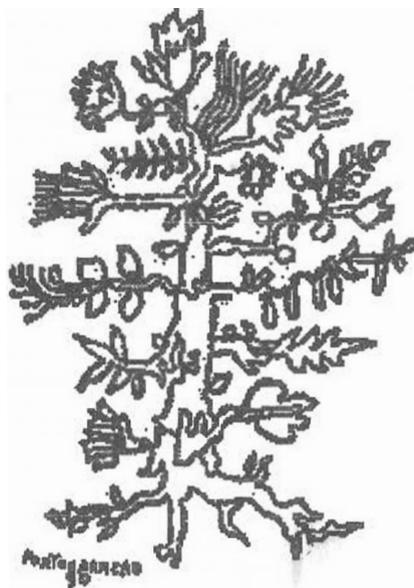
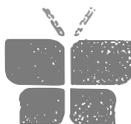


ACTA BOTANICA CUBANA



No. 121

20 de diciembre de 1998



INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y SISTEMÁTICA

Modelo de hidratación parcial en agua para tratamientos revigorizadores, acondicionadores y robustecedores de semillas*

Ramón ORTA CRUZ, Jorge A. SANCHEZ RENDÓN, Bárbara C. MUÑOZ y Eric CALVO**

ABSTRACT: The pregerminative hydration - dehydration treatments had proved to be effective to reinvigorate old seeds, to accelerate and to make uniform the germination of the lots or resistance enhance of the plants resulting the environmental stress; effects known as: reinvigoration, priming or hardening, respectively, based on the partial hydration hold in the time, followed of a process of dehydration before the sowing. These methods, they're though effective, had not been used in the international agricultural practice, due to that the imbibition solutions proposes must contain polymers that act perfect osmotic and permit the partial imbibition for potential's equilibrium of seed-solutions a during a determined time. We had developed a model of imbibition a successive hydration - dehydration cycle in pure water, used the time like barrier to partial imbibition and not the osmotic potential of the solution. This model is economic, single and we got similar results to the one in the references.

KEY WORDS: *Lycopersicon esculentum* tomato pregerminative hydration-dehydration treatment. seed germination.

INTRODUCCIÓN

Hidratar o imbibir las semillas antes de la siembra constituye parte de la cultura campesina tradicional para muchos cultivos. Kidd y West (1919) revisaron científicamente las experiencias acumuladas al respecto y concluyeron que: "Si las semillas se humedecían en un mínimo de agua y luego son secadas lentamente, imbiben y se desarrollan más rápido que las semillas no tratadas". Este efecto es universal pero el tratamiento adecuado para cada especie puede ser diferente (Chippindale, 1934).

Levitt y Hamm (1943), introdujeron la metodología de hidratación parcial de las semillas utilizando soluciones osmóticas, que logran activar reacciones metabólicas pregerminativas, pero que impiden la culminación del proceso por limitaciones hídricas.

Sólo algunas décadas después, los tratamientos pregerminativos de hidratación parcial-deseccación volvieron a ser centro de interés para los científicos occidentales, a partir de la revisión de May *et al.* (1962), acerca de los resultados obtenidos por P.A. Henckel y otros fisiólogos rusos, relacionados con los tratamientos robustecedores para incrementar la resistencia de las plantas al calor y a la sequía.

*Manuscrito aprobado en marzo de 1998.

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

Kham (1982) resumió todo el conocimiento existente sobre los tratamientos de hidratación parcial de semillas en soluciones osmóticas o con aditivos bioactivos. Concluyó que estos tratamientos podrían ser utilizados con tres propósitos fundamentales: 1- revigorar semillas envejecidas (seed reinvigoration), 2- acondicionar semillas para acelerar y uniformizar la germinación (seed priming), o 3- robustecer semillas para incrementar la resistencia de las plantas a las tensiones ambientales (seed hardening).

A pesar de la utilidad práctica potencial de estos tratamientos, muy poco se emplean en la agricultura. Las razones fundamentales son las siguientes: a- La tecnología desarrollada en los países occidentales para revigorar, acondicionar o robustecer las semillas se basa en el empleo de soluciones con osmóticos perfectos (Lawlor, 1970); sustancias costosas en el mercado internacional. b- La tecnología desarrollada en Rusia (Henckel, 1982), para robustecer semillas, se basa en la adición de cantidades limitadas de agua para asegurar que todas las semillas alcancen el mismo nivel de humedad; modelo difícil de aplicar exitosamente a grandes volúmenes de semillas.

Para la introducción masiva de estos tratamientos en la práctica agrícola, se necesitaba crear un modelo de imbibición parcial de las semillas, que superase los problemas de costo y tecnología descritos. La revisión de las investigaciones realizadas sobre el rol del agua como controlador de los procesos fisiológicos sucesivos, que ocurren en las semillas durante la fase pregerminativa (Obrucheva y Antipova, 1985; 1986; Antipova, 1986a; 1986b; Obrucheva, 1988), nos permitieron alcanzar el objetivo del presente trabajo, proponer un modelo para la imbibición parcial que supera las dificultades planteadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Modelo para la imbibición parcial de semillas: Nuestro modelo concibe la imbibición parcial en función del tiempo que se mantiene en contacto cualquier volumen de semillas con suficiente cantidad de agua pura; no en función del equilibrio de potenciales osmóticos, ni la limitación en la cantidad de agua añadida, propuesto por los modelos desarrollado hasta el momento.

Para desarrollar el modelo experimental, utilizamos semillas frescas de dos variedades cubanas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill): HC-7880 y L-103, obtenidas en diciembre de 1992 y semillas envejecidas de HC-3880, obtenidas en diciembre de 1990. Todas las semillas fueron suministradas por el Instituto de Investigaciones Horticolas "Liliana Dimitrova".

Las semillas fueron embibidas en agua destilada a 25°C, y pesadas cada hora - en balanza analítica digital de precisión 0.0001 g - para determinar la dinámica de absorción de agua bajo condiciones de anoxia parcial. Los patrones de imbibición no difirieron significativamente entre variedades (Fig 1), lo que permitió utilizar un tiempo único en los tratamientos de hidratación parcial de las semillas: - experimentalmente se determinó que los patrones de imbibición no difieren entre las semillas fresca y envejecidas de la variedad HC-3880.

En un experimento paralelo, se aplicó el tratamiento de hidratación parcial para revigorizar y acondicionar semillas por el método convencional (Heydecker *et al.* 1973), utilizando soluciones osmóticas poliméricas - polietilenglicol 4000 - en las siguientes concentraciones: -0.60, -0.81, -1.21 y -1.72 MPa, respectivamente. El tratamiento osmoacondicionador consistió en la imbibición de las semillas en las soluciones respectivas durante 72 hr a 25°C y desecadas posteriormente durante 72 hr antes de la siembra.

Los mejores resultados obtenidos para incrementar la germinación en las tres variedades fueron logrados con soluciones hipertónicas de - 0.60 MPa (Tabla 1). Con este potencial osmótico la hidratación parcial permitió un incremento de humedad de las semillas de 88% con respecto al peso fresco inicial, y se adaptó éste como el nivel de hidratación óptimo para nuestro modelo de hidratación parcial en agua, que se alcanza al cabo de 20 hr de imbibición a 25°C (Fig. 1).

La preocupación mayor en la aplicación efectiva de nuestro modelo consistió en la en el comportamiento individual de cada semilla durante la imbibición, con respecto a los valores promedio de la muestra. Si todas las semillas no alcanzaban el mismo nivel de humedad deseado, el efecto del tratamiento no sería homogéneo. Este riesgo no se corre utilizando soluciones osmóticas, por cuanto la barrera a la absorción de agua se establece en base al equilibrio de potenciales en el sistema solución-semilla, y no en el tiempo de inmersión como en el que proponemos.

Para superar esta dificultad técnica, sometimos muestras de semillas a dos o más ciclos de hidratación parcial-desección. Experimentalmente se determinó que dos ciclos eran suficiente para lograr los efectos deseados de revigorización y acondicionamiento (Fig. 2). Más de dos ciclos deprimió la viabilidad de las semillas menos vigorosas del lote en condiciones de anoxia parcial.

La desecación al aire durante 72 hr resultó suficiente en todos los casos para alcanzar el nivel de humedad de las semillas en su estado natural antes de los tratamientos, 8-10% de su peso fresco.

El nivel de hidratación óptimo para robustecer semillas según Henckel (1982), es aquel en que se inicia la fase III de imbibición (Obrucheva, 1986); es decir el inicio de la emergencia del embrión de las cubiertas seminales. Como este momento fisiológico no se alcanza uniformemente para todos los individuos de un lote, el referido autor propone repetir el ciclo de hidratación -deshidratación más de una vez. Nuestra propuesta de tratamiento robustecedor consiste en acondicionar previamente a las semillas, con el objetivo de uniformar el momento de evolución del proceso pregerminativo a un nivel de humedad inferior al planteado por este autor, para poder lograr efectos robustecedores con sólo un ciclo de hidratación total hasta el final de la fase III. En semillas de tomate previamente acondicionadas, ese estadio fisiológico se alcanza a las 36 hr de imbibición aeróbica a 25°C de temperatura (Fig. 2).

Tratamientos y pruebas de germinación y fructificación: Se ensayaron varios tratamientos de hidratación parcial-desección de las semillas para conocer su posible efecto revigorizador y acondicionador durante el proceso de germinación de las semillas de la variedad HC-3880 - almacenadas durante dos años a $15 \pm 2^\circ\text{C}$ -; así como el posible efecto acondicionador y robustecedor sobre la producción de frutos durante la siembra temprana - Agosto 1993 - de las variedades HC- 7880 y L-103.

Los tratamientos utilizados fueron: semillas no tratadas o control (T1); semillas revigorizadas y acondicionadas con soluciones de polietilenglicol - 0.60 MPa (T2); semillas revigorizadas y acondicionadas en agua, por medio de dos ciclos de imbibición a 25°C durante 20 hr, alternados con períodos de desecación de 72 hr a temperatura ambiente (T3); y semillas robustecidas (T4), por medio de un tratamiento acondicionador en agua, previo a la pregerminación en condiciones aeróbicas a 25°C durante 36 hr y desecadas durante 72 hr antes de la siembra.

Las pruebas de germinación se realizó depositando las semillas en placas de Petri de 9cm de diámetro, sobre papel de filtro humedecido, bajo condiciones de temperatura fija de 25°C. Para cada tratamiento se utilizaron cinco réplicas de 25 semillas cada una. Se realizaron observaciones diarias para determinar los valores de velocidad de germinación mediante el T50 - tiempo en que se alcanza el 50% de la germinación - y el porcentaje de germinación final (GF).

El experimento para poder detectar la posible influencia de estos tratamientos sobre los rendimientos en frutos, se realizó en cajas plásticas de 50 dcm³ de sustrato de capacidad a razón de seis plantas. Para cada variedad y tratamiento se utilizaron cinco cajas. Los frutos fueron colectados siempre maduros y pesados inmediatamente, en balanza técnica digital de precisión 0.01g. Se determinó además, la biomasa relativa de frutos (%) o "estrategias" reproductivas de estas variedades evaluadas en base a valores absolutos de biomasa de frutos con respecto a la biomasa total - biomasa subterránea, aérea y de fruto.

El análisis estadístico se realizó independientemente para cada variedad. Los datos de porcentaje de germinación se transformaron en $\arcsin\%$ y se procesaron mediante un análisis de clasificación simple.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los tratamientos acondicionadores y revigorizadores ensayados resultaron ser adecuados para acelerar e incrementar significativamente el porcentaje de germinación final (Tabla 2) en las semillas envejecidas de la variedad HC-3880. Los mejores resultados se obtuvieron con el tratamiento T2 -semillas hidratadas en soluciones de polietilenglicol de - 0.60 MPa. Con éste se logró incrementar hasta el 20% de vigor perdido por las semillas del lote utilizado. El tratamiento con agua (T3) puede considerarse satisfactorio para su aplicación en la agricultura, debido a que con éste se obtuvieron resultados similares al que se alcanzó con el tratamiento T2.

Los rendimientos, expresados en gramos de frutos maduros por plantas, son significativamente superiores para las plantas resultantes de semillas tratadas con respecto a las plantas controles (Tabla 3). En las condiciones de siembra temprana (Agosto), que se realizó el experimento en macetas, el tratamiento T3 resultó más efectivo que el robustecedor T4.

En ambas variedades los tratamientos acondicionadores y robustecedores provocaron una respuesta reproductiva más amplia (Tabla 3), que permitieron a las plantas tratadas asignar mayores recursos energéticos a la producción de frutos que a la producción de raíces y partes aéreas, en contraposición en las plantas controles, que asignan mayor cantidad relativa de energía

a la producción de estructuras vegetativas, en detrimento a las reproductivas.

Estos resultados evidencian que los procedimientos probados inducen cambios metabólicos y/o morfológicos, que incrementan la capacidad reproductiva de las plantas. En este caso concreto el rendimiento de las plantas.

Concluyendo, el modelo de imbibición parcial de las semillas en agua pura propuesto, además de barato y relativamente simple, permite revigorizar, acondicionar y robustecer semillas de tomate, y en principio, ser adaptado para aplicarse a semillas de otras hortalizas u otras especies cultivadas. Las ventajas que se logran con respecto a semillas no tratadas son evidentes, para mejorar el comportamiento germinativo, como los rendimientos.

REFERENCIAS

- Antipova, O. V. 1986a. La regulación del agua como disparador de la división celular durante la germinación de semillas de leguminosas en ruso *Nauka*, Moscú, 120pp.
- 1986b. "El nivel de hidratación como factor disparador de la preparación para el crecimiento durante la germinación de las semillas", Tesis de candidatura, Academia de Ciencias de la Unión Soviética, Moscú.
- Chippindale, H. G. 1934. The effect of soaking in water on the seeds of some graminæ. *Ann. Appl. Biol.* 21:225-232.
- 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., J. Higgins, y R. L. Gulliver. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature*, 246: 42-44.
- Khan, A. A. 1982. Latencia de las semillas: nuevos conceptos y teorías. In: A. A. Khan (ed). *Fisiología y bioquímica de la latencia y germinación de semillas* [en ruso] *Kolos*, Moscú, 495pp.
- Kidd, F., y C. West. 1919. Physiological predetermination the influence of the physiological condition of the seed upon the course of subsequent growth and upon the yield. I: The effects of soaking in water. *Ann. Appl. Biolog.* 5:1-10.
- Lawlor, D. W. 1970. Absorption of polyethylene glycols by plants and effects on plant growth. *New Phytologist*, 69: 501-513.
- Levitt, J., y P. C. Hamm. 1943. A method of increasing the rate of seed germination *Taraxacum kok-seghez*. *Plant Physiology*. 18: 288-293.
- May, L. H., E. J. Milthorpe, y F. L. Milthorpe. 1962. Pre-sowing hardening on plant to drought. *Field Crop Abstracts*, 15:93-98.
- Obrucheva, N. V. 1988. Fisiología de la germinación de las semillas. En Fisiología de semillas, Memorias del Simposio sobre Fisiología de semillas, Dushambe, Tadshquistán.
- Obrucheva, N. V., y O. V. Antipova. 1985. Establecimiento del nivel de humedad en semillas de leguminosas, que permite la preparación del proceso de división celular durante la germinación en ruso *Fiziologia Rasteienii*, 32 (5):932-941.

-----186. "Water controlled processes preparing for radicle protusion during seed germination of *Vicia faba minor* In: *International Congress of Seed Testing Association*, Brisbain, Australia, Resúmenes.

Tabla 1. Valores promedios del porcentaje de germinación final en semillas de variedades de *L. esculentum* sembradas en soluciones de polietilenglicol 4000 de diferentes potenciales de agua. El ANOVA indicó que existe diferencias significativas entre tratamientos.

Porcentaje de germinación final			
Porcentaje del agua (Mpa)	HC - 3880	HC - 7880	L - 103
-0.60	90.2	96.8	92.3
-0.81	89.3	78.2	83.2
-1.21	65.8	52.7	79.4
-1.72	75.5	63.0	7.2
SE (±)	5.8	9.5	19.6

SE (Error estándar de las medias)

Tabla 2. Valores promedio de la velocidad de germinación (T50) y del porcentaje de germinación final (GF) en semillas de *L. esculentum* de la variedad HC-7880, según los tratamientos pregerminativos empleados. Medias con letras diferentes en las misma columnas difieren a $P < 0.05$ por una prueba de Duncan.

Tratamientos	T50 (días)	GF (%)
I	3.0 a	91.5 a
II	3.5 a	62.3 c
III	1.5 b	84.3 ab
IV	2.0 ab	79.2 b
SE (±)	0.45	6.2

I Semillas frescas (Control).

II Semillas almacenadas durante dos años (Control).

III Semillas almacenadas y sometidas al tratamiento T2.

IV Semillas almacenadas y sometidas al tratamiento T3.

Tabla 3. Valores promedio del rendimiento (R) y de la estrategia reproductiva (ER) en las diferentes variedades de *L. esculentum*, según los tratamientos pregerminativos empleados. Medias con letras diferentes en las misma columnas difieren significativamente $P < 0.05$ por una prueba de Duncan.

Tratamientos	HC - 7880		L - 103	
	R	ER	R	ER
T1	101.2 c	16.8 c	82.4 c	35.0 b
T3	310.5 a	53.3 a	350.9 a	51.2 a
T4	259.6 b	40.2 b	240.1 b	54.8 a
SE (\pm)	62.3	10.6	77.0	6.10

SE (error estándar de las medias)

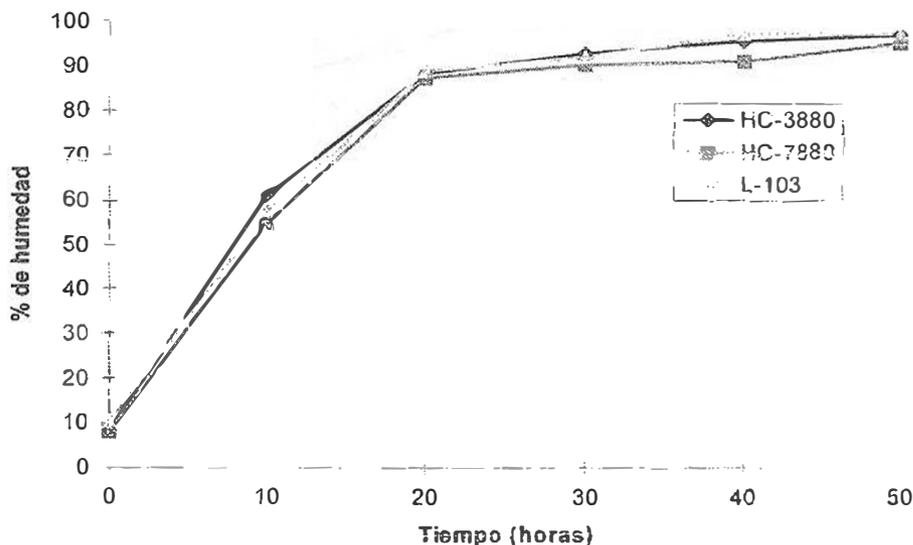
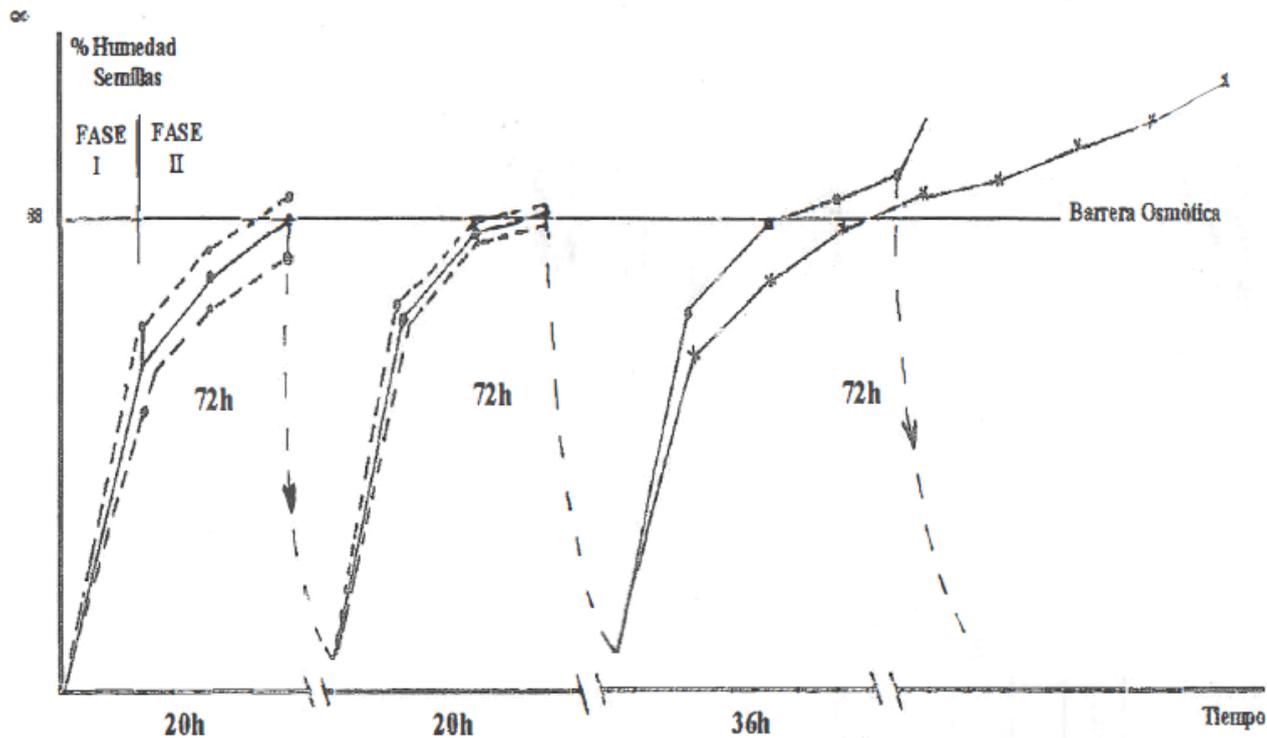


Fig. 1. Curvas de imbibición en semillas de tres variedades de *L. esculentum*, utilizando sólo agua como medio de imbibición



REVIGORIZACIÓN Y
ACONDICIONAMIENTO

ROBUSTECIMIENTO

—x—x— CURVA DE IMBIBICIÓN
SEMILLAS NO TRATADAS

—●—●— CURVA DE IMBIBICIÓN
SEMILLAS TRATADAS

Fig.2. Modelo de tratamientos de hidratación- deshidratación para semillas de *L. esculentum*.