

Tratamientos pregerminativos de hidratación parcial de las semillas. Una vía para incrementar la germinación bajo condiciones adversas de iluminación*

Jorge A. SÁNCHEZ RENDÓN** y Bárbara MUÑOZ GARCÍA**

ABSTRACT. The capacity of pregerminative partial hydration treatments to increase the germination under adverse conditions of illumination in fresh seeds of cucumber (*Cucumis sativus* L.) was determined. Seeds of two cucumber varieties were used harvested in Cuba (Hatuey-1 and Japonés), and two pregerminative treatments were applied. In both varieties the priming with water and one cycle of hydration-dehydration turned out to be effective to increase the percentage of final germination in seeds sowed under continuous far-red irradiations and to the darkness. Germinative behavior of the variety Hatuey-1 went more sensitive to the far-red irradiation than in the variety Japonés also; consequently, the germinative increment achieved with the conditioner treatment was superior in the variety Hatuey-1.

KEY WORDS. *Cucumis sativus*, cucumber, seeds, germination, pregerminative partial hydration treatments.

INTRODUCCIÓN

La fotosensibilidad en las semillas se debe a la presencia de un pigmento fotorreceptor (fitocromo) en las membranas celulares (Smith, 1982), que es capaz de captar los cambios de la composición espectral de la luz que reciben las semillas. El funcionamiento y estructura de este pigmento se conoce con profundidad y fue descrito por Borthwick *et al.* (1952) basándose en un experimento con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) de la variedad Gran Rapids.

El fitocromo tiene dos estados: uno fisiológicamente inactivo (Pr), que absorbe en la banda espectral de aproximadamente 620 nm y otro activo (Pfr) que absorbe en la banda espectral de aproximadamente 720 nm, ambas formas son intercambiables. La forma inactiva se transforma en forma activa al ser irradiada con luz roja (620 nm) y la forma activa se inactiva por luz rojo lejano (720 nm); de esta manera, la cantidad relativa de cada forma del pigmento en las células vegetales dependerá de la relación rojo (R)/rojo lejano (RL), que llegue al embrión (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1993, 1994).

En las zonas descubiertas de vegetación la R/RL tiene valores altos y por consiguiente, desencadenará la germinación de las semillas ya hidratadas. En cambio, en las zonas cubiertas por vegetación, la luz se filtrará y la R/RL tendrá valores bajos, que inactivará la germinación de las semillas fotoblásticas positivas o que requieren luz blanca para germinar (Pérez, Rincón y Orozco-Segovia, 1992; Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1993).

Sin embargo, la luz no es el único factor que puede cambiar la relación entre el fitocromo activo y el contenido total de fitocromo (Pfr/Pt) en las semillas. Según Orozco-Segovia y Vázquez-Yanes (1992) este fenómeno está muy correlacionado con el ambiente edafoclimático que rodea a los propágulos. Factores tales como: la temperatura del suelo, el tipo de suelo, la hojarasca, la concentración de CO₂, y de O₂, el ácido giberélico, el etanol y la humedad que alcancen las semillas entre otros, pueden jugar un papel importante sobre los niveles de Pfr/Pt.

Por ejemplo, se plantea que el suelo constituye un filtro de luz, a través del cual sólo penetran principalmente las longitudes de ondas largas (inactivadora de la germinación), hasta los primeros 0.9 cm de profundidad.

Una vía fisiológica para incrementar la germinación bajo condiciones adversas de iluminación son los tratamientos pregerminativos de hidratación parcial de las semillas (Georghiou *et al.*, 1987; Thanos y Georghiou, 1988) que consisten en la inmersión de las semillas en soluciones osmóticas o en agua durante cierto periodo, con o sin previa deshidratación antes de la siembra (Heydecker *et al.*, 1975; Henckel, 1982; Orta *et al.*, 1998; Sánchez, 1997).

Estos tratamientos se conocen fundamentalmente en la literatura científica como "acondicionadores de semillas" (seed priming) (Heydecker *et al.*, 1973), y activan una serie de procesos bioquímicos-fisiológicos relacionados con la respuesta germinativa, pero impiden la culminación del proceso por limitaciones hídricas que sufre el embrión al ser deshidratado (Heydecker *et al.*, 1975; Henckel, 1982).

Bajo condiciones óptimas las semillas frescas pepino exhiben germinación satisfactoria (Edwards *et al.*, 1986), aunque diversos autores (Nienhuis y Lower, 1981; Sánchez *et al.*, 1997) encontraron dormancia embrionaria en algunas variedades. Además, se conoce que en la oscuridad la germinación ocurre normalmente, pero se inhibe este proceso bajo irradiaciones continuas de luz RL; por tanto, es evidente que la germinación de esta especie puede ser controlada por el fitocromo (Yaniv *et al.*, 1967).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la capacidad de los tratamientos acondicionadores de hidratación parcial para incrementar la germinación de semillas de pepino sembradas bajo condiciones adversas de iluminación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas frescas de dos variedades de pepino cultivadas en Cuba (Hatuey-1 y Japonés), obtenidas en diciembre de 1994 y suministradas por el Laboratorio Central de Certificación de Semillas del Ministerio de la Agricultura. Ambas variedades presentaron una viabilidad potencial inicial de 97%, determinada mediante la prueba topográfica de Tetrazolium, según las normas del *International Seed Testing Association* (1985).

*Manuscrito aprobado en mayo de 1999.

**Instituto de Ecología y Sistemática, A.P. 8029, C.P. 10800, La Habana, Cuba.

El tratamiento de hidratación parcial se realizó en condiciones de oscuridad total según Thanos y Mitrakos (1992), y consistió en el acondicionamiento de las semillas por medio de un ciclo de imbibición en agua a 25°C durante 27 hr y posteriormente se desecaron durante 48 hr al aire previo a la siembra (Sánchez *et al.*, 1997).

La capacidad de este tratamiento para incrementar la germinación bajo condiciones adversas de iluminación se determinó sometiendo las semillas a irradiaciones continuas de RL durante cinco días. Esto se logró dentro de una caja plástica, que permite sólo el paso de esta longitud de onda. La cual, está constituida por una capa de acrílico roja (número de serie 2423) y una capa de acrílico azul (número de serie 2424) fabricado por Rohm y Hass, México, D.F (Vázquez-Yanes y Orozco-Segovia, 1992). La caja plástica además, se colocó en una incubadora iluminada con luz incandescente, que proporciona baja relación R/RL.

Para cada variedad se utilizaron cinco réplicas de 50 semillas cada una y la siembra se llevó a cabo a 25°C en placas de Petri 9 cm de diámetro, sobre papel de filtro humedecido con agua destilada estéril. El conteo de la germinación se realizó al cabo de los cinco días y se consideró germinadas aquellas semillas en la que emergía la radícula.

El efecto del tratamiento acondicionador se comprobó además, bajo condiciones de oscuridad total. Las semillas (tratadas o no) se sembraron en cajas plásticas de tres litros de capacidad a una profundidad de 3cm en sustrato compuesto por: suelo pardo, arena lavada y materia orgánica en proporción volumétrica de 2:1:1 v/v/v. El conteo de la germinación se realizó a los tres días, tiempo necesario para que las semillas germinen en estas condiciones de siembra sin que ocurra la emergencia de las plántulas.

Se utilizaron cinco cajas para cada variedad con 25 semillas cada una y el experimento se realizó bajo condiciones naturales en marzo de 1995, época óptima de siembra del cultivo del pepino en Cuba (Muñoz y Sardiñas, 1989).

El procesamiento estadístico se aplicó independientemente para cada variedad. Los datos de porcentaje de germinación final, para ambas condiciones de iluminación, se transformaron en $\sqrt{\%}$ y se compararon con relación a su testigo (semillas no tratadas) mediante la prueba de "t" Student.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento de hidratación parcial aplicado resultó ser adecuado para incrementar significativamente la germinación, en ambas variedades de pepino, bajo condiciones adversas de iluminación con respecto al control (Tabla 1). Esto demuestra, que la imbibición previa de las semillas en agua, sustituye la necesidad de la irradiación activadora para lograr germinar bajo estas condiciones. Según Smith (1982) tal fenómeno se debe a una reacción de escape del fitocromo, que al rehidratarse incrementa los niveles de Pfr (fitocromo activo) en las semillas y por consiguiente, desencadena la germinación aún bajo la acción del RL.

Thanos y Georghiou (1988) obtuvieron un resultado similar acondicionando semillas de pepino y tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en soluciones de sacarosa, manitol y NaCl. Concluyeron además, que este efecto podría deberse a un cambio de fotosensibilidad del fitocromo, que ocurre durante las primeras etapas del proceso de germinación y que se mantiene después del proceso de deshidratación.

Por otra parte, se conoce que la fotoconversión del fitocromo (Pr al Pfr) no ocurre directamente entre ellos, existen formas bioquímicas intermedias del Pfr que requieren de humedad para pasar a Pfr (Casal y Smith, 1989; Bewley y Black, 1994); de este modo, se asegura la germinación sólo bajo condiciones favorables para la hidratación de las semillas, aún en ambientes lumínicos adecuados para germinar.

De acuerdo con la planteado anteriormente, en las semillas no tratadas o control, también se debe incrementar la germinación al ser hidratadas las mismas. Sin embargo, este fenómeno no ocurre al menos durante el tiempo en el que se llevo a cabo el experimento, debido posiblemente a la fuerte fotoinhibición que ejerce la luz RL sobre las semillas no tratadas; que al parecer es superior al efecto positivo que podría aportar la hidratación de las semillas en el momento de la siembra. Igualmente, se conoce que las semillas completamente hidratadas en condiciones adversas de iluminación pierden paulatinamente su fotosensibilidad, lo que implica que éstas puedan germinar o adquieran una dormancia secundaria, inducido este último proceso por condiciones ambientales extremas para la germinación (Bewley y Black, 1985, 1994).

En la siembra realizada en la oscuridad también, se logró incrementar la germinación con el tratamiento pregerminativo aplicado (Tabla 1), sólo que el incremento no fue tan significativo, debido a que las semillas de esta especie germinan normalmente en éstas condiciones (Yaniv *et al.*, 1967). Bewley y Black (1994) plantearon que esto se debe al alto nivel de Pfr que tiene las semillas frescas pepino o las formas intermedias del fitocromo que generan Pfr cuando las semillas se hidratan.

Además, es necesario destacar que en todas las condiciones de siembra la germinación de las semillas no tratadas de la variedad Hatuey-1se afectó más que en la variedad Japonés; por tanto, el incremento germinativo logrado con el tratamiento acondicionador fue superior en la variedad Hatuey-1 (Tabla 1). Estas diferencias en sensibilidad a la luz entre variedades posiblemente se deban a las características propias de cada cultivar en cuanto a la cantidad inicial de Pfr que presenten las semillas frescas o al umbral del Pfr requerido para dar respuesta germinativa.

En general, la conclusión más importante que puede brindar este trabajo es precisamente la potencialidad que tienen los tratamientos acondicionadores de hidratación parcial para incrementar la germinación bajo condiciones adversas de iluminación, usualmente encontradas en condiciones de campo (bajo el dosel de la vegetación) y de laboratorio (luz incandescente). Resultado que constituye además, un efecto adicional de estos tratamientos, aplicados tradicionalmente con otros objetivos.

REFERENCIAS

- Bewley, J. D. y M. Black. 1982. Physiology and biochemistry of seeds en relation to germination. Vol. 2 Viability, dormancy and environmental control. Springer. Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 375 pp.
- Bewley, J. D. y M. Black. 1994. Seed: physiology of development and germination. 2 ed. Plenum Press, New York, 445 pp.
- Borthwick, H. A., S. B. Hendricks, M. W. T. Parker y V. K Toole. 1952. A reversible photoreaction controlling seed germination. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 38: 662-666.
- Casal, J. J. y H. Smith. 1989. The function, action and adaptive significance of phytochrome in light-grown plants. *Pl. Cell. Envir.* 12: 855-862.
- Edwards, M. D., R. L. Lower, y J. Staub. 1986. Influence of seed harvesting and handling procedures on germination of cucumber seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111: 507-512.
- Georghiou, K., S. K. Tselas y C. A. Thanos. 1987. Phytochrome activation and osmoconditioning of tomato seeds. *Plant Physiol.* 6: 93-97.
- Henckel, P. A. 1982. Fisiología de la resistencia de las plantas al calor y a la sequía. [en ruso], *Nauka* (Moscú), 280 pp.
- Heydecker, W., J. Higgins, y R. L. Gulliver. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature*, 246: 42-44.
- Heydecker, W., J. Higgins, y Y. J. Tuner. 1975. Invigoration of seeds? *Seed Sci. Technol.*, 29: 881-888.
- Munoz, L, y J. Sardiñas. 1989. Mejoramiento y producción del pepino para diferentes épocas. *Reporte de Investigación del Instituto de Investigaciones Fundamentales en la Agricultura Tropical*, 19 p.
- International Seed Testing Association. 1985. International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.* , 13: 327-328.
- Nienhuis, J. y R. L. Lower. 1981. The effects of fermentation and storage time on germination of cucumber at optimal and suboptimal temperatures. *Curcubit Gent. Crop. Rpt.*, 4: 13-15.
- Orozco-Segovia, A. y C. Vázquez-Yanes. 1992. Los sentidos de las plantas. La sensibilidad de las semillas a la luz. *Ciencia*, 43: 399-441.
- Orta, R., J. A. Sánchez, B. Muñoz y E. Calvo. 1998. Modelo de hidratación parcial en agua para tratamientos revigorizadores, acondicionadores, robustecedores de semillas. *Acta Botánica Cubana*, 121: 1-8.
- Pérez, M., E. Rincón y A. Orozco-Segovia. 1992. Transmitancia del rojo y rojo lejano y anatomía de las hojas de algunas especies leñosas de la selva alta perennifolia. *Bol. Soc. Bot. Mexicana*, 52: 79-93.
- Sánchez, J. A. 1997. Efectos de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación sobre la biología reproductiva del pepino (*Cucumis sativus* L.). Tesis de Maestría en Ciencias de Ecología y Sistemática Aplicada con Mención en Ecología, Instituto de Ecología y Sistemática, La Habana 70 p.
- Sánchez, J. A., E. Calvo, R. Orta y B. Muñoz. 1997. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación para semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.). *Acta Botánica Mexicana*, 38:13-20.
- Smith, H. 1982. Light quality photoperception and plant strategy. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 33: 481-518.
- Thanos, C. A. y K. Georghiou. 1988. Osmoconditioning enhances cucumber and tomato seed germinability under adverse light conditions. *Isr. J. Bot.*, 37: 1-10.
- Thanos, C. A. y K. Mitrakos. 1992. Watermelon seed germination. II. Osmomanipulation of photosensitivity. *Seed Science Research*, 2: 163-168.
- Vázquez-Yanes, C. y A. Orozco-Segovia. 1992. Effects of litter from a tropical rainforest on tree seed germination and establishment under controlled conditions. *Tree Physiology*, 11:391-400.
- Vázquez-Yanes, C. y A. Orozco-Segovia. 1993. Patterns on seed longevity and germination in the tropical rainforest. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24: 69-87.
- Vázquez-Yanes, C. y A. Orozco-Segovia. 1994. Signals of seeds to sense and respond to gaps. (M. M. Caldwell y R.W. Pearcy, eds). En *Exploitation of environmental heterogeneity by plant: ecophysiological processes above and belowground*. Academic Press, San Diego, California, pp. 209-235.
- Yaniv, Z., A. L. Mancinelli, y P. Smiht. 1967. Phytochrome and seed germination. III. Action of prolonged far red irradiation on the germination of tomato and cucumber seeds. *Plant Physiol.*, 42: 1479-1482.

Tabla 1. Valores promedio del porcentaje de germinación final en semillas de pepino sembradas bajo irradiaciones continuas de rojo lejano y en oscuridad. EE_x (error estándar de las medias). N.S; no significativo. * Significativo para $P \leq 0.05$. *** Altamente significativo para $P \leq 0.001$.

Variedades	Semillas sembradas en rojo lejano			Semillas sembradas en oscuridad		
	Control	Tratadas	EE_x	Control	Tratadas	EE_x
Hatuey-1	34.3	80.2	22.9***	60.3	75.8	7.75*
Japonés	48.3	89.1	20.4***	82.4	88.0	2.8 NS