

**EFEECTO DE LA TEMPERATURA Y EL ACIDO GIBERELICO SOBRE LA
GERMINACION DE *ANETHUM GRAVEOLENS* (ENELDO)**

Killian, S.E., Tapia, A.M. y Villagra, A.E.

Cátedra de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Catamarca. Maestro Quiroga y
Avda. Belgrano. (4700). C.C. 353 Catamarca. Argentina. telefax: 54-03833-430504

Email: martinezkillian@uole.com

Financiado por la SEDECYT. UNCa.

SUMMARY

Studies were conducted to determine the effects of temperature and giberelic acid on *Anethum graveolens* seed germination.

Essays were carried out as follows:

1- Incubation of seeds at: 8°C, 21°C y 30°C.

2- The same a month later.

3- Preincubation at 8°C: 24 and 100 hours then incubation at 21°C and 30°C.

4- Incubation at 8°C and 30°C. The seeds were treated during incubation with giberelic acid solutions 0 ppm, 300 ppm and 600 ppm. Four replicates of 50 seeds were tested in Petri dishes on filter paper. Statistical analysis were done. The results showed a promotory effect of the 21°C treatment. Not promotory effects with low temperatures and giberelic acid treatments were shown. It would be interesting to test alternating temperatures and giberelic acid as different times pretreatments.

RESUMEN

El trabajo tiene por objeto determinar el efecto de la temperatura y el ácido giberélico sobre la germinación de semillas de *Anethum graveolens* (eneldo).

Se llevan a cabo los siguientes ensayos:

- 1- Semillas de *Anethum graveolens* del año a 3 temperaturas de incubación 8°C, 21°C y 30°C.
- 2- Al cabo de un mes se repite el ensayo 1.
- 3- Preincubación a 8°C: 24 y 100 horas. Posteriormente incubación a 21°C y 30°C.
- 4- Incubación a 8°C y 30°C tratadas con soluciones de ácido giberélico: 0,00 ppm; 300 ppm y 600 ppm.

Todos los ensayos se realizan en cajas de Petri, sobre papel de filtro. Los datos se someten a análisis estadístico. Los resultados indican efecto positivo del tratamiento de incubación a 21°C (temperatura ambiente). No se registra efecto positivo de la preincubación a 8°C ni del ácido giberélico en las dos concentraciones utilizadas. Como nueva hipótesis se propone probar con alternancias de temperatura y tratamientos de preincubación con ácido giberélico ajustando los tiempos de los mismos.

INTRODUCCIÓN

Anethum graveolens (eneldo) pertenece a la familia de las Umbelíferas. Se clasifica la semilla como endospermica con embriones lineales, axilares. Contiene entre 2,5 y un 4% de aceites esenciales entre los que se pueden citar la Caruona, una cetona terpénica y en menor porcentaje el limoneno, fenantreno y pireno. Es de uso medicinal como eupéptico y carminativo y es, a su vez, usado en licorería y como aromatizante de conservas . Su hábitat original es el Valle del Ebro y Andalucía, es de clima templado a templado-cálido, pero presenta moderada resistencia al frío (Muñoz, 1987).

Si bien en el Valle Central de la provincia de Catamarca los inviernos son moderados y secos (Albert et al, 1978), existen una serie de microclimas dados por los cordones montañosos en los cuales las temperaturas invernales son mucho más bajas y las precipitaciones más abundantes (Morlans, 1995).

Para que la especie pueda ser considerada un cultivo alternativo, sobre todo en huertas familiares y escolares, se debe contar con un paquete de información tecnológica que permita

encarar el cultivo con altas probabilidades de éxito.

La temperatura no sólo influye sobre el porcentaje final de germinación sino también en la velocidad de la misma (Killian, Tapia, 1986).

Los procesos que, ligados a la germinación son de carácter metabólico y por lo tanto enzimáticos dependen de la temperatura. Por lo tanto en la mayoría de los casos la velocidad de germinación crece con la temperatura, en cierto intervalo (Labouriau, 1983).

El efecto de la temperatura sobre los procesos metabólicos mencionados es aproximadamente igual a una resultante de los efectos dados sobre todas las enzimas involucradas (Taiz, 1991). Pero sin embargo, un aumento de temperatura no produce necesariamente un aumento en la velocidad de germinación o en los porcentajes (Mayer, Poljakoff, 1963).

La germinación de semillas de eneldo en laboratorio es del 53% en 15 días y a 20°C, también se ha detectado dormición (Muñoz, 1987a,b).

Las temperaturas necesarias para que se desencadenen los procesos germinativos son sensiblemente menores a aquellas promotoras u óptimas para el crecimiento. Esto podría ser la explicación de la aplicación con éxito de los tratamientos de alternancia de temperaturas (Mazliack, 1982).

También la alternancia de temperatura influye positivamente sobre la germinación de semillas de algunas especies como *Agrostis alba* (Lehman, Aichele, 1931).

Otro aspecto a ser considerado, es el caso de las semillas que requieren un tratamiento previo a una determinada temperatura para luego germinar. Este pretratamiento denominado estratificación es eficaz si se realiza estando la semilla imbibida y generalmente se lleva a cabo a bajas temperaturas. Durante estos tratamientos se ha podido observar cambios en la estructura de la semilla, principalmente crecimiento embrional (Pollock, Olney, 1959).

Así mismo, ya en 1912 Davis y Rose verificaron que la temperatura óptima de estratificación para *Crataegus mollis* se encuentra en un rango de entre 5°C y 6°C durante 73 días, siendo ineficaces tanto las temperaturas por debajo de 0°C como las que van de 9°C a 22°C, de la misma manera si actúan por períodos mayores (114 días, 275 días). Con resultados similares quedó establecido que para muchas especies un rango óptimo de temperatura para romper la dormición, por medio de la estratificación, es muy diferente que el rango óptimo de temperatura para la germinación de las semillas estratificadas (Davis, Rose, 1912).

Las bajas temperaturas son utilizadas como pretratamiento de germinación (Botto, et al. 1996).

Se cita algunos casos en que la aplicación de prerrefrigeración de 10°C tiene efecto significativo (Ferrari, Lopez, 1996).

Por otra parte, para las Umbelíferas tratamientos de luz, pre-enfriamiento y ácido giberélico promueven la germinación (Ellis, 1985).

En varios casos (Weaver, 1976) los tratamientos con bajas temperaturas (estratificación) o los tratamientos con ácido giberélico promueven la germinación.

Probablemente la acción más estudiada del ácido giberélico sobre la germinación sea la de inducir síntesis de α -amilasa en la capa de aleurona de los cereales (Chandler y Chrispeels, 1984).

Pero en general el ácido giberélico es particularmente efectivo en la promoción de la germinación, tanto si el origen de la dormición es la cubierta seminal o el embrión. Se ha demostrado que las semillas de *Arabidopsis thaliana* deficientes en ácido giberélico no germinan (Roberts, 1988).

El ácido giberélico aumentó significativamente tanto la energía germinativa como el recuento final de germinación en semillas de *Euterpe edulis*, (Otegui, 1996).

Con el objeto de detectar efectos de la temperatura de preincubación e incubación y su eventual interacción con el ácido giberélico se realiza el presente trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron 4 ensayos con 4 repeticiones de 50 semillas cada una, en cajas de Petri sobre papel de filtro, en oscuridad. El recuento de la germinación se realizó diariamente. El diseño fue totalmente aleatorizado. Se realizó prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) (Perez y Arguello, 1993) con transformación arcoseno. Los ensayos y sus respectivos tratamientos fueron:

1- Semillas de eneldo del mismo año a tres temperaturas de incubación: 8°C, 21°C (temperatura ambiente) y 30°C, durante todo el tiempo de duración del ensayo.

2- Al cabo de un mes, se repite el ensayo en las mismas condiciones. Las semillas se mantuvieron durante ese tiempo a temperatura ambiente y en oscuridad.

3- Se preincuban semillas de eneldo en distintos tiempos a 8°C. Incubándose después a 30°C y 21°C en los respectivos tratamientos como sigue:

Tratamiento A: Preincubación 8°C, 24 hs + Incubación 21° C

Tratamiento B: Preincubación 8°C, 24 hs. + Incubación 30°C

Tratamiento C: Preincubación 8°C, 100 hs. + Incubación 21°C

Tratamiento D: Preincubación 8°C, 100 hs. + Incubación 30°C

4- En este ensayo se combina el factor temperatura durante la incubación con la aplicación de ácido giberélico en distintas concentraciones, como indican los siguientes tratamientos. Se trabaja con semillas de 2 años.

Tratamiento I- Temperatura de incubación: 30°C, concentraciones de AG3 a) 0.0 ppm; b) 300 ppm y c) 600 ppm.

Tratamiento II- Temperatura de incubación: 8°C, concentraciones de AG3 a) 0.0 ppm; b) 300 ppm y c) 600 ppm.

RESULTADOS

La evolución en el tiempo y los porcentajes finales de germinación del ensayo 1 se pueden ver en el Gráfico 1. Se registran diferencias tanto en la velocidad de germinación como en los porcentajes finales. Las primeras semillas germinadas pertenecen al tratamiento que impone a las semillas una temperatura de 21°C (ambiente), y se da a los 14 días de incubación. A los 16 días empiezan a germinar semillas incubadas a 30°C y finalmente a los 20 días se empieza a producir germinación en el tratamiento de incubación a 8°C. Sin embargo y a pesar de este retraso en el inicio de la germinación, los porcentajes alcanzados por las semillas incubadas a 8°C son significativamente mayores que los porcentajes de las semillas incubadas a 30°C. Se produce una especie de eclosión germinativa en un periodo muy corto de tiempo, para el tratamiento de menor temperatura, después de la cual no aumenta el número de semillas germinadas. En lo que se refiere a los porcentajes finales, como se dijo anteriormente, se dan diferencias significativas entre los 3 tratamientos.

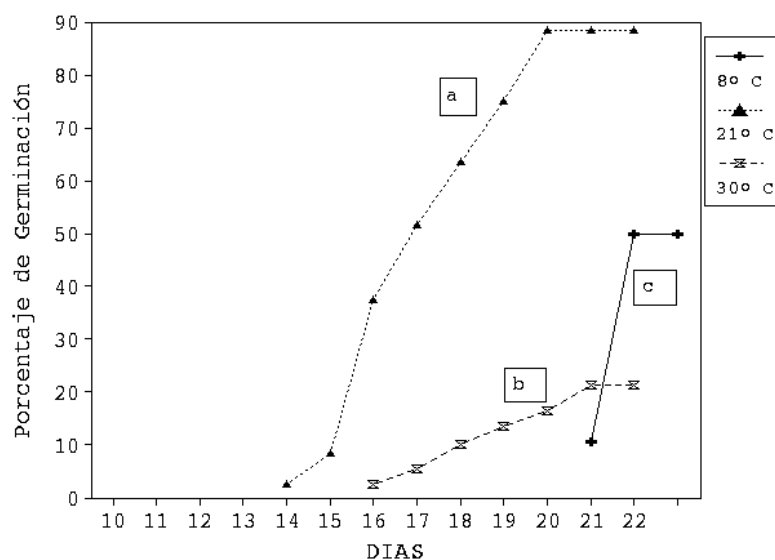


GRÁFICO 1: Efecto de la temperatura de incubación: 8°C, 21°C, 30°C, sobre la germinación de semillas de *Anethum graveolens*. Datos tomados a los 22 días.

Los resultados de los tratamientos que corresponden al ensayo 2 se registran en el gráfico 2. Las semillas del tratamiento de incubación a 21°C son las primeras que empiezan a germinar a los 14 días. Posteriormente el día 15 empiezan la germinación en el tratamiento de incubación a 30°C. A los 18 días se pueden contar semillas germinadas en el tratamiento de 8°C. Los porcentajes finales dan diferencias significativas entre los 3 tratamientos. En el tratamiento de incubación a 8°C si bien se registra un retraso en el inicio de la germinación los porcentajes finales son significativamente superiores que en el tratamiento de incubación a 30°C. Las semillas que germinan a 8° C lo hacen en un lapso más corto que las que germinan a 21° C. Sin embargo, no alcanza el tratamiento a menor temperatura los mismos niveles que el tratamiento de incubación a 21°C.

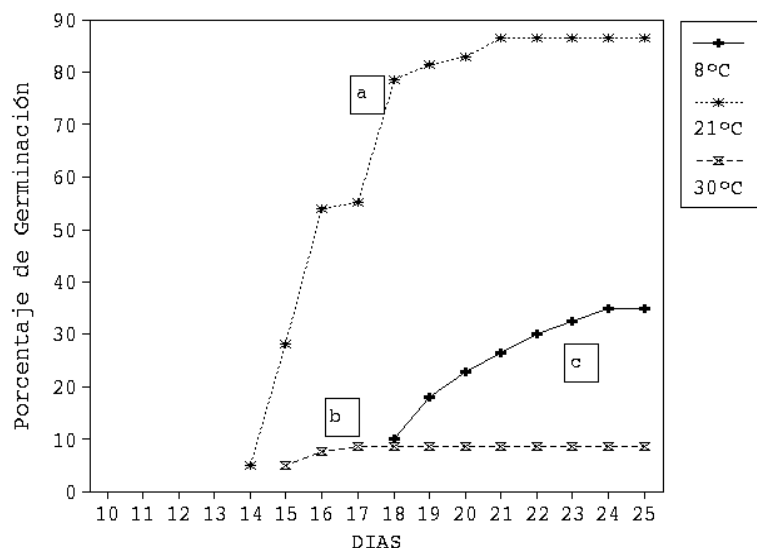


GRÁFICO 2: Efecto de la temperatura de incubación: 8°C, 21°C, 30°C, sobre la germinación de semillas de *Anethum graveolens*. Ensayo realizado 30 días después del Ensayo I. Datos tomados a los 24 días.

Los datos del ensayo 3 son los del gráfico 3. Los dos primeros tratamientos que dan resultados positivos en la promoción de la germinación son los tratamientos de 24 horas de preincubación a 8°C, siendo incubados posteriormente a 21°C y 30°C respectivamente. En el día número 14 empiezan a germinar las semillas sometidas a 100 horas de preincubación a 8°C y que fueron incubadas a 21°C y 30°C respectivamente.

Considerando los porcentajes finales se ve que no se registró diferencia significativa entre los tratamientos de 24 horas de preincubación a 8°C más incubación a 21°C, y el de 100 horas de preincubación a 8°C más incubación a 21°C. Sí hay diferencia entre estos dos tratamientos y los de las semillas preincubadas 100 y 24 horas y posteriormente incubadas a 30°C.

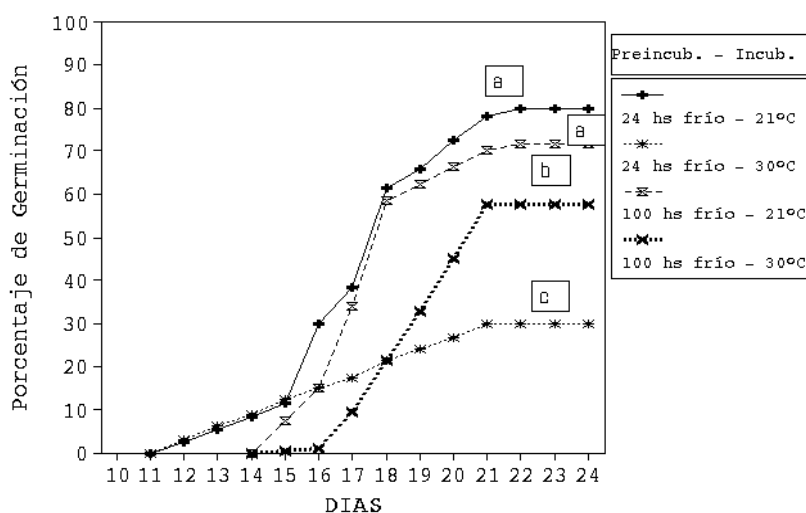


GRÁFICO 3: Efecto del tiempo de tratamiento de preincubación a baja temperatura (8°C) 24 hs y 100 hs, y de la temperatura de incubación: 21°C y 30°C, sobre la germinación de semillas de *Anethum graveolens*. Datos tomados a los 22 días.

Si se compara el efecto de horas de frío entre los tratamientos incubados a 30°C se puede registrar una diferencia. Comparando los resultados obtenidos debido a los tratamientos de preincubación y de incubación por separado, se puede ver lo que registra el gráfico 4, la diferencia de efecto demostrando en estos datos, efecto leve de las horas de preincubación y uno mayor de la temperatura de incubación. Letras distintas indican diferencias significativas.

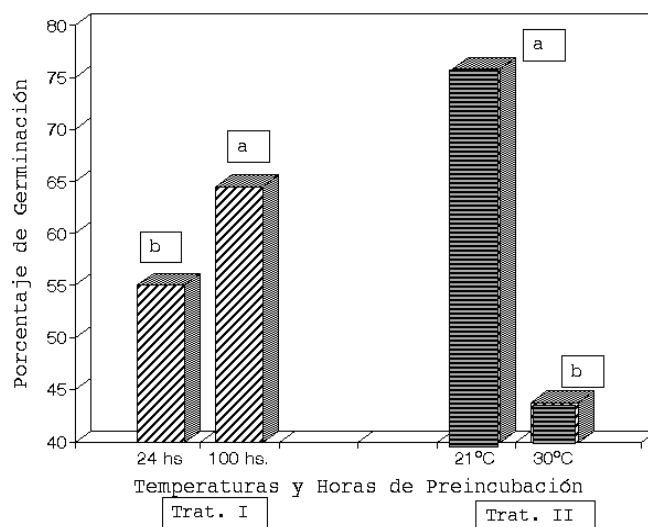


GRÁFICO 4: I- Efecto de la duración del tratamiento de preincubación a bajas temperaturas (8°C) 24 hs y 100 hs. Datos tomados a los 22 días. II- Efecto de la temperatura de incubación: 21°C y 30°C. Datos tomados a los 22 días.

Ensayo 4: a los 6 días de incubación empiezan a germinar las semillas de los tratamientos I.a) y I.b) o sea los que corresponden a incubación a 30°C, control 0.0 ppm y 300 ppm ácido giberélico respectivamente. Existe, sin embargo entre estos 2 tratamientos diferencias significativas. Ni el Tratamiento I.c) 30°C - 600 ppm, ni los tratamientos de 8°C registraron germinación a los 6 días.

A los 10 días (Graf.5) comienzan a germinar las semillas del tratamiento de incubación a 30°C, 600 ppm y también se registran semillas germinadas en todos los tratamientos de incubación a 8°C. En ese momento, se produce un porcentaje elevado de semillas germinadas en el tratamiento II. a) 8°C – 0.0 ppm.

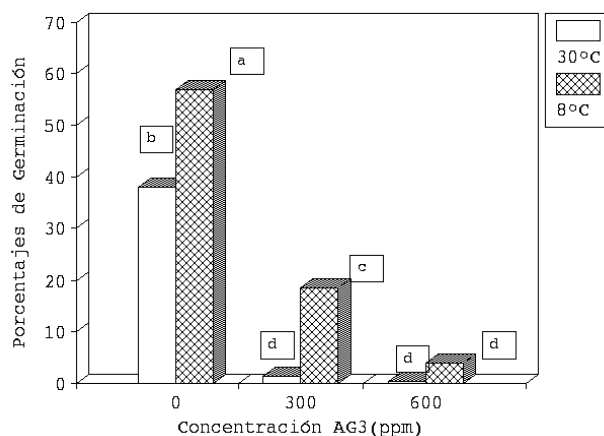


GRÁFICO 5: Efecto de la temperatura de incubación: 30°C y 8°C, y soluciones de ácido giberélico de distintas concentraciones: 0.0 ppm; 300 ppm y 600 ppm, sobre el porcentaje de germinación de semillas de *Anethum graveolens* a los 10 días.

A los 15 días se hace el último conteo, de ambos ensayos con los resultados que se ven en el Gráfico 6.

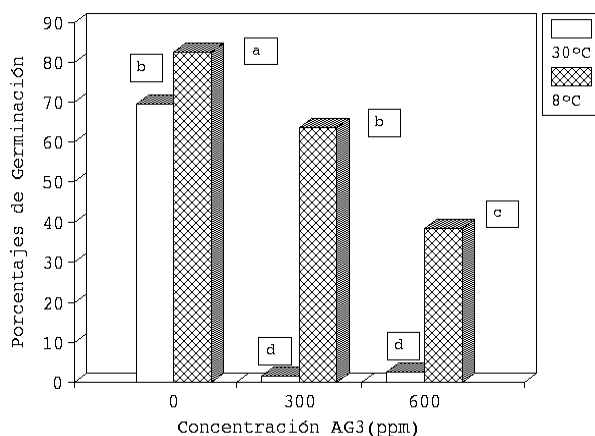


GRÁFICO 6: Efecto de la temperatura de incubación: 30° y 8°C, y soluciones de ácido giberélico de distintas concentraciones: 0.0 ppm; 300 ppm, 600 ppm, sobre el porcentaje de germinación de semillas de *Anethum graveolens*. Porcentajes finales a los 15 días.

DISCUSIÓN

No es la temperatura propicia para la actividad enzimática y metabólica la más adecuada a su vez, para desencadenar la germinación, según indican los porcentajes finales obtenidos. Como se ve no es el tratamiento de 30°C el que produce el mayor número de semillas germinadas (Graf. 1 y 2) a pesar de ser esta temperatura más cercana a la temperatura considerada óptima para la actividad enzimática (Labouriau, 1983a,b,c) (Taiz, 1991a,b).

Los resultados del Gráfico 1 confirman lo que sostiene Mazliack (1982) con respecto a que las semillas pueden requerir distintos niveles de temperatura: uno que rompa estados de dormición y otro más elevado que estimule reacciones metabólicas.

Como ya se ha demostrado en otras especies, (Lehman y Aichele, 1931a,b) en el tratamiento de 21°C, alternancias de $\pm 2^\circ\text{C}$, podrían explicar la eficacia del tratamiento. De esta manera, habría una discriminación de los efectos de las temperaturas concordando con la opinión de Mazliack (1982).

Si se tiene en cuenta lo dicho por Muñoz (1987) en cuanto a los porcentajes finales de germinación que son de 53% a los 15 días y a 20°C, y comparándolos con los resultados que se presentan en los Gráficos 1 y 2, se puede decir que se obtienen mayores porcentajes finales con temperaturas semejantes y en periodos de tiempos que no difieren mayormente.

En los ensayos 1 y 2 el retraso del comienzo de la germinación a 8°C y los mayores porcentajes finales obtenidos a esta temperatura, si se los compara con los obtenidos incubando la semilla a 30°C, pone énfasis a lo dicho en el párrafo anterior. Se puede decir que no hay diferencias significativas entre los mismos tratamientos de los dos ensayos, que difieren solamente en que el primero se llevó a cabo 30 días antes que el segundo; tampoco hay diferencias entre los porcentajes iniciales.

Del análisis de resultados de los ensayos 1 y 2, se puede agregar que los porcentajes finales alcanzados por los tratamientos del ensayo 1 se dan casi al mismo tiempo con diferencia de dos días. Mientras que los mismos porcentajes en el ensayo 2 se dan en lapsos más grandes habiendo 7 días de diferencia entre el tratamiento que somete a la semilla a mayor temperatura y el que lo hace a menor.

En cuanto al valor de los porcentajes finales del ensayo 2, sigue siendo el tratamiento de incubación a 21°C el que promueve la germinación con diferencias significativas con relación a

los otros dos tratamientos. También en este caso es el tratamiento de incubación a 30°C, el que da porcentajes más bajos de germinación. Es, a su vez, el tratamiento de incubación a 8°C el que da resultados intermedios. Si se comparan los datos del ensayo 1 y 2 en lo que a porcentajes finales se refiere: no hay diferencias significativas para los tratamientos de incubación a 21°C entre los dos ensayos. Si hay diferencias para los tratamientos de incubación a 30°C y 8°C entre los dos ensayos.

Según los datos tomados a los 6 días, se puede ver un retraso de la germinación debido a las bajas temperaturas de incubación.

A pesar de los ejemplos en que los efectos de la preincubación a baja temperatura dan resultados positivos (Pollock, 1959; Davis, 1912; Botto et al. 1996 ; Ferrari y Lopez, 1996), no se ha podido obtener promoción de la germinación con los tratamientos utilizados en este caso.

Los porcentajes finales obtenidos en el ensayo 1 y 2 sin preincubación a bajas temperaturas son significativamente superiores a los del ensayo 3, tanto sea con 24 hs o 100 hs. de preincubación a 8°C. Tampoco se ve incrementada la velocidad, como efecto de las bajas temperaturas.

El hecho de obtenerse a través del tratamiento de 24 horas de preincubación a 8°C un porcentaje final de germinación superior al de 100 horas de preincubación a 8°C, ambos con incubación a 21°C, podría significar la inconveniencia de la aplicación del tratamiento de preincubación, pero también podría dar lugar a una nueva hipótesis de trabajo, en la que se acorten los rangos de tiempo de preincubación a bajas temperaturas desde 0 hasta 24 horas.

Cuando la incubación es a 30°C, la preincubación a 8°C - 100 hs, se promueve significativamente la germinación respecto de la preincubación a 24 hs.

Se ve un efecto negativo de la presencia del ácido giberélico en las dos concentraciones usadas en los tratamientos de incubación a 30°C. Ya que a los 6 días a 0.00 ppm el porcentaje de germinación es de 12.5%, a 300 ppm es de 0.5% y a 600 ppm no se registran semillas germinadas.

Sin embargo, y a pesar de retrasar de una manera significativa la germinación, las bajas temperaturas permiten una eclosión de la germinación a los 10 días (Gráf.5) que redunda en un mayor porcentaje final a los 15 días (Graf.6). Esto es positivo ya que daría una emergencia uniforme en el tiempo.

Los resultados de los tratamientos con ácido giberélico a 30° no estarían en concordancia con los tratamientos propuestos por algunos autores (Ellis, 1985; Weaver, 1976) que aconsejan usar ácido giberélico en remplazo de tratamientos de horas de frío. Si esta premisa se cumpliera en este caso debería haberse obtenido un mayor efecto en los tratamientos con ácido giberélico a altas temperaturas si se los compara con los de 8°C.

CONCLUSIONES

Tanto la temperatura baja (8° C) como la temperatura elevada (30° C) probadas en el trabajo retrasan la velocidad de germinación y los porcentajes finales.

Los porcentajes más elevados se dan con 21° C, temperatura ambiente.

La preincubación no ejerce efecto significativo cuando la incubación es a 21° C.

Con mayor número de horas de preincubación a 8° C (tratamiento de frío) se incrementa el porcentaje de germinación, cuando la incubación es a 30° C.

El efecto temperatura de incubación es mayor que el efecto del tiempo de preincubación a bajas temperaturas.

Los efectos negativos del ácido giberélico en las dos concentraciones usadas son mayores a mayor temperatura.

BIBLIOGRAFIA

- **ALBERT, O.** et al. 1978. Geografía de Catamarca. Soc. Argentina de Estudios Geográficos. Buenos Aires. Serie Especial N° 5. : 43-44.
- **BOTTO, J.F.; SANCHEZ, R.A. y CASAL J.J.** 1996. El Papel de los fitocromos A, B y otros en la inducción de la germinación por la luz en semillas de *Arabidopsis thaliana*. Actas XXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal . Mendoza. :108.
- **CHANDLER, P.M.; CHRISPEELS, M.J.** 1993. Giberelinas, cap. 13. Fisiología y Bioquímica Vegetal,. Edit. Interamericana-Mc Graw Hill. :317
- **DAVIS W.E. y ROSE, R.C.** 1912. The Effect of External Conditions Upon the After-Ripening of the Seeds of *Crataegus mollis*, Bot. Gaz., 54: 49-62.
- **ELLIS, R. H.** 1985. Handbook of Seed Technology for Genebanks. Vol.II. Cap. 72: 623-625.
- **FERRARI, L. y LÓPEZ, C.** 1996. Germinación de semillas de gramíneas nativas: I. Condiciones

adecuadas para *Briza subaristata* Lam. Actas XXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, Mendoza.: 88.

- **KILLIAN, S. y TAPIA, A.M.** 1986. Efecto de la temperatura sobre la germinación, absorción de agua y crecimiento en *Prosopis spp.* 1eras. Jornadas de Ciencia y Tecnología - UNCa. :102.
- **LEHMAN y AICHELE.** 1931. Keimungsphysiologie der grâer, Verlag Ferdinand Enke. Stuttgart.
- **LABOURIAU, L.** 1983. Metabolismo: cap.10, pag. 138-138. Capacidade e Velocidade de Germinacao:. A germinacao das sementes. Editado por la Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos - Washington, D.C. cap.6, : 57-58
- **MAYER Y POLJAKOFF.** 1963. The Germination of seeds Pergamen Press. Maemillan Company N.Y.
- **MAZLIAK, P.** 1982. Croissance et développement. Physiologie Végétale II.
- **MORLANS, C.** 1995. Regiones Naturales de Catamarca - Provincias Geológicas y Provincias Fitogeográficas. 2da. Revista de Ciencia y Técnica. UNCa. :12 - 14.
- **MUÑOZ, F.** 1987 Eneldo. Plantas Medicinales y Aromáticas-. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid. :145
- **OTEGUI, M.B.** 1996. Comportamiento germinativo de semillas de palmito (*Euterpe edulis* Mart.): ensayos de laboratorio. Actas XXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal - Mendoza. :103.
- **PEREZ, M.A. Y ARGUELLO, J.A.** 1993. Fisiología del deterioro en semillas de maní (*Arachis hypogaea* L.) cv. Florman. Identificación de variables fisiológicas relacionadas con el vigor y su comportamiento a campo. Actas XX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal -. Rio Negro. : 240
- **POLLOCK, B. M. y OLNEY H.O.** 1959. Plant Physiol. : 34,131.
- **ROBERTS, J.A.** 1988. Seed development, dormancy and germination. Plant Growth Regulators.. Blackie and Son Ltd. Glasgow and London. Chapter 6 : 83-84
- **TAIZ, L.; ZEIGER,E.** 1991. Energy, Enzimes and Gene Expression. Enzimes : The Agents of Life. Plant Physiology. Edit. Benjamin Cummings. Chapter 2. : 39 - 48.

- **WEAVER, R.J.** 1976. Terminación del reposo seminal mediante la aplicación de sustancias de crecimiento. Reguladores del Crecimiento de las Plantas en la Agricultura. Edit. Trillas. México.: 185-193