma inequívoca los resultados a campo. La correspondencia de estos análisis y los logros en el campo dependen de diversos factores tales como la preparación de la cama de siembra, la profundidad de siembra, la temperatura y humedad del suelo, la presencia de organismos perjudiciales. No obstante podemos suponer con cierta seguridad que aquellas semillas que han mostrado buen comportamiento en diferentes ensayos de vigor tendrán un mejor desempeño que otras que han mostrado bajo vigor en las mismas pruebas. Por otro lado, en la medida que las condiciones de siembra se acercan a las ideales, los resultados a campo serán más consistentes con los resultados de laboratorio, y más cercanos al valor de PG que expresa la máxima capacidad germinativa de la semilla.

10.8. Sanidad

Entre los atributos de calidad que se espera de una semilla al momento de adquirirla para la siembra, uno sumamente importante es la sanidad. Existen ensayos de laboratorio cuyo objetivo es determinar el estado sanitario de un lote de semillas con respecto a los organismos patógenos como hongos, bacterias y virus que son transportados por la misma semilla y también nematodos e insectos plagas de la agricultura. Estos contaminantes pueden afectar el comportamiento de la semilla en el campo. Se deben analizar muestras, representativas del lote. Es fundamental realizar estos controles cuando se trata de semillas provenientes de otras regiones, para evitar la introducción de enfermedades inexistente en el campo o en la zona.

Inicialmente se somete la muestra de semillas a un análisis visual, a simple vista o con instrumentos ópticos, ya que algunos inóculos pueden estar “acompañando” a las semillas (por ejemplo esclerocios, insectos). Esto se efectúa generalmente con el análisis de pureza físico- botánica.

En algunos casos es necesario incubar las semillas para observar el desarrollo de colonias de bacterias o fructificaciones de hongos y poder identificarlas. Este tipo de análisis se realiza en laboratorios reconocidos siguiendo las normas establecidas por ISTA. Se pueden desarrollar sobre Agar o sobre un papel esterilizado; este se conoce como “Blotter Test”. En los casos que se requiera se

colocan en medios de cultivo particulares, de acuerdo al tipo de patógeno que se pudiera presentar en la muestra.

Las observaciones se realizan bajo microscopio estereoscópico u óptico para la correcta identificación del patógeno. Entre los fúngicos es común encontrar representantes de los géneros: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Tichoderma* y *Rhizopus*.

Para otras especies de patógenos que suelen ser llevados por las semillas son necesarios análisis más específicos, como es el caso del lavado de semillas para el recuento de esporas del género *Tilleta* en trigo o la extracción de embriones para la detección de carbón volador (*Ustilago* sp.) en trigo y cebada.

10.9. Conservación de la semilla

Los fitomejoradores, tanto de organismos públicos como de empresas privadas, recurren permanentemente a las fuentes naturales en busca de genes para el mejoramiento de las especies de interés agronómico. De modo que la semilla con su carga genética es el recurso natural fundamental en la búsqueda genes que aporten: resistencia frente a la aparición de nuevas enfermedades o nuevas cepas de patógenos, adaptación a cambios climáticos o, respuestas a necesidades de la población humana o animal.

Por ello, las semillas obtenidas para el mejoramiento así como aquellas obtenidas por los productores deben ser adecuadamente conservadas para que mantengan, por el mayor tiempo posible, su calidad y capacidad de germinación.

Recordemos que la semilla está completamente constituida cuando alcanza la madurez fisiológica, punto en el cual es mayor su calidad germinativa. Este momento coincide con altos niveles de humedad en la misma, por lo general superiores al 30%. En estas condiciones se hacen imposibles tanto la cosecha mecánica, ya que reduce la eficiencia de las máquinas y dificulta el manejo, como el almacenamiento.

A partir de la madurez fisiológica, la humedad de la semilla empieza a disminuir y la velocidad de secado dependerá de las condiciones ambientales en el cultivo. La cosecha podrá efectuarse una vez logrados valores de humedad de, aproximadamente 20%.

Para ser almacenada, en cambio, se requieren valores de humedad aun menores (generalmente que no superen el 14%) dado que el exceso de humedad afecta drásticamente la calidad de la semilla. El almacenamiento transitorio dado por el traslado, generalmente en camiones, con altos niveles de humedad ya es suficiente para afectar el vigor de la semilla. Esta excesiva humedad obliga a realizar inmediatamente un secado, hasta alcanzar valores más cercanos a los recomendados (tolerancia de recibo, en las plantas de silos)

El proceso de secado puede llevarse a cabo en forma natural o artificial. En el primer caso, se requiere mayor tiempo y mano de obra y solamente se puede utilizar en zonas de producción en las cuales haya una humedad ambiental baja.

En el caso del secado artificial, es un proceso costoso pero muy seguro y se justifica en semillas de alto valor económico. Las empresas productoras de semillas en estos casos, realizan la cosecha en madurez fisiológica, secan al aire, luego trillan y almacenan para su futura siembra.

El secado artificial se realiza en plantas de silo o en depósitos especiales usando equipos de circulación de aire. Debe realizarse con sumo cuidado, ya que de otro modo en vez de permitir la buena conservación, podría ser perjudicial para la calidad de la semilla. Así, durante el proceso de secado la temperatura del aire que circula no debe superar los 43°C en ningún caso, aunque ciertas semillas más sensibles, como el arroz, no soportan temperaturas del aire circundante mayor a los 39°C.

Una vez acondicionada adecuadamente, la semilla puede ser almacenada. En términos generales, la longevidad de las semillas denominadas ortodoxas, se duplica por cada 1% de disminución de humedad o por cada 5°C de disminución de la temperatura de almacenamiento. Con bajos niveles de humedad, del orden del 8%, y a baja temperatura, son capaces de tolerar largos períodos de almacenamiento. La mayoría de las plantas cultivadas generan semillas de este tipo.

Opuestamente, otras especies producen semillas incapaces de soportar la deshidratación, por lo cual no sobreviven en condiciones de desecamiento y frío. Son las conocidas como **no ortodoxas o recalcitrantes**. En general no pueden tolerar temperaturas inferiores a 10°C. Por ello, no pueden ser conservadas por largos períodos de tiempo. La bibliografía menciona varias especies entre las más conocidas se encuentran el café (*Coffea arabica*), el mango (*Mangifera indica*), la palta (*Persea americana*) y el cacao (*Theobroma cacao*). Un caso particular de semillas recalcitrante es el roble europeo (*Quercus robur*) cuyas bellotas pueden ser almacenadas durante dos años siempre y cuando no se dessequen. En la naturaleza las plantas que crecen en ambientes acuáticos, o que fructifican en períodos relativamente húmedos producen semillas recalcitrantes.

El trabajo con semillas de este tipo constituye un problema para los especialistas ya que requieren condiciones adecuadas y particulares, siempre evitando la desecación. Condiciones que son más difíciles de lograr artificialmente en los bancos de semillas.

BIBLIOGRAFÍA

Capítulo 1

- Cronquist, A. 1997. The evolution and classification of flowering plants. Allen Press. Kansas.USA.
- Curtis, H. y Barnes, N. S. 1994. Biología. Ed. Médica Panamericana. Bs. As.
- Lindorf, H., Parisca, L. y Rodriguez, P. 1999. Botánica. Clasificación, estructura, reproducción. Ed. Universidad Central de Venezuela, Ediciones de la Biblioteca. Venezuela.
- Pelt, J.M. Las Plantas. Ed. Biblioteca Científica Salvat. Barcelona. España.
- Solomon, E.P., Ville, C.A. y Davis, P.W. 1987. Biología. Ed. Interamericana. México.
- Verella, F.A. 1988. Origen e historia de la tierra. Ed. Rueda. Madrid. España.
- Willis, K.J. y Mc Elwain, J.C. 2002. The evolution of plants. Ed. Oxford Univ. Press. NY.

Capítulo 2

- Basra, A.S. 1996. Seed Quality. Basic mechanisms and agricultural implications. Food Products Press. NY.
- Besnier Romero, F. 1989. Semillas. Biología y tecnología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. Seeds. Physiology of Development and Germination.. Plenum Press. New York and London.
- Cronquist, A. 1977. Introducción a la botánica. 2ª ed. Compañía Editorial Continental. Mexico. 848p.
- Cronquist, A. 1997. The evolution and classification of flowering plants. Allen Press. Kansas.USA.
- Cutler, D.F. 1987. Anatomía Vegetal Aplicada. Ed. Librería Agropecuaria. Bs. As.
- Dairón Cárdenas, D. y Salinas, N. R. 2007. Libro rojo de plantas de Colombia. Instituto amazónico de Investigaciones Científicas. SINCHI. Bogotá. Colombia
- Dimitri, M. J. y Parodi, L. R. 1972. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Vol.I. Ed. ACME. Buenos Aires. Argentina.
- Esau, K. 1993. Anatomía de las plantas con semilla. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Fahn, A. 1990. Plant Anatomy. Fourth Edition. Pergamon Press. Oxford. England.
- Font Quer, P. 1970. Diccionario de Botánica. Ed. Labor. Barcelona. España.
- Gola, G., Negri, G. y Cappelletti, C. 1959. Tratado de Botánica. Ed. Labor. Buenos Aires. Argentina.
- Laboriau, L.G. 1983. A germinação das sementes. Serie de Biología. Monografía n°24. Secretaría General de la OEA. Washington. USA.
- Lindorf, H., Parisca, L. y Rodriguez, P. 1999. Botánica. Clasificación, estructura, reproducción. Ed. Universidad Central de Venezuela, Ediciones de la Biblioteca.
- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Ed. Hemisferio Sur. Bs. As. Argentina.

- Perissé, P. 2002. Semillas. Un punto de vista agronómico. CyTA Córdoba, Argentina Educación, Ciencia y Cultura para todos.
- Romero Frías, X. 1999. The Maldive Islanders. A Study of the Popular Culture of an Ancient Ocean Kingdom. Barcelona
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 1994. Fisiología Vegetal. Ed. Iberoamericana. México.
- Valla JJ. 1983. Botánica morfológica de las plantas superiores. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires. 332 p.

Capítulo 3

- Aguirrezabal, L. A. N. y Andrade, F. H. 1998. Calidad de Productos Agrícolas. Bases ecofisiológicas, genéticas y de manejo agronómico. Unidad Integrada. Balcarce. Argentina.
- Besnier Romero, F. 1989. Semillas. Biología y tecnología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1978. Physiology and Biochemistry of Seeds. Vol. I-II. Springer-Verlag. Berlín. Alemania
- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. Seeds. Physiology of Development and Germination. Plenum Press. New York and London.
- Cardinali, F. J., Thevenon, M. A. y Arias, M.E. 2010. Estudio morfoanatómico de la semilla y de las reservas proteicas y lipídicas en tejidos cotiledonales de *Cuphea glutinosa* (Lythraceae). Bol. Soc. Argent. Bot. 45(1-2): 47-55.
- Carter, J.F. 1978. Sunflower Science and Technology. American Society of Agronomy. Madison
- Citharel, L y Citharel, J. 1985. Protein bodies from the cotyledons of *Cytisus scoparius* L. (Link). Ultraestructure, isolatio, and subunit composition of albumin, legumin and vivilin. Planta 166 (39-45).
- Cutler, D.F. 1987. Anatomía Vegetal Aplicada. Ed. Librería Agropecuaria. Bs. As.
- De Miguel, I. y Sánchez, R. A. 1992. Phytocrome-induced germination, endosperm softening and embrion growth potencial in *Datura ferox* seeds: sensitivity to low water potencial and time to escape to FR reversal. Journal of Experimental Botany 43: 969-974.
- Dimitri, M. J. y Parodi, L. R. 1972. Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería. Vol.I. Ed. ACME. Buenos Aies.
- Esau, K. 1982. Anatomía de las plantas con semilla. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Fahn, A. 1990. Plant Anatomy. Fourth Edition. Pergamon Press. Oxford. England.
- Galili, G. y Hernan, E.M. 1997. Protein bodies: storage vacuoles in seeds. In: Leigh, R. A. y. Anders, D. (eds). The plant vacuole, pp.113-140. Academic Press, San Diego.
- Garcia Austin, P y Primo Millo, E. 1989. Ultrastructural and biochemical changes in cotyledon reserves tissues during germination of citrus seeds. Journal of Experimental Botany 40(212):383-390.
- Gola, G., Negri, G. y Cappelletti, C. 1959. Tratado de Botánica. Ed. Labor. Buenos Aires. Argentina.
- Gonzalez, A. M. y Arbó, M. M. 2013. Morfología de plantas vasculares. Tema 6 Semilla. www.biología.edu.ar/botánica UNNE.
- Laboriau, L.G. 1983. A germinação das sementes. Serie de Biología. Monografía n°24.

- Secretaría General de la OEA. Washington. USA.
- Larkins, B.A., Petersen, K., Marks, M.D. y Wilson, D.R. 1984. The zein proteins of maize endosperm. *Trends Biochem. Sci.* 9:306-308.
- Lending, C.R. y Larkins, B.A. 1989. Changes in zein composition of protein bodies during maize endosperm development. *Plant Cell* 1:1011-1023.
- Lindorf, H., Parisca, L. y Rodriguez, P. 1999. Botánica. Clasificación, estructura, reproducción. Ed. Universidad Central de Venezuela, Ediciones de la Biblioteca.
- Lott, J. N. A. 1981. Protein bodies in seeds. *Nord. J. Bot.* 1: 421-432.
- Panobianco, M., Vieira, R. D., Krzyzanowski, F. C. y Franca Neto, J. B. 1999. Electrical conductivity of soybean and correlation with seed coat lignin content. *Seed Sci. and Technol.* 27:945-000.
- Kiesselbach, T.A. y Walker, E.R. 1952. Structure of certain specialized tissues in the kernel of corn. *American Journal of Botany* 39: 561-569.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 1994. *Fisiología Vegetal*. Ed. Iberoamericana. México.
- Spitzer, E. y LOTT, J. N. A.: 1982. Proteis bodies in umbelliferous seeds. I. Structure. *Can J. Bot.* 60: 1381-1391.
- Street, H. E. y Öpik, H. 1970. *The physiology of flowering plants*. Ed. Arnold Publishers Ltd. Londres.
- Taiz, L y Zeiger, E. 2002. *Plant Physiology*, Fourth Edition, Sinauer Associates.
- Vranceanu, A.V. 1977. *El Girasol*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid
- Wheat Flour Institute. 1981. *A kernel of wheat*. Washington, D.C.
- Yatsu, L.Y. y Jacks, T. J. 1972. Spherosome Membranes. *Plant Physiol.* 49, 937-943.

Capítulo 4

- Abbas M., Alabadí D., Blázquez M. A. 2013. Differential growth at the apical hook: all roads lead to auxin. *Plant Sci.* 4:441 10.3389/fp.
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y Watson, J. D. 1994. *Biología Molecular de la Célula*. Ediciones Omega. Barcelona.
- Barceló Coll, J., Nicolás Rodrigo, G. Sabater García, B. y Sanchez Tames, R. 1990. *Fisiología Vegetal*. Ed. Pirámide. Madrid. España.
- Barker-Bridgers, M., Ribnicky, M.D., Cohen, J.D. y Jones, A.M. 1998. Red-light-regulated growth. Changes in the abundance of indoleacetic acid in the maize (*Zea mays* L.) mesocotyl. *Planta* 204:2 - 207-211.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1978. *Physiology and Biochemistry of Seeds*. Vol. I-II. Springer-Verlag. Berlín. Alemania.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. *Seeds. Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York and London.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *The plant cell*. Vol. 9 1055-1066.
- Borucka, J. y Fellner, M. 2012. Auxin binding proteins ABP1 and ABP4 are involved in the light- and auxin-induced down-regulation of phytochrome gene PHYB in maize (*Zea mays* L.) mesocotyl. *Plant Growth Regulation* 68(3) 81 Reads. DOI: 10.1007/s10725-012-9719-x.
- Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. In: *Seed Development and Germination*. Kigel, J. and Galili, G. Eds. Marcel Dekker Inc. New York.
- Burck, B. and J. C. Delouche. 1959. Water absorption by seeds. *Proc. AOSA* 49:142
- Dimitri, M. J. y Parodi, L. R. 1972. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*.

- Vol.I. Ed. ACME. Buenos Aires. Argentina.
- Esau, K. 1982. Anatomía de las plantas con semilla. Hemisferio Sur. Buenos Aires. Argentina.
- Fahn, A. 1990. Plant Anatomy. Fourth Edition. Pergamon Press. Oxford. England.
- Farizo, C.L., Pereyra, V.R. Cardinali, F.J. and Orioli, G.A. 1982. Determination of physiological and harvest maturity in sunflower. Proceedings Tenth International Sunflower Conference, Surfers Paradise, Australia.
- Fernandez, G. y Johnston, M. 19867. Pretratamiento de hidratación-deshidratación y germinación de semillas de rabanito. *Phyton* 47 (1/2):25-32.
- Frasier, G. W. 1989. Characterization of seed germination and seedling survival during the initial wet-dry periods following planting. *J. of Range Management* 42:299-303.
- García, L.M., Castañares, J.L. Roqueiro, G. y Maroder, H. Efecto del priming en el comportamiento germinativo de *Festuca arundinacea* Schreb. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica Vol 48 Suplemento. XXXIV Jornadas Argentinas de Botánica. La Plata – Argentina 20013.
- Ingle, J., Beever, L. y Hageman, R.H. 1964. Metabolic changes associate with the germination of corn. I Changes in weight and metabolites and their redistribution in the embryo axis, scutellum and endosperm. *Pl. Physiol.*, Lancaster 39:735-740.
- Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. 1980. Manual de evaluación de plántulas. 2ª Ed. en español de "Handbook for seedling evaluation (ISTA). Madrid.
- International Seed Testing Association (ISTA) 2003. International Rules for Testing. Rules 1999. *Seed Sci. and Technol.* 27, suppl.
- Jones, H. G. 1992. Plants and microclimate: a quantitative approach to environmental plant physiology. Cambridge University Press. Cambridge.
- Jordan, M y Casaretto, J. 2006. Hormonas y reguladores de crecimiento. Auxinas, giberelinas y citocininas. En; Fisiología vegetal, Cap XV. F.A. Squeo & L. Cardemil, eds. Universidad de La Serena. Chile.
- Kutschera, U. y Wang, Z. 2016. Growth-limiting proteins in maize coleoptiles and the auxin-brassinosteroid hypothesis of mesocotyl elongation. *Protoplasma* 253:3–14 DOI 10.1007/s00709-015-0787-4.
- Laboriau, L.G. 1983. A germinação das sementes. Serie de Biología. Monografía n°24. Secretaría General de la OEA. Washington. USA.
- Lockhar, J.A. 1965. An analysis of irreversible plant cell elongation. *J. Theor. Biol.* 8 (2): 264-275.
- Mazzella, M.A., Casal J.J., Muschietti J.P. and Fox A.R. 2014. Hormonal networks involved in apical hook development in darkness and their response to light. *Plant Sci.* 26;5:52. doi: 10.3389/fpls.2014.00052.
- Miyamoto K., Yamasaki, T., Uheda, E. and Ueda J. 2014. Analysis of apical hook formation in Alaska pea with a 3-D clinostat and agravitropic mutant ageotropum. *Plant Sci.* 5:137.
- Montaldi, E.R. 1995. Principios de Fisiología Vegetal. Ediciones Sur. La Plata. Argentina
- Mujica, M.M., Rumi, C.P. 1998. El crecimiento inicial de *Lotus glaber* afectado por la remoción y el sombreado de los cotiledones. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata* 103 (2):127-133.

- Murcia, M., Cardinali, F.J., Clemente, N., Petersen, M. y Scorziello, J. 2011. Efecto de la fotosíntesis cotiledonal sobre el crecimiento y desarrollo de las plántulas de girasol. XXXIII Jornadas Argentinas de Botánica. Posadas. Argentina
- Kigel, J. y Galili, G. 1995. Seed development and germination. Ed. Marcel Dekker Inc.
- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Ed. Hemisferio Sur. Bs. As. Argentina.
- Raz V., Koornneef M. 2001. Cell division activity during apical hook development. *Plant Physiol.* 125:219–226 10.1104/pp.125.1.219.
- Roberts, E. H. y Ellis, R. H. 1989. Water and seed survival. *Annals of Botany* 63: 39-52.
- Sanchez, R., Kramorarovsky, E., Vallejo, H., Fernandez Lozano, J y Togneti, J. 1981. Efecto de tratamientos de presiembrá sobre el comportamiento a campo de semillas de zanahoria y pimiento. *Rev. Facultad de Agronomía* 2 (3) 173-181.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 1994. *Fisiología Vegetal*. Ed. Iberoamericana. México.
- Schooper, P., Lapierre, C. y Nolte, T. 2001. Light-controlled growth of maize seedling mesocotyl: Mechanical cell-wall changes in identification. *Physiologia plantarum* 111:83-92.
- Scorziello, J., Petersen, M. C., Murcia, M. L., Cardinali, F. J., Clemente, N. 2010. Influencia de la actividad fotosintética de los cotiledones en el desarrollo inicial en plántulas de *Cucurbita máxima*. Var. Zapallito. Actas de Jornadas de la Sociedad Argentina de Biología. Diciembre de 2010. p44.
- Srinivasan, K., Saxena, S. y Sing, B. B. 1999. Osmo- and hydropriming of mustard seeds to improve vigour and some biochemical activities. *Seed Sci. and Technol.* 27, 785-793.
- Street, H. E. y Öpik, H. 1970. *The physiology of flowering plants*. Ed. Arnold Publishers Ltd. Londres.
- Su, Y.H., Liu, Y.B. y Zang, X.S. 2011. Auxin–cytokinin interaction regulates meristem development. *Molecular plant*, 4:4 - 616-625.
- Taiz, L y Zeiger, E. 2002. *Plant Physiology*, Fourth Edition, Sinauer Associates.
- Vandenbussche F., Petrášek J., Žádníková P., Hoyerová K., Pesěk B., Raz V., et al. 2010. The auxin influx carriers AUX1 and LAX3 are involved in auxin-ethylene interactions during apical hook development in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Development* 137 597–606 10.1242/dev.040790.
- Žádníková P., Petrášek J., Marhavý P., Raz V., Vandenbussche F., Ding Z., et al. 2010. Role of PIN-mediated auxin efflux in apical hook development of *Arabidopsis thaliana*. *Development* 137:607–617 10.1242/dev.081240.
- Wareing, P. F. y Phillips, Y. D. 1981. *The control of growth and differentiation in plants*. 3th Edition. Pergamon Press. London.
- Warren, J.E. y Bennett, M.A. 1999. Bio-osmopriming tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds for improved stand establishment. *Seed Sci. and Technol.*, 27, 489-499.
- Woodward, A.W. y Bartel, B. 2005. Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann Bot.* 95(5):707-35.

Capítulo 5

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y Watson, J. D. 1994. *Biología Molecular de la Célula*. Ediciones Omega. Barcelona.

- Avers, Ch., J. 1991. *Biología Celular*. Grupo Editorial Iberoamericana. México.
- Azcon-Bieto, J. y Talon, M. 2000. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Ed. McGraw-Hill Interamericana. España.
- Barceló Coll, J., Nicolás Rodrigo, G. Sabater García, B. y Sanchez Tames, R. 1990. *Fisiología Vegetal*. Ed. Pirámide. Madrid. España.
- Besnier Romero, F. 1989. *Semillas. Biología y tecnología*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España
- Bergey D. R., Howe G. A., Ryan C. A. (1996). Polypeptide signaling for plant defensive genes exhibits analogies to defense signaling in animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 93, 12053-12058.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1978. *Physiology and Biochemistry of Seeds*. Vol. I-II. Springer-Verlag. Berlín. Alemania
- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. *Seeds. Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York and London.
- Blanco-Labra, A y Aguirre Mancilla, C. 2002. Proteínas Involucradas en los Mecanismos de Defensa de Plantas. *Acta Universitaria*. 12:3 – Sept-Dic 2002. Mejico.
- Chávez Suárez, L., Álvarez Fonseca, A. y Ramírez Fernández, C.R. 2012. Apuntes sobre algunos reguladores del crecimiento vegetal que participan en la respuesta de las plantas frente al estrés abiótico. *Cultrop* 33:3. La Habana jul.-set. 2012.
- Dominguez, F y Cejudo, F.J. 1995. Pattern of endoproteolysis following grain germination. *Physiologia Plantarum* 95:253-259.
- Fukuda, H. 1996. Xylogénesis: Iniciación, progression and cell death. *Ann. Rev. Prlant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47:299-325.
- García Garibay, M., Quinteros Ramirez, R. y López, A. 2004. *Biotecnología alimentaria*. Ed. Limusa. México.
- Gomez Cadenas, A. y Pilar Garcia, A. 2006. *Fotihormonas. Metabolismo y mecanismos de acción*. Ed. Universitat Jaume.
- Grover, A. y Jones, A. M. 1999. Tracheary element differentiation uses a novel mechanism coordinating programmed cell death and secondary cell wall sintesis. *Plant Physiology*. Vol. 119, pp. 375-384.
- Jan A, Yang, G., Nakamura, H., Ichikawa, H., Kitano, H., Matsuoka, M., Matsumoto, H y KOMATSU, S. 2004. Characterization of a xyloglucan endotransglucosylase gene that is up-regulated by gibberellin in rice. *Plant Physiology* 136: 3670-3681.
- Löblier, M. y Klämbt, D. 1985. Auxin-binding protein from coleoptile membrane of corn (*Zea mays L.*). *J. Biol. Chem.* 260:9848-9853.
- Lockhar, J.A. 1965. An analysis of irreversible plant cell elongation. *J. Theor. Biol.* 8 (2): 264-275.
- Lorenzo, O. y Solano, R. 2005. Señalización del ácido jasmónico e interacciones con otras hormonas. *Biojournal. net* . N° 1 feb/2005.
- Miyuki Kaneko, Yoshiaki Inukai, Miyako Ueguchi-Tanaka, Hironori Itoh, Takeshi Izawa, Yuhko Kobayashi, Tsukahro Hattori, Akio Miyao, Hirohiko Hirochika, Motoyuki Ashikari and Makoto Matsuoka. 2004. Loss-of-Function Mutations of the Rice *GAMYB* Gene Impair α -Amylase Expression in Aleurone and Flower Development. *Plant Cell*. 2004 Jan; 16(1): 33-44.
- Roberts, I.N., Lloyd, C.W. y Roberts, K. 1985. Ethilene-induced microtubule reorientations: mediation by helical arrays. *Planta* 164:439-447.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 1994. *Fisiología Vegetal*. Ed. Iberoamericana. México.

- Sanchez, G. R., Castro Mercado, E., Beltran Peña, E., Reyes de la Cruz, H. y García Pineda, E. 2010. El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. *Biológicas* 121(2):90-95.
- Srivastava, L. M. 2002. Gibberellins. *Plant Growth and Development: Hormones and Environment*. Ed. Associated Press. California. USA
- Taiz, L. y Zeiger, E. 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company. Redwood City.
- Toorop, P.E., van Aelst, A. C. y Hilhorst, H. W. M. 2000. The second step of the biphasic endosperm cap weakening that mediates tomato (*Lycopersicon esculentum*) seed germination is under control of ABA. *Journal of Experimental Botany* 51(349):1371-1379.
- Ueguchi-Tanaka, M, Fujisawa, Y., Kobayashi, M., Ashikari, M., Iwasaki, Y., Kitano, H. y Matsu-Oka, M. 2000. Rice dwarf mutant d1, which is defective in the alpha subunit of the heterotrimeric Gprotein, affects gibberellin signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 11638–11643.
- Wareing, P. F. y Phillips, Y. D. 1981. *The control of growth and differentiation in plants*. 3th Edition. Pergamon Press. London.

Capítulo 6

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y Watson, J. D. 1994. *Biología Molecular de la Célula*. Ediciones Omega. Barcelona.
- Avers, Ch., J. 1991. *Biología Celular*. Grupo Editorial Iberoamericana. México.
- Barceló Coll, J., Nicolás Rodrigo, G. Sabater García, B. y Sanchez Tames, R. 1990. *Fisiología Vegetal*. Ed. Pirámide. Madrid. España.
- Besnier Romero, F. 1989. *Semillas. Biología y tecnología*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1978. *Physiology and Biochemistry of Seeds*. Vol. I-II. Springer-Verlag. Berlín. Alemania.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. *Seeds. Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York and London.
- Camp Hay, P., Ramsaur, T., Smith. C. y Miernnyk, J. A. 1991. Storage protein, mobilization during germination and early seedling growth of *Zea mays*. *Physiologia Plantarum* 81:377-384.
- Citharel, L y Citharel, J. 1985. Protein bodies from the cotyledons of *Cytisus scoparius* L. (Link). Ultraestructure, isolation, and subunit composition of albumin, legumin and vivilin. *Planta* 166 (39-45).
- Dominguez, F y Cejudo, F.J. 1995. Pattern of endoproteolysis following grain germination. *Physiologia Plantarum* 95:253-259.
- Garcia Austin, P y Primo Millo, E. 1989. Ultrastructural and biochemical changes in cotyledon reserves tissues during germination of citrus seeds. *Journal of Experimental Botany* 40(212):383-390.
- Millard, P. 1988. The accumulation and storage of nitrogen by herbaceous plants. *Plant, Cell and Environment*. 11:1-8.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 1994. *Fisiología Vegetal*. Ed. Iberoamericana. México.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company. Redwood City.

Capítulo 7

- Berry T. y Bewley, J.D. 1991. Regulation of tomato seed development in the fruit. *Planta* 186:27-34.
- Besnier Romero, F. 1989. Semillas. Biología y tecnología. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1982. *Physiology and Biochemistry of Seeds*. Tomo 2. Springer-Verlag. New York
- Bewley, J. D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, Vol 9, 1055-1066. American Society of Plant Physiologists.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. *Seeds. Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York and London.
- Cardinali, F.J., Thevenon, M. A., Murcia, M.L. y Di Santo, M.E. 2015. Determinación de las condiciones de germinación y el efecto de pretratamientos en semillas de *Cuphea glutinosa* Cham et Schlcht., (Lythraceae). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 50:(2) 163-170.
- Cardinali, F.J., Thevenon, M.A. y Murcia, M. 2015. Germinación de semillas de *Gleditsia triacanthos* L. var *inermis* (Fabaceae). XXXV Jornadas Argentina de Botánica. Salta. República Argentina.
- Carvalho N. M y Nakagawa, J. 2000. Sementes. *Ciência, tecnologia e produção*. FUNEP. 588 p
- Egley, G.H. 1974. Dormancy variations in common purslane seeds. *Weed Sci.* 22:535-540. [http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Metodos de análisis de semillas.pdf](http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Metodos%20de%20análisis%20de%20semillas.pdf)
- ISTA (International Seed Testing Association) 2008. *International Rules for Seed Testing*. Bassersdorf. Switzerland. 441p.
- Khan, A.A. 1977. *The Physiology and Biochemistry of Seeds Development, Dormancy and Germination*. Ed. Elsevier. Amsterdam.
- Mayer, A.M. y Shain, Y. 1974. Control of seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25:167-193.
- Moreira de Carvalho, N. y Nakagawa, J. 1980. *Semillas. Ciencia tecnología y Producción*. Ed. H. Sur.
- Roberts, E.H. 1972. *Viability of seeds*. Ed. Syracuse University Press.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 1994. *Fisiología Vegetal*. Ed. Iberoamericana. México.
- Tigabu, M. y Oden, P.C. 2001. Effect of scarification, gibberellic acid and temperature on seed germination of two multipurpose *Albizia* species from Ethiopia. *Seed Sci.Technol.*, 29: 11-20.
- Villiers, T. A. 1979. *Reposo y supervivencia de las plantas*. Cuadernos de Biología. Ediciones Omega Barcelona, España.
- Wareing, P. F. y Phillips, Y. D. 1981. *The control of growth and differentiation in plants*. 3th Edition. Pergamon Press. London.
- Web, P.D., van Staden J. and areing P:F: J. 1973. Seed dormancy in *Acer*. Changes in endogenous cytokinins, gibberellins and germination inhibitors during the breaking of dormancy in *Acer saccharum*. *Journal of Experimental Botany* 24, 105-116.
- Williams, J.T. and Harper, J.L. 1965. Seed polymorphism and germination. I. The influence of nitrates and low temperatures on the germination of *Chenopodium album*. *Weed Research* Vol 5, Issue 2.

Capítulo 8

- Azcon-Bieto, J. y Talon, M. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. Ed. McGraw-Hill Interamericana. España.
- Ballaré, C.L. 1999. Keeping up with the neighbours: Phytochrome sensing and other signalling mechanism. *Trends in Plant Science*. 4: 97-102.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. Seeds. *Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York and London.
- Fankhauser, C. 2001. The phytochromes, a family of red/far-red absorbing photoreceptors. *The Journal of Biological Chemistry*. 276: 11453-11456.
- Ikuma, H. 1964. The effects of temperature on the germination and radicle growth of photosensitive lettuce seed. *Plant and Cell Physiology*, Volume 5:4, pp 429-439.
- Kendrick, R.E. y Kronenberg, G.H.M. 1994. *Photomorphogenesis in Plants*. 2nd. Ed. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- Mayer, A.M. 1974. Control of seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 25:167-193.
- Martinez, E.S. y Agusti, L.M. 2006. *Prácticas de crecimiento y desarrollo de los vegetales*. Ed. EUB – Barcelona.
- Marañón, T. 2001. Ecología del banco de semillas y dinámica de comunidades mediterráneas. En Zmora Rodríguez, R., y Pugnaire deslraola, F.I. (eds), *Ecosistemas mediterráneos. Análisis funcional*. CSIC/AEET.
- Salisbury, F. B. y Ross, C. W. 1994. *Fisiología Vegetal*. Ed. Iberoamericana. México.
- Toyomasu, T., Kawaide, H., Mitsuhashi, W., Inoue, Y. y Kamiya, Y. 1998. Phytochrome Regulates Gibberellin Biosynthesis during Germination of Photoblastic Lettuce Seeds. *Plant Physiol*. 118(4): 1517-1523.
- Villiers, T. A. 1979. Reposo y supervivencia de las plantas. *Cuadernos de Biología*. Ediciones Omega Barcelona, España.
- Wareing, P. F. y Phillips, Y. D. 1981. *The control of growth and differentiation in plants*. 3th Edition. Pergamon Press. London.

Capítulo 9

- Besnier Romero, F. 1989. *Semillas. Biología y tecnología*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Bewley, J.D. y Black, M. 1994. Seeds. *Physiology of Development and Germination*. Plenum Press. New York and London.
- Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. In: *Seed Development and Germination*. Kigel, J. and Galili, G. Eds. Marcel Dekker Inc. New York.
- Gulliver, R.L. y Heydecker, W. 1973. Establishment of seedling in a changeable environment. In: *Seed Ecology*. Heydecker, W. Ed. Butterworth. Londres.
- Harper, J.L. 1977. *Population biology of Plants*. Ed. Academic Press, New York.
- Nascimento, W.M. 2003. Ethylene and lettuce seed germination. *Sci. Agric*. 60:3. Piracicaba, Brazil.
- Villiers, T. A. 1979. Reposo y supervivencia de las plantas. *Cuadernos de Biología*. Ediciones Omega Barcelona, España.

Capítulo 10

- Alizaga, R. 1989. Avaliação de testes de vigor em sementes de feijão e sus relações com a emergência a campo. Tesis M.Sc. Rio Grande do Sul. Universidade Federal de Pelotas, Facultad de Agronomía.
- Borrajó, C.I. 2006. Importancia de la calidad de semilla. Curso internacional en Ganadería Subtropical. Sitio Argentino de Producción Animal. Reconquista. Argentina.
- Borrajó, C.I.; Ramírez, M. 2006. Toma y remisión de muestras. Laboratorio de Semillas. Programa Capacitación 2006. Ed. EEA Mercedes, Centro Regional Corrientes. INTA.
- Cabrera, A.C.; Peske, S.T. 2002. Testes do pH exsudato para sementes de milho. Revista Brasileira de Sementes. 24(1): 134-140.
- Cardinali, F.J., Thevenon, M. A., Di Santo, M.E. y Murcia, M.L. 2013. Estudio del poder germinativo de semillas de *Cuphea glutinosa* Cham et Schlcht., (Lythraceae). XXXIV Jornadas Argentinas de Botánica. La Plata. Argentina.
- Cardinali, F.J., Thevenon, M.A. y Murcia, M. 2015. Germinación de semillas de *Gleditsia triacanthos* L. var *inermis* (Fabaceae). XXXV Jornadas Argentina de Botánica. Salta. Argentina.
- Cardinali, F.J., Thevenon, M. A., Murcia, M.L. y Di Santo, M.E. 2016. Determinación de las condiciones de germinación y el efecto de pretratamientos en semillas de estudio del poder germinativo de semillas de *Cuphea glutinosa* Cham et Schlcht., (Lythraceae). Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 50:(2) 163-170.
- Carrillo, J. 2003. Manejo de Pasturas. Ed. EEA INTA Balcarce.
- Casini, C; Rodriguez, J.C., Cabral, G. 2005. Poscosecha en soja. En: Soja, eficiencia de cosecha y poscosecha. Proyecto de eficiencia de cosecha y poscosecha de granos. Manual técnico N° 3 Ediciones INTA. Argentina. p188-212.
- Cetrisem 1988 Centro de Estudios e Treinamento em Tecnologia de Sementes e Mudas. Curso internacional de controle interno de qualidade de sementes. Universidade Federal de Pelotas 7.10-1988 anexo 7: xi 13-14.26/9.
- Craviotto, R.M. y Arango Pereanu, M.R. 2009. Evaluando calidad en simiente de maíz: la prueba de frio. Para mejorar la producción 41. INTA EEA Oliveros.
- Craviotto, R.M.; Arango, M.R. 2007. Daño mecánico en soja. Una prueba rápida para identificarlo: Prueba de Hipoclorito. Revista Análisis de Semillas Año 1. N° 2. pp 73-74.
- Crovo, V., Clemente, N., Murcia, M. L. 2013. Utilidad de la prueba colorimétrica de pH de exudados de semillas de arveja (*Pisum sativum*) en la zona hortícola de Mar del Plata. XXXVI Congreso Argentino de Horticultura. 24 al 26 de septiembre- Tucumán. Argentina. p.402.
- Crovo, V., Murcia, M. y Clemente, G.. 2014. Detección de patógenos en semillas de arveja (*Pisum sativum*). III Congreso Argentino de Fitopatología. Argentina.
- Dominguez, C., Batlla, D. y Benech Arnold, R. 2014. Dormición impuesta por pericarpio en aquenios de girasol (*Helianthus annuus*): su eliminación a escala industrial. XV Congreso Latinoamericano y XXX Reunión Argentina de Girasol. Mar del Plata. Argentina.
- Doria, J. 2010. Generalidades sobre la semilla: su producción, conservación y almacenamiento. Cultrop v.31, n1. La Habana. Cuba.

- Fernandes, E.J.; Sader, R.; Carvalho, N.M. 1987. Viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) estimada pelo PH do exsudato. In: Congresso Brasileiro de Sementes, 5,
- Gallo, C., Arngo, M., Craviotto, R. 2012. Prueba colorimétrica de PH del exudado de semillas para la evaluación de vigor en simientes de arveja (*Pisum sativum* L.). INTA.- Oliveros. Gramado. Anais. Brasília: ABRATES, 1987. p.80.
- Herrera, J., Alizaga, R. Guevara, E. y Jimenez, V. 2006. Germinación y crecimiento de la planta. Ed. Universidad de Costa Rica
<http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen3>
[http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Metodo de análisis de semillas.pdf](http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Metodo%20de%20análisis%20de%20semillas.pdf)
- Isely, D. 1957. Vigor tests. Proc. Ass. Off. Seed Anal. 47: 176-182.
- ISTA (International Seed Testing Association) 2012. International Rules for Seed Testing. Zurich. 500p.
- Manfrini, D. 2004. Análisis de vigor en semillas. Revista del Plan Agropecuario Septiembre/2004. INASE. Uruguay.
- Murcia, M.L., Giletto, C.M., Eloya, S., Martín, C. (2008). Resistencia al golpe en dos cultivares de soja. Análisis de Semillas. Tomo 2 vol. 2 N° 6: 91-94.
- Peretti, A. 1994. Manual para Análisis de Semillas. Ed. Hemisferio Sur. Argentina.
- Rech, E.G.; Amaral Villela, F.; Tillmann, M.A.A. 1999. Avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de ervilha. Revista Brasileira de Sementes. 21(2): 1-9.
- Perry, D.A. 1980. The concept of seed vigour and relevance to seed production techniques. In Seed production. Ed. By P.D. Hebblethwaite, Butterworths, London.
- Rincón, F y Molina, J. 1990. Efecto del método de envejecimiento artificial sobre la germinación de semillas de maíz. Agronomía Mesoamericana 1: 51-53.
- Salinas, A.R., Yoldjian, A.M., Craviotto, R.M. y Bisaaro, V. 2001. Pruebas de vigor y calidad fisiológica de semillas de soja. Pesq. agropec. bras. vol.36 n° 2. Brasília.
- Szemruch, C., Renteria, S., Cantamutto, M., Ferrari, L., Murcia, M., Rondanini, D. 2014. Propuestas de umbrales de vigor de girasol estimados en base al test de conductividad eléctrica. 6° Congreso Argentino de Girasol. ASAGIR, taller pre-congreso 26 – 27 de marzo de 2014.

ÍNDICE ALFABÉTICO

A

- ABA, 112
 acción, 113-114
 aspectos históricos, 112
 concentración, 114
 vías de síntesis, 112-113
 dormición, 138, 145, 147, 148, 151
 Absorción de oxígeno, 74
 Acacia de las tres espinas, 78, 144
 Acacia negra, 78, 144
 Acacias, 55
 Acetil CoA, 47
Acer negundo, 146
Acer saccharum, 148
 Ácido
 abscísico ver ABA
 araquidónico, 47
 butírico, 56
 fítico, 49
 fosfatídico, 48
 grasos 47
 láctico, 72
 pirúvico, 72
 galacturónicos, 56
 glucurónicos, 56
 hidroxifluoreno-carboxílico
 (HFCA), 81
 insaturados, 47
 láurico, 47
 linoleico, 47
 linolénico, 47
 mirístico, 47
 oleico, 47
 salicílico, 122-123
 saturados, 47
 naftiltalámico (NPA), 81
 palmítico, 47
 triiodobenzoico (TIBA)
 Ácido jasmónico, 120
 acción, 121-122
 estructura química, 120
Aesculus hippocastanum, 68
Agrobacterium tumefaciens, 109
Agrostis alba, 166
- AIA
 biosíntesis, 108
 estructura química, 107
 Almacenamiento en seco, 150
 Albúminas, 44
 Aleurona
 capa, 44, 46, 47, 51
 Algodón, 21, 54, 131
Allium cepa, 52, 79
 Almidón, 41, 42
 degradación, 127
 Alternancia de temperaturas, 180
Amaranthus albus, 170
Amaranthus retroflexus, 170
 Ambrosia, 164
Ambrosia artemisifolia, 170
 Amidas, 46
 Amilipeptina, 41, 42
 Amiloplastos, 32, 41, 42
 Amilosa, 41
 Aminoácidos, 46
 Amonio, 46
 Análisis de semilla
 germinación, 176-177
 pureza, 175
 pureza física, 176
 Anátropo, 25
 Anegamiento, 169
 Angiospermas, 16, 23, 24, 27, 31, 34, 38, 51
 Annonáceas, 146
 Antera, 28
 Antípodas, 26
 Aporogamia, 32
Apium, 170
Arabidopsis thaliana, 119
Arachis hypogaea, 68, 170
 Araquidónico, 47
 Arilos 55
 carúncula, 55
 depósitos de aceite, 55, 56
 dispersión, 55
 estrofiolo, 55
 Aristolochiáceas, 53
 Arquegonios, 34
 Arroz, 21, 39, 40, 82, 170
 Arveja, 21, 43, 69, 81
 Avellano, 21
 Avena, 20, 21, 43, 86, 131

Auxinas, 82, 105
 aspectos históricos, 105-107
 libre y conjugada, 108

B _____.

Bambú, 82
 Bambusa, 82
 Bohemia, 145
 Blotter test, 199
Brachiaria decumbens, 181
 Brasinas, 119
 acción, 120
 aspectos históricos, 119
 estructura química, 120
Brassica sp., 49, 119
Brassica alba, 86
 Brincos, 150

C _____.

Cacao, 201
 Café, 20, 201
 Cafeto, 43, 128
 Cálaza, 25
 Calotropis procera, 134
 Campilótrofo, 25
 Capa de aleurona, 44, 46, 47, 51
 Capa de Malpighi, 54
 Capa nutricia, 28
Capsicum annuum, 86, 123
 Carboxipeptidasas, 130
 Cariofiláceas, 51
 Cariopse, 21, 27
 Carúncula, 55
 Cascuta, 40
 Castaño de las Indias, 68
 Casuarina, 32
 Cebada, 20, 78, 82, 126
 Cebolla, 52, 79
 Cedro, 33
 Celobiosa, 42
 Células
 de Malpighi, 54
 mucilaginosas, 56
 Celulosa, 42, 58
Celtis spinosa, 58, 59, 143
 Cereales, 46
 Cesalpinióidea, 23

Chenopodium álbum, 143, 146, 170
Chenopodium rubrum, 164
Cicer arietinum, 80, 111
 Ciclo
 celular, 104
 pentosas fosfato, 71, 72
 de Krebs, 71, 72, 73
 vital de una angiosperma, 33
 vital de una gimnosperma, 35
 Cigota, 38
 Cipsela, 21
 Citocininas, 109
 acción, 110
 aspectos históricos, 109
 cinetina, 110
 estructura química, 110
 zeatina, 110
 , 110
 Cocos, 23
 Coco de mar, 23
Cocos nucifera, 47
 Cocotero, 47
 Coeficiente de Logro (CL), 185
Coffea arabica, 43, 128, 201
 Coleóptilo, 77, 82-85
 Coleorriza, 40
 Colza, 47
 Compuesta, 50, 56, 143
 Conservación de semillas, 200
 Coniferol, 54
 Conos
 masculinos, 33
 femeninos, 33
Corylus avellana, 146, 147
 Cotiledónes, 50, 52
 aporte fotosintético, 87-89
 Crecimiento del embrión, 75
 Crucíferas, 25, 50, 56, 143
 Cuartina, 53
Cucumis melo, 134, 138
Cucumis sativus, 21, 111, 170
Cucurbita maxima var. zapallito, 88, 89, 111
 Cucurbitáceas, 50, 131
 Cubiertas 53
 anatomía, 54
 células mucilaginosas, 56
 concepto, 53
 dispersión, 53, 55, 56

dureza, 53
 origen, 33
 permeabilidad, 53
Cuphea glutinosa, 144-145, 178
 Cuerpos grasos o lipídicos, 47, 48, 130
 Cuerpos proteicos, 46
 inclusiones globoides, 46
 cristaloides, 46
 Cumarina, 145
 Cumarol, 54
Cuphea glutinosa, 44, 45, 151
Cyca revoluta, 56
 Cycosel (CCC), 104
Cyperus rotundus, 20

Ch

Chalaza, 19, 25, 32
 Chalazogamia, 32
Chelidonium, 55
Chenopodium sp., 55

D

Dactylis glomerata, 181
 Damasco, 114
 Damping-off, 87
 Datilero, 43
Daucus carota, 86
 Dehiscencia de la antera, 29
 Densidad de siembra, 184, 185
 Desinfección de semillas, 181
 Desdoblamiento del gancho plumular, 81, 82
 Dextrinas, 26
 Dicotiledóneas, 24, 28, 32
 embriogénesis, 39
 Digalactosil diglicérido, 48
 Dihidroxiacetona fosfato, 48
Dimorphandra megistorperma, 23
Diospyros, 43, 44
 Dispersión
 alas, 56
 arilos, 55
 por el aire (anemófila), 53
 por el agua (hidrófila), 56
 por hormigas, 55
 Doble fecundación, 33
 Dormición, 134

ABA, 138
 absoluta, 139-140
 causas, 141
 embrional, 146
 física, 141
 impuesta por cubiertas, 141
 mecánica, 141
 morfofisiológica, 141
 química, 141
 relativa, 139-140
 semillas y yemas, 135
 plantas salvajes y domesticadas, 137
 primaria o innata, 139-140
 secundaria o adquirida, 139-140
 tipos, 139-140
 Draught scaping, 135
 Drusas, 47

E

Ecuación
 de Lockhart, 76
 de van't Hoff, 63
Elaeis guineensis, 47
Eleagnus angustifolia, 145
 Eleosomas, 55
 Ebenáceas, 43
 Embriogénesis, 39
 dicoytiledónea, 39
 monocoytiledónea, 39
 Embrión, 37
 concepto, 37
 origen, 37
 polaridad, 38
 tipos, 25
 ubicación, 40
 Embriones múltiples, 40
 Emergencia, 77
 gancho o codo, 77-82
 coleóptile, 82-85
 radícula, 89
 Endopleura (tegmen), 53
 Endosperma, 51
 amiláceo, 51
 depósito de proteínas, 47
 origen, 33, 51
 primario, 51
 remolacha, 52

secundario, 51
 ubicación, 51
 Endotecio, 27-29
 Enebro, 33
 Energía germinativa, 181
 Epiblasto, 39
 Epicótilo, 35, 39, 77, 78, 81, 82
 Epimacio, 24
 Episperma, 53
 Escarificación, 143
 Escutelo, 39
 Esferosomas, 47, 48, 130
 Especies C3 y C4, 46
 Espermatófitas, 16, 17
 Espinaca, 134
 Esteárico, 47
 Esterificación, 48, 49
 Estigma, 31
 Estímulos y respuestas en plantas, 123
 Estilo, 31
 Estrategias de emergencia, 77
 Estratificación, 147
 Estrofiolo, 55
 Etanol, 72
 Ethrel, 170
 Etileno, 82, 115, 169
 aspectos históricos, 115
 biosíntesis, 116
 conjugados, 117
 luz, 118
 triple respuestas, 117-118
 Ethrel, 170
Euphorbia elioscopia, 55
 Exina, 30
 Exotecio, 27-29

F _____.

Fabáceas, 50
 Fecundación, 33
 doble, 29, 33
 porogámica, 32, 53
 simple, 34
 Fenilalanina, 45
 Festuca, 86, 87
Festuca arundinacea, 86, 87
 Filamento, 28
 Filotaxis, 84
 Fermentación, 44, 71
 Fitina, 46, 49, 131

Fitocromo, 82, 119, 155-157
 condiciones ambientales, 159,
 163, 164
 espectro de absorción, 160
 fotoconversión, 156-157
 localización, 157
 mecanismo de acción, 160-161
 síntesis y degradación, 157-158
 tiempo de escape, 160
 Fosfolípidos, 48
 Fosfatidil colina, 48
 Fotoblastismo, 153
 aspectos ecológicos, 161-162
 espectro de acción, 153-154
 fotocontrol, 153-154
 negativo, 153
 positivo, 153
 respuesta a la luz, 153
Fraxinus americana, 146
Fraxinus sp., 56
 Fresno, 21, 56
 Fruto
 concepto, 20, 21
 dispersión, 58
 llenado, 40
 monospermo, 57
 uniseminado, 20
 Fruto-semilla, 20
 Funiculo, 25

G _____.

Gameta masculina, 30
 Gametofito femenino, 26
 Gametofito masculino, 27, 29
 Gancho plumular, 51, 77
 desdoblamiento, 81, 82
 Garbanzo, 80
 Germinación 61-62
 alternancia de temperaturas, 180
 ambiente, 163-171
 agua, 166-169
 anegamiento, 169
 edáfico, 164-169
 profundidad, 170-171
 radiación, 163-164
 temperatura suelo, 164-
 166
 disponibilidad de agua, 179

entre papeles, 179
 epígea, 50, 78
 fotocontrol, 161-162
 hipógea, 80
 impedimientos, 133
 luz, 180
 pretratamientos, 181
 proceso, 61
 promotores, 151
 respuesta a la luz, 153-154
 sustrato, 177-179
 temperatura, 179-180

Giberelinas, 82,
 aspectos históricos, 95
 características químicas, 96-97
 crecimiento, 103

dormición, 148, 150
 mecanismos de acción, 98-99
 movilización de las reservas, 100-101
 promotor, 151

Gimnospermas, 16, 24, 33, 34, 35, 38
Ginkgo biloba, 15, 56
 Girasol, 20, 21, 40, 47, 56, 57, 88, 89, 111, 131, 181, 183, 184, 189
Gleditsia triacanthus, 78, 144, 181
 Glicerol, 48
 Globulinas, 44
 Glucolípido, 48
 Glucólisis, 71, 73, 151
 Glutelinas, 44
 Gluten, 44
Glycine max, 20, 114, 192
Gossypium hirsutum, 21, 54, 131
 Gramíneas, 21, 24, 29, 40, 46, 51
 Grano, 20
 Grano de almidón, 42, 43
 Grano de pólen, 28, 29, 31
Goodyera repens, 23
Gossypium hirsutum, 53, 56

H

Haustorios, 38, 79
Helianthus annuus, 20, 21, 40, 56, 57, 88, 89, 111, 131
 Hemicelulosa, 43, 58
Heracleum, 145

Herbivoría, 55
 Heteroblastismo, 143
 Heterogenidad fisiológica, 143
 Hidratación, 62-63
 patrón trifásico, 68
 Hilo, 42
 Hipoclorito de sodio, 181
 Hipocótilo, 35, 40, 77, 78, 81, 82
 Hoja carpelar, 24
Hordeum, 20, 82, 126
 Hormonas
 concepto, 91
 concentraciones, 91
 receptores, 92
 mecanismos de acción, 92
 precursores, 93, 94
Hypochaeris radicata, 164

I

Imbibición véase Hidratación
Impatiens balsamina, 150
 INASE, 18, 175
 Inclusiones 46
 globiodes, 46
 cristaloides, 46, 47
 Inhibidores
 químicos, 145
 en el embrión, 146-147
 Intina, 30
 Iodo ioduro de potasio, 42
Ipomea batatas, 43
 Inclusiones, 46
 globoides, 46
 cristaloides, 46, 47
 Intina, 30
 Irupé, 55
 Isoprenoides, 94
 ISTA, 18, 62, 134, 151, 175, 177, 178, 182

J

Jacarandá, 56
Jacaranda mimosifolia, 56
 Jasmonatos, 120
Jouvea pilosa, 82

K

L_____.

Labiadas, 56
Lactuca sativa, 38, 53, 111, 154, 170
 Latencia, 134
 Láurico, 47
 Lecitina, 48
 Lechuga, 38, 53, 111, 154, 170
 Leguminosa, 23, 25, 46, 50, 54,
 Letargo, 134
 Leucina, 45
 Lignina, 53-55
 Lino, 47, 56
Linum usitatissimum, 56
 Lípidos, 47, 130
 degradación, 130-131, 132
 Lisina, 45
 Litráceas, 53
Lodoicea maldivica, 23
 Lotus, 88, 190
Lotus glaber, 88
 Lugol, 42
 Lupinos, 43
Lupinus sp., 43
Lycopersicum esculentum, 56, 86, 102,
 114, 138, 151, 170

LL_____.

M_____.

Macollo, 85
 Macroscleireidas, 54
 Madurez fisiológica, 48
 Magnoláceas, 146

***Maíz*, 20, 23, 39, 41, 42, 47, 75, 83, 84,
 85,
 138, 169, 190**

 Mananos, 53
 Mangle, 138
Mangifera indica, 201
 Mango, 201
 Maní, 68, 170
 Megaspora, 25

Melón, 134, 138
 Meristema
 caulinar, 38
 radicular, 38
 Mesocótilo, 82
 Mesófilo
 empalizada, 50
 esponjoso, 50
 Mesogamia, 32
 Micrópila, 25, 32, 53
 Microsporangios, 33
 Microsporofilo, 33
 Microsporogénesis, 30
 Mioinositol, 49
 Mirístico, 47
 Modelo de Khan, 149
 Monocotiledóneas, 32, 37
 embriogénesis, 39
 Monogalactosil diglicérido, 48
 Mostaza, 86
 Mostaza blanca, 111
 Muestra compuesta, 175
 Muestras primarias, 175
 Muestreo de semillas, 175
 Musílagos, 56
Myristica fragans, 55

N_____.

Nicotiana tabacum, 102, 109
 Ninfáceas, 51
 Nitrato, 46
 Nitrato de potasio, 151
 Nitrógeno, 45, 46
 Nucela, 24-25, 34, 51
 Nucelar
 tejido, 51
 Núcleo
 generativo, 29
 vegetativo, 29
 Núcleos polares, 26
 Nudo cotiledonar, 40
 Nuez moscada, 55

O_____.

Oleáceas, 146
 Oleosomas, 47
 Olmo, 21, 56

Oriza sativa, 39, 82, 170
 Orquidáceas, 23, 40, 53
 Ortótropo, 25
 Osteoesclereidas, 54
 Ovocélula, 26, 33, 37
 Óvulo 24,
 anátropo, 25
 átropo, 25
 bitégmico, 24
 campilótropo, 25
 desarrollo, 26
 ortótropo, 25
 unitégmico, 24, 34
 Oxalato de calcio, 47

P

Palma aceitera, 47
 Palmítico, 47
 Palta, 201
Panicum máximum, 151
 Papa, 17, 42
 Patrón trifásico de hidratación, 68
 Pectinas, 31
 Pepino, 21, 111, 170
 Pericarpio, 20, 56
 Perisperma, 51
Persea americana, 201
 Pérulas, 137
Phaseolus heterophyllus, 137
Phaseolus lunatu, 67
Phaseolus polystachios, 137
Phaseolus polyanthus, 137
Phaseolus vulgaris, 67, 78, 114, 119, 137
Phoenix dactylifera, 43
Phytium sp, 87
 Fosfon-D, 104
 Pino, 34

Pinus, 35

Pinus sylvestris, 160
 Pimiento, 86
 Piperáceas, 51
Pisum sativum, 41, 69, 83
 Placenta, 24
 Plantagináceas, 56

Plantago psyllium, 56, 164
 Plantas
 C₃, 46
 C₄, 46
 efimeras, 135
 Plántula, 51, 77, 78
 Plántula normal y anormal, 182-184
 Plastidios, 32
 Plúmula, 39, 75, 80
 Poáceas, 24, 37
 Poder germinativo, 177, 182
 evaluación, 182-184
 Podocarpáceas, 24
 Poliembrionía, 40
 Poligonáceas, 51
 Polimorfismo, 143
 Polinización, 31
 Polisomas, 45
 Porogamia, 32
 Poroto, 21, 23, 78, 114, 119, 137
Portulaca olareacea, 135, 136
 Posdormición, 140
 Potencial
 agua, 63
 osmótico, 63
 presión, 64
 mátrico, 65
 gravitacional, 65
 Predormición, 140
 Pretratamientos, 86
 Primina, 24, 25, 53
 Prolaminas, 44
 Proteasas
 aleurona, 129
 embrión, 130
 endoproteasas, 130
 endosperma, 129
 Proteínas, 44
 foliares, 46
 acumulación, 44
Pseudomonas aureofaciens, 87
 Pseudoxerófitas, 135
Prunus americana, 114
 Pureza física y botánica, 175-176, 184, 185

Q

Q10, 69

Quenopodiáceas, 51, 143
Quercus rubur, 201
 Quiescencia, 133
 Quintina, 53
 Quinoa, 143

R

Rabanito, 86
 Radícula, 40, 57, 62,74, 75, 78
 Rafe, 25
 Rafinosa, 126
Raphanus sativus, 86
 Remolacha, 51, 52
 Ranunculáceas, 146
 Reposo, 134
 Reseda, 55
Reseda odorata, 55
 Reservas, 40, 125
 amiláceas, 41
 cambiantes, 52
 carbohidratos, 125
 clasificación, 50
 cotiledonales, 50, 86
 degradación, 125
 ruta hidrolítica, 126
 ruta fosforolítica, 128
 endospermadas, 51, 86
 en pared, 53
 movilización, 125
 perispermadas, 51, 86
 proteicas, 128
 degradación, 129
 tipos, 41
 Resistencia Sistémica Adquirida (RSA), 123
 Respiración, 71
 Respuesta triple etileno, 117-118
 Resto nuclear, 52
 Retardadores del crecimiento, 104-105
 Retículo endoplásmico, 47
Rhizophora mangle, 138
 Ribulosa 1,5 di fosfato carboxilasa, 46
 Ricino, 38, 47,49
Ricinus comunis, 55, 130
 Roble europeo, 201
 Rosa, 114
Rosa canina, 146
 Rubisco, 46

S

Sacarosa, 40, 126
 Saco embrionario, 27, 34
 Saco polínico, 28, 29, 33
 Salvado, 57, 58
 Salicilatos, 122
 acción, 123
 concentraciones, 123
 estructura química, 122

Salix alba, 122
 Sanidad, 199
 Sarcotesta, 55
 Secundina, 25, 53
 Semilla
 amiláceas, 41
 calidad, 173-174
 composición morfológica, 23
 condiciones ambientales, 163
 conservación, 200
 cotiledonales, 38, 50
 definición, 19, 20, 23
 diseminación, 19
 endospermadas, 38, 51
 estructura, 37
 fósiles, 15
 fotoblásticas, 153
 fruto, 21
 historia, 15
 Ley de, 18, 20
 origen y evolución, 15
 oleaginosas, 47
 ortodoxas, 201
 perispermada, 51
 perpetuación, 19
 proteaginosas, 44
 punto de vista agronómico, 19
 recalcitrantes, 201
 resistencia, 19
 sanidad, 199
 tamaño, 23-24
 unidad reproductiva, 20
 Siete sangrías, 144-145
 Simiente, 20
 Simple unidad de membrana, 48
Sinapis alba, 111, 164
Sinapis arvensis, 164
 Sinapol, 54
 Sinérgidas, 26

Sitios seguros, 171

Solanum tuberosum, 42

Soja, 20, 114

Sorgo, 20

Spinacea oleracea, 134

Stand de plantas, 185

Streptochaeta, 82

Suspensor, 35, 38

Sustratos, 177-179

T

Tala, 58, 59, 143

Taninos, 54

Tapete, 27, 28

Técnica de tetrazolio, 189

Tegmen, 24, 53

Tegumento

externo, 24

interno, 24

cuartina, 53

quintina, 53

seminal, 53

tercina, 53

Temperatura 179

alternas, 180

Tejido de transmisión, 31

Tejido nucelar, 51

Tercina, 53

Test

Blotter, 199

de frío, 193-195

de envejecimiento acelerado,
195-196

de conductividad eléctrica, 196-
198

de conductividad eléctrica indi-
vidual, 198

de curvatura de avena, 105-106

de hipoclorito de sodio, 190

de pH exudados, 190

Testa, 24, 53

Tetrazolio, 188-190

Theobroma cacao, 201

Tirosina, 45

Tomate, 21, 56, 86, 114, 138, 170

Trifolium, 170, 190

Trifolium subterraneum, 170

Triglicérido, 48

Trigo, 20, 21, 37, 39, 41, 42, 57, 58, 82

Triticum sp., 39, 42, 57, 58, 82

Tubo polínico, 29, 31, 32, 34

U

Ulmus, 32, 56

Umbelífera, 146

Umbral de hidratación, 71

Ureídos, 45

V

Valor cultural, 185

Verdolaga, 135, 136

Veronica arvensis, 149

Vía de las pentosas fosfato, 151-152

Vía de los isoprenoides, 94

Viabilidad, 187-190

ensayos rápidos, 190

Vicia graminea, 134

Victoria cruziana, 55

Vid, 114

Vigor de semillas, 190-193

ensayo validez, 199

Vitis vinifera, 114

Viviparidad, 138

W

Went, 105

X

Xanthium pensylvanicum, 142-143

Xilanos, 53

Y

Z

Zanahoria, 86

Zapallito de tronco, 88, 89

Zaragatonia, 56

Zea mays, 20, 39, 42, 53, 75, 83,
84, 85, 109, 169

Zeinas, 47

