

## Análisis y Comentario

# TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS DE HIDRATAACION-DESHIDRATAACION DE LAS SEMILLAS Y SUS EFECTOS EN PLANTAS DE INTERES AGRICOLA<sup>1</sup>

Jorge A. Sánchez<sup>2\*</sup>, Ramón Orta\*, Bárbara C. Muñoz\*

**Palabras clave:** Semillas, tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación, choque térmico, hortalizas, especies forestales pioneras.

## RESUMEN

Los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas han probado ser eficientes para revigorizar semillas envejecidas, acelerar y uniformar la germinación e incrementar los rendimientos de los cultivos bajo condiciones ecológicas óptimas y adversas; efectos que se conocen como revigorización, acondicionamiento y robustecimiento de semillas, respectivamente. En el presente trabajo se discuten aspectos relacionados con modelos y soluciones de imbibición aplicados en los referidos tratamientos pregerminativos, cambios fisiológicos y bioquímicos que producen en las semillas y utilidad práctica de los mismos, en especies de interés agrícola. Además, se brinda información sobre los efectos que produce la combinación de los tratamientos robustecedores de hidratación parcial con los de choque térmico, en semillas de hortalizas y forestales bajo estrés ambiental.

## ABSTRACT

**Pregerminative hydration-dehydration treatments of seeds and their effects in plants of agricultural interest.** Pregerminative hydration-dehydration treatments of seeds have proven to be efficient for reinvigoration of aged seeds, enhance germination performance and increase yields of crops under optimum and adverse ecological conditions; such effects known as seed reinvigoration, priming and hardening. In this paper, aspects related to the methods and imbibition solutions applied to the referred pregerminative treatments, physiologic and biochemical changes that take place in the seeds, and practical utility of the treatments in species of agricultural interest are discussed. Also, information is offered on the effects produced by the combination of hardening, partial hydration, and heat shock treatments in vegetables and forest tree seeds under environmental stress.

1/ Recibido para publicación el 31 de julio del 2001.  
2/ Autor para correspondencia: Correo electrónico: [ecologia@unepnet.inf.cu](mailto:ecologia@unepnet.inf.cu) o [ecologia@cenia.inf.cu](mailto:ecologia@cenia.inf.cu)

\* Instituto de Ecología y Sistemática, Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente, (CITMA). Carretera de Varona Km 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Capdevila, Boyeros Apartado postal 8029, Código postal 10800, Habana, Cuba.

## INTRODUCCION

La calidad de las semillas de muchas especies cultivadas depende significativamente del grado de maduración que tengan éstas en el momento de la colecta de los frutos, del proceso de obtención y de su manejo posterior (Synder 1974, Edwards et al. 1986, Welbaum y Bradford 1991, Jett y Welbaum 1996, Oluoch y Welbaum 1996). Por consiguiente, el mejoramiento de las semillas debe estar encaminado fundamentalmente al perfeccionamiento de métodos de obtención y de almacenamiento de semillas, y a la aplicación de técnicas fisiológicas *a posteriori* de la recolección de los frutos o poscosecha, que recuperen el vigor inicial de los lotes. Un camino fisiológico conocido para mejorar el comportamiento germinativo de muchas especies de interés agrícola son los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas, que ha probado ser eficiente para revigorizar semillas envejecidas, acelerar e incrementar la germinación y los rendimientos de las plantas, tanto bajo condiciones ecológicas óptimas como adversas (Henckel 1964, 1982; Heydecker et al. 1973, 1975; Khan et al. 1978, Burgass y Powell 1984, Bradford 1986).

Estos procedimientos consisten en la inmersión de las semillas en soluciones osmóticas o en agua durante cierto tiempo con o sin deshidratación previa a la siembra (Heydecker et al. 1973, Khan et al. 1978, Henckel 1982) y permiten que una gran proporción de las mismas alcance rápidamente el nivel de humedad y estado metabólico deseado; como consecuencia de la activación de numerosos procesos bioquímicos-fisiológicos relacionados con la germinación, la tolerancia al estrés ambiental y a la autoreparación enzimática de las membranas celulares (Heydecker y Coolbear 1977, Henckel 1982, Bewley y Black 1982, Bray 1995).

La utilización de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación en la práctica agrícola se ve limitada fundamentalmente por las siguientes causas: 1) la falta de estandarización u optimización de los tratamientos en cada especie, variedad o lote en particular (Bradford, 1986; Bradford et al. 1990); 2) por lo costo-

so que resulta la aplicación de los referidos métodos a grandes volúmenes de semillas (Henckel 1982); y 3) por la inadecuada extensión y divulgación en el medio rural y agronómico de los resultados obtenidos en especies de interés agrícolas, como las hortalizas y las gramíneas (Sánchez 1997, Orta et al. 1998).

En el presente trabajo se discuten aspectos teóricos y prácticos relacionados con la aplicación de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación en semillas de interés agrícola, con el objetivo de facilitar su extensión a la práctica productiva. También se ofrece información sobre la aplicación combinada de los tratamientos robustecedores de hidratación parcial con los de choque térmico en semillas de hortalizas y de árboles pioneros tropicales.

## ANTECEDENTES HISTORICOS DEL USO DE LOS TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS DE HIDRATAACION- DESHIDRATAACION DE LAS SEMILLAS

El fisiólogo griego Theophrastus (372-287 a.n.e.), no es sólo uno de los fundadores de la botánica, él puede considerarse como el padre de la fisiología de las semillas (Evenari 1984). Entre sus numerosas contribuciones aparecen referencias acerca del papel de la imbibición de las semillas en agua sobre la velocidad de germinación del pepino (*Cucumis sativus* L.).

Kidd y West (1918, 1919), revisaron las experiencias concernientes a la preimbibición de las semillas en el pasado siglo y concluyeron que "*Las semillas remojadas en un mínimo de agua y después secadas lentamente a temperaturas ambiente, imbiben y germinan más rápido que las no tratadas*". Enunciaron además, las condiciones mínimas en las que se realizaron dichos tratamientos, tales como: cantidad adecuada de agua, duración y temperatura óptima del proceso de imbibición.

Chippindale (1934), investigó los efectos de los tratamientos de humedecimiento-desección sobre las semillas de gramíneas y mencionó que estos eran frecuentemente llevados a cabo por los campesinos, pero que en la agricultura

moderna no se utilizaban. El concluyó además, que los efectos encontrados no podrían generalizarse aún para especies y/o variedades muy cercanas taxonómicamente.

Levitt y Hamm (1943), aplicaron por primera vez soluciones salinas en los tratamientos pregerminativos de hidratación parcial y lograron acelerar el proceso de postmaduración de las semillas de *Taraxacum kok-saghyz*. Asumieron, que la imbibición en soluciones osmóticas activa reacciones fisiológicas pregerminativas en las semillas, permitiendo que éstas maduren, pero que no germinen por limitaciones hídricas; lo cual resulta ventajoso para acelerar la germinación al ser rehidratadas.

A pesar de todo el intenso trabajo realizado en esta temática, solo algunas décadas después, los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación 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 la imbibición parcial de las semillas en agua y su comportamiento frente al estrés ambiental. Estos tratamientos de hidratación parcial se conocen en la literatura científica internacional con el término de robustecimiento de semillas o "seed hardening".

La era moderna de la preimbibición de las semillas la inaugura Heydecker y su grupo de investigación. Ellos desarrollaron una técnica simple en concepto pero fisiológicamente compleja, la cual es capaz de acelerar apreciablemente la germinación después de la siembra (Heydecker et al. 1973). La misma consiste en la preimbibición de las semillas en soluciones de un agente osmótico bioquímicamente inerte N (preferentemente polietilenglicol), durante cierto tiempo antes de transferir las mismas al agua, con o sin previa deshidratación. Estos tratamientos se conocen como acondicionadores de semillas o "seed priming" (Heydecker et al. 1973), revigorizadores de semillas o "seed reinvigoration" (Heydecker et al. 1975) y osmoacondicionadores de semillas o "seed osmoconditioning" (Khan et al. 1978, Khan 1992).

Aún cuando parezca que los tratamientos sólo difieren desde el punto de vista terminológi-

co, los objetivos de estos fueron otros desde sus inicios. Los acondicionadores y osmoacondicionadores pretenden, básicamente, acelerar y uniformar la germinación e incrementar la producción de las plantas (Heydecker y Coolbear 1977, Khan et al. 1978). Los tratamientos revigorizadores procuran incrementar la germinación de las semillas envejecidas (Heydecker et al. 1975). Por último, los tratamientos robustecedores pretenden incrementar la tolerancia de las plantas resultantes de las semillas tratadas a condiciones adversas del medio como la sequía, las altas temperaturas, la salinidad y otros factores desfavorables del ambiente (Henckel 1964, 1982).

Por su parte, Khan et al. (1979), Khan (1992), Taylor et al. (1998), Welbaum et al. (1998a) y McDonald (2000) resumieron todo el conocimiento existente acerca de la efectividad de los tratamientos de hidratación-deshidratación o preacondicionamiento de las semillas, incluyendo aquellos que, además del agua (acondicionamiento fisiológico), emplean la infiltración de compuestos químicos bioactivos, la pelletización o la aplicación combinadas de ellos. Concluyendo, que estos tratamientos preacondicionadores pueden utilizarse para los siguientes fines prácticos: a) incrementar la germinación en temperaturas subóptimas y supraóptimas, b) acelerar y sincronizar la germinación, c) estimular el sistema radicular, d) incrementar la resistencia o tolerancia de las plantas en condiciones de estrés biótico y/o abiótico, y e) aumentar la producción (rendimientos).

## MÉTODOS Y SOLUCIONES APLICADAS EN LOS TRATAMIENTOS PREGERMINATIVOS DE HIDRATACIÓN-DESHIDRATACIÓN DE LAS SEMILLAS

### Métodos de imbibición

Hegarty (1978), plantea que los efectos de los tratamientos pregerminativos de hidratación parcial de las semillas dependen fundamentalmente de: 1) grado de hidratación que alcancen las semillas; 2) temperatura y duración del tratamiento; 3) nivel de aeración del medio; 4) cantidad de semillas; y 5) proceso de deshidratación. Por tanto, cada método que se desarrolle deberá tener

en cuenta estos aspectos, que serán modificados de acuerdo a los objetivos de los investigadores.

Los métodos de hidratación parcial o preacondicionadores de semillas se agrupan en 2 categorías dependiendo si el suministro de agua a las mismas es controlado o no (Taylor et al. 1998). Las técnicas que limitan la toma de agua por las semillas son aquellas que emplean soluciones osmóticas, partículas sólidas o controlan la hidratación por la adición de cantidades limitadas de agua a volúmenes exactos de semillas. Los métodos de imbibición parcial creados por Heydecker et al. (1973) y Khan (1977) se basan fundamentalmente en la utilización de soluciones osmóticas, que permiten la hidratación de las semillas, en función del equilibrio de potenciales hídricos que se establecen en el sistema solución-semilla. La técnica mantiene un nivel de humedad que desencadena una serie de eventos bioquímicos-fisiológicos asociados con el proceso de pregerminación, pero no permite la emergencia de la radícula por limitaciones hídricas. Estos tratamientos osmóticos han sido aplicados extensivamente en pequeñas semillas de flores y en una gran cantidad de cultivos como hortalizas, leguminosas y cereales (Heydecker et al. 1975, Heydecker 1977, Khan 1977, Khan et al. 1978).

Posteriormente, Dearman et al. (1986) y Buljaski et al. (1989, 1992) desarrollaron tecnologías para el uso comercial de los procedimientos osmóticos, logrando tratar hasta 10 kg de semillas. Con la limitante principal que representa el empleo en esta técnica de osmóticos perfectos (polietilenglicol) sustancias altamente costosas en el mercado internacional (Lawlor 1970).

Los procedimientos que utilizan partículas sólidas son usados para incrementar el contenido de humedad de las semillas en un sistema controlado. Las semillas, las partículas sólidas y el agua son los 3 componentes básicos de esta técnica (Taylor et al. 1998). Estos tratamientos se conocen como acondicionamiento mátrico de las semillas o "matric priming seeds" y emplean vermiculita o Micro-Cel E (un silicato de calcio sintético, de alta capacidad de retención de agua) como medio de soporte (partícula sólida) y de imbibición de semillas (Khan 1992). Por su parte, Khan et al. (1995) y Grzesik y Nowak (1998)

demonstraron que la duración del acondicionamiento mátrico y la proporción en que deben emplearse los componentes de este sistema (semilla: partícula sólida: agua) varían entre especies y lotes de semillas; por lo que las condiciones óptimas para aplicar este método deben determinarse empíricamente.

La técnica de hidratación parcial de las semillas por adicción controlada de agua se basa en la relación que se establece entre volúmenes exactos de agua y semillas (Rosew 1987). Esta tecnología permite un suministro controlado de agua a las semillas (en un tiempo único o de forma escalonada) suficiente para lograr el acondicionamiento de las mismas, pero no la germinación. La masa o cantidad de agua necesaria para alcanzar un determinado contenido de humedad en las semillas se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$MH_2O = MS(CH_f - CH_i) (100 - CH_f)^{-1}$$

Donde  $MH_2O$ , es la masa de agua adicional a la masa seca inicial de las semillas ( $MS$ );  $CH_i$  es el contenido inicial de humedad de la muestra de semillas; y  $CH_f$  es el contenido final de humedad que se desea que alcancen las semillas. El tiempo que las semillas están expuestas a esta técnica depende de las características de absorción de cada lote o especies en particular y del nivel de humedad que se desee conseguir (Rowse 1996). Por último, este procedimiento se ha desarrollado a gran escala para acondicionar semillas y se conoce como acondicionamiento no osmótico o "drum priming" (Rowse 1996, Warren y Bennett 1997), con el mismo se obtienen resultados similares a los logrados con los métodos que emplean soluciones osmóticas (Gray et al. 1990). Este método también se conoce como acondicionamiento hídrico de las semillas o "seed hydropriming" y ha sido empleado con éxito en un gran número de cultivos (McDonald 2000).

Los tratamientos robustecedores empleados por el fisiólogo ruso P.A. Henckel y sus colaboradores, también pueden considerarse como un método no osmótico que controla el nivel de humedad que se le suministra a las semillas

(Henckel 1982); sin embargo, este procedimiento es muy difícil de aplicar a grandes volúmenes de semillas, debido a que no todos los propágulos alcanzan el mismo nivel de humedad durante la fase de hidratación parcial de las mismas (Orta et al. 1998).

Los métodos que no controlan el agua que toman las semillas son aquellos en los que el agua está libremente disponible a las semillas, no se controla por el ambiente que rodea a las mismas (Taylor et al. 1998). Por tanto, la toma del agua es gobernada por la afinidad que se establece entre los tejidos seminales y el agua. La técnica de hidratación parcial propuesta por Orta et al. (1998) se fundamenta en el rol del agua en los procesos bioquímicos-fisiológicos sucesivos que ocurren en las semillas durante las fases pregerminativas (Obruchevea y Antipova 1985, 1989). El método regula la imbibición parcial en función del tiempo que se mantiene en contacto cualquier volumen de semilla con suficiente cantidad de agua y no en función del equilibrio de potenciales hídricos, ni la limitación en la cantidad de agua añadida, propuesto por los modelos desarrollados hasta el momento. Con dicha técnica se alcanzaron resultados satisfactorios para acondicionar, revigorizar y robustecer semillas de hortalizas y de especies forestales pioneras (Sánchez et al. 1997, 1998, 1999ab; Sánchez 2000, Orta et al. 2000).

La aplicación efectiva de los modelos de imbibición parcial en agua propuestos por Henckel (1982) y Orta et al. (1998), consiste en lograr que todas las semillas tratadas alcancen el mismo nivel de humedad deseado para que el efecto del tratamiento sea homogéneo. Este riesgo no se corre utilizando soluciones osmóticas, por cuanto la barrera a la absorción de agua se establece sobre la base del equilibrio de potenciales hídricos que se crea en el sistema solución-semilla y no en el tiempo de inmersión (Orta et al. 1998) ni la limitación en agua (Henckel 1982). Para superar esta dificultad técnica, los autores antes mencionados, proponen someter las muestras de semillas a 2 o más ciclos de hidratación parcial-desección.

Por otra parte, es bien conocida la variabilidad germinativa que se obtiene entre lotes de semillas de una misma especie cuando se some-

ten a un tratamiento único de hidratación-deshidratación (Brocklehurst y Dearman 1983a, Bradford et al. 1990, Montejo et al. 2000). Esta variabilidad en la germinación, conlleva a que las condiciones ambientales óptimas para aplicar los referidos tratamientos deben determinarse empíricamente para cada lote (Bradford 1986). Sin embargo, recientemente se ha desarrollado un modelo matemático que predice como se afecta la velocidad de germinación de semillas de diferentes lotes pretratadas en respuesta a los 3 factores fundamentales del medio abiótico que intervienen en cualquier método de hidratación parcial que se aplique: la temperatura, el potencial de agua y la duración del tratamiento (Tarquis y Bradford 1992, Bradford y Haigh 1994, Bradford 1995).

El modelo se conoce con el nombre de tiempo de acondicionamiento hidrotérmico de las semillas o "hidrotermal priming time model"; es similar al modelo del tiempo hidrotérmico propuesto por Gummerson (1986) y se calcula por la siguiente ecuación:

$$\text{Tiempo de acondicionamiento hidrotérmico} \\ [(MPa)(^{\circ}C)(h)] = (\Psi - \Psi_{\min})(T - T_{\min}) tp,$$

Donde  $T_{\min}$  y  $\Psi_{\min}$ , son la temperatura y el potencial de agua mínimo en el cual el acondicionamiento de las semillas podría ocurrir;  $T$  y  $\Psi$  la temperatura y el potencial de agua que exceden las mínimas de estos factores, y  $tp$ , es la duración del tratamiento en las diferentes condiciones de  $T$  y  $\Psi$  ensayadas.

El modelo ha sido efectivo para establecer las condiciones óptimas (en cuanto a  $T$ ,  $\Psi$  y  $tp$ ) en que deben realizarse los tratamientos de imbibición parcial en lotes de varias hortalizas (Tarquis y Bradford 1992, Dahal y Bradford 1994, Welbaum et al. 1998a). Sin embargo, cuando Cheng y Bradford (1999) aplicaron este concepto en 6 lotes de semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) previamente acondicionadas en 2 temperaturas del sustrato (15°C y 20°C), 3 potenciales hídricos (-1.0, -1.5 y -2.0 MPa) y 6 tiempos de duración del tratamiento (de 26 h a 31 días) no lograron predecir las condiciones más adecuadas para tratar las semillas. Estos resultados sugieren, que

los eventos metabólicos que tienen lugar durante la germinación y aplicación de los tratamientos pregerminativos son complejos y responden al variar las condiciones en que se llevan a cabo los mismos (McDonald 2000). Lo anteriormente señalado también demuestra, que antes de generalizarse el concepto del tiempo de acondicionamiento hidrotérmico se debe continuar investigando sus efectos en otras especies o lotes de semillas.

### Soluciones empleadas en los tratamientos

Como hemos señalado anteriormente, las principales sustancias aplicadas en los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación fueron las soluciones osmóticas y el agua. Las soluciones osmóticas pueden dividirse en 2 grandes grupos: 1) Las soluciones compuestas por un polímero de alto peso molecular (de 100 hasta 20000) conocido como polietilenglicol (PEG) o Carbowax (nombre comercial) (Heydecker y Coolbear 1977, Khan et al. 1980-1981, Gray et al. 1991); 2) las soluciones salinas; ampliamente utilizadas para osmoacondicionar, una mezcla de  $K_3PO_4$  y  $KNO_3$  (Suzuki et al. 1989, Rehman et al. 1998a), y otras sales como: NaCl (Cocchete y Guerra 1986, Thanos y Georghiou 1988)  $MgSO_4$  (Levitt y Hamm 1943, Heydecker y Coobear 1977, Khan et al. 1983),  $NH_4NO_4$ ,  $Ca(NO_3)_2$  (Levitt y Hamm 1943) y  $KH_2PO_4$  (Levitt y Hamm 1943, Brocklehurst y Dearman 1984); y 3) las soluciones compuestas de azúcares (sacarosa o manitol) (Thanos y Georghiou 1988, Thanos et al. 1989, Sánchez et al. 1997).

Los tipos de PEG con pesos moleculares entre 2000-8000 han sido recomendados como sustancias osmóticas ideales, para osmoacondicionar semillas, debido a que no penetran las membranas celulares, no presentan carácter tóxico, mantienen casi constante la osmolaridad de la solución y cuando están presentes en pequeñas cantidades permiten una aeración aceptable del medio (Parmar y Moore 1968, Suzuki et al. 1989, McDonald 2000). Sin embargo, se reconoce que cuando el PEG se utiliza para crear estrés hídrico en las plantas, éste puede ser absorbido y secretado por las mismas (Lawlor 1970, Tingey y Stockwell 1977, Yaniv y Wecker 1983).

Las soluciones de PEG además, se han utilizado en combinación con reguladores del crecimiento (como las citoquininas) para evitar termoinhibición de las semillas en temperaturas subóptimas y supraóptimas de germinación y de esta manera eliminan termodormancia en las mismas Khan (1977), Prusinski y Khan (1993). Khan et al. (1979) demostraron también los efectos positivos del osmocondicionamiento y de las fitohormonas sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) bajo condiciones de estrés abiótico (calor, sequía y salinidad). Concluyeron que tales efectos se deben a la activación de numerosos procesos pregerminativos alcanzados con los tratamientos osmóticos en combinación con los reguladores del crecimiento que actúan eliminando cualquier tipo de dormancia fisiológicas que adquieren las semillas durante la germinación en condiciones desfavorables.

Finalmente, la inclusión de antibióticos y fungicidas, como el Tiran (0.2%), en soluciones de PEG durante el tratamiento osmótico de las semillas de diferentes cultivos (Khan 1977, Khan et al. 1978, 1983) han reducido considerablemente la proliferación bacteriana y fúngica durante la emergencia y establecimiento de las plantas en condiciones de campo.

Las soluciones salinas mantienen una aireación aceptable del medio, al osmoacondicionar semillas a gran escala (Suzuki et al. 1989). La promoción de la germinación por éstas se atribuye a sus propiedades osmóticas y no a sus propiedades químicas (Thanos y Georghiou 1988), aunque estas últimas pueden afectar las estructuras celulares de las semillas y por consiguiente, la viabilidad de las mismas (Khan et al. 1983, Brocklehurst y Dearman 1984, Bradford 1995). También Suzuki et al. (1989) plantearon que las sales con iones trivalentes de fosfatos (como el  $K_3PO_4$  y el  $Na_3PO_4$ ) son más eficientes para estimular la germinación que otras sales no trivalentes y ampliamente utilizadas en dichos tratamientos. Según Kanazawa y Uemoto (1977), esto se debe a que las sales trivalentes incrementan el pH del medio de imbibición y con esto aumentan la actividad metabólica de las semillas durante el acondicionamiento.

Con las soluciones compuestas de azúcares se obtienen resultados satisfactorios para acelerar e incrementar la germinación (Thanos y Georghiou 1988, Thanos y Mitrakos 1992, Sánchez et al. 1997), pero son sustancias que se contaminan rápidamente y esto puede afectar considerablemente el poder germinativo o viabilidad de las semillas.

Los tratamientos que utilizan sustancias osmóticas (PEG, sales y azúcares) se conocen también como acondicionamiento osmótico de las semillas u "osmotic priming seeds" (Khan 1992). Recientemente, se ha comparado su efectividad para mejorar el funcionamiento de las semillas con el acondicionamiento mátrico de las semillas o "matric priming seeds". En varias especies de hortalizas con el tratamiento mátrico se obtienen los mejores resultados para incrementar la germinación con relación al acondicionamiento osmótico, aunque las diferencias fisiológicas que producen ambos tratamientos, en las semillas, están pobremente dilucidadas (Khan 1992).

Sin embargo, estudios recientes (Jett et al. 1996) demostraron que la efectividad del acondicionamiento mátrico sobre el osmótico se debe fundamentalmente al mayor aporte de oxígeno y de calcio que hace el soporte del acondicionamiento mátrico a las semillas durante el intercambio que se establece en el sistema semilla-sustrato. El oxígeno y el calcio son esenciales en la división celular y en la activación de diferentes funciones de membranas y proteínas (Roberts y Harmon 1992). Lo cual explica, por qué las semillas tratadas mediante el acondicionamiento mátrico funcionan mejor que las acondicionadas con los tratamientos osmóticos.

Todo lo antes mencionado, demuestra que el agua resulta un medio de imbibición adecuado para extender a la práctica agrícola los tratamientos pregerminativos de humedecimiento-desecación, por su relativamente fácil obtención y los resultados altamente satisfactorios que se obtienen para acondicionar y robustecer semillas (Henckel 1982, Rowse 1987, Orta et al. 1998, 2000, Sánchez et al. 1999ab).

## PROCESOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS QUE OCURREN EN LAS SEMILLAS CON RELACION AL NIVEL DE HIDRACION-DESHIDRACION

### Fase de hidratación de las semillas

La generalidad de las semillas en contacto con el agua muestran un patrón trifásico de absorción (Figura 1), que se correlaciona con las variaciones en los componentes del potencial hídrico de las células durante los procesos fisiológicos y bioquímicos preparativos de la emergencia del embrión (Bewley y Black 1978, 1994; Obroucheva y Antipova 1985, 1989, 1997; Bradford 1986, 1990, 1995; Welbaum et al. 1998b). Sin embargo, la secuencia de los procesos fisiológicos no ha quedado claramente correlacionado con el patrón trifásico de la toma del agua, por lo que algunos autores proponen secuencias diferentes. Evenari (1961) describe 4 fases: imbibición, activación, mitosis y protusión de la radícula. Berlyn (1972) define las 4 fases como: imbibición, hidratación y activación, división y elongación celular y por último la protusión del embrión. Ching (1972, 1973) subdivide este proceso en 3 fases sobrelapadas, que mantienen una estrecha correlación con el patrón de absorción de agua. Por último, Bewley y Black (1978) y Côme y Thévenot (1982) plantearon que las semillas con permeabilidad al agua en sus cubiertas exhiben 3 fases en el proceso de absorción de agua consistente en: imbibición (I), activación o germinación *sensu stricto* (II) y fase de crecimiento (III).

La caracterización de cada una de las 3 fases de imbibición y los cambios celulares que ocurren en cada una de éstas han quedado bien claros en *Vicia faba* var. *minor* y de acuerdo con Obroucheva y Antipova (1989), pueden resumirse como sigue:

**Fase I:** imbibición rápida inicial debido a factores puramente físicos, en particular al componente mátrico del potencial hídrico. Durante esta fase se alcanza contenidos de humedad del eje embrionario de hasta 60% (con relación al peso fresco de la semilla; como el resto de los

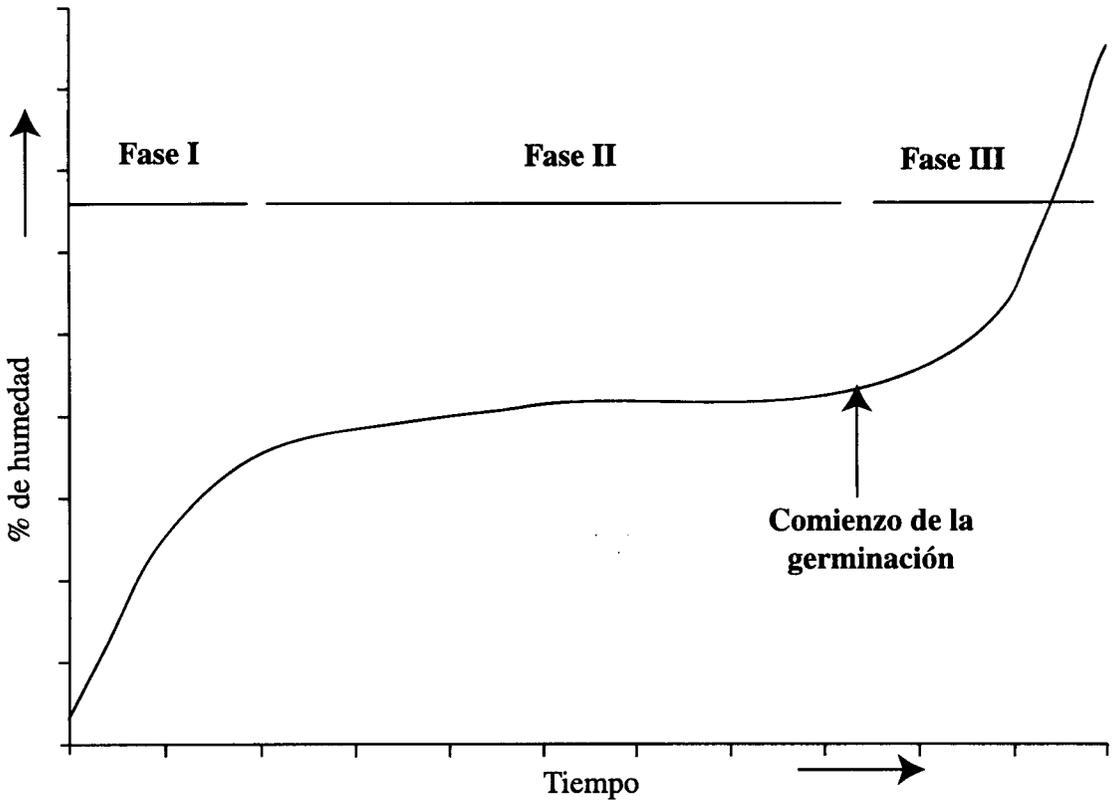


Fig. 1 Patrón trifásico de toma del agua en semillas frescas con capacidad germinativa. Reportado por Bewley y Black (1994).

porcentajes que se reportan en adelante) y ocurre tanto en semillas muertas como vivas. En estas últimas el incremento paulatino del contenido de humedad permite la activación de la respiración (40-45%), el inicio de la movilización de los carbohidratos de reserva en el embrión (45%), el inicio de la movilización de proteínas de reserva en el embrión (45%), y el inicio de la síntesis de proteínas (55%).

**Fase II:** conocida como fase lenta (lag phase) o plató, comprende fundamentalmente la puesta en marcha de 2 mecanismos fisiológicos sucesivos para el incremento de humedad del embrión y el crecimiento del mismo. El primer mecanismo está dado por la acumulación en las células de sustancias osmóticamente activas, que permiten incrementar el contenido de humedad hasta 65-68%. El segundo mecanismo se inicia cuando el contenido de humedad alcanza valores

de 68-70%, consiste en la activación de la bomba de protones que acidifica las paredes celulares e incrementa la plasticidad estructural de las mismas. La pérdida de rigidez de las paredes celulares permite el incremento del contenido de humedad (72-73%), el inicio de la vacuolización y el crecimiento celular (crecimiento ácido).

**Fase III:** está asociada con la protusión de la radícula o la emergencia embrionaria. Se caracteriza como la fase I, aunque con menor velocidad, por el incremento acelerado del contenido de humedad, esta vez debido al contacto directo del embrión con el agua libre del sustrato, que absorbe rápidamente agua sobre la base de las diferencias de potenciales hídricos que se establece en el sistema semilla-sustrato. Durante esta fase se inicia la movilización de las sustancias de reserva de los cotiledones, que asegura el establecimiento de la nueva plántula.

Bewley (1997a) estableció por su parte, una nueva secuencia de eventos bioquímicos-fisiológicos relacionados con el patrón trifásico de adsorción de agua de las semillas (Figura 2). Bewley y Black (1978, 1994) además plantearon que la duración de cada una de estas fases y la activación de los procesos metabólicos que ocurren en ellas depende de las propiedades intrínsecas de las semillas (contenidos de sustratos hidratables, permeabilidad de las semillas, toma de oxígeno, tamaño de las semillas, etc.) y de las condiciones que prevalezcan durante la hidratación de las mismas (temperatura, contenido de humedad y composición del sustrato, iluminación y disponibilidad de oxígeno).

### Fase de deshidratación de las semillas

Hegarty (1978) planteó, que si las semillas se desecan excesivamente, después de aplicado el tratamiento pregerminativo, o se mantienen en el estadio de imbibición por periodos muy prolongados, los mecanismos de deterioración celular se impondrán sobre los mecanismos de

reparación y activación que se logran con el incremento sostenido y gradual del nivel de hidratación de las semillas. Crevecoeur et al. (1976) también señalaron, que la sensibilidad al efecto nocivo de la deshidratación en las semillas de maíz (*Zea mays*) se incrementa con el tiempo transcurrido desde el inicio de la imbibición, es decir, con el nivel de hidratación alcanzado y el desarrollo de los procesos fisiológicos irreversibles. Ellos detectaron que cuando las semillas de maíz se desecan después de un período prolongado de imbibición (72 h), ocurren daños celulares, como la condensación de la cromatina, la degradación del DNA y daños en la ultraestructura de las membranas nucleares y mitocondriales externas, que impiden la germinación de las semillas al ser rehidratadas.

Este efecto no parece ser producto del proceso de desecación en si, sino del prolongado tiempo de imbibición parcial; el cual desencadena el desarrollo irreversible de algunos procesos celulares, que al mismo tiempo agotan las reservas nutricionales disponibles, sin alcanzar la

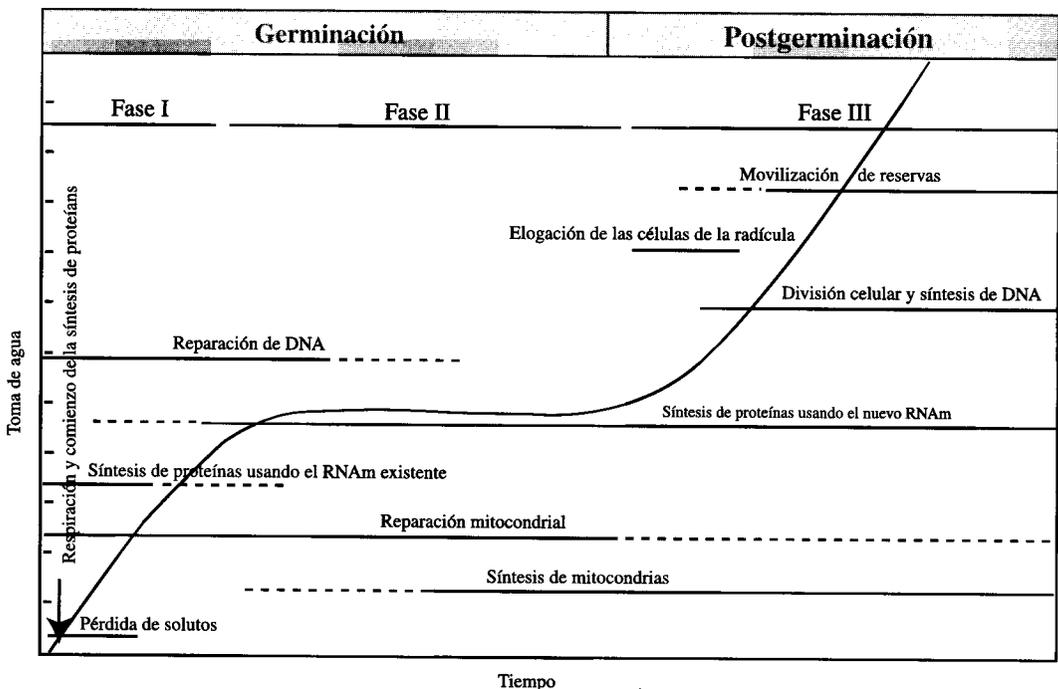


Fig. 2 Eventos metabólicos que ocurren en las semillas de acuerdo al patrón trifásico de absorción de agua. Datos tomados de Bewley (1997).

germinación del embrión, ya que las semillas no tratadas son capaces de soportar violentas deshidrataciones sin perder la viabilidad (Webb y Arnot 1982). Por su parte Bradford (1995), señala que muchas semillas son tolerantes a la desecación si el periodo de hidratación se mantiene hasta la fase II del patrón trifásico de absorción de agua (Figuras 1 y 2) y tienen una limitada capacidad de sobrevivencia a la desecación cuando se inicia la fase de crecimiento (III). Según Welbaum et al. (1998a) y Taylor et al. (1998) la fase de deshidratación de las semillas pretratadas es un paso crítico para el mantenimiento de su calidad y beneficios obtenidos durante la hidratación de las mismas. Allen (1997), también señala que la velocidad de deshidratación afecta significativamente la velocidad de germinación en semillas de lechuga y de zanahoria (*Daucus carota* L.), pero es indiferente en semillas de tomate.

Es bien conocido que durante la aplicación de los tratamientos de humedecimiento-desecación, la hidratación debe ocurrir hasta un punto tal que permita la activación de la mayor parte del aparato metabólico, pero que impida la total emergencia del embrión. El nivel adecuado de hidratación parcial y el momento en que debe procederse a la desecación debe ser determinado empíricamente para las semillas de cada especie, variedad o lote en particular (Brocklehurst y Dearman 1983ab, Bradford et al. 1990).

Henckel (1982) planteó, que el momento óptimo para deshidratar es cuando ocurre la emergencia de la radícula, es decir una vez transcurridos todos los procesos fisiológicos relacionados con la germinación de las semillas. En cambio, McKersie y Tomes (1980) y Dasgupta et al. (1982), demostraron que el momento óptimo para deshidratar y robustecer son 2 h antes de la emergencia de la radícula, debido a que en este punto el eje embrionario es más resistente a la deshidratación (Senatra y McKersie 1983). Según Goldsworthy et al. (1982) con períodos cortos de imbibición se logra revigorizar semillas envejecidas. En cambio, Heydecker et al. (1973), Khan et al. (1978) y Özbingöl et al. (1998) lograron acelerar y uniformar la germinación sometiendo las semillas a largos períodos de imbibición, aproximadamente hasta la mitad o final de

la fase II del proceso de imbibición (Figura 1). Por consiguiente, la aplicación o utilidad de estos tratamientos dependerá de los cambios bioquímicos-fisiológicos que provocan en las semillas el nivel de hidratación que se alcance.

### UTILIDAD DE LOS TRATAMIENTOS DE HIDRATACIÓN-DESHIDRATACIÓN EN LA PRACTICA AGRÍCOLA

Los tratamientos de hidratación parcial de las semillas han demostrado ser eficientes y actualmente se investigan para los siguientes fines agrícolas: a) revigorización de semillas para recuperar vigor e incrementar la longevidad durante el almacenamiento, b) acondicionamiento para incrementar, acelerar y uniformar la germinación y el establecimiento, c) acondicionamiento de semillas para eliminar dormancia orgánica o impuesta y d) robustecimiento de semillas para incrementar la germinación, el establecimiento y los rendimientos de las plantas resultantes de los tratamientos, bajo condiciones ambientales adversas (Bradford 1986, Welbaum y Bradford 1991, Khan 1992, Prisco et al. 1992, Thanos y Mitrakos 1992, Corbineau et al. 1994, Jett et al. 1995, Oluoch y Welbaum 1996, Chojnowski et al. 1997, Orta et al. 1998, Sánchez et al. 1999ab).

#### Revigorización de semillas para recuperar vigor e incrementar la longevidad durante el almacenamiento

La pérdida de la viabilidad o deterioro de las semillas por el envejecimiento se debe fundamentalmente a la acumulación de radicales libres, déficit de sustancias de reservas, acumulación de inhibidores del crecimiento, agentes mutágenos, y a la desnaturalización de los ácidos nucleicos, las proteínas y lipoproteínas celulares (Illi 1982, McDonald 1999, 2000). Por lo tanto, los tratamientos de hidratación parcial además de producir la activación general del aparato metabólico relacionado con la fase pregerminativa, restauran la integridad de las células (autoreparación enzimática de las membranas) a través de la

síntesis de lípidos, proteínas, ARN y ADN como fue descrito para semillas frescas por Bewley y Black (1994) y Bewley (1997a). También existen evidencias que los tratamientos de hidratación parcial de las semillas activan mecanismos de reparación de ADN, proteínas, membranas y enzimas, y los sistemas desintoxicantes (eliminan radicales libres) (Dell'Aquila y Triño 1991, Jeng y Sung 1994, Sivritepe y Dourado 1994, Kalpana y Madhava-Rao 1997, Kester et al. 1997, Bailly et al. 1998, 2000).

Thanos et al. (1989) estudiaron la relación existente entre el osmoacondicionamiento y el envejecimiento de las semillas de pimiento (*Capsicum annuum* L.), almacenadas durante 3 años. Ellos lograron con sólo un ciclo de osmoacondicionamiento en manitol antes y/o después del almacenamiento, incrementar significativamente la germinación con respecto a las semillas no tratadas; lo que demuestra, probablemente la participación de estos tratamientos, en la activación de los procesos reparadores de membranas, reportados en otras especies (Ward y Powell 1983, Burgass y Powell 1984). Goldsworthy et al. (1982), lograron revigorigar semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) con sólo 30 min de imbibición. Concluyeron además, que los mecanismos reparadores de membranas actúan en ausencia de oxígeno, lo que facilita el uso comercial de este método de inmersión total en agua. Sin embargo, otros estudios han sugerido que el oxígeno incrementa los procesos reparadores en las semillas envejecidas cuando éstas alcanzan un alto contenido de humedad (24-44%) (Ibrahim et al. 1983, Petruzzeli 1986), lo cual demuestra que la actividad respiratoria es un componente esencial en los procesos reparadores (McDonald 2000).

Por su parte, Punjabi y Basu (1982) reportaron que el acondicionamiento aplicado a semillas de lechuga, incrementó sensiblemente la resistencia de las mismas a condiciones adversas de almacenamiento, y minimizó el efecto nocivo de las radiaciones ionizantes aplicadas antes o después del acondicionamiento, reduciéndose la concentración de radicales libres en semillas tratadas con respecto al testigo. Sin embargo, Rao et al. (1987) en investigaciones similares realiza-

das con la misma especie, aseguran que el acondicionamiento muestra un efecto profiláctico somero; pero sí un efecto terapéutico notable con relación al almacenamiento de las semillas en condiciones adversas, expresado en: disminución del número de aberraciones cromosómicas y anomalías morfológicas de las plantas, e incremento de la velocidad de crecimiento de las raíces; con respecto a las plantas provenientes de semillas almacenadas no acondicionadas.

Para cada especie, el tratamiento revigorigador parece ejercer un efecto profiláctico, terapéutico, o ambos, con relación al envejecimiento. Las aparentes contradicciones en los resultados obtenidos pudieran deberse a problemas de procedimiento, al desconocerse los requerimientos exactos de las semillas de cada especie, variedad o lote en particular (Bradford 1986, Bradford et al. 1990, Oluoch y Welbaum 1996).

Dearman et al. (1986) determinaron que en semillas frescas de cebolla (*Allium cepa* L.) se incrementa la resistencia al almacenamiento después del tratamiento de hidratación parcial; pero la aplicación de este tratamiento a semillas envejecidas no mostró ningún efecto. Por el contrario, el acondicionamiento aplicado a embriones de trigo con diferentes grados de viabilidad resultó adecuado para incrementar la velocidad de síntesis de proteínas, ARN y ADN de los embriones tratados con relación al testigo (Dell'Aquila et al. 1978). Alvarado y Bradford (1988) sometiendo las semillas de tomate a tratamientos acondicionadores lograron retener la calidad de las mismas cuando se almacenaron por varios años a 10°C, pero se reduce considerablemente su longevidad cuando se almacenan a altas temperaturas.

Igualmente, Tarquis y Bradford (1992), Smok et al. (1993), Corbineau et al. (1994) y Chojnowski et al. (1997) demostraron que cuando las semillas de diferentes cultivos se someten a los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación son más sensibles al envejecimiento acelerado que las no tratadas. Según Chojnowski et al. (1997) esto podría deberse a la fase de deshidratación de los tratamientos revigorigadores que afectan los mecanismos enzimáticos protectores de membranas; como sucede en las semillas frescas de girasol (*Heliantus annuus*

L.) al someterse al deterioro celular inducido por el envejecimiento acelerado (Bailly et al. 1996).

En general, se evidencia la necesidad de incrementar las investigaciones relacionadas con los efectos de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación sobre la viabilidad de las semillas, por cuanto en el orden práctico estos procedimientos podrían significar una metodología sencilla y rápida para incrementar el vigor de las semillas de interés agrícola, tanto en la producción directa, como su conservación en los bancos de germoplasma.

#### **Acondicionamiento de semillas para incrementar, acelerar y sincronizar la germinación y el establecimiento**

Cualquier lote de semillas, por homogéneo que sea, deberá presentar un comportamiento fisiológico con distribución normal para cualquier parámetro que se observe. Ese comportamiento corresponde con la variabilidad genética del lote, expresado en las características de cada semilla como propágulo independiente, y en general, es la expresión de la adaptabilidad de la especie para asegurar su perpetuación en un determinado rango de condiciones ambientales (Caver 1983).

Las especies y unidades cultivadas, que han pasado un riguroso proceso de selección genética, presentan también diversidad en su comportamiento germinativo, lo que constituye una ventaja desde el punto de vista ecológico para evadir la incertidumbre del ambiente, pero el comportamiento heterogéneo atenta contra la aplicación de tratamientos agrotécnicos masivos, al estar constituidas las poblaciones por individuos en diferentes estadios ontogenéticos. El acondicionamiento de las semillas contribuye a la homogeneidad conductual de la germinación de un lote, además de acelerar e incrementar otros procesos de interés agronómico (Cuadro 1). El mejoramiento del funcionamiento de la germinación por los tratamientos descritos, no sólo se debe a la activación de los eventos metabólicos relacionados con la fase pregerminativa, sino también al incremento del contenido de ADN y ATP en las semillas (Özbingöl et al. 1999, McDonald 2000); existe una correlación positiva en-

tre la replicación de ADN y los efectos positivos logrados con los tratamientos (Lanteri et al. 1994, Özbingöl et al. 1999).

En la práctica se aplican diferentes sustancias y métodos (descritos en el epígrafe 2) para que las semillas logren el mismo nivel de humedad y estado fisiológico. Los mejores resultados experimentales, generalmente, se alcanzan con soluciones poliméricas, como el polietilenglicol (Heydecker 1974, Bradford 1986), pero en condiciones agronómicas, resultan más simples y baratos los métodos de imbibición parcial en agua; que han demostrado ser eficientes, no sólo para incrementar, acelerar y uniformar la germinación (Gray et al. 1990, Jett et al. 1996, Sánchez et al. 1997, Orta et al. 1998), sino también para sincronizar e incrementar el establecimiento y los rendimientos de los cultivos (Henckel 1982, Khan et al. 1983, Harris et al. 1999, Sánchez et al. 1999b).

Por su parte diversos autores (Bradford et al. 1988, Jett et al. 1996, Welbaum et al. 1998b) plantearon que el acondicionamiento osmótico incrementa el establecimiento debido a que acelera la emergencia de las plántulas y disminuye la pérdida de electrolitos por las semillas (aminoácidos y azúcares), esto último contribuye considerablemente a disminuir los ataques fúngicos.

#### **Acondicionamiento de semillas para eliminar dormancia orgánica o impuesta**

Antes de discutir esta temática debemos esclarecer como se define en la literatura científica el término de dormancia orgánica e impuesta, debido a que estos conceptos han sido utilizados indiscriminadamente por los investigadores cuando se tiene que precisar las causas que no permiten la germinación de las semillas.

Según Nikolaeva (1982) y Bewley y Black (1994) una semilla presenta dormancia orgánica cuando, por razones inherentes a su desarrollo morfológico, la composición y estructura de sus cubiertas, la existencia de mecanismos fisiológicos inhibitorios o la combinación de más de uno de estos factores, el proceso de germinación no ocurre a pesar de que las condiciones físicas del medio: humedad, temperatura, iluminación, etc., sean óptima para ello. Este estado también, se

Cuadro 1. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación en semillas de especies cosechadas, métodos y resultados obtenidos. Las soluciones de polietilenglicol (PEG) utilizadas por los autores fueron de peso molecular de 4000 y 6000.

Especies	Sustancias de imbibición	Temperatura °C	Duración días	Resultados	Referencias
Apio ( <i>Apiium graveolens</i> L.)	PEG	15	14	Acelera la germinación	Brocklehurst y Dearman (1983 a)
	PEG	15	14	Acelera la emergencia en casa de vegetación; incrementa el peso fresco de las plantas	Brocklehurst y Dearman (1983 b)
Cebada ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	PEG	10	1-8	Acelera y uniformiza la germinación	Bodswrth y Bewley (1981)
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10	1	Incrementa el rendimiento	Chatterjee y Singh (1983)
	Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	10	0.83	Incrementa el rendimiento	
Cebolla ( <i>Allium cepa</i> L.)	PEG	15	14	Acelera la germinación	Brocklehurst y Dearman (1983 b)
	Glicerol	15	14	Acelera la germinación	Khan et al. (1978)
Col ( <i>Brassica oleracea</i> L. varalica)	PEG	10 y 22	1 y 21	Reduce la germinación	Hegarty (1977)
Col de repollo ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. capitata)	PEG	15	7	Acelera la emergencia de las plántulas e incrementa su peso fresco	Khan et al. (1980-81)
	PEG	15	14	Acelera la emergencia en semillas dañadas por el calor	Ralph (1978)
Chícharo ( <i>Pisum sativum</i> L.)	PEG	15	4.8	Acelera la germinación y la velocidad de crecimiento de los tallos y las raíces	Khan et al. (1978)
Espinaca ( <i>Spinacea oleracea</i> L.)	PEG	10	14	Incrementa la germinación en altas temperaturas	Atherton y Faroque (1983)
Lechuga ( <i>Lactuca sativa</i> L.)	PEG	15	0.38	Mejora la germinación y la emergencia en campo	Cantliffe et al. (1981)
	PEG + reguladores crecimiento	15	2-3	Evita la termoinhibición e incrementa la emergencia en campo	Prusinski y Khan (1993)
	PEG	16-20	1	Mejora la germinación en altas temperaturas de las semillas peletizadas	Valdes et al. (1985)
Maíz ( <i>Zea mays</i> L.)	PEG	15	1-8	Acelera y uniformiza la germinación a bajas temperaturas	Bodswrth y Bewley (1981)

Cuadro 1. (Continuación) Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación en semillas de especies cosechadas, métodos y resultados obtenidos. Las soluciones de polietilenglicol (PEG) utilizadas por los autores fueron de peso molecular de 4000 y 6000.

Especies	Sustancias de imbibición	Temperatura °C	Duración días	Resultados	Referencias
Melón de castilla ( <i>Cucumis melo</i> L.)	KNO <sub>3</sub>	25	6	Mejora la germinación y la emergencia en campo a bajas temperaturas	Bradford (1985)
Perejil ( <i>Petroselinum hortense</i> )	PEG	15	21	Acelera la germinación e incrementa la producción	Heydecker y Coolbear (1977)
Pimiento ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	PEG	15	5	No tiene efecto	Ghate y Phatak (1982)
	KNO <sub>3</sub>	20-22	6	Acelera la germinación, emergencia e incrementa el peso fresco de las plantas	Rivas et al. (1984)
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> + (NH <sub>4</sub> ) HPO <sub>4</sub>	27-29	3	Acelera la germinación, la emergencia y los rendimientos en casa de vegetación	Yaklich y Orzolek (1977)
Pino ( <i>Pinus elliotis</i> )	PEG	25	6	Incrementa y acelera la germinación	Haridi (1985)
Siratro ( <i>Macroptilium atropurpureum</i> )	PEG y H <sub>2</sub> O	20-30	1-2	Incrementa la germinación bajo potencial de agua reducido	Orta et al. (1983)
Sorgo ( <i>Sorghum bicolor</i> L.)	PEG	10	1-8	Acelera la germinación a bajas temperaturas	Bodswrth y Bewley (1981)
Soya ( <i>Glycine max</i> L.)	PEG	15	4-10	Acelera la emergencia y la velocidad de crecimiento de las plantas	Khan et al. (1978)
Tomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill)	H <sub>2</sub> O	25	3	Incrementa la emergencia, el vigor de las plántulas y rendimientos bajo estrés de sequía	Orta et al. (1993)
	PEG y H <sub>2</sub> O	25	3	Incrementa y acelera la germinación de semillas frescas y envejecidas	Orta et al. (1998)
	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + KNO <sub>3</sub>	15	14	Acelera la emergencia en campo	Haigh et al. (1986)
Trigo ( <i>Triticum aestivum</i> L)	PEG	10	1-8	Mejora la germinación	Bodswrth y Bewley (1981)
Zanahoria ( <i>Daucus carota</i> L.)	PEG	15	14	Acelera la germinación y la emergencia	Brocklehurst y Dearman (1983a)

conoce como dormancia endógena de las semillas (Nikolaeva 1982, Nikolaeva et al. 1985) y debe diferenciarse de la incapacidad para la germinación debida a cualquier factor externo que actúe como limitante del proceso. A este fenómeno diferente en principio, varios autores lo han denominado como dormancia impuesta o latencia de las semillas (Harper 1977, Nikolaeva 1982).

En adelante utilizaremos los términos de dormancia orgánica o dormancia impuesta para definir la incapacidad de germinación de semillas viables debido a propiedades inherentes a la semilla en sí o a factores del medio, respectivamente.

### **Acondicionamiento para eliminar dormancia orgánica**

Levitt y Hamm (1943) lograron acelerar el proceso de postmaduración en las semillas de *Taraxacum kok-saghyz* mediante la aplicación de soluciones salinas. Posteriormente, Heydecker y Coolbear (1977) y Wiebe y Tiessen (1979) también determinaron que los tratamientos acondicionadores intervienen en la maduración fisiológica de las semillas.

De acuerdo a lo anterior, las semillas inmaduras deben ser más beneficiadas por los tratamientos acondicionadores, que las semillas completamente maduras o sin dormancia orgánica embrionaria. Bradford et al. (1990) comprobaron esta hipótesis en 42 lotes de semillas de pimiento de diferentes grados maduración. Ellos lograron los mejores resultados para incrementar y acelerar la germinación, cuando los tratamientos acondicionadores fueron aplicados en semillas frescas con bajo poder germinativo inicial o inmaduras. Welbaum y Bradford (1991) y Oluoch y Welbaum (1996) también determinaron, que la efectividad de estos tratamientos en semillas de melón de castilla (*Cucumis melo* L.) depende del grado de maduración que tengan las mismas en su momento de obtención. Concluyeron además, que el incremento de la germinación por la hidratación parcial no sólo se debe a la activación de los mecanismos reparadores de membranas reportados en diferentes cultivos (Ward y Powell 1983, Dearman et al. 1986, Choudhuri y Basu 1988); al parecer, están involucrados otros procesos relacionados con la maduración fisiológica

de las semillas. También se conoce que los tratamientos acondicionadores disminuyen la resistencia mecánica que ofrece el endospermo a la emergencia de la radícula, al parecer los tratamientos activan la endo- $\beta$ -manasa, enzima responsable de la degradación del endospermo (Bewley 1997b, Welbaum et al. 1998a).

Por su parte, Kermodé et al. (1985) proponen que los tratamientos acondicionadores promueven la maduración de las semillas porque inducen la expresión completa de los genes relacionados con la germinación; mientras Halpin-Inghan y Sundstron (1992), Smok et al. (1993) y Bray (1995) sugieren que el acondicionamiento incrementa la actividad respiratoria, la síntesis de proteínas, ARN y ADN. Además, Fu et al. (1988) y Chojnoski et al. (1997) determinaron que los procedimientos mencionados incrementan la capacidad de convertir al ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico en etileno, compuesto responsable de la maduración fisiológica de las semillas y por consiguiente de la germinación (Bewley y Black 1994).

Los tratamientos acondicionadores no sólo permiten eliminar la dormancia orgánica relacionada con el desarrollo embrionario; al parecer, también pueden eliminar o evitar dormancia orgánica exógena debido a la impermeabilidad de las cubiertas de las semillas, como sucede en *Vigna unguiculata* (Ellis et al. 1982). La humidificación de las semillas de esta especie con posterioridad a su almacenamiento en seco (4.4 a 4.5% de contenido de humedad) y también antes de ser sembradas, permite incrementar el porcentaje de germinación final con respecto al testigo. Este comportamiento de las semillas de *V. unguiculata* pudiera estar relacionado con los efectos colaterales del tratamiento acondicionador sobre los mecanismos de dormancia típicos de la leguminosa y otras especies con "semillas duras", descritos por Poptsov (1976) y basados en evidencias de la correlación que existe entre la desecación y el incremento del nivel de dormancia de las semillas de este tipo.

### **Acondicionamiento para eliminar dormancia impuesta**

Thanos y Georghiou (1988), al osmocondicionar semillas de pepino y de tomate en

soluciones de sacarosa, manitol y NaCl lograron incrementar y acelerar significativamente la germinación bajo condiciones adversas de iluminación. Efecto que se debe al mecanismo alternativo de escape del fitocromo (pigmento fotorreceptor de la luz y encargado de regular la germinación en las semillas fotosensibles), que al rehidratarse incrementa los niveles de fitocromo activo en las semillas y por consiguiente, desencadena la germinación.

Normalmente, las semillas fotosensibles al ser irradiadas con luz blanca o roja eliminan la fotoinhibición (Bewley y Black 1982). Sin embargo, esta no es la única vía para lograr que el fitocromo inactivo (inhibidor de la germinación) pase a su forma activa; investigaciones recientes (Orozco-Segovia y Vázquez-Yanes 1992) han demostrado que éste fenómeno está muy correlacionado con el ambiente edafoclimático que rodea las semillas. Por ejemplo, se plantea que existen formas bioquímicas intermedias del fitocromo activo que requieren de humedad para pasar a la forma activa del pigmento (Casal y Smith 1989, Bewley y Black 1994); de este modo, queda clara la participación de los tratamientos pregerminativos de hidratación parcial en este proceso; es decir, permiten la rehidratación del fitocromo y con esto la activación y el inicio de la germinación en ambientes lumínicos no adecuados para la germinación.

Los tratamientos acondicionadores también, han sido utilizados para evitar la termoinhibición de las semillas en temperaturas subóptimas y supraóptimas de germinación (Khan 1977, Cantliffe 1981, Cantliffe et al. 1984, Wurr y Fellows 1984, Welbaum y Bradford 1991, Prusinki y Khan 1993).

Cantliffe et al. (1984), acondicionando semillas de lechuga en soluciones de  $K_3PO_4$  y en agua lograron eliminar la termodormancia que adquieren las semillas de esta especie cuando se siembran a 35 °C. Concluyeron, que tal efecto se debe a la activación de eventos metabólicos irreversibles, como la elongación celular, durante la fase de hidratación de los tratamientos acondicionadores, que permite la germinación aún cuando las semillas se rehidraten en temperaturas inadecuadas. Estos autores además plantearon, que la

termodormancia en las semillas se impone por la inhibición de la elongación y división celular, como ocurre en las semillas no tratadas o testigo. Welbaum y Bradford (1991), acondicionando semillas de melón de castilla en solución salina también, lograron eliminar termodormancia en temperaturas subóptimas; lo que demuestra, la efectividad de los tratamientos para evitar la termoinhibición y por consiguiente, la termodormancia.

### **Robustecimiento de semillas para incrementar la germinación, el establecimiento y los rendimientos de las plantas bajo condiciones de estrés ambiental**

Heydecker (1982) en sus compilaciones sobre estrés y germinación revisó la literatura existente sobre tratamientos robustecedores de las semillas (seed hardening) y concluyó que, excepto en muy raras contribuciones casi toda la teoría sobre estos tratamientos se basa en los resultados obtenidos por Henckel y colaboradores en Rusia. Por su parte Henckel (1982) en su libro: "Fisiología de las plantas resistentes al calor y a la sequía" sintetiza toda la experiencia acumulada durante varias décadas sobre los mecanismos de adaptación de las plantas al estrés ambiental.

Los tratamientos robustecedores se realizan por métodos muy simples, consisten en agregar cantidades limitadas de agua a las semillas de manera que el nivel de hidratación que alcancen permita sólo la emergencia incipiente del embrión, que bajo este estado debe permanecer durante una o varias jornadas de desecación al aire (Henckel 1964). Así, las plantas durante las primeras etapas del desarrollo, sufren el estrés hídrico provocado por el tratamiento y activan numerosos mecanismos fisiológicos de resistencia al estrés, que permanecerán latentes en condiciones ambientales idóneas (Heydecker 1982).

La expresión fenotípica de esta relación genotipo-ambiente se traduce en profundos cambios bioquímicos y fisiológicos que incrementan la tolerancia de las plantas no sólo a la sequía, sino también a las altas o bajas temperaturas y a la salinidad, a partir de la germinación y durante todo el desarrollo ontogénico, hasta los valores finales de rendimiento de los cultivos (Henckel

1982, Rehman et al. 1998ab). Según Henckel (1964, 1975), Henckel y Tvorus (1978, 1982) y Tvorus (1982) las características adaptativas adquiridas por las plantas después del tratamiento robustecedor pueden resumirse como: 1) citoplasma con alta viscosidad y elasticidad; 2) alto nivel hidrofílico de los coloides citoplasmáticos; 3) mayores contenidos de ARN, ADN y ATP; 4) potencial osmótico ligeramente mayor; 5) mayor resistencia de polisomas al recalentamiento y a la deshidratación; 6) recuperación más rápida de las funciones perdidas después de la sequía, como por ejemplo la fosforilación oxidativa; 7) estructuras xeromórficas específicas, como células más pequeñas; y 8) sistemas regenerativos mejor protegidos contra daños ambientales.

Por su parte, otros investigadores basándose en el mismo principio creado por Henckel y colaboradores para robustecer plantas han propuesto métodos de robustecimiento consistentes en someter a las semillas recién germinadas a altas temperaturas (Altschuler y Mascarenhas 1982, Copper y Ho 1983). Se plantea que una breve exposición a una temperatura subletal (choque térmico), induce tolerancia al calor en una variada gama de plantas (Cardemil 1985, Vierling 1990, 1991; Medina y Cardemil 1993; Ortiz et al. 1995, Bettey y Finch-Savage 1998). Cooper y Ho (1983) además plantean, que la adquisición de la termotolerancia se correlaciona con una mayor síntesis de proteínas de alto peso molecular o de estrés calórico, que al parecer, evitan la desnaturalización de las proteínas de membranas al ser sometidas las plantas a altas temperaturas. Vierling (1991) planteó que no está definido aún como las proteínas de choque térmico contribuyen a la capacidad de los organismos de sobrevivir al estrés calórico.

Este tipo de tratamiento también puede inducir la tolerancia a la sequía; pero los efectos que sobre las plantas podrían tener la combinación del choque térmico con los tratamientos de hidratación-deshidratación en semillas sin germinar han sido muy poco estudiados hasta donde conocemos (Sánchez et al. 1998, Calvo et al. 1999). Recientemente, Sánchez et al. (2000) sometiendo semillas de tomate y de pimiento a un ciclo de hidratación parcial hasta 2 h antes del

inicio de la germinación en combinación con un choque térmico a 36°C ó 38°C durante 1 h, lograron incrementar significativamente la germinación y el vigor de las plántulas bajo condiciones de estrés calórico con relación al testigo. Con dichos tratamientos además, se obtuvo resultados superiores a los alcanzados con los tratamientos tradicionales de hidratación-deshidratación y de choque térmico. Lo cual evidencia, el sinergismo que establece la combinación de los tratamientos hidratación parcial con los de choque térmico sobre la respuesta germinativa de estas especies.

Sin embargo, en semillas de pepino la combinación de ambos tratamientos no fue la óptima para mejorar el comportamiento germinativo esta especie (Sánchez et al. 2000). Este resultado podría deberse a la falta de estandarización de los tratamientos en la variedad de pepino empleado debido a que en otras variedades de esta especie con la combinación de los tratamientos mencionados se obtienen los mejores resultados para incrementar la germinación bajo déficit hídrico (Calvo et al. 1999). Cooper y Ho (1983) y Vierling (1991) señalaron también, que la efectividad de los tratamientos de choque térmico depende del momento y tiempo de aplicación de los mismos; así como de la temperatura del procedimiento térmico.

También en semillas de especies arbóreas pioneras (*Cecropia schreberiana* Miq., *Hibiscus elatus* Sw. y *Trichospermum grewiiifolium* Kosterm) la combinación de ambos tratamientos fue la más adecuada para incrementar la velocidad de germinación y el vigor de las plántulas en condiciones de estrés hídrico, calórico y lumínico (Sánchez et al. 1998, Sánchez 2000); esto demuestra, la efectividad de la combinación de dichos procedimientos no sólo en plantas hortícolas, sino también en especies forestales que juegan un papel importante en la repoblación de los bosques (Herrera et al. 1997, Muñoz 1998).

En general, todas estas características fisiológicas y bioquímicas adquiridas por las plantas robustecidas, se expresan en una ligera pero significativa mayor resistencia al estrés ambiental a partir de la germinación y durante todo el desarrollo ontogenético de la planta, hasta los valores finales de rendimiento de los cultivos

(Lush y Groves 1981, Henckel 1982, Orta et al. 1998, 2000; Sánchez et al. 1999ab), aunque según Bewley (1979) y Heydecker (1982) no todos los autores (Jarvis y Jarvis 1964, Husain et al. 1968, Woodruff 1969) coinciden en que el efecto robustecedor se mantenga constante durante todo el ciclo de vida de las plantas. Ante estas evidencias, cabe cuestionarse si el tratamiento robustecedor fue aplicado correctamente a los requerimientos de la especie, variedad o lote particular, o si las semillas de la especie investigada no responden efectivamente al tratamiento por carecer de mecanismos estables de resistencia al estrés, que puedan ser estimulados por el mismo; por ejemplo tendría muy poco sentido tratar de robustecer semillas de especies de plantas acuáticas, por cuanto los mecanismos de resistencia a la sequía pueden no existir o ser muy débiles, por lo que el tratamiento mostraría un efecto negligible o nulo.

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El estado del conocimiento actual sobre los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación a nivel internacional acumula suficientes evidencias acerca de la efectividad de los mismos, cuando se aplican de acuerdo a los requerimientos de las semillas de cada lote. Estos tratamientos incrementan, aceleran y sincronizan la germinación, estimulan la autoreparación enzimática de las membranas celulares, eliminan o evitan la dormancia en las semillas y hacen expresar fenotípicamente adaptaciones de las plantas a condiciones de estrés ambiental. Al parecer, los principales obstáculos para el uso comercial de los mismos se debe a la relativa complejidad de algunos de ellos (Cuadro 1) y a la inadecuada extensión y divulgación de los resultados en el medio rural.

Los tratamientos acondicionadores, reenergizadores y robustecedores deberán extenderse en la práctica productiva no sólo como una vía alternativa para mejorar el comportamiento agronómico de las plantas de interés agrícola, sino también como un medio para desarrollar la agri-

cultura orgánica o sustentable, debido a que pueden incrementarse la germinación, el establecimiento y los rendimientos de las plantas, minimizando la dependencia de los productos químicos y sistemas de irrigación. Finalmente, sería muy promisorio extender los tratamientos referidos en especies forestales no sólo por su interés teórico, sino por la magnitud de la significancia práctica, que podrían tener la aplicación de estos en la reforestación bajo condiciones de estrés ambiental y por consiguiente, durante los cambios climáticos que están sucediendo.

### LITERATURA CITADA

- ALLEN P.S. 1997. Dehydration of primed seeds can alter rate of subsequent radicle emergence. *In: Fifth national symposium on stand establishment*. Ed. by M.A. Bennett, J.D. Metzger. Columbus, Ohio. p. 158-163.
- ALTSCHULER M., MASCARENHAS J.M. 1982. Heat shock proteins and effects of heat shock in plants. *Plant Mol. Biol.* 1:103-115.
- ALVARADO A.D., BRADFORD K.J. 1988. Priming and storage of tomato (*Lycopersicon esculentum*) seeds. I. Effects of storage temperature on germination rate and viability. *Seed Sci. Technol.* 16:601-612.
- ATHERTON J.G., FAROQUE A.M. 1983. High temperature and germination in spinach. II. Effects of osmotic priming. *Scientia Hort.* 19:221-227.
- BAILLY C., BENAMAR A., CORBINEAU F., CÔME D. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiologia Plantarum* 97:104-110.
- BAILLY C., BENAMAR A., CORBINEAU F., CÔME D. 1998. Free radical scavenging as affected by accelerated ageing and subsequent priming in sunflower seeds. *Physiologia Plantarum* 104:646-652.
- BAILLY C., BENAMAR A., CORBINEAU F., CÔME D. 2000. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. *Seed Science Research* 10:35-42.
- BETTEY M., FINCH-SAVAGE W.E. 1998. Stress protein content of mature *Brassica* seeds and their germination performance. *Seed Science Research* 8:347-355.

- BERLYN G.P. 1972. Seed germination and morphogenesis. *In: Seed Biology*. Ed. by T.T. Kozlowski. Academic Press, New York. p. 223-312.
- BEWLEY J.D. 1979. Physiological aspects of desiccation tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 30:195-238.
- BEWLEY J. D. 1997a. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9:1055-1066.
- BEWLEY J. D. 1997b. Breaking down the walls –a role for endo- $\beta$ -mannanase in release from seed dormancy? *Trends in Plant Sci.* 2:64-469.
- BEWLEY J.D., BLACK M. 1978. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. I: development, germination and growth. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 306 p.
- BEWLEY J.D., BLACK M. 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. II: viability, dormancy and environmental control. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 375 p.
- BEWLEY J.D., BLACK M. 1994. Seed: physiology of development and germination, 2 ed. Plenum Press, New York. 445 p.
- BODSWRTH S., BEWLEY J.D. 1981. Osmotic priming of seed of crop species with polyethylene glycol as a means of enhancing early and synchronous germination at cool temperatures. *Can. J. Bot.* 59:672-676.
- BRADFORD K.J. 1985. Seed priming improves germination and emergence of cantaloupe at low temperatures. *HortScience* 20:598-602.
- BRADFORD K.J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *HortScience* 21:1105-1112.
- BRADFORD K.J. 1990. A water relations analysis of seed germination rates. *Plant Physiol.* 94:840-849.
- BRADFORD K.J. 1995. Water relations in seed germination. *In: Seed development and germination*. Ed. by J. Kigel and G. Galili., New York, Basel, Hong Kong, Marcel Dekker, Inc. p. 351-396.
- BRADFORD K.J., HAIGH A.M. 1994. Relationship between accumulated hydrothermal time during seed priming and subsequent seed germination rates. *Seed Science Research* 4:63-69.
- BRADFORD K.J., MAY D.M., HOYLE B.J., SKIBINSKI Z.S., SCOT S.J., TYLER. K.B. 1988. Seed and soil treatments to improve emergence of muskmelon from cold or crusted soil. *Crop Sci.* 28:1001-1005.
- BRADFORD K.J., STEINER J.J., TRAWATHA S.E. 1990. Seed priming influence on germination and emergence of pepper seed lots. *Crop Sci.* 30:718-721.
- BRAY C.M. 1995. Biochemical processes during the osmo-priming of seeds. *In: Seed development and germination*. Ed. by J. Kigel and G. Galili. New York, Basel, Hong Kong, Marcel Dekker, Inc. p. 767-789.
- BROCKLEHURST P.A., DEARMAN J. 1983a. Interactions between seed priming treatments and nine seed lots of carrot, celery and onion. I. Laboratory germination. *Ann. Applied Biol.* 102:577-584.
- BROCKLEHURST P.A., DEARMAN J. 1983b. Interactions between seed priming treatments and nine seed lots of carrot, celery and onion. II. Seedling emergence and plant growth. *Ann. Applied Biol.* 102:585-593.
- BROCKLEHURST P.A., DEARMAN J. 1984. A comparison of different chemical for osmotic treatment of vegetable seed. *Ann. Applied Biol.* 105:391-398.
- BURGASS R.W., POWELL A.A. 1984. Evidence for repair processes in the invigoration of seeds by hydration. *Ann. Bot.* 53:753-757.
- BUIJASKI W., NIENOW A.W., GRAY D. 1989. Establishing the large-scale osmotic priming of onion seed using enriched air. *Ann. Applied Biol.* 115:171-176.
- BUIJASKI W., NIENOW A.W., PETCH G.M., DREW R.L.K., MAUDE R.P. 1992. The process engineering of leek seeds: a feasibility study. *Seed Sci. Technol.* 20:129-139.
- CALVO E., SANCHEZ J.A., MUÑOZ B. 1999. Efectos de los tratamientos robustecedores de semillas sobre la germinación y plántulas de *Cucumis sativus*, L., bajo potencial de agua reducido. *Acta Botánica Cubana*. (En prensa).
- CANTLIFFE D.J. 1981. Seed priming of lettuce for early and uniform emergence under conditions of environmental stress. *Acta Horti.* 122:29-38.
- CANTLIFFE D.J., SHULER K.D., GUEDES A.C. 1981. Overcoming seed thermodormancy in heat sensitive romaine lettuce by seed priming. *HortScience* 16:196-202.
- CANTLIFFE D.J., FISCHER J.M., NELL T.A. 1984. Mechanism of seed priming in circumventing thermodormancy in lettuce. *Plant Physiol.* 75:290-294.
- CARDEMIL L. 1985. Inducción de termotolerancia en plantas. *Medio Ambiente* 7:3-14.

- CASAL J.J., SMITH H. 1989. The function, action and adaptive significance of phytochrome in light grown plants. *Plant Cell Env.* 12:855-862.
- CAVER P.B. 1983. Seed demography. *Can. J. Bot.* 61:3578-3590.
- COOPER P., HO T.H.D. 1983. Heat shock proteins in maize. *Plant Physiol.* 71:215-222.
- CORBINEAU F., PICARD M.A., CÔME D. 1994. Germinability of leek seeds and its improvement by osmopriming. *Acta Horticulturae* 371:45-52.
- COCCHETE P., GUERRA H. 1986. Effect of NaCl and polyethylene glycol on solute content and glycoside activities during germination of lentil seeds. *Plant Cell Env.* 9:589-593.
- CÔME D., THEVENOT C. 1982. Environmental control of embryo dormancy and germination. *In: The physiology and biochemistry of seed development, dormancy, and germination.* Ed. by A. A. Khan. Elsevier, Amsterdam. p. 271-297.
- CREVECOEUR M., DELTOUR R., BRONCHART R. 1976. Cytological study on water stress during germination of *Zea mays*. *Plant Berl.* 132:31-41.
- CHATTERJEE B.N., SINGH. A.I. 1983. Barley production from seeds treated before sowing. *J. Agr. Sci.* 100:235-239.
- CHENG Z., BRADFORD K.J. 1999. Hydrothermal time analysis of tomato seed germination responses to priming treatments. *J. Expt. Bot.* 50:89-99.
- CHING T.M. 1972. Metabolism of germinating seeds. *In: Seed biology.* Ed. by T.T. Kozlowski. Academic Press, New York. p. 103-218.
- CHING T.M. 1973. Biochemical aspects of seed vigor. *Seed Sci. Technol.* 1:73-88.
- CHIPPINDALE H.G. 1934. The effect of soaking in water on the "seed" of some Gramine. *Ann. Applied Biol.* 21:225-232.
- CHOJNOWSKI M., CORBINEAU F., CÔME D. 1997. Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsequent drying, storage and aging. *Seed Science Research* 7:323-331.
- CHOUDHURI N., BASU R.N. 1988. Maintenance of seed vigor and viability of onion *Allium cepa* L. *Seed Sci. Technol.* 7:57-64.
- DAHAL P., BRADFORD K.J. 1994. Hydrothermal time analysis of tomato seed germination at suboptimal temperature and reduce water potential. *Seed Science Research* 4:71-80.
- DASGUPTA J., BEWLEY J.D., YEUNG E.C. 1982. Desiccation-tolerant and desiccation-intolerant stages during the development and germination of *Phaseolus vulgaris* seeds. *J. Expt. Bot.* 33:1045-1057.
- DEARMAN J., BROCKLEHURST P.A., DREW R.L.K. 1986. Effects of osmotic priming and ageing on onion seed germination. *Ann. Applied Biol.* 108:639-648.
- DEMIR I., VAN DE VENTER H.A. 1999. The effect of priming treatments on the performance of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) seeds under temperature and osmotic stress. *Seed Sci. Technol.* 27:871-875.
- DELL'AQUILA A., SAVINO G., DELEO P. 1978. Metabolic changes induced by hydration-dehydration treatment in wheat embryos. *Plant Cell Physiol.* 19:349-354.
- DELL'AQUILA A., TRITTO V. 1991. Germination and biochemical activities in wheat seeds following delayed harvesting, ageing and osmotic priming. *Seed Sci. Technol.* 19:73-82.
- EDWARDS M.D., LOWER R.L., STAUB J.E. 1986. Influence of seed harvesting and handling procedures on germination of cucumber seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111:507-512.
- ELLIS R.H., OSEI-BONSU K., ROBERTS E.H. 1982. Desiccation and germination of seeds of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Seed Sci. Technol.* 10:509-515.
- EVENARI M. 1961. A survey of the work done in seed physiology by the Department of Botany, Hebrew University, Jerusalem (Israel). *Proceedings of the International Seed Testing Association* 26:597-658.
- EVENARI M. 1984. Seed physiology: its history from antiquity to the beginning of the 20<sup>th</sup> century. *Bot. Rev.* 50:119-142.
- FU J.R., LU X.H., CHEN R.Z., ZHANG B.Z., LIU Z.S, LI Z.S., CAI D.Y. 1988. Osmoconditioning of peanut (*Arachis hypogea* L.) seeds with PEG to improve vigour and some biochemical activities. *Seed Sci. Technol.* 16:197-212.
- GOLDSWORTHY A., FIELDING J.L., DOVER M.B.J. 1982. "Flash imbibition": a method for the re-invigoration of age wheat seed. *Seed Sci. Technol.* 10:55-65.

- GRAY H.R., ROWSE R., DREW R.L.K. 1990. A comparison of two large-scale seed priming techniques. *Ann. Applied Biol.* 116:611-624.
- GRAY D., DREW R.L.K., BUJALSKI W., NIENOW A.W. 1991. Comparison of polyethylene glycol polymers, betaine and L-proline for priming vegetable seeds. *Seed Sci. Technol.* 19:581-590.
- GRZESIK M., NOWAK J. 1998. Effects of matricconditioning and hydropriming on *Helichrysum bracteatum* L. seeds germination, seedling emergence and stress tolerance. *Seed Sci. Technol.* 26:363-376.
- GUMMERSON R.J. 1986. The effect of constant temperatures and osmotic potential on the germination of sugarbeet. *J. Expt. Bot.* 37:729-741.
- HAIGH A.M., BARLOW E.W.R., MILTHORPE F.L. 1986. Field emergence of tomato, carrot, and onion seeds primed in an aerated salt solution. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 111:660-665.
- HALPIN-INGHAN B., SUNDSTRON F.J. 1992. Pepper seed water content, germination response and respiration following priming treatments. *Seed Sci. Technol.* 20:589-596.
- HARIDI M.B. 1985. Effect of osmotic priming with polyethylene glycol on germination of *Pinus elliotti* seeds. *Seed Sci. Technol.* 13:669-674.
- HARPER J.L. 1977. *Population biology of plants*. Academic Press, London. 892 p.
- HARRIS D., JOSHI A., KHAN P.A., GOTHKAR P., SODHI P.S. 1999. On-farm seed priming in semi-arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. *Expt. Agric.* 35:15-29.
- HEGARTY T.W. 1977. Seed activation and seed germination under moisture stress. *New Phytol.* 78:349-359.
- HEGARTY T.W. 1978. The physiology of seed hydration and dehydration, and the relation between water stress and the control of germination: a review. *Plant, Cell Env.* 1:101-119.
- HENCKEL P.A. 1964. Physiology of plants under drought. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 15:363-386.
- HENCKEL P.A. 1975. Physiological ways of plant adaptation against drought. *Agrochemical.* 5:431-436.
- HENCKEL P.A. 1982. Fisiología de la resistencia de las plantas al calor y a la sequía [en ruso]. *Nauka, Moscú.* 280 p.
- HENCKEL P.A., TVORUS E.K. 1978. Diferencias en sedimentación de ribosomas de embriones provenientes de semillas robustecidas o no robustecidas de trigo [en ruso]. *Fisiología Rastienii* 2:236-241.
- HENCKEL P.A., TVORUS E.K. 1982. Niveles de ATP y síntesis de proteínas en embriones extraídos de granos de trigo robustecidos o no robustecidos, durante los periodos iniciales de la imbibición [en ruso]. *Fisiología Rastienii* 5:972-977.
- HERRERA R.A., ULLOA D.R., VALDES-LAFONT O., PRIEGO A.G., VALDES A.R. 1997. Ecotechnologies for sustainable management of tropical forest diversity. *Nature & Resources* 1:2-17.
- HEYDECKER W. 1974. Germination of an idea: the priming of seeds. *Univ. Nottingham Scho. Agr. Rep.* 1973/1974:50-67.
- HEYDECKER W. 1977. Stress and germination. *In: The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination*. Ed by A.A. Khan. Elsevier/North-Holland, Amsterdam. p. 240-282.
- HEYDECKER W. 1982. Estrés y germinación de semillas. *In: Fisiología y bioquímica de la latencia y germinación de las semillas*, [en ruso]. Ed. por A.A. Khan. Kolos, Moscú. p. 273-319.
- HEYDECKER W., HIGGINS J., GULLIVER R.L. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* 246:42-44.
- HEYDECKER W., HIGGINS J., TUNER Y.J. 1975. Invigoration of seeds?. *Seed Sci. Technol.* 29:881-888.
- HEYDECKER W., COOLBEAR P. 1977. Seed treatments for improved performance survey and attempted prognosis. *Seed Sci. Technol.* 5:353-425.
- HUSAIN I., MAY L.H., ASPINALL D. 1968. The effects of soil moisture stress on the growth of barley. IV. Response to presowing treatment. *Aust. J. Agric. Res.* 19:213-220.
- IBRAHIM A.E., ROBERTS E.H., MURDOCH A.J. 1983. Viability of lettuce seeds. II. Survival and oxygen uptake in osmotically controlled storage. *J. Expt. Bot.*
- ILLI I.E. 1982. Viabilidad de las semillas. *In: Fisiología de las semillas*, [en ruso]. Ed por A.A. Prokofiev. Nauka, Moscú. p. 80-98.
- JARVIS P.G., JARVIS M.S. 1964. Presowing hardening of plant to drought. *Phyton.* 21:113-117.

- JENG T.L., SUNG J.M. 1994. Hydration effect on lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzyme activity of artificially-aged peanut seed. *Seed Sci. Technol.* 22:435-447.
- JETT L.W., WELBAUM G.E., O'DELL C.R., MORSE R.D. 1995. Does primed seed improve stand establishment and yield of broccoli. *HortTechnology* 5:314-317.
- JETT L.W., WELBAUM G.E. 1996. Changes in broccoli (*Brassica oleracea* L.) seed weight, viability, and vigour during development and following drying and priming. *Seed Sci. Technol.* 24:127-137.
- JETT L.W., WELBAUM G.E., MORSE R.D. 1996. Effects of matric and osmotic priming treatments on broccoli seed germination. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 121:423-429.
- KALPANA R., MADHAVA-RAO K.V. 1997. Nucleic acid metabolism of seed of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) cultivars during accelerated ageing. *Seed Sci. Technol.* 25:293-301.
- KANAZAWA K., UEMOTO S. 1977. Physiological studies on germination of *Japanese radish* seeds. I. Germination dependences on pH and salt concentration. *Abstr. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 174-175.
- KERMODE A.R., BEWLEY J.D., DASGUPTA J., MISRA S. 1986. The transition from seed development to germination: A key role for desiccation? *HortScience* 21:1113-1118.
- KESTER S.T., GENEVE R.L., HOUTZ R.L. 1997. Priming and accelerated ageing affect L-isoaspartyl methyltransferase activity in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seed. *J. Expt. Bot.* 48:943-949.
- KHAN A.A. 1977. Preconditioning, germination and performance of seeds. *In: The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination.* Ed. by A.A. Khan. Elsevier/North-Holland, Amsterdam. p. 283-316.
- KHAN A.A. 1992. Preplant physiological seed conditioning. *Hort. Rev.* 14:131-181.
- KHAN A.A., IYAS S., PTASZNIK W. 1995. Integrating low water potential seed hydration with other treatments in improve cold tolerance. *Ann. Bot.* 75:13-19.
- KHAN A.A., KARSSSEN C.M., LEVE E.F., ROE C.H. 1979. Preconditioning of seeds to improve performance. *In: Plant regulation and world agriculture.* Ed. by T.K. Scott. Plenum, New York. p. 395-413.
- KHAN A.A., PECK N.H., SAMIMY C. 1980-81. Seed osmoconditioning physiological and biochemical changes. *Israel J. Bot.* 24:133-144.
- KHAN A.A., PECK N.H., TALOR A.G., SAMIMY C. 1983. Osmoconditioning of beet seeds to improve emergence and yield in cold soil. *Agron. J.* 75:788-794.
- KHAN A.A., TAO K.L., KNYPL J.S., BORKOWSKA B., POWELL L.E. 1978. Osmotic conditioning of seeds: physiological and biochemical changes. *Acta Hort.* 83:267-278.
- KIDD F., WEST C. 1918. Physiological predetermination: the influence of physiological condition of seed upon the course of subsequent growth and upon the yield. I. The effects of soaking seed in water. *Ann. Applied Biol.* 5:1-10.
- KIDD F., WEST C. 1919. Physiological predetermination: the influence of physiological condition of seed upon the course of subsequent growth and upon the yield. IV. Review of the literature. Chapter II. *Ann. Applied Biol.* 5:220-251.
- LANTERI S., SARACCO E., KRAAK H.L., BINO R.J. 1994. The effects of priming on nuclear replication activity and germination of pepper (*Capsicum annum*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*) seeds. *Seed Science Research* 4:81-87.
- LAWLOR D.W. 1970. Absorption of polyethylene glycol by plants and their effects on plant growth. *New Phytol.* 69:501-513.
- LEVITT L.H., HAMM P.C. 1943. A method of increasing the rate of seed germination of *Taraxacum kok-saghyz*. *Plant Physiol.* 18:288-293.
- LUSH W.M., GROVES R.H. 1981. Germination, emergence and surface establishment of wheat and ryegrass in response to natural and artificial hydration-dehydration cycles. *Aust. J. Agric. Res.* 32:731-739.
- MAY L.H., MILTHORPE E.J., MILTHORPE F.L. 1962. Pre-sowing hardening of plant to drought. An appraisal of the contributions of P.A. Henckel. *Field Crop Adstr.* 15:93-98.
- MCDONALD M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair, and assessment. *Seed Sci. Technol.* 27:177-237.
- MCDONALD M.B. 2000. Seed priming. *In: Seed Technology and its biological basic.* Ed. by M. Black and J.D. Bewley. Sheffield, Academic Press. p. 286-325.
- MCKERSIE B.D., TOMES D.T. 1980. Effects of dehydration treatments on germination, seedling vigour, and

- cytoplasmatic leakage in wild oats and birdsfoot trefoil. *Can. J. Bot.* 58:471-476.
- MEDINA C., CARDEMIL L. 1993. *Prosopis chilensis* is a plant highly tolerant to heat shock. *Plant Cell Env.* 16:305-310.
- MONTEJO L., SANCHEZ J.A., MUÑOZ B., RAMOS J.E. 2000. Incremento de la germinación en semillas de fruta bomba por aplicación de tratamientos pregerminativos. *Cultivos Tropicales* (En prensa).
- MUÑOZ B. 1998. Patrones morfológicos y fisiológicos en semillas de algunas especies arbóreas pioneras. Tesis de maestría, Instituto de Ecología y Sistemática, La Habana, Cuba.
- MUSA A.M., JOHANSEN C., KUMAR J., HARRIS D. 1999. Response of chickpea to seed priming in the high Barind Tract of Bangladesh. *Agronomy/Physiology* 6:20-21.
- NIKOLAEVA M.G. 1982. Dormancia de las semillas. In: Fisiología de las semillas, [en ruso]. Ed. por A.A. Prokofiev. Nauka, Moscú. 318 p.
- NIKOLAEVA M.G., RASUMOVA M.V., GLADKOVA V.N. 1985. Manual de técnicas pregerminativas para semillas dormantes [en ruso]. Nauka, Moscú. 348 p.
- OBROUCHEVA N.V., ANTIPOVA O.V. 1985. The level of seed hydration that controls the events preceding cell elongation in germination beans. *Soviet Plant Physiol.* 32:932-941.
- OBROUCHEVA N.V., ANTIPOVA O.V. 1989. Seed hydration as a trigger of cell elongation in bean hypocotyl and radicle. In: Structural and functional aspects of transport in roots. Ed by B.C. Loughuan, O. Gaspacikova, and J. Kolek. Klumer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London. p. 41-44.
- OBROUCHEVA N.V., ANTIPOVA O.V. 1997. Physiology of the initiation of seed germination. *Russian J. Plant Physiol.* 44:250-264.
- OLUOCH M.O., WELBAUM G.E. 1996. Effect of postharvest washing and post-storage priming on viability and vigour of six-year-old muskmelon (*Cucumis melo* L.) seeds from eight stages of development. *Seed Sci. Technol.* 24:195-209.
- OROZCO-SEGOVIA A., VAZQUEZ-YANES C. 1992. Los sentidos de las plantas. La sensibilidad de las semillas a la luz. *Ciencia.* 43:399-441.
- ORTA R., POZO L., PEREZ E., ESPINOSA I. 1983. Aplicación de tratamientos pregerminativos a semillas de Siratro [*Macroptilium atropurpureum* (Moc&Sesé)]. In: Memorias del I Simposio de Botánica, La Habana, Cuba. p. 251-264.
- ORTA R., SANCHEZ J.A., MUÑOZ B., CALVO E. 1998. Modelo de hidratación parcial en agua para tratamientos revigorizadores, acondicionadores y robustecedores de semillas. *Acta Botánica Cubana* 121:1-8.
- ORTA R., SANCHEZ J.A., MUÑOZ B., CALVO E. 2000. Tratamientos acondicionadores y robustecedores de semillas y su efecto sobre el comportamiento reproductivo de las plantas. Siembra temprana del tomate. *Acta Botánica Cubana* (En prensa).
- ORTIZ C.A., BRAVO L.A., CARDEMIL L. 1995. Physiological and molecular responses of *Prosopis chilensis* under field and simulation conditions. *Phytochemistry* 40:1375-1382.
- ÖZBINGÖL N., CORBINEAU F., CÔME D. 1998. Responses of tomato seeds to osmoconditioning as related to temperature and oxygen. *Seed Science Research* 8:377-384.
- ÖZBINGÖL N., CORBINEAU F., GROOT S.P.C., BINO R.J., CÔME D. 1999. Activation of the cell cycle in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) seeds during osmoconditioning as related to temperature and oxygen. *Ann. Bot.* 84:245-251.
- PARMAR M.T., MOORE R.P. 1968. Carbowax 6000, manitol, and sodium chloride for simulation drought conditions in germination studies of corn (*Zea mays* L.) of strong and weak vigor. *Agron. J.* 60:192-195.
- PETRUZZELI L. 1986. Wheat viability at high moisture content under hermetic and aerobic storage conditions. *Ann. Bot.* 58:259-265.
- POTSOV A.V. 1976. Biología de la latencia de las semillas por cubiertas duras, [en ruso]. Nauka, Moscú. 156 p.
- PRISCO J.T., BAPTISTA-HADDAD C.R., PINHEIRO-BASTOS J.L. 1992. Hydration-dehydration seed pre-treatment and its effects on seed germination under water stress conditions. *Revta. Brasil. Bot.* 15:31-35.
- PRUSINSKI J., KHAN A.A. 1993. Application of some growth regulators and osmoconditioning to avoid thermoinhibition of seed germination in several lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivars. *Genetica Polonica.* 34:35-43.
- PUNJAB B., BASU R.N. 1982. Control of age and irradiation. Induced seed deterioration in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by hydration-dehydration treatments. *Agron. J.* 65:101-108.

- RAO N.K., ROBERTS E.H., ELLIS R.H. 1987. The influence of pre and post-storage hydration treatments, and viability of lettuce seeds. *Ann. Bot.* 60:97-108.
- REHMAN S., HARRIS P.J.C., BOURNE W.F. 1998a. Effects of presowing treatments with calcium salts, potassium salts, or water on germination and salt tolerance of *Acacia* seeds. *J. Plant Nutr.* 21:277-285.
- REHMAN S., HARRIS P.J.C., BOURNE W.F. 1998b. The effect of hardening on the salinity tolerance of *Acacia* seeds. *Seed Sci. Technol.* 26:743-754.
- RIVAS M., SUNDSTROM F.J., EDWARDS R.L. 1984. Germination and crop development of hot pepper after seed priming. *HortScience* 19:279-281.
- ROBERTS D.M., HARMON A.C. 1992. Calcium-modulates proteins: targets of intracellular calcium signals in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 43:375-414.
- ROWSE H.R. 1987. Methods of priming seed. UK. Patent No. application 8717469 [citado por Gray et al. 1990].
- ROWSE H.R. 1996. Drum priming. *Seed Sci. Technol.* 24:281-294.
- SANCHEZ J.A. 1997. Efectos de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación sobre la biología reproductiva del pepino (*Cucumis sativus* L.). Tesis de Maestría, Instituto de Ecología y Sistemática, La Habana, Cuba. 70 p.
- SANCHEZ J.A. 2000. Regenerative strategies of main forest pioneer species under adverse ecological conditions of the Sierra del Rosario, Cuba. Informe Final del Proyecto MAB-UNESCO (SC/ECO/565/19.1), París, Francia. 94 p.
- SANCHEZ J.A., BLANCO T., MUÑOZ B. 1998. Inducción de tolerancia al déficit hídrico en *Trichospermum grewiiifolium*. *Acta Botánica Cubana* 118:1-16.
- SANCHEZ J.A., CALVO E., MUÑOZ B., ORTA R. 1999a. Comparación de 2 técnicas de acondicionamiento de semillas y sus efectos sobre la conducta germinativa del pepino, pimiento y tomate. *Cultivos Tropicales* 20:51-56.
- SANCHEZ J.A., CALVO E., MUÑOZ B., ORTA R. 1999b. Efecto de los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación sobre la germinación, establecimiento, floración y fructificación del pepino. *Agronomía Costarricense.* 23:193-204.
- SANCHEZ J.A., CALVO E., ORTA R., MUÑOZ B. 1997. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación para semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.). *Acta Botánica Mexicana* 38:13-20.
- SANCHEZ J.A., MUÑOZ B., FRESNEDA J. 2000. Combined effects of hardening hydration-dehydration and heat shock treatments on the germination of tomato, pepper and cucumber. *Seed Sci Technol.* 30(1) (En prensa).
- SIRVRITE H.O., DOURADO A.M. 1994. The effects of humidification treatments on viability and the accumulation of chromosomal aberrations in pea seeds. *Seed Sci. Technol.* 22:337-348.
- SENATRA T., MCKERSIE B.D. 1983. Dehydration injury in germinating soybean (*Glycine max* L. Merr) seeds. *Plant Physiol.* 76:620-624.
- SMOK M.A., CHOJNOSWSKI M., CORBINEAU F., CÔME D. 1993. Effects of osmotic treatments on sunflower seed germination in relation with temperature and oxygen. *In: Fourth International Workshop on Seeds. Basic and applied aspects of seed biology.* Ed by D. Côme, F. Corbineau. ASFIS, Paris. p. 1033-1038.
- SUZUKI H., OBAYANHI S., LUO H. 1989. Effects of salt solutions on the priming of several vegetable seeds. *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.* 38:131-138.
- SNYDER F.W. 1974. Maturity effects on fruit characteristics, germination and emergence of sugarbeet. *J. Amer. Soc. Sugar Beet Technol.* 18:87-95.
- TARQUIS A.M., BRADFORD J.T. 1992. Prehydration and priming treatments that advance germination also increase the rate of deterioration of lettuce seeds. *J. Expt. Bot.* 43:307-317.
- TAYLOR A.G., ALLEN P.S., BENNETT M.A., BRADFORD K.J., BURRIS J.S., MISRA M.K. 1998. Seed enhancements. *Seed Science Research* 8:245-256.
- THANOS, C.A., GEORGHIOU, K. 1988. Osmoconditioning enhances cucumber and tomato seed germinability under adverse light conditions. *Israel J. Bot.* 29:4-21.
- THANOS C.A., GEORGHIOU, K., PASSAM M. 1989. Osmoconditioning and ageing of pepper seeds during storage. *Ann. Bot.* 63:65-69.
- THANOS C.A., MITRAKOS K. 1992. Watermelon seed germination. 2. Osmomanipulation of photosensitivity. *Seed Science Research* 2:163-168.
- TINGEY D.T., STOCKWELL C. 1977. Semipermeable membrane system for subjecting plant to water-stress. *Plant Physiol.* 60:58-66.

- TVORUS E.K. 1982. Contenido de ATP y síntesis de proteínas en semillas de frijol en condiciones de sequía, [en ruso]. *Sieikojosaiystvennaya Biolovia* 17:181-184.
- VALDES V., BRADFORD K.J., MAYBERRY K.S. 1985. Alleviation of thermodormancy in coated lettuce seeds by seed priming. *HortScience* 20:1112-1114.
- VIERLING E. 1990. Heat shock proteins: function and expression. In: *Stress responses in plants: Adaptation mechanisms*. Ed. by R. Alscher. Alan R. Liss Inc., New York. p. 357-375.
- VIERLING E. 1991. The roles of heat shock proteins in plants. *Annu. Rev. Plant Physiology Plant Mol. Biol.* 42:579-620.
- WARD F.H., POWELL A.A. 1983. Evidence for repair processes in onion seeds during storage at high seed moisture contents. *J. Expt. Bot.* 34:277-82.
- WARREN J.E., BENNETT M.A. 1997. Seed hydration using the drum priming system. *HortScience* 32:1220-1221.
- WEDD M.A., ARNOTT H.J. 1982. Cell wall conformation in dry seeds in relation to the preservation of structural integrity during desiccation. *Amer. J. Bot.* 69:1657-1668.
- WELBAUM G.E., BRADFORD K.J. 1991. Water relations of seed development and germination in (*Cucumis melo* L.). VI. Influence of priming on germination responses to temperature and water potential during seed development. *J. Expt. Bot.* 42:393-399.
- WELBAUM G.E., BRADFORD K.J., YIN KYU-OCK., BOOTH D.T., OLUOCH M.O. 1998b. Biophysical, physiological and biochemical processes regulating seed germination. *Seed Science Research* 8:161-172.
- WELBAUM G.E., SHEN Z., OLUOCH M.O., JETT L.W. 1998a. The evolution and effects of priming vegetable seed. *Seed Technology* 20:209-235.
- WIEBE H.J., TIESSEN T.H. 1979. Effects of different seed treatments on embryo growth and emergence of carrot seeds. *Gartenbauwissenschaft* 44:280-284.
- WOODRUFF D.R. 1969. Studies on presowing drought hardening of wheat. *Austr. J. Agric. Res.* 20:13-24.
- WURR D.C.E., FELLOWS J.R. 1984. The effects of grading and priming seeds of crisp lettuce cv. Saladin, on germination at high temperature, seed vigour, and crop uniformity. *Ann. Applied Biol.* 105:345-352.
- YAKLICH R.W., ORZOLEK M.D. 1977. Effect of polyethylene glycol-6000 on pepper seed. *HortScience* 12:263-264.
- YANIV Z., WECKER E. 1983. Adsorption and secretion of polyethylene glycol by solanaceous plants. *J. Expt. Bot.* 148:1577-1584.
- ZHENG G.H., GAO Y.P., WILEN R.W., KIRKLAND K., GUSTA L.V. 1996. The potential of seed priming to enhance germination and yield of canola. *Soil & Crops '96*. Extension Division, the University of Saskatchewan and Saskatchewan Advisory Council on Soils & Agronomy. The University of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada. p. 318-327.
- ZHENG G.H., WILEN R.W., SLINKARD A.E., GUSTA L.V. 1994. Enhancement of canola seed germination and seedling emergence at low temperature by priming. *Crop Sci.* 34:1589-1593.